

# รายงานการวิจัย

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเชื้อราดิน  
*Trichoderma asperellum* PSU-PSF14 ที่แยกได้จากดินอินทรีย์  
ในพื้นที่พรุโต๊ะแดง จังหวัดนราธิวาส

ศ.ดร.วัชรินทร์ รุกขไชยศิริกุล

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ศ.ดร.เสาวลักษณ์ พงษ์ไพจิตร

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ผศ.ดร.สุกัญญา เดชอดิษฐ์

ภาควิชาเภสัชเวชและเภสัชพันธุศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

## กิตติกรรมประกาศ

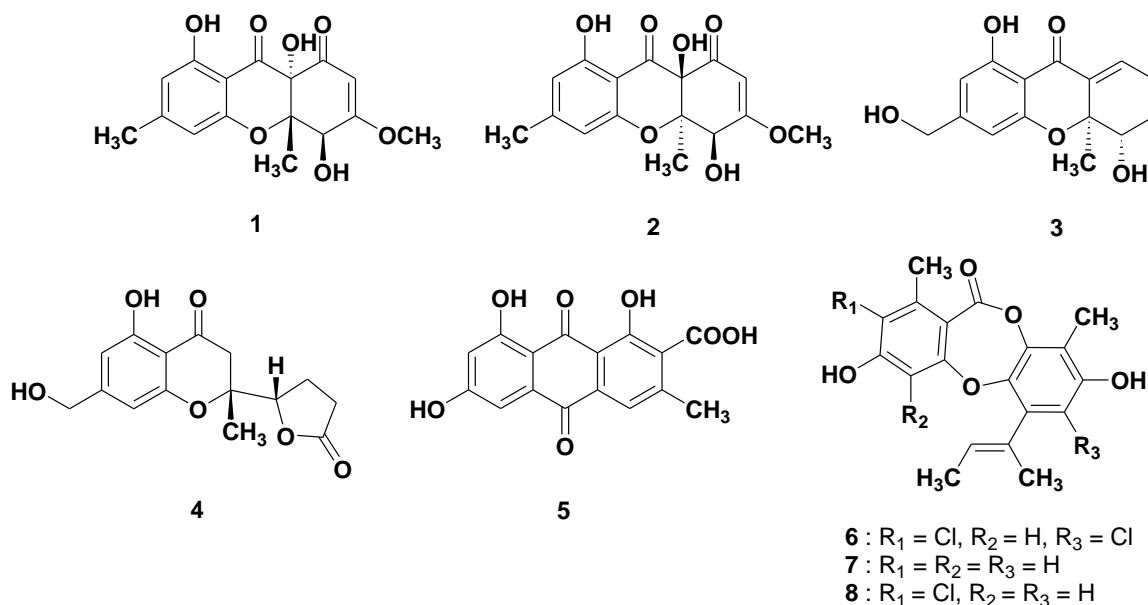
คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงาน กปร. สำหรับทุนอุดหนุนการวิจัย ปีงบประมาณ 2560 สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยสำหรับทุนปริญญาเอกกาญจนาภิเษกของนางสาวปัทมา ไพนุพงศ์ และสำนักงานทรัพย์สินส่วนพระมหากษัตริย์สำหรับทุน NSTDA Chair Professor ที่ให้ทุนผู้ช่วยวิจัยกับนายอชิป มาหะตลอดจนภาควิชาเคมี และภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์สำหรับการสนับสนุนด้านสถานที่และเครื่องมือ

ขอขอบคุณผู้อำนวยการศูนย์ศึกษาการพัฒนาพิกุลทองอันเนื่องมาจากพระราชดำริ จังหวัดนราธิวาส นักวิจัยและเจ้าหน้าที่ในศูนย์ฯ ทุกท่าน รวมทั้งนักวิจัยและเจ้าหน้าที่ในศูนย์วิจัยและศึกษาธรรมชาติป่าพรุสิรินธรที่อำนวยความสะดวกและให้ความอนุเคราะห์ในการเข้าพื้นที่เก็บตัวอย่างของศาสตราจารย์ ดร.เสาวลักษณ์ พงษ์ไพจิตร และสำนักวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ช่วยติดต่อประสานงานและอำนวยความสะดวกในการทำวิจัยนี้

ขอขอบคุณนายณันท์วัฒน์ ซ้ายขวัญ และนางสาวสกวรัตน์ พรธรรมา สำหรับการแยกเชื้อ การเลี้ยงเชื้อ และการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ ตลอดจนผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จริญญา สากยโรจน์ สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ สำหรับการจำแนกเชื้อรา

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาเมทาบอลไลต์จากราดิน *Trichoderma asperellum* PSU-PSF14 ซึ่งแยกได้จากดินอินทรีย์ในพื้นที่พรุโต๊ะแดง จังหวัดนราธิวาส และฤทธิ์ทางชีวภาพ จากการแยกสารสกัดหยาบจากน้ำเลี้ยงเชื้อและเซลล์โดยวิธีทางโครมาโทกราฟีต่างๆ สามารถแยกสารใหม่ประเภท blennolide ได้จำนวน 3 สาร (blennolides L-N, 1-3) ตลอดจนสารที่มีการรายงานโครงสร้างแล้วจำนวน 5 สาร ได้แก่ lachnone C (4), endocrocin (5), aspergillusidone C (6), unguinol (7) และ 2-chlorounguinol (8) วิเคราะห์โครงสร้างโดยใช้ข้อมูลทางสเปกโทรสโกปี สำหรับสเตอริโอเคมีสัมพัทธ์ (relative configuration) วิเคราะห์โดยใช้ข้อมูล NOEDIFF และยืนยันโครงสร้างด้วยเทคนิค X-ray สำหรับสาร 1 ส่วนสเตอริโอเคมีสมบูรณ์ (absolute configuration) กำหนดได้โดยการเปรียบเทียบข้อมูล CD (circular dichroism) ที่ได้จากการทดลองกับข้อมูล TDDFT ECD ที่ได้จากการคำนวณ จากการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อรา *Cryptococcus neoformans* ATCC90112 และ ATCC90113 flucytosine-resistant พบว่าสาร 1 แสดงฤทธิ์การยับยั้งเชื้อราดังกล่าวด้วยค่า MIC 128 และ 64  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ตามลำดับ และไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ



**คำหลัก:** เมทาบอลไลต์จากเชื้อรา, ราดิน, *Trichoderma asperellum*, ฤทธิ์ต้านเชื้อรา, ความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ






## สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	2
บทคัดย่อ	3
สารบัญตาราง	5
สารบัญรูป	6
บทนำ	7
วัตถุประสงค์	7
ระเบียบวิธีดำเนินการวิจัย	7
การตรวจเอกสารหรือการทบทวนวรรณกรรม	9
ผลและวิจารณ์ผล	10
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	15
เอกสารอ้างอิง	15
ภาคผนวก	17
ผลงานตีพิมพ์	26
ประวัติคณะผู้วิจัย	33

## สารบัญตาราง

ตารางที่	ชื่อตาราง	หน้า
1	ข้อมูล $^1\text{H}$ และ $^{13}\text{C}$ NMR ของสาร 1 และ 2 ใน acetone- $d_6$ และ 3 ใน $\text{CDCl}_3$	13
S1	ข้อมูล $^1\text{H}$ และ $^{13}\text{C}$ NMR ของสาร 4 และ lachnone C ใน $\text{CDCl}_3$	21
S2	ข้อมูล $^1\text{H}$ และ $^{13}\text{C}$ NMR ของสาร 5 และ endocrocin ใน $\text{CD}_3\text{OD}$	22
S3	ข้อมูล $^1\text{H}$ และ $^{13}\text{C}$ NMR ของสาร 6 ใน acetone- $d_6$ และ aspergillusidone C ใน $\text{CDCl}_3$	23
S4	ข้อมูล NMR ของสาร 7 ใน acetone- $d_6$	24
S5	ข้อมูล $^1\text{H}$ และ $^{13}\text{C}$ NMR ของสาร 8 ใน acetone- $d_6$ และ 2-chlorounginol ใน $\text{CDCl}_3$	25

## สารบัญรูป

รูปที่	ชื่อรูป	หน้า
1	โครงสร้างเคมีของสาร 1-8 ที่แยกได้จากราดิน <i>Trichoderma asperellum</i> PSU-PSF14	12
2	X-ray crystal structure ของสาร 1	12
3	Key $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ COSY (  ) , HMBC (  ) and NOEDIFF (  ) data ของสาร 1	13
4	$^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ COSY (  ) และ HMBC (  ) correlations ของสาร 3	14
5	Experimental และ calculated ECD สเปกตรัมของสาร 1-3	14
S1	$^1\text{H}$ NMR (300 MHz) และ $^{13}\text{C}$ NMR (75 MHz) spectra ของสาร 1 ใน acetone- $d_6$	18
S2	$^1\text{H}$ NMR (300 MHz) และ $^{13}\text{C}$ NMR (75 MHz) spectra ของสาร 2 ใน acetone- $d_6$	19
S3	$^1\text{H}$ NMR (300 MHz) และ $^{13}\text{C}$ NMR (75 MHz) spectra ของสาร 3 ใน $\text{CDCl}_3$	20

## บทนำ

เชื้อราเป็นแหล่งของสารต้านจุลินทรีย์ที่รู้จักกันมานานตั้งแต่มีการค้นพบยาเพนนิซิลลิน โดยเชื้อราที่ศึกษาส่วนใหญ่แยกได้จากดิน ราดินเป็นแหล่งผลิตที่สำคัญแหล่งหนึ่งของผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่ไม่เพียงแต่มีความหลากหลายของโครงสร้างทางเคมีเท่านั้น แต่ยังมีที่น่าสนใจในแง่ของการออกฤทธิ์ทางชีวภาพอีกด้วย *Trichoderma asperellum* PSU-PSF14 เป็นราดินที่แยกได้จากดินอินทรีย์ในพื้นที่พรุโตะแดง จังหวัดนราธิวาส จากการศึกษาเบื้องต้นพบว่าสารสกัดหยาบจากน้ำเลี้ยงเชื้อ (BE) ของเชื้อรา PSU-PSF14 แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และต้านเชื้อรา *Candida albicans* ด้วยค่า MIC ที่เท่ากันคือ 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  อีกทั้งส่วน BE และสารสกัดหยาบจากเซลล์ (CE) ยังแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อรา *Cryptococcus neoformans* ด้วยค่า MIC ที่น่าสนใจ คือ 64 และ 32  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ตามลำดับ สำหรับส่วน CE ของเชื้อรานี้ยังแสดงฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งช่องปากและเซลล์ปกติด้วยค่า  $\text{IC}_{50}$  เท่ากับ 20.72 และ 48.88  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ตามลำดับ ประกอบกับข้อมูล  $^1\text{H NMR}$  สเปกตรัมของสารสกัดหยาบปรากฏสัญญาณหลักของกลุ่มสารอะโรมาติกและหมู่เมธิล จึงทำให้ผู้วิจัยสนใจที่จะศึกษาการแยกเมทาบอลิไทต์จากเชื้อราดังกล่าว โดยคาดว่าจะสามารถแยกผลิตภัณฑ์ธรรมชาติสารใหม่และสารที่มีรายงานโครงสร้างแล้วที่มีประโยชน์ทางเภสัชวิทยาได้

## วัตถุประสงค์

1. แยกสารบริสุทธิ์ที่ผลิตโดยเชื้อราดิน *T. asperellum* PSU-PSF14
2. ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ และฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านมและมะเร็งช่องปาก ตลอดจนเซลล์ปกติ

## ระเบียบวิธีดำเนินการวิจัย

### 1. การเพาะเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลว

นำเชื้อรา *T. asperellum* PSU-PSF14 ไปเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว potato dextrose broth (PDB) ปริมาตร 10 ลิตร ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 สัปดาห์

### 2. การศึกษาทางเคมี

#### 2.1 การเตรียมส่วนสกัดหยาบ

กรอง culture broth แยกเอาเส้นใยราออก แล้วสกัดน้ำเลี้ยงเชื้อด้วยเอทิลอะซีเตตจำนวน 2 ครั้ง จากนั้นนำสารละลายเอทิลอะซีเตตไประเหยแห้งด้วยเครื่อง rotary evaporator จะได้สารสกัดหยาบ BE สำหรับเส้นใยนำมาแช่เมทานอลเป็นเวลา 3 วัน ระเหยเมทานอลออกบางส่วน เติมน้ำ แล้วทำการสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ได้ชั้นเฮกเซนและชั้นน้ำ ชั้นน้ำนำมาสกัดด้วยวิธีการเดียวกันกับส่วนน้ำเลี้ยงเชื้อ จะได้สารสกัดหยาบ CE

#### 2.2 การแยกส่วนสกัดหยาบให้บริสุทธิ์

เริ่มด้วยการตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบ ด้วยโครมาโทกราฟีแผ่นบาง ชนิดธรรมดาและ/หรือชนิด reversed-phase RP-18 โดยใช้ระบบตัวเคลื่อนที่แบบต่างๆ จากนั้นตรวจสอบสภาพการละลายของส่วนสกัดหยาบในตัวทำละลายอินทรีย์ต่าง ๆ เช่น ปีโตรเลียมอีเทอร์ ได

คลอโรมีเทน เอทิลอะซีเตต หรือเมทานอล ใช้ผลของสภาพการละลายในการแยกส่วนสกัดหยาบ ออกเป็นส่วนย่อยด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสม ตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของส่วนย่อยที่ ละลายและไม่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ด้วยโครมาโทกราฟีแผ่นบางชนิดธรรมดา และ/หรือชนิด reversed-phase RP-18 แล้วแยกส่วนย่อยที่ละลายและไม่ละลายข้างต้นด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี (column chromatography) ซึ่งอาจใช้ตัวอยู่กับที่เป็นซิลิกาเจล โดยมีตัวชะที่เป็นสารละลายผสมของ คลอโรฟอร์มและเมทานอลที่มีร้อยละของเมทานอลตั้งแต่ศูนย์ถึงร้อย เป็นต้น หรือถ้าใช้ตัวอยู่กับที่เป็น reversed-phase silica gel RP-18 จะใช้สารละลายผสมของเมทานอลและน้ำที่มีร้อยละของเมทา นอลตั้งแต่สามสิบถึงร้อยเป็นตัวชะ เป็นต้น หรือในกรณีที่ใช้ Sephadex LH 20 เป็นตัวอยู่กับที่ จะใช้เม ทานอลเป็นตัวชะ จะเลือกใช้ตัวอยู่กับที่และตัวชะแบบใดนั้นขึ้นอยู่กับลักษณะของโครมาโทแกรมของ ส่วนย่อย ทำส่วนย่อยที่ได้จากคอลัมน์โครมาโทกราฟีให้บริสุทธิ์ด้วยการทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีซ้ำ หลายครั้ง โดยเลือกใช้ตัวอยู่กับที่และตัวชะที่เหมาะสม และแยกให้เป็นสารบริสุทธิ์ด้วยโครมาโทกราฟี แผ่นหนา (preparative thin-layer chromatography) ด้วยเลือกใช้ระบบตัวเคลื่อนที่ที่เหมาะสม

### 2.3 การตรวจสอบสมบัติทางกายภาพของสารบริสุทธิ์ และการวิเคราะห์โครงสร้างสารบริสุทธิ์

ตรวจหาจุดหลอมเหลวและค่า specific rotation ของสารบริสุทธิ์ และใช้ข้อมูลสเปกโทรสโกปี ต่างๆ เช่น อัลตราไวโอเลต อินฟราเรดและวิชิเบิล นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ และแมสสเปกโทรสโกปีใน การวิเคราะห์โครงสร้างของสารบริสุทธิ์

### 3. การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์

แบคทีเรียและราก่อโรคในคนที่ใช้ทดสอบ ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, methicillin-resistant *S. aureus* SK1 (a clinical isolate) (MRSA), *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* และ *Microsporium gypseum*

#### 3.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย (Phongpaichit et al., 2006)

ทำการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียเบื้องต้นของสารตัวอย่าง (สารสกัดหยาบหรือสารบริสุทธิ์) ที่ความ เข้มข้น 200 µg/mL ด้วยวิธี broth microdilution (ดัดแปลงจากวิธี CLSI M7-A4) โดยนำสารตัวอย่างมา ละลายด้วย dimethyl sulfoxide (DMSO) ให้ได้ความเข้มข้น 100 mg/mL สำหรับเก็บเป็น stock solution จากนั้นเจือจางด้วยอาหาร Mueller Hinton broth (MHB) เพื่อให้ได้ความเข้มข้น 400 µg/mL ใสลงใน 96 well plate (50 µL) โดยทำสารตัวอย่างละ 3 หลุม นำเชื้อแบคทีเรียที่ปรับความขุ่นเท่ากับ 0.5 McFarland standard มาเจือจางด้วย MHB ในอัตราส่วน 1:200 แล้วดูดเชื้อ 50 µL ใสลงในหลุมที่มีสารตัวอย่างอยู่ 50 µL จะได้ความเข้มข้นสุดท้ายของสารตัวอย่างในการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้น 200 µg/mL นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลา 15 ชั่วโมง ดูดสี resazurin 10 µL ใสในแต่ละหลุม แล้วนำไปบ่มต่อ 2-3 ชั่วโมง เพื่อให้ เกิดปฏิกิริยาอย่างสมบูรณ์ ทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของยาด้านแบคทีเรียควบคู่กับการทดสอบฤทธิ์ต้าน แบคทีเรียของสารตัวอย่างทุกครั้งโดยใช้ยา vancomycin สำหรับเชื้อ *S. aureus* และ MRSA ที่ความเข้มข้น 10 µg/mL การอ่านผลการทดสอบ ถ้าผลการทดสอบให้ผลบวก (สารตัวอย่างสามารถยับยั้งเชื้อได้) อาหาร เลี้ยงเชื้อจะเป็นสีน้ำเงินหลังจากบ่ม ถ้าอาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนเป็นสีชมพูแสดงว่าเชื้อเติบโต นำสารตัวอย่างที่ ให้ผลบวก ไปหาค่า minimum inhibitory concentration (MIC) โดยวิธี broth microdilution เช่นกัน แต่ ทดสอบที่ความเข้มข้นในช่วง 0.25-128 µg/mL ค่า MIC คือ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารตัวอย่างที่สามารถ ยับยั้งเชื้อได้ (อาหารเลี้ยงเชื้อเป็นสีน้ำเงิน)

### 3.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านรา (Phongpaichit et al., 2006)

การทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อยีสต์ (ดัดแปลงจาก CLSI M27-A2) ทำการทดสอบทำนองเดียวกันกับแบคทีเรีย แต่ใช้อาหาร RPMI-1640 ในการทดสอบ เมื่อเติมเชื้อยีสต์แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 35 °C เวลา 18-24 ชั่วโมง สำหรับเชื้อ *C. albicans* และ บ่มที่อุณหภูมิห้อง เวลา 48 ชั่วโมง สำหรับเชื้อ *C. neoformans* ทดสอบฤทธิ์ต้านยีสต์ของยาต้านยีสต์ควบคู่กับการทดสอบฤทธิ์ต้านยีสต์ของสารตัวอย่างทุกครั้งโดยใช้ยา amphotericin B ทดสอบกับยีสต์ทั้ง 2 ชนิด ที่ความเข้มข้น 10 µg/mL

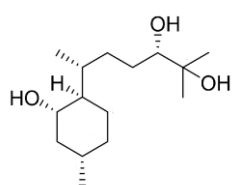
การทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อรา *M. gypseum* (ดัดแปลงจากวิธีจาก CLSI M38-A [CLSI, 2002c]) ทำการทดสอบทำนองเดียวกันกับยีสต์ และใช้ spore suspension ของเชื้อรา บ่มที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 3-7 วัน ทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อราของยาต้านเชื้อราควบคู่กับการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อราของสารตัวอย่างทุกครั้งโดยใช้ยา miconazole ที่ความเข้มข้น 10 µg/mL นำสารตัวอย่างที่ให้ผลบวกไปหาค่า minimum inhibitory concentration (MIC)

### 4. การทดสอบฤทธิ์ต้านมะเร็ง

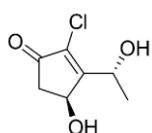
การทดสอบฤทธิ์ต้านมะเร็งเต้านมและช่องปาก และความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ

### การตรวจเอกสารหรือการทบทวนวรรณกรรม

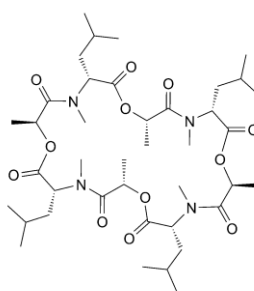
จากฐานข้อมูล SciFinder Scholar มีรายงานการศึกษาเมทาบอลิท์และฤทธิ์ทางชีวภาพของ *Trichoderma asperellum* จำนวนไม่มากนัก และพบว่าเชื้อรานี้ส่วนใหญ่ผลิตเมทาบอลิท์ที่แสดงฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ ได้แก่ bisabolan-1,10,11-triol และ 3-hydroxytrichodenone (Song et al., 2018), antibacterial cyclopeptide PF1022F และ halobacillin (Ding et al., 2012 ), pesticidal volatile compounds (Bhardwaj and Kumar, 2017) และ antifungal viridin, viridiol, viridifungin A, massoilactone และ gliovirin (Srinivasa et al., 2017) เป็นต้น



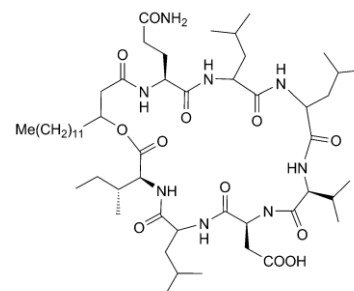
bisabolan-1,10,11-triol



3-hydroxytrichodenone



cyclopeptide PF1022F



halobacillin

## ผลและวิจารณ์ผล

### 1. การเตรียมส่วนสกัดหยาบ

ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อราเป็นเวลา 4 สัปดาห์ นำมากรองเพื่อแยกส่วนน้ำเลี้ยงเชื้อและส่วนเซลล์ ส่วนน้ำเลี้ยงเขื่อนนำมาสกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท ดูดความชื้น และทำการระเหยตัวทำละลายออกจนแห้ง ได้สารสกัดหยาบน้ำเลี้ยงเชื้อ (BE) น้ำหนัก 1.05 กรัม เป็นของหนืดสีน้ำตาลดำ สำหรับส่วนเซลล์นำไปแช่ในเมทานอลเป็นเวลา 3 วัน ทำการกรองแยกส่วนเซลล์และชั้นน้ำ โดยชั้นน้ำนำมาระเหยตัวทำละลายเมทานอลออกบางส่วน เติมน้ำ 100 มิลลิลิตร แล้วทำการสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ได้ชั้นเฮกเซนและชั้นน้ำ ชั้นน้ำนำมาสกัดด้วยวิธีการเดียวกันกับส่วนน้ำเลี้ยงเชื้อ ได้สารสกัดหยาบจากเซลล์ (CE) น้ำหนัก 1.48 กรัม เป็นของหนืดสีน้ำตาลดำ

### 2. การแยกองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบ BE

แยกสารสกัดหยาบ BE ให้เป็นส่วนย่อยด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีที่มีตัวอยู่กับที่เป็น Sephadex LH-20 โดยชะด้วย 100% เมทานอล แยกได้ 4 ส่วน (A-D) นำส่วนย่อยมาศึกษาต่อดังนี้

- ส่วน A (47.7 มิลลิกรัม) ไม่ศึกษาต่อ เนื่องจาก  $^1\text{H}$  NMR สเปกตรัม ไม่แสดงสัญญาณของโอลิฟินิก และอะโรแมติกโปรตอน

- ส่วน B (930.2 มิลลิกรัม) นำมาแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดาโดยเริ่มต้นชะด้วย 5% เมทานอล/ไดคลอโรมีเทน และเพิ่มขั้วจนถึง 100% เมทานอล ได้ 8 ส่วน (B1-B8)

● ส่วน B1 (12.5 มิลลิกรัม) ไม่ศึกษาต่อ เนื่องจาก  $^1\text{H}$  NMR สเปกตรัม ไม่แสดงสัญญาณของโอลิฟินิก และอะโรแมติกโปรตอน

● ส่วน B2 (45.5 มิลลิกรัม) ได้แยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบรวดเร็ว และใช้ อะซีโตน : เฮกเซน (1:4) เป็นตัวเคลื่อนที่ แยกได้ 7 ส่วน (B2A-B2G)

- ส่วน B2A-B2E และ B2G ไม่ศึกษาต่อ เนื่องจากโครมาโทกราฟีแผ่นบางไม่แสดงการแยกของสาร

- ส่วน B2F (10.6 มิลลิกรัม) แยกด้วยโครมาโทกราฟีแผ่นหนาในตัวเคลื่อนที่ อะซีโตน : เฮกเซน (3:7) (3 รอบ) ได้สารบริสุทธิ์จำนวน 2 สาร คือสาร 2 (3.3 มิลลิกรัม) และสาร 4 (2.9 มิลลิกรัม)

● ส่วน B3 (49.6 มิลลิกรัม) นำมาแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา โดยเริ่มต้นชะด้วย 5% เมทานอล/ไดคลอโรมีเทน และเพิ่มขั้วจนถึง 100% เมทานอล ได้สารบริสุทธิ์จำนวน 1 สาร คือ สาร 1 (15.3 มิลลิกรัม)

● ส่วน B4 (24.9 มิลลิกรัม) แยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดาโดยใช้ตัวเคลื่อนที่ เป็น 30% อะซีโตน/เฮกเซน ได้ 6 ส่วน (B4A-B4F)

- ส่วน B4A และ B4C-B4F ไม่ศึกษาต่อ เนื่องจาก  $^1\text{H}$  NMR สเปกตรัมไม่แสดงสัญญาณของสารหลัก และโครมาโทกราฟีแผ่นบางไม่แสดงการแยกของสาร

- ส่วน B4B (9.6 มิลลิกรัม) มาแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีที่มีตัวอยู่กับที่เป็น Sephadex LH-20 ชะด้วย 100% เมทานอล ได้ 2 ส่วน นำส่วนที่สองมาแยกด้วยโครมาโทกราฟีแผ่นหนาในตัวเคลื่อนที่ 10:9:1 (เฮกเซน : ไดคลอโรมีเทน : เมทานอล) (5 รอบ) ได้สารบริสุทธิ์จำนวน 1 สาร คือสาร 3 น้ำหนัก 2.9 มิลลิกรัม

● ส่วน B5-B8 เมื่อนำแต่ละส่วนไปแยกให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีทางโครมาโทกราฟีต่างๆ ไม่สามารถแยกสารได้บริสุทธิ์ จึงไม่ศึกษาต่อ

- ส่วน C (7.7 มิลลิกรัม) แยกการละลายด้วยคลอโรฟอร์ม โดยส่วนที่ไม่ละลายคลอโรฟอร์ม (5.5 มิลลิกรัม) ได้ทำให้บริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีที่มีตัวอยู่กับที่เป็น Sephadex LH-20 ชะด้วย 100% เมทานอลได้สารบริสุทธิ์จำนวน 1 สาร คือสาร 5 (2.3 มิลลิกรัม)

- ส่วน D เนื่องจาก  $^1\text{H}$  NMR สเปกตรัมไม่แสดงสัญญาณของสารหลักและโครมาโทกราฟีแผ่นบางไม่แสดงการแยกของสาร จึงไม่ศึกษาต่อ

### 3. การแยกองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบ CE

แยกสารสกัดหยาบ CE ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีที่มีตัวอยู่กับที่เป็น Sephadex LH-20 โดยชะด้วย 100% เมทานอล ได้ 6 ส่วน (A-F)

ส่วน A-D และ F ไม่ศึกษาต่อ เนื่องจาก  $^1\text{H}$  NMR สเปกตรัมไม่แสดงสัญญาณของสารหลัก และโครมาโทกราฟีแผ่นบางไม่แสดงการแยกของสาร เมื่อนำแต่ละส่วนไปแยกให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีทางโครมาโทกราฟีต่างๆ ไม่สามารถแยกสารได้บริสุทธิ์ จึงไม่ศึกษาต่อ

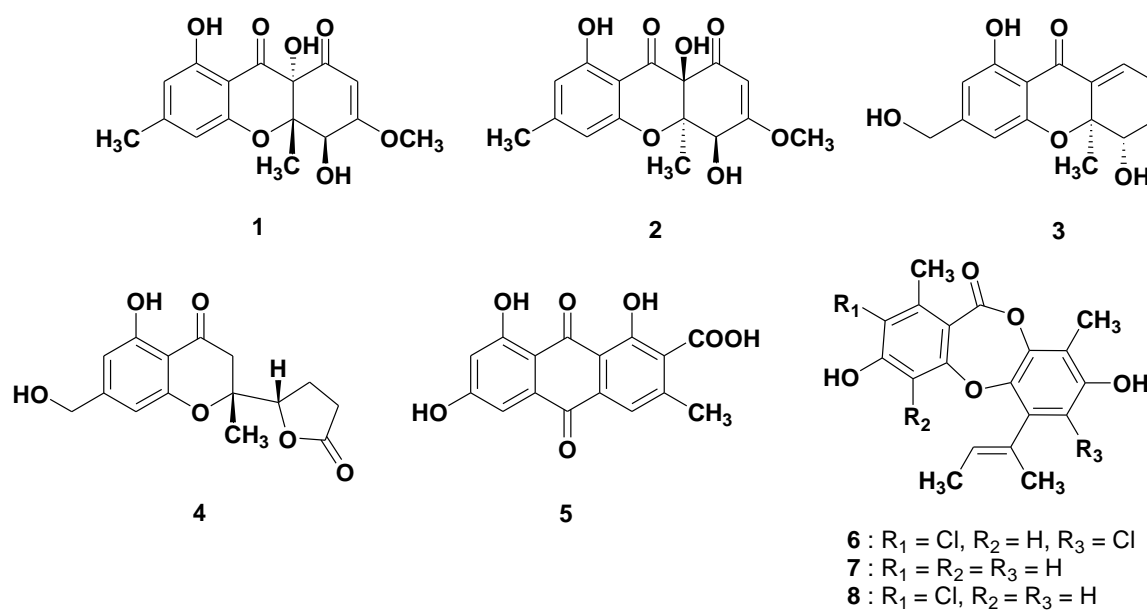
- ส่วน E (18.4 มิลลิกรัม) นำมาแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา โดยชะด้วย 0-100% เมทานอล/ไดคลอโรมีเทน ได้ 4 ส่วน (E1-E4)

● ส่วน E1 (6.2 มิลลิกรัม) แยกด้วยโครมาโทกราฟีแผ่นหนาในตัวเคลื่อนที่ 1% เมธานอบ/ไดคลอโรมีเทน (2 รอบ) ได้สารบริสุทธิ์จำนวน 3 สาร คือสาร 6 (2.5 มิลลิกรัม) สาร 7 (2.6 มิลลิกรัม) และสาร 8 (0.5 มิลลิกรัม)

- ● ส่วน E2-E4 นำแต่ละส่วนมาแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา โดยชะด้วย 0-100% เมทานอล/ไดคลอโรมีเทน พบว่าโครมาโทกราฟีแผ่นหนาของส่วนย่อยทั้งหมดไม่แสดงการแยกของสาร นอกจากนี้  $^1\text{H}$  NMR สเปกตรัมไม่แสดงสัญญาณของสารหลัก จึงไม่ศึกษาต่อ

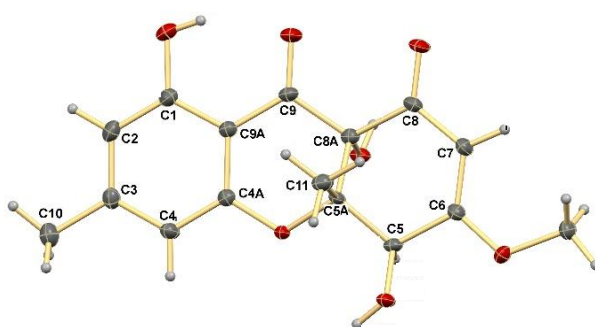
### 4. การวิเคราะห์โครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้

วิเคราะห์โครงสร้างโดยใช้ข้อมูลทาง 1D และ 2D NMR ตลอดจนข้อมูลแมส สเตอริโอเคมีสัมพัทธ์ (relative configuration) วิเคราะห์โดยใช้ข้อมูล NOEDIFF และยืนยันโครงสร้างด้วยเทคนิค X-ray สำหรับสาร 1 ส่วนสเตอริโอเคมีสมบูรณ์ (absolute configuration) กำหนดได้โดยการเปรียบเทียบข้อมูล CD (circular dichroism) ที่ได้จากการทดลองกับข้อมูล TDDFT ECD ที่ได้จากการคำนวณ



รูปที่ 1 โครงสร้างเคมีของสาร 1-8 ที่แยกได้จากราดิน *Trichoderma asperellum* PSU-PSF14

สาร 1-8 มีโครงสร้างดังแสดงในรูปที่ 1 โดยสาร 1-3 จัดเป็นสารใหม่ โครงสร้างของสาร 1 ยืนยันด้วยข้อมูล X-ray (รูปที่ 2) สำหรับสาร 4-8 เป็นสารที่มีการรายงานโครงสร้างแล้ว ได้แก่ คือ lachnone C (Rukachaisirikul et al., 2006), endocrocin (Chiang et al., 2010), aspergillusidone C (Sureram et al., 2012), unguinol (Sureram et al., 2013) และ 2-chlorounguinol (Kawahara et al., 1988) ตามลำดับ โดยทำการยืนยันโครงสร้างยกเว้น unguinol โดยเปรียบเทียบข้อมูล NMR กับข้อมูลที่มีการรายงานไว้แล้ว

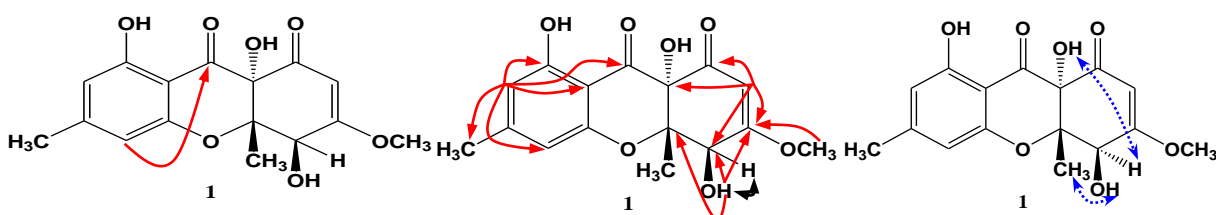


รูปที่ 2 X-ray crystal structure ของสาร 1

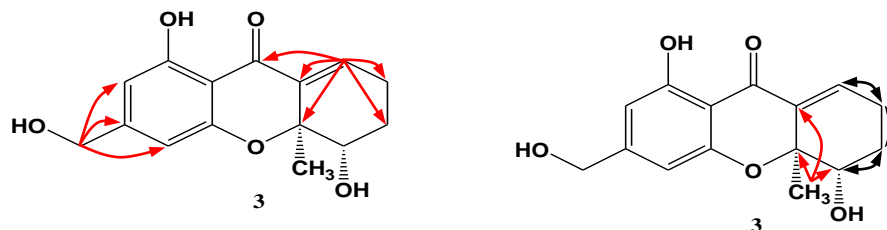
ตารางที่ 1 ข้อมูล  $^1\text{H}$  และ  $^{13}\text{C}$  NMR ของสาร 1 และ 2 ใน acetone- $d_6$  และ 3 ใน  $\text{CDCl}_3$

Position	1		2		3	
	$\delta_{\text{H}}$ (mult., $J$ in Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ (mult., $J$ in Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ (mult., $J$ in Hz)	$\delta_{\text{C}}$
1		163.8		163.6		163.6
1-OH	11.53 (s)		11.38 (s)		12.24 (s)	
2	6.33 (s)	110.6	6.37 (d, 1.2)	110.9	6.51 (s)	107.1
3		151.1		151.0		152.7
4	6.30 (s)	109.2	6.34 (d, 1.2)	109.2	6.44 (s)	105.5
4a		158.8		158.4		159.3
5	5.18 (d, 5.4)	70.7	4.48 (brs)	75.2	4.22 (dd, 12.6, 4.2)	73.0
5-OH	5.31 (d, 5.4)		6.18 (brs)			
5a		74.1		80.1		82.7
6		173.8		173.0	a: 2.05 (m) b: 1.75 (m)	26.0
6-OCH <sub>3</sub>	3.82 (s)	57.1	3.87 (s)	57.2		
7	5.30 (s)	100.7	5.41 (d, 0.9)	102.1	a: 2.54 (m) b: 2.49 (m)	24.9
8		190.9		190.6	6.97 (t, 3.6)	137.6
8a		85.4		73.6		135.5
8a-OH	6.55 (s)		6.90 (s)			
9		193.9		192.2		185.6
9a		106.1		105.9		106.5
10	2.28 (s)	22.4	2.30 (s)	22.3	4.63 (s)	64.7
11	1.36 (s)	14.1	1.42 (s)	19.5	1.49 (s)	18.8

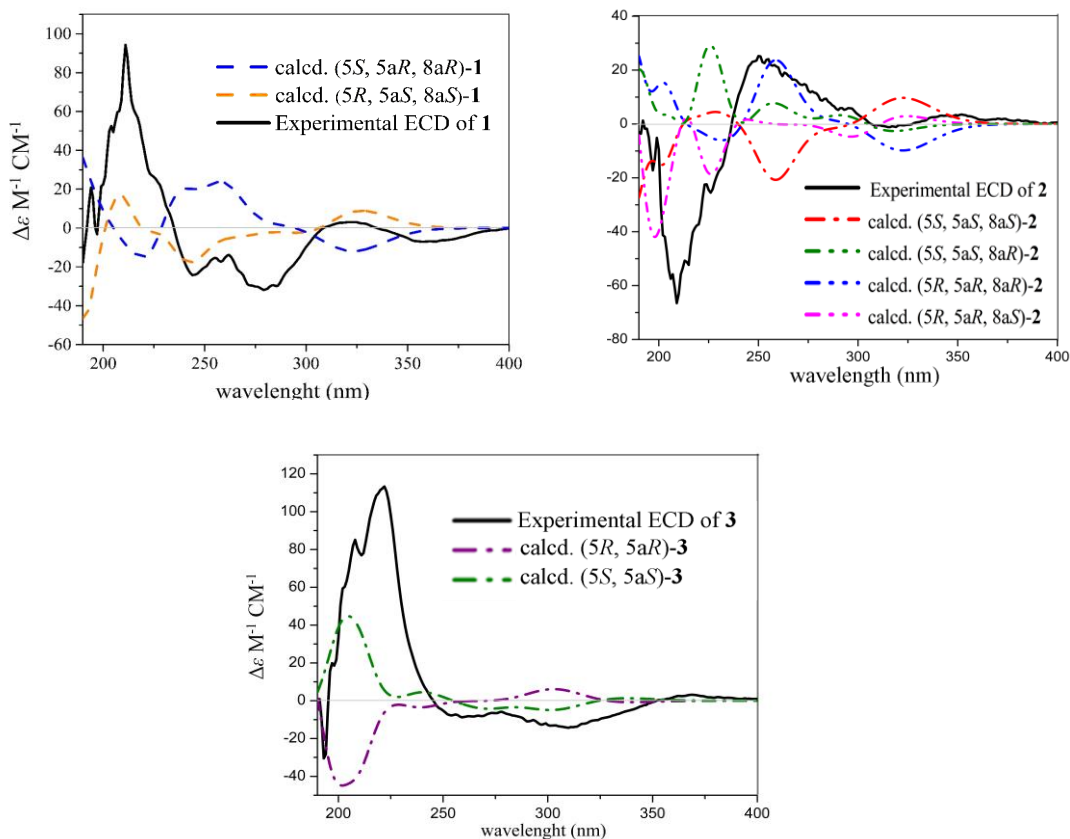
สาร 1-3 แสดงข้อมูล  $^1\text{H}$  และ  $^{13}\text{C}$  NMR ดังแสดงในตารางที่ 1 ตลอดจนข้อมูล HMBC และ NOEDIFF ของสาร 1 และ 3 แสดงในรูปที่ 3 และ 4 ตามลำดับ นอกจากนี้รูปที่ 5 แสดงการเปรียบเทียบข้อมูล CD ที่ได้จากการทดลองกับข้อมูล TDDFT ECD ที่ได้จากการคำนวณของสารใหม่ ซึ่งทำให้สามารถสรุปสเตอริโอเคมีสัมบูรณ์ของสารได้ดังแสดงในรูปที่ 1 รายละเอียดการวิเคราะห์โครงสร้างของสารใหม่แสดงในผลงานตีพิมพ์ในภาคผนวก



รูปที่ 3  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY (↔), HMBC (↔) และ NOEDIFF (↔) data ของสาร 1



รูปที่ 4  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY (↔) และ HMBC (↔) correlations ของสาร 3



รูปที่ 5 Experimental และ calculated ECD สเปกตรัมของสาร 1-3

## 5. การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

ทำการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสาร 1 เพียงสารเดียว เนื่องจากสารที่เหลือแยกได้ในปริมาณน้อยกว่า 5 มิลลิกรัม โดยตรวจสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ (*S. aureus*, methicillin-resistant *S. aureus*, *C. albicans*, *C. neoformans* และ *M. gypseum*) ต้านมะเร็งเต้านม (MCF-7 cell lines) และช่องปาก (KB cell lines) ตลอดจนความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ (Vero cells) พบว่าสาร 1 แสดงฤทธิ์การยับยั้งเฉพาะเชื้อรา *C. neoformans* ATCC90112 และ ATCC90113 flucytosine-resistant ด้วยค่า MIC 128 และ 64  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ตามลำดับ โดย amphotericin B ที่ใช้เป็นสารมาตรฐานแสดงค่า MIC 0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  นอกจากนี้ไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งทั้งสองชนิดและเซลล์ปกติ

## สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

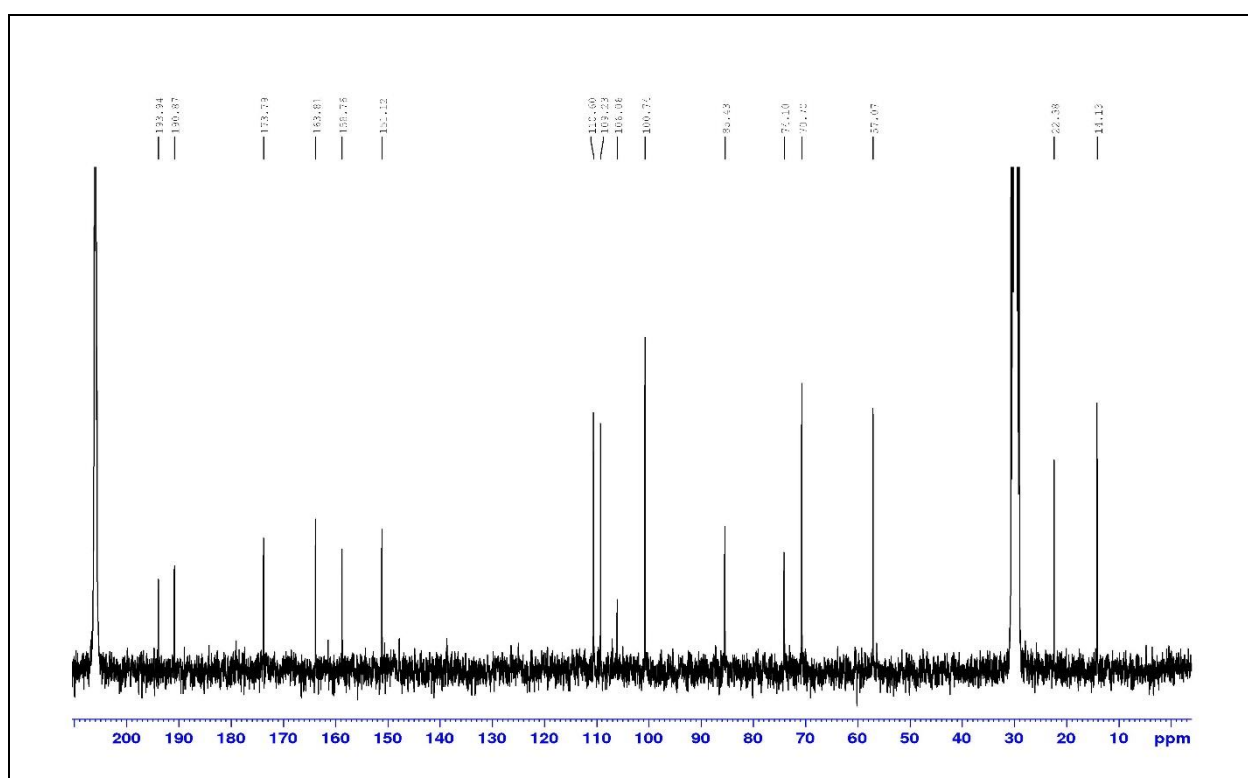
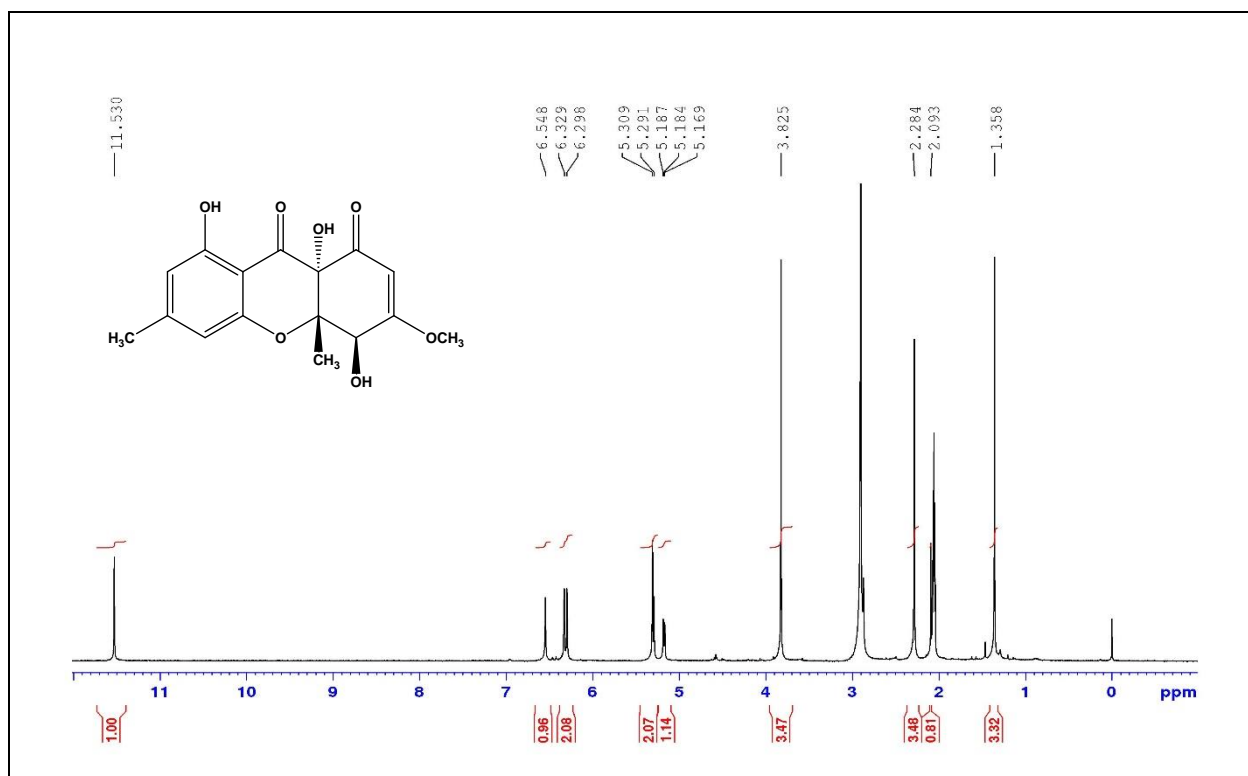
ทำการเลี้ยงเชื้อ *T. asperellum* PSU-PSF14 ใน potato dextrose broth เป็นเวลา 4 สัปดาห์ จากนั้นนำมาแยกส่วนเซลล์ออก แล้วสกัดน้ำเลี้ยงเชื้อด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตต นำสารสกัดในตัวทำละลายอินทรีย์มาระเหยแห้ง ได้สารสกัดหยาบ BE หนัก 1.05 กรัม เป็นของหนืดสีน้ำตาลดำ สำหรับส่วนเซลล์นำมาสกัดด้วยเมทานอลเป็นเวลา 3 วัน ระเหยเมทานอลออกบางส่วน เติมน้ำ แล้วสกัดด้วยเฮกเซน จากนั้นสกัดชั้นน้ำต่อด้วยเอทิลอะซิเตต นำสารละลายเอทิลอะซิเตตที่ได้มาระเหยแห้ง ได้สารสกัดหยาบ CE หนัก 1.48 กรัม เป็นของหนืดสีน้ำตาลดำ จากการศึกษาเบื้องต้นพบว่าสารสกัดหยาบ BE และ CE แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อรา *C. neoformans* ด้วยค่า MIC ที่น่าสนใจ คือ 64 และ 32  $\mu\text{g/mL}$  ตามลำดับ แต่แสดงฤทธิ์ต้านแบคทีเรียและความเป็นพิษต่อ KB cell lines และเซลล์ปกติต่ำมากๆ เมื่อนำสารสกัดหยาบทั้งสองนี้มาแยกด้วยโครมาโทกราฟีประเภทต่างๆ สามารถแยกบริสุทธิ์ได้จำนวน 8 สาร จัดเป็นสารใหม่ประเภท blennolide จำนวน 3 สาร คือ blennolides L-N ตลอดจนสารที่มีการรายงานโครงสร้างแล้วจำนวน 5 สาร ได้แก่ lachnone C (4), endocrocin (5), aspergillusidone C (6), unguinol (7) และ 2-chlorounginol (8) นำสาร 1 ที่แยกได้ในปริมาณที่มากกว่า 5 มิลลิกรัมไปทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ต่อ *S. aureus*, methicillin-resistant *S. aureus* SK1 (a clinical isolate), *C. albicans*, *C. neoformans* และ *M. gypseum* พบว่าแสดงฤทธิ์การยับยั้งเฉพาะเชื้อรา *C. neoformans* ATCC90112 และ ATCC90113 flucytosine-resistant ด้วยค่า MIC 128 และ 64  $\mu\text{g/mL}$  ตามลำดับ นอกจากนี้เมื่อนำไปทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ มะเร็งเต้านม (MCF-7) และมะเร็งช่องปาก (KB) พบว่าไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ทุกชนิด เนื่องจากสารบริสุทธิ์แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อราได้ดีน้อยกว่าสารสกัดหยาบทั้งสองส่วนมาก ทั้งนี้อาจเนื่องจาก synergis effect ของสารในสารสกัดหยาบ อย่างไรก็ตามการนำสารสกัดหยาบไปพัฒนาต่อ ต้องตรวจสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ และต้องวิเคราะห์ chemical profile ของสารสกัดหยาบ

## เอกสารอ้างอิง

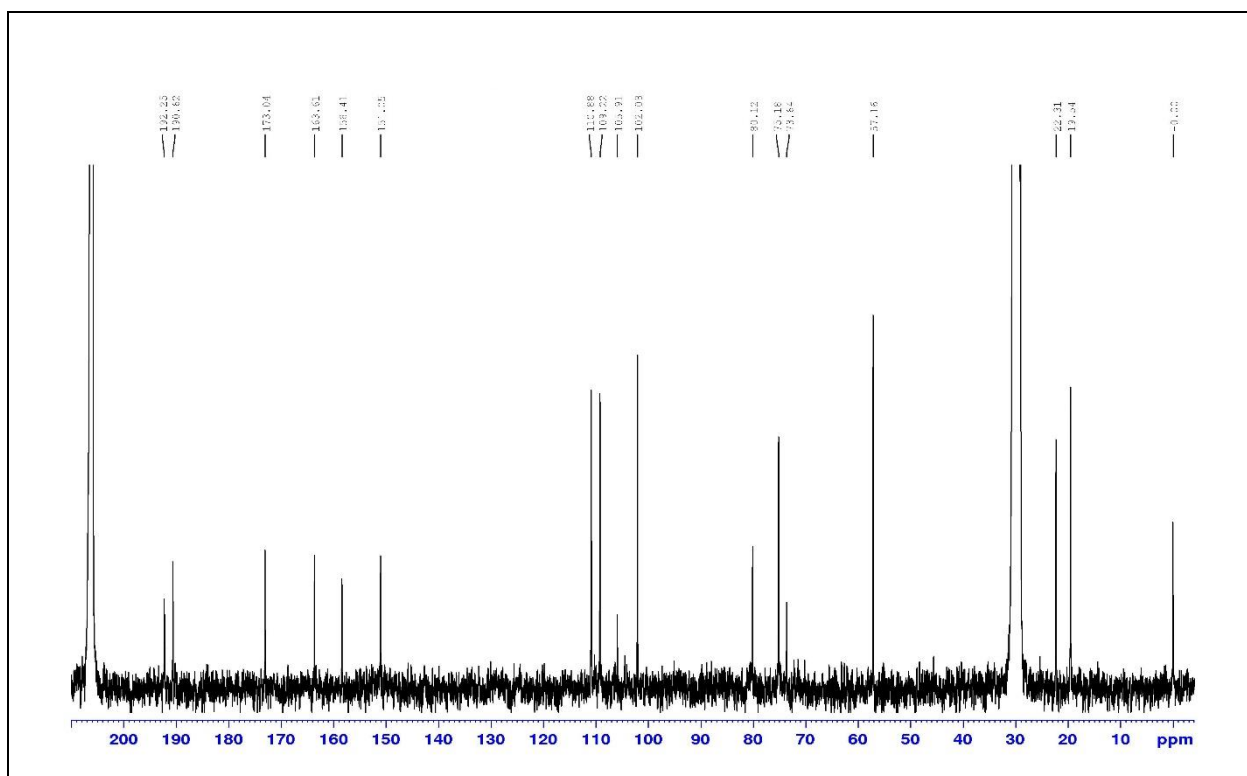
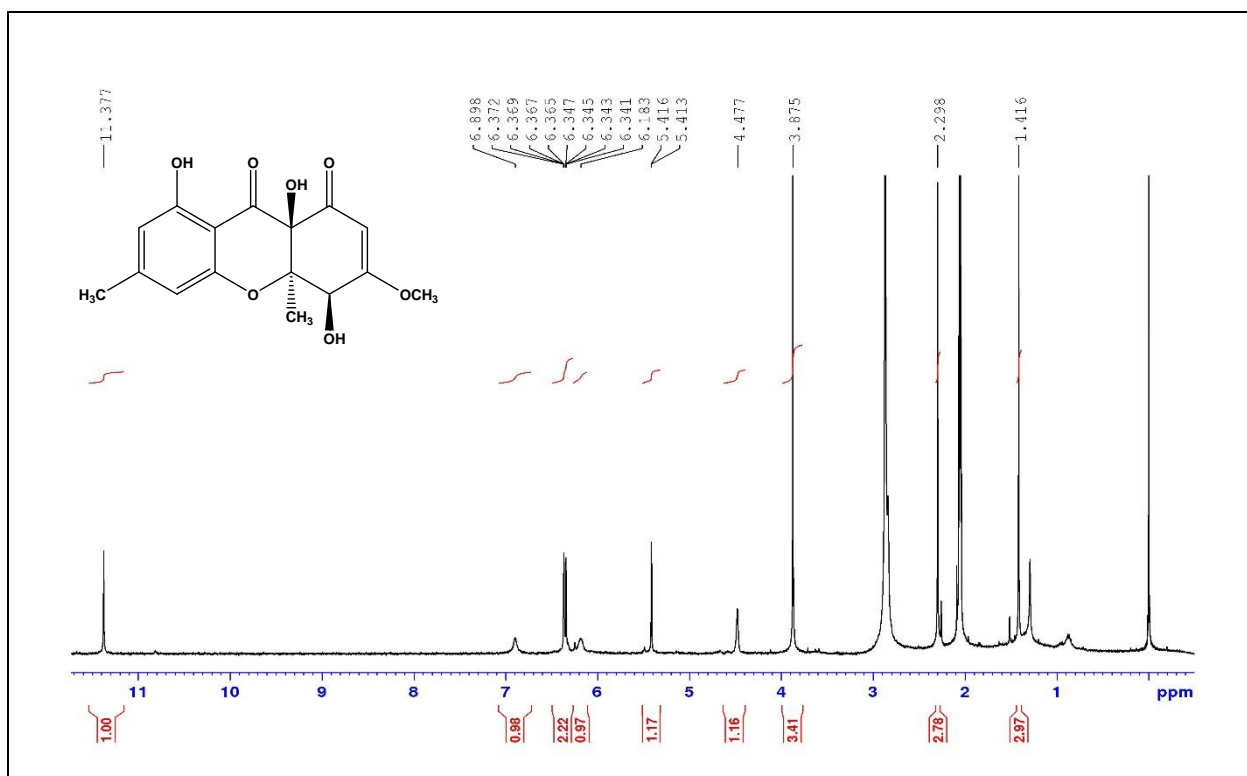
- Bhardwaj, N.R.; Kumar, J. *J. Appl. & Nat. Sci.* **2017**, *9*, 954-959.
- Chiang, Y.-M.; Szewczyk, E.; Davidson, A.D.; Entwistle, R.; Keller, N.P.; Wang, C.C.C.; Oakley, B. *R. Appl. Environ. Microbiol.* **2010**, *76*, 2067-2074.
- Ding, G.; Chen, A. J.; Lan, J.; Zhang, H.; Chen, X.; Liu, X.; Zou, Z. *Chem. Biodivers.* **2012**, *9*, 1205-1212.
- Kawahara, N.; Nakajima, S.; Satoh, Y.; Yamazaki, M.; Kawai K.-I. *Chem. Pharm. Bull.* **1988**, *36*, 1970-1975.
- Phongpaichit, S.; Rungjindamai, N.; Rukachaisirikul, V.; Sakayaroj, J., *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* **2006**, *48*, 367-372.
- Rukachaisirikul, V.; Chantaruk, S.; Pongcharoen, W.; Isaka, M.; Lapanun, S. *J. Nat. Prod.* **2006**, *69*, 980-982.
- Song, Y.-P.; Miao, F.-P.; Fang, S.-T.; Yin, X.-L.; Ji, N.-Y., *Mar. Drugs* **2018**, *16*, 266/1-266/9.

- Srinivasa, N.; Sriram, S.; Singh, C.; Shivashankar, K.S. *Int. J. Curr. Microbiol .App. Sci.* **2017**, *6*, 1105-1123.
- Sureram, S.; Kesornpun, C.; Mahidol, C.; Ruchirawat, S.; Kittakoop, P. *RSC Adv.* **2013**, *3*, 1781–1788.
- Sureram, S.; Wiyakrutta, S.; Ngamrojanavanich, N.; Mahidol, C.; Ruchirawat, S.; Kittakoop P. *Planta Med*, **2012**, *78*, 582–588.

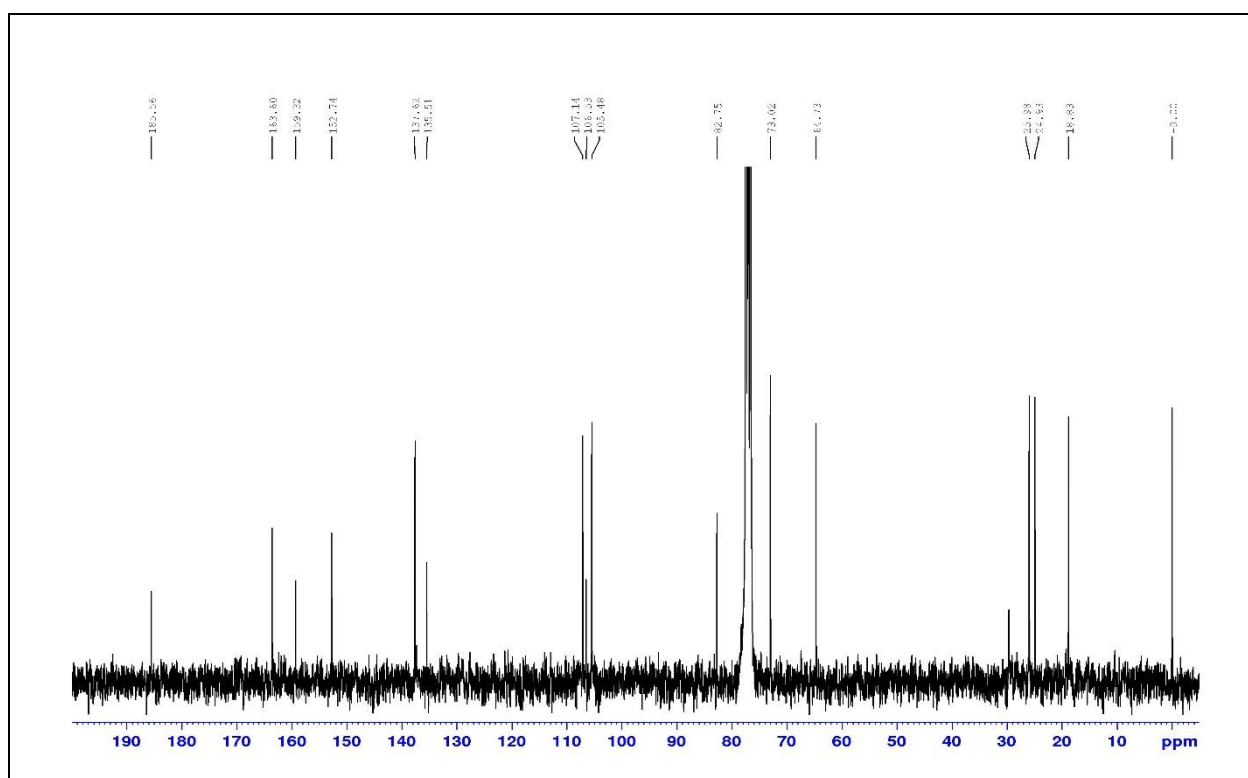
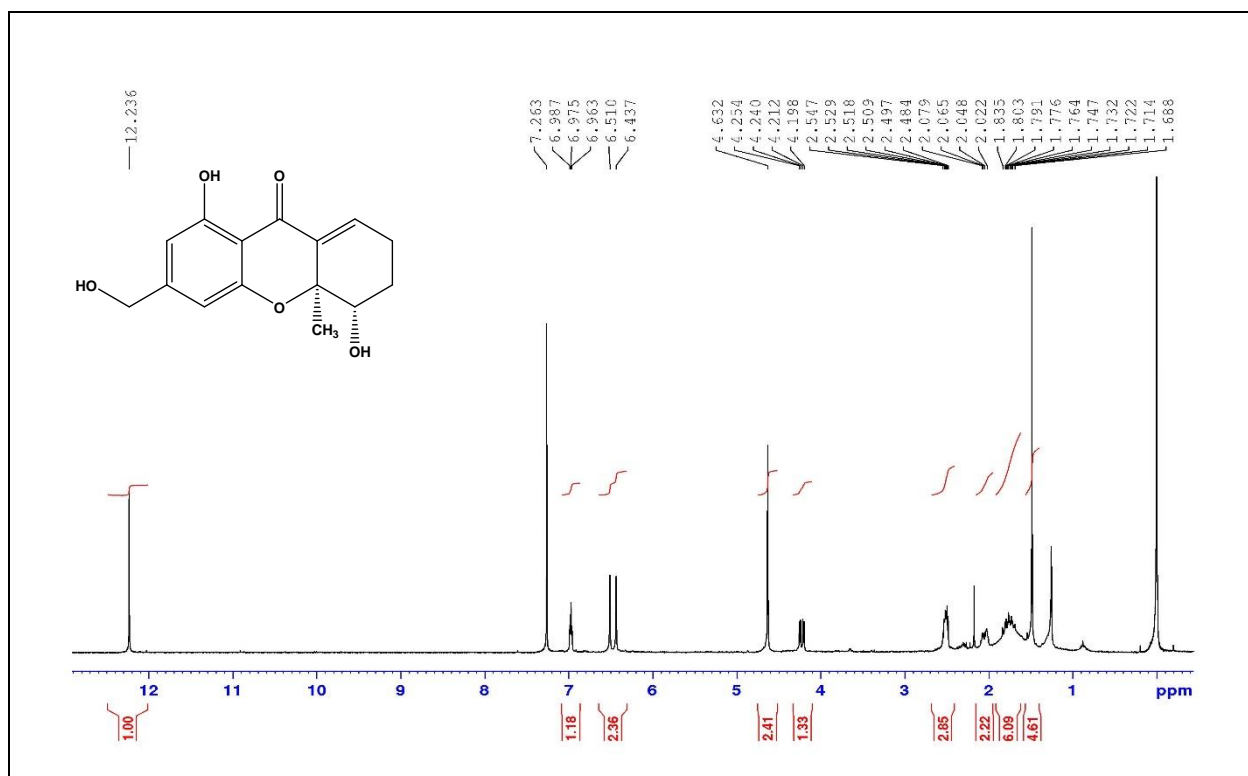
ภาคผนวก



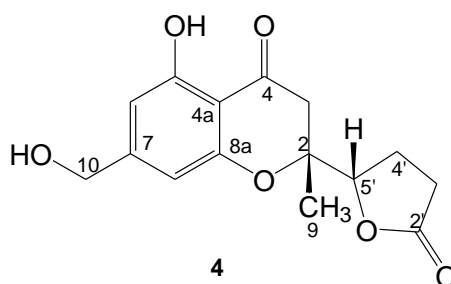
รูปที่ S1  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz) และ  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz) spectra ของสาร 1 ใน  $\text{acetone-}d_6$



รูปที่ S2  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz) และ  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz) spectra ของสาร 2 ใน  $\text{acetone-}d_6$

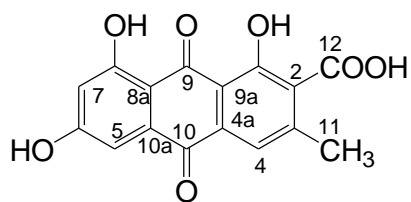


รูปที่ S3 <sup>1</sup>H NMR (300 MHz) และ <sup>13</sup>C NMR (75 MHz) spectra ของสาร **3** ใน CDCl<sub>3</sub>



ตารางที่ S1 ข้อมูล  $^1\text{H}$  และ  $^{13}\text{C}$  NMR ของสาร **4** และ lachnone C ใน  $\text{CDCl}_3$

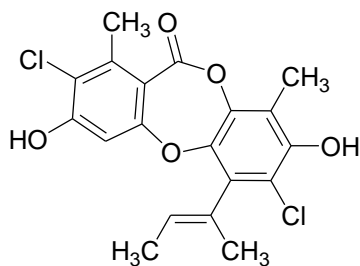
Position	<b>4</b>		lachnone C	
	$\delta_{\text{H}}$ (mult., $J_{\text{Hz}}$ )	$\delta_{\text{C}}$ (C-Type)	$\delta_{\text{H}}$ (mult., $J_{\text{Hz}}$ )	$\delta_{\text{C}}$ (C-Type)
2	-	80.9 (C)	-	80.9 (C)
3	a: 2.98 ( <i>d</i> , 17.1) b: 2.61 ( <i>d</i> , 17.1)	43.2 ( $\text{CH}_2$ )	a: 2.98 ( <i>d</i> , 17.1) b: 2.61 ( <i>d</i> , 17.1)	42.9 ( $\text{CH}_2$ )
4	-	195.7 (C=O)	-	195.8 (C=O)
4a	-	106.7 (C)	-	106.9 (C)
5	-	162.2 (C)	-	162.0 (C)
5-OH	11.56 ( <i>s</i> )	-	11.57 ( <i>s</i> )	-
6	6.52 ( <i>s</i> )	107.2 (CH)	6.52 ( <i>brs</i> )	106.4 (CH)
7	-	153.2 (C)	-	153.2 (C)
8	6.45 ( <i>s</i> )	105.4 (CH)	6.45 ( <i>s</i> )	105.3 (CH)
8a	-	159.1 (C)	-	158.9 (C)
9	1.45 ( <i>s</i> )	19.2 ( $\text{CH}_3$ )	1.43 ( <i>s</i> )	19.1 ( $\text{CH}_3$ )
10	4.63 ( <i>s</i> )	64.6 ( $\text{CH}_2$ )	4.63 ( <i>brs</i> )	64.5 ( $\text{CH}_2$ )
2'	-	175.7 (C=O)	-	176.1 (C=O)
3'	2.64 ( <i>m</i> )	28.2 ( $\text{CH}_2$ )	2.60 ( <i>m</i> )	28.2 ( $\text{CH}_2$ )
4'	2.32 ( <i>m</i> )	22.4 ( $\text{CH}_2$ )	2.32 ( <i>m</i> )	22.3 ( $\text{CH}_2$ )
5'	4.58 ( <i>t</i> , 7.2)	82.6 (CH)	4.58 ( <i>t</i> , 7.2)	82.6 (CH)



## 5

ตารางที่ S2 ข้อมูล  $^1\text{H}$  และ  $^{13}\text{C}$  NMR ของสาร 5 และ endocrocin ใน  $\text{CD}_3\text{OD}$

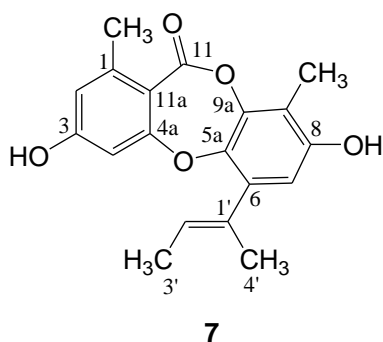
Position	5		endocrocin	
	$\delta_{\text{H}}$ (mult., $J_{\text{Hz}}$ )	$\delta_{\text{C}}$ (C-Type)	$\delta_{\text{H}}$ (mult., $J_{\text{Hz}}$ )	$\delta_{\text{C}}$ (C-Type)
1	-	159.6 (C)	-	159.9 (C)
2	-	138.1 (C)	-	132.2 (C)
3	-	144.2 (C)	-	145.6 (C)
4	7.57 (s)	122.4 (CH)	7.58 (s)	122.1 (CH)
4a	-	132.9 (C)	-	136.9 (C)
5	7.18 (d, 1.5)	110.0 (CH)	7.15 (d, 2.4)	110.4 (CH)
6	-	167.1 (C)	-	167.6 (C)
7	6.56 (d, 1.5)	109.0 (CH)	6.54 (d, 2.4)	109.2 (CH)
8	-	166.6 (C)	-	166.8 (C)
8a	-	110.8 (C)	-	110.7(C)
9	-	191.8 (C=O)	-	191.8 (C=O)
9a	-	115.2 (C)	-	115.4 (C)
10	-	183.2 (C=O)	-	182.7 (C=O)
10a	-	137.0 (C)	-	134.5 (C)
11	2.46 (s)	20.5 ( $\text{CH}_3$ )	2.43 (s)	20.4 ( $\text{CH}_3$ )
12	-	173.2 (C=O)	-	170.0 (C=O)



6

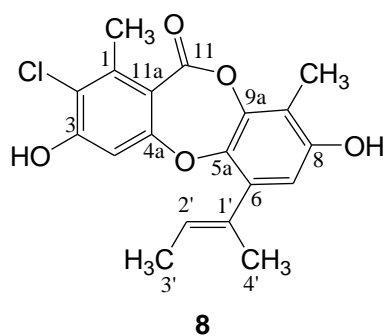
ตารางที่ S3 ข้อมูล  $^1\text{H}$  และ  $^{13}\text{C}$  NMR ของสาร 6 ใน acetone- $d_6$  และ aspergillusidone C ใน  $\text{CDCl}_3$

Position	6		aspergillusidone C	
	$\delta_{\text{H}}$ (mult., J <sub>HZ</sub> )	$\delta_{\text{C}}$ (C-Type)	$\delta_{\text{H}}$ (mult., J <sub>HZ</sub> )	$\delta_{\text{C}}$ (C-Type)
1	-	141.8 (C)	-	141.6 (C)
1-Me	2.47 (s)	17.6 (CH <sub>3</sub> )	2.53 (s)	18.4 (CH <sub>3</sub> )
2	-	114.5 (C)	-	115.8 (C)
3	-	157.2 (C)	-	161.6 (C)
3-OH	10.01 (brs)	-	-	-
4	6.71 (s)	105.5 (CH)	6.59 (s)	105.6 (CH)
4a	-	161.2 (C)	-	155.0 (C)
5a	-	141.6 (C)	-	141.5 (C)
6	-	134.4 (C)	-	134.2 (C)
7	-	115.5 (C)	-	114.9 (C)
8	-	148.7 (C)	-	147.6 (C)
8-OH	8.32 (brs)	-	-	-
9	-	116.5 (C)	-	115.5 (C)
9-Me	2.25 (s)	9.3 (CH <sub>3</sub> )	2.28 (s)	9.9 (CH <sub>3</sub> )
9a	-	142.3 (C)	-	142.3 (C)
11	-	161.7 (C=O)	-	162.2 (C=O)
11a	-	119.6 (C)	-	119.1 (C)
1'	-	129.4 (C)	-	129.1 (C)
2'	5.42 (qq, 6.6, 1.5)	126.8 (CH)	5.40 (dq, 6.7, 1.2)	127.3 (CH)
3'	1.89 (dq, 6.6, 1.2)	12.8 (CH <sub>3</sub> )	1.89 (d, 6.7)	13.6 (CH <sub>3</sub> )
	1.96 (qn, 1.2)	16.5 (CH <sub>3</sub> )	1.95 (s)	17.1 (CH <sub>3</sub> )



ตารางที่ S4 ข้อมูล NMR ของสาร 7 ใน acetone- $d_6$

Position	$\delta_{\text{H}}$ (mult., $J_{\text{Hz}}$ )	$\delta_{\text{C}}$ (C-Type)	HMBC	COSY	NOEDIFF
1	-	144.85 (C)	-	-	-
1-Me	2.40 (s)	20.0 (CH <sub>3</sub> )	C-1, C-2, C-11, C-11a	-	H-2
2	6.63 (dq, 2.4, 0.6)	115.5 (CH)	1-Me, C-3, C-4, C-11, C-11a	1-Me, H-4	1-Me
3	-	161.4 (C)	-	-	-
3-OH	9.44 <sup>a</sup> (brs)	-	-	-	-
4	6.45 (d, 2.4)	104.8 (CH)	C-2, C-3, C-4a, C-11, C-11a	H-2	H-2', H <sub>3</sub> -3', H <sub>3</sub> -4'
4a	-	162.4 (C)	-	-	-
5a	-	141.4 (C)	-	-	-
6	-	135.9 (C)	-	-	-
7	6.51 (s)	111.1 (CH)	C-5a, C-6, C-8, C-9, 9-Me, C-1'	-	H-2', H <sub>3</sub> -4'
8	-	152.4 (C)	-	-	-
8-OH	8.54 <sup>a</sup> (brs)	-	-	-	-
9	-	115.2 (C)	-	-	-
9-Me	2.15 (s)	8.4 (CH <sub>3</sub> )	C-5a, C-7, C-8, C-9, C-9a	-	-
9a	-	143.9 (C)	-	-	-
11	-	163.8 (C=O)	-	-	-
11a	-	113.0 (C)	-	-	-
1'	-	132.8 (C)	-	-	-
2'	5.55 (qq, 6.9, 1.5)	125.1 (CH)	C-6, C-3', C-4'	H <sub>3</sub> -3', H <sub>3</sub> -4'	H-4, H-7, H <sub>3</sub> -3'
3'	1.81 (dq, 6.9, 1.5)	13.0 (CH <sub>3</sub> )	C-6, C-1', C-2', C-4'	H-2', H <sub>3</sub> -4'	H-4, H-2', H <sub>3</sub> -4'
4'	2.09 (brs)	16.7 (CH <sub>3</sub> )	C-6, C-1', C-2', C-3'	H-2', H <sub>3</sub> -3'	H-4, H-7, H <sub>3</sub> -3'



ตารางที่ S5 ข้อมูล  $^1\text{H}$  และ  $^{13}\text{C}$  NMR ของสาร **8** ใน acetone- $d_6$  และ 2-chlorounginol ใน  $\text{CDCl}_3$

Position	<b>8</b>		<b>2-chlorounginol</b>	
	$\delta_{\text{H}}$ (mult., $J_{\text{Hz}}$ )	$\delta_{\text{C}}$ (C-Type)	$\delta_{\text{H}}$ (mult., $J_{\text{Hz}}$ )	$\delta_{\text{C}}$ (C-Type)
1	-	141.4 (C)	-	141.2 (C)
1-Me	2.47 (s)	17.3 ( $\text{CH}_3$ )	2.52 (s)	18.1 ( $\text{CH}_3$ )
2	-	114.9 (C)	-	119.2 (C)
3	-	161.5 (C)	-	161.5 (C)
3-OH	-	-	6.05 (s)	-
4	6.69 (s)	105.5 (CH)	6.59 (brs)	105.5 (CH)
4a	-	157.0 (C)	-	156.0 (C)
5a	-	141.4 (C)	-	141.2 (C)
6	-	136.0 (C)	-	132.5 (C)
7	6.52 (s)	111.1 (CH)	6.41 (brs)	111.3 (CH)
8	-	152.6 (C)	-	152.0 (C)
8-OH	-	-	4.77 (brs)	-
9	-	115.2 (C)	-	115.1 (C)
9-Me	2.15 (s)	8.3 ( $\text{CH}_3$ )	2.21 (s)	9.0 ( $\text{CH}_3$ )
9a	-	143.7 (C)	-	143.4 (C)
11	-	162.1 (C=O)	-	162.7 (C=O)
11a	-	119.4 (C)	-	115.2 (C)
1'	-	132.6 (C)	-	135.7 (C)
2'	5.55 (qq, 6.9, 1.5)	125.4 (CH)	5.56 (brq, 6.8)	125.3 (CH)
3'	1.81 (dq, 6.9, 1.2)	13.0 ( $\text{CH}_3$ )	1.82 (dq, 6.8, 1.0)	13.6 ( $\text{CH}_3$ )
4'	2.04 (d, 1.2)	16.8 ( $\text{CH}_3$ )	2.05 (brs)	17.3 ( $\text{CH}_3$ )

ผลงานตีพิมพ์



Contents lists available at ScienceDirect

Tetrahedron

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/tet](http://www.elsevier.com/locate/tet)

## Blennolide derivatives from the soil-derived fungus *Trichoderma asperellum* PSU-PSF14

Athip Maha<sup>a</sup>, Patima Phainuphong<sup>a</sup>, Vatcharin Rukachaisirikul<sup>a,\*</sup>, Saowanit Saithong<sup>a</sup>, Souwalak Phongpaichit<sup>b</sup>, Sarinya Hadsadee<sup>c</sup>, Siriporn Jungstittiwong<sup>c</sup>, Sita Preedanon<sup>d</sup>, Jariya Sakayaroj<sup>e</sup>

<sup>a</sup> Department of Chemistry and Center of Excellence for Innovation in Chemistry, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla 90112, Thailand

<sup>b</sup> Natural Products Research Center of Excellence and Department of Microbiology, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla 90112, Thailand

<sup>c</sup> Department of Chemistry and Center of Excellence for Innovation in Chemistry, Faculty of Science, Ubon Ratchathani University, Ubon Ratchathani 34190, Thailand

<sup>d</sup> National Center for Genetic Engineering and Biotechnology (BIOTEC), Thailand Science Park, Klong Luang, Pathumthani 12120, Thailand

<sup>e</sup> School of Science, Walailak University, Thasala, Nakhonsithammarat 80161, Thailand



### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 19 May 2018  
Received in revised form  
18 July 2018  
Accepted 19 July 2018  
Available online 26 July 2018

#### Keywords:

*Trichoderma asperellum*  
Soil-derived fungus  
Blennolide derivatives  
Antifungal activity  
Cytotoxic activity

### ABSTRACT

Three new blennolide derivatives, blennolides L–N (**1–3**), together with five known metabolites were isolated from the soil-derived fungus *Trichoderma asperellum* PSU-PSF14. Their structures were determined by analysis of spectroscopic data. Their relative configurations were determined by analysis of NOEDIFF data and confirmed by X-ray crystallography for compound **1** whereas the absolute configurations were established by means of experimental and calculated TDDFT ECD data. Compound **1** displayed antifungal activity against *Cryptococcus neoformans* ATCC90112 and ATCC90113 flucytosine-resistant with the MIC values of 128 and 64 µg/mL, respectively, and was inactive against noncancerous Vero cell lines.

© 2018 Elsevier Ltd. All rights reserved.

### 1. Introduction

Fungi of the genus *Trichoderma* are an important source of various bioactive metabolites, for example, the antibacterial PF1022F and halobacillin [1] and cytotoxic dithioaspergillazine A [2]. As part of our research program on the utilization of soil fungi, we investigated secondary metabolites produced by *Trichoderma asperellum* PSU-PSF14 isolated from soil samples collected from Sirindhorn Peat Swamp Forest Nature Research and Study Centre, Narathiwat Province, Thailand. The broth ethyl acetate extracts of *T. asperellum* PSU-PSF14 exhibited antifungal activity against *Cryptococcus neoformans* ATCC90112 and ATCC90113 flucytosine-resistant with equal MIC values of 64 µg/mL. In addition, the mycelial ethyl acetate extract showed antifungal activity against

*C. neoformans* ATCC90113 flucytosine-resistant with the MIC value of 32 µg/mL and cytotoxic activity (KB-oral cavity and Vero-African green monkey kidney fibroblast cells) with the respective IC<sub>50</sub> values of 21 and 49 µg/mL. Herein, we report the isolation and characterization of three new blennolide derivatives, blennolides L–N (**1–3**), along with five known compounds including lachnone C (**4**) [3], endocrocin (**5**) [4], aspergillusidone C (**6**) [5], unguinol (**7**) [6] and 2-chlorounguinol (**8**) [7]. The antifungal activity of **1** was also evaluated against the above fungal strains.

### 2. Results and discussion

The broth and mycelial ethyl acetate extracts of the fungus PSU-PSF14 were subjected to various chromatographic techniques leading to the isolation of three new (**1–3**) and five known compounds (**4–8**). Compounds **6**, **7** and **8** were obtained from the mycelial extract. The structures of all metabolites (**1–8**) (Fig. 1) were elucidated on the basis of spectroscopic data including UV, IR,

\* Corresponding author.

E-mail address: [vatcharin.r@psu.ac.th](mailto:vatcharin.r@psu.ac.th) (V. Rukachaisirikul).

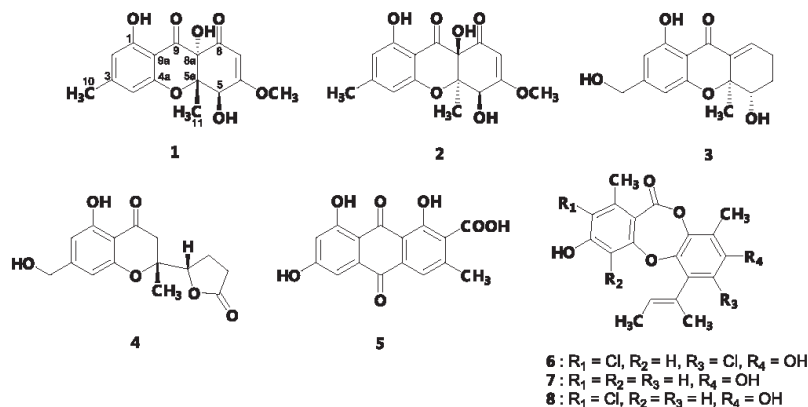


Fig. 1. Compounds 1–8 isolated from the fungus *Trichoderma asperellum* PSU-PSF14.

NMR and MS. The relative configuration of the new compounds was established using NOEDIFF data and confirmed by X-ray data for **1** whereas the absolute configurations were determined by comparison of experimental and calculated ECD spectra. For the known compounds, the structures were confirmed by comparison of <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectroscopic data with those previously reported.

Blennolide L (**1**) was obtained as pale yellow crystals with  $[\alpha]_D^{29} -804.0$  (*c* 0.10, CHCl<sub>3</sub>). The molecular formula was deduced to be C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>O<sub>7</sub> on the basis of HRESIMS. It showed UV absorption bands at 258, 286 and 352 nm, indicating the presence of chromone chromophore [3] while the IR absorption bands were found at 3367 and 1638 cm<sup>-1</sup> for hydroxy and conjugated carbonyl functional group [3], respectively. The <sup>1</sup>H NMR spectroscopic data (Table 1) consisted of signals for one chelated hydroxy proton ( $\delta_H$  11.53, s, 1H), two aromatic protons ( $\delta_H$  6.33 and 6.30, each s, 1H), two hydroxy protons ( $\delta_H$  6.55, s, 1H and 5.31, d, *J* = 5.4 Hz, 1H), one olefinic proton ( $\delta_H$  5.30, s, 1H), one oxymethine proton ( $\delta_H$  5.18, d, *J* = 5.4 Hz, 1H), one methoxy group ( $\delta_H$  3.82, s, 3H) and two methyl groups ( $\delta_H$

2.28 and 1.36, each s, 3H). The <sup>13</sup>C NMR spectrum (Table 1) displayed signals for two carbonyl ( $\delta_C$  193.9 and 190.9), seven quaternary ( $\delta_C$  173.8, 163.8, 158.8, 151.1, 106.1, 85.4 and 74.1), four methine ( $\delta_C$  110.6, 109.2, 100.7 and 70.7), one methoxy ( $\delta_C$  57.1) and two methyl ( $\delta_C$  22.4 and 14.1) carbons. A chelated hydroxy proton ( $\delta_H$  11.53) was placed at C-1 ( $\delta_C$  163.8), a *peri* position to a carbonyl group, and displayed the HMBC correlations to C-1, C-2 ( $\delta_C$  110.6) and C-9a ( $\delta_C$  106.1) (Fig. 2). One of the aromatic protons resonating at  $\delta_H$  6.33 was identified as H-2 due to its HMQC correlation with C-2 and gave HMBC cross peaks with C-1, C-4 ( $\delta_C$  109.2), C-9 ( $\delta_C$  193.9), C-9a and C-10 ( $\delta_C$  22.4). According to these HMBC correlations together with the same correlations from the other aromatic proton ( $\delta_H$  6.30) to C-2, C-4a ( $\delta_C$  158.8), C-9, C-9a and C-10, this aromatic proton was assigned as H-4. A methyl group resonating at  $\delta_H$  2.28 was attached at C-3 ( $\delta_C$  151.1) because of its HMBC correlations with C-2, C-3 and C-4. These results together with the chemical shift of C-4a established a 1,2,3,5-tetrasubstituted benzene with hydroxy, methyl, oxy and ketone carbonyl substituents at C-1,

Table 1

The <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectroscopic data of **1** and **2** in acetone-*d*<sub>6</sub> and **3** in CDCl<sub>3</sub>.

Position	1		2		3	
	$\delta_H$ (mult., <i>J</i> in Hz)	$\delta_C$	$\delta_H$ (mult., <i>J</i> in Hz)	$\delta_C$	$\delta_H$ (mult., <i>J</i> in Hz)	$\delta_C$
1		163.8		163.6		163.6
1-OH	11.53 (s)		11.38 (s)		12.24 (s)	
2	6.33 (s)	110.6	6.37 (d, 1.2)	110.9	6.51 (s)	107.1
3		151.1		151.0		152.7
4	6.30 (s)	109.2	6.34 (d, 1.2)	109.2	6.44 (s)	105.5
4a		158.8		158.4		159.3
5	5.18 (d, 5.4)	70.7	4.48 (brs)	75.2	4.22 (dd, 12.6, 4.2)	73.0
5-OH	5.31 (d, 5.4)		6.18 (brs)			
5a		74.1		80.1		82.7
6		173.8		173.0	a: 2.05 (m) b: 1.75 (m)	26.0
6-OCH <sub>3</sub>	3.82 (s)	57.1	3.87 (s)	57.2		
7	5.30 (s)	100.7	5.41 (d, 0.9)	102.1	a: 2.54 (m) b: 2.49 (m)	24.9
8		190.9		190.6	6.97 (t, 3.6)	137.6
8a		85.4		73.6		135.5
8a-OH	6.55 (s)		6.90 (s)			
9		193.9		192.2		185.6
9a		106.1		105.9		106.5
10	2.28 (s)	22.4	2.30 (s)	22.3	4.63 (s)	64.7
11	1.36 (s)	14.1	1.42 (s)	19.5	1.49 (s)	18.8

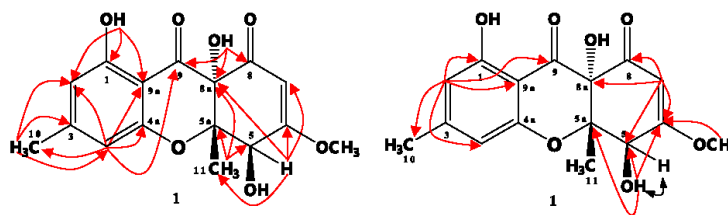


Fig. 2. Key  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY (blue) and HMBC (red) correlations of **1**.

C-3, C-4a and C-9a, respectively. Furthermore, the other methyl protons at  $\delta_{\text{H}}$  1.36 (H<sub>3</sub>-11), correlated to C-11 ( $\delta_{\text{C}}$  14.13) in the HMQC spectrum, was located at C-5a ( $\delta_{\text{C}}$  74.1) due to its HMBC cross peaks with C-5 ( $\delta_{\text{C}}$  70.7), C-5a and C-8a ( $\delta_{\text{C}}$  85.4). A hydroxy proton at  $\delta_{\text{H}}$  6.55 was attributed to 8a-OH on the basis of the HMBC correlations from 8a-OH to C-8 ( $\delta_{\text{C}}$  190.9) and C-8a. The  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY correlation revealed that the oxymethine proton ( $\delta_{\text{H}}$  5.18) and a hydroxy proton ( $\delta_{\text{H}}$  5.31) were coupled to each other as doublets with a coupling constant of 5.4 Hz. The oxymethine proton was attributed to H-5 on the basis of its HMQC correlation with C-5. The HMBC correlations from H-5 to C-6 ( $\delta_{\text{C}}$  173.8), C-7 ( $\delta_{\text{C}}$  100.7), C-8a and C-11 as well as those from 5-OH to C-5, C-5a and C-6 supported this assignment. The HMBC correlations from the methoxy protons ( $\delta_{\text{H}}$  3.82) to C-6 established the attachment of the methoxy group at this carbon. The olefinic proton at  $\delta_{\text{H}}$  5.30 was assigned as H-7 because of its HMBC correlations with C-5, C-6, C-8 and C-8a. From these data, a cyclohexenone ring was formed. C-8a was connected to the carbonyl carbon, C-9, on the basis of the HMBC correlation from 8a-OH to C-9. According to the chemical shifts of C-4a and C-5a and the molecular formula, an ether linkage between these carbons was established. In the NOEDIFF experiment (Fig. 3), when H-5 was irradiated, the signal intensity of 8a-OH was enhanced. Signal enhancement of H<sub>3</sub>-11 after irradiation of 5-OH indicated that H<sub>3</sub>-11 was *syn* to 5-OH and *anti* to 8a-OH. The relative configuration was confirmed by X-ray data (Fig. 3). Based on the X-ray data, the absolute configurations of **1** must be either 5*R*, 5*aS*, 8*aS* or 5*S*, 5*aR*, 8*aR*. The CD bands of **1** were almost identical to those of (5*aS*, 8*S*, 8*aS*)-microdiplodiasolol [8]. The same sign of Cotton effect for the bands at 210 and 280 nm indicated their identical configuration at C-5a and C-8a stereogenic centers [8]. Both C-5a and C-8a then had *S* configuration. Accordingly, the absolute configuration at C-5 was assigned to be *R*. The calculated ECD spectra using time-dependent density functional theory (TDDFT) were employed to confirm the assigned absolute configuration of **1**. The experimental CD curve matched well with the calculated curve of the 5*R*, 5*aS*, 8*aS* isomer (Fig. 4). Consequently, blennolide **1** had the structure **1**.

Blennolide **M** (**2**) was obtained as a pale yellow gum with  $[\alpha]_{\text{D}}^{29}$  -633.2 (*c* 0.10, CHCl<sub>3</sub>) and was deduced to be isomer of **1** on the basis of HRESIMS data. The UV and IR data were similar to those of

**1**, indicating the presence of identical chromophores. Comparison of the  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR data as well as HMBC correlations of **2** (Table 1) with those of **1** indicated that **2** had the same planar structure as **1**. Upon irradiation of H<sub>3</sub>-11 in an NOEDIFF experiment, the H-5 signal intensity was enhanced, indicating a *syn* relationship between H<sub>3</sub>-11 and H-5. Unfortunately, the relative configuration at C-8a was not assigned due to inadequate NOEDIFF data. Accordingly, **2** must be one of four possible stereoisomers (5*R*, 5*aR* and 8*aR*; 5*S*, 5*aS* and 8*aS*; 5*R*, 5*aR* and 8*aS*; 5*S*, 5*aS* and 8*aR*). In order to determine the absolute configuration of compound **2**, the ECD spectra of the above four possible stereoisomers were calculated at CAM-B3LYP/6-311++G (d,p) level on the base of TDDFT method. The experimental CD curve was comparable with the calculated ECD curve of 5*R*, 5*aR* and 8*aR* stereoisomer (Fig. 4). Thus, **2** differed from **1** in the absolute configurations at C-5a and C-8a. This conclusion was supported by the opposite sign of the CD bands at approximately 210 and 280 nm of **2** to that of **1**, indicating that they had a reversed configuration at C-5a and C-8a.

Blennolide **N** (**3**) was obtained as a colorless gum with  $[\alpha]_{\text{D}}^{29}$  -166.1 (*c* 0.42, CHCl<sub>3</sub>). The molecular formula C<sub>15</sub>H<sub>16</sub>O<sub>5</sub> as deduced from HRESIMS data. The UV and IR data were similar to those of **1** and **2**, indicating the presence of identical chromophores. Comparison of their  $^1\text{H}$  NMR data (Table 1) indicated that **3** differed from **1** and **2** in the absence of one methoxy group (6-OCH<sub>3</sub>) and the appearance of the olefinic proton at much lower field ( $\delta_{\text{H}}$  6.97, *t*, *J* = 3.6 Hz). Moreover, only a resonance attributable to 1-OH was evident, although the NMR spectra of **3** were recorded in CDCl<sub>3</sub> in comparison to those of **1** and **2** which were recorded in acetone-*d*<sub>6</sub>. Additional signals for two sets of nonequivalent methylene protons [ $\delta_{\text{H}}$  2.54 and 2.49 (each *m*, 1H) and 2.05 and 1.75 (each *m*, 1H)] as well as the replacement of one methyl group (H<sub>3</sub>-10) with one hydroxymethyl group ( $\delta_{\text{H}}$  4.63, *s*, 2H) were observed. The  $^{13}\text{C}$  NMR spectrum (Table 1) showed the replacement of signals for the oxyquaternary olefinic carbon (C-6), methoxy carbon (6-OCH<sub>3</sub>), oxygenated quaternary carbon (C-8a) and methyl carbon (C-10) with signals for one quaternary olefinic carbon ( $\delta_{\text{C}}$  135.5), one hydroxymethyl carbon ( $\delta_{\text{C}}$  64.7) and two signals of nonequivalent methylene carbons ( $\delta_{\text{C}}$  26.0 and 24.9). The hydroxymethyl group was placed at C-3 of the benzopyranone

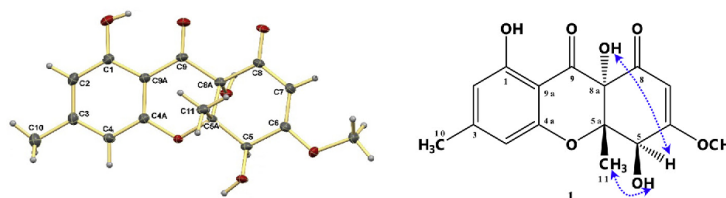


Fig. 3. X-ray crystal structure and NOEDIFF data (blue) of **1**.

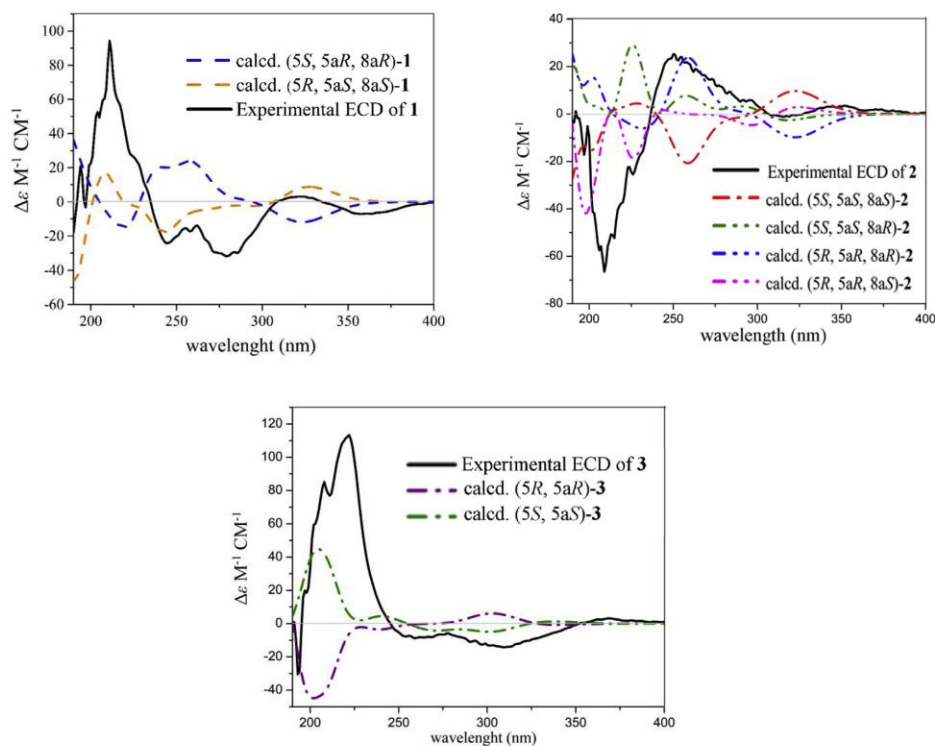


Fig. 4. Experimental and calculated ECD spectra of compounds 1–3.

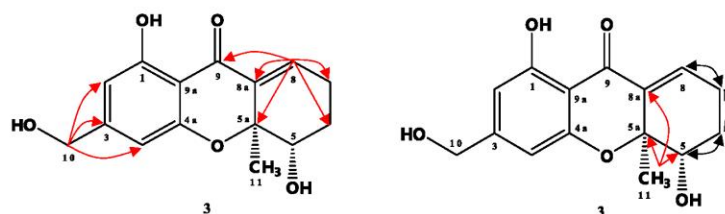


Fig. 5. Key  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY (blue) and HMBC (red) correlations of **3**.

moiety on the basis of the HMBC correlations of H<sub>2</sub>-10 ( $\delta_{\text{H}}$  4.63) with C-2 ( $\delta_{\text{C}}$  107.1), C-3 ( $\delta_{\text{C}}$  152.7) and C-4 ( $\delta_{\text{C}}$  105.5) (Fig. 5). The  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY correlations of H<sub>ab</sub>-6 ( $\delta_{\text{H}}$  2.05 and 1.75) with H-5 ( $\delta_{\text{H}}$  4.22) and H<sub>ab</sub>-7 ( $\delta_{\text{H}}$  2.54 and 2.49) and those of H<sub>ab</sub>-7 with H-8 ( $\delta_{\text{H}}$  6.97) (Fig. 5) as well as the HMBC cross peaks from H-8 to C-5a ( $\delta_{\text{C}}$  82.7), C-6 ( $\delta_{\text{C}}$  26.0), C-7 ( $\delta_{\text{C}}$  24.9), C-8a and C-9 ( $\delta_{\text{C}}$  185.6) and from H<sub>3</sub>-11 to C-5 ( $\delta_{\text{C}}$  73.0), C-5a and C-8a constructed a fused benzopyran-cyclohexene skeleton. According to the chemical shifts of H-5 and C-5 and the molecular formula, the substituent at C-5 must be a hydroxy group. In the NOEDIFF experiment, when H<sub>3</sub>-11 was irradiated, the signal intensity of H<sub>b</sub>-6 was enhanced. Signal enhancement of H<sub>a</sub>-6 after irradiation of H-5 indicated that H<sub>3</sub>-11 had an *anti* relationship to H-5. The well agreement between the experimental and the calculated ECD spectra of **3** in MeOH (Fig. 4) established the absolute configuration of **3** to be 5S and 5aS.

Only compound **1** which was obtained in sufficient amount for evaluation of biological activities showed antifungal activity against *C. neoformans* ATCC90112 and ATCC90113 flucytosine-resistant with the MIC values of 128 and 64  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , respectively. However, it was inactive for cytotoxic activities against KB, human breast cancer-MCF-7, and noncancerous Vero cells.

### 3. Conclusion

This work reported the isolation of eight secondary metabolites from the broth and mycelial extracts of the soil-derived fungus *T. asperellum* PSU-PSF14 including three new blennolide derivatives (**1**–**3**) together with five known compounds, which are one chromanone (**4**), one anthraquinone (**5**) and three depsidone derivatives. To the best of our knowledge, blennolide derivatives have been isolated for the first time from this genus.

## 4. Experimental

### 4.1. General experimental procedures

Melting point was determined on an electrothermal 9100 melting point apparatus and reported without correction. Optical rotations were measured on a JASCO P-1020 polarimeter. Ultraviolet (UV) absorption spectra were measured with an UV-160A SHIMADZU spectrophotometer. Infrared (IR) spectra were recorded neat using a PerkinElmer 783 FTS165 FT-IR spectrometer. Circular Dichroism (CD) spectra were recorded on a JASCO J-815 polarimeter. ESI-TOF mass spectra were measured on a Mass spectrometer, LCT, Micromass.  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR spectra were recorded on a 300 or 500 MHz Bruker FTNMR Ultra Shield™ spectrometer using tetramethylsilane (TMS) as an internal standard. Thin-layer chromatography (TLC) and preparative TLC were performed on silica gel 60 GF<sub>254</sub> (Merck). Column chromatography (CC) was carried out on Sephadex LH-20, silica gel (Merck) type 60 (230–400 mesh ASTM) or type 100 (70–230 mesh ASTM), or reverse phase C18 silica gel. Solvents for extraction and chromatography were distilled at their boiling point ranges prior to use except for analytical grade reagents.

### 4.2. Fungal material

The fungus PSU-PSF14 was isolated from soil samples collected from Sirindhorn Peat Swamp Forest Nature Research and Study Centre, Narathiwat Province, Thailand. This fungus was deposited as BCC80681 at BIOTEC Culture Collection (BCC), National Centre for Genetic Engineering and Biotechnology (BIOTEC), Thailand. The fungus PSU-PSF14 was identified based on its morphological and molecular characteristics. Colonies on Potato dextrose agar (PDA) at 25 °C grew fast, reaching 4.5 cm in 3 days. The molecular analysis of the internal transcribed spacers (ITS) ribosomal DNA revealed that PSU-PSF14 (GenBank accession number MF175065) closely matched with several ITS nucleotides of *Trichoderma asperellum* strains including *T. asperellum* KY225592, KX620958, KX620957, KX620955 and KX620954 (100% nucleotide identity). Therefore, this fungus can be identified as *Trichoderma asperellum*.

### 4.3. Fermentation, extraction and isolation

The fermentation and extraction of the soil-derived fungus *T. asperellum*. PSU-PSF14 were carried out using the same procedure as described previously [9]. The broth extract (1050 mg) was fractionated by CC over Sephadex LH-20 using 100% MeOH to afford four fractions (A–D). Fraction B (930.2 mg) was separated by CC over silica gel with a gradient of MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:19 → 100:0) to yield eight subfractions (B1–B8). Separation of subfraction B2 (45.5 mg) by flash CC over silica gel using acetone/hexane (1:4) gave seven subfractions (B2A–B2G). Subfraction B2F (10.6 mg) was subjected to preparative TLC using acetone/hexane (3:7) (3 runs) to afford **2** (3.3 mg) and **4** (2.9 mg). Subfraction B3 (49.6 mg) was purified by CC over silica gel using MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:49 → 100:0) to yield **1** (15.3 mg). Purification of subfraction B4 (24.9 mg) by CC over silica gel using acetone/hexane (3:7) to give six subfractions. The second subfraction was separated by the same procedure as the crude extract followed by preparative TLC using a mixture of hexane-dichloromethane-methanol in a ratio of 10:9:1 (5 runs) as a mobile phase to provide **3** (2.9 mg). Fraction C (7.7 mg) was dissolved with chloroform. Compound **5** (2.3 mg) was obtained from the insoluble part.

The mycelial ethyl acetate extract (1480 mg) was separated by CC over Sephadex LH-20 using MeOH to give three fractions (F1–F6). Fraction F4 (57.7 mg) was fractionated by CC over silica gel

using a gradient of MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:99 → 100:0) to give four subfractions (F4A–F4D). Fraction F5 (18.4 mg) was rechromatographed on CC over silica gel using a gradient of MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0:100 → 100:0) to give four subfractions (F5A–F5D). Subfraction F5A (4.2 mg) was further purified by preparative TLC using MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:99) as a mobile phase (2 runs) to provide **6** (2.5 mg), **7** (2.6 mg) and **8** (0.5 mg).

#### 4.3.1. Blennolide L (**1**)

Pale yellow crystals; m.p. 211–212 °C,  $[\alpha]_D^{29}$  –804.0 (c 0.10, CHCl<sub>3</sub>); UV (MeOH) (log  $\epsilon$ ) 258 (4.01), 286 (3.91), 352 (3.27) nm; CD (MeCN)  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\Delta\epsilon$ ) 210 (102.06), 244 (–24.45), 280 (–31.87), 321 (3.03), 360 (–6.84); IR (neat) 3367, 1638 cm<sup>–1</sup>;  $^1\text{H}$  NMR (acetone-*d*<sub>6</sub>, 300 MHz) and  $^{13}\text{C}$  NMR (acetone-*d*<sub>6</sub>, 75 MHz), see Table 1; HRESIMS  $m/z$  343.0794 [M+Na]<sup>+</sup> (calcd for C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>O<sub>7</sub>Na, 343.0794).

#### 4.3.2. Blennolide M (**2**)

Pale yellow gum;  $[\alpha]_D^{29}$  –633.2 (c 0.10, CHCl<sub>3</sub>); UV (MeOH) (log  $\epsilon$ ) 256 (4.05), 285 (3.96), 352 (3.38) nm; CD (MeCN)  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\Delta\epsilon$ ) 209 (–66.51), 250 (25.50), 283 (9.61), 319 (–1.13), 352 (3.54); IR (neat) 3301, 1636 cm<sup>–1</sup>;  $^1\text{H}$  NMR (acetone-*d*<sub>6</sub>, 300 MHz) and  $^{13}\text{C}$  NMR (acetone-*d*<sub>6</sub>, 75 MHz), see Table 1; HRESIMS  $m/z$  343.0808 [M+Na]<sup>+</sup> (calcd for C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>O<sub>7</sub>Na, 343.0794).

#### 4.3.3. Blennolide N (**3**)

Colorless gum;  $[\alpha]_D^{29}$  –166.1 (c 0.42, CHCl<sub>3</sub>); UV (MeOH) (log  $\epsilon$ ) 259 (3.70), 303 (3.94) nm; CD (MeCN)  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\Delta\epsilon$ ) 221 (113.29), 259 (–9.6), 309 (–15.39); IR (neat) 3385, 1638 cm<sup>–1</sup>;  $^1\text{H}$  NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) and  $^{13}\text{C}$  NMR (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz), see Table 1; HRESIMS  $m/z$  277.1076 [M+H]<sup>+</sup> (calcd for C<sub>15</sub>H<sub>17</sub>O<sub>5</sub>, 277.1076).

### 4.4. X-ray crystallography

Crystal of **1** was obtained by crystallization in a mixture of acetone and acetonitrile. The crystal data of **1** was collected on CCD SMART APEX diffractometer with graphite-monochromated Mo K $\alpha$  radiation ( $\lambda = 0.71073$  Å) at 296 (2) K, 19,922 reflections for compound **1**. Cell refinement and the data reductions were performed by SAINT [10]. Absorption correction was applied by using multi-scan program SADABS [10]. The structure was solved by direct methods refined by a full-matrix least-squares procedure based on  $F^2$  with the SHELXT program packages [11]. Anisotropic thermal parameters were refined to all non-hydrogen. All hydrogen atoms were placed in calculated, ideal positions and refined as riding model. The WinGX v2017.1 [12] and Mercury [13] programs were used to prepare the materials and molecular graphic for publication. CCDC 1842944 (**1**) contain the supplementary crystallographic data for this paper. These data can be obtained free of charge from the Cambridge Crystallographic Data Centre via [http://www.ccdc.cam.ac.uk/data\\_request/cif](http://www.ccdc.cam.ac.uk/data_request/cif) (or from the Cambridge Crystallographic Data Centre, 12 Union Road, Cambridge CB21EZ, U.K.; fax: +44 1223 336 033 or email [deposit@ccdc.cam.ac.uk](mailto:deposit@ccdc.cam.ac.uk)).

#### 4.4.1. Crystal data of compound **1**

C<sub>18</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>8</sub> (C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>O<sub>7</sub>, CH<sub>3</sub>CN, H<sub>2</sub>O), Mr = 379.36, orthorhombic, space group C222<sub>1</sub> with  $a = 18.3844$  (19) Å,  $b = 7.0656$  (8) Å,  $c = 28.627$  (3) Å,  $V = 3718.6$  (7) Å<sup>3</sup>,  $Z = 8$ ,  $D_{\text{cal}} = 1.355$  Mg/m<sup>3</sup>,  $\mu = 0.108$  mm<sup>–1</sup> and  $F(000) = 1600$ . Crystal dimensions:  $0.234 \times 0.108 \times 0.043$  mm<sup>3</sup>. Independent reflections: 3285 [ $R(\text{int}) = 0.0797$ ]. The final factors are  $R_1 = 0.0712$ ,  $wR_2 = 0.1393$ ,  $S = 1.090$  [ $I > 2\sigma(I)$ ], Flack parameter = 0 (3).

### 4.5. Bioassays

Antimicrobial activity was determined as described by the

Clinical and Laboratory Standards Institute [14]. Amphotericin B was used as a positive control for antifungal activity with an MIC value of 0.50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

The cytotoxic assay against African green monkey kidney fibroblast (Vero) cells was performed employing the method previously described [15], and the positive control ellipticine displayed the  $\text{IC}_{50}$  value of 1.05  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . The activities against human oral cavity (KB) and human breast (MCF-7) cancer cell lines were evaluated using the resazurin microplate assay [16]. Doxorubicin was used as a standard drug for KB and MCF-7 cell lines and displayed the  $\text{IC}_{50}$  values of 0.68 and 7.48  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , respectively. The  $\text{IC}_{50}$  value of ellipticine against KB cells was 2.74  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , while tamoxifen displayed the  $\text{IC}_{50}$  value of 6.28  $\mu\text{g}/\text{mL}$  against MCF-7 cells.

#### 4.6. Quantum chemical calculations

The configurations of compounds were optimized by density functional theory at B3LYP/6-311G (d,p) level and ECD spectra were calculated using TDDFT method at CAM-B3LYP/6-311++G (d,p) level. The polarizable continuum model (PCM) was used to take into account solvent effects. All calculations were performed using Gaussian 09 program. Gaussian bandshape with a bandwidth of 0.25 eV was used to simulate the ECD spectra.

#### Acknowledgements

V.R. thanks Office of the Royal Development Projects Board for the research grant and the Royal Property Bureau Foundation and National Science and Technology Development Agency for the NSTDA Chair Professor grant (The Fourth Grant). The Center of Excellence for Innovation in Chemistry (PERCH-CIC) is acknowledged for partial support. We thank Department of Chemistry, Faculty of Science, Mahidol University for the optical rotations data. Finally, the National Centre for Genetic Engineering and Biotech-

nology (BIOTEC) is acknowledged for evaluation of cytotoxic activity.

#### Appendix A. Supplementary data

Supplementary data related to this article can be found at <https://doi.org/10.1016/j.tet.2018.07.041>.

#### References

- [1] G. Dinga, A.J. Chen, J. Lan, H. Zhang, X. Chen, X. Liu, Z. Zou, *Chem. Biodivers.* 9 (2012) 1205–1212.
- [2] H. Yamazaki, H. Rotinsultu, O. Takahashi, R. Kirikoshi, M. Namikoshi, *Tetrahedron Lett.* 57 (2016) 5764–5767.
- [3] V. Rukachaisirikul, S. Chantaruk, W. Pongcharoen, M. Isaka, S. Lapanun, *J. Nat. Prod.* 69 (2006) 980–982.
- [4] Y.-M. Chiang, E. Szweczyk, A.D. Davidson, R. Entwistle, N.P. Keller, C.C.C. Wang, B.R. Oakley, *Appl. Environ. Microbiol.* 76 (2010) 2067–2074.
- [5] S. Sureram, S. Wiyakrutta, N. Ngamrojanavanich, C. Mahidol, S. Ruchirawat, P. Kittakoop, *Planta Med.* 78 (2012) 582–588.
- [6] S. Sureram, C. Kesornpun, C. Mahidol, S. Ruchirawat, P. Kittakoop, *RSC Adv.* 3 (2013) 1781–1788.
- [7] N. Kawahara, S. Nakajima, Y. Satoh, M. Yamazaki, K.-I. Kawai, *Chem. Pharm. Bull.* 36 (1988) 1970–1975.
- [8] I.N. Siddiqui, A. Zahoor, H. Hussain, I. Ahmed, V.U. Ahmad, D. Padula, S. Draeger, B. Schulz, K. Meier, M. Steinert, T. Kurtán, U. Flörke, G. Pescitelli, K. Krohn, *J. Nat. Prod.* 74 (2011) 365–373.
- [9] A. Maha, V. Rukachaisirikul, S. Saithong, S. Phongpaichit, W. Poonsuwan, J. Sakayaroj, P. Saparpakorn, S. Hannongbua, *Phytochemistry* 122 (2016) 223–229.
- [10] Bruker, SMART, SAINT and SADABS, Bruker AXS Inc., Madison, Wisconsin, USA, 2003.
- [11] G.M. Sheldrick, *Acta Crystallogr. A* 64 (2008) 112–122.
- [12] L.J.J. Farrugia, *Appl. Crystallogr.* 45 (2012) 849–854.
- [13] C.F. Macrae, I.J. Bruno, J.A. Chisholm, P.R. Edgington, P. McCabe, E. Pidcock, L. Rodriguez-Monge, R. Taylor, J. van de Streek, P.A. Wood, *J. Appl. Crystallogr.* 41 (2008) 466–470.
- [14] S. Phongpaichit, N. Rungjindamai, V. Rukachaisirikul, J. Sakayaroj, *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 48 (2006) 367–372.
- [15] L. Hunt, M. Jordan, M. De Jesus, F.M. Wurm, *Biotechnol. Bioeng.* 65 (1999) 201–205.
- [16] J. O'Brien, I. Wilson, T. Orton, F. Pognan, *Eur. J. Biochem.* 267 (2000) 5421–5426.

ประวัติคณะผู้วิจัย

## ศาสตราจารย์ ดร. วชิรินทร์ รุกขไชยศิริกุล – หัวหน้าโครงการวิจัย

ตำแหน่งทางวิชาการ: ศาสตราจารย์ได้รับเงินเดือนขั้นสูง

หน่วยงานที่สังกัด: ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ. หาดใหญ่ จ. สงขลา

โทรศัพท์: 074-288-435

โทรสาร: 074-558-841

อีเมลล์: vatcharin.r@psu.ac.th

### ประวัติการศึกษา

ปีที่จบการศึกษา	ระดับปริญญา	อักษรย่อปริญญา	สาขาวิชา	สถาบันการศึกษา	ประเทศ
2522	ปริญญาตรี	วท.บ. (เกียรตินิยมอันดับหนึ่ง)	เคมี	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	ไทย
2524	ปริญญาโท	วท.ม.	เคมีอินทรีย์	มหาวิทยาลัยมหิดล	ไทย
2530	ปริญญาเอก	Ph.D.	เคมีอินทรีย์	Australian National University	ออสเตรเลีย

สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชสมุนไพรและเชื้อรา

ผลงานทางวิชาการ ระหว่างปี ค.ศ. 2015-2019

1. Daengrot, C.; Rukachaisirikul, V.; Tansakul, C.; Thongpanchang, T.; Phongpaichit, S.; Bowornwiryapan, K.; Sakayaroj, J. 2015. Eremophilane sesquiterpenes and diphenyl thioethers from the soil fungus *Penicillium copticola* PSU-RSPG138, *J. Nat. Prod.*, 78, 615-622.
2. Panthong, K.; Sompong, R.; Rukachaisirikul, V.; Hutadilok-Towatana, N.; Voravuthikunchai, S.P.; Saising, J. 2015. Two New Triterpenes and a new coumaroyl glucoside from the twigs of *Mangifera foetida* Lour., *Phytochem. Lett.*, 11, 43-48.
3. Tadpetch, K.; Chukong, C.; Jeanmard, L.; Thiraporn, A.; Rukachaisirikul, V.; Phongpaichit, S.; Sakayaroj, J. 2015. Cytotoxic naphthoquinone and a new succinate ester from the soil fungus *Fusarium solani* PSU-RSPG227, *Phytochem. Lett.*, 11, 106-110.
4. Arunpanichlert, J.; Rukachaisirikul, V.; Phongpaichit, S.; Supaphon, O.; Sakayaroj, J. 2015. Meroterpenoid, isocoumarin, and phenol derivatives from the seagrass-derived fungus *Pestalotiopsis* sp. PSU-ES194, *Tetrahedron*, 71, 882-888.
5. Boonyaketguson, S.; Trisuwan, K.; Bussaban, B.; Rukachaisirikul, V.; Phongpaichit, S. 2015. Isoflavanone and xanthone derivatives from Dothideomycetes fungus CMU-99. *Tetrahedron Lett.* 56, 1057-1059.

