

บทที่ 1



บทนำ

CU763-14-08 , CU763-14-11 และสารต้นแบบ CU763-10-01

CU-763-10-01 (มีสูตรโครงสร้างดังภาพที่ 1) เป็นสารสังเคราะห์โดย ผศ.ดร.ชำนาญ ภัทรพานิช และนายเฉลิมเกียรติ สงคราม ภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยเป็นการรวมสูตรโครงสร้างของ 2-propylpentanol acetals ซึ่งเป็น prodrug ของ valproic acid เข้ากับ pyridoxine วัตถุประสงค์เพื่อให้ออกฤทธิ์เป็นยาด้านชัก ที่มีประสิทธิภาพสูง และออกฤทธิ์กว้างขวางในการต้านชัก ส่วนสาเหตุที่ใช้ pyridoxine หรือ vitamin B₆ รวมเข้าไปในสูตรโครงสร้าง เนื่องจาก pyridoxine ทำหน้าที่เป็นโคแฟกเตอร์ของ glutamic acid decarboxylase (GAD) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ใช้ในกระบวนการสร้าง gamma aminobutyric (GABA) และการขาด vitamin B₆ อาจทำให้เกิดการชักได้ด้วย ดังนั้นจึงคาดว่า CU763-10-01 ที่สังเคราะห์ขึ้นมาจะมีประสิทธิภาพสูงในการต้านชัก (เฉลิมเกียรติ สงคราม, 2539)

จากการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาเบื้องต้นในหนูถีบจักร พบว่า CU763-10-01 ออกฤทธิ์ต้านชักที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยไฟฟ้า (Maximal Electroshock Seizure , MES) โดยขนาดของยาที่สามารถป้องกันการชักได้ 50 เปอร์เซ็นต์ (median effective dose : ED₅₀) เท่ากับ 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมซึ่งมีประสิทธิภาพมากกว่า valproic acid (ED₅₀ = 320 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) การศึกษาด้านพิษวิทยาของสารต่อการทำงานของระบบประสาทโดยวิธี Rotorod test พบว่าขนาดที่มีผลต่อการทำงานของระบบประสาทที่ทำให้กล้ามเนื้อเสียไป 50 เปอร์เซ็นต์ (median neurotoxic dose , TD₅₀) เท่ากับ 310 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งต่ำกว่าของ valproic acid (TD₅₀ = 430 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) แต่ขนาดที่ให้ผลในการต้านชักไม่มีผลต่อระบบประสาท (มยุรี ดันติสิระ และทิพย์สุนชุนงาม, 2538)

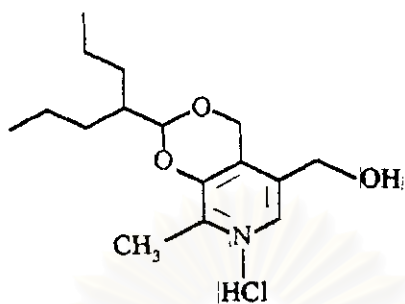
จากการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นต่อกล้ามเนื้อเรียบของกระต่ายและหนูขาวพบว่า CU-763-10-01 ออกฤทธิ์เป็น nonspecific antagonist เนื่องจากสามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อลำไส้เล็กของกระต่าย และสามารถลดการหดตัวของกล้ามเนื้อหลอดเลือดแดงของหนูขาว นอกจากนี้ยังสามารถลด

การหดตัวของกล้ามเนื้อที่ออสสุจิของหนูขาว โดยไปยับยั้งการเคลื่อนที่ของ calcium จากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ผ่านทาง ROC (receptor operated calcium channel) หรือ POC (potential operated calcium channel) เป็นหลัก (อุรารัตน์ ศักดิ์สิทธิ์วัฒน์, 2539) ต่อมาได้มีการศึกษาพบว่า CU763-10-01 สามารถลดการหดตัวของกล้ามเนื้อที่ออสสุจิ และหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย Norepinephrine (NE) ได้ แต่ไม่สามารถลดการหดตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ของกระต่ายได้ เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NE แต่เมื่อเปลี่ยนสารกระตุ้นเป็น KCl ผลปรากฏว่า CU763-10-01 สามารถลดการหดตัวของกล้ามเนื้อที่ออสสุจิของหนูขาว, กล้ามเนื้อหลอดเลือดแดงของหนูขาวและกระต่ายได้ (สุนิสา ตันติศุภชัย, 2540)

จากการศึกษาด้านอื่น ๆ โดย ลุฐาทิพ เกษตรลักษณ์ (2539) พบว่า CU-763-10-01 มีผลต่อออกซิเดทีฟฟอสฟอริลเลชัน ของไมโทคอนเดรีย และพบว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดส ในไมโทคอนเดรียที่แยกจากตับหนูขาว

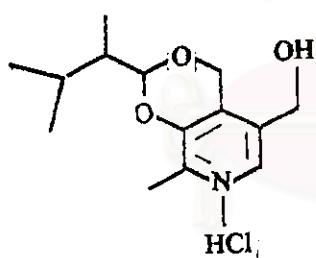
จากการที่ CU-763-10-01 มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาหลายประการรวมทั้งการยับยั้งเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดส ทำให้มีการสังเคราะห์สารใหม่ขึ้นมาจำนวนหนึ่ง โดยดัดแปลงสูตรโครงสร้างของ CU-763-10-01 เพื่อนำมาทดสอบทางเภสัชวิทยาเบื้องต้น ในจำนวนนี้มี CU-763-14-08 และ CU-763-14-11 (มีสูตรโครงสร้างดังภาพที่ 1) รวมอยู่ด้วย

จากการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นของ CU-763-14-08 และ CU-763-14-11 พบว่า มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดส ในไมโทคอนเดรียที่แยกจากตับหนูขาว จึงน่าจะมีผลต่อเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสในหัวใจด้วย โดยเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดส (MAO) เป็นเอนไซม์ที่อยู่ใน pre-synaptic คอยทำลายฤทธิ์ของ Noradrenaline (NA) ที่ถูกหลั่งออกมาจาก vesicle นอกจากนี้แล้วในหัวใจยังมีเอนไซม์แคททีโค-โอ-เมทิลทรานสเฟอเรส (COMT) ที่อยู่บริเวณ synaptic และช่วยทำลายฤทธิ์ของ epinephrine และ norepinephrine ด้วย (Axelrod, 1959 ; Crout, 1961 ; Kopin, 1964) จากฤทธิ์ของเอนไซม์ MAO และ COMT จึงเป็นผลให้จำนวน Catecholamine ที่จะไปออกฤทธิ์ที่บริเวณ synaptic มีจำนวนน้อยลง เมื่อมีจำนวน Catecholamine น้อยลงฤทธิ์ในการเพิ่มแรงบีบตัวและอัตราการเต้นของหัวใจในก็จะลดลงด้วย ดังนั้นถ้ามีสารที่ออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์



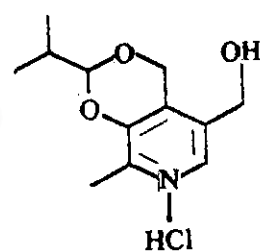
CU 763-10-01

MW = 315.85



CU-763-14-11

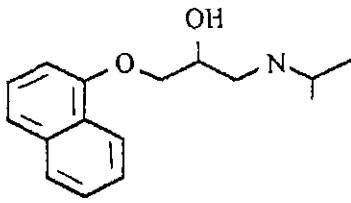
MW = 274



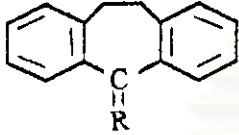
CU-763-14-08

MW = 259

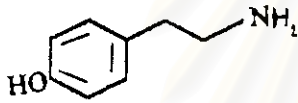
รูปที่ 1 แสดงสูตรโครงสร้างของ CU763-10-01 , CU763-14-08 และ CU763-14-11



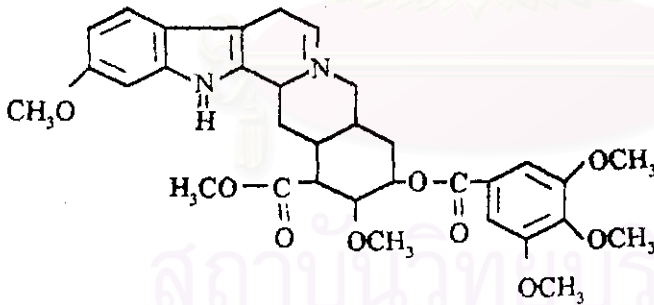
Propranolol



Amitriptyline



Tyramine



Reserpine

รูปที่ 2 แสดงสูตรโครงสร้างของ Propranolol , Amitriptyline , Tyramine และ Reserpine

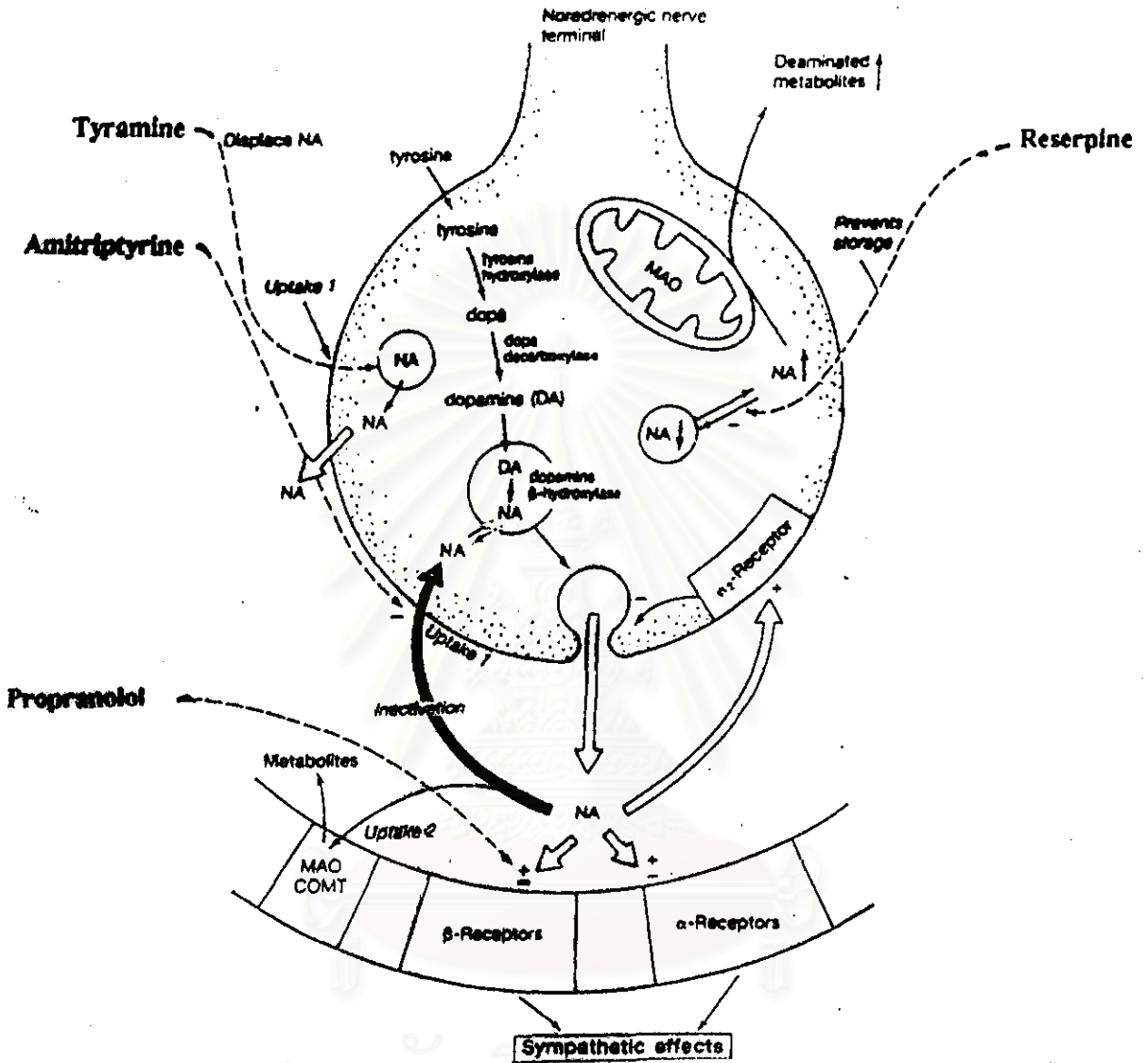
MAO และ COMT จะส่งผลให้มี Catecholamine ออกมาที่บริเวณ synaptic มากขึ้น ซึ่งจะทำให้มีการเพิ่มแรงบีบตัวและอัตราการเต้นของหัวใจตามมา (Kopin, 1964 ; Cusson, 1991)

เนื่องจาก CU-763-14-08 และ CU-763-14-11 เป็นสารสังเคราะห์ที่ขึ้นมาใหม่ยังไม่ได้มีการทดสอบกับอวัยวะใด แต่จากการทดสอบเบื้องต้นพบว่า CU-763-14-08 และ CU-763-14-11 ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ CU-763-10-01 นั้น สามารถเพิ่มแรงบีบตัวและอัตราการเต้นของหัวใจได้ ดังนั้นในการวิจัยนี้จะทำการศึกษาฤทธิ์ของ CU763-14-08 และ CU763-14-11 ต่อหัวใจห้องบนขวาและซ้ายของหนูขาว ซึ่งคาดว่าจะได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ เพื่อนำไปสู่การวิจัย และพัฒนาสารกลุ่มนี้ให้เป็นประโยชน์ทางการแพทย์ต่อไป

เป็นที่ทราบกันแล้วว่า ในหัวใจมีระบบประสาท 2 ชนิดที่ทำหน้าที่ควบคุมการทำงาน คือ ระบบประสาท sympathetic และระบบประสาท parasympathetic (Starke, 1989 ; Valtrola, 1990) จากการศึกษาพบว่า ถ้าระบบประสาท sympathetic ถูกกระตุ้นจะเป็นผลทำให้ หัวใจมีการเพิ่มแรงบีบตัวและอัตราการเต้น แต่ถ้ากระตุ้นระบบ parasympathetic จะเป็นผลทำให้หัวใจลดแรงบีบตัวและอัตราการเต้น (Furchgott, 1967 ; Stiles, Caron and Lefkowitz, 1984) จากการศึกษาฤทธิ์เบื้องต้นของ CU-763-14-08 และ CU-763-14-11 พบว่า สารทั้ง 2 ชนิดมีผลเพิ่มแรงบีบตัวและอัตราการเต้นของหัวใจ ดังนั้นจึงคาดว่า กลไกการทำงานของสารทั้ง 2 ชนิดน่าจะเกี่ยวข้องกับระบบประสาท sympathetic เป็นกลไกสำคัญ

จุดมุ่งหมายของการศึกษาวิจัย ครั้งนี้ ก็เพื่อศึกษาฤทธิ์และกลไกการทำงานของ CU-763-14-08 และ CU-763-14-11 ในการทำให้อัตราการเต้นและแรงบีบตัวของหัวใจด้านบนขวาและซ้ายที่แยกออกมาจากหนูขาวเพิ่มขึ้น โดยใช้สาร Propranolol , Amitriptyline , Tyramine และ Reserpine มาร่วมทดสอบเพื่อจะได้สรุปผลได้เด่นชัดมากขึ้นถึงผลของ CU-763-14-08 และ CU-763-14-11 ต่อการทำงานของหัวใจ

จากรูปที่ 3 จะเห็นได้ว่าในระบบประสาท sympathetic มีสารสื่อประสาทที่สำคัญคือ noradrenaline (NA) และในระบบประสาทนี้มี receptor ที่สำคัญคือ α_1 , α_2 , β_1 , β_2 , β_3 (Buccino, 1967 ; Collins, Caron and Lefkowitz, 1991) แต่เป็นที่ทราบกันแล้วว่า ในหัวใจมี



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 3 แสดงระบบประสาท Sympathetic

β -adrenoceptor อยู่เป็นจำนวนมากกว่า receptor ชนิดอื่น โดยเฉพาะอย่างยิ่ง β_1 subtype มีการศึกษาพบว่าในหัวใจห้องบนขวาของมนุษย์มี $\beta_1 : \beta_2$ เท่ากับ 74 : 26 ในหัวใจของหนูขามี $\beta_1 : \beta_2$ เท่ากับ 83 : 17 ในหัวใจด้านบนขวาของกระต่ายมี $\beta_1 : \beta_2$ เท่ากับ 72 : 28 ในหัวใจด้านบนขวาของแมวมี $\beta_1 : \beta_2$ เท่ากับ 78 : 22 ส่วนในหัวใจด้านบนขวาของ guinea pig มี $\beta_1 : \beta_2$ เท่ากับ 77 : 23 (Stiles, Caron and Lefkowitz, 1984)

Propranolol (แสดงสูตรโครงสร้างดังภาพที่ 2) เป็นสารที่อยู่ในกลุ่ม nonselective β -antagonist กล่าวคือ สามารถออกฤทธิ์ปิดกั้นได้ทั้ง β_1 และ β_2 adrenergic receptor ได้ดีพอ ๆ กัน ดังนั้นจะลดการทำงานของหัวใจทั้งอัตราการเต้นและแรงบีบตัวที่เกิดขึ้นเนื่องจากการกระตุ้นด้วย NA (Furchgott, 1967 ; Katzung, 1998) อีกทั้ง Propranolol ยังมีฤทธิ์ปิดกั้น sodium channels ด้วย (Wit, 1975 ; Barber, Starmer and Grant, 1991) และยังมีฤทธิ์เป็น membrane stabilizer (Katzung, 1998) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาพบว่า การให้ Propranolol สามารถลด oxygen consumption ได้ด้วย (Ichihara and Abiko, 1983)

ส่วน Amitriptyline (แสดงสูตรโครงสร้างดังภาพที่ 2) เป็นสารในกลุ่ม tricyclic antidepressant ที่ใช้กันมากในการรักษาอาการซึมเศร้า ซึ่งมีฤทธิ์ข้างเคียงและอันตรายจากการใช้ยานี้เกินขนาด หรือในผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของหัวใจร่วมอยู่ด้วยซึ่งอาการพิษที่เด่นชัดคือ ทำให้ ECG เปลี่ยนแปลง พร้อมกับการเกิดหัวใจเต้นเสียจังหวะ (cardiac arrhythmia) (Nattle, 1985 ; Tobis and Aronow , 1984 ; Barber, Starmer and Grant , 1991 ; Katzung , 1998) ซึ่งเป็นผลมาจากการที่ Amitriptyline ออกฤทธิ์คล้ายยาชาเฉพาะที่โดยตรงต่อหัวใจ ด้วยการปิดกั้น sodium channel (Hondegham and Katzung, 1977 ; Barber, Starmer and Grant, 1991) และการออกฤทธิ์ทางอ้อมด้วยการยับยั้งการเก็บกลับ (reuptake) ของสารสื่อประสาท โดยเฉพาะ noradrenaline (NA) ที่ neuronal membrane ทำให้มีการเพิ่มฤทธิ์ของ NA จากการศึกษาทดลองทั้งในสัตว์ทดลองและผู้ป่วย พบว่า amitriptyline จะทำให้เกิดหัวใจเต้นเสียจังหวะจากการขัดขวางการนำไฟฟ้าในหัวใจ ในขณะที่อัตราการเต้นของหัวใจเพิ่มขึ้น (Marshall and Forker, 1982 ; Nattle, 1985) ซึ่งผลของ Amitriptyline นี้สามารถป้องกันหรือแก้ไขด้วยยาเหล่านี้ เช่น Propranolol , Verapamil เป็นต้น (Marshall and Forker, 1982 ; Freeman and Lough, 1993)

Tyramine (แสดงสูตรโครงสร้างดังภาพที่ 2) เป็นสารที่ออกฤทธิ์เพิ่มการทำงานของหัวใจ ด้วยกลไกทางอ้อม (indirect effect) ให้มีการหลั่งหรือปลดปล่อย NA จากปลายประสาท sympathetic โดยการเข้าไปไล่ออก NA จากแหล่งเก็บสะสมในปลายประสาท (Hertting, Axelod and Patrick, 1961 ; Gutman and Malherbe, 1966 ; Hedquist, Oliverio and Stjarne, 1985) ทำให้มีการหลั่ง NA จำนวนมากออกมา ทำให้หัวใจมีการเพิ่มแรงบีบตัวและอัตราการเต้นของหัวใจอย่างมาก แต่ NA ที่หลั่งออกมาบางส่วนจะถูกทำลายโดย MAO และ COMT (Katzung , 1998)

Reserpine (แสดงสูตรโครงสร้างดังภาพที่ 2) เป็นสาร alkaloid ที่สกัดจากราก *Rauwolfia serpentina* ออกฤทธิ์ป้องกันการเก็บสะสมของ NA ในระบบประสาท sympathetic ทำให้จำนวน NA ที่ถูกสะสมในปลายประสาทลดจำนวนลง หรือไม่มีสะสมเลย (Burn and Rang, 1958 ; Lundburg and Stitzel, 1968) จากการศึกษาของ Sedvall ในปี 1964 พบว่า การให้ Reserpine ในหนูขนาด 5 mg / kg / day ทาง IP เป็นเวลา 2 วัน จำนวนของ NA ที่ถูกสะสมในปลายประสาทจะลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ หลังได้รับ Reserpine 3 ชั่วโมง และจะเหลือจำนวนของ NA ในปลายประสาทน้อยมาก ๆ (ประมาณ 0.6 ng / g) หลังได้รับ Reserpine เป็นเวลา 48 ชั่วโมง (Sjostrand and Swedin, 1968)

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของ CU763-14-08 และ CU763-14-11 ต่อหัวใจห้องบนขวาและซ้ายที่แยกจากหนูขาว
2. เพื่อศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของ CU763-14-08 และ CU763-14-11 ต่อหัวใจห้องบนขวาและซ้ายที่แยกจากหนูขาว

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทำให้ทราบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของ CU763-14-08 และ CU763-14-11 ต่อหัวใจห้องบนขวาและซ้ายที่แยกจากหนูขาว
2. ทำให้ทราบถึงกลไกการออกฤทธิ์ของ CU763-14-08 และ CU763-14-11 ต่อหัวใจห้องบนขวาและซ้ายที่แยกจากหนูขาว