Thesis Tille Cholinergic Effect of Quercetin

Author Miss. Nuchanart Chaichana

M.Sc. Pharmacology

Examinating Committee :

Assoc. Prof. Dr. Amphawan Apisariyakul Chairman

Assoc. Prof. Dr. Panee Tejasen Member

Assist. Prof. Dr. Chucheep Praputpittaya Member

ABSTRACT

Quercetin, 3,3′,4′,5,7-pentahydroxyflavone, a compound of yellow powder extracted from natural sources such as the leaves of *Psidium guajava* (Myrtaceae), possessed the cholinergic effect. Hippocratic screening of the pharmacological properties of quercetin using the method of intraperitoneal inject into the experimental rats. A decrease in motor activity and depression of respiratory rate were observed. A pharmacological study of quercetin was made in both rat sciatic nerve-gastrocnemius in <u>in vivo</u> preparation and rat phrenic nerve-hemidiaphragm preparation; in <u>in vitro</u> system. From this study it was found that quercetin caused a decrease in neurally-evoked twitch both <u>in vivo</u> and <u>in vitro</u> experiments. Quercetin (2,4 and 8 mg/kg body weight) produced a time-related, significant decrease in muscle twitch amplitude in rat sciatic nerve-gastrocnemius preparation; and a dose of 16 mg/kg body weight produced a complete

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

neuromuscular blockade. In rat phrenic nerve-hemidiaphragm preparation, quercetin (3.0×10^{-4}, 6.0×10^{-4}, 1.2×10^{-3} and 2.4×10^{-3}M) produced a marked decrease in muscle twitch amplitude and the response was dose-dependent. It was therefore suggested that quercetin (3.0×10^{-4}M) produced a synergistic effect on SCh neuromuscular blocking action. However, tetraethylammonium (TEA), neostigmine and Ca^{2+} could not antagonize the neuromuscular blocking effect of quercetin. Further investigation dealing with the post-tetanic potentiation (PTP) of rat sciatic nerve-gastrocnemius preparation was not abolished by quercetin. In addition, quercetin does not have a synergistic effect with hemicholinium (HC_3). Quercetin 16 mg/kg body weight could suppress the twitch amplitude of ACh contracture in rat 14-21 days denervated gastrocnemius muscle preparation. Therefore, the results suggested that quercetin exerts its effect on the neuromuscular junction. The possible mechanism of neuromuscular blocking action of quercetin was postulated to be due to depolarized blocking action at the postsynaptic site and/or a decrease sensitivity of motor endplate to ACh. Furthermore, quercetin (3.7×10^{-5}-2.4×10^{-3}M) also exerted an inhibition of the smooth muscle contraction induced by ACh, serotonin (5-HT), histamine and barium chloride on isolated guinea-pig ileum preparation. It was also shown that quercetin could inhibit ileal contraction induced by spasmogens with different pharmacological mechanisms and produced the inhibition of ACh much more than

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

that of 5-HT, histamine and barium chloride. The investigation of quercetin in the dose which produced the neuromuscular blockade on the cardiovascular system indicated slight decrease in MABP in anesthetized rats. On the other hand, quercetin produced positive inotropic and chronotropic effect in the isolated rat atria preparation and could abolish the negative inotropic effect of ACh. Therefore, the results suggested that quercetin exerts its anticholinergic properties at nicotinic site as well as muscarinic site.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ ฤทธิ์ทางโคลิเนอร์จิคของสารเคอร์ซิทิน
ชื่อผู้เขียน นางสาว นุชนาฏ ชัยชนะ
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเภสัชวิทยา
คณะกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์ :
รองศาสตราจารย์ ดร. อัมพวัน อภิสริยะกุล ประธานกรรมการ
รองศาสตราจารย์ พญ. พาณี เตชะเส่น กรรมการ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชูชีพ ประพุทธิ์พิทยา กรรมการ

บทคัดย่อ

สารเคอร์ซิทิน เป็นสารเคมีที่มีสูตรโครงสร้างเรียกว่า 3,3',4',5,7-pentahydroxyflavone มีลักษณะเป็นสารสีเหลือง สามารถแยกสกัดได้จากสารสมุนไพรบางชนิด เช่น ใบฝรั่ง เป็นต้น วัตถุประสงค์ในการศึกษาครั้งนี้ เพื่อศึกษาผลการออกฤทธิ์ของสารเคอร์ซิทินต่อระบบโคลิเนอร์จิค (cholinergic system) จากการศึกษา hippocratic screening โดยฉีดสารเคอร์ซิทินเข้าทางช่องท้อง ของหนูขาวเพื่อศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาโดยทั่วไป พบว่าทำให้ลด motor activity และลดอัตราการหายใจของหนูขาว การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารเคอร์ซิทินที่บริเวณส่วนต่อปลายประสาท-กล้ามเนื้อลายของหนูขาวนั้นได้ทำการทดลองในตัวสัตว์ทดลองโดยใช้ ส่วนของเส้นประสาทไซอะติก-กล้ามเนื้อแกสตรอกนีเมียส และการทดลองนอกตัวสัตว์ทดลองโดยใช้ส่วนของเส้นประสาทฟรีนิค-กล้ามเนื้อกระบังลม จากผลการวิจัยนี้พบว่า สารเคอร์ซิทินมีผลทำให้กดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายทั้งการทดลองในตัวสัตว์ทดลองและนอกตัวสัตว์ทดลอง จากการศึกษาที่ใช้ส่วนของเส้นประสาทไซอะติก-กล้ามเนื้อแกสตรอกนีเมียส พบว่าสารเคอร์ซิทินในขนาด 2, 4 และ 8 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมทำให้การหดตัวของกล้ามเนื้อลายที่เกิดจากการกระตุ้นเส้นประสาทลดลงอย่างชัดเจน และสารเคอร์ซิทินในขนาด 16 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม สามารถยับยั้งการทำงานของกล้ามเนื้อได้อย่างสมบูรณ์ (complete neuromuscular blockade) การศึกษาที่ใช้ส่วนของ เส้นประสาทฟรีนิค-กล้ามเนื้อกระบังลม พบว่าสารเคอร์ซิทินขนาด 3.0×10^{-4}, 6.0×10^{-4}, 1.2×10^{-3}, และ 2.4×10^{-3} M ทำให้การหดตัวของกล้ามเนื้อลายลดลงเช่นเดียวกัน การหดตัวที่ลดลงของกล้ามเนื้อลายนี้ขึ้นอยู่กับขนาดของสารเคอร์ซิทิน ดังนั้น จึงได้ทำการศึกษากลไกการออกฤทธิ์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

(mechanisms of action) ของสารเคอร์ซิทิน จากผลการวิจัยนี้พบว่า การหดตัวของกล้ามเนื้อลายที่ลดลงนี้เสริมฤทธิ์กับการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายที่เกิดจาก succinylcholine (SCh) และนอกจากนี้ ยังพบว่าการลดการหดตัวของสารเคอร์ซิทินไม่สามารถต้านฤทธิ์ได้ด้วย tetraethylammonium (TEA), แคลเซียม และ neostigmine และเคอร์ซิทินนี้ไม่สามารถยับยั้งการเกิด post-tetanic potentiation (PTP) ได้ นอกจากนี้ ยังพบว่าสารเคอร์ซิทินนี้ไม่เสริมฤทธิ์กับ hemicholinium (HC_3) ในการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย เคอร์ซิทินในขนาด 16 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมสามารถยับยั้งการหดตัวที่เกิดจาก acetylcholine (ACh) ได้ โดยศึกษาในกล้ามเนื้อแกสตรอกนีเมียสของหนูขาวที่ตัดเส้นประสาทออกแล้ว (denervated muscle) จะเห็นว่าเคอร์ซิทินอาจมีผลต่อส่วนต่อบริเวณปลายประสาทและกล้ามเนื้อลาย โดยอาจมีกลไกการออกฤทธิ์ทำให้เกิด depolarization ที่ตำแหน่งของ postsynaptic site และ/หรือ ไปลดความไว (sensitivity) ของ motor endplate ต่อ ACh จากการวิจัยนี้คาดว่าไม่มีผลที่ presynaptic site

จากการศึกษาโดยใช้ส่วนของ ลำไส้เล็กของหนูตะเภาพบว่า เคอร์ซิทินในขนาด 3.7×10^{-5}-2.4×10^{-3} M สามารถลดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่เกิดจาก ACh, serotonin, histamine และ barium chloride ได้ จากผลการวิจัยนี้แสดงว่าฤทธิ์ในการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่เกิดจากเคอร์ซิทินมีหลายกลไก และนอกจากนี้ยังพบว่า มีผลต่อการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่เกิดจาก ACh ได้มากที่สุด

การศึกษาผลของเคอร์ซิทินต่อระบบไหลเวียนโลหิต โดยทำการศึกษาในหนูขาวที่สลบด้วยเพนโตบาร์บิทัลพบว่า เคอร์ซิทินในขนาดที่ทำให้ลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายนั้น สามารถลดความดันโลหิตได้ แต่เมื่อศึกษานอกตัวสัตว์ทดลองโดยแยกหัวใจห้องบนมาศึกษาพบว่าเคอร์ซิทินทำให้เพิ่มความแรงในการหดตัวของหัวใจห้องบน และยังสามารถยับยั้งฤทธิ์ของ ACh ในการลดความแรงในการหดตัวของหัวใจได้ จากการวิจัยนี้เคอร์ซิทินออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาโดยลดการทำงานของระบบโคลิเนอร์จิคที่ปลายประสาท-กล้ามเนื้อลาย, ลดการทำงานของกล้ามเนื้อเรียบที่เกิดจาก ACh, ลดความดันโลหิต และมีผลต่อหัวใจโดยต้านฤทธิ์ ACh ได้ จากการวิจัยนี้คาดว่า เคอร์ซิทินมีคุณสมบัติ anticholinergic ทั้งสองแห่งคือ nicotinic และ muscarinic

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved