

ผลของอัลคาลอยด์หลักจากต้นตาสื่อทุ่งต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อ
หลอดลมที่แยกจากตัวหนูขาวและหนูตะเภา

นายณรงค์ จันทร์เลย



ศูนย์วิทยทรัพยากร

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาเภสัชวิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

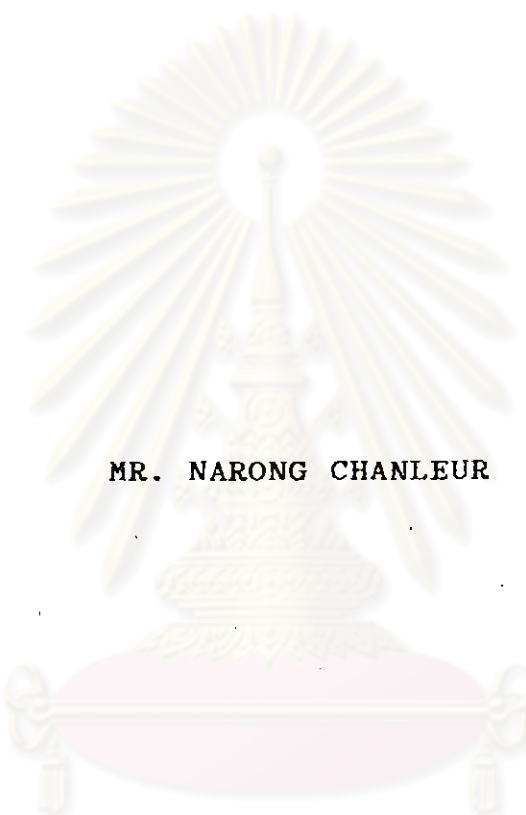
พ.ศ. 2536

ISBN 974-582-864-5

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

018816; 11736091x

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



MR. NARONG CHANLEUR

ศูนย์วิทยุโทรพยากร
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

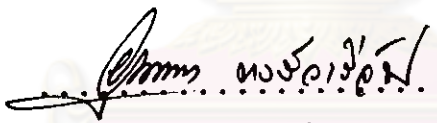
ISBN 974-582-864-5

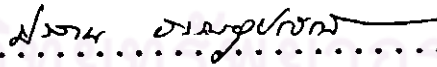
หัวข้อวิทยานิพนธ์ ผลของอัลคาลอยด์หลักจากต้นตาสื่อทุ่งต่อการหดตัวของ
กล้ามเนื้อหลอดลมที่แยกจากตัวหนูขาวและหนูตะเภา
โดย นายณรงค์ จันทร์เลข
ภาควิชา เภสัชวิทยา
อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร.ประสาน ธรรมอุปกรณ์

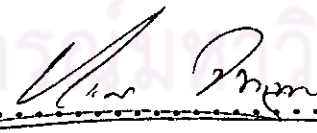
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็น
ส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาโทบัณฑิต

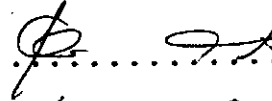

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(ศาสตราจารย์ ดร.ถาวร วิษกรวิทย์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์


..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ อุษณา หงส์วารวิชัย)


..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. ประสาน ธรรมอุปกรณ์)


..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. ประกร จุฑะพงษ์)


..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. เอกรินทร์ สายฟ้า)



ณรงค์ จันทรเลิศ : ผลของอัลคาลอยด์หลักจากต้นคาเล็ทงต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อ
 หลอดลมที่แยกจากตัวหนูขาวและหนูตะเภา (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 ธรรมอนุกรม, 77 หน้า
 ISBN 974-582-864-5

อัลคาลอยด์หลักจากต้นคาเล็ทง (DYSOXYLUM CYRTOBOTRYUM Miq.) เป็นสารสกัดบริสุทธิ์
 ประเภทโครโมอัลคาลอยด์ มีสูตรโครงสร้างเหมือนกับ rohitukine ได้ศึกษาฤทธิ์ของสารนี้ต่อการหดตัว
 ของหลอดลมที่แยกจากหนูขาวและหนูตะเภา พบว่าอัลคาลอยด์ (1.23×10^{-4} - 3.68×10^{-4} M) สามารถ
 ยับยั้ง cumulative dose-response ซึ่งกระตุ้นด้วย Ach, 5HT, $BaCl_2$ ในสารละลาย Krebs
 Henseleit และ $BaCl_2$, $CaCl_2$ ในสารละลาย potassium-depolarizing กับหลอดลมของหนูขาว
 และยับยั้ง cumulative dose-response ซึ่งกระตุ้นด้วย histamine และ TEA กับหลอดลมของ
 หนูตะเภา การยับยั้งนี้เป็นแบบ non-competitive antagonism และพบว่าผลการยับยั้งสามารถถูก
 ต้านฤทธิ์ได้ด้วย TEA 8 mM เมื่อใช้ Ach 1.0×10^{-6} M หรือ histamine 1.0×10^{-5} M เป็นสาร
 กระตุ้นเปรียบเทียบผลกับ verapamil 0.5×10^{-4} M พบว่า TEA 8 mM ไม่สามารถต้านฤทธิ์การยับยั้ง
 ของ verapamil เมื่อใช้ histamine เป็นสารกระตุ้น แต่สามารถต้านฤทธิ์การยับยั้งของ verapamil
 ได้น้อยกว่าของอัลคาลอยด์ เมื่อใช้ Ach เป็นสารกระตุ้น จากผลการทดลองแสดงว่าอัลคาลอยด์หลักจาก
 ต้นคาเล็ทงมีฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อหลอดลมที่แยกจากหนูขาวและหนูตะเภาแบบไม่เฉพาะเจาะจง
 ต่อ receptor และฤทธิ์ในการยับยั้งน่าจะเกิดจากสารนี้มีผลไปรบกวนการเคลื่อนที่ของแคลเซียมผ่าน
 ผนังเซลล์ทาง voltage-dependent Ca^{2+} channel ด้วยกลไกที่แตกต่างจาก verapamil .

