

ฤทธิ์ของแอนติสโตร เทคโตรีนต่อท่อนำเชื้ออสุจิที่แยกมาจากหนูขาว



นางสาวฉันทนา เกษโกศล

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา เกษศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาสารีรวิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. ๒๕๖๔

ISBN 974-566-706-4

011804

I15448502

EFFECTS OF ANCISTROTECTORINE ON THE ISOLATED RAT VAS DEFERENS

Miss Chantana Ketkosol

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

For the Degree of Master of Science in Pharmacy

Department of Physiology

Graduate School

Chulalongkorn University

1986

ISBN 974-566-706-4

Thesis Title Effect of Ancistrotoxicine on the Isolated Rat
 Vas Deferens
By Miss Chantana Ketkosol
Department Physiology
Thesis Advisor Associate Professor Prasan Dhumma-Upakorn, Ph.D.
Co-Advisor Assistant Professor Pongsak Kunluan



Accepted by the Graduate School, Chulalongkorn University in
Partial Fulfillment of the Requirements for the Master's Degree.

Thavorn Vajrabhaya
..... Dean of Graduate School
(Professor Thavorn Vajrabhaya, Ph.D.)

Thesis Committee

Pavich Tongroach
..... Chairman
(Associate Professor Pavich Tongroach, Ph.D.)

Prasan Dhummaupakorn
..... Member
(Associate Professor Prasan Dhumma-Upakorn, Ph.D.)

Pongsak Kunluan
..... Member
(Assistant Professor Pongsak Kunluan)

Nijsiri Ruangrunsi
..... Member
(Associate Professor Nijsiri Ruangrunsi)

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ฤทธิ์ของแอนซิสโตรเทคโดรินต่อท่อนำเชื้ออสุจิที่แยกมาจากหนูขาว
ชื่อนิพนธ์	นางสาวฉันทนา เกษโกศล
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร.ประสาน ธรรมอุปกรณ
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ พงษ์ศักดิ์ กรรณล้วน
ภาควิชา	สรีรวิทยา
ปีการศึกษา	2529



บทคัดย่อ

แอนซิสโตรเทคโดริน เป็นอัลคาลอยด์บริสุทธิ์ชนิดใหม่ ในกลุ่มของ naphthaline-isoquinoline ที่สกัดได้จากใบของต้นไม้ยาไทยชื่อ ค้อนหมาแดง (*Ancistrocladus tectorius* (Lour.) Merr.) ได้ศึกษาฤทธิ์ของสารนี้เปรียบเทียบกับเวอร่าพามิล (verapamil) ต่อการหดตัวของท่อนำเชื้ออสุจิที่แยกมาจากหนูขาว โดยศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวที่เกิดจากโปรตีน (100 mM), แคลเซียม (2 mM), นอร์แอดรีนาลีน (30 μ M) และแคลเซียมในส่วน prostatic ของท่อนำเชื้ออสุจิและซีโรโทนิน (130 μ M) ในส่วนของ epididymal พบว่าแอนซิสโตรเทคโดรินและเวอร่าพามิลลดการหดตัวชนิด phasic และ tonic ที่เกิดจากการกระตุ้นด้วยสารต่าง ๆ ตามปริมาณของสารยับยั้งที่ให้ แต่ในการหดตัวชนิด rhythmic ที่เกิดจากแคลเซียมและซีโรโทนินไม่สามารถถูกยับยั้งได้เมื่อให้ในปริมาณน้อย แต่เมื่อให้แอนซิสโตรเทคโดรินและเวอร่าพามิลในขนาดเท่ากันคือ 8.9×10^{-5} M การหดตัวชนิด rhythmic จะถูกยับยั้งได้เกือบสมบูรณ์ การยับยั้งการหดตัวชนิด rhythmic ที่เกิดขึ้นนี้เมื่อเพิ่มปริมาณของแคลเซียม จะลดฤทธิ์การยับยั้งที่เกิดจากเวอร่าพามิล ในขณะที่แคลเซียมไม่มีผลต่อการยับยั้งที่เกิดโดยแอนซิสโตรเทคโดริน แอนซิสโตรเทคโดรินและเวอร่าพามิลสามารถลดการหดตัวของท่อนำเชื้ออสุจิที่เกิดจากแคลเซียมในสารละลายที่ทำให้เกิด depolarize ด้วยโปรตีนความเข้มข้นของแอนซิสโตรเทคโดรินที่ให้คล้ายเวอร่าพามิล จากผลการทดลองนี้อาจสรุปได้ว่า แอนซิสโตรเทคโดรินสามารถลดการหดตัวทั้งที่เกิดขึ้นโดยสารต่าง ๆ ที่ทำให้เกิดการหดตัว ที่ออกฤทธิ์เฉพาะเจาะจงคือ receptor (นอร์แอดรีนาลีน, ซีโรโทนิน) และไม่เฉพาะเจาะจงคือ receptor (โปรตีน, แคลเซียม)

และแคลเซียม) ฤทธิ์ในการลดการหดตัวที่เกิดขึ้นอาจมีผลโดยตรงต่อกระบวนการในการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ แอนฮิสโตร เทคโตรินออกฤทธิ์คล้ายคลึงกับเวอร่าพามิลในการหดตัวของ phasic และ tonic แต่มีฤทธิ์บางอย่างที่แตกต่างกัน ซึ่งยังไม่สามารถอธิบายได้ในขณะนี้

Thesis Title Effects of Ancistrotectorine on the Isolated Rat
 Vas Deferens

Name Miss Chantana Ketkosol

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

Thesis Co-Advisor Assistant Professor Pongsak Kunluan

Department Physiology

Academic year 1986

ABSTRACT



Ancistrotectorine is a new member of the naphthalene-isoquinoline series of alkaloids isolated from leaves of a Thai medicinal plant, *Anciscladus tectorius* (Lour.) Merr. The effects of ancistrotectorine were compared to the effects of verapamil by study on the contractile response of isolated rat vas deferens. The prostatic half of rat vas deferens was induced to contraction by potassium (100 mM), barium (2 mM), noradrenaline (30 μ M) and calcium in depolarizing solution with potassium whereas the serotonin (130 μ M) induced contraction was tested on the epididymal half. Ancistrotectorine and verapamil reduced both phasic and tonic contractions induced by various agonists in dose related manner. The rhythmic contractions produced by barium and serotonin were unaffected by low concentration of ancistrotectorine and verapamil whereas higher concentration (8.9×10^{-5} M) nearly abolished the rhythmic contractions. The inhibitory effect of verapamil on rhythmic contraction was antagonized by calcium, while the inhibitory effect of ancistrotectorine was unaffected. Ancistrotectorine as well as verapamil reduced the responses to calcium in depolarizing solution.

Ancistrotoectroline inhibited the contraction induced by agonists that excite specific receptors (noradrenaline, serotonin) as well as agents whose actions are not mediated via specific receptors (potassium, barium and calcium). These results would suggest that antispasmodic effect of ancistrotoectroline may involve direct action upon the process of smooth muscle contraction. The effects of verapamil on phasic and tonic contractions were similar to the effects of ancistrotoectroline however some different effects of ancistrotoectroline from verapamil on rhythmic contractions were not elucidated.



ACKNOWLEDGEMENTS

I would like to express my deepest sincere gratitude and appreciation to my advisor Dr. Prasan Dhumma-Upakorn, Department of Pharmacology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, for his excellent supervision, guidance, encouragement and constructive criticisms which enable me to carry out my study successfully.

I do greatly appreciate the assistance of my advisor Assistant Professor Pongsak Kunluan for his help in suggestion and kindness in providing facilities during this study.

I wish to thank Associate Professor Nijsiri Ruangrungsi of the Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University for his kindness in extracting ancistrotecorine from *Ancistrocladus tectorius* (Lour.) Merr. and kindness in suggestion and correction of this thesis.

Heartfelt appreciation is expressed to Dr. Pavich Tongroach for his valuable suggestion. Without his instruction, this work would not be accomplished.

My appreciation is expressed to all staffs of the Department of Physiology especially Mr. Viboon Leenhapattanaalert and Mr. Kittipong Kumdee for their advice on the details of laboratory work.

Thanks are also given to Chulalongkorn University Graduate School and The National Research Council of Thailand for granting my partial financial support to conduct this research.

Finally, I owe deep gratitude to my family for their love, understanding, patience, encouragement and everything throughout from the beginning.

ABBREVIATION



Ancis	Ancistrotectorine
$^{\circ} \text{C}$	degree celcius
$(\text{Ca}^{2+})_{\circ}$	extracellular calcium
cm	centimetre
ID_{50}	the concentration which produced 50 % inhibition of the control
g	gram
h	hour
5-HT	5-hydroxytryptamine (serotonin)
l	liter
M	molar
mm	millimetre
mM	millimolar
μM	micromolar
% max	per cent maximum
min	minute
M.W.	molecular weight
NA,	noradrenaline
P	probability
S.E.	standard error
Ver	Verapamil
pD_2	negative logarithm of the molar concentration of the antagonists that produced 50 % reduction of the maximal effects obtained with an agonist.



TABLE OF CONTENTS

	Page
THAI ABSTRACT	iv
ENGLISH ABSTRACT	vi
ACKNOWLEDGEMENTS	viii
ABBREVIATION	x
TABLE OF CONTENTS	xi
LIST OF TABLES	xiii
LIST OF FIGURES	xiv
CHAPTER	
I INTRODUCTION	1
II MATERIALS AND METHODS	
1. Drugs	9
2. Preparation of the isolated rat vas deferens	10
3. The organ bath	12
4. Drug administration	12
5. Analysis of data	14
III RESULTS	
1. Effects of ancistrotectorine and verapamil on KCl induced contraction	18
2. Effects of ancistrotectorine and verapamil on BaCl ₂ induced contraction	23
3. Effects of ancistrotectorine and verapamil on 5-hydroxytryptamine induced contraction	29
4. Effects of ancistrotectorine and verapamil on noradrenaline induced contraction	34

CHAPTER

5. Effects of ancistrotoectarine and verapamil on contraction induced by cumulative addition of CaCl_2 in depolarizing solution	34
IV DISCUSSION AND CONCLUSION	41
REFERENCES	49
APPENDIX	56
BIOGRAPHY	58

LIST OF TABLES

Table	Page
1. ID_{50} of ancistrotoectarine and verapamil on contraction induced by various agonists	22
2. pD_2 values of ancistrotoectarine and verapamil against $CaCl_2$ in depolarizing solution	40

LIST OF FIGURES

Figure:		Page
1	Distribution of <i>Ancistrocladus</i> Wall	1
2	Localities of <i>Ancistrocladus tectorius</i> (Lour.,) Merr.,	3
3	The leaves of <i>Ancistrocladus tectorius</i> (Lour.,) Merr.	4
4	Structure of Ancistrotectorine	6
5	Anatomy of rat vas deferens	11
6	Organ bath	13
7	The measurement of contractile responses of rat vas deferens	16
8	Traces of sequential dose-response relationship of ancistrotectorine on KCl induced contraction as recorded by isometric and isotonic transducers ..	19
9	Traces of sequential dose-response relationship of verapamil on KCl induced contraction as recorded by isometric and isotonic transducers	20
10	Log concentration-response curves of the inhibition of ancistrotectorine and verapamil on potassium induced contraction	21
11	Log concentration-response curves of the response of ancistrotectorine on potassium chloride induced contraction as recorded by isometric and isotonic recording	24
12	Traces of sequential concentration-response relation- ship of ancistrotectorine and verapamil on barium chloride induced contraction	25

Figure	page
13	Log concentration-response curves of the inhibition of ancistrotectorine and verapamil on barium chloride induced contraction 26
14	Comparison the effects of ancistrotectorine and verapamil on the frequency of rhythmic contraction induced by barium chloride 27
15	Traces of sequential dose-response relationship of ancistrotectorine ($8.9 \times 10^{-5}M$) and verapamil ($8.9 \times 10^{-5}M$) on barium chloride induced contraction reversed by administration of $CaCl_2$ 28
16	Traces of sequential dose-response relationship of ancistrotectorine and verapamil on 5-hydroxytryptamine induced contraction 30
17	Log concentration response curves of the inhibition of contraction induced by 5-hydroxytryptamine of ancistrotectorine and verapamil 31
18	Comparison the effects of ancistrotectorine and verapamil on the frequency of rhythmic contraction induced by 5-hydroxytryptamine 32
19	Traces of sequential dose-response relationship of ancistrotectorine ($8.9 \times 10^{-5}M$) and verapamil ($8.9 \times 10^{-5}M$) on 5-hydroxytryptamine induced contraction reversed by administration of $CaCl_2$.. 33
20	Traces of sequential dose-response relationship of ancistrotectorine and verapamil on noradrenaline induced contraction 35

Figure		page
21	Log concentration response curves of the inhibition of contraction induced by noradrenaline of ancistrotoectarine and verapamil	36
22	Cumulative log concentration-response curves of the inhibition of contraction induced by calcium chloride in deporalizing solution of ancistrotoectarine	38
23	Cumulative log concentration-response curves of the inhibition of contraction induced by calcium chloride in deporalizing solution of verapamil ..	39
24	Linear regression lines of log concentration-response curves of inhibition of contraction induced by KCl, BaCl ₂ , 5-hydroxytryptamine and noradrenaline of ancistrotoectarine and verapamil	57