ผลของ 3 แอลฟา - ไดไฮโดรคาตามีนที่แยกจากใบกระทุ่มใหญ่ต่อความดันเลือดและอัตราการเต้นของหัวใจในกระแต *(Tupaia glis)*

นางสาว อนุสรา วัฒนจันทร์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สหสาขาวิชาสรีรวิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2536

ISBN 974-583-392-4

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

018947 i17162115

EFFECT OF 3α-DIHYDROCADAMBINE ISOLATED FROM WILD CINCHONA (*Anthocephalus chinensis*) LEAVES ON BLOOD PRESSURE AND HEART RATE IN TREE SHREW (*tupaia glis*)

Miss Anusara Vattanajun

A thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science

Inter-Department of Physiology

Graduate School

Chulalongkorn University

1993

ISBN 974-583-392-4

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Thesis Title	Effect of 3α-dihydrocadambine isolated from wild cinchona *(Anthocephalus chinensis)*leaves on blood pressure and heart rate in tree shrew *(Tupaia glis)*
By	Miss Anusara Vattanajun
Inter-Department	Physiology
Thesis Advisor	Associate Professor Ratree Sudsuang, Ph. D.
Thesis Co-advisor	Assistant Professor Pongsak Kunluan

Accepted by the Graduate School, Chulalongkorn University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Master's Degree.

Thavorn Vajrabhaya ..... Dean of Graduate School

(Professor Thavorn Vajrabhaya, Ph. D.)

Thesis Committee

Puttipongse Varavudhi ..... Chairman

(Professor M.R. Puttipongse Varavudhi, Ph. D.)

Ratree Sudsuang ..... Thesis Advisor

(Associate Professor Ratree Sudsuang, Ph. D.)

Pongsak Kunluan ..... Thesis Co-advisor

(Assistant Professor Pongsak Kunluan)

W. Singhaniyom ..... Member

(Assistant Professor Veerachai Singhaniyom, Ph. D.)

P. Boonsinsukh ..... Member

(Assistant Professor Prayode Boonsinsukh)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ศูนย์วิทยทรัพยากร ในกรอบสีเขียวเมื่อเสียงบนเสียง

อนุสรา วัฒนจันทร์ : ผลของ 3 แอลฟา-ไดไฮโดรคาดามบีนที่แยกจากใบกระทุ่มใหญ่ต่อความดันเลือดและอัตราการเต้นของหัวใจในกระแต (Tupaia glis) (EFFECT OF 3α-DIHYDROCADAMBINE ISOLATED FROM WILD CINCHONA (Anthocephalus chinensis) LEAVES ON BLOOD PRESSURE AND HEART RATE IN TREE SHREW (Tupaia glis) อ.ที่ปรึกษา : รศ.ดร.ราตรี สุดทรวง, ผศ.พงษ์ศักดิ์ กรรณล้วน , 78 หน้า. ISBN 974-583-392-4

ได้ศึกษาผลของสาร 3 แอลฟา - ไดไฮโดรคาดามบีนซึ่งเป็นอินโดลกลัยโคซิดิค อัลคาลอยด์ (ALK) ที่แยกจากใบของต้นกระทุ่มใหญ่ ต่อความดันเลือดและอัตราการเต้นของหัวใจในกระแต โดยการให้ ALK ทางหลอดเลือดดำ (IV) ขนาดต่าง ๆ กัน ละลายใน 10% polyethylene glycol (PEG) ในน้ำเกลือ ซึ่งพบว่าขนาดที่เหมาะสมมากที่สุดคือ 6.4 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ของน้ำหนักตัว และให้ทาง ventricle ของสมอง (VENT) ขนาด 0.4 ถึง 3.2 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ของน้ำหนักตัว ละลายใน 20%PEG ในน้ำไขสันหลังเทียม(aCSF) พบว่าการให้ทั้งสองทาง มีผลในการลดความดันเลือด และอัตราการเต้นของหัวใจอย่างมีนัย-สำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แต่อย่างไรก็ตาม ยังคงพบความแตกต่างของรูปแบบในการลดลงของความดันเลือดระหว่างสองทางที่ให้ โดยความดันเลือดจะลดลงทันที และลดลงมากที่สุดประมาณ 40 วินาทีหลังจากให้ ALK ทาง IV ในขณะที่ทาง VENT ความดันเลือดจะลดลงมากที่สุดหลังจากให้ ALK ประมาณ 20 นาที นอกจากนี้ยังพบว่าการให้ตัวทำละลาย 20% PEG ใน aCSF เพียงอย่างเดียวทาง VENT สามารถลดความดันเลือดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อนำไปเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ให้ตัวทำละลายร่วมกับ ALK ขนาดต่าง ๆ ทาง VENT ไม่พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

จากการศึกษาในครั้งนี้ยังพบว่า การให้ ALK ทาง IV สามารถลด fastigial pressor response ที่เกิดจากการกระตุ้น fastigial nucleus ได้ แต่อย่างไรก็ตาม เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับผลของ ALK ขนาดเท่ากันในระดับความดันปกติแล้ว ไม่พบว่ามีความแตกต่างกัน

จากการศึกษานี้อาจสรุปได้ว่า สาร 3 แอลฟา- ไดไฮโดรคาดามบีน มีฤทธิ์ในการลดความดันเลือด โดยออกฤทธิ์เด่นในส่วนของระบบประสาทส่วนปลายมากกว่าระบบประสาทส่วนกลาง

หอสมุดกลาง จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา ..... ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา ..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....

ปีการศึกษา 2536 ..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

##C346865 : MAJOR PHYSIOLOGY

KEYWORD : Anthocephalus chinensis / INDOLE GLYCOSIDE / BLOOD PRESSURE / HEART RATE / Tupaia glis

ANUSARA VATTANAJUN : EFFECT OF 3 α - DIHYDROCADAMBINE ISOLATED FROM WILD CINCHONA (Anthocephalus chinensis) LEAVES ON BLOOD PRESSURE AND HEART RATE IN TREE SHREW (Tupaia glis). THESIS ADVISOR : ASSO. PROF. RATREE SUDSUANG, Ph.D., ASSIS. PROF. PONGSAK KUNLUAN, 78 pp. ISBN 974-583-392-4

The effect of 3 α -dihydrocadambine, indole glycosidic alkaloid (ALK), isolated from Anthocephalus chinensis leaves on blood pressure and heart rate was investigated in tree shrews. This ALK at various doses were dissolved in 10% polyethylene glycol (PEG) in normal saline for intravenous injection (IV) which was found that 6.4 mg/kg B.W. was the optimal effective dose; in case of intraventricular injection (VENT), 0.4 to 3.2 mg/kg B.W. were dissolved in 20% PEG in artificial cerebrospinal fluid (aCSF). It was found that after ALK injection, systemic arterial pressure and heart rate were decreased significantly when compared to those control by both routes of administration ($p < 0.05$). However, there was a difference in the pattern of hemodynamic change between the two routes of administration. The IV injection decreased systemic blood pressure immediately (about 40 sec after injection) while by VENT , 20 min delayed decreasing effect was occurred. It was also found that placebo injection of 20% PEG in aCSF itself into the lateral ventricle evoked significant systemic change. When it was compared to the VENT doses of ALK, there was no statistically significant changes between them ($p > 0.05$).

We also observed hypotensive effect of this agent during fastigial pressor response which was induced by fastigial nucleus stimulation, hemodynamic changes of these groups were similar to the basal blood pressure groups, when the same doses were compared.

From this study, it may be postulated that this agent, 3 α-dihydrocadambine, has an hypotensive effect which predominant peripheral action.

ภาควิชา..... ลายมือชื่อนิสิต.....

สาขาวิชา..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ปีการศึกษา..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ACKNOWLEDGEMENTS

The author is indebted and grateful to her advisor, Associate Professor Ratree Sudsuang, Department of Physiology Faculty of Medicine, her co-advisor Assistant Professor Pongsak Kunluan, Head of the department of Physiology, Faculty of Pharmaceutical Science, Chulalongkorn University and Assistant Professor Veerachai Singhaniyom, Head of the department of Anatomy, Faculty of Medicine, Sri Nakharinwirot University for their helpful guidances, suggestions, criticisms and encouragements throughout the course of this study.

The author would like to express her appreciation to Associate Professor Nijsiri Ruangrungsi, Department of Pharmacognocy, Faculty of Pharmaceutical Science, Chulalongkorn University for his very useful suggestion in extraction and purification of the ALK.

The author also would like to extend her sincere thanks to all the staff members of the department of Physiology, Faculty of Pharmaceutical Science, Chulalongkorn University for their help and kindness.

Finally, the author also grateful thanks to Graduate School, Chulalongkorn University for granting her partial financial support to conduct this experiment.

TABLE OF CONTENTS

Page

THAI ABSTRACT..... IV

ENGLISH ABSTRACT..... V

ACKNOWLEDGEMENTS..... VI

TABLE OF CONTENTS..... VII

LIST OF TABLES..... IX

LIST OF FIGURES..... XI

ABBREVIATION..... XIII

CHAPTER

I. INTRODUCTION..... 1

II. LITERATURE REVIEWS..... 2

III. MATERIALS AND METHODS

- Isolation of ALK from *Anthocephalus chinensis* leaves.....
  - Source of plant materials..... 11
  - Isolation of ALK..... 11
  - Purification of light brown amorphous powder.. 13
- Experimental animals..... 14
- Experimental procedure
  - Preparation of animals..... 14
  - Measurement of systemic cardiovascular activity. 14

Page

- 3α-dihydrocadambine administration..... 15

- Electrical stimulation of FN..... 16

- Effect of 3α-dihydrocadambine on FPR..... 17

- Histological techniques..... 17

- Statistical analysis..... 19

IV. RESULTS..... 20

V. DISCUSSION AND CONCLUSION..... 48

REFERENCES..... 58

VITA..... 64

LIST OF TABLES

Table Page

1. Decreasing effect of intravenous ALK on systolic blood pressure in anaesthetized tree shrews..... 22
2. Decreasing effect of intravenous ALK on diastolic blood pressure in anaesthetized tree shrews..... 23
3. Decreasing effect of intravenous ALK on mean arterial pressure in anaesthetized tree shrews..... 24
4. Comparison of the percent changes in arterial pressure produced by intravenously ALK 0.0 (10% PEG), 3.2 and 6.4 mg/kg as function of the time..... 27
5. The effect of intravenous ALK in various doses on heart rate in anaesthetized tree shrews..... 30
6. Decreasing effect of intraventricular ALK on systolic blood pressure in anaesthetized tree shrews..... 33
7. Decreasing effect of intraventricular ALK on diastolic blood pressure in anaesthetized tree shrews..... 34
8. Decreasing effect of intraventricular ALK on mean arterial pressure in anaesthetized tree shrews..... 35

Table Page

9. Comparison of the percent changes in arterial pressure produced by intraventricular ALK 0.0 (20% PEG) and 3.2 mg/kg as function of the time..... 37

10. The absolute values and the percent changes of heart rate before and after intraventricular administration in various doses of ALK..... 39

11. Comparison of the effect of FN stimulation on arterial pressure and the effect of intravenous ALK 3.2 and 6.4 mg/kg during FPR..... 43

12. Comparison of the effect of intravenous ALK on basal systolic blood pressure and during FN stimulation at doses 3.2 and 6.4 mg/kg..... 44

13. Comparison of the effect of intravenous ALK on basal diastolic blood pressure and during FN stimulation at doses 3.2 and 6.4 mg/kg..... 45

14. Comparison of the effect of intravenous ALK on basal mean arterial pressure and during FN stimulation at doses 3.2 and 6.4 mg/kg..... 46

LIST OF FIGURES

Figure		Page
1.	*Anthocephalus chinensis* leaves.....	4
2.	The structure of 3α-dihydrocadambine ($C_{27}H_{34}N_2O_{10}$)..	5
3.	Outline of the extraction and purification of 3α-dihydro-cadambine from *Anthocephalus chinensis* leaves.....	12
4.	Diagrammatic representative of the experimental set up..	18
5.	Changes in arterial pressure at base line after intravenous administration of ALK in various doses 0.8, 1.6, 3.2, 6.4 and16.0 mg/kg.....	21
6.	Dose-dependent decreases in systolic, diastolic and mean arterial pressure produced by intravenous administration of ALK.....	25
7.	The concentration response curves for hypotensive effect after intravenous administration of ALK 0.8, 1.6, 3.2, 6.4, 16.0 and 24.0 mg/kg.....	26
8.	Representative experiment depicting the changes in systolic, diastolic and mean arterial pressure at base line and for 0-20 min after intravenous 10%PEG and ALK 3.2 mg/kg in 10% PEG administration.....	28

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Figure Page

9. Changes of arterial pressure at base line after intra-ventricular administration of ALK in doses 0.0 (20% PEG), 0.8 and 3.2 mg/kg..... 32

10. The mean of percent decreases in systolic, diastolic and mean arterial pressure produced by intraventricular administration of ALK 36

11. Representative experiment depicting the changes in systolic, diastolic and mean arterial pressure at base line and for 0-30 min after intraventricular 20%PEG and ALK 3.2 mg/kg in 20% PEG administration..... 38

12. Fastigial pressor responses during FN stimulation..... 41

13. Records showing fastigial pressor response in anaesthetized tree shrews and its attenuation by intravenous ALK 6.4 mg/kg..... 42

14. Comparison of the effect of intravenous ALK on basal blood pressure and during FPR at doses 3.2 and 6.4 mg/kg..... 47

15. Basic pathways involved in the medullary control of blood pressure..... 52

ABBREVIATION

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สถาบันวิทยบริการ

AC = alternating current

aCSF = artificial cerebrospinal fluid

ALK = ALKALOID from *Anthocephalus chinensis* leaves

AP = arterial pressure

B.W. = body weight

°C = degree celsius

FN = fastigial nucleus

FPR = fastigial pressor response

g = gram

HR = heart rate

Hz = Hertz (pulse per second)

IV = intravenous

KΩ = kilo ohm

mA = milli Ampered

MAP = mean arterial pressure

mg/kg = milligram per kilogram

min = minutes

ml = millilitre

mm = millimetre

mmHg = millimetre Mercury

mS = milli second

NSS = normal saline solution

O.D. = outer diameters

P = probability

PEG = polyethylene glycol

rFN = rostral portion of fastigial nucleus

sec = second

S.E.M. = standard error of the mean

V = volt

VENT = intraventricular

µl = microlitre

µm = micrometre