

ฤทธิ์อันดีปลิงของสารสำคัญจากฝอยลมต่อกระบวนการหายใจ  
และออกซิเดทีฟ ฟอสฟอริลเลชันของไมโทคอนเดรีย

นางสาวสิริวรรณ พฤษ์อุดม



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สหสาขาวิชาเภสัชวิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2536

ISBN 974 - 582 - 938 - 2

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

018937 147126509

UNCOUPLING ACTION OF ACTIVE CONSTITUENT OF  
USNEA SIAMENSIS ON MITOCHONDRIAL RESPIRATION  
AND OXIDATIVE PHOSPHORYLATION

Miss Siriwan Phrukudom

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science  
Inter-Department of Pharmacology  
Graduate School  
Chulalongkorn University

1993

ISBN 974 - 582 - 938 - 2

หัวข้อวิทยานิพนธ์

ฤทธิ์อันดีปลิงของสารสำคัญจากฝอยลมต่อกระบวนการ  
หายใจและออกซิเดทีฟ ฟอสฟอริลเลชันของไมโทคอนเดรีย

โดย

นางสาว สิริวรรณ พฤษ์อุดม

ภาควิชา

สหสาขาวิชาเภสัชวิทยา

อาจารย์ที่ปรึกษา

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ วิทยา จันทสูตร

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

รองศาสตราจารย์ นิจศิริ เรืองรังษี



บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้เนบวิทยานิพนธ์ฉบับนี้  
เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาในหลักสูตรปริญญาโทบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย  
(ศาสตราจารย์ ดร. ถาวร วัชรากัย)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... จิตทพ อธิวิทิตพงษ์รอด  
..... ประธานกรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ จันทนี อธิวิทิตพงษ์รอด)

..... อานน อธิวิทิต  
..... กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ วิทยา จันทสูตร)

..... นิจศิริ เรืองรังษี  
..... กรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ นิจศิริ เรืองรังษี)

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

พิมพ์ด้วยกระดาษเคลือบสีเทาพิมพ์ด้วยหมึกสีน้ำเงิน

สิริวรรณ พุกษุฑุม : ฤทธิ์อันคับปลิงของสารสำคัญจากฝอยลมตอกระบวนการหายใจและ  
ออกซิเดทีฟ ฟอสฟอริลเลชันของไมโทคอนเดรีย (UNCOUPLING ACTION OF ACTIVE  
CONSTITUENT OF Usnea siamensis ON MITOCHONDRIAL RESPIRATION AND  
OXIDATIVE PHOSPHORYLATION) อ. ที่ปรึกษา : ผศ. วิทยา จันทสูตร , รศ. นิจศิริ  
เรืองรังษี , 136 หน้า. ISBN 974-582-938-2



การทดสอบฤทธิ์ของสารสำคัญจากฝอยลมตอการหายใจของไมโทคอนเดรียในตับของหนูขาว พบว่า สารสำคัญจากฝอยลมมีผล 2 ประการตอการหายใจของไมโทคอนเดรีย ในขนาดต่ำ จะกระตุ้นการหายใจ ส่วนในขนาดสูง จะยับยั้งการหายใจ เมื่อใช้สับสเตรทชนิด  $NAD^+$ -linked และ succinate ตามลำดับ สารสำคัญจากฝอยลมมีฤทธิ์ส่วนใหญ่คล้าย classical uncouplers ทำให้เกิดการไม่ควบคุมกันของการออกซิไดซ์สับสเตรทและการสังเคราะห์ ATP, ทำให้ไมโทคอนเดรียเสียการควบคุมการหายใจ, ลดอัตราส่วน ADP/O และ RCI, สามารถแก้ไขฤทธิ์ของ oligomycin และ atractyloside ในการยับยั้ง state 3 respiration ได้ และยังกระตุ้น ATPase activity ได้ แต่มีคุณสมบัติบางประการที่แตกต่างไปจาก classical uncouplers กล่าวคือ การเปลี่ยนแปลง pH ของ incubation medium ที่ 6.8 , 7.2 และ 7.6 ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงฤทธิ์อันคับปลิงของสารสำคัญจากฝอยลม สามารถออกฤทธิ์กระตุ้นการหายใจได้ดีใน  $Mg^{2+}$  free medium, bovine serum albumin มีผลลดฤทธิ์ในการกระตุ้นการหายใจของไมโทคอนเดรียด้วยสารสำคัญจากฝอยลม จากการศึกษาที่ยังไม่ทราบแน่ชัดถึงกลไกการเกิดอันคับปลิงในระดับโมเลกุลของสารสำคัญจากฝอยลมแต่คาดว่าส่วนหนึ่งน่าจะเกี่ยวข้องกับ protonophoric effects

ภาควิชา ..... สหสาขาวิชาเภสัชวิทยา  
สาขาวิชา ..... เภสัชวิทยา  
ปีการศึกษา ..... 2535

ลายมือชื่อนิสิต ..... สิริวรรณ พุกษุฑุม  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ..... อ. วิทยา จันทสูตร  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ..... รศ. นิจศิริ เรืองรังษี

## C445468 : MAJOR PHARMACOLOGY

KEY WORD: UNCOUPLING / Usnea siamensis / MITOCHONDRIAL RESPIRATION /  
OXIDATIVE PHOSPHORYLATION

SIRIWAN PHRUKUDOM : UNCOUPLING ACTION OF ACTIVE CONSTITUENT OF  
Usnea siamensis ON MITOCHONDRIAL RESPIRATION AND OXIDATIVE  
PHOSPHORYLATION. THESIS ADVISOR : ASSIS. PROF. WITHAYA JANTHASOOT,  
ASSO. PROF. NIJSIRI RUANGRUNGSI, 136 pp. ISBN 974-582-938-2

The effects of active constituent of Usnea siamensis on oxidative phosphorylation in isolated rat liver mitochondria have been investigated. It was found that the active constituent of Usnea siamensis had a biphasic effect on respiratory activity of rat liver mitochondria supported by  $\text{NAD}^+$ -linked substrates or succinate. Low dose showed stimulation but high dose inhibited mitochondrial respiration. This compound also exhibited some important characteristics of classical uncouplers of oxidative phosphorylation, e.g. the ability to abolish the coupling of substrate oxidation and ATP synthesis, caused loss of the respiratory control, lowered ADP/O ratio as well as RCI value, reversion of both oligomycin and atractyloside inhibited state 3 respiration and activated the oligomycin-sensitive ATPase activity. However, this compound had some different effects from classical uncouplers of the DNP-type, e.g. its action was almost unaffected by varying pH of incubation medium from 6.8, 7.2 and 7.6, its respiratory activity was enhanced in  $\text{Mg}^{2+}$  free medium. The respiratory stimulation of this compound was antagonized by bovine serum albumin. From this study the molecular mechanism of uncoupling effect by active constituent of Usnea siamensis is unclear but might be partially related to the protonophoric effects.

ภาควิชา สหสาขาวิชาเภสัชวิทยา.....

สาขาวิชา เภสัชวิทยา.....

ปีการศึกษา 2535.....

ลายมือชื่อนิสิต Siriwana Phrukudom.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา Withaya Janthasoot.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม Nijisiri Ruangrungsi.....



## กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ วิทยา จันทสูตร และ รองศาสตราจารย์ นิจศิริ เรืองรังษี อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ซึ่งท่านได้ให้ความช่วยเหลือเป็นอย่างดียิ่ง ตลอดจนให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นต่างๆ ของ การวิจัยด้วยดีตลอดมา ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ได้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ นิจศิริ เรืองรังษี และ คุณ นริสา คำแก่นจากภาควิชาเภสัชเวท คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่กรุณา สักตสารบริสุทธ์จากฝอยลมให้ใช้ตลอดการวิจัย

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ อุษณา หงส์วารวิวัฒน์ หัวหน้าภาควิชาเภสัชวิทยา ที่อนุญาตให้ผู้วิจัยใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ต่างๆ ในห้องปฏิบัติการ ตลอดการวิจัย

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ประกร จูทะพงษ์ ที่กรุณาชี้แนะแนวทาง และให้ข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์ในการดำเนินการวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณคณาจารย์บัณฑิตศึกษา สหสาขาวิชาเภสัชวิทยาทุกท่านที่กรุณาให้ความรู้ตลอดการศึกษาระดับปริญญาโทฉบับนี้ ตลอดจนบัณฑิตวิทยาลัย ที่กรุณาให้ทุนอุดหนุนการทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้

