

ฤทธิ์อันค้ำปองของ 22-ไฮดรอกซีทีงจีนิน ที่สกัดจากแสนคอกำใหญ่ต่อกระบวนการหายใจ  
และออกซิเดทีฟฟอสฟอริลเลชันของไมโทคอนเดรีย



นางสาวนุศติยา วีระวัณชัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สหสาขาวิชาเภสัชวิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2538

ISBN 974 - 631 - 478 - 5

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I16884139

UNCOUPLING ACTION OF 22-HYDROXYTINGENONE FROM  
Glyptopetalum sclerocarpum ON MITOCHONDRIAL RESPIRATION  
AND OXIDATIVE PHOSPHORYLATION

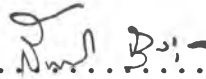
MISS NUTTIYA WERAWATTANACHAI

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science  
Inter - Department of Pharmacology  
Graduate School  
Chulalongkorn University  
1995  
ISBN 974 - 631 - 478 - 5

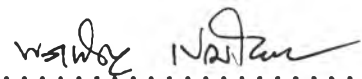
หัวข้อวิทยานิพนธ์      ฤทธิ์อันค้ำปลิงของ 22-ไฮดรอกซีทีงจิโนนที่สกัดจากแชนคอค่าใหญ่ต่อ  
กระบวนการหายใจและออกซิเดทีฟฟอสฟอริลเลชัน  
โดย                              นางสาวนุศติยา วีระวัณชัย  
ภาควิชา                        สาขาวิชาเภสัชวิทยา  
อาจารย์ที่ปรึกษา            ผู้ช่วยศาสตราจารย์วิชา จันทสูตร  
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม      รองศาสตราจารย์ ดร. รพีพล ภาโวาท

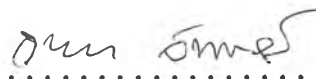
---


บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยฉบับนี้เป็นส่วน  
หนึ่งของการศึกษาในหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต


.....  .....      คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย  
(รองศาสตราจารย์ ดร. สันติ อุสุวรรณ)

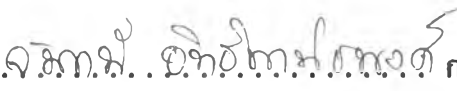
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....  .....      ประธานกรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ดร. พรเพ็ญ เปรมโยธิน)

.....  .....      อาจารย์ที่ปรึกษา  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์วิชา จันทสูตร)

.....  .....      กรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ดร. รพีพล ภาโวาท)

.....  .....      กรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ดร. ประกร จูทะพงษ์)

.....  .....      กรรมการ  
(รองศาสตราจารย์จันทน์ อธิพานิชพงศ์)

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสี่เหลี่ยมนี้เพียงแผ่นเดียว

นุตติยา วีระวัณชัย : ฤทธิ์อันค้ำปpling ของ 22-ไฮดรอกซีติงจีโนนที่สกัดจากแอนคอค้ำใหญ่ต่อกระบวนการหายใจและออกซิเดทีฟฟอสฟอริลเลชันของไมโทคอนเดรีย (UNCOUPLING ACTION OF 22-HYDROXYTINGENONE FROM Glyptopetalum sclerocarpum ON MITOCHONDRIAL RESPIRATION AND OXIDATIVE PHOSPHORYLATION) อ.ที่ปรึกษา : ผศ. วิทยา จันทสูตร, อ.ที่ปรึกษาร่วม : รศ.ดร. รพีพล ภาโววาท, 126 หน้า. ISBN 974-631-478-5

22-ไฮดรอกซีติงจีโนน สารสกัดจากแอนคอค้ำใหญ่มีผลสำคัญต่อการหายใจไมโทคอนเดรียที่แยกจากตับหนูขาว จะแสดงฤทธิ์อันค้ำปpling ช่วงแรกและต่อมาจะยับยั้งการหายใจของไมโทคอนเดรียเมื่อใช้สับสเตรทชนิด  $\text{NAD}^+$ -linked (glutamate + malate) และ succinate การออกฤทธิ์คล้าย classical uncoupler คือ DNP กล่าวคือ ทำให้เกิดการไม่ควบคุมกันของการออกซิไดซ์สับสเตรทและการสังเคราะห์ ATP ทำให้ไมโทคอนเดรียเสียการควบคุมการหายใจ ลดอัตราส่วน ADP/O และ RCI แก่ไขฤทธิ์ของ oligomycin ในการยับยั้ง state 3 respiration และกระตุ้น ATPase ของไมโทคอนเดรียซึ่งถูกยับยั้งได้โดย oligomycin อย่างไรก็ตาม 22-ไฮดรอกซีติงจีโนนให้ผลที่แตกต่างจาก DNP โดยฤทธิ์อันค้ำปpling ของสารจะไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อมีการเปลี่ยนแปลง pH ของ incubation medium ในช่วง 7.2-7.6 และฤทธิ์ในการกระตุ้น ATPase ของไมโทคอนเดรียไม่ถูกยับยั้งโดย atractyloside ส่วนฤทธิ์ต่อการหายใจที่เกิดหลังจากฤทธิ์อันค้ำปpling นั้น พบว่า 22-ไฮดรอกซีติงจีโนนจะออกฤทธิ์ยับยั้งการหายใจทั้ง state 3 state 4 เมื่อใช้  $\text{NAD}^+$ -linked หรือ succinate เป็นสับสเตรท และยับยั้งการหายใจ state 3u เฉพาะเมื่อใช้สับสเตรทชนิด  $\text{NAD}^+$ -linked แต่ไม่มีผลยับยั้งการหายใจเมื่อใช้ ascorbate + TMPD เป็นสับสเตรท แสดงว่า 22-ไฮดรอกซีติงจีโนน ออกฤทธิ์ยับยั้งการหายใจที่ complex I ของลูกโซ่การหายใจมากกว่า complex II 22-ไฮดรอกซีติงจีโนนไม่มีผลต่อ monoamine oxidase activity bovine serum albumin และ DTNB สามารถลดฤทธิ์อันค้ำปpling และฤทธิ์ยับยั้งการหายใจของสาร ส่วน DTT สามารถป้องกันฤทธิ์อันค้ำปpling และฤทธิ์ยับยั้งการหายใจของ 22-ไฮดรอกซีติงจีโนนได้อย่างสมบูรณ์ ดังนั้นกลไกการเกิดอันค้ำปpling และการยับยั้งการหายใจของไมโทคอนเดรียในระดับโมเลกุลส่วนหนึ่งจะเกี่ยวข้องกับออกฤทธิ์ที่ sulfhydryl groups ที่ผนังชั้นในของไมโทคอนเดรีย ทำให้ไมโทคอนเดรียออกซิไดซ์ NADH จากภายนอกได้



ภาควิชา...สทสวช.วิชาเภสัชวิทยา.....  
สาขาวิชา...เภสัชวิทยา.....  
ปีการศึกษา...2537.....

ลายมือชื่อนิติต.....นุตติยา วีระวัณชัย.....  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....นุตติยา.....  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....รพีพล ภาโววาท.....

# #C645579 : MAJOR PHARMACOLOGY

KEY WORD: Glyptopetalum sclerocarpum/ 22-HYDROXYTINGENONE/ MITOCHONDRIA/  
UNCOUPLING

NUTTIYA WERAWATTANACHAI : UNCOUPLING ACTION OF 22-HYDROXYTINGENONE  
FROM Glyptopetalum sclerocarpum ON MITOCHONDRIAL RESPIRATION AND  
OXIDATIVE PHOSPHORYLATION. THESIS ADVISOR : ASSIS. PROF. WITHAYA  
JANTHASOOT, THESIS CO-ADVISOR : ASSO. PROF. RAPEPOL BAVOVADA, Ph.D.  
126 pp. ISBN 974-631-478-5

