

Abstract

Tinospora crispa was collected from various provinces of Thailand. The dried stems of this plant were ground to a fine powder and extracted by three solvents, hexane, chloroform and ethanol, respectively to give the crude hexane extract (1.29%), the crude chloroform extract (1.69%), and the crude ethanol extract (1.74%). The crude chloroform extract and the crude ethanol extract increased contractility of both right and left atria of the isolated rat whereas the crude hexane extract showed slightly increased effect.

The process of purification of the crude chloroform extract was done by quick column chromatography and each fraction was further purified by column chromatography and then recrystallization. The pure compounds identified from the fractions included cycloeucalenol(0.01%), which was the first isolation from *Tinospora crispa*, β -sitosterol(0.07%), the mixture of 1-octacosanol and 1-triacontanol(0.12%), β -sitosterol- β -D-glucoside(0.00003%), N-formylnornuciferine (0.0004%), and also columbin(0.0017%) which could be detected from *Tinospora crispa* from Nakhornpathom.

The most active constituent found in our present work was N-formylnornuciferine, an aporphine alkaloid which significantly increased the force of contraction of both the right and left atria of isolated rat. Cycloeucalenol, a triterpene, significantly increased force on the right atria but slightly decreased force on the left atria. Contrarily, the mixture of 1-octacosanol and 1-triacontanol decreased the force of contraction of both the right and left atria and columbin, a dilactone diterpene also significantly decreased the force of contraction of both the right and left atria.

The other two compounds, β -sitosterol and β -sitosterol- β -D-glucoside produced slightly increased effect on the right atrial force of contraction.

The amount of N-formylnornuciferine from *Tinospora crispa* varied according to the age and location of the plants such as 0.0004% from Supunburi; 0.00016% from Prachinburi but sometimes could not be detected from Prachinburi and Nakhornpathom. The amount of columbin could be detected from the Nakhornpathom sample in 0.0017%.

but could not be detected from samples of Supanburi and Prachinburi. Furthermore cycloeucalenone which is a triterpene, has been extracted from the crude hexane extract and this is the first report that cycloeucalenone was detected from *Tinospora crispa*. The cycloeucalenone has no effect on isolated rat atria. The reduction of cycloeucalenone by sodium borohydride gave cycloeucalenol which produced the effect similar to that of cycloeucalenol extracted from the chloroform fraction.

The preliminary screening effect on blood pressure in anesthetized rat has been studied. The crude hexane extract produced no change on blood pressure. The crude chloroform and ethanol extract produced variable reduction on blood pressure. The mixture of 1-octacosanol and 1-triacontanol produced a moderate to severe hypotension and 3 of 6 rats died after administration.

This is the first report that N-formylnomuciferine from *Tinospora crispa* showed significant increased force of contraction on right and left rat atria. And also, the cycloeucalenol increased force of contraction on the right atria, columbin reduced force of contraction on both right and left rat atria but no effect from cycloeucalenone. This is also the first report to show that three compounds, cycloeucalenone, cycloeucalenol and columbin were detected from *Tinospora crispa*. From the acute toxicity test, it could be inferred that the alcoholic extract of *Tinospora crispa* has less toxicity. Further studies on other pharmacological effects of this plant for modern and traditional medicine could be suggested.

บทคัดย่อ

การสกัดลำต้นบอระเพ็ดแก่ที่แห้ง และบดละเอียด จากจังหวัด สุพรรณบุรี คั่วขลวกทำละลาย เฮกเซน คลอโรฟอร์ม และ เอทานอล ตามลำดับ ได้สารสกัดหยาบเฮกเซน 1.29% สารสกัดหยาบคลอโรฟอร์ม 1.69% และสารสกัดหยาบเอทานอล 1.74% พบว่า สารสกัดหยาบคั่วขลวกคลอโรฟอร์ม และสารสกัดหยาบคั่วขลวกเอทานอล ออกฤทธิ์เพิ่มแรงบีบตัวของกล้ามเนื้อหัวใจห้องบนขวา และซ้ายของหนูขาวชัดเจน ในขณะที่สารสกัดหยาบคั่วขลวกเฮกเซนมีผลน้อยต่อกล้ามเนื้อหัวใจทั้งห้องบนขวาและซ้ายของหนูขาว

เมื่อนำสารสกัดหยาบคั่วขลวกคลอโรฟอร์ม มาแยกด้วยวิธี quick column chromatography และนำส่วนที่ออกฤทธิ์มาแยกสารให้บริสุทธิ์ด้วย วิธี column chromatography ตามด้วยการตกผลึกได้สารบริสุทธิ์ หลายชนิด ดังนี้ cycloeucalenol (0.01%) ซึ่งเป็นการพบสารนี้ครั้งแรกในบอระเพ็ด β -sitosterol (0.07%) สารผสมของ 1-octacosanol และ 1-triacontanol (0.12%) β -sitosterol- β -D-glucoside (0.0003%) N-formylnormuciferine (0.0004%) นอกจากนั้นยังพบ columbin (0.0017%) จากสารสกัดหยาบคั่วขลวกคลอโรฟอร์มของบอระเพ็ดจังหวัดนครปฐม

N-formylnormuciferine ซึ่งเป็น aporphine alkaloid ออกฤทธิ์เพิ่มแรงบีบตัวกล้ามเนื้อหัวใจ ห้องบนขวาและซ้ายของหนูขาวอย่างชัดเจน ในขณะที่ cycloeucalenol ซึ่งเป็น triterpene ออกฤทธิ์เพิ่มแรงบีบตัวของหัวใจห้องบนขวาเท่านั้น ส่วน β -sitosterol และ β -sitosterol- β -D-glucoside มีผลเล็กน้อยต่อกล้ามเนื้อหัวใจ สำหรับของผสมของ 1-octacosanol และ 1-triacontanol ลดแรงบีบตัวของกล้ามเนื้อหัวใจ โดยเฉพาะ columbin ซึ่งเป็น diterpene ออกฤทธิ์ลดแรงบีบตัวของหัวใจห้องบนขวาและซ้ายอย่างชัดเจน

ปริมาณ N-formylnormuciferine ที่แยกได้จากสารสกัดคลอโรฟอร์มของบอระเพ็ดแก่จากแหล่งต่างๆเป็นดังนี้ จากจังหวัดสุพรรณบุรี 0.0004% จากจังหวัด ปราจีนบุรี 0.00016% แต่บางครั้งก็ไม่สามารถตรวจพบได้ จากจังหวัดนครปฐมไม่พบสารนี้และไม่พบในบอระเพ็ดอ่อน ส่วนปริมาณสาร columbin ที่แยกได้มีดังนี้ บอระเพ็ดจากจังหวัดนครปฐม 0.0017% ส่วนจากจังหวัดสุพรรณบุรี และจังหวัดปราจีนบุรี ไม่พบสารนี้ นอกจากนี้ยังได้แยก cycloeucalenone ซึ่งเป็นสาร triterpene จากสารสกัดหยาบเฮกเซน ซึ่งเป็นการพบครั้งแรกในบอระเพ็ด cycloeucalenone ไม่มีผลต่อกล้ามเนื้อหัวใจของหนูขาว ได้ทำการรีดิวส์ cycloeucalenone ด้วย sodium borohydride ได้ผลเป็น cycloeucalenol ซึ่งพบว่าออกฤทธิ์เพิ่มแรงบีบตัวของหัวใจเช่นเดียวกับ cycloeucalenol ที่สกัดได้จากสารสกัดหยาบคลอโรฟอร์ม

ผลการทดลองเบื้องต้นของสารสกัดบอระเพ็ดต่อความดันโลหิตของหนูขาวสด พบว่า สารสกัดหยาบคั่วขลวกเฮกเซนไม่มีผล ต่อความดันโลหิต ส่วนผลต่อความดันโลหิตของสารสกัดหยาบคั่วขลวกคลอโรฟอร์มและเอทานอล ไม่สามารถสรุปได้ชัดเจน เนื่องจากมีผลลดความดันในช่วง

มรก โดยแปรผันแตกต่างกันในหนูแต่ละตัว สำหรับของผสมของ 1-octacosanol และ 1-triacontanol มีผลลดความดันโลหิตชัดเจน และทำให้หนูบางตัวตาย

งานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยที่ได้รายงานเป็นครั้งแรกว่า สารสกัดบอระเพ็ดมี N-formyl normuciferine ออกฤทธิ์เพิ่มแรงบีบตัวของหัวใจทั้งห้องบนขวาและซ้ายของหนูขาวได้ สาร cyclocuculenol ออกฤทธิ์เพิ่มแรงบีบตัวของหัวใจห้องบนขวาชัดเจน และ columbin มีผลลดแรงบีบตัวของหัวใจทั้งบนขวาและซ้ายและ cyclocuculenone ไม่มีผลต่อกล้ามเนื้อหัวใจ สำหรับ cyclocuculenone, cyclocuculenol และ columbin ไม่มีรายงานว่าพบในบอระเพ็ดมาก่อน นอกจากนั้นการศึกษานี้ยังเผยให้เห็นในหนูถีบจักรพบว่าบอระเพ็ดมีปริมาณไกลโคไซด์สูง จึงสมควรที่จะศึกษาเพื่อพัฒนามาบอระเพ็ดมาใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์ต่อไป