สุดท้ายนี้ ขอกราบขอบพระคุณบิดา-มารดา ซึ่งสนับสนุนในด้านการเงิน และให้กำลังใจแก่ผู้วิจัยเสมอมา และขอขอบคุณบุคคลอื่น ๆ ที่มีส่วนช่วยเหลือ ในการทำวิทยานิพนธ์เล่มนี้จนสำเร็จสมบูรณ์

สิริวรรณ พงษ์อุดม

สารบัญ



หน้า

|                                 |   |
|---------------------------------|---|
| บทคัดย่อภาษาไทย .....           | ง |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ .....        | จ |
| กิตติกรรมประกาศ .....           | ฉ |
| สารบัญ .....                    | ช |
| สารบัญตาราง .....               | ญ |
| สารบัญรูป .....                 | ฉ |
| คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ ..... | ณ |

บทที่

|   |   |    |
|---|---|----|
| 1 | บทนำ  |    |
|   | ฝอยลม .....   | 1  |
|   | usnic acid .....                                      | 5  |
|   | การหายใจของไมโทคอนเดรียและออกซิเดทีฟ ฟอสฟอริลเลชัน    | 9  |
| 2 | อุปกรณ์และวิธีการวิจัย                                |    |
|   | สัตว์ทดลอง .....                                      | 27 |
|   | การเตรียมไมโทคอนเดรียจากตับของหนูขาว .....            | 27 |
|   | การ incubate ไมโทคอนเดรียและ incubation medium        | 30 |
|   | การวัดอัตราการใช้ออกซิเจนของไมโทคอนเดรียในสภาวะต่างๆ  | 32 |
|   | การคำนวณค่าดัชนีควบคุมการหายใจ (RCI), อัตราส่วน ADP/O |    |
|   | และอัตราการใช้ออกซิเจนของไมโทคอนเดรียในระยะต่างๆ ..   | 34 |
|   | การวัด ATPase activity ของไมโทคอนเดรีย .....          | 39 |
|   | การหาปริมาณโปรตีนของไมโทคอนเดรีย .....                | 41 |
|   | การเตรียมสารละลายที่ใช้ในการทดลองและแหล่งที่มาของ     |    |
|   | สารเคมี .....   | 43 |
|   | การแสดงผลการทดลองและการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ .....  | 45 |

## สารบัญ (ต่อ)

บทที่

หน้า

## 3 ผลการวิจัย

|   |     |
|---|-----|
| ผลของสารสำคัญจากฝอยลมต่อการหายใจของไมโทคอนเดรียที่เตรียมจากตับของหนูขาว .....   | 46  |
| 1. ผลของสารสำคัญจากฝอยลมในขนาดต่าง ๆ ที่มีต่ออัตราการใช้ออกซิเจนของไมโทคอนเดรีย .....   | 46  |
| 2. ผลการเปรียบเทียบฤทธิ์ในการกระตุ้นการหายใจของไมโทคอนเดรียโดยสารสำคัญจากฝอยลม, ADP และ DNP .....   | 105 |
| 3. ผลของสารสำคัญจากฝอยลมที่ความเข้มข้น $IC_{50}$ ที่มีต่อค่าดัชนีควบคุมการหายใจ (RCI), จำนวนออกซิเจนที่ถูกใช้ใน state 3 และอัตราส่วน ADP/O .....  | 105 |
| 3.1 กรณีที่ใช้ glutamate + malate เป็นสับสเตรท .....  | 105 |
| 3.2 กรณีที่ใช้ succinate เป็นสับสเตรท ....  | 106 |
| ผลของสารบางอย่างและการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบใน incubation medium บางประการต่อการออกฤทธิ์ของสารสำคัญจากฝอยลมที่มีต่อการหายใจของไมโทคอนเดรียเมื่อใช้ glutamate + malate เป็นสับสเตรทเปรียบเทียบกับ DNP ..... | 106 |
| 1. ผลของ oligomycin และ atractyloside ..  | 106 |
| 2. ผลของการเปลี่ยนแปลง pH ของ incubation medium ที่ pH 6.8, 7.2 และ 7.6 .....   | 108 |
| 3. ผลของการไม่มี $Mg^{2+}$ ใน incubation medium   | 109 |
| 4. ผลของ DTNB และ DTT .....   | 109 |

## สารบัญ (ต่อ)

| บทที่  | หน้า |
|--|------|
| 5. ผลของ bovine serum albumin .....  | 111  |
| ผลของสารสำคัญจากฝอยลมที่มีต่อ ATPase activity ของ<br>ไมโทคอนเดรีย .....  | 111  |
| 1. ผลของสารสำคัญจากฝอยลมในขนาดต่าง ๆ ที่มีต่อ<br>ATPase activity ของไมโทคอนเดรีย .....   | 111  |
| 2. ผลการเปรียบเทียบฤทธิ์ในการกระตุ้น ATPase<br>activity ได้สูงสุด ระหว่างสารสำคัญจากฝอยลม<br>กับ DNP .....   | 112  |
| ผลของสารบางอย่างและการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบใน<br>incubation medium บางประการต่อการออกฤทธิ์ของ<br>สารสำคัญจากฝอยลมที่มีต่อ ATPase activity ของ<br>ไมโทคอนเดรีย เปรียบเทียบกับ DNP ..... | 113  |
| 1. ผลของ oligomycin และ atractyloside ..   | 113  |
| 2. ผลของการเปลี่ยนแปลง pH ของ incubation<br>medium ที่ pH 6.8, 7.2 และ 7.6 .....   | 113  |
| 3. ผลของการไม่มี $Mg^{2+}$ ใน incubation medium  | 114  |
| 4. ผลของ DTNB และ DTT .....  | 114  |
| 4. อภิปรายและสรุปผลการทดลอง .....  | 116  |
| เอกสารอ้างอิง .....  | 126  |
| ประวัติผู้เขียน .....  | 136  |

สารบัญตาราง



ตารางที่

หน้า

|    |   |    |
|----|---|----|
| 1  | แสดงถึงเอ็นไซม์ชนิดต่างๆ ในแต่ละส่วนของไมโทคอนเดรีย ..  | 13 |
| 2  | แสดงส่วนประกอบของลูกโซ่การหายใจ 4 complex ที่อยู่ในผนังชั้นในของไมโทคอนเดรีย .....  | 13 |
| 3  | แสดงผลของสารสำคัญจากฝอยลมที่ความเข้มข้น $IC_{50}$ ที่มีต่อค่าดัชนีควบคุมการหายใจ (RCI) , จำนวนออกซิเจนที่ถูกใช้ใน state 3 และอัตราส่วน ADP/O เมื่อใช้ glutamate + malate เป็นสับสเตรท ..... | 63 |
| 4  | แสดงผลของสารสำคัญจากฝอยลมที่ความเข้มข้น $IC_{50}$ ที่มีต่อค่าดัชนีควบคุมการหายใจ (RCI) , จำนวนออกซิเจนที่ถูกใช้ใน state 3 และอัตราส่วน ADP/O เมื่อใช้ succinate เป็นสับสเตรท .....          | 66 |
| 5  | แสดงผลของการเปลี่ยนแปลง pH ของ incubation medium ที่มีต่อการออกฤทธิ์ของสารสำคัญจากฝอยลมต่อการหายใจของไมโทคอนเดรีย .....   | 73 |
| 6  | แสดงผลของการเปลี่ยนแปลง pH ของ incubation medium ที่มีต่อการออกฤทธิ์ของ DNP ต่อการหายใจของไมโทคอนเดรีย  | 76 |
| 7  | แสดงผลของการไม่มี $Mg^{2+}$ ใน incubation medium ที่มีต่อการออกฤทธิ์ของสารสำคัญจากฝอยลมต่อการหายใจของไมโทคอนเดรีย .....   | 79 |
| 8  | แสดงผลของการไม่มี $Mg^{2+}$ ใน incubation medium ที่มีต่อการออกฤทธิ์ของ DNP ต่อการหายใจของไมโทคอนเดรีย ....   | 80 |
| 9  | แสดงผลของ DTNB ที่มีต่อการออกฤทธิ์ของสารสำคัญจากฝอยลมต่อการหายใจของไมโทคอนเดรีย .....   | 83 |
| 10 | แสดงผลของ DTT ที่มีต่อการออกฤทธิ์ของสารสำคัญจากฝอยลมต่อการหายใจของไมโทคอนเดรีย .....  | 86 |