ศูนย์วิทยทรัพยากร
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา เกษษวิทยา
 สาขาวิชา เกษษวิทยา
 ปีการศึกษา 2535

ลายมือชื่อผู้ผลิต
 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา
 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 (1.23×10^{-4} - 3.68×10^{-4} M) inhibited cumulative dose-response curves of Ach, 5HT, BaCl₂ in normal Krebs Henseleit solution and BaCl₂, CaCl₂ 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 1.0×10^{-6} M or histamine 1.0×10^{-5} M, this alkaloid inhibited these contractions and were antagonized by TEA 8 mM comparing with verapamil 0.5×10^{-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 Ca²⁺ influx through voltage-dependent Ca²⁺ channel but in different mechanism from those of verapamil

ภาควิชา เกษษวิทยา

สาขาวิชา เกษษวิทยา

ปีการศึกษา 2535

ลายมือชื่อผู้ผลิต 

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา 

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม -

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ประสาน ชรรมอุปกรณ์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษา ให้ความรู้ คำแนะนำ ตลอดจน
ให้ความช่วยเหลือเป็นผลให้วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ อุษณา หงส์วารวิวัฒน์ หัวหน้าภาควิชา
เภสัชวิทยา ที่กรุณาอำนวยความสะดวกแก่ผู้วิจัยในเรื่องการใช้สถานที่ เครื่องมือและ
อุปกรณ์ต่างๆ ของภาควิชาในการทำวิจัยครั้งนี้ และกรุณาเป็นประธานกรรมการใน
การสอบวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ประกร จุฑะพงษ์ ที่กรุณาให้
คำปรึกษาแนะนำ ตลอดจนแนวคิดเพิ่มเติมในการทำวิจัย ทำให้งานวิจัยนี้
มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. เอกรินทร์ สายฟ้า ที่กรุณาให้
สารสกัดที่ใช้ในการวิจัยนี้ และข้อมูลบางส่วนเกี่ยวกับสารสกัดนี้

สุดท้ายนี้ผู้วิจัยขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ที่กรุณาให้ทุนอุดหนุนการทำวิทยานิพนธ์นี้

ณรงค์ จันทร์เลย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญรูปภาพ.....	ฉ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ.....	ค
บทที่	
1. บทนำ.....	1
2. การดำเนินการวิจัย	
สัตว์ทดลอง เครื่องมือและสารเคมี.....	13
วิธีดำเนินการวิจัย.....	15
- การเตรียมกล้ามเนื้อหลอดลม.....	15
การทดลองในหนูขาว	
- ศึกษาผลของอัลลอยด์ (R) ต่อ cumulative dose-response curve เมื่อกระตุ้นด้วยสารมาตรฐาน กระตุ้นการหดตัวของหลอดลม (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) ต่อการหดตัวของหลอดลม ที่กระตุ้นโดย $BaCl_2$	21

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

การทดลองในหนูตะเภา	
- ศึกษาผลของอัลคาลอยด์ (R) ต่อ cumulative dose-response curve เมื่อกระตุ้นด้วย histamine.....	24
- ศึกษาผลของอัลคาลอยด์ (R) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดเมื่อกระตุ้นด้วย TEA แบบสะสมขนาด.....	24
- ศึกษาผลของ TEA ในการต้านฤทธิ์การยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดโดยอัลคาลอยด์ (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 ต่อการหดตัวของหลอดเลือดเมื่อกระตุ้นด้วย Ach หรือ 5HT.....	36
3.5 ผลของอัลคาลอยด์ (R) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดที่กระตุ้นโดย 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 จากการศึกษาผลของ สารเหล่านี้ต่อ 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

• สารบัญรูปรภาพ

หน้า

รูปรภาพที่

1	แสดงลักษณะของต้นตาสื่อท่ง (<u>Dysoxylum</u> <u>cyrtobotryum</u> Miq.).....	3
2	แสดงสูตรโครงสร้างของอัลคาลอยด์ที่แยกได้จาก <u>Dysoxylum binectariferum</u> 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	แสดงลักษณะของหลอดลมและการเรียงตัวของกล้ามเนื้อ หลอดลมที่แยกจากสัตว์ทดลอง.....	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 3.68×10^{-4} M, verapamil 1×10^{-6} M และ isoproterenol 1×10^{-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 3.68×10^{-4} M, verapamil 1×10^{-6} M และ isoproterenol 1×10^{-6} M ต่อ cumulative dose-response curve ของ 5HT ในหลอดลมที่แยกจากหนูขาว.....	35
16	กราฟแสดงผลของ R 1.23×10^{-4} M, 3.68×10^{-4} M และ verapamil 1×10^{-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 ในการต้านฤทธิ์การยับยั้งการหดตัวของ
หลอดลมหนูตะเภาโดยอัลคาลอยด์ (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 <u>D. cyrtobotryum</u> Miq.
RPAR	=	Reverse Passive Arthus Reaction
SEM	=	standard error of mean
TEA	=	tetraethylammonium chloride
Tris	=	tris (hydroxymethyl) aminomethane
WO.	=	wash out

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย