

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

ผลของสารสกัดหยาบจากเหง้ากระชายดำต่อเนื้อเยื่อ
cavernosum ของคนที่ตัดแยกออกมาศึกษาในอวัยวะ

Effects of crude extract from rhizomes of *Kaempferia
parviflora* on human cavernosal tissue *in vitro*



คณะผู้วิจัย

รศ. ดร. จวีวรรณ จันสกุล

นพ. กุลเดช เตชะนภารักษ์

ศ. พวงเพ็ญ ตีริรักษ์

ขอ
P88
56
550

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน

ประจำปี 2549 มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

4 กันยายน 2550

บทคัดย่อ

การศึกษาค้นคว้านี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษา (1) การตอบสนองของเนื้อเยื่อ human cavernosum ต่อสารมาตรฐานต่าง ๆ บางชนิด และ (2) ผลต่อสารสกัดหยาบจากเหง้ากระชายดำด้วย ethanol (KP-ethanol extract) และ dichloromethane (KP-dichloromethane extract) และกลไกในการแสดงฤทธิ์ของสารสกัดทั้งสอง ทำการศึกษาแบบ *in vitro* โดยใช้เนื้อเยื่อ human cavernosum ที่ได้จากการผ่าตัดแปลงเพศ ผลการทดลองพบว่าเนื้อเยื่อ human cavernosum สามารถตอบสนองให้มีการหดตัวของ phenylephrine ซึ่งเป็น α_1 -adrenergic receptor agonist ได้แบบ dose-dependent ผลการหดตัวไม่เปลี่ยนแปลงหลังจากที่ยับยั้งการทำงานของ nitric oxide synthase โดย n-nitro-L-arginine (LNA). Acetylcholine, adenosine, glyceryl trinitrate และ Viagra มีผลทำให้เนื้อเยื่อ human cavernosum ที่ให้หดตัวอยู่ก่อนแล้วด้วย phenylephrine คลายตัวแบบ dose-dependent ผลดังกล่าวนี้ไม่เปลี่ยนแปลงโดย LNA, indomethacin, captopril, guanethidine และ/หรือ atropine ยกเว้นการคลายตัวโดย acetylcholine ถูกยับยั้งโดย atropine และ LNA ส่วน glyceryl trinitrate ถูกยับยั้งโดย guanethidine และ Viagra ถูกยับยั้งโดย LNA

KP-ethanol extract และ KP-dichloromethane extract มีผลทำให้เนื้อเยื่อ human cavernosum ที่ให้หดตัวอยู่ก่อนแล้วด้วย phenylephrine คลายตัวแบบ dose dependent ผลดังกล่าวนี้สามารถยับยั้งได้ด้วย LNA, propranolol และ ODQ แต่ไม่สามารถยับยั้งได้ด้วย atropine, DMPX หรือ glibenclamide ในขณะที่ TEA สามารถยับยั้งการคลายตัวของเนื้อเยื่อ human cavernosum ต่อ KP-ethanol extract แต่ไม่ผลต่อ KP-dichloromethane extract และผลการยับยั้งนี้จะลดน้อยลงหลังจากที่ยับยั้งการสร้าง nitric oxide ด้วย LNA พบว่าทั้ง KP-ethanol extract และ KP-dichloromethane extract เสริมการยับยั้งการหดตัวของเนื้อเยื่อ human cavernosum ต่อ phenylephrine ที่ศึกษาใน Ca^{2+} free Krebs solution หรือใน normal Krebs solution ที่ถูกยับยั้งด้วย nifedipine, แต่สารสกัดทั้ง 2 ชนิดนี้ไม่สามารถเสริมฤทธิ์การคลายตัวของเนื้อเยื่อ human cavernosum ต่อ acetylcholine หรือ glyceryl trinitrate ได้ เมื่อเปรียบเทียบลักษณะการหดตัวของเนื้อเยื่อ human cavernosum ต่อ KCl หรือ phenylephrine หลังจากที่เนื้อเยื่อ cavernosum ถูก incubate ด้วย KP-ethanol extract และ KP-dichloromethane extract พบว่าลักษณะการหดตัวของเนื้อเยื่อ human cavernosum ต่อ KCl คล้ายกับผลการถูกยับยั้งโดย nifedipine ส่วนการหดตัวต่อ phenylephrine คล้ายกับผลการถูกยับยั้งโดย Y-27632

จากผลการทดลองทั้งหมดนี้สรุปได้ว่า เนื้อเยื่อ human cavernosum ที่ได้จากการผ่าตัดแปลงเพศของคนเป็นเนื้อเยื่อที่มีคุณสมบัติเหมาะสมสามารถใช้เป็นต้นแบบในการศึกษาฤทธิ์ของสมุนไพรต่อสมรรถนะทางเพศของเพศชายได้ สารสกัดจากเหง้ากระชายดำด้วย ethanol และ dichloromethane มีผลทำให้เกิดการคลายตัวของเนื้อเยื่อ human cavernosum ที่ให้หดตัวอยู่ก่อนแล้วด้วย phenylephrine โดยออกฤทธิ์ผ่านทาง (1) กระตุ้นให้มีการหลั่งของ nitric oxide, (2) กระตุ้นผ่านทาง β -adrenergic receptor, (3) กระตุ้นให้มีการเปิดของ Ca^{2+} -sensitive K^+ -channel, (4) กระตุ้นการทำงานของ guanylate cyclase, (5) ยับยั้งการหลั่ง Ca^{2+} จากแหล่งเก็บภายในเซลล์, (6) อาจยับยั้งการนำเข้าของ Ca^{2+} เข้าไปในเซลล์แต่ไม่ได้ผ่านทาง dihydropyridine Ca^{2+} -channel, (7) ไม่ได้แสดงฤทธิ์เป็น phosphodiesterase₅ inhibitor และ (8) อาจจะแสดงฤทธิ์เป็น Rho-kinase inhibitor เป็นไปได้ว่าการแสดงฤทธิ์คลายตัวของสารสกัดจากเหง้ากระชายดำต่อเนื้อเยื่อ human cavernosum เกิดขึ้นควบคู่กันทั้ง 8 กลไก เสริมฤทธิ์การทำงานซึ่งกันและกัน อย่างไรก็ตามเนื่องจากในการศึกษาคั้งนี้เป็นการศึกษาเบื้องต้นโดยศึกษาในสารสกัดหยาบซึ่งประกอบด้วยสารต่าง ๆ หลายชนิด ดังนั้นอาจเป็นไปได้ว่าในสารสกัดหยาบของเหง้ากระชายดำอาจจะประกอบด้วยสารออกฤทธิ์หลายชนิดและรับผิดชอบการแสดงฤทธิ์ที่แตกต่างกัน จำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไปเพื่อพิสูจน์สมมุติฐานดังกล่าวนี้

Abstract

The present study was designed to investigate (1) the responsiveness of the human cavernosum to some standard drugs, and (2) the effects, as well as any possible mechanisms involved, of a *Kaempferia parviflora* rhizome-ethanol (KP-ethanol extract) and a dichloromethane (KP-dichloromethane extract) extracts on human cavernosum. Studies were performed *in vitro* using human cavernosal strips isolated from men that had undergone a sex change operation. Results show that phenylephrine, an α_1 -adrenoceptor agonist, caused a contraction of the human cavernosum in a dose-dependent manner. This effect was not modified by N-nitro-L-arginine, a nitric oxide synthase inhibitor. Acetylcholine, adenosine, glyceryl trinitrate and Viagra caused a dose-dependent relaxation of the human cavernosum that had been pre-contracted with phenylephrine. These effects were not modified by LNA, indomethacin, captopril, guanethidine and/or atropine, except that the relaxation effect of acetylcholine was significantly inhibited by atropine and LNA, relaxation by glyceryl trinitrate inhibited by guanethidine, and Viagra by LNA.

Both the KP-ethanol extract and KP-dichloromethane extract caused relaxation of the human cavernosum which had been pre-contracted with phenylephrine in a dose-dependent manner. This effect was significantly blocked by LNA, propranolol and ODQ, but not by atropine, DMPX or glibenclamide. The relaxant activity of the KP-ethanol extract, but not that of the KP-dichloromethane extract, was blocked by TEA and this blockade was reduced in the presence of LNA. Both the KP-ethanol extract and KP-dichloromethane extract caused a further inhibition of the phenylephrine induced contraction of the human cavernosum in Ca^{2+} -free Krebs solution, as well as in the normal Krebs solution when nifedipine was also added. These two extract did not enhance the relaxation of the human cavernosum induced by acetylcholine or glyceryl trinitrate. In the presence of different concentrations of KP-ethanol extract or of KP-dichloromethane extract in the incubation medium, the contractile characteristics of the human cavernosum produced by KCl are similar to those found in the presence of

nifedipine, whereas those produced by phenylephrine are similar to those produced in the presence of Y27632

These results indicate that the human cavernosum obtained from humans that had undergone a sex change operation is a suitable tissue for studying the effects of medicinal plant extracts or substances on erectile function. Both the KP-ethanol extract and KP-dichloromethane extract caused a relaxation of the human cavernosum. This may operate via (1) stimulated release of nitric oxide, (2) acting via β -adrenergic receptors, (3) opening of the Ca^{2+} -sensitive K^+ -channel, (4) prolonging the activity of the guanylate cyclase, (5) inhibition of the release of the intracellular Ca^{2+} stores, (6) may inhibit extracellular Ca^{2+} entry but not via the dihydropyridine Ca^{2+} -channel, (7) did not act as a phosphodiesterase₅ inhibitor, and (8) may operate as a Rho-kinase inhibitor. All of these pathways may be operated in concert by one or different substances. However, further studies are needed to clarify these possibilities