## สารบัญตาราง (ต่อ)

| ตารางที่ |   | หน้า |
|----------|---|------|
| 11       | แสดงผลของสารสำคัญจากฝอยลมในขนาดต่าง ๆ ที่มีต่อการกระตุ้น ATPase activity ของไมโทคอนเดรีย .....  | 91   |
| 12       | แสดงผลของ oligomycin และ atractyloside ที่มีต่อการออกฤทธิ์ของสารสำคัญจากฝอยลม ในการกระตุ้น ATPase activity ของไมโทคอนเดรีย เมื่อเทียบกับ DNP .....          | 95   |
| 13       | แสดงผลของการเปลี่ยนแปลง pH ของ incubation medium ที่มีต่อการออกฤทธิ์ของสารสำคัญจากฝอยลม ในการกระตุ้น ATPase activity ของไมโทคอนเดรีย เมื่อเทียบกับ DNP .    | 97   |
| 14       | แสดงผลของการไม่มี $Mg^{2+}$ ใน incubation medium ที่มีต่อการออกฤทธิ์ของสารสำคัญจากฝอยลมในการกระตุ้น ATPase activity ของไมโทคอนเดรีย เมื่อเทียบกับ DNP ..... | 99   |
| 15       | แสดงผลของ DTNB และ DTT ที่มีต่อการออกฤทธิ์ของสารสำคัญจากฝอยลมในการกระตุ้น ATPase activity ของไมโทคอนเดรีย เมื่อเทียบกับ DNP .....                           | 101  |

สารบัญรูป



รูปที่

หน้า

|    |   |    |
|----|---|----|
| 1  | แสดงลักษณะทั่วไปของฝอยลม ( <u>Usnea siamensis</u> ) .....   | 3  |
| 2  | แสดงสูตรโครงสร้างทางเคมีของ usnic acid .....  | 6  |
| 3  | แสดงลักษณะโครงสร้างโดยทั่วไปของไมโทคอนเดรีย .....   | 11 |
| 4  | แสดงโครงสร้างและองค์ประกอบของเอ็นไซม์ ATPsynthase (F <sub>1</sub> F <sub>0</sub> -ATPase) .....   | 11 |
| 5  | แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Krebs' cycle, respiratory chain และปฏิกิริยา oxidative phosphorylation ....   | 16 |
| 6  | แสดงการควบคุมระหว่างการส่งผ่านอิเล็กตรอนในลูกโซ่การหายใจ กับปฏิกิริยาออกซิเดทีฟ ฟอสฟอริลเลชันที่อธิบายโดย chemiosmotic coupling hypothesis .....                    | 19 |
| 7  | แสดงปฏิกิริยาต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการใช้พลังงานที่ ไมโทคอนเดรียสามารถสงวนไว้ (high energy electrochemical gradient) .....   | 21 |
| 8  | แสดงถึงการเปลี่ยนแปลงของพลังงานอิสระในขณะทีอิเล็กตรอน ถูกส่งผ่านในลูกโซ่การหายใจ และตำแหน่งที่มีการยับยั้งการหายใจโดยสารยับยั้งการส่งผ่านอิเล็กตรอนในลูกโซ่การหายใจ | 25 |
| 9  | แสดงขั้นตอนการแยกไมโทคอนเดรียจาก liver homogenate โดย differential centrifugation .....   | 29 |
| 10 | แสดง incubation chamber ที่ใช้ในการทดลอง เพื่อวัด อัตราการหายใจของไมโทคอนเดรียในสภาวะต่าง ๆ .....   | 31 |
| 11 | ตัวอย่าง oxygraph tracing เพื่อแสดงวิธีการหาค่า RCI   | 35 |
| 12 | ตัวอย่าง oxygraph tracing เพื่อแสดงวิธีการหาค่า อัตราส่วน ADP/O .....   | 35 |
| 13 | ตัวอย่าง oxygraph tracing เพื่อแสดงวิธีการหา อัตราการใช้ออกซิเจนของไมโทคอนเดรียในระยะต่าง ๆ ....  | 35 |

## สารบัญรูป (ต่อ)

| รูปที่ | หน้า   |
|--------|--|
| 14     | ผลของสารสำคัญจากฝอยลมในขนาด 0.5, 1 และ 4 มคก. ที่มีต่อการหายใจของไมโทคอนเดรียเมื่อใช้ glutamate+malate เป็นสับสเตรท ..... 48   |
| 15     | ผลของสารสำคัญจากฝอยลมในขนาด 10 และ 25 มคก. ที่มีต่อการหายใจของไมโทคอนเดรียเมื่อใช้ glutamate + malate เป็นสับสเตรท ..... 50  |
| 16     | ผลของสารสำคัญจากฝอยลมในขนาด 0.5, 1 และ 3 มคก. ที่มีต่อการหายใจของไมโทคอนเดรีย เมื่อใช้ succinate เป็นสับสเตรท ..... 52   |
| 17     | ผลของสารสำคัญจากฝอยลมในขนาด 10 และ 25 มคก. ที่มีต่อการหายใจของไมโทคอนเดรีย เมื่อใช้ succinate เป็นสับสเตรท ..... 54  |
| 18     | Dose-response curve ของผลของสารสำคัญจากฝอยลมในขนาดต่าง ๆ ที่มีต่อการหายใจของไมโทคอนเดรีย เมื่อใช้ glutamate + malate (curve B) และ succinate (curve A) เป็นสับสเตรท ..... 56 |
| 19     | ผลการเปรียบเทียบการกระตุ้นการหายใจของไมโทคอนเดรีย โดยสารสำคัญจากฝอยลม, ADP และ DNP เมื่อใช้ glutamate +malate เป็นสับสเตรท ..... 58  |
| 20     | ผลการเปรียบเทียบการกระตุ้นการหายใจของไมโทคอนเดรีย โดยสารสำคัญจากฝอยลม, ADP และ DNP เมื่อใช้ succinate เป็นสับสเตรท ..... 60  |

## สารบัญรูป (ต่อ)

| รูปที่ |  | หน้า |
|--------|--|------|
| 21     | ผลของสารสำคัญจากฝอยลมที่ความเข้มข้น $IC_{50}$ ที่มีต่อค่าดัชนีควบคุมการหายใจ (RCI) , จำนวนออกซิเจนที่ถูกใช้ใน state 3, และอัตราส่วน ADP/O เมื่อใช้ glutamate + malate เป็นสับสเตรท ..... | 62   |
| 22     | ผลของสารสำคัญจากฝอยลมที่ความเข้มข้น $IC_{50}$ ที่มีต่อค่าดัชนีควบคุมการหายใจ (RCI) , จำนวนออกซิเจนที่ถูกใช้ใน state 3, และอัตราส่วน ADP/O เมื่อใช้ succinate เป็นสับสเตรท .....          | 65   |
| 23     | ผลของ oligomycin และ atractyloside ที่มีต่อการออกฤทธิ์ของสารสำคัญจากฝอยลมต่อการหายใจของไมโทคอนเดรีย .....  | 68   |
| 24     | ผลของ oligomycin และ atractyloside ที่มีต่อการออกฤทธิ์ของ DNP ต่อการหายใจของไมโทคอนเดรีย .....   | 70   |
| 25     | ผลการเปลี่ยนแปลง pH ของ incubation medium ที่มีต่อการออกฤทธิ์ของสารสำคัญจากฝอยลมต่อการหายใจของไมโทคอนเดรีย .....   | 72   |
| 26     | ผลการเปลี่ยนแปลง pH ของ incubation medium ที่มีต่อการออกฤทธิ์ของ DNP ต่อการหายใจของไมโทคอนเดรีย ....   | 75   |
| 27     | ผลของการไม่มี $Mg^{2+}$ ใน incubation medium ต่อการออกฤทธิ์ของสารสำคัญจากฝอยลม และ DNP ต่อการหายใจของไมโทคอนเดรีย .....  | 78   |
| 28     | ผลของ DTNB ที่มีต่อการออกฤทธิ์ของสารสำคัญจากฝอยลม ต่อการหายใจของไมโทคอนเดรีย .....   | 82   |
| 29     | ผลของ DTT ที่มีต่อการออกฤทธิ์ของสารสำคัญจากฝอยลม ต่อการหายใจของไมโทคอนเดรีย .....  | 85   |

สารบัญรูป (ต่อ)

| รูปที่ | หน้า  |
|--------|---|
| 30     | ผลของ bovine serum albumin (BSA) ที่มีต่อการออกฤทธิ์ของสารสำคัญจากฝอยลมต่อการหายใจของไมโทคอนเดรีย เมื่อใช้ glutamate + malate เป็นสับสเตรท ..... 88 |
| 31     | Dose-response curve ของผลของสารสำคัญจากฝอยลมในขนาดต่าง ๆ ที่มีต่อการกระตุ้น ATPase activity ของไมโทคอนเดรีย ..... 90                                |
| 32     | ผลการเปรียบเทียบการกระตุ้น ATPase activity ของไมโทคอนเดรียได้สูงสุด ระหว่างสารสำคัญจากฝอยลมกับ DNP 93   |

## คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

|                   |   |  |
|-------------------|---|--|
| ซม.               | = | เซนติเมตร                                |
| นน.               | = | น้ำหนัก                                  |
| นกก.              | = | นาโนกรัม                                 |
| นนอ.              | = | นาโนอะตอม                                |
| มก.               | = | มิลลิกรัม                                |
| มคก.              | = | ไมโครกรัม                                |
| มคม.              | = | ไมโครโมล                                 |
| มคล.              | = | ไมโครลิตร                                |
| มคอ.              | = | ไมโครอะตอม                               |
| มม.               | = | มิลลิเมตร                                |
| มล.               | = | มิลลิลิตร                                |
| ADP               | = | adenosine-5'diphosphate                  |
| ATP               | = | adenosine-5'-triphosphate                |
| Atract            | = | atractyloside                            |
| BSA               | = | bovine serum albumin                     |
| °C                | = | degree Celsius                           |
| CCCP              | = | carbonyl cyanide m-chlorophenylhydrazone |
| DMSO              | = | dimethylsulfoxide                        |
| DNP               | = | 2,4-dinitrophenol                        |
| DTNB              | = | 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoate          |
| DTT               | = | dithiothreitol                           |
| FAD               | = | flavin adenine dinucleotide              |
| FADH <sub>2</sub> | = | reduced flavin adenine dinucleotide      |
| FMN               | = | flavin mononucleotide                    |
| g                 | = | centrifugal force unit (gravity)         |
| Glu               | = | glutamate                                |
| H <sup>+</sup>    | = | proton                                   |



## คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ (ต่อ)

|                  |   |   |
|------------------|---|---|
| HEPES            | = | N-2-hydroxyethylpiperazine-N'-2-ethanesulfonic acid |
| IC <sub>50</sub> | = | 50% inhibition                                      |
| K <sup>+</sup>   | = | potassium ion                                       |
| Mal              | = | malate  |
| M                | = | molar   |
| mM               | = | millimolar  |
| mg               | = | milligram   |
| Mg <sup>2+</sup> | = | magnesium ion                                       |
| min              | = | minute  |
| ml               | = | milliliter  |
| mOsm             | = | milliosmolar  |
| μatom            | = | microatom   |
| μg               | = | microgram   |
| μl               | = | microliter  |
| μM               | = | micromolar  |
| N                | = | normality   |
| Na               | = | sodium  |
| NAD <sup>+</sup> | = | nicotinamide adenine nucleotide                     |
| NADH             | = | reduced nicotinamide adenine nucleotide             |
| NADPH            | = | reduced nicotinamide adenine nucleotide phosphate   |
| natom            | = | nanoatom  |
| O                | = | oxygen  |
| oligo            | = | oligomycin  |
| Pi               | = | inorganic phosphate                                 |

## คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ (ต่อ)

|             |   |  |
|-------------|---|--|
| RCI         | = | respiratory control index                |
| RPM         | = | revolution per minute                    |
| SUC         | = | succinate                                |
| TMPD        | = | N,N,N',N'-tetramethyl-p-phenylenediamine |
| w/v         | = | weight by volume                         |
| /           | = | per                                      |
| %           | = | percent                                  |
| <u>&gt;</u> | = | greater or equal                         |