22-Hydroxytingenone from Glyptopetalum sclerocarpum had important effects on respiratory activity of isolated rat liver mitochondria. Initially, 22-hydroxytingenone uncoupled the mitochondria respiration which was followed by inhibition of state 4 respiration using  $\text{NAD}^+$ -linked substrate (glutamate + malate) or succinate. Its action had exhibited some characteristics of classical uncoupler - DNP, e.g., the ability to abolish the coupling of substrate oxidation and ATP synthesis, causing loss of respiratory control, lowering ADP/O ratio as well as RCI value, reversion of oligomycin inhibited state 3 respiration and activated the mitochondrial ATPase which was inhibited by oligomycin. However, this compound had some different effect from DNP, its uncoupling action was unaffected by varying pH of incubation medium from 7.2-7.6 and activating action on mitochondrial ATPase was not inhibited by atractyloside. The effect on respiration after uncoupling action, 22-hydroxytingenone inhibited mitochondrial state 3 state 4 respiration supported by  $\text{NAD}^+$ -linked substrate or succinate and state 3u respiration especially with  $\text{NAD}^+$ -linked substrate but had no inhibitory effect when using ascorbate + TMPD. These results shown that 22-hydroxytingenone inhibited the complex I of respiratory chain rather than complex II. 22-Hydroxytingenone did not inhibit the mitochondrial monoamine oxidase activity. Its uncoupling and inhibiting respiration were reduced by bovine serum albumin and DTNB and completely antagonized by DTT, so the molecular mechanism of uncoupling action and inhibiting respiration may involve sulfhydryl group in mitochondrial inner membrane thus the mitochondria could be able to oxidize exogenous NADH.

ภาควิชา..... สหสาขาวิชา เกษษวิททยา.....

สาขาวิชา..... เกษษวิททยา.....

ปีการศึกษา..... 2537.....

ลายมือชื่อ นิสิต..... นุตติยา วีระวัฒนชัย.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

### กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ วิทยา จันทสูตร อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และรองศาสตราจารย์ ดร. รพีพล ภโวาท อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วมซึ่งให้ความช่วยเหลืออย่างดียิ่งและกรุณาให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นต่าง ๆ ของการวิจัยมาโดยตลอด ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. รพีพล ภโวาท และคุณอุทัย โสธนะพันธุ์ จากภาควิชาเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่กรุณาสังกัดสาร 22-ไฮดรอกซีทีงิโนนจากแฮนคอค่าใหญ่ให้ใช้ตลอดการวิจัย

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. พรเพ็ญ เปรมโยธิน หัวหน้าภาควิชาเภสัชวิทยา ที่อนุญาตให้ผู้วิจัยได้ใช้สถานที่ เครื่องมือและอุปกรณ์ต่าง ๆ ของภาควิชาในการทำวิจัย

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ประกร จูทะพงษ์ และ รองศาสตราจารย์ จันทน์ อธิพานิชพงศ์ ที่กรุณาชี้แนะแนวทางให้ข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์ในการดำเนินการวิจัย และให้กำลังใจมาโดยตลอด

ขอขอบพระคุณคณาจารย์บัณฑิตศึกษา สาขาวิชาเภสัชวิทยาทุกท่านที่กรุณาให้ความรู้ตลอดการศึกษาระดับปริญญาโทบัณฑิต ตลอดจนบัณฑิตวิทยาลัยที่กรุณาให้ทุนอุดหนุนการวิจัยในครั้งนี้

สุดท้ายนี้ ขอกราบขอบพระคุณบิดา-มารดา ที่ท่านได้ให้การสนับสนุนในด้านการศึกษา และให้กำลังใจแก่ผู้วิจัยเสมอมา และขอขอบคุณบุคคลอื่น ๆ ที่มีส่วนช่วยเหลือในความสำเร็จของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

นุศติยา วีระวัณชัย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย .....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ .....	จ
กิตติกรรมประกาศ .....	ฉ
สารบัญ .....	ช
สารบัญตาราง .....	ญ
สารบัญรูป .....	ฎ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ .....	ต
บทที่	
1 บทนำ	
แชนคอค้ำใหญ่และ 22-ไฮดรอกซีทิงจีโนน .....	1
การหายใจของไมโตคอนเดรียและออกซิเดทีฟฟอสฟอริลเลชัน .....	6
2 อุปกรณ์และวิธีทำการวิจัย	
สัตว์ทดลอง .....	22
การเตรียมไมโตคอนเดรียจากตับของหนูขาว .....	22
การวัดอัตราการใช้ออกซิเจนของไมโตคอนเดรียในสภาวะต่าง ๆ .....	24
การคำนวณค่าดัชนีควบคุมการหายใจ (RCI) อัตราส่วน ADP/O และอัตราการใช้ออกซิเจนของไมโตคอนเดรียในระยะต่าง ๆ .....	29
การวัด ATPase activityของไมโตคอนเดรีย .....	33
การหาปริมาณโปรตีนของไมโตคอนเดรีย .....	35
การเตรียมสารละลายที่ใช้ในการทดลองและแหล่งที่มาของสารเคมี .....	36
การแสดงผลการทดลองและการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ .....	37
3 ผลการวิจัย	
ผลของ 22 - ไฮดรอกซีทิงจีโนนที่สกัดจากแชนคอค้ำใหญ่ ต่อการหายใจของไมโตคอนเดรียที่เตรียมจากตับของหนูขาว .....	38
1. ผลของ 22 - ไฮดรอกซีทิงจีโนน ในขนาดต่าง ๆ ที่มีต่ออัตราการใช้ออกซิเจนของไมโตคอนเดรีย .....	38

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2. ผลการเปรียบเทียบ ฤทธิ์ในการกระตุ้นการหายใจของไมโทคอนเดรียของ 22-ไฮดรอกซีทิงจีโนน ADP และ DNP .....	40
3. ผลของ 22 - ไฮดรอกซีทิงจีโนน ที่มีต่อค่าดัชนีควบคุมการหายใจ (RCI) จำนวนออกซิเจนที่ถูกใช้ใน state 3 และอัตราส่วน ADP/O	
3.1 กรณีที่ใช้ glutamate + malate เป็นสับสเตรท .....	40
3.2 กรณีที่ใช้ succinate เป็นสับสเตรท .....	41
ผลของ 22-ไฮดรอกซีทิงจีโนน ในการยับยั้งการหายใจของไมโทคอนเดรียที่เตรียมจากตับหนูขาว .....	41
ผลของ 22 - ไฮดรอกซีทิงจีโนน ต่อ state 3u respiration ของไมโทคอนเดรีย	
1. เมื่อทดลองกับ intact mitochondria .....	41
2. เมื่อทดลองกับ osmotic-shocked mitochondria .....	42
ผลของ 22-ไฮดรอกซีทิงจีโนนต่อการออกซิไดซ์ NADH ใน intact mitochondria..	42
ผลของสารบางตัวและการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบบางประการใน incubation medium ต่อการออกฤทธิ์ของ 22 -ไฮดรอกซีทิงจีโนน ที่มีต่อการหายใจของไมโทคอนเดรียเมื่อใช้ glutamate + malate เป็นสับสเตรท เปรียบเทียบกับ DNP..	43
1. ผลของ oligomycin .....	43
2. ผลของการเปลี่ยนแปลง pH ของ incubation medium ที่ pH 7.2 7.4 และ 7.6 .....	43
3. ผลของ bovine serum albumin .....	44
4. ผลของ DTNB .....	45
5. ผลของ DTT .....	45
ผลของสารบางตัวต่อการออกฤทธิ์ยับยั้งการหายใจของไมโทคอนเดรียที่กระตุ้นให้มีการออกซิไดซ์ NADH โดย 22-ไฮดรอกซีทิงจีโนน .....	46
1. ผลของ DTT .....	46
2. ผลของ rotenone .....	47
ผลของ 22-ไฮดรอกซีทิงจีโนนที่มีต่อ ATPase activity ของไมโทคอนเดรีย .....	47
1. ผลของ 22-ไฮดรอกซีทิงจีโนนในขนาดต่าง ๆ ที่มีต่อ ATPase activity ของไมโทคอนเดรีย .....	47
2. ผลการเปรียบเทียบฤทธิ์ในการกระตุ้น ATPase activity ได้สูงสุดระหว่าง 22 - ไฮดรอกซีทิงจีโนนกับ DNP .....	48



สารบัญ (ต่อ)

หน้า

ผลของสารบางตัวและการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบบางประการใน incubation medium ต่อการออกฤทธิ์ของ 22-ไฮดรอกซีทีงจีโนนที่มีต่อ ATPase activity ของไมโทคอนเดรีย เปรียบเทียบกับ DNP .....	48
1. ผลของ oligomycin และ atractyloside .....	48
2. ผลของการเปลี่ยนแปลง pH ของ incubation medium ที่ pH 6.8 7.2 และ 7.6 .....	49
3. ผลของ DTNB และ DTT .....	49
ผลของ 22 - ไฮดรอกซีทีงจีโนนต่อ monoamine oxidase activity ของไมโทคอนเดรีย .....	50
รูปและตารางประกอบผลการวิจัย .....	51
4 อภิปรายและสรุปผลการทดลอง .....	108
รายการอ้างอิง .....	120
ประวัติผู้เขียน .....	126

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1. แสดงถึงเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ ในแต่ละส่วนของไมโทคอนเดรีย . . . . .	9
2. แสดงส่วนประกอบของลูกโซ่การหายใจ 4 complexes ที่อยู่ในผนังชั้นในของไมโทคอนเดรีย . . . . .	9
3. แสดงผลของสาร 22 -ไฮดรอกซีทิงจีโนน ที่มีต่อค่าดัชนีควบคุมการหายใจ (RCI), จำนวนออกซิเจนที่ถูกใช้ใน state 3 และอัตราส่วน ADP/O เมื่อใช้ glutamate + malate เป็นสับสเตรท . . . . .	62
4. แสดงผลของ 22 - ไฮดรอกซีทิงจีโนนที่มีต่อค่าดัชนีควบคุมการหายใจ (RCI) จำนวนออกซิเจนที่ถูกใช้ใน state 3 และอัตราส่วน ADP/O เมื่อใช้ succinate เป็นสับสเตรท . . . . .	65
5. แสดงผลของ 22-ไฮดรอกซีทิงจีโนนต่อ state 3u respiration ของไมโทคอนเดรีย เมื่อใช้ glutamate+malate, succinate และ ascorbate+TMPD เป็นสับสเตรท . . . . .	66
6. แสดงผลของ 22-ไฮดรอกซีทิงจีโนนต่อ state 3u respiration ของ osmotic - shocked mitochondria เมื่อใช้ NADH, succinate และ ascorbate+TMPD เป็นสับสเตรท . . . . .	67
7. แสดงผลของการเปลี่ยนแปลง pH ของ incubation medium ที่มีต่อการออกฤทธิ์ของ DNP ต่อการหายใจของไมโทคอนเดรีย . . . . .	74
8. แสดงผลของการเปลี่ยนแปลง pH ของ incubation medium ที่มีต่อการออกฤทธิ์ของ 22-ไฮดรอกซีทิงจีโนนต่อการหายใจของไมโทคอนเดรีย . . . . .	77
9. แสดงผลของ bovine serum albumin (BSA) ที่มีต่อการออกฤทธิ์ของ 22 - ไฮดรอกซีทิงจีโนนต่อการหายใจของไมโทคอนเดรีย . . . . .	80
10. แสดงผลของ DTNB ที่มีต่อการออกฤทธิ์ของ 22 - ไฮดรอกซีทิงจีโนนต่อการหายใจของไมโทคอนเดรีย . . . . .	83
11. แสดงผลของ DTT ที่มีต่อการออกฤทธิ์ของ 22 - ไฮดรอกซีทิงจีโนนต่อการหายใจของไมโทคอนเดรีย . . . . .	86
12. แสดงผลของ DTT ต่อการออกฤทธิ์ยับยั้งการหายใจของไมโทคอนเดรียที่กระตุ้นให้มีการออกซิไดซ์ NADH โดย 22-ไฮดรอกซีทิงจีโนน . . . . .	89
13. แสดงผลของ rotenone ต่อการออกฤทธิ์ยับยั้งการหายใจของไมโทคอนเดรียที่กระตุ้นให้มีการออกซิไดซ์ NADH โดย 22-ไฮดรอกซีทิงจีโนน . . . . .	92

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
14. แสดงผลของ 22 - ไฮดรอกซีทิงจีโนน ในขนาดต่าง ๆ ที่มีต่อการกระตุ้น ATPase activity ของไมโทคอนเดรีย .....	94
15. แสดงผลของ oligomycin และ atractyloside ที่มีต่อการออกฤทธิ์ของ 22 - ไฮดรอกซีทิงจีโนนในการกระตุ้น ATPase activity ของไมโทคอนเดรียเมื่อเปรียบเทียบกับ DNP .....	100
16. แสดงผลการเปลี่ยนแปลง pH ของ incubation medium ที่มีต่อการออกฤทธิ์ของ 22 - ไฮดรอกซีทิงจีโนนในการกระตุ้น ATPase activity ของไมโทคอนเดรียเมื่อเทียบกับ DNP .....	102
17. แสดงผลของ DTNB และ DTT ที่มีต่อการออกฤทธิ์ของ 22-ไฮดรอกซีทิงจีโนนในการกระตุ้น ATPase activity ของไมโทคอนเดรีย .....	104
18. แสดงผลของ 22-ไฮดรอกซีทิงจีโนน ต่อ monoamine oxidase activity ...	107
19. แสดงความสัมพันธ์ระหว่างสูตรโครงสร้างทางเคมีและฤทธิ์อันค้ำปลิง .....	110

## สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1. แสดงสูตรโครงสร้างทางเคมีของ 22-ไฮดรอกซีทิงจีโนน . . . . .	5
2. แสดงลักษณะโครงสร้างโดยทั่วไปของไมโทคอนเดรีย. . . . .	7
3. แสดงโครงสร้างและองค์ประกอบของเอนไซม์ ATPsynthase( $F_0F_1$ -ATPase) . . . . .	7
4. แสดง $F_0F_1$ - ATPase ซึ่งเร่งปฏิกิริยาทั้งการสังเคราะห์และการสลาย ATP	10
5. แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Krebs' cycle, respiratory chain และปฏิกิริยา oxidative phoshorylation . . . . .	12
6. แสดงการเปลี่ยนแปลงของพลังงานอิสระ ในขณะที่อิเล็กตรอนถูกส่งผ่าน ลูกโซ่การหายใจ . . . . .	14
7. แสดงการควบคุมระหว่างการส่งผ่านอิเล็กตรอนในลูกโซ่การหายใจ กับปฏิกิริยา ออกซิเดทีฟฟอสฟอริลเลชันที่อธิบายโดย Chemiosmotic coupling hypothesis . . . . .	16
8. แสดงถึงตำแหน่งที่มีการยับยั้งการหายใจ โดยสารยับยั้งการส่งผ่านอิเล็กตรอน ในลูกโซ่การหายใจ . . . . .	19
9. แสดงความสัมพันธ์ของปฏิกิริยาต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการใช้พลังงานที่ ไมโทคอนเดรียสามารถสงวนไว้ และตำแหน่งต่าง ๆ ที่ตัวยับยั้งการทำงานของ ไมโทคอนเดรียไปออกฤทธิ์ . . . . .	20
10. แสดงขั้นตอนการแยกไมโทคอนเดรียจาก liver homogenate โดย different centrifugation . . . . .	23
11. แสดง incubation chamber ที่ใช้ในการทดลอง เพื่อวัดอัตราการหายใจของ ไมโทคอนเดรียในสภาวะต่าง ๆ . . . . .	26
12. แสดงลักษณะของ Clark oxygen electrode . . . . .	27
13. ตัวอย่าง oxygraph tracing เพื่อแสดงวิธีการหาค่า RCI . . . . .	30
14. ตัวอย่าง oxygraph tracing เพื่อแสดงวิธีการหาค่าอัตราส่วน ADP/O . . . . .	30
15. ตัวอย่าง oxygraph tracing เพื่อแสดงวิธีการหา อัตราการใช้ออกซิเจนของ ไมโทคอนเดรียในระยะต่าง ๆ . . . . .	30
16. ผลของ 22 - ไฮดรอกซีทิงจีโนนในขนาด 20 , 40 และ 80 มคก. ที่มีต่อ อัตราการหายใจของไมโทคอนเดรีย เมื่อใช้ glutamate+malate เป็นสับสเตรท	53

## สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
17. ผลของ 22 - ไฮดรอกซีทิงจีโนนในขนาด 20 ,40 และ 80 มคก. ที่มีต่ออัตราการหายใจของไมโทคอนเดรีย เมื่อใช้ succinate เป็นสับสเตรท. . . . .	55
18. Dose - response curve ของ 22-ไฮดรอกซีทิงจีโนนในขนาดต่าง ๆ ที่มีต่ออัตราการหายใจของไมโทคอนเดรีย เมื่อใช้ succinate (curve A) และ glutamate+malate (curve B) เป็นสับสเตรท . . . . .	57
19. ผลการเปรียบเทียบการกระตุ้นการหายใจของไมโทคอนเดรียโดย 22-ไฮดรอกซีทิงจีโนน ADP และ DNP เมื่อใช้ glutamate + malate หรือ succinate เป็นสับสเตรท . . . . .	59
20. ผลของ 22-ไฮดรอกซีทิงจีโนนต่อค่าดัชนีควบคุมการหายใจ (RCI), จำนวนออกซิเจนที่ถูกใช้ใน state 3 ของไมโทคอนเดรียและอัตราส่วน ADP/O เมื่อใช้ glutamate+malate เป็นสับสเตรท . . . . .	61
21. ผลของ 22-ไฮดรอกซีทิงจีโนนต่อค่าดัชนีควบคุมการหายใจ (RCI), จำนวนออกซิเจนที่ถูกใช้ใน state 3 ของไมโทคอนเดรียและอัตราส่วน ADP/O เมื่อใช้ succinate เป็นสับสเตรท . . . . .	64
22. ผลของ 22-ไฮดรอกซีทิงจีโนนต่อการออกซิโคซ์ NADH ของไมโทคอนเดรีย	69
23. ผลของ oligomycin ที่มีต่อการออกฤทธิ์ของ DNP และ 22-ไฮดรอกซีทิงจีโนนต่อการหายใจของไมโทคอนเดรีย . . . . .	71
24. ผลของการเปลี่ยนแปลง pH ของ incubation medium ที่มีต่อการออกฤทธิ์ของ DNP ต่อการหายใจของไมโทคอนเดรีย . . . . .	73
25. ผลของการเปลี่ยนแปลง pH ของ incubation medium ที่มีต่อการออกฤทธิ์ของ 22-ไฮดรอกซีทิงจีโนนต่อการหายใจของไมโทคอนเดรีย . . . . .	76
26. ผลของ bovine serum albumin (BSA) ที่มีต่อการออกฤทธิ์ของ 22-ไฮดรอกซีทิงจีโนน ต่อการหายใจของไมโทคอนเดรีย . . . . .	79
27. ผลของ DTNB ที่มีต่อการออกฤทธิ์ของ 22-ไฮดรอกซีทิงจีโนนต่อการหายใจของไมโทคอนเดรีย . . . . .	82
28. ผลของ DTT ที่มีต่อการออกฤทธิ์ของ 22 -ไฮดรอกซีทิงจีโนนต่อการหายใจของไมโทคอนเดรีย . . . . .	85
29. ผลของ DTT ที่มีต่อการออกฤทธิ์ยับยั้งการหายใจของไมโทคอนเดรียที่กระตุ้นให้มีการออกซิโคซ์ NADH โดย 22-ไฮดรอกซีทิงจีโนน. . . . .	88

## สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
30. ผลของ rotenone ที่มีต่อการออกฤทธิ์ยับยั้งการหายใจของไมโทคอนเดรียที่กระตุ้นให้มีการออกซิไดส์ NADH โดย 22-ไฮดรอกซีทิงจีโนน . . . . .	91
31. Dose-response curve ผลของ 22-ไฮดรอกซีทิงจีโนนในขนาดต่าง ๆ ที่มีต่อการกระตุ้น ATPase activity ของไมโทคอนเดรีย . . . . .	96
32. ผลการเปรียบเทียบการกระตุ้น ATPase activity ของไมโทคอนเดรียระหว่าง 22-ไฮดรอกซีทิงจีโนน กับ DNP . . . . .	98
33. ผลของ 22-ไฮดรอกซีทิงจีโนน ต่อ monoamine oxidase activity . . . . .	106
34. ลักษณะโครงสร้างปกติของไมโทคอนเดรีย และลักษณะการบวม (swelling) ของไมโทคอนเดรีย . . . . .	113

## คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

ซม.	= เซนติเมตร
นกก.	= นาโนกรัม
นนอ.	= นาโนอะตอม
นนม.	= นาโนโมล
มก.	= มิลลิกรัม
มคก.	= ไมโครกรัม
มคล.	= ไมโครลิตร
มม.	= มิลลิเมตร
มล.	= มิลลิลิตร
ADP	= adenosine 5'-diphosphate
ATP	= adenosine 5'-triphosphate
BSA	= bovine serum albumin
Co Q	= coenzyme Q, ubiquinone
Cyt.	= cytochrome
°C	= degree Celsius
DNP	= 2,4-dinitrophenol
DTT	= dithiothreitol
DTNB	= 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoate
DMSO	= dimethylsulfoxide
EGTA	= ethyleneglycol-bis-(β-aminoethyl ether)N,N,N',N'-tetraacetic acid
FAD	= flavin adenine dinucleotide
FADH <sub>2</sub>	= reduced flavin adenine dinucleotide
FMN	= flavin mononucleotide
Fe-S	= iron-sulfur center
g	= centrifugal force unit (gravity)
H <sup>+</sup>	= proton
HEPES	= N-2-hydroxyethylpiperazine-N'-2-ethane-sulfonic acid
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	= sulfuric acid
K <sup>+</sup>	= potassium ion
KCl	= potassium chloride
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	= potassium phosphate

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ(ต่อ)

M	= molar
MAO	= monoamine oxidase
MgCl <sub>2</sub>	= magnesium chloride
μ atoms	= microatom
μg	= microgram
μl	= microlitre
μM	= micromolar
mg	= milligram
min	= minute
ml	= millilitre
mM	= millimolar
mOsm	= milliosmolar
N	= normality
NAD <sup>+</sup>	= nicotinamide adenine dinucleotide
NADH	= reduced nicotinamide adenine dinucleotide
NADPH	= reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	= sodium carbonate
NaOH	= sodium hydroxide
n atom	= nanoatom
O	= oxygen
Pi	= inorganic phosphate
RCI	= respiratory control index
RPM	= revolution per minute
SE	= standard error of mean
TMPD	= N,N,N',N'-tetramethyl-p-phenylenediamine
w/v	= weight by volume
/	= per
%	= percent