6. Hounkong, K.; Sawangjaroen, N.; Kongyen, W.; Rukachaisirikul, V.; Wootipoom, N. 2015. Mechanism of 1-Hydroxy-2-hydroxymethylanthraquinone from *Coptosapelta flavescens* as an anti-giardial activity. *Acta Trop.*, 146, 11-16.
7. Boonyaketguson, S.; Trisuwan, K.; Bussaban, B.; Rukachaisirikul, V.; Phongpaichit, S. 2015. Isochromanone derivatives from the endophytic fungus *Fusarium* sp PDB51F5. *Tetrahedron Lett.* 56, 5076-5078.
8. Kaeobamrung, J.; Lanui, A.; Mahawong, S.; Duangmak, W.; Rukachaisirikul, V. 2015. One-pot Synthesis of trisubstituted ureas from  $\alpha$ -chloroalldoxime *o*-methanesulfonates and secondary amines. *RSC Adv.*, 5, 58587–58594.
9. Tadpetch, K.; Jeanmard, L.; Rukachaisirikul, V. 2015. Total Synthesis of the proposed structure of pestalotioprolide A. *Tetrahedron: Asymmetry*, 26, 918–923.
10. Kongprapan, T.; Rukachaisirikul, V.; Saithong, S.; Phongpaichit, S.; Poonswan, W.; Sakayaroj, J. 2015. Cytotoxic cytochalasins from the endophytic fungus *Eutypella scoparia* PSU-H267. *Phytochem. Lett.*, 13, 171-176.
11. Kongyen, W.; Rukachaisirikul, V.; Phongpaichit, S.; Sakayaroj, J. 2015. A new hydronaphthalenone from the mangrove-derived *Daldinia eschscholtzii* PSU-STD57. *Nat. Prod. Res.* 29, 1995-1999.
12. Arunpanichlert, J.; Rukachaisirikul, V.; Phongpaichit, S.; Supaphon, O.; Sakayaroj, J. 2016. Xylariphilone: a new azaphilone derivative from the seagrass-derived fungus *Xylariales* sp PSU-ES163. *Nat. Prod. Res.* 30, 46-51.
13. Maha, A.; Rukachaisirikul, V.; Saithong, S.; Phongpaichit, S.; Poonswan, W.; Sakayaroj, J.; Saparpakorn, P.; Hannongbua, S. 2016. Terezine Derivatives from the Fungus *Phoma herbarum* PSU-H256. *Phytochemistry*. 122, 223-229.
14. Maha, A.; Rukachaisirikul, V.; Phongpaichit, S.; Poonswan, W.; Sakayaroj, J. 2016. Dimeric chromanone, cyclohexenone and benzamide derivatives from the endophytic fungus *Xylaria* sp PSU-H182. *Tetrahedron*. 72, 2874-2879.
15. Daengrot, C.; Rukachaisirikul, V.; Tadpetch, K.; Phongpaichit, S.; Bowornwiriyan, K.; Sakayaroj, J.; Shen, X. 2016. Penicillanthone and penicillidic acids A-C from the soil-derived fungus *Penicillium aculeatum* PSU-RSPG105. *RSC Advances*. 6, 39700-39709.
16. Phainuphong, P.; Rukachaisirikul, V.; Saithong, S.; Phongpaichit, S.; Bowornwiriyan, K.; Muanprasart, C.; Srimaroeng, C.; Duangjai, A.; Sakayaroj, J. 2016. Lovastatin analogues from the soil-derived fungus *Aspergillus sclerotiorum* PSU-RSPG178. *J. Nat. Prod.* 79,1500-1507.
17. Tadpetch, K.; Kaewmee, B.; Chantakaew, K.; Kantee, K.; Rukachaisirikul, V.; Phongpaichit, S. 2016. Synthesis and cytotoxic activities of semisynthetic zearalenone analogues. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 26, 3612-3616.
18. Kantee, K.; Rukachaisirikul, V.; Tadpetch, K. 2016. Synthesis of Tetrahydropyranyl Diarylheptanoids from *Dioscorea villosa*, *Tetrahedron Lett.*, 57, 3505–3509.

19. Klaiklay, S.; Rukachaisirikul, V.; Aungphao, W.; Phongpaichit, S.; Sakayaroj, J. 2016. Depsidone and phthalide derivatives from the soil-derived fungus *Aspergillus unguis* PSU-RSPG199. *Tetrahedron Lett.* 57, 4348-4351.
20. Saetang, P.; Rukachaisirikul, V.; Phongpaichit, S.; Sakayaroj, J.; Shi, X.F.; Chen, J.; Shen, X. 2016.  $\beta$ -resorcylic macrolide and octahydronaphthalene derivatives from a seagrass-derived fungus *Fusarium* sp. PSU-ES123. *Tetrahedron.* 72, 6421-6427.
21. Preedanon, S.; Phongpaichit, S.; Sakayaroj, J.; Rukachaisirikul, V.; Khamthong, N.; Trisuwan, K.; Plathong, S. 2016. Antimicrobial activities of fungi derived from the gorgonian sea fan *Annella* sp. and their metabolites. *Indian J. Geo-Mar. Sci.* 45, 1491-1498.
22. Guo, X.D.; Sun, G.L.; Zhou, T.T.; Xu, X.; Zhu, Z.Y.; Rukachaisirikul, V.; Hu, L.H.; Shen, X. 2016. Small molecule LX2343 ameliorates cognitive deficits in AD model mice by targeting both amyloid beta production and clearance, *Acta Pharmacol. Sin.*, 37 (10), 1281-1297.
23. Saebang, Y.; Rukachaisirikul, V.; Kaeobamrung, J. 2017. Copper-catalysed Domino reaction of 2-bromobenzylidenemalonates and 1,3-dicarbonyls for the synthesis of chromenes, *Tetrahedron Lett.*, 58 (2), 168-171.
24. Li, C.; Guo, X.-D.; Lei, M.; Wu, J.-Y.; Jin, J.-Z.; Shi, X.-F.; Zhu, Z.-Y.; Rukachaisirikul, V.; Hu, L.-H.; Wen, T.-Q.; Shen, X. 2017. *Thamnoia vermicularis* Extract improves learning ability in APP/PS1 Transgenic mice by ameliorating both  $a\beta$  and tau pathologies, *Acta Pharmacol. Sin.*, 38 (1), 9-28.
25. Boonyaketguson, S.; Rukachaisirikul, V.; Phongpaichit, S.; Trisuwan, K. 2017. Cytotoxic arylbenzofuran and stilbene derivatives from the twigs of *Artocarpus heterophyllus*. *Tetrahedron Lett.* 58, 1585-1589.
26. Supaphon, P.; Phongpaichit, S.; Sakayaroj, J.; Rukachaisirikul, V.; Kobmoo, N.; Spatafora, J.W. 2017. Phylogenetic community structure of fungal endophytes in seagrass species. *Bot. Mar.* 60, 489-501.
27. Pongkorpsakul, P.; Yimnual, C.; Chatsudthipong, V.; Rukachaisirikul, V.; Muanprasat, C. 2017. Cellular Mechanisms underlying the inhibitory effect of flufenamic acid on chloride secretion in human intestinal epithelial cells. *J. Pharm. Sci.*, 134, 93-100.
28. Tadpetch, K.; Jeanmard, L.; Rukachaisirikul, V. 2017. Total Synthesis of greensporone C. *Tetrahedron Lett.*, 58, 3453-3456.
29. Kaewme, B.; Rukachaisirikul, V.; Kaeobamrung, J. 2017. Synthesis of quinolines via Copper-catalyzed domino reactions of enaminones, *Org. Biomol. Chem.*, 15, 7387-7395.
30. Helaly, S.E.; Kuephadungphan, W.; Phongpaichit, S.; Luangsa-Ard, J.J.; Rukachaisirikul, V.; Stadler, M. 2017. Five unprecedented secondary metabolites from the spider parasitic

- fungus *Akanthomyces novoguineensis*. *Molecules.*, 22, Article Number: 991, DOI: 10.3390/molecules22060991
31. Guo, X.-D.; Sun, G.-L.; Zhou, T.-T.; Wang, Y.-Y.; Xu, X.; Shi, X.-F.; Zhu, Z.-Y.; Rukachaisirikul, V.; Hu, L.-H.; Shen, X. 2017. LX2343 Alleviates Cognitive impairments in AD model rats by inhibiting oxidative stress-induced neuronal apoptosis and tauopathy, *Acta Pharmacol. Sin.*, 38 (8), 1104-1119.
  32. Zhou, T.-T.; Ma, F.; Shi, X.-F.; Xu, X.; Du, T.; Guo, X.-D.; Wang, G.-H.; Yu, L.; Rukachaisirikul, V.; Hu, L.-H.; Chen, J.; Shen, X. 2017. DMT Efficiently Inhibits hepatic gluconeogenesis by regulating the G alpha q signaling pathway. *J. Mol. Endocrinol.*, 59 (2), 151-169.
  33. Sangkanu, S.; Rukachaisirikul, V.; Suriyachadkun, C.; Phongpaichit, S. 2017. Evaluation of antibacterial potential of mangrove sediment-derived actinomycetes. *Microb. Pathog.*, 112 , 303-312.
  34. Choochuay, J.; Xu, X.; Rukachaisirikul, V.; Guedduaythong, P.; Phongpaichit, S.; Sakayaroj, J.; Chen, J.; Shen, X. 2017. Curvularin derivatives from the soil-derived fungus *Aspergillus polyporicola* PSU-RSPG187. *Phytochem. Lett.*, 22, 122-127.
  35. Kongprapan, T.; Xu, X.; Rukachaisirikul, V.; Phongpaichit, S.; Sakayaroj, J.; Chen, J.; Shen, X. 2017. Cytosporone derivatives from the endophytic fungus *Phomopsis* sp PSU-H188. *Phytochem. Lett.*, 22, 219-223.
  35. Tansakul, C.; Rukachaisirikul, V.; Chalothorn, T.; Phongpaichit, S.; Sakayaroj, J. 2017. Synthesis and cytotoxicity against KB and NCI-H187 cell lines of sporogen AO-1 analogues. *Phytochem. Lett.*, 22, 128-132.
  37. Hayeebueraheng, A.; Kaewmee, B.; Rukachaisirikul, V.; Kaeobamrung, J. 2017. Synthesis of 2-(1,2,3-Triazolyl)benzamide Derivatives by a Copper(I)-catalyzed multicomponent reaction, *Eur. J. Org. Chem.*, 45, 6714-6721.
  38. Maha, A.; Rukachaisirikul, V.; Phongpaichit, S.; Preedanon, S.; Sakayaroj, J. 2017. Tyrosine and hydantoin derivatives from the fungus *Phoma herbarum* PSU-H256 isolated from *Hevea brasiliensis*. *Tetrahedron*. 73, 4597-4601.
  39. Phainuphong, P.; Rukachaisirikul, V.; Phongpaichit, S.; Preedanon, S.; Sakayaroj, J. 2017. Diphenyl ethers and indanones from the soil-derived fungus *Aspergillus unguis* PSU-RSPG204. *Tetrahedron*. 73, 5920-5925.
  40. Saetang, P.; Rukachaisirikul, V.; Phongpaichit, S.; Preedanon, S.; Sakayaroj, J.; Borwornpinyo, S.; Seemakhan, S.; Muanprasat, C. 2017. Depsidones and an alpha-pyrone derivative from *Simplicillium* sp PSU-H41, an endophytic fungus from *Hevea brasiliensis* leaf. *Phytochemistry*. 143, 115-123.
  41. Phainuphong, P.; Rukachaisirikul, V.; Tadpetch, K.; Sukpondma, Y.; Saithong, S.; Phongpaichit, S.; Preedanon, S.; Sakayaroj, J. 2017. gamma-Butenolide and furanone

- derivatives from the soil-derived fungus *Aspergillus sclerotiorum* PSU-RSPG178. *Phytochemistry*, 137, 165-173.
42. Kuephadungphan, W.; Helaly, S.E.; Daengrot, C.; Phongpaichit, S.; Luangsa-ard, J.J.; Rukachaisirikul, V.; Stadler, M. 2017. Akanthopyrones A-D,  $\alpha$ -pyrones bearing a 4-O-methyl- $\beta$ -D-glucopyranose moiety from the spider-associated ascomycete *Akanthomyces novoguineensis*. *Molecules*, 22, Article Number: 1202, DOI: 10.3390/molecules22071202.
  43. Thiraporn, A.; Rukachaisirikul, V.; lawsipo, P.; Somwang, T.; K. Tadpetch, 2017. Total Synthesis and Cytotoxic activity of 5'-hydroxyzearalenone and 5' $\beta$ -hydroxyzearalenone. *Eur. J. Org. Chem.*, 47, 7133-7147.
  44. Muangnil, P.; Satitsri, S.; Tadpetch, K.; Saparpakorn, P.; Chatsudthipong, V.; Hannongbua, S.; Rukachaisirikul, V., Muanprasat, C. 2018. A fungal metabolite zearalenone as a CFTR inhibitor and potential therapy of secretory diarrheas. *Biochem. Pharmacol.*, 150, 293-304.
  45. Boonyaketguson, S.; Rukachaisirikul, V.; Phongpaichit, S.; Trisuwan, T. 2018. Naphthoquinones from the leaves of *Rhinacanthus nasutus* having acetylcholinesterase inhibitory and cytotoxic activity. *Fitoterapia*, 124, 206-210.
  46. Phainuphong, P.; Rukachaisirikul, V.; Saithong, S.; Phongpaichit, S.; Sakayaroj, J.; Srimaroeng, C.; Ontawong, A.; Duangjai, A.; Muangnil, P.; Muanprasat, C. 2018. Asperidines A-C, pyrrolidine and piperidine derivatives from the soil-derived fungus *Aspergillus sclerotiorum* PSU-RSPG178. *Bioorg. Med. Chem.*, 26, 4502-4508.
  47. Maha, A.; Phainuphong, P.; Rukachaisirikul, V.; Saithong, S.; Phongpaichit, S.; Hadsadee, S.; Jungsuttiwong, S., Preedanon, S., Sakayaroj, J. 2018. Blennolide derivatives from the soil-derived fungus *Trichoderma asperellum* PSU-PSF14. *Tetrahedron*, 74 (39), 5659-5664.
  48. Phainuphong, P.; Rukachaisirikul, V.; Phongpaichit, S.; Sakayaroj, J.; Kanjanasirirat, P.; Borwornpinyo, S.; Akrimajirachote, N.; Yimnual, C.; Muanprasat, C. 2018. Depsides and depsidones from the soil-derived fungus *Aspergillus unguis* PSU-RSPG204. *Tetrahedron*, 74(39), 5691-5699.
  49. Jeanmard, L.; lawsipo, P.; Panprasert, J.; Rukachaisirikul, V.; Tadpetch, K.. 2018. Total synthesis and cytotoxic activity of dechlorogreensporones A and D. *Tetrahedron*, 74(34), 4521-4529.
  50. Supaphon, P.; Keawpiboon, C.; Preedanon, S.; Phongpaichit, S.; Rukachaisirikul, V. 2018. Isolation and antimicrobial activities of fungi derived from *Nymphaea lotus* and *Nymphaea stellata*. *Mycoscience*, 59(5), 415-423.
  51. Duangjan, C.; Rukachaisirikul, V.; Saithong, S.; Kaeobamrung, J. 2018. Copper-catalyzed domino reaction of carbodiimides and benzoic acid derivatives for the synthesis of quinazolinediones. *Tetrahedron Lett.*, 3537-3540.

52. Rukachaisirikul, V.; Chinpha, S.; Phongpaichit, S.; Saikhwan, N.; Sakayaroj, J.; Preedanon, S. 2019. Sesquiterpene and monoterpene derivatives from the soil-derived fungus *Trichoderma reesei* PSU-SPSF013. *Phytochem. Lett.*, 30, 124-129.

## ศาสตราจารย์ ดร. เสาวลักษณ์ พงษ์ไพจิตร – ผู้ร่วมโครงการวิจัย

ตำแหน่งปัจจุบัน: ศาสตราจารย์  
 หน่วยงานที่สังกัด: ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ หาดใหญ่  
 สงขลา 90112  
 โทรศัพท์: 074-288323  
 อีเมลล์: souwalak.p@psu.ac.th

### ประวัติการศึกษา

ปีที่จบการศึกษา	ระดับปริญญา	อักษรย่อปริญญา	สาขาวิชา	สถาบันการศึกษา	ประเทศ
2519	ปริญญาตรี	ภ.บ. (เกียรตินิยม อันดับ2)	เภสัชศาสตร์	จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย	ไทย
2521	ปริญญาโท	วท.ม.	จุลชีววิทยา	มหาวิทยาลัยมหิดล	ไทย
2531	ปริญญาเอก	Dr. sc.hum	จุลชีววิทยา	University of Heidelberg	เยอรมัน

### ผลงานทางวิชาการ ระหว่างปี ค.ศ. 2015-2018

1. Anuchan, S.; Deachamag, P.; Siammai, N.; Phongpaichit, S.; Chotigeat, W. 2015. Antimicrobial activity of engineered shrimp ovarian peritrophin fragments from *Fenneropenaeus merguensis*. *Protein Pep. Lett.* 22, 73-80.
2. Arunpanichlert, J.; Rukachaisirikul, V.; Phongpaichit, S.; Supaphon, O.; Sakayaroj, J. 2015. Meroterpenoid, isocoumarin, and phenol derivatives from the seagrass-derived fungus *Pestalotiopsis* sp. PSU-ES194. *Tetrahedron* 71, 882-888.
3. Boonyaketguson, S.; Trisuwan, K.; Bussaban, B.; Rukachaisirikul, V.; Phongpaichit, S. 2015. Isochromanone derivatives from the endophytic fungus *Fusarium* sp PDB51F5. *Tetrahedron Lett.* 56, 5076-5078.
4. Boonyaketguson, S.; Trisuwan, K.; Bussaban, B.; Rukachaisirikul, V.; Phongpaichit, S. 2015. Isoflavanone and xanthone derivatives from Dothideomycetes fungus CMU-99. *Tetrahedron Lett.* 56, 1057-1059.
5. Daengrot, C.; Rukachaisirikul, V.; Tansakul, C.; Thongpanchang, T.; Phongpaichit, S.; Bowornwiryapan, K.; Sakayaroj, J. 2015. Eremophilane sesquiterpenes and diphenyl

- thioethers from the soil fungus *Penicillium copticola* PSU-RSPG138. *J. Nat. Prod.* 78, 615-622.
6. Kongprapan, T.; Rukachaisirikul, V.; Saithong, S.; Phongpaichit, S.; Poonswan, W.; Sakayaroj, J. 2015. Cytotoxic cytochalasins from the endophytic fungus *Eutypella scoparia* PSU-H267. *Phytochem. Lett.* 3, 171-176.
  7. Kongyen, W.; Rukachaisirikul, V. Phongpaichit, S.; Sakayaroj, J. 2015. A new hydronaphthalenone from the mangrove-derived *Daldinia eschscholtzii* PSU-STD57. *Nat. Prod. Res.* 29, 1995-1999.
  8. Loonjang, K.; Duangjinda, D.; Phongpaichit, S.; Sawangjaroen, N.; Rattanaburi, S.; Mahabusarakam, W. 2015. A new anthraquinone from *Morinda elliptica* Ridl. *Nat. Prod. Res.* 29, 1833-1838.
  9. Saelee, A.; Phongpaichit, S.; Mahabusarakam, W. 2015. A new prenylated biflavonoid from the leaves of *Garcinia dulcis*. *Nat. Prod. Res.* 29, 1884-1888.
  10. Suetrong, S.; Klayuban, A.; Sakayaroj, J.; Preedanon, S.; Ruang-Areerate, P.; Phongpaichit, S.; Pang, K.L.; Jones, EBG. 2015. Tirisporellaceae, a new family in the order Diaporthales (Sordariomycetes, Ascomycota). *Cryptogamie Mycologie* 36, 319-330.
  11. Tadpetch, K.; Chukong, C.; Jeanmard, L.; Thiraporn, A.; Rukachaisirikul, V.; Phongpaichit, S.; Sakayaroj, J. 2015. Cytotoxic naphthoquinone and a new succinate ester from the soil fungus *Fusarium solani* PSU-RSPG227. *Phytochem. Lett.* 11, 106-110.
  12. Preedanon, S.; Phongpaichit, S.; Sakayaroj, J.; Rukachaisirikul, V.; Khamthong, N.; Trisuwan, K. and Plathong, S. 2016. Antimicrobial activities of fungi derived from the gorgonian sea fan *Annella* sp. and their metabolites. *Indian J. Mar. Sci.* 45, 1491-1498
  13. Arunpanichlert, J.; Rukachaisirikul, V.; Phongpaichit, S.; Supaphon, O. and Sakayaroj, J. 2016. Xylariphilone: a new azaphilone derivative from the seagrass-derived fungus Xylariales sp PSU-ES163. *Nat. Prod. Res.* 30, 46-51.
  14. Daengrot, C.; Rukachaisirikul, V.; Tadpetch, K.; Phongpaichit, S.; Bowornwiriyan, K.; Sakayaroj, J. and Shen, X. 2016. Penicillanthone and penicillidic acids A-C from the soil-derived fungus *Penicillium aculeatum* PSU-RSPG105. *RSC Advances.* 6, 39700-39709.
  15. Klaiklay, S.; Rukachaisirikul, V.; Aungphao, W.; Phongpaichit, S. and Sakayaroj, J. 2016. Depsidone and phthalide derivatives from the soil-derived fungus *Aspergillus unguis* PSU-RSPG199. *Tetrahedron Lett.* 57, 4348-4351.
  16. Maha, A.; Rukachaisirikul, V.; Phongpaichit, S.; Poonswan, W. and Sakayaroj, J. 2016. Dimeric chromanone, cyclohexenone and benzamide derivatives from the endophytic fungus *Xylaria* sp PSU-H182. *Tetrahedron.* 72, 2874-2879.
  17. Maha, A.; Rukachaisirikul, V.; Saithong, S.; Phongpaichit, S.; Poonswan, W.; Sakayaroj, J.; Saparpakorn, P. and Hannongbua, S. 2016. Tereazine Derivatives from the Fungus *Phoma herbarum* PSU-H256. *Phytochemistry.* 122, 223-229.

18. Mahabusarakam, W.; Mecawan, P. and Phongpaichit, S. 2016. Xanthones from the green branch of *Garcinia dulcis*. *Nat. Prod. Res.* 30, 2323-2328.
19. Phainuphong, P.; Rukachaisirikul, V.; Saithong, S.; Phongpaichit, S.; Bowornwiriyan, K.; Muanprasart, C.; Srimaroeng, C.; Duangjai, A. and Sakayaroj, J. 2016. Lovastatin analogues from the soil-derived fungus *Aspergillus sclerotiorum* PSU-RSPG178. *J. Nat. Prod.* 79,1500-1507.
20. Preedanon, S.; Phongpaichit, S.; Sakayaroj, J.; Rukachaisirikul, V.; Khamthong, N.; Trisuwan, K. and Plathong, S. 2016. Antimicrobial activities of fungi derived from the gorgonian sea fan *Annella* sp. and their metabolites. *Indian J. Geo-Mar. Sci.* 45, 1491-1498.
21. Saetang, P.; Rukachaisirikul, V.; Phongpaichit, S.; Sakayaroj, J.; Shi, X.F.; Chen, J. and Shen, X. 2016. Beta-resorcylic macrolide and octahydronaphthalene derivatives from a seagrass-derived fungus *Fusarium* sp. PSU-ES123. *Tetrahedron.* 72, 6421-6427.
22. Tadpetch, K.; Kaewmee, B.; Chantakaew, K.; Kantee, K.; Rukachaisirikul, V. and Phongpaichit, S. 2016. Synthesis and cytotoxic activities of semisynthetic zearalenone analogues. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 26, 3612-3616.
23. Tirawat, D.; Phongpaichit, S.; Benjakul, S. and Sumpavapol, P. 2016. Microbial load reduction of sweet basil using acidic electrolyzed water and lactic acid in combination with mild heat. *Food Control.* 64, 29-36.
24. Boonyaketguson, S.; Rukachaisirikul, V.; Phongpaichit, S. and Trisuwan, K. 2017. Cytotoxic arylbenzofuran and stilbene derivatives from the twigs of *Artocarpus heterophyllus*. *Tetrahedron Lett.* 58, 1585-1589.
25. Choochuay, J.; Xu, X.; Rukachaisirikul, V.; Guedduaythong, P.; Phongpaichit, S.; Sakayaroj, J.; Chen, J. and Shen, X. 2017. Curvularin derivatives from the soil-derived fungus *Aspergillus polyporicola* PSU-RSPG187. *Phytochem. Lett.* 22, 122-127.
26. Chuklin, P.; Chalermpanaphan, V.; Nhukeyaw, T.; Saithong, S.; Chainok, K.; Phongpaichit, S.; Ratanaphan, A. and Leesakul, N. 2017. Synthesis, X-ray structure of organometallic ruthenium (II) p-cymene complexes based on P- and N- donor ligands and their in vitro antibacterial and anticancer studies. *J. Organomet. Chem.* 846, 242-250.
27. Daus, M.; Chaithada, P.; Phongpaichit, S.; Watanapokasin, R.; Carroll, A.R. and Mahabusarakam, W. 2017. New prenylated dihydrochalcones from the leaves of *Artocarpus elasticus*. *Phytochem. Lett.* 19, 226-230.
28. Helaly, S.E.; Kuephadungphan, W.; Phongpaichit, S.; Luangsa-Ard, J.J.; Rukachaisirikul, V. and Stadler, M. 2017. Five unprecedented secondary metabolites from the spider parasitic fungus *Akanthomyces novoguineensis*. *Molecules.* 22, Article Number: 991, DOI: 10.3390/molecules22060991

29. Kongprapan, T.; Xu, X.; Rukachaisirikul, V.; Phongpaichit, S.; Sakayaroj, J.; Chen, J. and Shen, X. 2017. Cytosporone derivatives from the endophytic fungus *Phomopsis* sp PSU-H188. *Phytochem. Lett.* 22, 219-223.
30. Kuephadungphan, W.; Helaly, S.E.; Daengrot, C.; Phongpaichit, S.; Luangsa-ard, J.J.; Rukachaisirikul, V. and Stadler, M. 2017. Akanthopyrones A-D, alpha-pyrones bearing a 4-O-methyl-beta-D-glucopyranose moiety from the spider-associated ascomycete *Akanthomyces novoguineensis*. *Molecules.* 22, Article Number: 1202, DOI: 10.3390/molecules22071202.
31. Maha, A.; Rukachaisirikul, V.; Phongpaichit, S.; Preedanon, S. and Sakayaroj, J. 2017. Tyrosine and hydantoin derivatives from the fungus *Phoma herbarum* PSU-H256 isolated from *Hevea brasiliensis*. *Tetrahedron.* 73, 4597-4601.
32. Phainuphong, P.; Rukachaisirikul, V.; Phongpaichit, S.; Preedanon, S. and Sakayaroj, J. 2017. Diphenyl ethers and indanones from the soil-derived fungus *Aspergillus unguis* PSU-RSPG204. *Tetrahedron.* 73, 5920-5925.
33. Phainuphong, P.; Rukachaisirikul, V.; Tadpetch, K.; Sukpondma, Y.; Saithong, S.; Phongpaichit, S.; Preedanon, S. and Sakayaroj, J. 2017. gamma-Butenolide and furanone derivatives from the soil-derived fungus *Aspergillus sclerotiorum* PSU-RSPG178. *Phytochemistry.* 137, 165-173.
34. Saetang, P.; Rukachaisirikul, V.; Phongpaichit, S.; Preedanon, S.; Sakayaroj, J.; Borwornpinyo, S.; Seemakhan, S. and Muanprasat, C. 2017. Depsidones and an alpha-pyrone derivative from *Simplicillium* sp PSU-H41, an endophytic fungus from *Hevea brasiliensis* leaf. *Phytochemistry.* 143, 115-123.
35. Sangkanu, S.; Rukachaisirikul, V.; Suriyachadkun, C. and Phongpaichit, S. 2017. Evaluation of antibacterial potential of mangrove sediment-derived actinomycetes. *Microb. Pathog.* 112, 303-312.
36. Supaphon, P.; Phongpaichit, S.; Sakayaroj, J.; Rukachaisirikul, V.; Kobmoo, N. and Spatafora, J.W. 2017. Phylogenetic community structure of fungal endophytes in seagrass species. *Bot. Mar.* 60, 489-501.
37. Tansakul, C.; Rukachaisirikul, V.; Chalothorn, T.; Phongpaichit, S. and Sakayaroj, J. 2017. Synthesis and cytotoxicity against KB and NCI-H187 cell lines of sporogen AO-1 analogues. *Phytochem. Lett.* 22, 128-132.
38. Thepthong, P.; Phongpaichit, S.; Carroll, A.R.; Voravuthikunchai, S.P. and Mahabusarakam, W. 2017. Prenylated xanthenes from the stem bark of *Garcinia dulcis*. *Phytochem. Lett.* 21, 32-37.
39. Vittaya, L.; Leesakul, N.; Saithong, S.; Phongpaichit, S.; Chumponanomakun, P.; Boonprab, T.; Chainok, K. and Tantirungrotechai, Y. 2017. Synthesis, characterization, and biological studies of novel Ni(II) and Zn(II) complexes with 5-chloro-2-(phenylazo) pyridine. *Science Asia.* 43, 175-185.

40. Abdullah, I., Phongpaichit, S., Voravuthikunchai, S. P. and Mahabusarakam, W. 2018. Prenylated biflavonoids from the green branches of *Garcinia dulcis*. *Phytochem. Lett.* 23, 176-179.
41. Boonyaketguson, S., Rukachaisirikul, V., Phongpaichit, S. and Trisuwan, T. 2018. Naphthoquinones from the leaves of *Rhinacanthus nasutus* having acetylcholinesterase inhibitory and cytotoxic activity. *Fitoterapia*, 124, 206-210.
42. Choochuay, J.; Xu, X., Rukachaisirikul, V, Guedduaythong, P., Phongpaichit, S., Sakayaroj, J., Chen, J., and Shen, X. 2018. Curvularin derivatives from the soil-derived fungus *Aspergillus polyporicola* PSU-RSPG187. *Phytochem. Lett.* 22: 122-127.

## ผศ.ดร. สุกัญญา เดชอดิศัย – ผู้ร่วมโครงการวิจัย

ตำแหน่งปัจจุบัน: ผู้ช่วยศาสตราจารย์  
 หน่วยงานที่สังกัด: ภาควิชาเภสัชเวทและเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์  
 มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ หาดใหญ่ สงขลา 90112  
 โทรศัพท์: 074-428220, 074-288888  
 อีเมลล์: sukanya.d@psu.ac.th

### ประวัติการศึกษา

วุฒิ ที่จบ	สาขา	สถาบัน	ประเทศ	ปี
Dr.rer.nat	Pharmaceutical Biology	Ruprecht-Karls- Universitaet Heidelberg	สหพันธ์สาธารณรัฐ เยอรมนี	2548
ภ.ม.	เภสัชศาสตร์	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	ไทย	2541
ภ.บ.	เภสัชศาสตร์	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	ไทย	2539

ตำแหน่งบริหาร: หัวหน้าภาควิชาเภสัชเวทและเภสัชพฤกษศาสตร์  
 (พฤศจิกายน 2550- สิงหาคม 2559)

### Publications:

- Itharat, A., Sungkarak, S., **Dej-adisai, S.**, and Eng, S. (1997) Stability of *Aloe Vera* powder and *Aloe Vera* powder with diluent by hemagglutination titration. **Songklanakar J. Sci. Technol.** 19:437-443.
- **Dej-adisai, S.** (1997). Quinone from roots of *Prismatomeris sessiliflora* and *Diospyros montana* (Master thesis, Master of Science in Pharmacy (Pharmacognosy)), Graduate School, Chulalongkorn University
- Likhitwitayawuid, K., **Dej-adisai, S.**, Jongbunprasert, V., Krungkrai, J. (1999) Antimalarials from *Stephania venosa*, *Prismatomeris sessiliflora*, *Diospyros montana* and *Murraya siamensis*. **Planta Medica** 65:754-756.
- Tewtrakul, S., Miyashiro, H., Nakamura, N., Hattori, M., Kawahata, T., Otake, T., Yoshinaga, T., Fujiwara, T., Supavita, T., Yuenyongsawad, S., Rattanasuwon, P., **Dej-adisai, S.** (2001) HIV-1 integrase inhibitory substances from *Coleus parvifolius*. **Phytotherapy Research** 17:232-239.
- Keawpradub, N., **Dej-adisai, S.**, and Yuenyongsawad, S. 2005. Antioxidant and cytotoxic activities of Thai medicinal plants named Khaminkhrua: *Arcangelisia flava*, *Coscinium blumeianum* and *Fibraurea tinctoria*. **Songklanakar J. Sci. Technol.**, 27 (Suppl. 2): 455-467.

- ดวงทิพย์ อรัญดร สร้อย แซ่ลี้ม สิรินทิพย์ วิชญวรรณันท์ อภินัฐ คล้ายสถิต และ **สุกัญญา เดชอดิษฐ์** การศึกษาการปนปลอมของสารสเตียรอยด์ เพรดนิโซลันและเด็กซ่าเมทธาโซนในยาแผนโบราณ ในอำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา (Study on adulteration of steroids, prednisolone and dexamethasone in Traditional Thai medicines in Hat-Yai, Songkhla) **วารสารมหาวิทยาลัยทักษิณ** ปีที่13 ฉบับที่ 1 (มกราคม – มิถุนายน 2553). หน้า 20-30.
- Dounghthip Arandorn, Sareeya Saelim, Sirinthip Vitchayavoranan, Apinat Klaysatit, **Sukanya Dej-adisai**. 2010. Study on adulteration of steroids, prednisolone and dexamethasone in Traditional Thai medicines in Hat-Yai, Songkhla. **Thaksin University Journal**. 13(1): 20-30.)
- ดาเรศ พรหมสวัสดิ์ นงลักษณ์ มหาวิจิตร พรพิมล นิลบวร และ **สุกัญญา เดชอดิษฐ์**ฤทธิ์ต้านเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเตอเรสของพืชหายากในการแพทย์แผนไทย **วารสารมหาวิทยาลัยทักษิณ** ปีที่15 ฉบับที่ 2 (กรกฎาคม – ธันวาคม 2555). หน้า 34-43.
- Daret Phromswat, Nongluck Mahawijit, Pornpimon Nilborworn and **Sukanya Dej-adisai**. 2012. Anti-acetylcholinesterase activity of traditional Thai herbal combination medicines. **Thaksin University Journal**. 15(2): 34-43.)
- นุรฮายานา โต๊ะเก็ง มาริณี ปลาปง อารีนา ดาราบากอ อัสมัน ตือลง และ**สุกัญญา เดชอดิษฐ์**ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของผลิตภัณฑ์สมุนไพรทำให้ผิวขาว **วารสารมหาวิทยาลัยทักษิณ** ปีที่15 ฉบับที่ 2 (กรกฎาคม – ธันวาคม 2555). หน้า 44-51.
- Nurhayana Tohkeng, Marinee Plapong, Arina Darabakor, Azman Delong and **Sukanya Dej-adisai**. 2012. Anti-tyrosinase activity of herbal whitening products. **Thaksin University Journal**. 15(2): 44-51.)
- Nantiya Joycharat, Sonesay Thammavong, Surasak Limsuwan, Sirilux Homlaead, Supayang Piyawan Voravuthikunchai, Boon-ek Yingyongnarongkul, **Sukanya Dej-adisai**, Sanan Subhadhirasakul. 2013. Antibacterial substances from Albizia myriophylla wood against cariogenic *Streptococcus mutans*. **Archives of Pharmacal Research**. 36(6): 723-730.
- **Sukanya Dej-adisai**, Imron Meechai, Jindaporn Puripattanavong and Sopa Kummee. 2014. Antityrosinase and antimicrobial activities from Thai medicinal plants. **Archives of Pharmacal Research**. 37(4): 473-483.
- **Dej-adisai, S.**, Tinpun, K., Wattanapiromsakul, C., Keawpradub, N. 2015. Bio-activities and Phytochemical investigation of *Cnestis palala* (Lour.) Merr. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative medicines**. 12(3): 27-37. <http://dx.doi.org/10.4314/ajtcam.v12i3.3>
- **Dej-adisai, S.**, Pitakbut, T. 2015. Determination of  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity from selected Fabaceae plants. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**. 28(5): 1679-1683.
- **Dej-adisai, S.**, Parndaeng, K. and Wattanapiromsakul, C. 2016. Determination of phytochemical compounds, and tyrosinase inhibitory and antimicrobial activities of

bioactive compounds from *Streblus ilicifolius* (S Vidal) Corner. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research.** 15 (3): 497-506.

- Dej-adisai, S., Pitakbut, T. and Wattanapiromsakul, C. 2017. Alpha-glucosidase inhibitory activity and phytochemical investigation of *Borassus flabellifer* Linn. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology.** 11(3): 45-52.
- Dej-adisai, S., Phoopha, S., Puripattanavong, J. 2018. Phytochemical investigation and bioactivities of *Alternanthera ramosissima* (Mart.) Chodat and Hassl. **Pharmacognosy Magazine.** 14(57): S346-S351.

### สรุปโครงการที่กำลังดำเนินการ

ข้าพเจ้ามีโครงการวิจัยที่กำลังดำเนินการอยู่ ในฐานะหัวหน้าโครงการ

จำนวน 4 โครงการ ดังนี้

#### 1. ชื่อโครงการวิจัย

การศึกษาพฤกษเคมีและฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนสของพืชวงศ์ Moraceae

ภายใต้โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.)

(หัวหน้าโครงการวิจัย)

แหล่งทุน งบประมาณแผ่นดิน ภายใต้โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.) สำนักพระราชวัง

งบประมาณที่ได้รับ 278,750 บาทต่อปี (ยกเว้นปีที่ 1 ได้รับอนุมัติ 150,000 บาท)

ระยะเวลาดำเนินการวิจัยตั้งแต่เริ่มต้น-สิ้นสุด ต.ค. 2560- ก.ย. 2565

(โครงการต่อเนื่อง 5 ปี (เว้นปีงบประมาณ 2561) สิ้นสุดปีงบประมาณ 2565)

โครงการดำเนินการแล้ว คิดเป็น 50%

เวลาที่ต้องใช้ในโครงการนี้ คิดเป็น 8 ชม./สัปดาห์

#### 2. ชื่อโครงการวิจัย

การศึกษาพฤกษเคมีและฤทธิ์ต้านเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสของพืชสกุล *Solanum*

ภายใต้โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.)

(หัวหน้าโครงการวิจัย)

แหล่งทุน งบประมาณแผ่นดิน ภายใต้โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.) สำนักพระราชวัง

งบประมาณที่ได้รับ 278,750 บาทต่อปี (ยกเว้นปีที่ 1 ได้รับอนุมัติ 150,000 บาท)

ระยะเวลาดำเนินการวิจัยตั้งแต่เริ่มต้น-สิ้นสุด ต.ค. 2560- ก.ย. 2565

(โครงการต่อเนื่อง 5 ปี (เว้นปีงบประมาณ 2561) สิ้นสุดปีงบประมาณ 2565)

โครงการดำเนินการแล้ว คิดเป็น 50%

เวลาที่ต้องใช้ในโครงการนี้ คิดเป็น 8 ชม./สัปดาห์

### 3. ชื่อโครงการวิจัย

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของแอลฟาโทโคฟีรอล และลดน้ำตาลในเลือดของตำรับยาสมุนไพรรักษาเบาหวาน ภายใต้โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.)

(หัวหน้าโครงการวิจัย)

แหล่งทุน งบประมาณแผ่นดิน ภายใต้โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.) สำนักพระราชวัง

งบประมาณที่ได้รับ 557,500 บาทต่อปี (ยกเว้นปีที่ 1 ได้รับอนุมัติ 300,000 บาท)

ระยะเวลาดำเนินการวิจัยตั้งแต่เริ่มต้น-สิ้นสุด ต.ค. 2560- ก.ย. 2565

(โครงการต่อเนื่อง 5 ปี (เว้นปีงบประมาณ 2561) สิ้นสุดปีงบประมาณ 2565)

โครงการดำเนินการแล้ว คิดเป็น 50%

เวลาที่ต้องใช้ในโครงการนี้ คิดเป็น 8 ชม./สัปดาห์

### 4. ชื่อโครงการวิจัย

การพัฒนาสูตรตำรับครีมย้อมผมจากเทียนกิ่ง

(หัวหน้าโครงการวิจัย)

แหล่งทุน อุทยานวิทยาศาสตร์ ม.อ. ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2562

งบประมาณที่ได้รับ 220,000 บาทต่อปี

ระยะเวลาดำเนินการวิจัยตั้งแต่เริ่มต้น-สิ้นสุด มิ.ย. 2561- พ.ค. 2562

โครงการดำเนินการแล้ว คิดเป็น 80%

เวลาที่ต้องใช้ในโครงการนี้ คิดเป็น 8 ชม./สัปดาห์