

Thesis Title	Pharmacological Actions and Toxicity of <i>Gelsemium Elegans</i> Benth.	
Author	Mr. Chaoyong Rujjanawate	
Ph.D	Pharmacology	
Examining Committee		
	Associate Prof. Dr. Duangta Kanjanapothi	Chairperson
	Associate Prof. Dr. Ampai Panthong	Member
	Associate Prof. Vallapar Anantasan	Member
	Associate Prof. Dr. Nirush Lertprasertsuk	Member
	Dr. Damrongsak Bulyalert	Member
	Associate Prof. Dr. Prasan Dhamma-upakorn	Member
	Associate Prof. Dr. Maitree Suttajit	Member

#### ABSTRACT

*Gelsemium elegans* Benth. is a toxic plant indigenous to southeastern Asia. It is known among local hilltribes that this plant is an effective means for committing suicide besides being capable of alleviating pains and some diseases of their animals. Although at least 38 alkaloids have been isolated from *G. elegans* to date, relatively few pharmacological and toxicological studies on gelsemium alkaloids have been reported. This study was thus aimed at investigating the pharmacological actions and toxicity of the plant extracts. Leaves of *G. elegans* were collected and dried. By using methanol and conventional acid-base extraction, a methanolic extract and a crude alkaloidal fraction were obtained. The crude alkaloidal fraction was subjected to repeated chromatography by means of a silica gel column eluted successively with ethylacetate and gradient concentrations of methanol/chloroform. Thin layer chromatography was used to combine

eluents that contained similar compounds. Characterization and identification of fractions was performed by high performance liquid chromatography and  $^1\text{H}$  nuclear magnetic resonance spectroscopy. The major fractions isolated were gelsemine, a gelsemine and koumine mixture, koumine, and gelsemiol. Gelsemine and koumine are major alkaloids found in *G. elegans* while gelsemiol is a terpenoid previously reported to be in *Gelsemium sempervirens*. Pharmacological and toxicological studies showed that the methanolic extract and the crude alkaloidal fraction of *G. elegans* produced violent clonic convulsions that led to death in mice and rats. The methanolic extract and the crude alkaloidal fraction relaxed tracheal and intestinal smooth muscles of guinea-pig and uterine muscle of rat. The crude alkaloidal fraction exhibited skeletal muscle relaxant activity as shown by its inhibition of the neurally-evoked twitch in isolated mice phrenic nerve-diaphragm preparation. The alkaloidal fraction at high doses lowered blood pressure and heart rate in pentobarbital anaesthetized rats. The alkaloidal fraction as well as fractions containing gelsemine exerted analgesic and anti-inflammatory effects in mice while fractions containing gelsemine and koumine, and gelsemiol showed only anti-inflammatory activity. No changes in electroencephalographic patterns were observed after intraperitoneal administration of the crude alkaloidal extract. Since pentobarbital or diazepam could significantly prevent the convulsion induced by the crude alkaloidal fraction in mice and rats and since reserpine potentiated the lethal effect of the fraction, it is reasonable to postulate that the crude alkaloidal fraction of *G. elegans* acts centrally against GABA

action. Pentobarbital and diazepam may prove useful in the treatment of gelsemium intoxication. The finding that the alkaloid gelsemine and the terpenoid gelsemiol are effective in alleviation of pain and acute inflammation warrants further study to develop these compounds for medicinal purposes.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและความเป็นพิษของมะเค็ด	
ชื่อผู้เขียน	นายไชยยง รุจจนเวท	
ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต	สาขาวิชาเภสัชวิทยา	
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	รศ.ดร. ดวงตา กาญจนโพธิ์	ประธานกรรมการ
	รศ.ดร. อำไพ บันทอง	กรรมการ
	รศ. วัลภา อนันตศานต์	กรรมการ
	รศ.ดร.พญ. นีรัช เลิศประเสริฐสุข	กรรมการ
	ดร.นพ. ดำรงค์ศักดิ์ บุลยเลิศ	กรรมการ
	รศ.ดร. ประสาน ธรรมอุปกรณ	กรรมการ
	รศ.ดร. ไมตรี สุทธิจิตต์	กรรมการ

## บทคัดย่อ

*Gelsemium elegans* Benth. มีชื่อในภาษาไทยว่ามะเค็ด เป็นพืชมีพิษที่มีถิ่นกำเนิดในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ชาวเขาใช้พืชชนิดนี้สำหรับการฆ่าตัวตายและยังใช้บรรเทาความเจ็บปวดและเป็นยารักษาโรคบางชนิดของสัตว์เลี้ยง ปัจจุบันแม้ว่าจะได้มีการแยกสารแอลคาลอยด์จากมะเค็ดได้ไม่น้อยกว่า 38 ชนิด รายงานการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและพิษวิทยาของมะเค็ดก็ยังมีน้อยมาก การวิจัยในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและความเป็นพิษของมะเค็ด ได้เก็บรวบรวมใบของมะเค็ดมาตากแห้งในที่ร่ม การสกัดด้วยเมทานอลและวิธี acid-base ทำให้ได้ส่วนสกัดเมทานอลและส่วนสกัดแอลคาลอยด์ ทำการแยกส่วนสกัดแอลคาลอยด์ต่อไปด้วยวิธี chromatography หลายๆ ครั้งโดยใช้ silica gel column ที่ผ่านด้วยเอทิลอะซีเตต และ เมทานอลกับคลอโรฟอร์มในสัดส่วนต่างๆกัน และใช้ thin layer chromatography ในการรวบรวมส่วนสกัดที่มีสารคล้ายคลึงกัน จากการจำแนกและหาสูตรโครงสร้างทางเคมีโดยอาศัย high performance liquid chromatography และ  $^1\text{H}$  nuclear magnetic resonance spectroscopy ทำให้ได้ส่วนสกัดที่ประกอบด้วยแอลคาลอยด์ gelsemine, แอลคาลอยด์ gelsemine ผสมกับ koumine และเทอร์พีนอยด์ gelsemiol

สำหรับแอลคาลอยด์ gelsemine และ koumine นั้น เป็น แอลคาลอยด์ สำคัญที่พบในมะเค็ด ขณะที่ gelsemiol เป็นเทอร์ปีนอยด์ที่มีรายงานมาก่อนว่าพบใน *Gelsemium sempervirens* การศึกษาทางเภสัชวิทยาและพิษวิทยาพบว่า ส่วนสกัดเมทานอลและส่วนสกัดแอลคาลอยด์ของมะเค็ด ทำให้เกิดการชักแบบรุนแรง ซึ่งทำให้หนูถีบจักรและหนูขาวตาย ส่วนสกัดทั้งสองยังมีฤทธิ์คลายกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมและลำไส้ของหนูตะเภา และกล้ามเนื้อเรียบมดลูกของหนูขาว ฤทธิ์คลายกล้ามเนื้อลายของส่วนสกัดแอลคาลอยด์แสดงโดยการยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อ กระบังลมที่เกิดจากการกระตุ้นเส้นประสาท phrenic ด้วยไฟฟ้า ส่วนสกัดแอลคาลอยด์ในขนาดสูงมีฤทธิ์ลดความดันโลหิตและอัตราการเต้นของหัวใจในหนูขาวที่สลบด้วย pentobarbital ส่วนสกัดแอลคาลอยด์ รวมทั้งส่วนสกัดที่มี gelsemine มีฤทธิ์ระงับอาการปวดและต้านการอักเสบแบบเฉียบพลันในหนูถีบจักร ขณะที่ ส่วนสกัดที่มี gelsemine และ koumine และส่วนสกัดที่มี gelsemiol มีฤทธิ์ต้านการอักเสบแต่เพียงอย่างเดียว ไม่พบการเปลี่ยนแปลงคลื่นสมองของหนูขาวหลังจากฉีดส่วนสกัดแอลคาลอยด์เข้าทางช่องท้อง การศึกษานี้ยังได้พบว่า pentobarbital และ diazepam สามารถป้องกันการชักของหนูถีบจักรและหนูขาวได้อย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ reserpine ทำให้หนูขาวที่ได้รับส่วนสกัดแอลคาลอยด์ในขนาดที่ไม่ทำให้เกิดอาการพิษนั้น เกิดการชักและตายได้ ปรัชญาการณเหล่านี้ชี้ให้เห็นว่า ส่วนสกัดแอลคาลอยด์ของมะเค็ดน่าจะมีผลต่อต้านฤทธิ์ของ GABA ในระบบประสาทส่วนกลาง สำหรับ pentobarbital และ diazepam นั้น อาจเป็นประโยชน์ในการแก้ไขอาการพิษจากมะเค็ด นอกจากนี้การที่ แอลคาลอยด์ gelsemine และเทอร์ปีนอยด์ gelsemiol มีฤทธิ์ระงับอาการปวดและแก้อักเสบแบบเฉียบพลัน ยังสามารถนำไปสู่การศึกษาเพื่อพัฒนาสารเหล่านี้สำหรับประโยชน์ในทางยาต่อไป