

การศึกษาฤทธิ์ของสารพิษที่ได้จากคางคกชนิด บูโฟ เมลานอสติกทูด ชไนเคอร์
ต่อระบบหลอดเลือดและหัวใจในสัตว์ทดลอง



นางสาวมณีรัตน์ ทรงธรรมวัฒน์

006878

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาคำหลักสูตรปริญญาเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาเภสัชวิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2523

116869941

The Cardiovascular Effects of Venoms from Bufo
melanostictus Schneider in Experimental Animals

Miss Maneerat Songthumvat

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science in Pharmacy

Department of Pharmacology

Graduate School

Chulalongkorn University

1980

หัวข้อวิทยานิพนธ์

การศึกษาฤทธิ์ของสารพิษที่ได้จากถ่างถกชนิด บูโฟ
เมลาโนสติกคัส ในเคอโรตระบบไหลเวียนเลือดและหัวใจ
ในสัตว์ทดลอง

โดย

นางสาวมณีนันท์ ทรงธรรมวัฒน์

ภาควิชา

เภสัชวิทยา

อาจารย์ที่ปรึกษา

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ประสาน ธรรมอุปกฤษ

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัย
เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาโทบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร. สุประสิทธิ์ บุญนาค)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ อุษณา หงส์วารวิธน์)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สาลี ใจดี)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ประกร จุฑะพงษ์)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ประสาน ธรรมอุปกฤษ)

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หัวข้อวิทยานิพนธ์

การศึกษาดูฤทธิ์ของสารพิษที่ได้จากคางคกชนิด บูโฟ
เมลานอสติกตัส ชไนเคอร์ในระบบหลอดเลือดและหัวใจ
ในสัตว์ทดลอง

ชื่อนิสิต

นางสาวมณีรัตน์ ทรงธรรมรัตน์

อาจารย์ที่ปรึกษา

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ประธาน ธรรมอุปกรณ

ภาควิชา

เภสัชวิทยา

ปีการศึกษา

2523



บทคัดย่อ

การศึกษาดูฤทธิ์ของสารละลายยางคางคกที่บีบจากต่อม parotoid ของคางคกชนิด Bufo melanostictus Schneider ในประเทศไทย พบว่าสารละลายยางคางคกเมื่อให้เขาไปในสัตว์ทดลองปกติ (กระต่าย หนูถีบจักร) ทางหลอดเลือดดำหรือบริเวณช่องท้อง ทำให้การหายใจของสัตว์ทดลองเพิ่มขึ้น และทำให้กล้ามเนื้อเกี่ยวกับการเคลื่อนไหวคลายตัว เพิ่มขึ้นกับปริมาณของสารละลายยางคางคกที่ให้ ในแมวที่สลบมีผลทำให้ความดันโลหิตเพิ่มขึ้นและลักษณะของ ECG เปลี่ยนแปลง ในหัวใจและหลอดเลือดที่แยกออกมาจากหนูตะเภา ปริมาณของสารละลายยางคางคกขนาดต่ำกระตุ้นอัตราการเต้นของหัวใจและแรงบีบตัวของหัวใจให้เพิ่มขึ้นแต่จะกดแรงบีบตัวของหัวใจเมื่อให้ในปริมาณที่สูงขึ้น อาการพิษที่รุนแรงที่เกิดขึ้นในแมวที่สลบและในหัวใจของหนูตะเภาที่แยกออกมาคือ การเกิด ventricular fibrillation การเพิ่มขึ้นของอัตราการเต้นของหัวใจเนื่องจากสารละลายยางคางคกสามารถถูกยับยั้งได้ด้วย Propranolol แต่แรงบีบตัวของหัวใจไม่สามารถถูกยับยั้งได้ ส่วน Phentolamine และ Cyproheptadine สามารถยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดแดงที่แยกออกมาจากกระต่ายเนื่องจากสารละลายยางคางคกได้ จากการทดลองนี้ พบอาการพิษที่เกิดกับกล้ามเนื้อเกี่ยวกับการเคลื่อนไหวตลอดจนหัวใจและหลอดเลือดซึ่งนับว่าเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้สัตว์ทดลองเสียชีวิต

7

Thesis Title The Cardiovascular Effects of Venoms from Bufo
melanostictus Schneider in Experimental Animals

Name Miss Maneerat Songthumvat

Thesis Advisor Assistant Professor Prasan Dhumma-Upakorn, Ph.D.

Department Pharmacology

Academic Year 1980

Abstract

The actions of the dried toad venom collected from the parotoid glands of Bufo melanostictus Schneider in Thailand had been evaluated. Intravenous or intraperitoneal injection into both non-anesthetized rabbits and mice caused a dose-dependent increase in respiration rate and relaxation of skeletal muscles. The increase in arterial blood pressure and the change in the ECG pattern in anesthetized cats were related to those observed in the isolated perfused guinea pig hearts. The stimulant effects on the rate and force of contraction were observed at low doses but high doses produced depressant effects on the force of contraction. Severe ventricular fibrillation occurred in all anesthetized cats and isolated perfused guinea pig hearts. An increase in heart rate, but not in force of contraction, was blocked by propranolol. Phentolamine and cyproheptadine abolished the contraction of the isolated rabbit aortic strip. The toxicity of the venom on the skeletal muscle as well as on the cardiovascular system is suggested to be the major cause of death of animals in these experiments.

กิติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในการให้ทุนอุดหนุน
การทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้ ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ตลอดจนอาจารย์ทุกท่านในภาควิชาเภสัชวิทยา และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ประสาน
ธรรมอุปถัมภ์ อาจารย์ที่ปรึกษา ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำและชี้แจงจนการวิจัยสำเร็จลุล่วง
ไปด้วยดี



สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
รายการตารางประกอบ.....	ช-ซ
รายการภาพประกอบ.....	ฅ-ฎ



บท

1. บทนำ.....	1
2. อุปกรณ์และวิธีทำการวิจัย	
2.1 วัสดุ สัตว์ทดลองและเครื่องมือ.....	6
2.2 วิธีทำการวิจัย.....	7
2.2.1 วิธีการเก็บยางคางคกจากคอม parotoid.....	7
2.2.2 การเตรียม stock solution.....	7
2.2.3 ศึกษาอาการพิษทั่วไปของสารละลาย ยางคางคกในสัตว์ทดลองปกติ (กระต่าย หนูถีบจักร). 8	
2.2.4 ศึกษาฤทธิ์ของสารละลายยางคางคก ในสัตว์ทดลองที่สลบ ทดความคันโลหิต ลักษณะของ ECG (lead II) การหายใจ.....	9
2.2.5 ศึกษาฤทธิ์ของสารละลายยางคางคกต่ออวัยวะ ที่แยกออกมาจากสัตว์ทดลอง.....	9

2.2.5.1 ศึกษาฤทธิ์ของสารละลายยางคางคก
ที่
คอหัวใจที่แยกออกมาจากหนูตะเภา.....14

2.2.5.1.1 ศึกษาฤทธิ์ของสาร
ละลายยางคางคก
ในขนาดต่าง ๆ กัน
โดยวิธีแบบ Bolus
injection14

2.2.5.1.2 ศึกษาฤทธิ์ของ
 β - blocking agent
ต่อการออกฤทธิ์ของ
สารละลายยางคางคก...14

2.2.5.1.3 ศึกษาฤทธิ์ของสาร
ละลายยางคางคก
ในขนาดต่าง ๆ กัน
โดยวิธี continuous
infusion14

2.2.5.2 ศึกษาฤทธิ์ของสารละลายยางคางคก
ที่
คอหัวใจของบน (Auricles)
ที่แยกออกมาจากหนูตะเภา.....15

2.2.5.2.1 ศึกษาฤทธิ์ของ
 β - blocking agent
ต่อการออกฤทธิ์ของ

สารละลายยางคางคก...15

2.2.5.3 ศึกษาฤทธิ์ของสารละลายยางคางคก
 ที่หลอดเลือดแดง (Aorta) ที่แยก
 ออกมาจากกระต่าย.....17

2.2.5.3.1 ศึกษาฤทธิ์ของสาร
 ละลายยางคางคกใน
 ขนาดต่าง ๆ กัน.....20

2.2.5.3.2 ศึกษาฤทธิ์ของ
 α - blocking agent
 ต่อการออกฤทธิ์ของ
 สารละลายยางคางคก...20

2.2.5.3.3 ศึกษาฤทธิ์ของ
 Antiserotonin
 ต่อการออกฤทธิ์
 ของสารละลาย
 ยางคางคก.....20

3. ผลการวิจัย

3.1 ผลการทำ นน. ของยางคางคกสกัดจากต่อม parotoid.....21

3.2 ผลของอาการพิษทั่วไปจากสารละลายยางคางคกในสัตว์
 ทดลองปกติ (กระต่าย หนูถีบจักร).....21

3.3	ผลของสารละลายยาร่างคางคกในสัตว์ทดลองที่สับสนต่อความ คันโลหิต ลักษณะของ ECG (lead II) และการหายใจ.....	25
3.4	ผลของสารละลายยาร่างคางคกต่อหัวใจที่แยกออกมาจากหนูตะเภา.....	30
3.4.1	ผลของสารละลายยาร่างคางคกในขนาดต่าง ๆ กัน โดยวิธีแบบ Bolus injection.....	30
3.4.2	ผลของ β - blocking agent ต่อการออกฤทธิ์ ของสารละลายยาร่างคางคก.....	34
3.4.3	ผลของสารละลายยาร่างคางคกในขนาดต่าง ๆ กัน โดยวิธี continuous infusion.....	41
3.5	ผลของสารละลายยาร่างคางคกต่อหัวใจห้องบน (Auricles) ที่แยกออกมาจากหนูตะเภา.....	44
3.5.1	ผลของ β - blocking agent ต่อการออกฤทธิ์ของ สารละลายยาร่างคางคก.....	44
3.6	ผลของสารละลายยาร่างคางคกต่อหลอดเลือดแดง (Aorta) ที่แยกออกมาจากกระต่าย.....	49
3.6.1	ผลของสารละลายยาร่างคางคกในขนาดต่าง ๆ กัน.....	49
3.6.2	ผลของ α - blocking agent ต่อการออกฤทธิ์ของ สารละลายยาร่างคางคก.....	49
3.6.3	ผลของ Antiserotonin ต่อการออกฤทธิ์ของสาร ละลายยาร่างคางคก.....	50

	หน้า
4. การอภิปรายผลการวิจัย	55
5. สรุปการวิจัยและข้อเสนอแนะ	63
เอกสารอ้างอิง	65
ประวัติ	68

รายการตารางประกอบ

ตารางที่	หน้า
1. แสดงส่วนประกอบของ Ringer Locke solution.....	13
2. แสดงส่วนประกอบของ Krebs' solution.....	19
3. ผลของสารละลายยางคางคก (ขนาด 0.005, 0.01, 0.015, 0.02, 0.03 มก.) ต่ออัตราการเต้นของหัวใจที่แยกออกมาจากหนูตะเภา โดยวิธีแบบ Bolus injection.....	31
4. ผลของสารละลายยางคางคก (ขนาด 0.005, 0.01, 0.015, 0.02, 0.03 มก.) ต่อแรงบีบตัวของหัวใจที่แยกออกมาจากหนูตะเภา โดยวิธีแบบ Bolus injection.....	32
5. เปรียบเทียบผลของสารละลายยางคางคก (ขนาด 0.03 มก.) และ Isoproterenol (ขนาด 0.00125 มก.) ต่อการบีบตัวของหัวใจที่แยกออกมาจากหนูตะเภา.....	38
6. ผลของ Propranolol (ขนาด 0.7 มก.) ต่อการลอกฤทธิ์ของสารละลายยางคางคก (ขนาด 0.03 มก.) และ Isoproterenol (ขนาด 0.00125 มก.) ต่อการบีบตัวของหัวใจที่แยกออกมาจากหนูตะเภา.....	39
7. เปรียบเทียบผลของสารละลายยางคางคก (ขนาด 0.0125, 0.025, 0.083, 0.167 มก./นาที ตามลำดับ) ต่อแรงบีบตัวของหัวใจ อัตราการเต้นของหัวใจ และระยะเวลาของการลอกฤทธิ์ (onset, tmax) ของหัวใจที่แยกออกมาจากหนูตะเภา โดยวิธี continuous infusion.....	42
8. เปรียบเทียบผลของสารละลายยางคางคก (ขนาด 0.0005 มก./มล.)	

รายการภาพประกอบ

รูปที่	หน้า
1	ภาพคางคก <u>Bufo melanostictus</u> Schneider..... 5
2	ก. แสดงการ cannulate Trachea ในแมว ข. แสดงการ cannulate Femoral artery และ Femoral vein ในแมว 10
3	แสดงการเตรียม Isolated perfused heart (Langendorff's preparation) จากกระต่าย 12
4	แสดงการเตรียม Isolated auricles จากหนูตะเภา โดยใช้หัวใจห้องบน 16
5	แสดงการเตรียม Aortic strip จากกระต่ายโดยใช้ หลอดเลือดแดง 18
6	แสดงผลของ LD ₅₀ ในหนูถีบจักร เมื่อฉีดสารละลายยาง คางคกเข้าทางหลอดเลือดดำ (กิตติคำนวณตามวิธีของ (Litchfield และ Wilcoxon) 23
7	แสดงผลของ LD ₅₀ ในหนูถีบจักร เมื่อฉีดสารละลายยางคางคก เข้าบริเวณช่องท้อง (กิตติคำนวณตามวิธีของ (Litchfield Wilcoxon) 24
8	ผลของสารละลายยางคางคก (ขนาด 0.25 - 1 มก./ นน. 1 กก.) ต่อความดันโลหิตและ ECG (lead II) ในแมวที่สลบ 26
9.1	ผลของสารละลายยางคางคก (ขนาด 1 มก./นน. 1 กก.) ต่อความดันโลหิตและ ECG (lead II) ในแมวที่สลบ 28
9.2	ผลของสารละลายยางคางคก (ขนาด 1 มก./นน. 1 กก.)

	(ต่อจากรูปที่ 9.1) แสดงผลการเปลี่ยนแปลงของความผัน โลทิกและลักษณะของ ECG (lead II) ในแมวที่สลบ	29
10	ผลของสารละลายยางคางคก (ขนาด 0.005, 0.01, 0.015, 0.02, 0.03 มก. ตามลำดับ) ต่อการบีบตัวของหัวใจที่แยก ออกมาจากหनुตะเภา	33
11	ผลของสารละลายยางคางคก (ขนาด 0.005, 0.01, 0.015, 0.02, 0.03 มก. ตามลำดับ) ต่อแรงบีบตัวของหัวใจที่แยก ออกมาจากหनुตะเภา และผลของ Propranolol (ขนาด 0.005 มก.) ต่อการออกฤทธิ์ของสารละลายยางคางคก (ขนาด 0.03 มก.)	35
12	ผลของสารละลายยางคางคก (ขนาด 0.005, 0.01, 0.015, 0.02, 0.03 มก. ตามลำดับ) ต่อการบีบตัวของหัวใจที่แยกออก มาจากหनुตะเภา และผลของ Propranolol (ขนาด 0.005 มก.) ต่อการออกฤทธิ์ของ Isoproterenol (ขนาด 0.005 มก.) และสารละลายยางคางคก (ขนาด 0.03 มก.)	36
13	แสดงผลของ Propranolol (ขนาด 0.7 มก.) ต่อการ ออกฤทธิ์ของสารละลายยางคางคก (ขนาด 0.03 มก.) และ Isoproterenol (ขนาด 0.00125 มก.) ต่อการบีบตัวของ หัวใจที่แยกออกมาจากหनुตะเภา	40
14	แสดงการเปลี่ยนแปลงของการบีบตัวของหัวใจที่แยกออกมาจาก หनुตะเภา ภายหลังจากให้สารละลายยางคางคก (ขนาด 0.0125 มก./ นาที เป็นเวลา 12 นาที)	43
15	แสดงการเปลี่ยนแปลงของการบีบตัวของหัวใจที่แยกออกมาจาก หनुตะเภา ภายหลังจากให้สารละลายยางคางคก (ขนาด 0.167มก./นาที	

เป็นเวลา 6.7 นาที) 45

16 แสดงผลของ Propranolol (ขนาด 0.0005 มก./มล.)
 ตลอดจนการออกฤทธิ์ของสารละลายยางคางคก (ขนาด 0.0005 มก./มล.)
 และ Isoproterenol (ขนาด 0.00002 มก./มล.) ตลอดจนการบีบตัวของ Auricles ที่แยกออกมาจากหนูตะเภา 51

17 แสดงผลเปรียบเทียบของการหดตัวของหลอดเลือดแดงที่แยกออกมาจากกระต่ายแต่ละตัว (4 ตัว) ตลอดจนการออกฤทธิ์ของ Noradrenaline (ขนาด 0.0083 ไมโครกรัม/มล.) และต่อสารละลายยางคางคก (ขนาด 0.16, 0.25, 0.30 ไมโครกรัม/มล. ตามลำดับ) 52

18 แสดงผลของการหดตัวของหลอดเลือดแดงที่แยกออกมาจากกระต่าย ตลอดจนการออกฤทธิ์ของ Noradrenaline (ขนาด 0.0083 ไมโครกรัม/มล.) : สารละลายยางคางคก (ขนาด 0.16, 0.25, 0.30 ไมโครกรัม/มล. ตามลำดับ) และผลของ Phentolamine (ขนาด 0.16 ไมโครกรัม/มล.) ตลอดจนการออกฤทธิ์ของสารละลายยางคางคก (ขนาด 0.25 ไมโครกรัม/มล.) : Noradrenaline (ขนาด 0.0083 ไมโครกรัม/มล.) ... 53

19 ผลของ Cyproheptadine (ขนาด 1.6 ไมโครกรัม/มล.) ตลอดจนการออกฤทธิ์ของสารละลายยางคางคก (ขนาด 1 ไมโครกรัม/มล.) และ 5-HT (ขนาด 50 ไมโครกรัม/มล.) ในการหดตัวของหลอดเลือดแดงที่แยกออกมาจากกระต่าย 54