ผลของอัลคาลอยด์หลักจากต้นตาเสือทุ่งต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อหลอดลมที่แยกจากตัวหนูขาวและหนูตะเภา

นายณรงค์ จันทร์เลย

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต
ภาควิชาเภสัชวิทยา
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
พ.ศ. 2536

ISBN 974-582-864-5

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

018816 i17360g1x

EFFECT OF A MAIN ALKALOID FROM *DYSOXYLUM CYRTOBOTRYUM* MIQ. ON THE CONTRACTION OF ISOLATED TRACHEA FROM RAT AND GUINEA-PIG

MR. NARONG CHANLEUR

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Pharmacy

Department of Pharmacology
Graduated School
Chulalongkorn University

1993

ISBN 974-582-864-5

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของอัลคาลอยด์หลักจากต้นตาเสือทุ่งต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อหลอดลมที่แยกจากตัวหนูขาวและหนูตะเภา
โดย	นายณรงค์ จันทร์เลย
ภาควิชา	เภสัชวิทยา
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร.ประสาน ธรรมอุปกรณ์

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(ศาสตราจารย์ ดร.ถาวร วัชราภัย)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ อุษณา หงส์วารีวัชน์)

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. ประสาน ธรรมอุปกรณ์)

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. ประกร จูฑะพงษ์)

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. เอกรินทร์ สายฟ้า)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชาเภสัชวิทยา จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ณรงค์ จันทร์เลย : ผลของอัลคาลอยด์หลักจากต้นตาเสือทุ่งต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อหลอดลมที่แยกจากตัวหนูขาวและหนูตะเภา (EFFECT OF A MAIN ALKALOID FROM DYSOXYLUM CYRTOBOTRYUM MIQ. ON THE CONTRACION OF ISOLATED TRACHEA FROM RAT AND GUINEA-PIG) อ. ที่ปรึกษา : รศ.ดร. ประสาน ธรรมอุปกรณ์, 77 หน้า
ISBN 974-582-864-5

อัลคาลอยด์หลักจากต้นตาเสือทุ่ง (DYSOXYLUM CYRTOBOTRYUM Miq.) เป็นสารสกัดบริสุทธิ์ประเภทโครโมนอัลคาลอยด์ มีสูตรโครงสร้างเหมือนกับ rohitukine ได้ศึกษาฤทธิ์ของสารนี้ต่อการหดตัวของหลอดลมที่แยกจากหนูขาวและหนูตะเภา พบว่าอัลคาลอยด์ (1.23×10^{-4}-3.68×10^{-4} M) สามารถยับยั้ง cumulative dose-response ซึ่งกระตุ้นด้วย Ach, 5HT, $BaCl_2$ ในสารละลาย Krebs Henseleit และ $BaCl_2$, $CaCl_2$ ในสารละลาย potassium-depolarizing กับหลอดลมของหนูขาว และยังยับยั้ง cumulative dose-response ซึ่งกระตุ้นด้วย histamine และ TEA กับหลอดลมของหนูตะเภา การยับยั้งนี้เป็นแบบ non-competitive antagnism และพบว่าผลการยับยั้งสามารถถูกต้านฤทธิ์ได้ด้วย TEA 8 mM เมื่อใช้ Ach 1.0×10^{-6} M หรือ histamine 1.0×10^{-5} M เป็นสารกระตุ้นเปรียบเทียบผลกับ verapamil 0.5×10^{-4} M พบว่า TEA 8 mM ไม่สามารถต้านฤทธิ์การยับยั้งของ verapamil เมื่อใช้ histamine เป็นสารกระตุ้น แต่สามารถต้านฤทธิ์การยับยั้งของ verapamil ได้น้อยกว่าของอัลคาลอยด์ เมื่อใช้ Ach เป็นสารกระตุ้น จากผลการทดลองแสดงว่าอัลคาลอยด์หลักจากต้นตาเสือทุ่งมีฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อหลอดลมที่แยกจากหนูขาวและหนูตะเภาแบบไม่เฉพาะเจาะจงต่อ receptor และฤทธิ์ในการยับยั้งน่าจะเกิดจากสารนี้มีผลไปรบกวนการเคลื่อนที่ของแคลเซียมผ่านผนังเซลทาง voltage-dependent Ca^{2+} channel ด้วยกลไกที่แตกต่างจาก verapamil

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา เภสัชวิทยา ลายมือชื่อนิสิต .....
สาขาวิชา เภสัชวิทยา ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....
ปีการศึกษา 2535 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

##C475292 : MAJOR PHARMACOLOGY
KEY WORD: ALKALOID/DYSOXYLUM CYRTOBOTRYUM MIQ./RAT ISOLATED TRACHEA/ GUINEA-PIG.

NARONG CHANLEUR: EFFECT OF A MAIN ALKALOID FROM DYSOXYLUM CYRTOBOTRYUM MIQ. ON THE CONTRACTION OF ISOLATED TRACHEA FROM RAT AND GUINEA-PIG. THESIS ADVISOR: ASSO. PROF. PRASAN DHUMMA-UPAKORN, Ph.D. 77 pp. ISBN 974-582-864-5

A main pure alkaloid extracted from Dysoxylum cyrtobotryum Miq. is a cromone alkaloid that has the structure similar to rohitukine. The effects of this compound on the contraction of isolated trachea from rat and guinea-pig were investigated. On isolated rat trachea, this alkaloid ($1.23x10^{-4}$-$3.68x10^{-4}$ M) inhibited cumulative dose-response curves of Ach, 5HT, $BaCl_2$ in normal Krebs Henseleit solution and $BaCl_2$, $CaCl_2$ in potassium-depolarizing solution. Also inhibited cumulative dose-response curves of histamine and TEA on isolated guinea-pig trachea. These inhibitory effects are non-competitive antagonist. In agonist-evoked contraction with Ach $1.0x10^{-6}$ M or histamine $1.0x10^{-5}$ M, this alkaloid inhibited these contractions and were antagonized by TEA 8 mM comparing with verapamil $0.5x10^{-4}$ M which inhibited those and were not antagonized by TEA 8 mM on histamine-evoked contraction, but were less antagonized by TEA 8 mM on Ach-evoked contraction. These results suggested that a main alkaloid from D. cyrtobotryum Miq. relaxed trachealis smooth muscle which was not mediated via specific receptor and its inhibitory effect was probably due to interference with Ca^{2+} influx through voltage-dependent Ca^{2+} channel but in different mechanism from those of verapamil

ภาควิชา เภสัชวิทยา ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา เภสัชวิทยา ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....

ปีการศึกษา 2535 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม –

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ประสาน ธรรมอุปกรณ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษา ให้ความรู้ คำแนะนำ ตลอดจนให้ความช่วยเหลือเป็นผลให้วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ อุษณา หงส์วารีวัธน์ หัวหน้าภาควิชาเภสัชวิทยา ที่กรุณาอำนวยความสะดวกแก่ผู้วิจัยในเรื่องการใช้สถานที่ เครื่องมือและอุปกรณ์ต่างๆ ของภาควิชาในการทำวิจัยครั้งนี้ และกรุณาเป็นประธานกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ประกร จูทะพงษ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำ ตลอดจนแนวคิดเพิ่มเติมในการทำวิจัย ทำให้งานวิจัยนี้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.เอกรินทร์ สายฟ้า ที่กรุณาให้สารสกัดที่ใช้ในการวิจัยนี้ และข้อมูลบางส่วนเกี่ยวกับสารสกัดนี้

สุดท้ายนี้ผู้วิจัยขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่กรุณาให้ทุนอุดหนุนการทำวิทยานิพนธ์นี้

ณรงค์ จันทร์เลย

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ
กิตติกรรมประกาศ..... ฉ
สารบัญ..... ช
สารบัญตาราง..... ญ
สารบัญรูปภาพ..... ฏ
คำอธิบายสัญญลักษณ์และคำย่อ..... ฒ
บทที่
1. บทนำ..... 1
2. การดำเนินการวิจัย
สัตว์ทดลอง เครื่องมือและสารเคมี..... 13
วิธีดำเนินการวิจัย..... 15
- การเตรียมกล้ามเนื้อหลอดลม..... 15
การทดลองในหนูขาว
- ศึกษาผลของอัลลอยด์ (R) ต่อ cumulative dose-response curve เมื่อกระตุ้นด้วยสารมาตรฐานกระตุ้นการหดตัวของหลอดลม (Ach และ 5HT)..... 16
- ศึกษาผลของอัลคาลอยด์ (R) ต่อ cumulative dose-response curve เมื่อกระตุ้นด้วย $CaCl_2$ ใน potassium-depolarizing solution..... 19
- ศึกษาผลของ Ca^{2+}-free Krebs Henseleit solution ต่อการหดตัวของหลอดลมเมื่อกระตุ้นด้วย Ach หรือ 5HT..... 21
- ศึกษาผลของอัลคาลอยด์ (R) ต่อการหดตัวของหลอดลมที่กระตุ้นโดย $BaCl_2$..... 21

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

การทดลองในหนูตะเภา

- ศึกษาผลของอัลคาลอยด์ (R) ต่อ cumulative dose-response curve เมื่อกระตุ้นด้วย histamine..... 24
- ศึกษาผลของอัลคาลอยด์ (R) ต่อการหดตัวของหลอดลม เมื่อกระตุ้นด้วย TEA แบบสะสมขนาด..... 24
- ศึกษาผลของ TEA ในการต้านฤทธิ์การยับยั้งการหดตัวของหลอดลมโดยอัลคาลอยด์ (R) เมื่อกระตุ้นด้วย histamine, acetylcholine และ $CaCl_2$ ใน potassium-depolarizing solution..... 24

การวิเคราะห์ข้อมูล..... 25

3. ผลการทดลอง

ผลการทดลองในหนูขาว

3.1 ผลของอัลคาลอยด์ (R) ต่อกราฟ CDR เมื่อกระตุ้นด้วย Ach..... 27

3.2 ผลของอัลคาลอยด์ (R) ต่อกราฟ CDR เมื่อกระตุ้นด้วย 5HT..... 33

3.3 ผลของอัลคาลอยด์ (R) ต่อกราฟ CDR เมื่อกระตุ้นด้วย $CaCl_2$ ใน potassium-depolarizing solution..... 36

3.4 ผลของ Ca^{2+}-free Krebs Henseleit solution ต่อการหดตัวของหลอดลมเมื่อกระตุ้นด้วย Ach หรือ 5HT..... 36

3.5 ผลของอัลคาลอยด์ (R) ต่อการหดตัวของหลอดลมที่กระตุ้นโดย $BaCl_2$..... 40

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

ผลการทดลองในหนูตะเภา

3.6 ผลของอัลคาลอยด์ (R) ต่อกราฟ CDR เมื่อกระตุ้นด้วย histamine..... 49

3.7 ผลของอัลคาลอยด์ (R) ต่อการหดตัวของหลอดลม เมื่อกระตุ้นด้วย TEA แบบสะสมขนาด..... 49

3.8 ผลของ TEA ในการต้านฤทธิ์การยับยั้งการหดตัวของหลอดลมโดยอัลคาลอยด์ (R) เมื่อกระตุ้นด้วย histamine, Ach และ $CaCl_2$ ใน potassium-depolarizing solution..... 51

4. อภิปรายและสรุปผลการทดลอง..... 59

เอกสารอ้างอิง..... 68

ประวัติผู้เขียน..... 77

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1.	แสดงส่วนประกอบของ physiological solution..	20
2.	แสดงส่วนประกอบของ physiological solution ที่ใช้กับการทดลองเมื่อให้ $BaCl_2$ ในขนาดสูง.....	22
3.	แสดงค่า pD'_2 ของอัลคาลอยด์ (R), verapamil และ (dl)isoproterenol จากการศึกษาผลของสารเหล่านี้ต่อ cumulative dose-response curve ของ 5HT.....	37
4.	แสดงค่า pD'_2 ของอัลคาลอยด์ (R), verapamil จากการศึกษาผลของสารเหล่านี้ต่อ cumulative dose-response curve ของ $CaCl_2$ ใน potassium depolarizing solution.....	39

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูปภาพ

หน้า

รูปภาพที่

1 แสดงลักษณะของต้นตาเสือทุ่ง (Dysoxylum cyrtobotryum Miq.)..... 3

2 แสดงสูตรโครงสร้างของอัลคาลอยด์ที่แยกได้จาก Dysoxylum binectariferum Hook f. Bedd..... 4

3 แสดงสูตรโครงสร้างที่เป็น crystal conformation และ relative configuration ของ rohitukine.... 6

4 แสดงขั้นตอนในการสังเคราะห์ rohitukine..... 7

5 แสดงสูตรโครงสร้างของสารเคมีที่คาดว่าสามารถเปิด K^+channel..... 12

6 แสดงการจัดเครื่องมือ organ bath..... 14

7 แสดงลักษณะของหลอดลมและการเรียงตัวของกล้ามเนื้อหลอดลมที่แยกจากสัตว์ทดลอง..... 17

8 แสดงการเตรียมหลอดลมโดยการตัดแบบเกลียว (spiral preparation)..... 18

9 แสดงผลของอัลคาลอยด์ (R) ต่อ cumulative dose response เมื่อกระตุ้นกล้ามเนื้อหลอดลมด้วย Ach..... 28

10 กราฟแสดงผลของ R ต่อ cumulative dose-response curve ของ Ach ในหลอดลมที่แยกจากหนูขาว..... 29

11 แสดงผลของ verapamil ต่อ cumulative dose response เมื่อกระตุ้นกล้ามเนื้อหลอดลมด้วย Ach..... 30

12 แสดงผลของ isoproterenol ต่อ cumulative dose response เมื่อกระตุ้นกล้ามเนื้อหลอดลมด้วย Ach..... 31

สารบัญรูปภาพ(ต่อ)

หน้า

13 กราฟแสดงผลของ R $3.68x10^{-4}$ M, verapamil $1x10^{-6}$ M และ isoproterenol $1x10^{-6}$ M ต่อ cumulative dose response curve ของ Ach ในหลอดลมที่แยกจากหนูขาว..... 32

14 กราฟแสดงผลของ R ต่อ cumulative dose response curve ของ 5HT ในหลอดลมที่แยกจากหนูขาว..... 34

15 กราฟแสดงผลของ R $3.68x10^{-4}$ M, verapamil $1x10^{-6}$ M และ isoproterenol $1x10^{-6}$ M ต่อ cumulative dose-response curve ของ 5HT ในหลอดลมที่แยกจากหนูขาว..... 35

16 กราฟแสดงผลของ R $1.23x10^{-4}$ M, $3.68x10^{-4}$ M และ verapamil $1x10^{-6}$ M ต่อ cumulative dose-response curve ของ $CaCl_2$ ในสารละลาย potassium-depolarizing ของหลอดลมที่แยกจากหนูขาว..... 38

17 แสดงผลของ Ca^{2+}-free Krebs Henseleit solution ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อหลอดลมที่แยกจากหนูขาวเมื่อกระตุ้นด้วย Ach..... 41

18 กราฟแสดงผลของ Ca^{2+}-free Krebs Henseleit solution ต่อการหดตัวของหลอดลมเมื่อกระตุ้นด้วย Ach... 42

19 แสดงผลของอัลคาลอยด์ (R) และ verapamil ต่อการหดตัวของหลอดลมเมื่อกระตุ้นด้วย $BaCl_2$ แบบสะสมขนาดในสารละลาย HCO^-_3-free..... 43

สารบัญรูปภาพ(ต่อ)

หน้า

20 กราฟแสดงผลของอัลคาลอยด์ (R) และ verapamil ต่อ cumulative dose-response curve ของ $BaCl_2$ ในสารละลาย HCO^-_3-free..... 44

21 กราฟแสดงผลของอัลคาลอยด์ (R) และ verapamil ต่อ cumulative dose-response curve ของ $BaCl_2$ ในสารละลาย HCO^-_3 free-potassium depolarizing. 47

22 กราฟแสดงผลของอัลคาลอยด์ (R) และ verapamil ต่อ cumulative dose-response curve ของ $BaCl_2$ ในสารละลาย Ca^{2+} and HCO^-_3 free..... 48

23 กราฟแสดงผลของอัลคาลอยด์ (R) และ verapamil ต่อ cumulative dose-response curve ของ histamine. 50

24 แสดงผลของอัลคาลอยด์ (R) ต่อการหดตัวของหลอดลมหนูตะเภาเมื่อกระตุ้นด้วย TEA แบบสะสมขนาด..... 52

25 แสดงผลของ verapamil ต่อการหดตัวของหลอดลมหนูตะเภาเมื่อกระตุ้นด้วย TEA แบบสะสมขนาด..... 53

26 กราฟแสดงผลของอัลคาลอยด์ (R) และ verapamil ต่อการหดตัวของหลอดลมหนูตะเภาเมื่อกระตุ้นด้วย TEA แบบสะสมขนาด..... 54

27 แสดงผลของ TEA ในการต้านฤทธิ์การยับยั้งการหดตัวของหลอดลมหนูตะเภาโดยอัลคาลอยด์ (R) และ verapamil เมื่อกระตุ้นด้วย histamine..... 55

28 แสดงผลของ TEA ในการต้านฤทธิ์การยับยั้งการหดตัวของหลอดลมหนูตะเภาโดยอัลคาลอยด์ (R) และ verapamil เมื่อกระตุ้นด้วย Ach..... 56

สารบัญรูปภาพ(ต่อ)

หน้า

29 แสดงผลของ TEA ในการต้านฤทธิ์การยับยั้งการหดตัวของหลอดลมหนูตะเภาโดยอัลคาลอยด์ (R) และ verapamil เมื่อกระตุ้นด้วย $CaCl_2$ ในสารละลาย potassium-depolarizing..... 58

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

ซม. = เซ็นติเมตร

Ach = Acetylcholine

Ba^{2+} = barium ion

Ca^{2+} = calcium ion

cAMP = adenosine 3 , 5 -cyclic monophosphate

CDR = cumulative dose-response

cGMP = cyclic guanosine monophosphate

DTH = Delayed Type of Hypersensitivity

EGTA = ethyleneglycol bis (β-aminoethylether)-N,N,N , N - tetraacetic acid

EMC = Electromechanical coupling

g. = gram

HCO_3 = bicarbonate ion

5HT = 5 Hydroxytryptamine (serotonin)

$Ins(1,4,5)P_3$ = inositol 1,4,5-trisphosphate

K^+ = potassium ion

Kg. = Kilogram

KHS = Krebs Henseleit solution

LD_{50} = the concentration producing 50% of lethal response

M = Molar

M_3 = muscarinic (M_3) subtype receptor

mg. = milligram

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ (ต่อ)

min. = minute

mM = millimolar

NSAID = non-steroidal anti-inflammatory drug

pA_2 = negative logarithm ของความเข้มข้นของ competitive antagonist ในหน่วยโมลาร์ที่ทำให้ต้องเพิ่มความเข้มข้นของ agonist เป็นสองเท่า จึงจะได้การตอบสนองเท่าเดิม

pD'_2 = negative logarithm ของความเข้มข้นของ non-competitive antagonist ในหน่วยโมลาร์ ซึ่งทำให้การตอบสนองสูงสุดที่เกิดจาก agonist ลดลง 50%

PGE_2 = prostaglandin E_2

PIP_2 = phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate

PMC = pharmacomechanical coupling

R = a main alkaloid from D. cyrtobotryum Miq.

RPAR = Reverse Passive Arthus Reaction

SEM = standard error of mean

TEA = tetraethylammonium chloride

Tris = tris (hydroxymethyl) aminomethane

WO. = wash out

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย