

ชื่อวิทยานิพนธ์ ผลของอัลคาลอยด์จากใบมะละกอต่อกการหดตัวของกล้ามเนื้อ
มดลูกของหนูขาว
ผู้เขียน นางสาว เกษร ศิริวงศ์
สาขาวิชา เกษัชวิทยา
ปีการศึกษา 2545

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษาในครั้งนี้ เพื่อทดสอบฤทธิ์ของอัลคาลอยด์สกัดหยาบจากใบมะละกอต่อกการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบมดลูกของหนูขาว ซึ่งจากการสกัดหยาบอัลคาลอยด์จากใบมะละกอแห้งน้ำหนัก 2.2 กิโลกรัมโดยวิธี acid-base ได้อัลคาลอยด์สกัดหยาบจำนวน 9.1 กรัม คิดเป็น 0.41 % ของน้ำหนักใบมะละกอแห้ง อัลคาลอยด์สกัดหยาบที่ได้นี้ถูกใช้ทดสอบฤทธิ์ที่มีต่อกการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบมดลูกของหนูขาวตลอดการทดลอง

ในการศึกษาครั้งนี้ใช้มดลูกของหนูขาวพันธุ์ Wistar เพศเมีย โดยหนูได้รับ diethylstilbestrol (100 ไมโครกรัม) เข้าทางหน้าท้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมงก่อนทำการทดลอง ผลการทดลองเบื้องต้นพบว่าอัลคาลอยด์สกัดหยาบจากใบมะละกอ (papaya leave's alkaloids, PA) ไม่มีฤทธิ์ในการกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบมดลูกของหนูขาว อย่างไรก็ตาม PA สามารถยับยั้งการหดตัวของมดลูกซึ่งถูกเหนี่ยวนำให้หดตัวโดย depolarizing solution (56.3 mM KCl) ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$, ANOVA) โดยความสามารถในการยับยั้งการหดตัวของ PA ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของ PA ที่ใช้ นอกจากนี้พบว่า PA ที่ความเข้มข้น 10^{-5} , 3×10^{-5} และ 10^{-4} gm/ml หรือ verapamil ที่ความเข้มข้น 10^{-9} , 10^{-8} และ 10^{-7} M สามารถทำให้กราฟ log concentration-response ของ CaCl_2 (10^{-5} ถึง 3×10^{-2} M) ซึ่งเหนี่ยวนำให้มดลูกหดตัวในสารละลาย Ca^{2+} -free-high KCl (60 mM KCl) เลื่อนไปทางขวามือได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$, ANOVA) และ PA สามารถยับยั้งการหดตัวของมดลูกซึ่งถูกกระตุ้นให้หดตัวโดย oxytocin (1 mU/ml), ACh (3×10^{-5} M) และ $\text{PGF}_{2\alpha}$ (10^{-5} M) ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$,

ANOVA) นอกจากนี้พบว่า PA ที่ความเข้มข้น 3×10^{-5} ถึง 10^{-3} gm/ml สามารถยับยั้งการหดตัวของมดลูกซึ่งถูกเหนี่ยวนำให้หดตัวด้วย oxytocin (10 mU/ml) ในสารละลาย Ca^{2+} -free ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน ($p < 0.05$, ANOVA) อย่างไรก็ตามผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า propranolol (10^{-7} M) ไม่สามารถเปลี่ยนแปลงฤทธิ์ของ PA (10^{-6} – 10^{-3} gm/ml) ที่ทำให้มดลูกเกิดการคลายตัวได้ ($p > 0.05$, ANOVA) แต่ propranolol ที่ความเข้มข้นเดียวกันนี้สามารถยับยั้งฤทธิ์ของ isoproterenol (10^{-10} ถึง 10^{-5} M) ที่ทำให้มดลูกคลายตัวได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$, ANOVA)

เนื่องจาก PA ที่ใช้ในทดลองครั้งนี้เป็นอัลคาลอยด์สกัดหยาบ ดังนั้นฤทธิ์ของ PA ที่เกิดขึ้น อาจเกิดขึ้นเนื่องจากฤทธิ์ของอัลคาลอยด์ชนิดใดชนิดหนึ่งหรือเป็นการออกฤทธิ์ร่วมกันของอัลคาลอยด์หรือสารชนิดอื่น ๆ ซึ่งอาจผสมหรือปนอยู่ใน PA ผลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้เสนอแนะว่า PA เป็นสารซึ่งมีฤทธิ์ทำให้มดลูกเกิดการคลายตัว กลไกการออกฤทธิ์ของ PA อาจจะเกี่ยวข้องทั้งภายนอกและภายในเซลล์ โดยฤทธิ์ของ PA ที่เกี่ยวข้องกับภายนอกเซลล์ อาจเกิดขึ้นเนื่องจาก PA ไปยับยั้ง Ca^{2+} ผ่านเข้าเซลล์ ซึ่งอาจจะเป็นไปได้ว่า PA ออกฤทธิ์บริเวณ voltage-operated Ca^{2+} channel ถึงแม้ว่าผลการทดลองในครั้งนี้จะแสดงให้เห็นว่าการออกฤทธิ์ของ PA อาจจะเกี่ยวข้องกับภายในเซลล์ด้วย อย่างไรก็ตามคาดว่าฤทธิ์ของ PA ภายในเซลล์มีบทบาทเพียงเล็กน้อยเท่านั้น โดยกลไกการออกฤทธิ์ของ PA ภายในเซลล์อาจจะเกี่ยวข้องกับการยับยั้งการหลั่งของ Ca^{2+} จากบริเวณแหล่งเก็บภายในเซลล์, อาจจะกระตุ้น Ca^{2+} -ATPase ที่บริเวณ plasma membrane หรือ sarcoplasmic reticulum, อาจจะกระตุ้น Na^+ - Ca^{2+} exchanger นอกจากนี้ PA อาจจะเกี่ยวข้องกับเอนไซม์ต่าง ๆ ภายในเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับระบบการหดตัวของเซลล์ เช่น อาจจะยับยั้งเอนไซม์ PKC หรืออาจจะกระตุ้นเอนไซม์ MLC phosphatase หรือยับยั้งเอนไซม์ PDE ซึ่งกลไกการออกฤทธิ์เหล่านี้จำเป็นต้องอาศัยการศึกษาต่อไป ผลที่ได้ในจากการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า PA เป็นสารซึ่งมีศักยภาพมากพอที่จะสามารถพัฒนาไปเป็น uterine relaxant ได้

Thesis Title Effect of Alkaloid from *Carica papaya* L. Leaves on
 Uterine Muscle Contraction in Rats
Author Miss. Kasorn Keereevong
Major Program Pharmacology
Academic Year 2002

ABSTRACT

The aim of this study is to investigate the effect of crude alkaloid extract from papaya leaves (PA) on the isolated rat uterus. The alkaloids were extracted from papaya leaves using conventional acid-base method. The extraction yields 9.1 gm (0.414 % of the dried leaves weight) of crude alkaloids which was used throughout this study. The isolated rat uterus was taken from female Wistar rats pretreated with diethylstilbestrol (100 μ g) for 24 hour before the commencement of the experiment. Apparently, the papaya alkaloids had no effect on uterine contraction. However, in the uterus precontracted with depolarizing solution (56.3 mM KCl), PA (10^{-6} – 10^{-3} gm/ml) significantly inhibited the contraction in a dose-dependent manner ($p < 0.05$, ANOVA). PA at concentration 10^{-5} , 3×10^{-5} or 10^{-4} gm/ml, or verapamil at concentration 10^{-9} , 10^{-8} and 10^{-7} M were able to shift the log concentration-response curve of CaCl_2 (10^{-5} – 3×10^{-2} M) which induced uterine contraction in Ca^{2+} -free-high KCl solution (60 mM KCl) to the right ($p < 0.05$, ANOVA). PA also significantly inhibited uterine contraction induced by uterine stimulant, oxytocin (1 mU/ml), ACh (3×10^{-5} M) and $\text{PGF}_{2\alpha}$ (10^{-5} M)

($p < 0.05$, ANOVA). Furthermore, PA significantly inhibited uterine contraction induced by oxytocin (10 mU/ml) in Ca^{2+} -free solution ($p < 0.05$, ANOVA). Propranolol (10^{-7} M) had no effect on uterine relaxation induced by PA ($10^{-6} - 10^{-3}$ gm/ml) ($p > 0.05$, ANOVA), although this concentration of propranolol (10^{-7} M) was able to inhibit uterine relaxation induced by isoproterenol ($10^{-10} - 10^{-5}$ M) ($p < 0.05$, ANOVA).

Due to the fact that PA used in this study was crude extract, the action of PA might occur by one of alkaloids or other substances contained in PA. However, results of the present study strongly suggested that PA produced a uterine relaxation. The mechanism of action of PA may be unrelated to a stimulation of β_2 -adrenergic receptors of the uterus, but its action may be contributed to both extracellular site and intracellular site of plasma membrane. The effect of PA at extracellular site may be related to a reduction of Ca^{2+} influx, possibly through voltage-operated Ca^{2+} channel. Although, the present study demonstrated that this relaxant effect of PA might also occur intracellularly, but this action could play only a minor role. The intracellular sites of PA could be an inhibition of IP_3 , induction of Ca^{2+} release, stimulation of plasma membrane Ca^{2+} -ATPase and SR Ca^{2+} -ATPase, stimulation of Na^+ - Ca^{2+} exchanger, inhibition of PDE, inhibition of PKC or stimulation of MLC phosphatase. These mechanisms have yet to be identified in the future. The results from this study indicate that PA has a potential to be developed as a uterine relaxant.