

ผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือต่อหลอดเลือดดำที่แยกจากสายสะดือมนุษย์



นางสาวพินิจต์ ปราบโรค

สถาบันวิทยบริการ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเภสัชวิทยา สหสาขาวิชาเภสัชวิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2545

ISBN 947-17-3339-9

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EFFECT OF THE EXTRACT FROM *ACACIA CATECHU* ON ISOLATED HUMAN
UMBILICAL VEIN

Miss. Pintus Parbrok



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Pharmacology

Inter-Department Program in Pharmacology

Graduated School

Chulalongkorn University

Academic Year 2002

ISBN 947-17-3339-9

พินิจส์ ปราบโรค:ผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือต่อหลอดเลือดดำที่แยกจากสายสะดือ มนุษย์ (Effect of the extract from *Acacia catechu* on isolated human umbilical vein) อ.ที่ปรึกษา รศ.โสภิต ธรรมอาวี, 97 หน้า. ISBN 974-17-3339-9

สารสกัดสีเสียดเหนือที่ได้จากการสกัดด้วย ethanol มีรูปแบบขององค์ประกอบแสดงโดย thin layer chromatogram (TLC fingerprint) เป็นการยืนยันเอกลักษณ์ และคุณภาพของสารสกัด ที่นำมาศึกษาฤทธิ์ขยายหลอดเลือด และกลไกการออกฤทธิ์ของสารสกัดสีเสียดเหนือ โดยใช้หลอดเลือดดำที่แยกจากสายสะดือที่ได้จากทารกแรกเกิดปกติที่มารดามีสุขภาพดี ทำการศึกษาโดยกระตุ้นให้หลอดเลือดที่มี และไม่มีชั้น endothelial cells หดตัว ด้วยสารกระตุ้นมาตรฐาน KCl แบบสะสมความเข้มข้น ขนาดสูง 0.2-20 mM และ histamine ความเข้มข้น 10^{-5} M เปรียบเทียบกับการให้สารสกัดสีเสียดเหนือร่วมกับสารกระตุ้นมาตรฐาน พบว่า สารสกัดสีเสียดเหนือสามารถยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดดำได้ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อมี endothelial cells โดยฤทธิ์ที่ได้ขึ้นกับความเข้มข้นของสารสกัด และพบว่า ที่ความเข้มข้น 0.3 mg/ml สามารถยับยั้งการหดตัวได้สูงสุด ขณะที่สารสกัดสีเสียดเหนือไม่สามารถยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดที่ตอบสนองต่อ histamine ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การศึกษาบทบาทของ mediators ต่อการออกฤทธิ์ขยายหลอดเลือดของสารสกัดสีเสียดเหนือ โดยให้สารยับยั้งการสร้าง nitric oxide (NO) และ prostacyclin (PGI_2) สารยับยั้ง Endothelium Derived Hyperpolarizing Factor (EDHF) และสารปิดกั้น bradykinin (BK) receptor พบว่า เมื่อยับยั้งการสร้าง Endothelium Derived Relaxing Factors (EDRFs) (ได้แก่ NO, PGI_2) และยับยั้ง Endothelium Derived Hyperpolarizing Factors (EDHFs) ทำให้สารสกัดสีเสียดเหนือ ไม่สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดดำได้ แต่การปิดกั้น BK receptor ยังคงทำให้สารสกัดสีเสียดเหนือออกฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดได้ ผลการศึกษาบ่งชี้ว่า สารสกัดจากสีเสียดเหนือสามารถยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดที่มีชั้น endothelial cell ซึ่งตอบสนองต่อ KCl โดยการออกฤทธิ์น่าจะออกฤทธิ์ผ่าน 3 pathways ได้แก่ NO, PGI_2 และ EDHF ส่วน bradykinin ไม่น่าจะเกี่ยวข้องกับการออกฤทธิ์ของสารสกัดสีเสียดเหนือ

ภาควิชา สหสาขาเภสัชวิทยา ลายมือชื่ออนิสิต.....
 สาขาวิชา เภสัชวิทยา ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....
 ปีการศึกษา 2545

4289683720 : MAJOR PHARMACOLOGY

KEY WORD: *ACACIA CATECHU*, ENDOTHELIUM-DERIVED RELAXING FACTOR (EDRF),

NITRIC OXIDE/ PROSTACYCLIN/ POTASSIUM CHANNEL

PINTUS PRABROK : EFFECT OF THE EXTRACT FROM *ACACIA CATECHU* ON

ISOLATED HUMAN UMBILICAL VEIN. THESIS ADVISOR : ASSO.PROF. SOPIT

THAMAREE, 97 pp. ISBN 974-17-3339-9

Thin layer chromatogram (TLC fingerprint) characterizing the pattern of constituents in the ethanol extract of *Acacia cathechu* (AC) was performed to assure the identity and quality of the extract studied. To assess the vasodilating effect and mode of action of AC extract, isolated human umbilical vein (HUV) obtained from full term normal newborn and healthy mother was used. The strips of isolated HUV with or without endothelium was induced to contract with 0.5-20 mM KCl or 10^{-5} M histamine with or without the presence of AC. The results showed that AC in a dose-dependent manner inhibited the KCl induced contraction of isolated HUV with intact endothelial cells. At the concentration of 0.3 mg/ml, AC showed maximum inhibitory response. On the contrary AC could not significantly inhibit the histamine induced contraction of isolated HUV with intact endothelial cells. Nitric oxide synthase (NOS) inhibitor, cyclo-oxygenase (COX) inhibitor, bradykinin receptor antagonist and potassium channel blocking agent were used in elucidating the role of mediators in producing vasodilating effect of ACE. The results showed inhibitory effect of ACE on KCl-induced contraction of the endothelium-intact segment of isolated HUV. The responses were mediated by at least three different pathways involving release of endothelium-derived relaxing factors (EDRF). One of the alternative pathway involved the production of prostacyclin. The second pathway involved production of nitric oxide. The last pathway possibly involved endothelium-derived hyperpolarizing factor (EDHF). Whereas bradykinin was unlikely to involve in mediating the vasodilatory effect of AC.

Department Pharmacology

Student's signature

Field of study Pharmacology

Advisor's signature.....

Academic year 2002

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ไสภิต ธรรมอารี อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำ ให้ความรู้ ตลอดจนความช่วยเหลือในทุกด้าน เพื่อให้วิทยานิพนธ์ สำเร็จไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ในภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์, คณะเภสัชศาสตร์, คณะทันตแพทยศาสตร์ และคณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ประสิทธิ์ประสาท ความรู้ตลอดการศึกษาในหลักสูตรมหาบัณฑิตสหสาขาวิชาเภสัชวิทยา

ขอขอบพระคุณ บัณฑิตวิทยาลัย และทบวงมหาวิทยาลัย ที่ได้กรุณามอบเงินทุนสนับสนุนการ ทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ประจำห้องคลอด และห้องผ่าตัดสูติ-นรีเวช โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย และห้องคลอด โรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือ และร่วมมือ ในการเก็บตัวอย่างสายสะดือ เพื่อนำมาใช้ในการทดลองตลอดโครงการวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณ คุณอารีย์ บุญบรรทัดกุล หัวหน้าหน่วยบำบัดพิเศษศัลยกรรม ชั้น 5 โรงพยาบาลรามคำแหงดี และเจ้าหน้าที่หอผู้ป่วยทุกท่านที่สนับสนุน การเข้าศึกษา และทำวิทยานิพนธ์ใน ครั้งนี้

สุดท้ายนี้ ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา ที่ได้ให้กำลังใจตลอดมา รวมทั้ง คุณสิทธิโชค ผูก พันธุ์ ที่เป็นกำลังใจ และสนับสนุนช่วยเหลือตลอดการทำโครงการวิทยานิพนธ์ครั้งนี้

พินิจส์ ปราบโชค

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฏ
สารบัญรูปภาพ.....	ณ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ.....	ด

บทที่ 1 บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	7
ขอบเขตของการวิจัย.....	7
ปัญหาทางจริยธรรม.....	7
ปัญหา อุปสรรคในการวิจัยและแนวทางในการแก้ไข.....	8
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	8

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การควบคุมความดันโลหิต.....	9
ศูนย์ควบคุมในระบบไหลเวียนเลือด.....	10
กลไกการหดตัว-คลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....	13
โครงสร้างและหน้าที่ของ Endothelial cell.....	15
บทบาทสำคัญของ Endothelial cell.....	16
โครงสร้างและหน้าที่ของสายสะดือมนุษย์.....	22
สีเสียดเนื้อ.....	25

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย.....	30
วิธีดำเนินการวิจัย.....	31
การเก็บรวบรวมข้อมูล.....	36
การวิเคราะห์ข้อมูล.....	37

บทที่ 4 ผลการทดลองและการวิเคราะห์ข้อมูล

1. ผลของสารกระตุ้นมาตรฐาน KCl ขนาดสูง แบบสะสมความเข้มข้น 5×10^{-4} M, 5×10^{-3} M, 15 และ 20 mM ในหลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์ที่มีและไม่มีชั้น Endothelial Cells.....38
2. ผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือที่มีความเข้มข้น 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 mg/ml ในหลอดเลือดสายสะดือดำมนุษย์ที่มีชั้น endothelial cells เมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วยสารมาตรฐาน KCl ขนาดสูง แบบสะสมความเข้มข้น 5×10^{-4} M, 5×10^{-3} M, 15 และ 20 mM และ Histamine ความเข้มข้น 10^{-5} M
 - ผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือ 0.1 mg/ml ในหลอดเลือดเมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl.....40
 - ผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือ 0.2 mg/ml ในหลอดเลือด เมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl.....41
 - ผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือ 0.3 mg/ml ในหลอดเลือด เมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl.....43
 - ผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือ 0.4 mg/ml ในหลอดเลือด เมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl.....45
 - ผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือ 0.1 mg/ml ในหลอดเลือด เมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย histamine.....47
 - ผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือ 0.2 mg/ml ในหลอดเลือด เมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย histamine.....49
 - ผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือ 0.3 mg/ml ในหลอดเลือด เมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย histamine.....50
3. ผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือที่มีความเข้มข้น 0.3 mg/ml ในหลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์ ที่ไม่มีชั้น Endothelial cell เมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ขนาดสูง แบบสะสมความเข้มข้น 5×10^{-4} M, 5×10^{-3} M, 15 และ 20 mM และ Histamine ความเข้มข้น 10^{-5} M
 - ผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือที่มีความเข้มข้น 0.3 mg/ml ในหลอดเลือดที่ไม่มีชั้น endothelial cells เมื่อกระตุ้นด้วย KCl.....52

- ผลของสารสกัดจากสีเสียดเนื้อที่มีความเข้มข้น 0.3 mg/ml ในหลอดเลือดที่ไม่มีชั้น endothelial cells เมื่อกระตุ้นด้วย histamine.....	54
4. ผลของสารสกัดสีเสียดเนื้อ ในหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ ที่มี endothelial cells เมื่อให้สารยับยั้งการหลั่ง EDRFs ได้แก่ N ^G -nitro-L-arginine (NLA), Indomethacin และ Tetraacethylammonium chloride (TEA)	
- ผลของสารสกัดสีเสียดเนื้อความเข้มข้น 0.3 mg/ml ในหลอดเลือด เมื่อให้สารยับยั้งการสร้าง nitric oxide N ^G -nitro-L-arginine (NLA).....	55
- ผลของสารสกัดสีเสียดเนื้อความเข้มข้น 0.3 mg/ml ในหลอดเลือด เมื่อให้สารยับยั้งการสร้าง prostacyclin Indomethacin (Indo).....	57
- ผลของสารสกัดสีเสียดเนื้อความเข้มข้น 0.3 mg/ml ในหลอดเลือด เมื่อให้ N ^G -nitro-L-arginine (NLA) ร่วมกับ Indomethacin.....	59
- ผลของสารสกัดสีเสียดเนื้อความเข้มข้น 0.3 mg/ml ในหลอดเลือด เมื่อให้ Tetraacethylammonium chloride (TEA).....	61
- ผลของสารสกัดสีเสียดเนื้อความเข้มข้น 0.3 mg/ml ในหลอดเลือด เมื่อให้ N ^G -nitro-L-arginine (NLA) ร่วมกับ indomethacin ร่วมกับ Tetraacethylammonium chloride (TEA).....	63
5. ผลของสารสกัดจากสีเสียดเนื้อ เมื่อให้สารปิดกั้น bradykinin receptor ได้แก่ Icatibant (HOE 140) ในหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ที่มีชั้น Endothelial Cell.....	65
บทที่ 5 อภิปราย และสรุปผลการทดลอง.....	68
รายการอ้างอิง	73
ภาคผนวก ก.....	79
ภาคผนวก ข.....	93

1. เปรียบเทียบการหดตัวของหลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์ที่มีและไม่มีชั้นendothelial cell เมื่อกระตุ้นการหดตัวของหลอดเลือดด้วย KCl 39
2. เปรียบเทียบการหดตัวของหลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์ ที่มีชั้น endothelial cells เมื่อกระตุ้นด้วย KCl ความเข้มข้นสูง ก่อนและหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (*Acacia catechu*, AC) ความเข้มข้น 0.1 mg/ml 41
3. เปรียบเทียบการหดตัวของหลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์ ที่มีชั้น endothelial cells เมื่อกระตุ้นด้วย KCl ความเข้มข้นสูง ก่อนและหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (*Acacia catechu*, AC) ความเข้มข้น 0.2 mg/ml 42
4. เปรียบเทียบการหดตัวของหลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์ ที่มีชั้น endothelial cells เมื่อกระตุ้นด้วย KCl ความเข้มข้นสูง ก่อนและหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (*Acacia catechu*, AC) ความเข้มข้น 0.3 mg/ml 44
5. เปรียบเทียบการหดตัวของหลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์ ที่มีชั้น endothelial cells เมื่อกระตุ้นด้วย KCl ความเข้มข้นสูง ก่อนและหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (*Acacia catechu*, AC) ความเข้มข้น 0.4 mg/ml 46
6. เปรียบเทียบการหดตัวของหลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์ ที่มีชั้น endothelial cells เมื่อกระตุ้นด้วย histamine ก่อนและหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (*Acacia catechu*, AC) ความเข้มข้น 0.1 mg/ml 48

7. เปรียบเทียบการหดตัวของหลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์ ที่มีชั้น endothelial cells เมื่อกระตุ้นด้วย histamine ก่อนและหลังได้รับ สารสกัดจากสีเสียดเหนือ (<i>Acacia catechu</i> , AC) ความเข้มข้น 0.2 mg/ml	49
8. เปรียบเทียบการหดตัวของหลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์ ที่มีชั้น endothelial cells เมื่อกระตุ้นด้วย histamine ก่อนและหลังได้รับ สารสกัดจากสีเสียดเหนือ (<i>Acacia catechu</i> , AC) ความเข้มข้น 0.3 mg/ml	51
9. เปรียบเทียบการหดตัวของหลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์ ที่ไม่มีชั้น Endothelial cells เมื่อกระตุ้นด้วย KCl ความเข้มข้นสูง ก่อนและหลัง ได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (<i>Acacia catechu</i> , AC) ความเข้มข้น 0.3 mg/ml	53
10. เปรียบเทียบการหดตัวของหลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์ ที่ไม่มีชั้น Endothelial cells เมื่อกระตุ้นด้วย histamine ก่อนและหลังได้รับ สารสกัดจากสีเสียดเหนือ (<i>Acacia catechu</i> , AC) ความเข้มข้น 0.3 mg/ml	54
11. เปรียบเทียบการหดตัวของหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ ที่มีชั้น Endothelial cell เมื่อได้รับสารยับยั้งการสังเคราะห์ Nitric Oxide N ^G -nitro-L-arginine (NLA) ขนาด 3x10 ⁻⁵ mM เมื่อกระตุ้นด้วย KCl ขนาดสูง แบบสะสมความเข้มข้น ก่อนและหลังได้รับสารสกัดจาก สีเสียดเหนือ (<i>Acacia catechu</i> , AC) ความเข้มข้น 0.3 mg/ml	56
12. เปรียบเทียบการหดตัวของหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ ที่มีชั้น Endothelial cell เมื่อได้รับสารยับยั้งการสังเคราะห์ protacyclin Indomethacin ความเข้มข้น 5 x10 ⁻⁵ mM เมื่อกระตุ้นด้วย KCl ขนาดสูง แบบสะสมความเข้มข้น ก่อนและหลังได้รับสารสกัดจาก สีเสียดเหนือ (<i>Acacia catechu</i> , AC) ความเข้มข้น 0.3 mg/ml	58

13. เปรียบเทียบการหดตัวของหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ ที่มีชั้น Endothelial Cell เมื่อได้รับ NLA ความเข้มข้น 3×10^{-5} M Indo ความเข้มข้น 5×10^{-5} M เมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ขนาดสูง แบบสะสมความเข้มข้น ก่อนและหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (<i>Acacia catechu</i> , AC) ความเข้มข้น 0.3 mg/ml	60
14. เปรียบเทียบการหดตัวของหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ ที่มีชั้น Endothelial Cell เมื่อได้รับ TEA ความเข้มข้น 10^{-10} M เมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ขนาดสูง แบบสะสมความเข้มข้น ก่อนและหลัง ได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (<i>Acacia catechu</i> , AC) ความเข้มข้น 0.3 mg/ml	61
15. เปรียบเทียบการหดตัวของหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ ที่มีชั้น Endothelial Cell เมื่อได้รับ NLA ความเข้มข้น 3×10^{-5} M Indo ขนาด 5×10^{-5} M และ TEA ความเข้มข้น 10^{-10} M เมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ขนาดสูง แบบสะสมความเข้มข้นก่อนและหลัง ได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (<i>Acacia catechu</i> , AC) ความเข้มข้น 0.3 mg/ml	63
16. เปรียบเทียบการหดตัวของหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ ที่มีชั้น Endothelial Cell เมื่อได้รับ HOE 140 ความเข้มข้น 10^{-8} M เมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ขนาดสูง แบบสะสมความเข้มข้น ก่อนและหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (<i>Acacia catechu</i> , AC) ความเข้มข้น 0.3 mg/ml	65
17. แสดงผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (AC) ความเข้มข้น 0.1 mg/ml ในหลอดเลือดดำสายสะดือที่มีชั้น endothelial cell ก่อน และหลังได้รับ สารสกัดจากสีเสียดเหนือ เมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ขนาดสูง	79
18. แสดงผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (AC) ความเข้มข้น 0.2 mg/ml ในหลอดเลือดดำสายสะดือที่มีชั้น endothelial cell ก่อน และหลังได้รับ สารสกัดจากสีเสียดเหนือ เมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ขนาดสูง	80

19. แสดงผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ (AC) ความเข้มข้น 0.3 mg/ml
 ในหลอดเลือดดำสายสะดือที่มีชั้น endothelial cell ก่อน และหลังได้รับ
 สารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ เมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ขนาดสูง 81
20. แสดงผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ (AC) ความเข้มข้น 0.4 mg/ml
 ในหลอดเลือดดำสายสะดือที่มีชั้น endothelial cell ก่อน และหลังได้รับ
 สารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ เมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ขนาดสูง 82
21. แสดงผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ (AC) ความเข้มข้น 0.1 mg/ml
 ในหลอดเลือดดำสายสะดือที่มีชั้น endothelial cell ก่อน และหลังได้รับ
 สารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ เมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย histamine(HS) 83
22. แสดงผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ (AC) ความเข้มข้น 0.2 mg/ml
 ในหลอดเลือดดำสายสะดือที่มีชั้น endothelial cell ก่อน และหลังได้รับ
 สารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ เมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย histamine(HS) 84
23. แสดงผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ (AC) ความเข้มข้น 0.3 mg/ml
 ในหลอดเลือดดำสายสะดือที่มีชั้น endothelial cell ก่อน และหลังได้รับ
 สารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ เมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย histamine(HS) 85
24. แสดงผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ (AC) ความเข้มข้น 0.3 mg/ml
 ในหลอดเลือดดำสายสะดือที่ไม่มีชั้น endothelial cell ก่อน และหลังได้รับ
 สารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ เมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ความเข้มข้นสูง 86
25. แสดงผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ (AC) ความเข้มข้น 0.3 mg/ml
 ในหลอดเลือดสายสะดือที่มีชั้น endothelial cell เมื่อได้รับสารยับยั้งการ
 สังเคราะห์ nitric oxide N⁰-nitro-L-arginine (NLA) ขนาด 3×10^{-5} mM
 เมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ขนาดสูง แบบสะสมความเข้มข้น 87
26. แสดงผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ (AC) ความเข้มข้น 0.3 mg/ml
 ในหลอดเลือดสายสะดือที่มีชั้น endothelial cell เมื่อได้รับสารยับยั้งการ
 สังเคราะห์ prostacyclin Indomethacin ขนาด 5×10^{-5} mM
 เมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ขนาดสูง แบบสะสมความเข้มข้น 88

27. แสดงผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ (AC) ความเข้มข้น 0.3 mg/ml ในหลอดเลือดสายสะดือที่มีชั้น endothelial cell เมื่อได้รับสารยับยั้ง N⁰-nitro-L-arginine (NLA) ขนาด 3x10⁻⁵ M และ Indomethacin ขนาด 5 x10⁻⁵ M เมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ขนาดสูง แบบผสม ความเข้มข้น89
28. แสดงผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ (AC) ความเข้มข้น 0.3 mg/ml ในหลอดเลือดสายสะดือที่มีชั้น endothelial cell เมื่อได้รับสารยับยั้ง TEA ขนาด 10⁻¹⁰ M เมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ขนาดสูง แบบผสม ความเข้มข้น90
29. แสดงผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ (AC) ความเข้มข้น 0.3 mg/ml ในหลอดเลือดสายสะดือที่มีชั้น endothelial cell เมื่อได้รับสาร N⁰-nitro-L-arginine (NLA) ขนาด 3x10⁻⁵ M Indomethacin ขนาด 5 x10⁻⁵ mM และ TEA ขนาด 10⁻¹⁰ M เมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ขนาดสูง แบบผสมความเข้มข้น91
- Indomethacin
30. แสดงผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ (AC) ความเข้มข้น 0.3 mg/ml ในหลอดเลือดสายสะดือที่มีชั้น endothelial cell เมื่อได้รับสารยับยั้ง HOE 140 ขนาด 10⁻⁸ M เมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ขนาดสูง แบบผสม ความเข้มข้น92
31. Rf value ของสารสกัดสีเสียดเหนื่อ โดยใช้ Ethly acetate : Chloroform : Acetic acid 7:2:1(v/v/v) เป็น solvent system (AC= สกัดจาก EtOH, ACW=สกัดจากน้ำ).....93
32. Rf value ของสารสกัดสีเสียดเหนื่อโดยใช้ Ethly acetate : Dichloromethane : Acetic acid 7:2:1 (v/v/v) เป็น solevent system (AC= สกัดจาก EtOH, ACW=สกัดจากน้ำ).....95

รูปภาพที่

หน้า

1. การพัฒนาสมุนไพรแบบครบวงจร.....	3
2. Multidisciplinary approach to drug development from medicinal plants.....	5
3. อวัยวะที่เกี่ยวข้อง ในการควบคุมความดันโลหิต	9
4. ระบบประสาทที่ควบคุมการไหลเวียนของเลือด.....	11
5. กลไกการหดตัว และคลายตัวของหลอดเลือด.....	14
6. กลไกการทำงานของ vasoconstrictors และ vasodilators.....	19
7. การเปลี่ยนแปลงของ bradykinin และ angiotensin II โดย angiotensin converting enzyme (ACE) ซึ่งพบบน endothelial cells.....	19
8. การเปลี่ยนแปลงของ angiotensinogen ได้เป็น angiotensin II และ การออกฤทธิ์ของ angiotensin II.....	22
9. ภาพตัดขวางของหลอดเลือดสายสะดือ.....	23
10. การไหลเวียนของเลือดจากมารดาสู่ทารก และทารกสู่มารดา.....	23
11. ลักษณะมหภาคของต้นสีเสียดเหนือ <i>Acacia catechu</i> (L.F.) Willd.....	26
12. Organ bath แบบ double walled Harvard type.....	30
13. การตัดส่วนของสายสะดือเพื่อนำมาทดลอง.....	33
14. จุลกายวิภาคของเนื้อเยื่อ (histology) ของหลอดเลือด ที่ย้อม H&E.....	38
15. จุลกายวิภาคของเนื้อเยื่อ (histology) ของหลอดเลือด ที่ย้อม CD 34.....	39
16. กราฟเปรียบเทียบการหดตัวของหลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์ที่มี และไม่มีชั้น Endothelial Cell เมื่อกระตุ้นด้วย KCl ขนาดสูง.....	40
17. เปรียบเทียบการหดตัวของหลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์ ที่มีชั้น endothelial cells เมื่อกระตุ้นด้วย KCl ความเข้มข้นสูง ก่อนและ หลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (<i>Acacia catechu</i> , AC) ความเข้มข้น 0.1 mg/ml.....	41
18. เปรียบเทียบการหดตัวของหลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์ ที่มีชั้น endothelial cells เมื่อกระตุ้นด้วย KCl ความเข้มข้นสูง ก่อนและ หลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (<i>Acacia catechu</i> , AC)	

รูปภาพที่	หน้า
ความเข้มข้น 0.2 mg/ml	43
19. เปรียบเทียบการหดตัวของหลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์ ที่มีชั้น endothelial cells เมื่อกระตุ้นด้วย KCl ความเข้มข้นสูง ก่อนและหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (<i>Acacia catechu</i> , AC)	
ความเข้มข้น 0.3 mg/ml	44
20. แสดงผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (AC)ความเข้มข้น 0.4 mg/ml ในหลอดเลือดสายสะดือ ที่มีชั้น endothelial cells ก่อน และหลัง ได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือเมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ขนาดสูง	46
21. แสดงผลของสารสกัดสีเสียดเหนือที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการยับยั้ง การหดตัวของหลอดเลือด เมื่อกระตุ้นด้วยสารมาตรฐาน KCl แบบสะสมความเข้มข้น	47
22. แสดงผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือ(AC)ความเข้มข้น 0.1 mg/ml ในหลอดเลือดสายสะดือ ที่มีชั้น endothelial cells ก่อน และหลัง ได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ เมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย histamine	48
23. แสดงผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (AC) ความเข้มข้น 0.2 mg/ml ในหลอดเลือดสายสะดือ ที่มีชั้น endothelial cells ก่อน และหลังได้ รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ เมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย histamine (HS).....	50
24. แสดงผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (AC) ความเข้มข้น 0.3 mg/ml ในหลอดเลือดสายสะดือ ที่มีชั้น endothelial cells ก่อน และหลังได้รับ สารสกัดจากสีเสียดเหนือ เมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย Histamine (HS).....	51
25. แสดงผลของสารสกัดจากสีเสียด(AC)เหนือความเข้มข้น 0.3 mg/ml ในหลอดเลือดสายสะดือที่ ไม่มีชั้น endothelial cells ก่อน และหลังได้ รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ เมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ขนาดสูง	53
26. แสดงผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (AC) ความเข้มข้น 0.3 mg/ml ในหลอดเลือดสายสะดือที่ ไม่มีชั้น endothelial cells ก่อน และหลัง ได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ เมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย histamine (HS).....	55

รูปภาพที่

หน้า

27. แสดงผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือ(AC)ความเข้มข้น 0.3 mg/ml
ในหลอดเลือดสายสะดือที่มีชั้น endothelial cells เมื่อได้รับสารยับยั้ง
การสังเคราะห์ nitric oxide N^G-nitro-L-arginine (NLA) ขนาด 3×10^{-5} mM
และกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ขนาดสูง แบบสะสมความเข้มข้น.....57
28. แสดงผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือความเข้มข้น 0.3 mg/ml
ในหลอดเลือดสายสะดือที่มีชั้น endothelial cells เมื่อได้รับ
Indo ขนาด 5×10^{-5} M และกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ขนาดสูง
แบบสะสมความเข้มข้น.....59
29. แสดงผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (AC) ความเข้มข้น 0.3 mg/ml
ในหลอดเลือดสายสะดือที่มีชั้น endothelial cells เมื่อได้รับ
N^G-nitro-L-arginine (NLA) ความเข้มข้น 3×10^{-5} M Indo ขนาด 5×10^{-5} M
และกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ขนาดสูง แบบสะสมความเข้มข้น.....61
30. แสดงผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (AC) ความเข้มข้น 0.3 mg/ml
ในหลอดเลือดสายสะดือที่มีชั้น endothelial cells เมื่อได้รับ
tetracethylammonium chloride (TEA) ความเข้มข้น 10^{-10} M
และกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ขนาดสูง แบบสะสมความเข้มข้น.....63
31. แสดงผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (AC) ความเข้มข้น 0.3 mg/ml
ในหลอดเลือดสายสะดือที่มีชั้น endothelial cells เมื่อได้รับ NLA
ความเข้มข้น 3×10^{-5} M Indo ขนาด 5×10^{-5} M และ TEA
ความเข้มข้น 10^{-10} M และกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ขนาดสูง
แบบสะสมความเข้มข้น.....65
32. แสดงผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (AC) ความเข้มข้น 0.3 mg/ml
ในหลอดเลือดสายสะดือที่มีชั้น Endothelial Cell เมื่อได้รับ Icatibent
(HOE 140) ความเข้มข้น 10^{-8} M และกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ขนาดสูง
แบบสะสมความเข้มข้น.....67

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

AC	<i>Acacia catechu.L</i>
ACE	Angiotensin converting enzyme
CGMP	cyclic 3',5'-guanosine monophosphate
EC	Endothelial cell
EDCFs	Endothelium derived contracting factors
EDHF	Endothelium derived hyperpolarizing factor
EETs	Epoxyeicosatrienoic acid
GTP	Guanosine triphosphate binding protein
HOE140	Icatibent
HUVEC	Human Umbilical Vein Endothelial cell
Indo	Indomethacin
IP ₃	Inositol triphosphate
KCl	Potassium chloride
KHS	Kreb's Henseleit Solution
MLCK	Myosin Light Chian Kinase
NLA	N ^ω -Nitro-L-arginine
NOS	Nitric oxide syntase
PDGF	Platelet-derived growth factor
PKA	Protein Kinase A
PKG	Protein Kinase G
POCs	Potential-Operated channels
RER	Rough Endoplasmic Reticulum
ROCs	Receptor-Operated channels
SER	Smooth Endoplasmic Reticulum
TEA	Tetracethylammonium chloride
TXA ₂	Thromboxane A ₂
VOCs	Voltage-Gate Calcium channels

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

สังคมไทยสมัยดั้งเดิม เมื่อเกิดการเจ็บป่วยก็จะอาศัยสมุนไพร และพิธีกรรมทางไสยศาสตร์แก้ปัญหา ความรู้และประสบการณ์การรักษาโรคที่เกิดขึ้น เกิดจากกระบวนการทางวัฒนธรรม โดยวิธีการบอกเล่าหรือการบันทึก เพื่อช่วยในการจดจำ ซึ่งการถ่ายทอดลักษณะนี้มีโอกาสที่ทำให้เกิดความผิดพลาดขึ้นได้ จนกระทั่งแนวความคิดแบบวิทยาศาสตร์เข้ามาสู่สังคมไทยในยุคสมัยรัตนโกสินทร์ตอนกลาง ซึ่งแนวความคิดแบบวิทยาศาสตร์นี้จะให้ความสำคัญกับการแสวงหาคำอธิบายอันถูกต้อง เกี่ยวกับสภาพความเป็นจริงทางกายภาพ โดยการค้นหา ทดลอง ศึกษาวิจัยตามวิธีทางวิทยาศาสตร์ (Scientific Method) จากการถ่ายทอดความรู้แบบการบอกเล่าจึงกลายเป็นวิธีการที่ไม่แน่นอน การแก้ปัญหาความเจ็บป่วยของสังคมไทย ดังนั้นจึงได้เปลี่ยนจากวิธีการเยียวยารักษาแบบเดิมที่ใช้สมุนไพร เวทย์มนต์คาถา การนวด การอบสมุนไพร กลายเป็นวิธีการรักษาแบบการแพทย์แผนปัจจุบัน ซึ่งมีข้อมูลทางวิทยาศาสตร์เป็นพื้นฐาน และต่อมากลุ่มวิชาชีพผู้ประกอบโรคศิลปะก็มีความเชื่อว่าการแพทย์แผนปัจจุบันได้ให้ผลการรักษาเป็นที่น่าพอใจ ประกอบกับการเก็บรักษาทำได้ง่าย และรูปแบบของยาสะดวกต่อการใช้ ดังนั้นประชาชนไทยจึงหันมานิยมการป้องกันและการบำบัดรักษาโรคด้วยวิธีการแพทย์แผนปัจจุบันมากขึ้น

ในต่างประเทศเมื่อการแพทย์แผนปัจจุบันได้เจริญมากขึ้นก็ได้มีการค้นพบโรคใหม่ๆ ขึ้นหลายโรค พร้อมนี้ได้หายาใหม่มารักษา โดยมีการพัฒนายาจากสารเคมีที่เป็นอนินทรีย์สารต่างๆ แต่ครั้งเมื่อค้นคว้าหายาจากสารเคมีจากอนินทรีย์สารไม่ได้ จึงเกิดมีความคิดว่าจะกลับได้กลับไปค้นคว้าหายารักษาโรคจากธรรมชาติอีกครั้งหนึ่ง ดังนั้น สมุนไพรจึงกลับมามีบทบาทสำคัญในวงการแพทย์ ในประเทศไทยเริ่มหันมาสนใจสมุนไพร และการแพทย์แผนไทย นานกว่าหนึ่งทศวรรษที่ผ่านมา โดยได้รับอิทธิพลมาจากการตื่นตัวของประเทศตะวันตก และองค์การอนามัยโลก ซึ่งเน้นบทบาทของหมอพื้นบ้าน และหมอแผนโบราณ รวมทั้งนำสมุนไพรมาใช้ในการสาธารณสุขมูลฐาน รัฐบาลโดยกระทรวงสาธารณสุขได้เล็งเห็นความสำคัญของพืชเครื่องเทศ และพืชสมุนไพร ว่ามีความจำเป็นที่จะต้องมีการกระตุ้น และส่งเสริมประชาชน ได้ตระหนักถึงความสำคัญ ดังนั้น รัฐบาลจึงได้แถลงนโยบายสาธารณสุขมูลฐานไว้ในแผนพัฒนาเศรษฐกิจ และสังคมแห่งชาติฉบับที่ 5 โดยรัฐบาลสนับสนุนให้มีการปลูกพืชสมุนไพร และใช้สมุนไพรตลอดจนส่งเสริมให้มีการใช้ยาสมุนไพรที่เหมาะสม มีการค้นคว้าวิจัยการใช้สมุนไพรในการรักษาโรคให้กว้างขวาง

ขึ้น ในแผนพัฒนาเศรษฐกิจ และสังคมแห่งชาติฉบับที่ 6 รัฐบาลได้กำหนดนโยบายในการพัฒนาพืชสมุนไพรให้เป็นระบบมากขึ้น

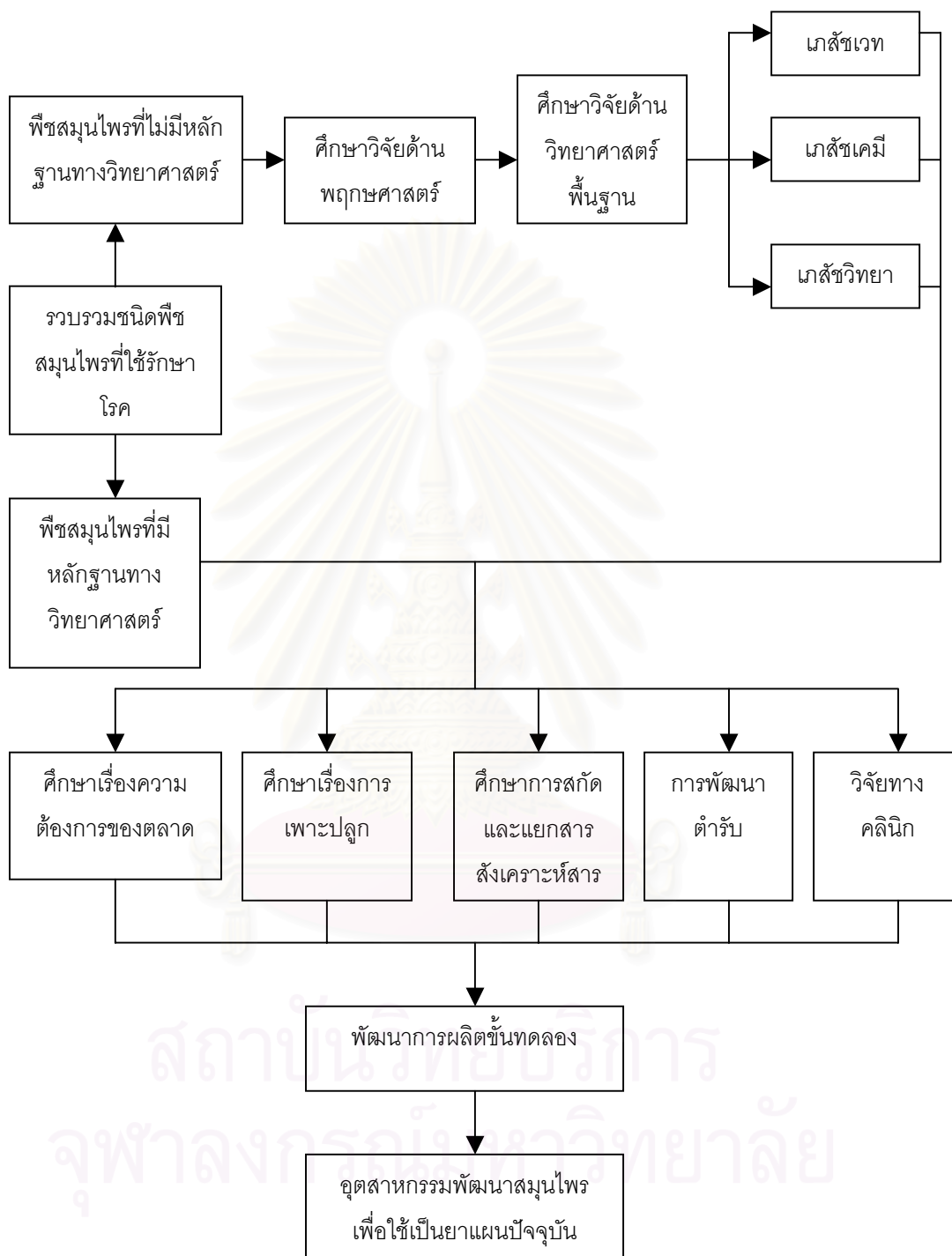
ดังนั้นทางสำนักงานคณะกรรมการพัฒนาการเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติจึงได้พิจารณาแนวทางในการนำสมุนไพร ซึ่งเป็นทรัพยากรที่มีอยู่ภายในประเทศมาใช้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยได้เสนอให้มีการกำหนดนโยบายเป็น 4 แนวทาง¹ คือ

1. การพัฒนาสมุนไพรเพื่อใช้ในด้านสาธารณสุขมูลฐาน โดยมีการวางแผนงานพัฒนาแต่ไม่ชัดเจนมากนักในแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ ฉบับที่ 5-ฉบับที่ 6 ในโครงการ “สมุนไพรกับการสาธารณสุขมูลฐาน”
2. การพัฒนาสมุนไพรเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมยาแผนโบราณ และยาแผนปัจจุบัน โดยเน้นกิจกรรมด้านการศึกษาวิจัยสมุนไพรเดี่ยว แต่อย่างไรก็ตามการศึกษาวิจัยสมุนไพรเดี่ยวมีปัญหาอุปสรรคที่ต่อเนื่องมาตั้งแต่อดีตถึงปัจจุบัน คือ ขาดการประสานงานกัน เพื่อให้การวิจัยครบวงจร และนำผลการวิจัยมาใช้ประโยชน์ในการพัฒนาให้ได้อย่างชัดเจน
3. การพัฒนาสมุนไพรเพื่อเป็นยู่ทธปัจจัย
4. การพัฒนาสมุนไพรเพื่อการส่งออก

นโยบายการพัฒนาสมุนไพรเพื่อเป็นยู่ทธปัจจัย และการพัฒนาสมุนไพรเพื่อการส่งออก ยังมีได้มีการกำหนดแผนงาน/โครงการ และมอบหมายหน่วยงานใดให้รับผิดชอบอย่างชัดเจน

แนวทางในการศึกษาวิจัยสมุนไพรแบ่งออกเป็น 2 แนวทาง ได้แก่ การศึกษาวิจัยเพื่อพัฒนาสมุนไพรเป็นยาไทย (ยาแผนโบราณ) และการศึกษาวิจัยสมุนไพรเพื่อพัฒนาเป็นยาแผนปัจจุบัน โดยการศึกษาวิจัยนี้จะเป็นการนำสมุนไพรมาใช้เป็นยาที่ได้มาตรฐาน โดยผ่านการค้นคว้าวิจัยแบบครบวงจร คือ ศึกษาวิจัยเพื่อให้ทราบคุณสมบัติทางชีวภาพและกายภาพของสารเคมีที่ออกฤทธิ์ ศึกษาด้านเภสัชวิทยา พิษวิทยา เภสัชจลนศาสตร์ การพัฒนาตำรับยาทางเภสัชกรรม และการศึกษาทางคลินิก จากนั้นจึงนำข้อมูลการวิจัยที่ได้จากการศึกษาวิจัยทุกขั้นตอนอย่างครบถ้วน ทั้งระยะก่อนคลินิก และระยะคลินิก มาสนับสนุนให้ได้มาซึ่งยาแผนปัจจุบันที่มีประสิทธิภาพ ความปลอดภัย และมีคุณค่าต่อการแก้ปัญหาการเจ็บป่วยต่อไป ดังแสดงในแผนภูมิวงจรการพัฒนางานวิจัยสมุนไพรเพื่อการพัฒนาเป็นยาแผนปัจจุบันแบบครบวงจร (รูปที่ 1)

รูปที่ 1 แสดงการพัฒนาสมุนไพรแบบครบวงจร²



ที่มา: แผนพัฒนาสมุนไพรในแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ ฉบับที่ 6 (2530-2534)
คณะกรรมการจัดทำแผนงานสมุนไพรแห่งชาติ ในคณะกรรมการแห่งชาติทางยาสมุนไพร

ปัจจัยที่สำคัญมากที่สุดประการหนึ่งที่จะบอกถึงประสิทธิผลในการรักษาโรคของยาสมุนไพร คือ ปริมาณสารสำคัญในสมุนไพร ดังนั้นการได้รับสมุนไพรที่มีสายพันธุ์ไม่ตรงกัน จากท้องถิ่นต่างกัน จากสภาพดินฟ้าอากาศ ภูมิประเทศ ฤดูกาล วิธีการเพาะปลูก วิธีการเก็บเกี่ยวที่แตกต่างกัน อาจมีปริมาณสารสำคัญไม่เท่ากันและอาจทำให้การวัดประสิทธิผล (efficacy) และความปลอดภัย (safety) ของยาสมุนไพรได้ผลแตกต่างกันออกไป ดังนั้นในการนำสมุนไพรเพื่อนำมาพัฒนาเป็นยานั้นจะต้องมีขั้นตอนการพัฒนาจากสมุนไพรตามแนวทางขององค์การอนามัยโลก ซึ่งหลักการขององค์การอนามัยโลกนี้ จะแบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอน ได้แก่ การนำเอาพืชสมุนไพรมาพัฒนาเพื่อเป็นยา และ การพัฒนายาเตรียมจากพืชสมุนไพร ซึ่งยาเตรียมที่พัฒนามาจากพืชสมุนไพรนี้จะมักอยู่ในรูปของ ยาผง (powders, granules), ยาลูกกลอน (pills), ยาเม็ด (tablets), ยาฉีด (injection) โดยที่ยาผง และยาลูกกลอน จะเตรียมมาจากส่วนของพืชที่ทำเป็นผง นอกจากนี้ ยาเม็ด, ยาผง, ยาลูกกลอน และยาฉีดอาจเตรียมจากสารสกัด ส่วนยาฉีดจะได้มาจากการแยกสารบริสุทธิ์จากสารสกัด ซึ่งเป็นสารสำคัญเสียก่อน ในที่นี้จะขอกล่าวเฉพาะการพัฒนาเตรียมจากพืชสมุนไพร ดังแสดงในแผนภูมิที่ 2 โดยใช้หลักเกณฑ์ขององค์การอนามัยโลก³ ดังนี้

1. การเตรียมยาเตรียมที่มาจากพืชสมุนไพร ตามหลักการของ WHO ได้แก่

■ ชื่อ และ สูตรของยาเตรียม

ก. จะต้องทราบถึง ชื่อทางวิทยาศาสตร์ ซึ่งเป็นภาษาละติน โดยบอกถึงวงศ์ (family) และสกุล (genus species) ของพืชนั้น นอกจากนั้นยังมีชื่อท้องถิ่น ชื่อพ้องทั้งภาษาท้องถิ่น และภาษาอังกฤษ

ข. สูตรตำรับประกอบด้วยชื่อตัวยา และปริมาณที่ใช้สำหรับเตรียมยา 1000 กรัม หรือ 1000 มิลลิลิตร อาจบอกปริมาณสารสำคัญที่วิเคราะห์เป็นพิสัย (range) สารที่เติมเป็น excipient

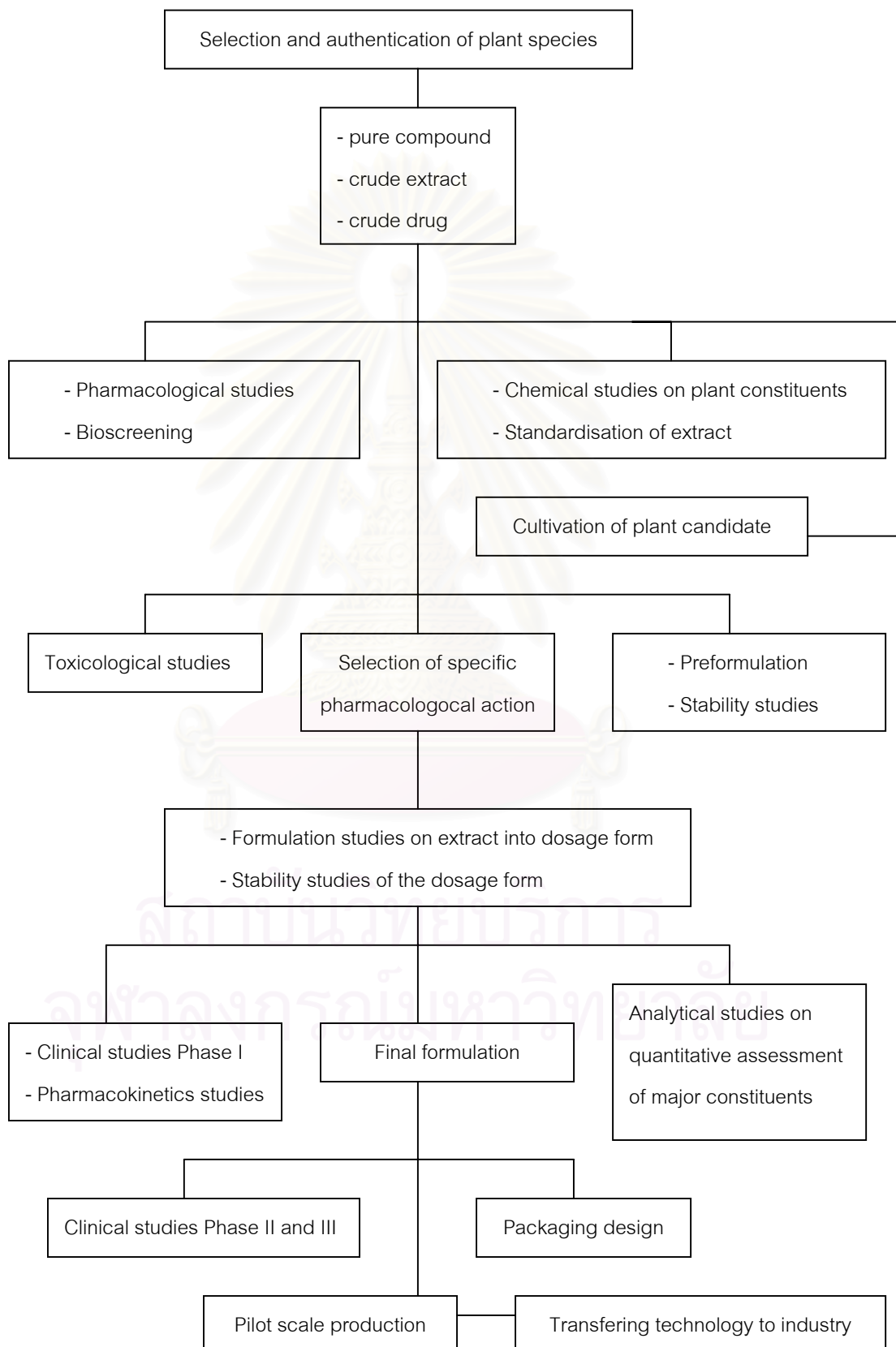
ค. ทราบถึงวิธีการเตรียมสารสกัดหยาบหรือสารสกัดถึงบริสุทธิ์ (fraction) โดยต้องทราบรายละเอียด และขั้นตอนขบวนการเตรียม ได้แก่ ตัวทำละลาย (solvent) ที่ใช้ในการสกัด ระยะเวลา คุณภูมิของการทำให้สิ่งสกัดแห้ง นอกจากนั้นยังต้องทราบถึงขบวนการป้องกันการปนเปื้อนสารจุลินทรีย์ต่างๆ

■ คุณสมบัติเฉพาะตัวของพืชที่นำมาพัฒนายาเตรียม

ก. สามารถบอกถึงลักษณะทาง macroscopic ของพืช คุณสมบัติทางด้านฟิสิกส์ และด้านเคมี ต้องมีข้อบ่งชี้หรือประสิทธิผลที่สามารถทดสอบได้ มีการแสดงรูปแบบขององค์ประกอบโดย การทำ “finger-print”

ข. ต้องมีข้อกำหนดถึงปริมาณสารปนเปื้อน เพื่อกำหนดถึงความบริสุทธิ์ของสาร

รูปที่ 2 แสดงสหวิทยาการที่เกี่ยวข้องในการพัฒนายาจากพืชสมุนไพร (Multidisciplinary approach to drug development from medicinal plants)⁴



สกัดนั้นๆ

2. มีการศึกษาถึงคุณสมบัติทางด้านเภสัชจลนศาสตร์ และด้านเภสัชวิทยาของสารสกัดหยาบ หรือ สารสกัดกึ่งบริสุทธิ์ (fraction) ที่ได้จากพืชสมุนไพรนั้นๆ โดยมีหลักเกณฑ์ ดังนี้

การคัดกรอง (screening) คุณสมบัติทางเภสัชวิทยาของสารสกัดที่ต้องการทดสอบ เพื่อพัฒนาเป็นยาโดยวิธีการทดลองทั้งการศึกษาแบบ in vitro และ in vivo เพื่อหาว่าสารสกัดดังกล่าวมีฤทธิ์ที่แสดงสรรพคุณในการรักษา (efficacy) หรือไม่หากมีฤทธิ์ที่ต้องการจะทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ และศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาต่อระบบต่างๆ ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ซึ่งเป็นการศึกษาระยะก่อนคลินิก (Pre-clinical studies) ทั้งนี้จะทำการศึกษาเกี่ยวกับการดูดซึม การกระจาย การเปลี่ยนแปลง และการขับถ่าย หรือเภสัชจลนศาสตร์ของสารสกัดในสัตว์ทดลองด้วย โดยจะต้องหาสารที่จะใช้เป็น marker เพื่อตรวจหาปริมาณในเลือด ตัว marker นี้อาจไม่ใช่ตัวยาลำคัญก็ได้ แต่เป็นส่วนประกอบในสารสกัดนั้นที่สัมพันธ์กับฤทธิ์ และสามารถตรวจสอบได้

3. การทดสอบความเป็นพิษ ตั้งแต่พิษเฉียบพลัน (acute toxicity) พิษกึ่งเฉียบพลัน จนถึงความเป็นพิษหรือการเกิดผลเสียในระยะยาว (subacute, chronic toxicity) วิธีการมาตรฐานในขั้นตอนนี้จะต้องผ่านสัตว์ทดลองอย่างน้อย 2 ชนิด และใช้วิธีการให้ยา 2 วิธี จากผลการทดสอบในระยะก่อนคลินิกนี้สามารถนำไป ยืนยันด้านประสิทธิผลและความปลอดภัยเพื่อขออนุญาตจากสำนักงานคณะกรรมการอาหาร และยา ทำการทดลองในคนได้

4. การทดลองในคนและหรือทดสอบผลในผู้ป่วย (clinical trials) ซึ่งมี 4 ขั้นตอน (Phase)

Phase I (Pre-therapeutic) เป็นการทดลองในอาสาสมัครปกติหรือผู้ป่วยจำนวนน้อยๆ เพื่อทดสอบผลว่าสารสกัดหยาบ หรือสารสกัดกึ่งบริสุทธิ์ ชนิดนั้นๆ มีการดูดซึม การกระจายอย่างไร ในร่างกายมนุษย์ ควรจะใช้ขนาดยาเท่าใด จึงจะได้ระดับยาที่ควรจะได้ผลทั้งนี้จะมีสารประกอบที่รู้โครงสร้างทางเคมีเป็น marker สำหรับตรวจใน phase นี้จะได้ข้อมูลด้านอาการไม่พึงประสงค์ของสารทดสอบด้วย

Phase II (Therapeutic) มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของยาในผู้ป่วยจำนวนหนึ่ง ซึ่งจะสามารถประเมินผลทางสถิติได้ โดยมีกลุ่มควบคุมเพื่อเปรียบเทียบอย่างเหมาะสม นอกจากนั้นมีการหาขนาดของยา และได้ข้อมูล ด้านความปลอดภัยต่อผู้ป่วยด้วย

Phase III (Evaluation) เป็นการประเมินประสิทธิภาพและความปลอดภัยของยาในผู้ป่วยจำนวนมาก และเป็นเวลานานพอควร ขั้นตอนนี้มักจะเป็นการวิจัยในโรงพยาบาลใหญ่ๆ หรือในโรงพยาบาลหลายแห่ง ต้องใช้ทรัพยากรมาก จากสารเคมีสิบลกว่าตัวที่ผ่านข้อ 3 มา เมื่อผ่าน

Phase นี้อาจจะเหลือเพียง 1 ตัวเท่านั้น ผู้วิจัยและพัฒนาสามารถใช้หลักฐานที่กล่าวมาแล้วทั้งหมด ไปขอจดทะเบียนยาเพื่อผลิตจำหน่ายได้

Phase IV (Post-marketing surveillance) เป็นการติดตามผลในผู้ใช้งานจำนวนมาก ภายหลังจากการจำหน่ายในท้องตลาดแล้ว เพื่อดูว่าเมื่อใช้ในผู้ป่วยจำนวนมากแล้ว จะพบผลเสียที่อาจมีอุบัติการณ์น้อยและไม่พบในการทดลองขั้นก่อนนี้หรือไม่

การเลือกสีเสียดเหนือมาศึกษาในครั้งนี้ ได้คำนึงถึงผลที่เป็นไปได้ของสมุนไพร ได้แก่ มีข้อมูลการใช้ในตำรายาไทย หรือหมอพื้นบ้านมาแต่โบราณ หรือเป็นพืชในตระกูลที่มีสารสำคัญบ่งชี้ว่ามีฤทธิ์ที่ต้องการศึกษาเป็นพืชที่หาได้ในท้องถิ่น และคุ้มค่าต่อการศึกษา และที่สำคัญที่สุดคือ วิทยาการศึกษาวิจัยสามารถทำได้ ในการศึกษานี้ได้ศึกษาเพื่อหาฤทธิ์ขยายหลอดเลือดในพืชสีเสียดเหนือ (*Acacia catechu.L.*) ซึ่งอาจนำไปใช้เป็นยาลดความดันโลหิต (antihypertensive)

จากการสำรวจข้อมูลของกระทรวงสาธารณสุข⁵ ตามบัญชีตำรายาพื้นฐาน จากบัญชีจำแนกโรคระหว่างประเทศแก้ไขครั้งที่ 10 แสดงอัตราตายตามเพศและสาเหตุการตายต่อประชากร 100,000 คน พ.ศ. 2541 พบว่า จำนวนประชากรตายด้วยโรคความดันโลหิตสูง เท่ากับ 3.4 คน และโรคหัวใจอื่นๆ เท่ากับ 61.2 คน และจากการศึกษาพบว่า สมุนไพรที่มีฤทธิ์ลดความดันโลหิตมีจำนวนไม่น้อย แต่ยังไม่สามารถพัฒนาเป็นยาแผนปัจจุบันได้ ทั้งนี้เนื่องจากฤทธิ์ไม่เพียงพอในการลดความดันโลหิต การศึกษายังไม่สมบูรณ์และครบถ้วนจึงสมควรทำการศึกษาพืชที่มีข้อมูลเบื้องต้นสนับสนุนว่ามีฤทธิ์ในการลดความดันโลหิตได้ นำมาศึกษาหากลไกในการออกฤทธิ์ โดยการศึกษาในครั้งนี้ได้คัดเลือกสีเสียดเหนือ (*Acacia catechu.L.*) มาศึกษาเพื่อยืนยันประสิทธิภาพในการขยายหลอดเลือด ซึ่งจะเป็นข้อมูลสนับสนุนให้ดำเนินการวิจัยตามแนวทางการพัฒนายาจากสมุนไพรของ WHO ต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาฤทธิ์ขยายหลอดเลือด และกลไกการออกฤทธิ์ของสารสกัดสีเสียดเหนือ

ขอบเขตของการวิจัย

ศึกษาผลของสารสกัดสีเสียดเหนือ ต่อการหดตัว และการคลายตัวของหลอดเลือดดำที่แยกจากสายสะดือมนุษย์ในหลอดทดลอง

ปัญหาทางจริยธรรม

ไม่มีปัญหาทางด้านจริยธรรมเนื่องจากการศึกษานี้จะไม่มีผลกระทบต่อมารดาหรือทารก ทั้งด้านความเสี่ยง และประโยชน์ อย่างไรก็ตามในการศึกษาต้องผ่านการพิจารณาอนุมัติจากคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยของคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และขออนุญาตจากผู้อำนวยการโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ในการเก็บสายสะดือก่อน

ปัญหา อุปสรรคในการวิจัยและแนวทางในการแก้ไข

อาจพบปัญหาการเก็บสายสะดือจากห้องคลอดไม่ได้ตามวิธีการที่กำหนด และเก็บไม่ได้ตามจำนวนที่ต้องการ แนวทางแก้ไขโดยการขอความร่วมมือผ่านหัวหน้าภาควิชาสูติศาสตร์ฯ และอธิบายให้เจ้าหน้าที่ห้องคลอดเข้าใจในวิธีการเก็บ พร้อมทั้งแนบเอกสารอธิบายวิธีการเก็บสายสะดือให้แก่เจ้าหน้าที่ห้องคลอดทราบ และก่อนการทำการทดลอง 1 วัน เตรียมสารละลาย Kreb's Henseleit solution นำไปไว้ที่ห้องคลอดเพื่อให้เจ้าหน้าที่สามารถเก็บสายสะดือได้ทันที

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้ข้อมูลยืนยันการออกฤทธิ์ของสารสกัดจากสีเสียดเหนือ เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาการนำสารสกัดสีเสียดเหนือมาใช้เป็นยาต่อไป

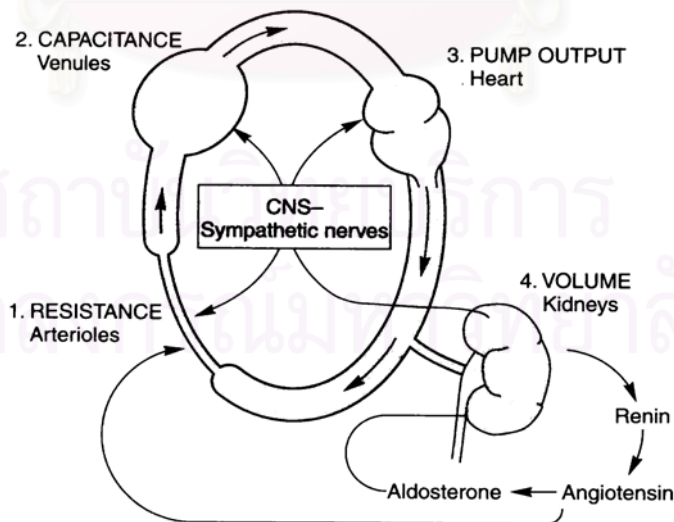
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

แนวคิดและทฤษฎี การควบคุมความดันโลหิต

ในสภาวะปกติความดันโลหิตจะถูกควบคุมให้อยู่ในช่วงที่คงที่ เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงสรีระวิทยา ทั้งทางร่างกายและจิตใจ เช่น การเปลี่ยนแปลงท่าทาง อิริยาบถ ขณะออกกำลังกาย การเปลี่ยนแปลงด้านอารมณ์ เช่น การโกรธ เสียใจ ตกใจ เป็นต้น ความดันโลหิตเปลี่ยนแปลงตามปริมาณเลือดในหลอดเลือด และแรงต้านในหลอดเลือดแดง การควบคุมในระบบไหลเวียนเลือด อาศัยการทำงานร่วมกันระหว่างศูนย์ควบคุม

(cardiovascular control center), ตัวรับรู้การเปลี่ยนแปลงในระบบไหลเวียน (cardiovascular sensor หรือ receptor), และอวัยวะสำแดงผล (effectors) ซึ่ง ได้แก่ หัวใจ หลอดเลือด นอกจากนี้ยังมีอวัยวะสำคัญอื่นๆ ที่มีบทบาทในการควบคุมความดันเลือด ได้แก่ ไต ซึ่งควบคุมสมดุลของเกลือแร่และน้ำในร่างกาย มีผลต่อการควบคุมสารน้ำ และปริมาณเลือดซึ่งมีผลต่อความดันโลหิต ดังแสดงในภาพที่ 3 และจะได้กล่าวต่อไป



รูปที่ 3 อวัยวะที่เกี่ยวข้องในการควบคุมความดันโลหิต⁶

ศูนย์ควบคุมในระบบไหลเวียนเลือด⁷

ประกอบด้วยกลุ่มเซลล์ประสาทในสมองและไขสันหลัง รับสัญญาณประสาทจากตัวรับรู้ในบริเวณต่างๆ ของร่างกาย และส่งสัญญาณออกไปยังศูนย์อื่น หรือไปอวัยวะสำคัญ ผล ศูนย์ควบคุมเหล่านี้ได้แก่ ศูนย์ควบคุมใน medulla oblongata, hypothalamus, cerebral cortex และไขสันหลัง

1. **ศูนย์ควบคุมใน medulla** ทำหน้าที่เป็นศูนย์ควบคุมการไหลเวียนเลือดในร่างกาย หรือเรียกว่า vasomotor center ศูนย์นี้จะแบ่งออกเป็น 2 บริเวณใหญ่ ได้แก่ pressor area และ depressor area

1.1. Pressor area จะประกอบด้วย ศูนย์ที่ทำให้หลอดเลือดหดตัว (vasoconstrictor center) และศูนย์เร่งการทำงานของหัวใจ (cardiostimulator center)

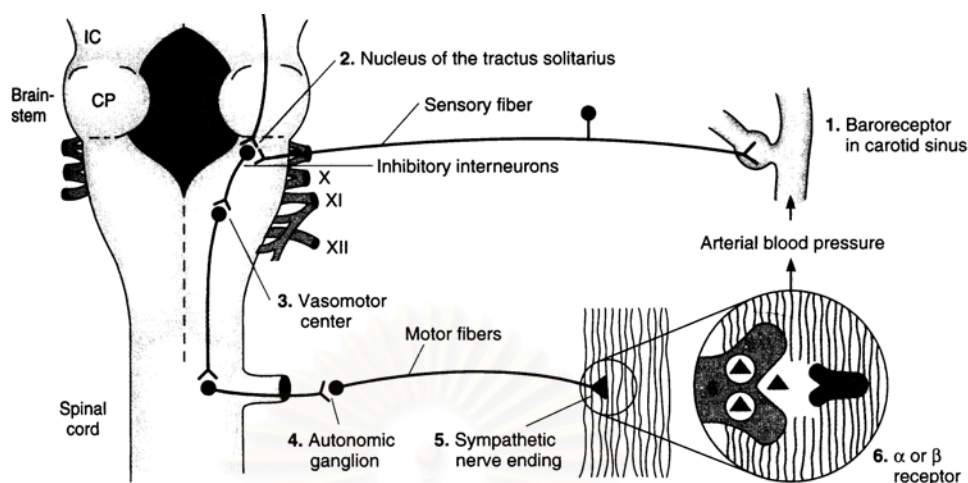
1.2. Depressor area ประกอบด้วยศูนย์ย่อย 2 ศูนย์ คือศูนย์ลดการหดตัวของหลอดเลือด (vasodepressor center) ศูนย์ลดการทำงานของหัวใจ (cardioinhibitor center)

ศูนย์ควบคุมใน medulla จะรับคลื่นสัญญาณประสาทจากส่วนต่างๆ ของร่างกายแล้วรวบรวม ประเมินผล และส่งข้อมูลออกไปยังอวัยวะสำคัญ เพื่อควบคุมความดันเลือดแดงให้อยู่ในระดับคงที่ โดยปรับการทำงานของหัวใจ (อัตราการเต้นและแรงบีบตัว) และขนาดรัศมีของหลอดเลือดเพื่อให้ อวัยวะต่างๆ ของร่างกายได้รับเลือดพอเพียงตลอดเวลา

2. **ศูนย์ควบคุมใน hypothalamus** ซึ่งเป็นศูนย์ควบคุมการทำงานของระบบประสาทอัตโนมัติทั่วไปในร่างกาย สามารถเปลี่ยนแปลงการทำงานของเซลล์ประสาทที่อยู่ต่ำกว่า เช่น อาจไปกระตุ้น หรือยับยั้งการทำงานของ vasomotor center ได้

3. **ศูนย์ควบคุมใน cerebral cortex** ในบริเวณ cerebral cortex สามารถส่งคลื่นประสาทไปกระตุ้น หรือยับยั้งการทำงานของ vasomotor center โดยมีผลต่อระบบประสาท sympathetic ที่ควบคุมการหดตัวของหลอดเลือดของร่างกาย เช่น ทำให้หลอดเลือดหดตัวมากขึ้น หรือยับยั้งการหดตัว นอกจากนี้ยังมีผลต่อเส้นประสาท sympathetic vasodilator ที่ไปกล้ามเนื้อคลาย ทำให้หลอดเลือดของกล้ามเนื้อคลายขยาย มีผลทำให้เลือดไหลไปสู่กล้ามเนื้อได้มากขึ้น

4. **ศูนย์ควบคุมในไขสันหลัง** ในสภาวะปกติ ศูนย์ควบคุมในไขสันหลังไม่ค่อยมีบทบาทต่อการควบคุมในระบบไหลเวียนเลือด



รูปที่ 4 ระบบประสาทที่ควบคุมการไหลเวียนของเลือด⁶

การหดตัว และการขยายตัวของหลอดเลือด จะเกิดจากกลไกการควบคุมขนาดของหลอดเลือดในร่างกาย ประกอบไปด้วย 2 กลไก คือ

1. Central control

เป็นกลไกที่เกิดขึ้นกับหลอดเลือดทั่วไปในร่างกาย ไม่จำเพาะเจาะจงอวัยวะใดอวัยวะหนึ่ง การควบคุมเกิดขึ้นโดยผ่านทางเส้นประสาท และสารเคมีในหลอดเลือด ได้แก่

ก. Sympathetic vasoconstrictor fibers

เมื่อสัญญาณประสาทถูกส่งไปตามใยประสาทนี้ จะมีผลทำให้กล้ามเนื้อเรียบในผนังหลอดเลือดต่างๆ โดยเฉพาะ arteries เส้นเล็กๆ และ arterioles หดตัว การหดตัวจะมากหรือน้อยขึ้นกับความถี่ของคลื่นประสาทในใยประสาทนี้ ซึ่งในหลอดเลือดแดงในส่วนต่างๆ ของร่างกายจะได้รับใยประสาทนี้จำนวนมากน้อยแตกต่างกัน

ข. Sympathetic vasodilator fiber

ใยประสาทชนิดนี้จะถูกส่งไปยังหลอดเลือดในกล้ามเนื้อลาย และอวัยวะเพศ เมื่อกระตุ้นใยประสาทนี้จะทำให้หลอดเลือดนี้ขยาย ทำให้เลือดไหลไปสู่อวัยวะเหล่านั้นได้มากขึ้น

ค. Parasympathetic vasodilator action

ใยประสาท parasympathetic ไปเลี้ยงหลอดเลือดน้อยมาก และพบเพียงบางอวัยวะเท่านั้น โดยเฉพาะอวัยวะช่องท้อง และจะไม่พบที่หลอดเลือดบริเวณผิวหนัง ดังนั้นประสาท parasympathetic จึงมีอิทธิพลต่อการหดตัว และการขยายตัวของหลอดเลือดน้อยมาก

การขยายตัวของหลอดเลือด เมื่อกระตุ้นโดยประสาท parasympathetic ที่ไปเลี้ยงต่อมมีท่อต่างๆ มีผลทำให้ต่อมเหล่านี้ทำงานมากขึ้น ทำให้ต่อมปล่อยเอ็นไซม์ออกมา เมื่อเข้าทำปฏิกิริยากับโปรตีน globulin ในพลาสมา หรือเนื้อเยื่อจะได้สาร bradykinin ซึ่งมีฤทธิ์ทำให้หลอดเลือดขยายตัว

2. กลไกผ่านทางสารเคมี

- Epinephrine และ norepinephrine สารทั้งสองเป็นฮอริโมนที่สร้างจากชั้นในของต่อมหมวกไต (adrenal medulla) ซึ่งส่วนใหญ่จะให้ epinephrine การหลั่งฮอริโมนทั้งสองนี้ขึ้นอยู่กับการกระตุ้น sympathetic preganglionic fiber ที่มายังต่อมหมวกไต สำหรับ norepinephrine ยังพบได้ที่ปลายประสาทของใยประสาท sympathetic vasoconstrictor ที่ไปยังหลอดเลือดต่างๆ โดยทั่วไปแล้วฮอริโมนทั้งสองนี้มีผลต่อหลอดเลือดคล้ายกัน คือ ทำให้หลอดเลือดของอวัยวะต่างๆ หดตัว และยังมีผลกระตุ้นการทำงานของหัวใจ แต่สำหรับหลอดเลือดแดงกล้ามเนื้อลายหดตัวโดย norepinephrine แต่อาจหดตัวหรือขยายตัวโดย epinephrine ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารนี้ในหลอดเลือด หากความเข้มข้นต่ำ หลอดเลือดจะขยายแต่หากความเข้มข้นสูงขึ้นหลอดเลือดจะหดตัว การหดตัวหรือการขยายตัวของหลอดเลือดขึ้นอยู่กับการกระตุ้นของฮอริโมนนี้ต่อ receptor ต่างกัน ที่ผนังหลอดเลือดซึ่งมี α_1 -adrenergic receptor และ β_2 -adrenergic receptor

Receptor ที่พบในผนังเซลล์กล้ามเนื้อเรียบในผนังของหลอดเลือดดำและหลอดเลือดแดงตอบสนองต่อ epinephrine และ norepinephrine หรือสารอื่นๆ ในกลุ่ม catecholamines เรียกว่า adrenergic receptor แบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ α_1 และ β_2 -receptor โดยมีปริมาณของ α มากกว่า β -receptor ตัวรับชนิด α ส่วนใหญ่จะอยู่ใกล้กับปลายประสาท sympathetic และอยู่ห่างจากโพรงหลอดเลือด ในขณะที่ตัวรับชนิด β จะอยู่ใกล้กับโพรงของหลอดเลือดมากกว่า ดังนั้นถ้ากระตุ้นประสาท sympathetic หลอดเลือดดำและหลอดเลือดแดงโดยทั่วไปจะบีบตัว โดยจากการศึกษาพบว่า เมื่อให้ epinephrine เข้าหลอดเลือดในปริมาณต่ำๆ จะทำให้หลอดเลือดขยายตัว เนื่องจาก epinephrine จะจับกับ β_2 -receptor เป็นส่วนใหญ่ แต่เมื่อให้ epinephrine ในขนาดที่สูงขึ้น จะทำให้หลอดเลือดเกิดการหดตัวมากเนื่องจากสารนี้จับกับตัวรับทั้งชนิด α_1 และ β_2 -receptor แต่ปริมาณ α -receptor มีมากกว่า จึงทำให้ออกฤทธิ์เด่นมากกว่า

- สารอื่นๆ ที่มีผลต่อขนาดของหลอดเลือดและต่อระบบไหลเวียนเลือด ดังจะกล่าวต่อไป

กลไกการหดตัว-คลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด^{8,9}

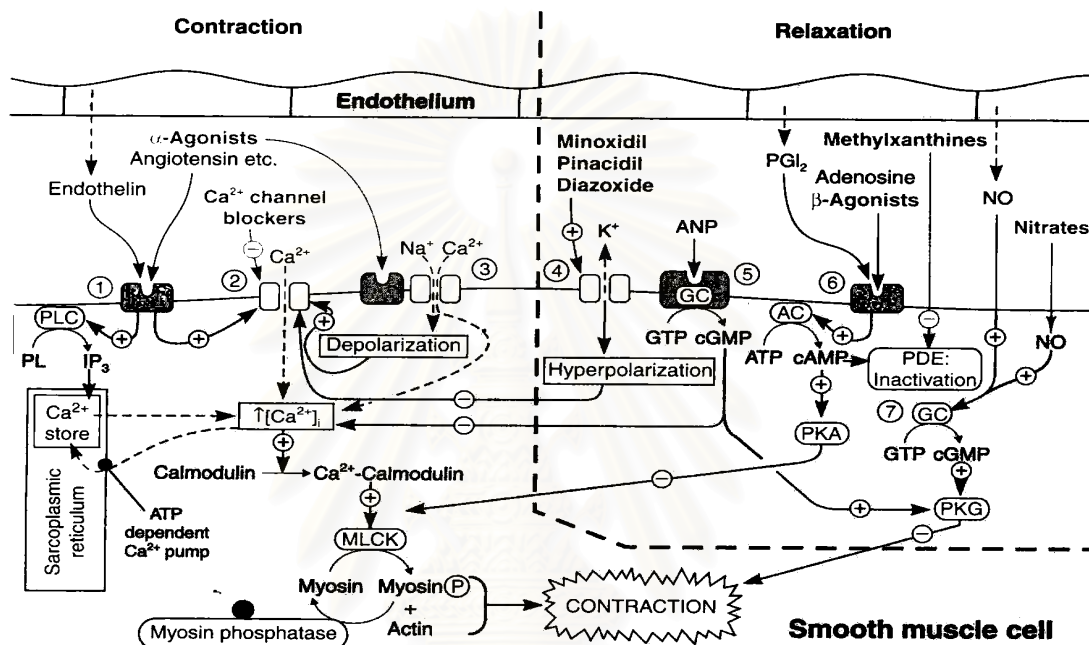
ในปัจจุบันเป็นที่ทราบกันดีแล้วว่า การขยายตัวและการหดตัวของหลอดเลือดนั้น จะเกิดจากการคลายตัวและการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด โดยมีการควบคุมจากหลายกลไก ซึ่งจะเกี่ยวข้องกับการเพิ่มขึ้นและการลดลงของ แคลเซียมอิสระภายในเซลล์ (intracellular free calcium) แคลเซียมอิสระภายในเซลล์จะมาจาก sarcolemma และ extracellular space กลไกที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มขึ้นของแคลเซียมอิสระภายในเซลล์ สามารถแบ่งได้เป็น 2 ขบวนการดังนี้

1. **Electromechanical coupling** เป็นขบวนการเพิ่มแคลเซียมจากภายนอกเซลล์ที่ผ่านเข้าสู่ภายในเซลล์ ผ่านทาง Potential-Operated Channels (POC) หรือ Voltage-Gated Calcium Channels (VOC) โดยเกิดจากการเปลี่ยนแปลง action potential ของผนังเซลล์ เกิด membrane depolarization กระตุ้นให้ POC เปิดออก ส่งผลทำให้แคลเซียมจากภายนอกเซลล์ที่เข้าสู่ภายในเซลล์ แล้วไปเหนี่ยวนำให้ sarcoplasmic reticulum ปล่อยแคลเซียมออกมา

2. **Pharmacomechanical coupling** เป็นขบวนการเพิ่มแคลเซียม โดย chemical agent ได้แก่ neurotransmitter ฮอริโมน และยาบางตัว โดยที่ไม่ทำให้ความต่างศักย์ไฟฟ้าของผนังเซลล์เปลี่ยนแปลง ซึ่งสารเหล่านี้จะรวมตัวกับตัวรับ (receptor) บนผนังเซลล์ มีผลทำให้แคลเซียมอิสระภายในเซลล์เพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องมาจาก

- มีการกระตุ้นตัวรับ ซึ่งเรียกว่า Receptor-Operated Channels (ROCs) บนผิวเซลล์ ทำให้มีการเปิดออกของ channels แล้ว Ca^{2+} ไหลจากนอกเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์
- มีการกระตุ้นตัวรับ ซึ่งมี second messenger ได้แก่ inositol trisphosphate (IP_3) ที่เฉพาะเจาะจงต่อ channels นั้น ทำให้แคลเซียมที่เก็บไว้ใน sarcoplasmic reticulum ถูกปล่อยออกมาอยู่ภายในเซลล์
- Caffeine-induce calcium release จากการศึกษาพบว่า caffeine สามารถเหนี่ยวนำทำให้เกิดการปล่อยแคลเซียมจาก sarcoplasmic reticulum ได้¹⁰

การกระตุ้นการปล่อยแคลเซียมทั้ง 2 ขบวนการนี้จะผ่าน guanosine triphosphate binding protein (GTP-binding protein or "G-protein") ก่อนเสมอ ดังนั้นเมื่อแคลเซียมภายในเซลล์เพิ่มขึ้น แคลเซียมจะจับกับ calmodulin กลายเป็น calmodulin complex ซึ่งจะจับและกระตุ้นเอนไซม์ Myosin Light Chain Kinase (MLCK) ก่อให้เกิด phosphorylation ของ myosin light chain เกิดเป็น phosphorylated myosin ทำปฏิกิริยากับ actin มีผลทำให้กล้ามเนื้อเรียบหดตัวได้



รูปที่ 5 แสดงกลไกการหด และการคลายตัวของหลอดเลือด⁸

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ส่วนการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบนั้นจะเกิดได้ทั้งทางขบวนการ electromechanical coupling และ pharmacomechanical coupling ซึ่งการเกิด electromechanical coupling นั้น ความเข้มข้นของแคลเซียมอิสระภายในเซลล์ลดลงได้จากการที่ potassium เคลื่อนที่เข้าเซลล์ เกิดภาวะ hyperpolarization และป้องกันไม่ให้ voltage-gated Ca^{2+} channel เปิดออกรับแคลเซียมจากภายนอกเซลล์เข้ามาภายในเซลล์ มีผลทำให้ความเข้มข้นของแคลเซียมภายในเซลล์ไม่เพียงพอต่อการเกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด จึงทำให้กล้ามเนื้อเรียบคลายตัว

และจากขบวนการ pharmacomechanical coupling การคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดนั้นจะเกิดจากการกระตุ้นตัวรับบนผนังเซลล์ ซึ่งส่วนใหญ่ที่พบในหลอดเลือดจะเป็นชนิด α -adrenergic receptor โดยจะกระตุ้น adenylate cyclase ผ่าน G-proteins (Gs) โดย adenylate cyclase นี้จะเปลี่ยนแปลง ATP เป็น cyclic adenosine monophosphate (cAMP) ในกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด cAMP จะเป็น second messenger ที่จะไปกระตุ้น protein kinase A (PKA) ยับยั้งการทำงานของ myosin light chain kinase (MLCK) ซึ่งในสภาวะนี้จะทำให้ myosin light chain ไม่สามารถทำปฏิกิริยากับ actin ได้ ดังนั้นจึงมีผลทำให้กล้ามเนื้อเรียบคลายตัวได้ (ดังแสดงในรูปที่ 5)

ใน pharmacomechanical coupling การหดตัวและการคลายตัวของหลอดเลือด จะเกิดจากการรวมตัวโดยผ่านตัวรับที่อยู่บน endothelial cell โดยบทบาทของ endothelial cell จะเป็นตัวควบคุม tone ของหลอดเลือด โดยทำการสังเคราะห์และหลั่งสารประเภท vasoconstrictors และ vasodilators ชนิดต่างๆ

โครงสร้างและหน้าที่ของ Endothelial cell^{11,12}

Endothelial cell จะเป็น squamous cell ธรรมดา มีลักษณะเป็น polygonal cell ขนาดยาวประมาณ 25-50 μm กว้างประมาณ 10-15 μm และบางมาก ประมาณ 0.2-0.4 μm มีองค์ประกอบของเซลล์ที่เรียกว่า plasmal vesicles endothelial cell มีนิวเคลียสยาวรูปไข่เรียงตัวไปตามแนว long axis วางอยู่บนเยื่อหุ้ม (basement membrane) ที่อยู่ด้านบนของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ

โดยประมาณกันว่า vascular endothelial cells ทั้งหมดทั่วร่างกายมีประมาณ 60 ล้านล้านเซลล์ จะมีน้ำหนัก 5 เท่าของหัวใจ และมีพื้นที่เท่ากับสนามเทนนิสประมาณ 6 สนามรวมกัน ในผู้ใหญ่ซึ่งหนักประมาณ 70 กิโลกรัม

organelles ภายในเซลล์ที่สำคัญประกอบด้วย rough endoplasmic reticulum (RER), ribosome อิสระ, smooth endoplasmic reticulum (SER), golgi complex, lysosomes,

multivesicular bodies, glycogen, cytoskeleton, thin filaments, thick filament และ weibel-palade bodies

ปกติ endothelial cells จะไม่ค่อยแบ่งตัว แต่สามารถแบ่งตัวเพื่อทดแทนเซลล์ที่หมดอายุหรือหลุดลอกไปได้ (ในสัตว์ทดลอง เช่น กระจ่างพบว่า endothelial cell มีอายุเฉลี่ยประมาณ 100-180 วัน และในคนประมาณกันว่ามีอายุ 30 ปี¹³) endothelial cell ที่สร้างขึ้นใหม่ (regeneration endothelial) นอกจากจะมาจากการแบ่งตัวของ endothelial cell ข้างเคียงแล้ว ยังอาจจะมาจกเซลล์ชนิดอื่นๆ ได้หลายชนิด เช่น undifferentiated cell ในชั้น subendothelium, fibroblast, smooth muscle cell, และ circulating blood cell เป็นต้น

บทบาทสำคัญของ endothelial cell

ผนังหลอดเลือดโดยส่วนใหญ่มีเซลล์ต่างๆ ที่เป็นองค์ประกอบสำคัญ คือ endothelial cell, smooth muscle cell และ fibroblast ซึ่งเซลล์เหล่านี้จะทำงานติดตัวอยู่เสมอ และมีปฏิสัมพันธ์กันอย่างซับซ้อน โดยเฉพาะในลักษณะ autocrine-paracrine interactions^{14,15} ตัว endothelial cells เองในสภาพปกติทำหน้าที่เป็น selective barrier และส่งผ่านสารต่างๆ ทั้งในแง่ active และ passive transport ซึ่งที่ผิวของเซลล์ยังมี cell surface receptors หลายชนิดที่ทำหน้าที่ด้าน neurohumoral responses หน้าที่และคุณสมบัติต่างๆ เหล่านี้ของ endothelial cell จะแตกต่างกันไปบ้างตามตำแหน่งและชนิดของหลอดเลือด บทบาทที่สำคัญของ endothelial cell ซึ่งมีกลไกการทำงานผ่าน receptors^{15,16,17,18} ยกตัวอย่างเช่น

- Vascular tone regulation
- Hemostatic homeostasis (coagulation and antithrombotic)
- Inflammation
- Lipids metabolism
- Vascular cell growth
- Vascular cell migration
- Cell death and apoptosis
- Interaction with extracellular matrix (ECM)

และเมื่อพิจารณาบทบาทหน้าที่ของ endothelial cells แล้ว อาจกล่าวได้ว่า endothelial cells ทำงานเป็น sensory cell คอยรับรู้ตรวจสอบและแปลผลสัญญาณทาง hemodynamic และ humeral signals ต่างๆ แล้วทำงานเป็น effectors cell ตอบสนองด้วยปฏิกิริยาต่างๆ เช่น หลั่งสารประเภท growth factor ไปกระตุ้นเซลล์อื่นๆ เช่น smooth muscle cells, endothelial cells ซึ่งเกี่ยวข้องบทบาทหน้าที่สำคัญยิ่งอีกประการหนึ่งของ endothelial cells คือ metabolism of vasoactive substances โดยการที่เซลล์สามารถรับรู้ตอบสนอง ทำปฏิกิริยาทางชีวเคมี สังเคราะห์ และหลั่งสารเหล่านี้ได้ ปัจจัยที่สามารถกระตุ้นให้ endothelial cell ผลิตและหลั่งสารต่างๆ ออกมามีอยู่หลายอย่างด้วยกันอาจแบ่งได้สามกลุ่ม^{19,20} คือ

1. Physical forces : เช่น ความดันโลหิตที่มีต่อผนังหลอดเลือด (pressure) หรือแรงกดดันจากการเสียดสีที่ผนังหลอดเลือด (shear stress) โดยจะควบคุม postassium channel ซึ่งมีผลให้เกิด hyperpolarization ทำให้ calcium เข้ามาใน cell มากขึ้น

2. Vasoactive substances เช่น angiotensin II, peptides อื่นๆ , amines (5-HT), kinins และ amino-acid metabolites

3. Blood cell เช่น polymorphonuclear neutrophils (PMN), monocytes และ platelets ซึ่งสามารถปล่อย mediator ต่างๆ ออกมากระตุ้น endothelium โดยตรง

Endothelium จะตอบสนองต่อปัจจัยต่างๆ ที่มากระตุ้น โดยการผลิตสารที่มีคุณสมบัติพิเศษออกมาหลายชนิด เรียกโดยรวมว่า Endothelium-derived factors ซึ่งแบ่งตาม mechanism of action ได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ ได้แก่ contracting factors, relaxing factors (ดังแสดงในรูปที่ 6) และ proliferating factors

1. **สารประเภท vasoconstrictors** จะมีคุณสมบัติทำให้หลอดเลือดหดตัว ซึ่งสารกลุ่มนี้ เรียกว่า Endothelium-Derived Contracting Factors (EDCFs) มีหลายชนิด (ดังแสดงในรูปที่ 6) ได้แก่

- endothelin²¹ ออกฤทธิ์ผ่าน ET_A receptors²² endothelin เป็น peptide ที่มี amino acid 21 ตัว มีฤทธิ์เป็น potent vasoconstrictor ทั้ง in vivo และ in vitro เป็นสารที่มีฤทธิ์ทำให้หลอดเลือดหดตัว ถูกสร้างขึ้นโดย endothelial cells และ smooth muscle cells มีบทบาทสำคัญต่อการควบคุม การหดตัว และการคลายตัวของหลอดเลือด endothelin จะถูกสร้างขึ้นโดยการกระตุ้นจากสารต่างๆ หลายชนิด ได้แก่ angiotensin II, catecholamines, growth factors, hypoxia, insulin, shear stress และ thrombin เป็นผลทำให้เกิดการหดตัวของหลอดเลือดโดยการจับกับ receptor บน endothelial cells²³

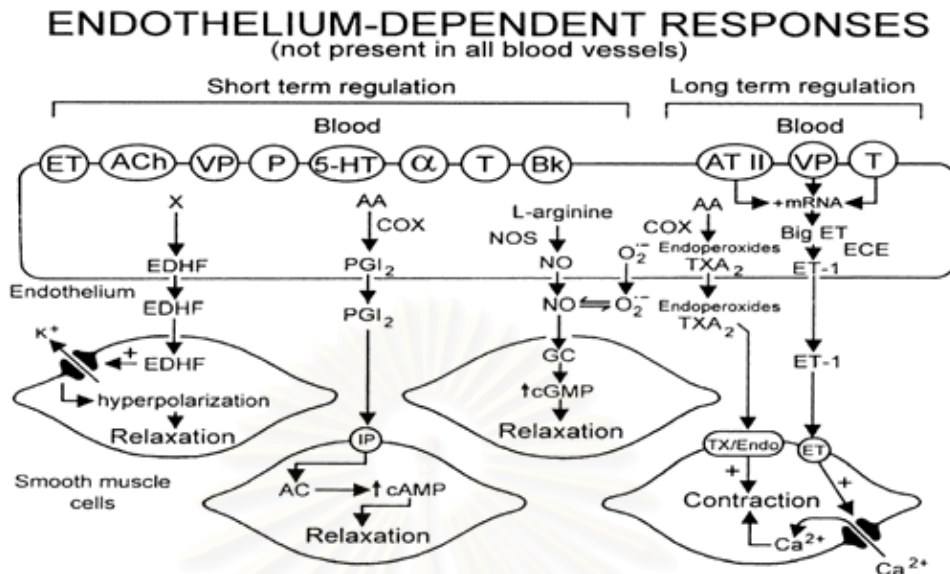
- Metabolites of arachidonic acid ได้แก่ prostaglandin H_2 , thromboxane A_2 (TXA_2)²⁴ และ endoperoxide โดยผ่าน thromboxane และ endoperoxide receptors²² มีฤทธิ์ทำให้หลอดเลือดหดตัว และกระตุ้นการเกิด clot

2. สารในกลุ่มของ vasodilators ซึ่งมีคุณสมบัติทำให้กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดคลายตัว โดยจะถูกหลั่งจาก endothelial cell เรียกว่า Endothelium - Derived Relaxing Factors (EDRFs) ต่อมามีการศึกษาเพิ่มเติม พบว่า EDRF มีหลายชนิด ได้แก่

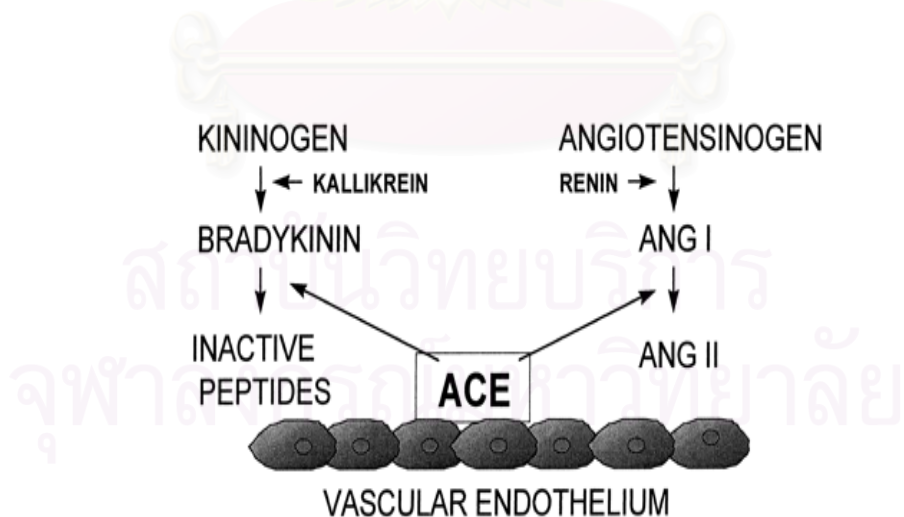
- Nitric Oxide^{25,26,27} ได้มาจากการเปลี่ยน amino acid L-arginine ด้วย เอนไซม์ nitric oxide synthase (NOS) NO มีฤทธิ์ทำให้หลอดเลือดคลายตัว และยับยั้งการจับกลุ่มของเกล็ดเลือด (platelets aggregation)²⁸ โดยกระตุ้น soluble guanylate cyclase มีผลทำให้ระดับของ cyclic 3',5'-guanosine monophosphate (cGMP) เพิ่มขึ้น โดยระดับของ cGMP ที่เพิ่มสูงขึ้นนี้จะยับยั้งการหลั่ง Ca^{2+} จากแหล่งเก็บภายในเซลล์ และยับยั้งการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} ผ่าน Receptor-operated channel²⁹ ดังนั้นมีผลทำให้หลอดเลือดคลายตัวได้ และนอกจากนั้น NO ยังมีฤทธิ์ยับยั้งการแบ่งตัว และ migration ของ smooth muscle cell ด้วย

- Prostacyclin (PGI_2)³¹ ซึ่งได้มาจากการสังเคราะห์ arachidonic acid โดย cyclooxygenase ในผนังหลอดเลือด การสังเคราะห์ prostacyclin (PGI_2) จะเกิดขึ้นทั้งภายในกล้ามเนื้อเรียบ และ endothelial cell โดย prostacyclin จะออกฤทธิ์โดยเพิ่มระดับของ cyclic 3',5'-adenosine monophosphate (cAMP)³² ทำให้กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดคลายตัว และนอกจากนั้นยังยับยั้งการ mitogenesis และการตกตะกอนของเกล็ดเลือด (platelets aggregation)²⁹ prostacyclin จะออกฤทธิ์สั้น เนื่องจากจะถูกเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็วเป็น α -ketoprostaglandin $F_{1\alpha}$ ³³ นอกจากนั้นการสังเคราะห์ prostacyclin สามารถจะถูกกระตุ้นได้จาก thrombin³⁴ , bradykinin³⁵ และ endothelial shear stress

- Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factor (EDHF) EDHF ซึ่งเข้าใจว่าเป็น metabolite ของ arachidonic acid ผ่าน cytochrome P450 pathway ตัวที่สำคัญคือ epoxyeicosatrienoic acid (EETs) ซึ่งมีกลไกการทำงานโดยการเปิด calcium-activated K channels ของ smooth muscle cell ทำให้เกิด hyperpolarization มีผลทำให้เกิด relaxation^{36,37}



รูปที่ 6 แสดงกลไกการทำงานของ vasoconstrictors และ vasodilators โดยผ่าน receptors ต่างๆ บน endothelial cell เมื่อถูกกระตุ้นด้วยสารต่างๆ angiotensin II (ATII), vasopressin (VP), or thrombin (T). specific endothelial receptors (circles) include: acetylcholines (ACh); adenosine diphosphate (ADP); bradykinin (BK); endothelin (ET); adrenaline ([alpha]); serotonin (5HT); thrombin (T); and vasopressin (VP). (Vanhoutte PM. *J Hypertens* 1999;17:1047–58.)³⁰



รูปที่ 7 แสดงการเปลี่ยนแปลงของ bradykinin และ angiotensin II โดย angiotensin converting enzyme (ACE) ซึ่งพบบน endothelial cell⁴¹

3. **Proliferating factor** ได้แก่ สารกลุ่มที่เป็น contracting factors เช่น endothelin, angiotensin II และ platelet-derived growth factor (PDGF) ซึ่งจะทำให้ smooth muscle cell แบ่งตัวเพิ่มขึ้นและ migrate มาบริเวณ Intima layer มากขึ้น^{38,39}

Vasoactive substances ยังมีอีกหลายชนิดที่มีได้มาจาก endothelial cell โดยตรง เช่น thrombin, histamine, bradykinin, serotonin และ angiotensin II เป็นต้น สารเหล่านี้บางตัว เช่น angiotensin II และ bradykinin มีความเกี่ยวข้องกับ angiotensin converting enzyme (ACE) ซึ่งพบบน endothelial cell ทำหน้าที่เปลี่ยน angiotensin I เป็น angiotensin II ซึ่งเป็นสารที่มีฤทธิ์ และเปลี่ยน bradykinin เป็นสารไม่มีฤทธิ์ ตามลำดับ (ดังแสดงในรูปที่ 7)^{40,41}

การทำงานของ endothelium จะต้องอยู่ในภาวะสมดุลระหว่าง relaxing factors และ contracting factors การทำงานผิดปกติของ endothelium (endothelial cell dysfunction) เช่น ในภาวะความดันโลหิตสูง, เบาหวาน, สูบบุหรี่ และภาวะไขมันในเลือดสูง ทำให้การผลิตสารกลุ่ม relaxing factors น้อยกว่าปกติ การผลิต contracting และ proliferating factors มากเกินไป หรือทั้งสองอย่างรวมกัน จะเป็นผลเสียทำให้เกิด vasospasm, proliferation of smooth muscle cell, extracellular matrix reorganization, leukocyte adherence/migration, platelets activation และ thrombosis ซึ่ง Shichiri และคณะได้เสนอว่า endothelial cell ของหลอดเลือดแดงจะถูกทำลายได้จากแรงเสียดสี (mechanical shear forces) ในภาวะที่มีความดันโลหิตสูงทำให้มีการหลั่ง vasoconstrictor (endothelin) เพิ่มขึ้น และลดการหลั่ง vasodilator (nitric oxide หรือ EDRF) ผลรวมทำให้เกิดภาวะความดันโลหิตสูงเพิ่มมากขึ้น ทั้งนี้ทำให้เป็นจุดเริ่มต้นของการเกิดภาวะหลอดเลือดแดงแข็ง (atherosclerosis) ซึ่งเป็นมูลเหตุพื้นฐานในการทำให้เกิดโรคหัวใจและหลอดเลือดชนิดต่างๆ ตามมา⁴²

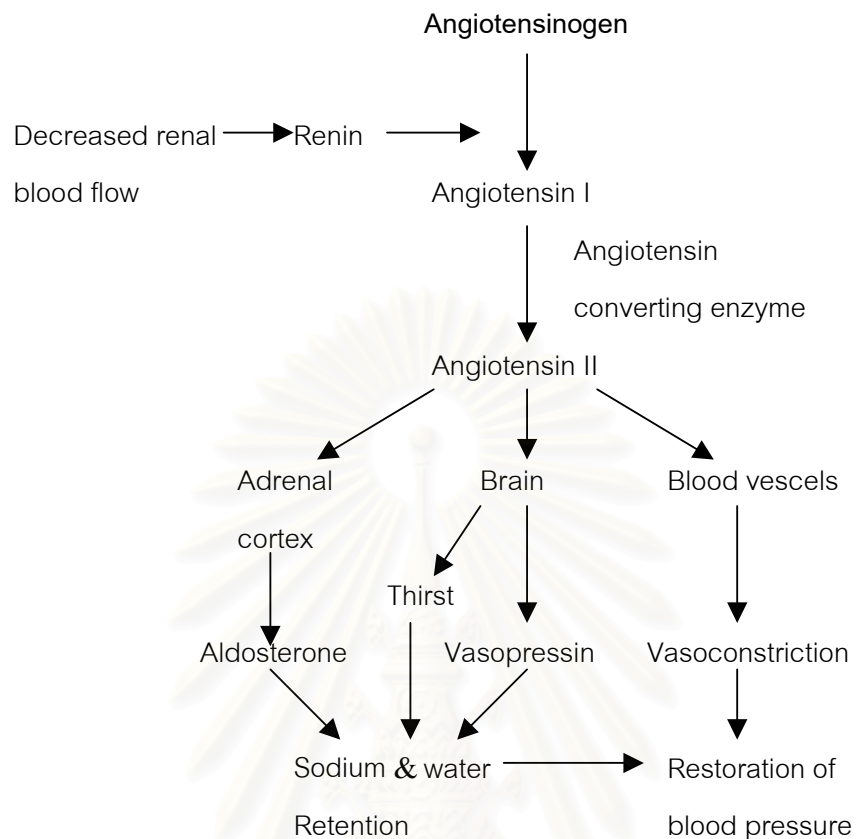
Angiotensin-converting enzyme (ACE) หรือ kininase II เป็นสาร bivalent dipeptidyl carboxyl metalloproteinase จะพบในรูปของ membrane-bound ที่พบใน endothelial cell, epithelial หรือ neuroepithelial cell, สมอง และพบในของเหลว ได้แก่ ในเลือด และ ของเหลวในร่างกายน^{41,43} ACE เป็น enzyme ที่ทำหน้าที่กระตุ้นการเปลี่ยน angiotensin I เป็น angiotensin II โดยจับกับตำแหน่ง C-terminal ของ angiotensin I⁴³ angiotensin II จะเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของ polypeptide angiotensinogen ในพลาสมา ซึ่งสร้างจากตับ โดย renin ให้กลายเป็น angiotensin I และหลังจากนั้น angiotensin I จะถูกเปลี่ยนเป็น angiotensin II โดย angiotensin converting enzyme⁴⁴ ที่พบมากในปอด (ดังแสดงในรูปที่ 7 และ 8) การหลั่งของ renin จาก granular cells ของไตที่เพิ่มมากขึ้น มีผลทำให้มีการสร้าง และหลั่ง angiotensin II และ aldosterone มากขึ้น โดยทั้งนี้

angiotensin II จะออกฤทธิ์โดยตรงต่อกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด และออกฤทธิ์ผ่านระบบประสาทส่วนกลาง (sympathetic nervous system) มีผลทำให้หลอดเลือดเกิดการหดตัว⁴⁵ (ดังแสดงในรูปที่ 8)

ปัจจัยหนึ่งของการเกิดภาวะความดันโลหิตสูงมาจากการทำงานของ endothelial cell ที่ผิดปกติ ทั้งนี้เนื่องจากในภาวะความดันโลหิตสูง จะทำให้การผลิตสารในกลุ่ม relaxing factors น้อยกว่าปกติ แต่จะทำให้มีการผลิต contracting และ proliferating factors มากเกินปกติ จะมีผลเสียทำให้เกิดการจับกันของเกล็ดเลือด (platelet aggregation)¹⁶ vascular smooth muscle proliferation⁴⁶ และ migration⁴⁷ monocyte adhesion และ adhesion molecule expression⁴⁸ ความผิดปกติที่เกิดขึ้นดังกล่าว จะเป็นสาเหตุทำให้หลอดเลือดแดงถูกทำลายจากแรงเสียดสี (Mechanical shear forces) เกิดการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือด ได้แก่ การหนาตัวของชั้นกล้ามเนื้อตรงกลางหลอดเลือด (medial wall) ส่งผลให้ทางเดินของหลอดเลือดแคบลง และแรงต้าน (systemic vascular resistance) เพิ่มขึ้น ทำให้เกิดภาวะความดันโลหิตสูงตามมา

เมื่อศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของ ACE inhibitors ในภาวะความดันโลหิตสูง จะพบว่า ACE inhibitors สามารถลดความดันโลหิตได้โดยการลด total peripheral vascular resistance โดยไม่เปลี่ยนแปลงอัตราการเต้นของหัวใจหรือ cardiac output โดยเชื่อว่า กลไกที่สามารถทำให้ total peripheral vascular resistance ลดลง ได้แก่

- การหดตัวของหลอดเลือดน้อยลงจากการลดลงของ angiotensin II ในพลาสมาและในเนื้อเยื่อ
- ยับยั้ง sympathetic effect โดยการยับยั้งการหลั่ง norepinephrine จาก presynaptic nerve terminal หรือ ยับยั้งการตอบสนองที่ post junctional ต่อ angiotensin II หรือ norepinephrine⁴⁵
- ยับยั้งระบบ renin-angiotensin ภายในสมอง ที่ระดับ baroreceptor reflex
- ยับยั้งการสร้าง angiotensin II ภายใน vasomotor center ของ medulla oblongata ซึ่งทำให้ลด sympathetic outflow
- มีการสะสมของ bradykinin ภายในผนังหลอดเลือดเพิ่มขึ้น เป็นผลมาจากการยับยั้งเอ็นไซม์ kininase II bradykinin จะกระตุ้นการสร้างสาร metabolites จาก arachidonic acid ซึ่งมีฤทธิ์ทำให้หลอดเลือดคลายตัว ได้แก่ prostaglandin, nitric oxide และ endothelium-derived hyperpolarizing factor (EDHF) จาก endothelial cell⁵⁰

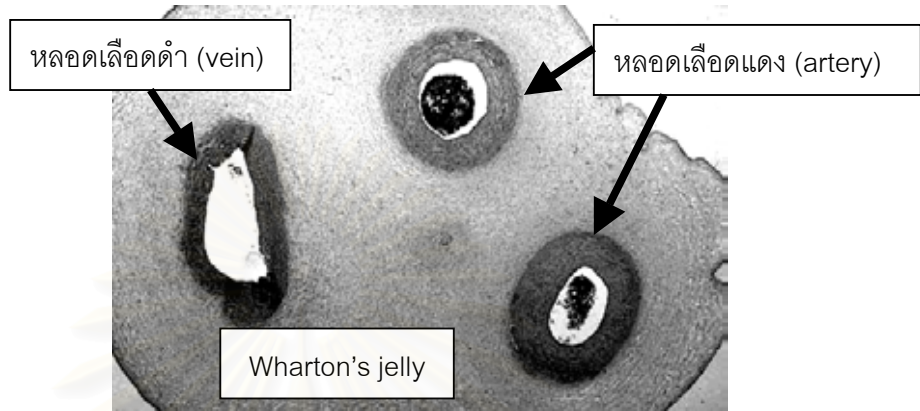


รูปที่ 8 แสดงการเปลี่ยนแปลงของ angiotensinogen ได้เป็น angiotensin II และฤทธิ์ของ angiotensin II

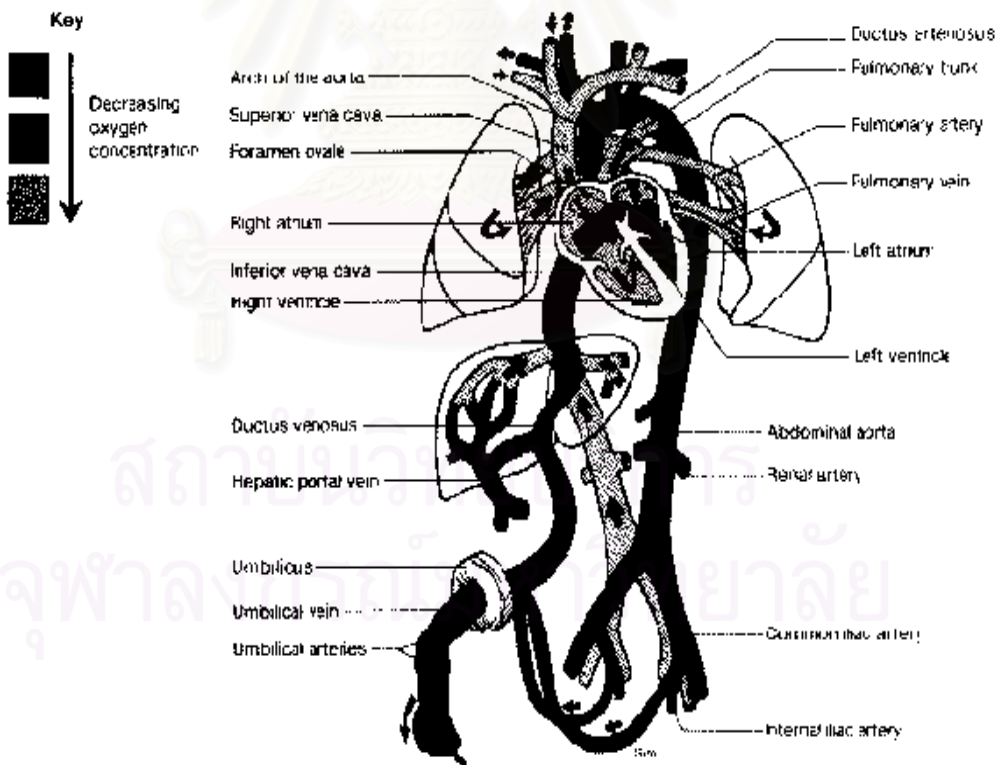
โครงสร้างและหน้าที่ของสายสะดือมนุษย์⁵⁴

สายสะดือ (umbilical cord) ทำหน้าที่เชื่อมต่อระหว่างทารกกับผิวนอกของรก (chorionic plate) มีหน้าที่ในการนำสารอาหารและออกซิเจนจากมารดาไปยังทารก ผิวนอกจะมีลักษณะขุ่นขาว ประกอบด้วย connective tissue ที่เรียกว่า Wharton's jelly มีลักษณะเป็ยกขึ้น และคลุมด้วย stratified squamous epithelium หรือเรียกว่า amniotic เพื่อป้องกันอันตรายต่อหลอดเลือดที่อยู่ภายใน ซึ่งประกอบด้วย หลอดเลือด 3 เส้น คือ หลอดเลือดดำ 1 เส้น และหลอดเลือดแดง 2 เส้น หลอดเลือดดำจะมีเส้นผ่าศูนย์กลางขนาดใหญ่ (ดังแสดงในรูปที่ 9) ทำหน้าที่นำสารอาหารและออกซิเจนจากมารดาไปสู่ทารกจึงทำหน้าที่เหมือนหลอดเลือดแดงของคนทั่วไป ส่วนหลอดเลือดแดงจะ

มีเส้นผ่าศูนย์กลางขนาดเล็กกว่า ทำหน้าที่นำของเสียจากทารกกลับไปยังมารดาจึงทำหน้าที่เหมือนหลอดเลือดดำนั่นเอง (ดังแสดงในรูปที่ 10)



รูปที่ 9 แสดงภาพตัดขวางของหลอดเลือดสายสะดือ⁵⁵



รูปที่ 10 แสดงการไหลเวียนของเลือดจากมารดาสู่ทารก และทารกสู่มารดา⁵⁶

ปกติสายสะดือมนุษย์จะมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1.0-2.5 เซนติเมตร และมีความยาวประมาณ 30-100 เซนติเมตร โดยเฉลี่ยยาวประมาณ 55 เซนติเมตร มีลักษณะบิดเกลียวซึ่งมีประโยชน์ทำให้สายสะดือไม่หักพับงอ ถ้ามีการงอของสายสะดือเกิดขึ้น อาจจะทำให้ทารกเป็นอันตรายถึงแก่ชีวิต เนื่องจากขาดเลือดไปเลี้ยงได้⁵⁷

มีการตรวจสายสะดือด้วยกล้องจุลทรรศน์ จะพบว่าเยื่อบุผนังจะเป็นเซลล์ชั้นเดียว มีลักษณะแบน และจะพบ keratin เป็นแผ่นพอกอยู่ชั้นนอก ภายในสายสะดือจะพบเซลล์ fibroblast, mast cell และ macrophage จะไม่พบท่อน้ำเหลืองและเส้นประสาท นอกจากบริเวณที่ใกล้กับรก (placenta) จะพบเส้นประสาท⁵⁸

การหดตัวและการคลายตัวของหลอดเลือดดำจะอาศัยกล้ามเนื้อเรียบ กลม คือ Hoboken's valve⁵⁹ ความแตกต่างระหว่างหลอดเลือดโดยทั่วไป และหลอดเลือดสายสะดือที่สำคัญคือ หลอดเลือดสายสะดือจะเป็นบริเวณที่ไม่มีประสาทอัตโนมัติมาเลี้ยง (sympathetic innervation)⁶⁰ และไม่มีท่อส่งอาหาร (vasa vasorum)⁶¹ ดังนั้นการไหลเวียนโลหิต และการหดตัวของหลอดเลือด ส่วนใหญ่เกิดขึ้นจากสาร local factor ที่สามารถผลิตได้เองที่หลอดเลือดสายสะดือขณะมารดาตั้งครรภ์ เช่น สารจำพวก autacoid, hormones เป็นต้น⁶²

โดยสรุป หลอดเลือดสายสะดือแตกต่างจากหลอดเลือดอื่นๆ คือ

1. พบลักษณะเฉพาะที่เรียกว่า fold and nodule of hoboken ที่หลอดเลือดแดง และ semilunar fold ที่หลอดเลือดดำ
2. ไม่มีลิ้น (valves)
3. มีการกระจายตัวทั่วๆ ไป ของ elastic tissue
4. ไม่มีท่อส่งอาหาร (vasa vasorum) และเปลือกหุ้ม (adventitia)
5. ผนังประกอบด้วย connective tissue บาง ๆ
6. มีการพัฒนาให้มีการหดตัวอย่างรุนแรง
7. ไม่มีระบบประสาทมาเลี้ยง (nerve innervation)

สีเสียดเหนือ^{63,64}

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Acacia catechu* (Linn.t) Willd วงศ์ leguminosae

ชื่อท้องถิ่น สีเสียดไทย สีเสียดลาว สีเสียดเหนือ (ภาคเหนือ) สีเสียดแก่น (ราชบุรี) catechu, black catechu หรือ catch ถิ่นกำเนิด ในประเทศอินเดียตะวันออก และพม่า ลักษณะ ต้นสีเสียดเหนือ จะมีลำต้นขนาดกลาง ความสูงประมาณ 9-12 เมตร มีเปลือกไม้สีดำ และผิวขรุขระ ลักษณะใบจะเป็นใบเลี้ยงคู่ (bi-pinnate) เป็นฝอยคล้ายกระถิน หรือส้มป่อย ความยาวของใบประมาณ 10-15 เซนติเมตร ดอก มีขนาดเล็ก สีเหลืองหรือขาวอมเหลือง ไม่มีก้านดอก ดอกมีจำนวนมาก ออกช่อคล้ายหางกระรอก กลมยาวเท่านิ้วมือ แตกตามง่ามใบ 1-3 ช่อ (รูปที่ 11) การออกดอกจะออกระหว่างเดือนเมษายน-เดือนพฤษภาคม และจะเป็นผลระหว่างเดือนพฤษภาคม-เดือนกรกฎาคม ผล เป็นฝักรูปบรรทัด เล็กแบนบิดบ้างเล็กบ้าง ยาวประมาณ 5-10 เซนติเมตร มีเมล็ดแบนสีน้ำตาลอมเขียว การปลูก ใช้วิธีเพาะเมล็ดขึ้นได้ในดินแทบทุกชนิดไม่ชอบน้ำขัง ควรปลูกฤดูฝน วิธีการปลูกต้องเพาะกล้าก่อน จะจึงเตรียมหลุม รองกันหลุมด้วยปุ๋ยหมักที่กันหลุม นำกล้าลงปลูกในระยะแรกให้สนใจดูแลน้ำและวัชพืช ส่วนที่นำมาใช้เป็นยา ได้แก่ ส่วนของเปลือกต้น (bark), เนื้อไม้ (wood), ดอก, ผลและยางไม้ (gum) ทั้งนี้จะอยู่ในรูปของก้อนสีเสียดเหนือ ได้จากการสกัดโดยนำเอาเนื้อไม้มาตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ต้มกับน้ำกรองเคี้ยวให้งวด จะเหลือก้อนแข็ง สีดำ เป็นเงางาม (ดังแสดงในรูปที่ 11)

สรรพคุณทางยา สีเสียดมีคุณสมบัติเป็นยาฝาดสมาน (astringent) ในประเทศอินเดียใช้ขับเสมหะและลดน้ำมูกใช้ระงับอาการเลือดออก ใช้รักษาอาการ otitis และ otorrhoea ในประเทศจีนได้นำเอาสีเสียดเหนือรักษาอาการติดเชื้อจากแบคทีเรีย ในประเทศไทยได้นำมาใช้ในอุตสาหกรรมย้อมสีฟอกหนัง ย้อมแหและอวน นอกจากนั้นนำมาใช้ประโยชน์ทางยา โดยใช้เปลือกต้นหรือก้อนสีเสียดปรุงเป็นยาสมานและคุมธาตุ แก้กึ่งร่วง แก้กบิต แก้กึ่งแดง แก้อติสาร ภายนอกใช้เป็นยารักษาแผล ล้างแผลถูกไฟไหม้ และโรคผิวหนัง บางชนบทใช้เมล็ดในฝักมาป่นรักษาโรคหิด มีการนำสีเสียดมาเคี้ยวร่วมกับหมากและพลู และมีการนำเอาสารสกัดจากสีเสียดเหนือผสมแอลกอฮอล์ เป็น tincture of catechu ใช้บรรเทาอาการหัวนมแตกโดยใช้ทาวันละ 2 ครั้ง บริเวณหัวนม

วิธีการนำมาทำเป็นยา

1. รักษาโรคน้ำกัดเท้า นำแก่นมาต้มเคี้ยวจนขึ้น เกล็ดพิมพ์ปล่อยให้เย็นจนเป็นแผ่น เรียกว่า ก้อนสีเสียด ใช้ก้อนสีเสียดนี้ฝนกับน้ำขุ่นๆ ทาบริเวณที่น้ำกัดเท้า วันละ 2-3 ครั้งจนกว่าจะหาย

2. เป็นยาแก้ท้องร่วงท้องเสีย โดยบดก้อนสีเสียดให้เป็นผงใช้ประมาณครึ่งช้อนชา ต้มเอาน้ำดื่มแก้ท้องเดิน⁶⁵ หรืออาจผสมผงสีเสียดกับผงอบเชยในปริมาณเท่าๆกันต้มน้ำประมาณ 240 มิลลิลิตร นาน 2 ชั่วโมง กรองใช้ดื่มครั้งละ 30 มิลลิลิตร วันละ 3 เวลา

จากการศึกษาสารเคมีที่พบในสีเสียดเหนือ พบว่า เป็น catechin 2-20%, caphlobatannin 25-33% และเป็น quercitrin และ quercetin 20-30% ซึ่งเป็นสารจำพวกflavonoid⁶⁶



รูปที่ 11 แสดงลักษณะของต้นสีเสียดเหนือ *Acacia catechu* (L.F.) Willd⁶⁷

ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

จากการศึกษาสารเคมีที่พบในสีเสียดเหนือ พบว่า เป็น catechin 2-12%, phlobatannin 25-33% และเป็น quercitrin และ quercitin 20-30% ซึ่งเป็นสารจำพวก flavonoid มีข้อมูลการศึกษาทางด้าน phytochemical and ethnobotanical ของ Dr.Duke, 1999 พบว่า สีเสียดเหนือเป็นพืชที่มีฤทธิ์ต้านการติดเชื้อจากแบคทีเรีย และไวรัส (antibacterial and antiviral) มีฤทธิ์แก้อาการท้องเสีย (antidiarrheal), ลดการบีบตัวของลำไส้ (antispasmodic) และมีฤทธิ์ขยายหลอดเลือด (vasodilation)

ในการศึกษาทางพิษวิทยา พบว่าในหนูขาวการให้สารสกัดสีเสียดเหนือ ขนาด 1.68 g/Kg ฉีดเข้าช่องท้อง (intraperitoneally) ไม่ทำให้เกิดอันตราย

จากการศึกษา สารเคมีที่พบในสีเสียดเหนือ เป็นสาร flavonoid จำพวก polyphenolic ซึ่งจะพบมากในฝัก ผลไม้ และเมล็ดพืชต่างๆ มากมาย เครื่องดื่มหลายชนิดได้แก่ ชา กาแฟ เบียร์ และ ไวน์ จะพบ flavonoid โดยเฉพาะ catechin และ catechin gallate ester นอกจากนี้ยังมี flavonols จำพวก quercetin, kaempferol และ glycoside ต่างๆจะพบในเครื่องดื่มชนิดต่างๆ ได้แก่ ชาเขียว, ชาดำ และ ไวน์แดง⁶⁷ คุณสมบัติของ catechin ที่พบในองุ่น⁶⁸ พบว่า สามารถทำให้หลอดเลือดคลายตัว ซึ่งการศึกษาต่อมา ในหลอดเลือดแดงของกระต่าย จะพบว่า ไวน์แดงสามารถกระตุ้นให้ endothelial cell หลังสารที่ทำให้หลอดเลือดคลายตัวได้ โดยเกี่ยวข้องกับ polymeric procyanidins ซึ่งเป็นส่วนของ flavonoids ซึ่งการตอบสนองดังกล่าวน่าจะเกี่ยวข้องกับ NO⁶⁹ และจากการศึกษาผลของ procyanidins ที่แยกได้จาก cocoa ต่อหลอดเลือดกระต่าย พบว่า procyanidins ที่แยกได้สามารถทำให้หลอดเลือดคลายตัวได้ โดยการออกฤทธิ์ขึ้นกับ endothelial cell⁷⁰

จากการศึกษาทางด้านเภสัชวิทยาโดย Fiedleru และคณะได้นำ crude extract ของสีเสียดเหนือ ฉีดเข้าหลอดเลือดดำในหนู พบว่าทำให้ blood pressure ลดลง และหลังจากนั้น เมื่อปี 1984 Sham J.S.K. และคณะ⁷¹ ได้ศึกษาฤทธิ์ของสีเสียดเหนือ โดยทำการศึกษาแบบ in vivo และ in vitro ใน in vivo ทำการศึกษาในสุนัขและหนูโดยการฉีดสารสกัดจากสีเสียด ที่เตรียมโดยการเอาก้านของสีเสียดแห้งน้ำหนัก 100 กรัม นำมาต้มที่อุณหภูมิ 80 °C ใน น้ำกลั่น 800 ml แล้วนำเอาสารสกัดจากสีเสียดที่สกัดนี้ 16 mg/kg ฉีดเข้าทางหลอดเลือดดำของสุนัขและหนู แล้ววัดค่า Mean Arterial Blood Pressure (MAP) พบว่า สารสกัดจากสีเสียดเหนือที่ฉีดเข้าสู่สุนัขและหนูนั้น สามารถทำให้ MAP ลดลง ต่อจากนั้น Sham J.S.K. และคณะ ได้ทำการศึกษาต่อ โดยใช้ศึกษาถึง pharmacological

antagonist ในการศึกษา โดยการให้ specific blocker ต่างๆ ที่ออกฤทธิ์ยับยั้งที่ autonomic ganglion, α -adrenoceptor, β -adrenoceptor, Cholinergic receptor และ histamine receptor โดยการฉีดเข้าทางหลอดเลือดดำอย่างช้าๆ พบว่า สีเสียดเหนือ สามารถทำให้หลอดเลือดขยายตัวได้ แต่ฤทธิ์ในการขยายตัวไม่ได้ผ่านการทำงานของ autonomic ganglion, α -adrenoceptor, β -adrenoceptor, cholinergic receptor และ histamine receptor และได้ทำการศึกษาใน in vitro โดยทำการศึกษาใน isolated organ ไข่ หลอดเลือดแดงจากหางของหนู rat กระตุ้นให้เกิดการหดตัว (vasoconstriction) ด้วย arginine vasopressin (AVP) ขนาด 2 mU/ml และ methoxamine ขนาด 0.2 μ g/ml เพื่อให้หลอดเลือดแดงจากหางของหนูเกิดการหดตัว และหลังจากนั้นให้สารสกัดจากสีเสียดเหนือที่เตรียมจากวิธีดังกล่าวข้างต้น ในขนาดความเข้มข้นที่ 0.01, 0.03, 0.1 mg/ml (Sham et al, 1984) พบว่า หลอดเลือดแดงที่แยกจากหางของหนู จะมีการคลายตัวในลักษณะ dose dependent และจากการทดสอบกับ captopril ซึ่งเป็น ACE inhibitors พบว่า เมื่อให้สารสกัดจากสีเสียดเหนือ แล้วให้ captopril ฤทธิ์ของสารสกัดจากสีเสียดเหนือจะเพิ่มขึ้น ทั้งนี้ผู้วิจัยคิดว่ามีผลเกี่ยวข้องกับกลไกการหลัง ของ bradykinin

โดยทั้งนี้จากการศึกษา พบว่า Bradykinin มีฤทธิ์ทำให้หลอดเลือดคลายตัว โดยการกระตุ้น bradykinin B₂ subtype receptor บน endothelial cells ให้หลัง PGI₂, NO, EDHF⁵⁰ มีการศึกษาแบบ in vivo โดยให้ cyclooxygenase inhibitor ใน Wistar rat ทำการวัด arteriolar luminal diameters ด้วย image-shearing eyepiece พบว่า ฤทธิ์ของ bradykinin ที่ทำให้หลอดเลือดขยายตัวนั้นลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ bradykinin เพียงอย่างเดียว แสดงว่า bradykinin นั้นออกฤทธิ์ผ่าน PGI₂⁵¹ ต่อมาศึกษาโดยให้ Ramiprilat ซึ่งเป็น angiotensin converting enzyme inhibitors ใน HUVEC แล้ววัดปริมาณของ NO และ ปริมาณของ 6-ketoprostaglandin F_{1 α} ซึ่งเป็น stable hydrolysis product ของ PGI₂ (prostacyclin) พบว่า ปริมาณของ NO และ PGI₂ เพิ่มขึ้น ซึ่งการยับยั้ง angiotensin converting enzyme ดังกล่าว ทำให้มีการสะสมของ endothelium-derived bradykinin ซึ่งจะออกฤทธิ์แบบ autocrine และ paracrine กระตุ้นให้มีการสร้าง endothelial autacoid มีฤทธิ์ทำให้หลอดเลือดคลายตัว⁵²

มีการศึกษาผลของ bradykinin ต่อการขยายตัวของหลอดเลือด โดยทำการศึกษาใน isolated coronary artery ที่มีชั้น endothelial cells พบว่า เมื่อได้รับยากกลุ่ม ACE inhibitors bradykinin จะทำให้หลอดเลือดขยายตัวมากขึ้น และเมื่อได้รับ N^G-Nitro-L-arginine (NLA) ซึ่งเป็น nitric oxide synthase inhibitor (NOS inhibitor) พบว่าทำให้ฤทธิ์ของ bradykinin นั้นเสียไป และมีการศึกษายืนยันต่อโดยการให้ bradykinin แล้ววัดปริมาณของ cGMP พบว่า ปริมาณของ cGMP มี

ปริมาณเพิ่มขึ้น จากการศึกษาดังกล่าวจะพบว่า การคลายตัวของหลอดเลือด ซึ่งเกิดจากการยับยั้งการ breakdown ของ bradykinin โดย ACE inhibitors มีผลทำให้มีการสร้าง endothelium-derived nitric oxide และ endothelium-hyperpolarizing factor (EDHF) โดยทั้งนี้เกิดจากการกระตุ้น B₂ kinin receptor บน endothelial cells⁴³

มีการศึกษาที่สนับสนุนเกี่ยวกับการหลัง EDHF ในมนุษย์โดยแยกหลอดเลือดของผู้ป่วยที่ทำการผ่าตัดเปลี่ยนหัวใจ ทำการศึกษาหลอดเลือดทั้งที่ปราศจาก และที่มีชั้น endothelial cell เมื่อให้ perindoprilat ซึ่งเป็น ACE inhibitor ร่วมกับการให้ indomethacin, NLA และ bradykinin ที่ความเข้มข้นต่างๆ แล้ววัด membrane potential ของ arterial smooth muscle cell พบว่า จะเกิด hyperpolarization ได้ต้องมีชั้น endothelial cell⁵³

จากการศึกษาที่ผ่านมาดังกล่าว แสดงว่า ACE inhibitors ที่เพิ่มปริมาณของ bradykinin ได้โดยยับยั้งการย่อยสลายของ bradykinin และปริมาณ bradykinin ที่เพิ่มขึ้นสามารถกระตุ้นให้ endothelial cells หลั่งสารที่ทำให้หลอดเลือดคลายตัว อย่างน้อย 3 ชนิด ได้แก่ PGI₂, NO และ EDHF

แต่ยังไม่ทราบเป็นที่แน่ชัดว่ากลไกการขยายตัวของหลอดเลือดเกิดจากกลไกใด ดังนั้นจึงมีความสนใจในการศึกษาเพื่อหากลไกการออกฤทธิ์ของ สารสกัดจากสีเสียดต่อหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ เพื่อจะสามารถพัฒนาเป็นยาต่อไป

บทที่ 3

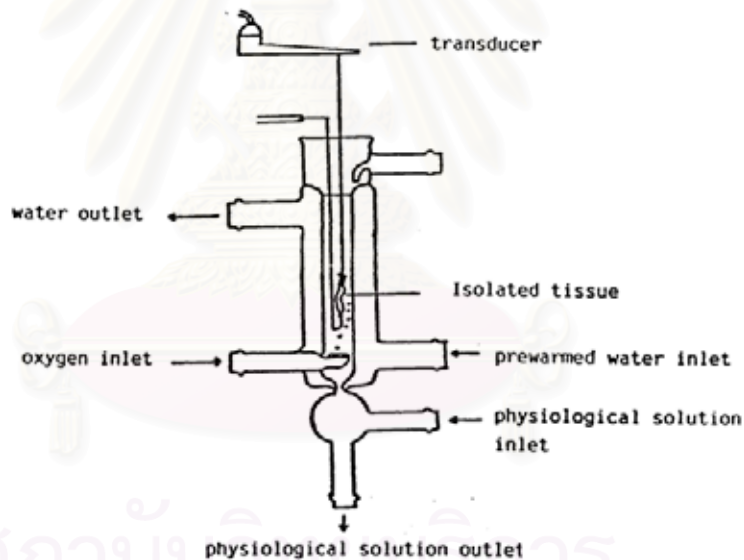
วิธีดำเนินการวิจัย

การศึกษาผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนียว ใน Isolated Human Umbilical Vein

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

1. เครื่องมือ

- 1.1. Organ bath แบบ double walled Harvard type ดังแสดงในรูป ประกอบด้วยผนังแก้ว 2 ชั้น ชั้นในบรรจุสารละลายที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อ (Physiological solution) มีความจุ 20 มิลลิลิตร และมีช่องเปิดให้ก๊าซ carbogen ผ่านเข้าออกได้ ชั้นนอกมีน้ำไหลเวียนจาก thermoregulating water pump ซึ่งทำหน้าที่ในการควบคุมอุณหภูมิของหลอดแก้วชั้นใน ให้คงที่ที่ 37 ± 0.5 องศาเซลเซียส ตลอดเวลาทำการทดลอง (ดังแสดงในรูปที่ 12)



รูปที่ 12 แสดง Organ bath แบบ double walled Harvard type

- 1.2. เครื่องมือวัดการหดตัวของหลอดเลือด ของบริษัท BIOPAC ประกอบด้วย transducer NO.SS12LA และ MP 30
- 1.3. เครื่องมือผ่าตัดเล็ก

2. สารเคมีที่ใช้เป็นมาตรฐานกระตุ้นการหดตัวของหลอดเลือด

2.1. สารเคมีที่ใช้เป็นมาตรฐานกระตุ้นการหดตัวของหลอดเลือด

- Potassium chloride (Sigma)
- Histamine dihydrochloride (Sigma)

2.2. สารทดลอง

- Icatibant (β_2 -bradykinin receptor antagonist)
- N^G-nitro-L-arginine (NLA) (Nitric oxide synthase inhibitor)
- Indomethacin (Cyclooxygenase inhibitor)
- tetracethylammonium chloride (TEA) (Postassium Chanel Blocker)

2.3 ก๊าซ

- Carbogen gas (CO₂ 5%+O₂ 95%) ของบริษัท Thai Industrial Gas (TIG)

3. ตัวอย่างสายสะดือที่ใช้ในการศึกษา มีหลักเกณฑ์ในการคัดเลือก ดังนี้

- เก็บสายสะดือที่ได้จากทารกที่คลอดจากมารดาที่ตั้งครรภ์ครบกำหนด จากห้องคลอด และห้องผ่าตัดสูติกรรม โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย
- มารดาคลอดปกติ (normal labor) หรือ ได้รับการผ่าคลอดด้วยวิธี spinal block
- มารดาไม่มีภาวะแทรกซ้อนขณะตั้งครรภ์ ได้แก่ ภาวะความดันโลหิตสูง ภาวะระดับน้ำตาลในเลือดสูง (hyperglycemia)
- ทารกมีน้ำหนักปกติ (3000 กรัม)
- ขณะรอคลอด มารดา **ต้องไม่**ได้รับยาในกลุ่ม narcotic analgesic ได้แก่ pethidine, morphine

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การสกัดสีเสียดเหนื่อ

- นำสีเสียดเหนื่อจากจังหวัดแพร่ 2.3 kg มาบดให้แตกจากนั้นนำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นให้ละเอียด
- นำสีเสียดเหนื่อที่ปั่นละเอียดไปหมักด้วย 95% ethanol 1,500 ml ทิ้งไว้ 5 วัน
- นำสีเสียดเหนื่อที่หมักมารอง นำสารละลายที่กรองได้ไประเหยแห้งด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 60 °C จนแห้ง

- ส่วนกากสีเสียดเหนือก็นำมาหมักต่ออีก 5 วัน ด้วย 95% ethanol 1,500 ml แล้วกรอง นำสารละลายที่กรองได้ไประเหยจนแห้ง แล้วนำไปรวมกับสารสกัดสีเสียดเหนือกี่ได้ในข้างต้น โดยสารสกัดที่ได้จะมีลักษณะ (appearance) เป็นผงสีน้ำตาล
- นำสารสกัดสีเสียดเหนือกี่ได้ไปชั่งน้ำหนักแล้วแบ่งเป็นสองส่วน ส่วนหนึ่งส่งตรวจรูปแบบขององค์ประกอบ (ดังแสดงในภาคผนวก ข) เพื่อใช้อ้างอิง และเป็นการควบคุมคุณภาพสารสกัด แล้วอีกส่วนหนึ่งนำไปใช้ในการศึกษา

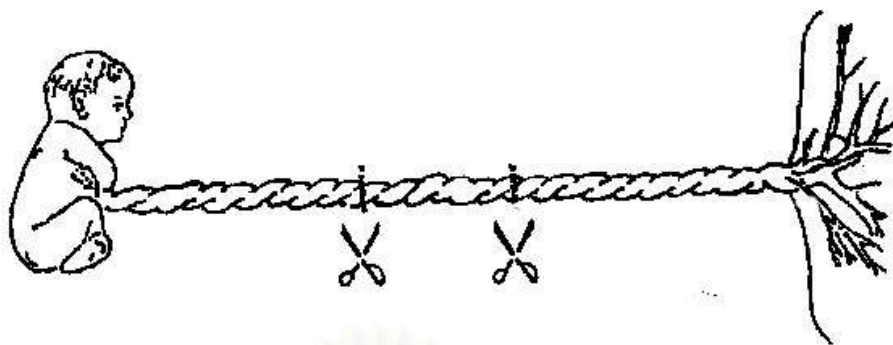
2. เตรียมสารละลาย Kreb's Henseleit Solution (KHS) เพื่อนำไปเก็บตัวอย่างสายสะดือที่ห้องคลอด ซึ่งส่วนประกอบของ Kreb's Henseleit solution จะประกอบด้วย

1) NaCl	ความเข้มข้น	118.00	mM
2) KCl	"	4.70	mM
3) CaCl ₂	"	2.52	mM
4) MgSO ₄	"	1.64	mM
5) NaHCO ₃	"	24.88	mM
6) KH ₂ PO ₄	"	1.18	mM
7) Glucose	"	5.55	mM

3. การเก็บสายสะดือมนุษย์

เตรียมสารละลาย Krebs- Henseleit บรรจุในขวดโหล ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่ผ่านการอัด carbogen gas นาน 30 นาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำมายังห้องคลอด ให้เจ้าหน้าที่ห้องคลอด ทำการตัดสายสะดือของทารกที่ได้จากมารดาที่ตั้งครรภ์ครบกำหนด และมีสุขภาพดี โดยจะตัดสายสะดือหลังจากที่รกคลอดทันที ตัดส่วนกลางระหว่างส่วนของรกกับส่วนของทารกให้มีความยาวประมาณ 10-15 เซนติเมตร (ดังแสดงในรูปที่ 13) แะในขวดโหลทันที

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 13 แสดงการตัดส่วนของสายสะดือเพื่อนำมาทดลอง

4. การเตรียมหลอดเลือดสายสะดือเพื่อทดลอง

นำสายสะดือที่ได้ ตัดให้มีความยาวพอควร วางใน petri dish ที่บรรจุสารละลาย Krebs-Henseleit โดยมี carbogen gas ผ่านตลอดเวลา เลาะเอา wharton's jelly และหลอดเลือดแดงขนาดเล็ก 2 เส้นออก ด้วยเครื่องมือตัดขนาดเล็ก โดยให้เหลือแต่หลอดเลือดดำ และ ตัดหลอดเลือดดำ แบบ spiral strips โดยแต่ละ spiral จะมีความยาวประมาณ 5 มิลลิเมตร ใช้ด้ายผูกปลายทั้ง 2 ด้าน โดยให้ปลายด้านหนึ่งผูกติดกับแท่งพลาสติก แล้วนำไปแช่ใน organ bath ที่บรรจุ Krebs-Henseleit Solution 20 มิลลิลิตร มี carbogen gas ผ่านตลอดเวลา และควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ประมาณ 37 องศาเซลเซียส ส่วนปลายด้ายอีกด้านหนึ่งต่อกับ transducer ซึ่งต่อเข้ากับเครื่อง MP 30 และ คอมพิวเตอร์ ตั้งหลอดเลือดให้มีแรงตึงขณะพัก (resting tension) ประมาณ 1 กรัม ใช้เวลา incubate หลอดเลือดประมาณ 90 นาที และ เปลี่ยน Krebs-Henseleit Solution ทุกๆ 15 นาที จนกระทั่งมีความตึงตัวคงที่ โดยสังเกตจาก base line คงที่

5. การทำการศึกษากฤทธิ์ของสารสกัดจากสีเสียดเหนียว ต่อหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ที่แยกได้ในข้อ 4

5.1. ศึกษาผลของสารกระตุ้นมาตรฐาน KCl ความเข้มข้นสูง และ histamine ในหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ที่มีและไม่มีชั้น endothelial Cell โดยการทำให้ปราศจากชั้น endothelial cells ด้วยการเช็ดออกด้วย cotton bud และส่งเนื้อเยื่อตรวจทาง histology โดยการย้อม H&E และ CD 34 เพื่อยืนยันว่ามี และไม่มี endothelial cell เพื่อเป็นการทดสอบยืนยันว่าเนื้อเยื่อหลอดเลือดที่แยกได้ยังสามารถทำงานได้ ทำโดย

- ก. Incubate หลอดเลือดทั้งที่มีและไม่มีชั้น endothelial cell ให้มีความตึงตัวคงที่แล้ว

กระตุ้นให้หลอดเลือดหดตัว ด้วย KCl แบบสะสมความเข้มข้น 5×10^{-4} M, 5×10^{-3} M, 15 และ 20 mM ตามลำดับ โดยใส่สารกระตุ้นและบันทึกผลการทดลอง จนหลอดเลือดมีการหดตัวสูงสุด และปล่อยให้หลอดเลือดมีการหดตัวนานประมาณ 15 นาที

ข. Incubate หลอดเลือดทั้งที่มีและไม่มีชั้น endothelial cell ให้มีความตึงตัวคงที่แล้ว กระตุ้นให้หลอดเลือดหดตัว ด้วย histamine ความเข้มข้น 10^{-5} mM โดยใส่สารกระตุ้นมาตรฐาน และบันทึกผลการทดลอง จนหลอดเลือดมีการหดตัวสูงสุด และปล่อยให้หลอดเลือดมีการหดตัวนานประมาณ 15 นาที

5.2. ศึกษาผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือในหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ที่มีชั้น endothelial cells เมื่อถูกกระตุ้นด้วยสารมาตรฐาน KCl และ histamine ทำโดย

ก. ศึกษาผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือ ต่อหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ที่มีชั้น endothelial cell โดย Incubate หลอดเลือดให้มีความตึงตัวคงที่แล้ว กระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ที่ให้จะให้แบบสะสม 4 ความเข้มข้น ได้แก่ 5×10^{-4} M, 5×10^{-3} M, 15 และ 20 mM นานประมาณ 15 นาที บันทึกผล (เป็นกลุ่มควบคุม) หลังจากนั้นล้างออกด้วย Krebs-Henseleit solution จนหลอดเลือดมีความตึงตัวเท่าเดิม แล้วให้สารสกัดจากสีเสียดเหนือที่มีความเข้มข้น 0.1, 0.2, 0.3 และ 0.4 mg/ml ลงไปก่อน 10 นาที แล้วให้ KCl สะสมขนาดความเข้มข้นเท่าเดิม บันทึกผลการทดลอง เปรียบเทียบผลการทดลองระหว่างการหดตัวสูงสุดของหลอดเลือดเมื่อไม่ได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ และได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ และเลือกความเข้มข้นของสีเสียดเหนือที่ให้ผลการยับยั้งสูงสุด 1 ความเข้มข้น สำหรับการทดลองต่อไป

ข. ศึกษาผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือ ต่อหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ที่มีชั้น endothelial cells โดย incubate หลอดเลือดให้มีความตึงตัวคงที่แล้ว กระตุ้นให้หดตัวด้วย histamine ความเข้มข้น 10^{-5} mM นานประมาณ 15 นาที บันทึกผล (เป็นกลุ่มควบคุม) หลังจากนั้นล้างออกด้วย Krebs-Henseleit solution จนหลอดเลือดมีความตึงตัวเท่าเดิม แล้วให้สารสกัดจากสีเสียดเหนือที่มีความเข้มข้น 0.2, 0.3, 0.4 mg/ml ลงไปก่อน 10 นาที แล้วให้ histamine ขนาดความเข้มข้นเท่าเดิม บันทึกผลการทดลอง เปรียบเทียบผลการทดลองระหว่างการหดตัวสูงสุดของหลอดเลือดเมื่อไม่ได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ และได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ และเลือกความเข้มข้นของสีเสียดเหนือที่ให้ผลการยับยั้งสูงสุด 1 ความเข้มข้น สำหรับการทดลองต่อไป

5.3. ศึกษาผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือในหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ที่ไม่มีชั้น endothelial cells เมื่อถูกกระตุ้นด้วยสารมาตรฐาน KCl และ histamine ทำโดย

ก. ศึกษาผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือ ต่อหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ที่ไม่มีชั้น

endothelial cells โดย incubate หลอดเลือดให้มีความตึงตัวคงที่แล้ว กระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl แบบสะสมความเข้มข้น $5 \times 10^{-4} \text{ M}$, $5 \times 10^{-3} \text{ M}$, 15 และ 20 mM นานประมาณ 15 นาที บันทึกผล (เป็นกลุ่มควบคุม) หลังจากนั้นล้างออกด้วย Krebs-Henseleit solution จนหลอดเลือดมีความตึงตัวเท่าเดิม แล้วให้สารสกัดจากสีเสียดเหนือที่มีความเข้มข้น 0.3 mg/ml ลงไปก่อน 10 นาที แล้วให้ KCl ขนาดความเข้มข้นเท่าเดิม บันทึกผลการทดลอง เปรียบเทียบผลการทดลองระหว่างการหดตัวสูงสุดของหลอดเลือดเมื่อไม่ได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ และได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ

ข. ศึกษาผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือ ต่อหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ที่ไม่มีชั้น endothelial cells โดย incubate หลอดเลือดให้มีความตึงตัวคงที่แล้ว กระตุ้นให้หดตัวด้วย histamine ความเข้มข้น 10^{-5} mM นานประมาณ 15 นาที บันทึกผล (เป็นกลุ่มควบคุม) หลังจากนั้นล้างออกด้วย Krebs-Henseleit solution จนหลอดเลือดมีความตึงตัวเท่าเดิม แล้วให้สารสกัดจากสีเสียดเหนือที่มีความเข้มข้น 0.3 mg/ml ลงไปก่อน 10 นาที แล้วให้ histamine ขนาดความเข้มข้นเท่าเดิม บันทึกผลการทดลอง เปรียบเทียบผลการทดลองระหว่างการหดตัวสูงสุดของหลอดเลือดเมื่อไม่ได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ และได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ

5.4. ทดสอบผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือ ในหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ เมื่อให้สารยับยั้งการสังเคราะห์ EDRFs ได้แก่ N^{G} -nitro-L-arginine (NLA) ยับยั้งการสร้าง nitric oxide, indomethacin ยับยั้งการสร้าง prostacyclin และ tetraethylammonium chloride (TEA) ปิดกั้น potassium channel เพื่อยืนยันว่าสารสกัดจากสีเสียดเหนือออกฤทธิ์เกี่ยวข้องกับการกระตุ้นการหลั่ง EDRFs จาก endothelial cell หรือไม่ ทำโดย

ก. Incubate หลอดเลือดให้มีความตึงตัวคงที่แล้ว ให้ N^{G} -nitro-L-arginine (NLA) ความเข้มข้น $3 \times 10^{-5} \text{ mM}$ ลงไปนาน 10 นาที แล้วใส่สารกระตุ้นมาตรฐาน KCl แบบสะสมความเข้มข้น 5×10^{-4} , 5×10^{-3} , 15 และ 20 mM บันทึกผลการทดลองนาน 15 นาที (เป็นกลุ่มควบคุม) หลังจากนั้นล้างออกด้วย Krebs-Henseleit solution จนหลอดเลือดมีความตึงตัวเท่าเดิม แล้วให้ N^{G} -nitro-L-arginine (NLA) ความเข้มข้นเท่าเดิม ลงไปนาน 5 นาที ใส่สารสกัดสีเสียดเหนือที่มีความเข้มข้น 0.3 mg/ml ลงไปนาน 5 นาที หลังจากนั้นให้ KCl แบบสะสมขนาดความเข้มข้นเท่าเดิม บันทึกผลการทดลอง เปรียบเทียบระหว่างการหดตัวสูงสุดของหลอดเลือดเมื่อไม่ได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ และได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ

ข. Incubate หลอดเลือดให้มีความตึงตัวคงที่แล้ว กระตุ้นให้หลอดเลือดหดตัว ให้ N^{G} -nitro-L-arginine (NLA) ความเข้มข้น $3 \times 10^{-5} \text{ mM}$ ลงไปนาน 1 นาที แล้วใส่ indomethacin ความเข้มข้น $5 \times 10^{-5} \text{ mM}$ ลงไปนาน 9 นาที แล้วใส่สารกระตุ้นมาตรฐาน KCl แบบสะสมความเข้มข้น

5×10^{-4} , 5×10^{-3} , 15 และ 20 mM บันทึกผลการทดลองนาน 15 นาที (เป็นกลุ่มควบคุม) หลังจากนั้นล้างออกด้วย Krebs-Henseleit solution จนหลอดเลือดมีความตึงตัวเท่าเดิม แล้วให้ N^G -nitro-L-arginine (NLA) และ indomethacin ความเข้มข้นเท่าเดิม ลงไปนาน 5 นาที ใส่สารสกัดสีเสียดเหนื่อที่มีความเข้มข้น 0.3 mg/ml ลงไปนาน 5 นาที หลังจากนั้นให้ KCl แบบสะสมขนาดความเข้มข้นเท่าเดิม บันทึกผลการทดลอง เปรียบเทียบระหว่างการหดตัวสูงสุดของหลอดเลือดเมื่อไม่ได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ และได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ

ค. Incubate หลอดเลือดให้มีความตึงตัวคงที่ แล้วให้ N^G -nitro-L-arginine (NLA) ความเข้มข้น 3×10^{-5} mM ลงไปนาน 1 นาที แล้วใส่ indomethacin ความเข้มข้น 5×10^{-5} mM ลงไปนาน 1 นาที และใส่ tetraethylammonium chloride (TEA) ความเข้มข้น 10^{-10} แล้วใส่สารกระตุ้นมาตรฐาน KCl แบบสะสมขนาดความเข้มข้น 5×10^{-4} , 5×10^{-3} , 15 และ 20 mM บันทึกผลการทดลองนาน 15 นาที (เป็นกลุ่มควบคุม) หลังจากนั้นล้างออกด้วย Krebs-Henseleit Solution จนหลอดเลือดมีความตึงตัวเท่าเดิม แล้วให้ N^G -nitro-L-arginine (NLA), indomethacin และ tetracethylammonium chloride (TEA) ความเข้มข้นเท่าเดิม ลงไปนาน 5 นาที ใส่สารสกัดสีเสียดเหนื่อที่มีความเข้มข้น 0.3 mg/ml ลงไปนาน 5 นาที หลังจากนั้นให้ KCl ขนาดความเข้มข้นเท่าเดิม บันทึกผลการทดลอง เปรียบเทียบระหว่างการหดตัวสูงสุดของหลอดเลือดเมื่อไม่ได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ และได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ

5.5. ศึกษาผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ ในหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ที่มีชั้น endothelial cell เมื่อให้สารปิดกั้น bradykinin receptors เพื่อยืนยันว่าการออกฤทธิ์ของสารสกัดจากสีเสียดเหนื่อเกี่ยวข้องกับ bradykinin receptor หรือไม่ ทำโดย

ก. incubate หลอดเลือดให้มีความตึงตัวคงที่แล้ว กระตุ้นให้หลอดเลือดหดตัว ด้วยสารกระตุ้นมาตรฐาน KCl แบบสะสมขนาดความเข้มข้น 5×10^{-4} , 5×10^{-3} , 15 และ 20 mM บันทึกผลการทดลอง จนหลอดเลือดมีการหดตัวสูงสุด และปล่อยให้เนื้อเยื่อมีการหดตัวนานประมาณ 15 นาที บันทึกผล (เป็นกลุ่มควบคุม) หลังจากนั้นล้างออกด้วย Krebs-Henseleit solution จนหลอดเลือดมีความตึงตัวเท่าเดิม แล้วให้ Icatibant (Hoe 140) ซึ่งเป็น B_2 -bradykinin antagonist ความเข้มข้น 1×10^{-6} mM ลงไปนาน 5 นาที แล้วใส่สารสกัดสีเสียดเหนื่อที่มีความเข้มข้น 0.3 mg/ml ลงไปนาน 5 นาที แล้วให้ KCl ขนาดความเข้มข้นเท่าเดิม บันทึกผลการทดลอง เปรียบเทียบระหว่างการหดตัวสูงสุดของหลอดเลือดเมื่อไม่ได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ และได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ

การเก็บรวบรวมข้อมูล

การศึกษานี้ใน isolated human umbilical vein บันทึกข้อมูลด้วยเครื่อง Biopac recorder และคำนวณออกมาเป็นค่า percent ของ maximum contraction ที่เนื้อเยื่อนั้นสามารถตอบสนองต่อสารมาตรฐานที่ใช้กระตุ้นให้หลอดเลือดหดตัวสูงสุด (มีค่า 100%) และแสดงค่า percent inhibition of contraction นำเสนอข้อมูลเป็น ค่าเฉลี่ย \pm SE

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำค่า percent maximum contraction มาวิเคราะห์เปรียบเทียบ โดยใช้สถิติ one way ANOVA และ Paired Student's t-test โดยให้ความแตกต่าง คิดความมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อ $P < 0.05$



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

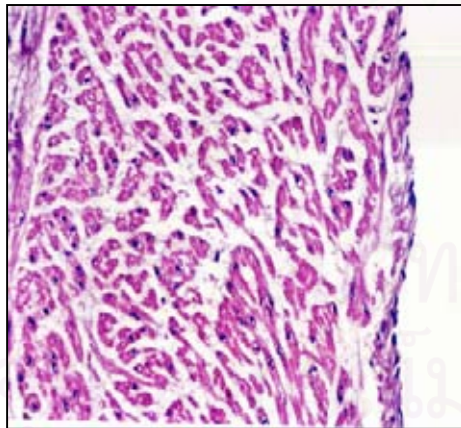
บทที่ 4

ผลการทดลองและการวิเคราะห์ข้อมูล

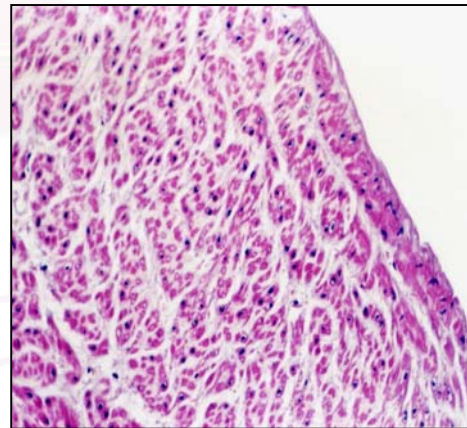
1. การศึกษารูปแบบขององค์ประกอบของสารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ ด้วยวิธี TLC finger- print เพื่อใช้อ้างอิง และเป็นการควบคุมคุณภาพสารสกัด ได้ผลการศึกษา ดังแสดงในภาคผนวก ข

2. ผลของสารกระตุ้นมาตรฐาน KCl แบบสะสมความเข้มข้น 5×10^{-4} M 5×10^{-3} M, 15 และ 20 mM ในหลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์ที่มี และไม่มีชั้น endothelial cell โดยการทำให้ปราศจากชั้น endothelial cell ด้วยการขีดออกด้วย cotton bud และนำไปตรวจสอบโดยการย้อม H&E และ CD34 (ดังแสดงในรูปที่ 14 และ 15) เพื่อเป็นการยืนยันว่าเนื้อเยื่อหลอดเลือดที่แยกได้ยังสามารถทำงานได้ และเป็นการเปรียบเทียบความแตกต่างของการหดตัวของหลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์

เมื่อกระตุ้นหลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์ที่มีชั้น และไม่มี endothelial cell ด้วย KCl แบบสะสมความเข้มข้น 5×10^{-4} M, 5×10^{-3} M, 15 และ 20 mM พบว่า หลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์สามารถหดตัวได้ 100% และ 94.384 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 1 เมื่อเปรียบเทียบกับ การหดตัวสูงสุดของหลอดเลือด ดังแสดงในรูปที่ 16 เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของการหดตัวของหลอดเลือดทั้ง 2 แล้ว พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$



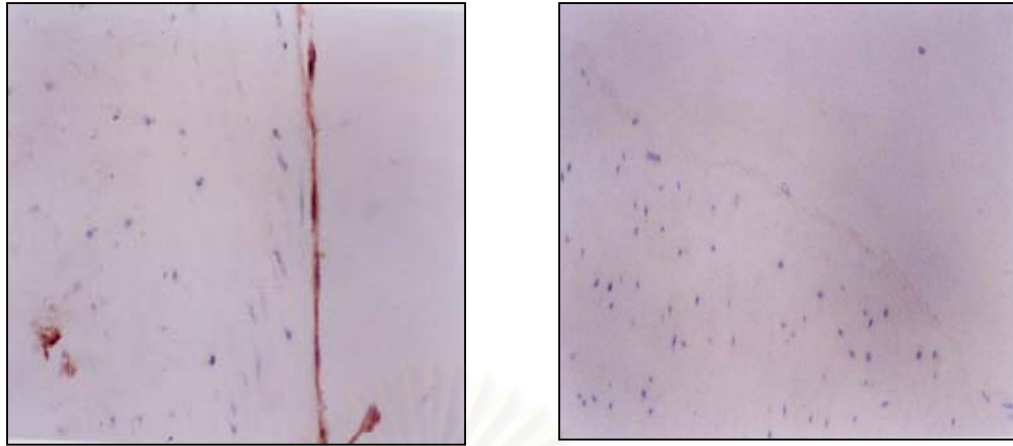
ก.



ข.

รูปที่ 14 แสดงภาพทางจุลกายวิภาคของเนื้อเยื่อ (histology) ของหลอดเลือด ที่ย้อมด้วย H&E

- ก. หลอดเลือดที่มีเยื่อบุหลอดเลือด
- ข. หลอดเลือดที่ไม่มีเยื่อบุหลอดเลือด



ก.

ข.

รูปที่ 15 แสดงภาพทางกายวิภาคของเนื้อเยื่อ (histology) ของหลอดเลือด ที่ย้อมด้วย CD34

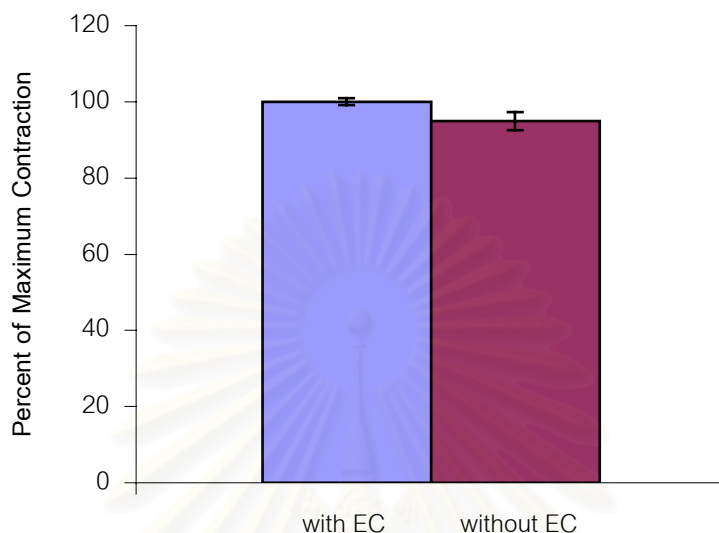
ก. หลอดเลือดที่มีเยื่อบุหลอดเลือด

ข. หลอดเลือดที่ไม่มีเยื่อบุหลอดเลือด

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบการหดตัวของหลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์ที่มี และไม่มีชั้น endothelial cell เมื่อกระตุ้นการหดตัวของหลอดเลือดด้วย KCl

การทดลอง	เปอร์เซ็นต์การหดตัวของหลอดเลือด	
	มีชั้น Endothelial Cell	ไม่มีชั้น Endothelial Cell
1	100	99.237
2	100	82.547
3	100	86.198
4	100	81.019
5	100	100.173
6	100	106.281
7	100	95.450
8	100	106.144
9	100	100.691
10	100	93.106
mean	100	94.938

รูปที่ 16 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การหดตัวของหลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์ที่มี และไม่มีชั้น endothelial cells เมื่อกระตุ้นการหดตัวของหลอดเลือดด้วย KCl ความเข้มข้น $5 \times 10^{-4} \text{ M}$, $5 \times 10^{-3} \text{ M}$ 15 และ 20 mM ตามลำดับ



1. ผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือที่มีความเข้มข้น 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 mg/ml ในหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ที่มีชั้น endothelial cell เมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วยสารมาตรฐาน KCl และ histamine

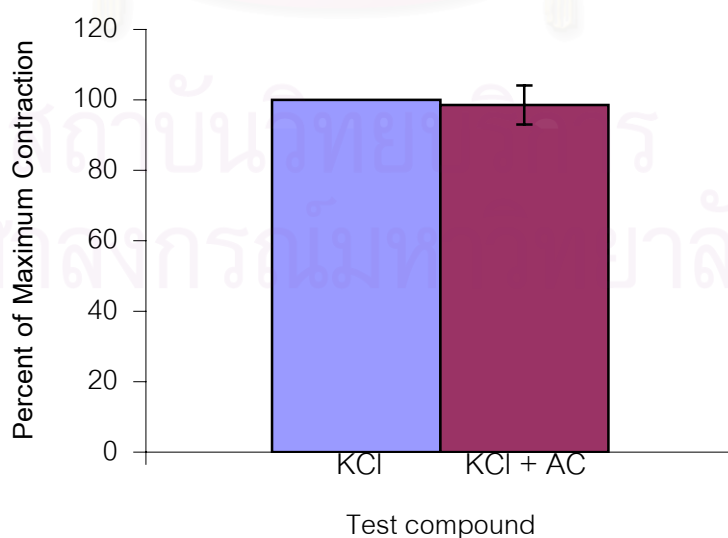
1) เมื่อกระตุ้นหลอดเลือดดำสายสะดือด้วย KCl ขนาดสูง แบบสะสมขนาดความเข้มข้น $5 \times 10^{-4} \text{ M}$, $5 \times 10^{-3} \text{ M}$, 15 และ 20 mM ตามลำดับ พบว่า สามารถกระตุ้นการหดตัวได้อย่างชัดเจน และเห็นผลเป็นเวลานาน วัดการหดตัวของหลอดเลือด ถือว่าเป็นการหดตัวก่อนได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (ตัวควบคุม) หลังจากนั้นล้างออกด้วย KHS หลายๆ ครั้ง แช่เนื้อเยื่อประมาณ 30 นาที โดยระหว่างนี้เปลี่ยนสารละลาย KHS ทุก 15 นาที จนกระทั่งแรงดึงตัวของหลอดเลือดเท่ากับ แรงดึงตัวเมื่อเริ่มทำการทดลอง และคงที่ แล้วใส่สารที่ต้องการทดสอบ คือ สารสกัดจากสีเสียดเหนือ ขนาด 0.1 mg/ml ลงไปก่อนประมาณ 10 นาที แล้วให้ KCl แบบสะสมขนาดความเข้มข้น $5 \times 10^{-4} \text{ M}$, $5 \times 10^{-3} \text{ M}$, 15 และ 20 mM ตามลำดับ และปล่อยให้หลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์หดตัวสูงสุด พบว่า ก่อนได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ ขนาด 0.1 mg/ml เมื่อกระตุ้นด้วย KCl แบบสะสมความเข้มข้น หลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์จะมีแรงดึงตัว 100 % และ หลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ เมื่อกระตุ้นด้วย KCl แบบสะสมความเข้มข้นจะมีแรงดึงตัว เปรียบเทียบกับ maximum contraction มีค่าร้อยละ 98.559 ± 5.541 ดังแสดงในตารางที่ 2 เมื่อเปรียบเทียบแรงดึงตัวของหลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์ก่อน และหลังได้รับสารสกัดจาก

สีเสียดเหนือ พบว่า แรงดึงตัวของหลอดเลือดแตกต่างกัน อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.05$ ดังแสดงในรูปที่ 17

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบการหดตัวของหลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์ ที่มีชั้น endothelial cells เมื่อกระตุ้นด้วย KCl ความเข้มข้นสูง ก่อนและหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (*Acacia catechu*, AC) ความเข้มข้น 0.1 mg/ml

การทดลอง	เปอร์เซ็นต์การหดตัวก่อนได้ AC	เปอร์เซ็นต์การหดตัวหลังได้ AC
1	100	120.931
2	100	75.770
3	100	109.345
4	100	88.191
Mean \pm SEM.	100	98.559 \pm 5.541

รูปที่ 17 เปรียบเทียบผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (*Acacia catechu*, AC) ความเข้มข้น 0.1 mg/ml ในหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ที่มีชั้น endothelial cells ก่อน และหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือเมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ความเข้มข้น 5×10^{-4} M, 5×10^{-3} M, 15 และ 20 mM ตามลำดับ



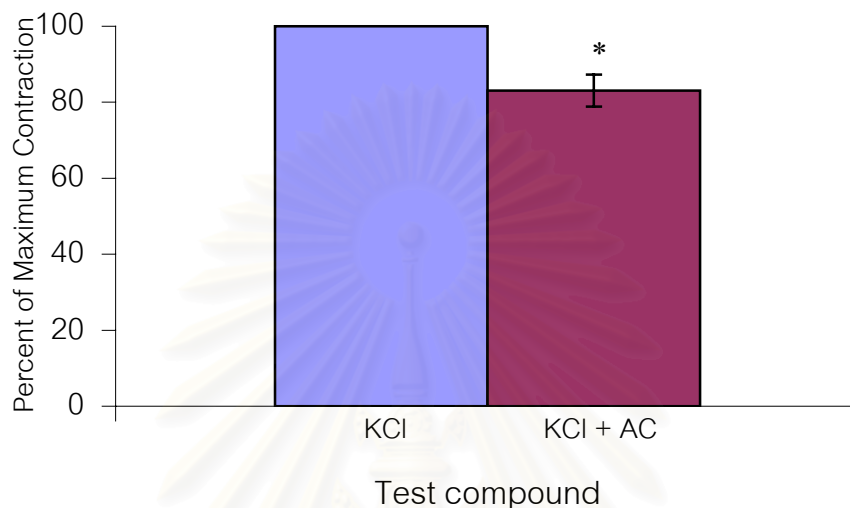
2) เมื่อกระตุ้นหลอดเลือดดำสายสะดือด้วย KCl ขนาดสูง แบบสะสมขนาดความเข้มข้น

5×10^{-4} M, 5×10^{-3} M, 15 และ 20 mM ตามลำดับ พบว่า สามารถกระตุ้นการหดตัว ได้อย่างชัดเจน และเห็นผลเป็นเวลานาน วัดการหดตัวของหลอดเลือด ถือว่าเป็นการหดตัวก่อนได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (ตัวควบคุม) หลังจากนั้นล้างออกด้วย KHS หลายๆ ครั้ง แซ่เนื้อเยื่อประมาณ 30 นาที โดยระหว่างนี้เปลี่ยนสารละลาย KHS ทุก 15 นาที จนกระทั่งแรงดึงตัวของหลอดเลือดเท่ากับแรงดึงตัวเมื่อเริ่มทำการทดลอง และคงที่ แล้วใส่สารที่ต้องการทดสอบ คือ **สารสกัดจากสีเสียดเหนือ ขนาด 0.2 mg/ml** ลงไปก่อนประมาณ 10 นาที แล้วให้ KCl ขนาดสูงแบบสะสมขนาดความเข้มข้น และปล่อยให้หลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์หดตัวสูงสุด พบว่าก่อนได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ ขนาด 0.2 mg/ml เมื่อกระตุ้นด้วย KCl ขนาดสูงแบบสะสมความเข้มข้น หลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์จะมีแรงดึงตัว 100 % และหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ เมื่อกระตุ้นด้วย KCl ขนาดสูง แบบสะสมความเข้มข้น จะมีแรงดึงตัวเปรียบเทียบกับ maximum contraction มีค่าร้อยละ 81.248 ± 4.207 ดังแสดงในตารางที่ 3 เมื่อเปรียบเทียบแรงดึงตัวของหลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์ก่อนและหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ พบว่า **แรงดึงตัวของหลอดเลือดแตกต่างกัน** อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.05$ ดังแสดงในรูปที่ 18

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบการหดตัวของหลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์ ที่มีชั้น endothelial cells เมื่อกระตุ้นด้วย KCl ความเข้มข้นสูง ก่อนและหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (*Acacia catechu*, AC) ความเข้มข้น 0.2 mg/ml

การทดลอง	เปอร์เซ็นต์การหดตัวก่อนได้ AC	เปอร์เซ็นต์การหดตัวหลังได้ AC
1	100	86.350
2	100	70.446
3	100	80.979
4	100	94.427
5	100	86.350
Mean \pm SEM.	100	83.051 \pm 4.207

รูปที่ 18 เปรียบเทียบผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (AC) ความเข้มข้น 0.2 mg/ml ในหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ที่มีชั้น endothelial cell ก่อน และหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือเมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ความเข้มข้น 5×10^{-4} M, 5×10^{-3} M, 15 และ 20 mM

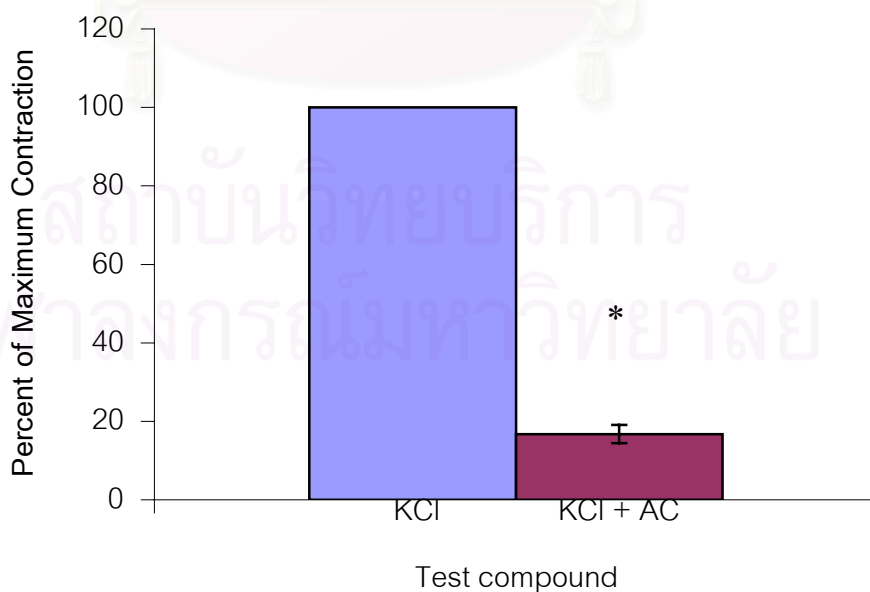


3) เมื่อกระตุ้นหลอดเลือดดำสายสะดือด้วย KCl ขนาดสูง แบบสะสมขนาดความเข้มข้น 5×10^{-4} M, 5×10^{-3} M, 15 และ 20 mM ตามลำดับ พบว่า สามารถกระตุ้นการหดตัวได้อย่างชัดเจน และเห็นผลเป็นเวลานาน วัดการหดตัวของหลอดเลือด ถือว่าเป็นการหดตัวก่อนได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (ตัวควบคุม) หลังจากนั้นล้างออกด้วย KHS หลายๆ ครั้ง แขนเนื้อเยื่อประมาณ 30 นาที โดยระหว่างนี้เปลี่ยนสารละลาย KHS ทุก 15 นาที จนกระทั่งแรงดึงตัวของหลอดเลือดเท่ากับแรงดึงตัวเมื่อเริ่มทำการทดลอง และคงที่ แล้วใส่สารที่ต้องการทดสอบ คือ **สารสกัดจากสีเสียดเหนือ ขนาด 0.3 mg/ml** ลงไปก่อนประมาณ 10 นาที แล้วให้ KCl ขนาดสูงแบบสะสมความเข้มข้น และปล่อยให้หลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์หดตัวสูงสุด พบว่า ก่อนได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ ขนาด 0.3 mg/ml เมื่อกระตุ้นด้วย KCl แบบสะสมความเข้มข้นหลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์จะมีแรงดึงตัว 100% และหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ เมื่อกระตุ้นด้วย KCl แบบสะสมความเข้มข้นจะมีแรงดึงตัว เปรียบเทียบกับ maximum contraction มีค่าร้อยละ 16.729 ± 2.330 ดังแสดงในตารางที่ 4 เมื่อเปรียบเทียบแรงดึงตัวของหลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์ก่อนและหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ พบว่า **แรงดึงตัวของหลอดเลือดแตกต่างกัน** อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.05$ ดังแสดงในรูปที่ 19

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบการหดตัวของหลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์ ที่มีชั้น endothelial cells เมื่อกระตุ้นด้วย KCl ความเข้มข้นสูง ก่อนและหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (*Acacia catechu*, AC) ความเข้มข้น 0.3 mg/ml

การทดลอง	เปอร์เซ็นต์การหดตัว ก่อนได้ AC	เปอร์เซ็นต์การหดตัว ก่อนได้ AC
1	100	21.388
2	100	15.955
3	100	7.262
4	100	18.004
5	100	21.036
Mean \pm SEM	100	16.729 \pm 2.330

รูปที่ 19 แสดงผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (AC) ความเข้มข้น 0.3 mg/ml ในหลอดเลือดสายสะดือที่มีชั้น endothelial cells ก่อน และหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือเมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ขนาดความเข้มข้น 5×10^{-4} M, 5×10^{-3} M, 15 และ 20 mM



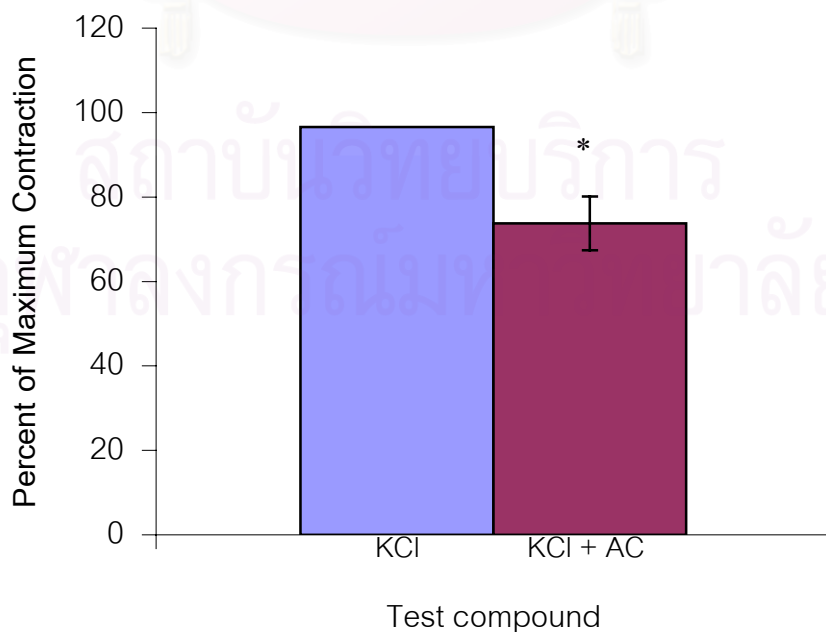
2) เมื่อกระตุ้นหลอดเลือดดำสายสะดือด้วย KCl ขนาดสูง แบบสะสมขนาดความเข้มข้น $5 \times 10^{-4} M$, $5 \times 10^{-3} M$, 15 และ 20 mM ตามลำดับ พบว่า สามารถกระตุ้นการหดตัว ได้อย่างชัดเจน และเห็นผลเป็นเวลานาน วัดการหดตัวของหลอดเลือด ถือว่าเป็นการหดตัวก่อนได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ (ตัวควบคุม) หลังจากนั้นล้างออกด้วย KHS หลายๆ ครั้ง แช่นื้อเยื่อประมาณ 30 นาที โดยระหว่างนี้เปลี่ยนสารละลาย KHS ทุก 15 นาที จนกระทั่งแรงดึงตัวของหลอดเลือดเท่ากับแรงดึงตัวเมื่อเริ่มทำการทดลอง และคงที่ แล้วใส่สารที่ต้องการทดสอบ คือ **สารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ ขนาด 0.4 mg/ml** ลงไปก่อนประมาณ 10 นาที แล้วให้ KCl ขนาดสูงแบบสะสมขนาดความเข้มข้น และปล่อยให้หลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์หดตัวสูงสุด พบว่าก่อนได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ ขนาด 0.4 mg/ml เมื่อกระตุ้นด้วย KCl ขนาดสูงแบบสะสมความเข้มข้น หลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์จะมีแรงดึงตัว 100 % และหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ เมื่อกระตุ้นด้วย KCl ขนาดสูงแบบสะสมความเข้มข้น จะมีแรงดึงตัวเปรียบเทียบกับ maximum contraction มีค่า ร้อยละ 76.432 ± 6.401 ดังแสดงในตารางที่ 5 เมื่อเปรียบเทียบ แรงดึงตัวของหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ ก่อนและหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ พบว่า แรงดึงตัวของหลอดเลือดแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.05$ ดังแสดงในรูปที่ 20

หลังจากนั้นจะนำแรงดึงตัวของหลอดเลือดหลังการให้สารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ มาเปรียบเทียบการตอบสนองในแต่ละความเข้มข้นของสารสกัดสีเสียดเหนื่อ ดังแสดงในรูปที่ 21 เลือกความเข้มข้นขนาด 0.3 mg/ml ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ให้การตอบสนองสูงเป็นขนาดความเข้มข้นที่จะนำไปศึกษาต่อไป

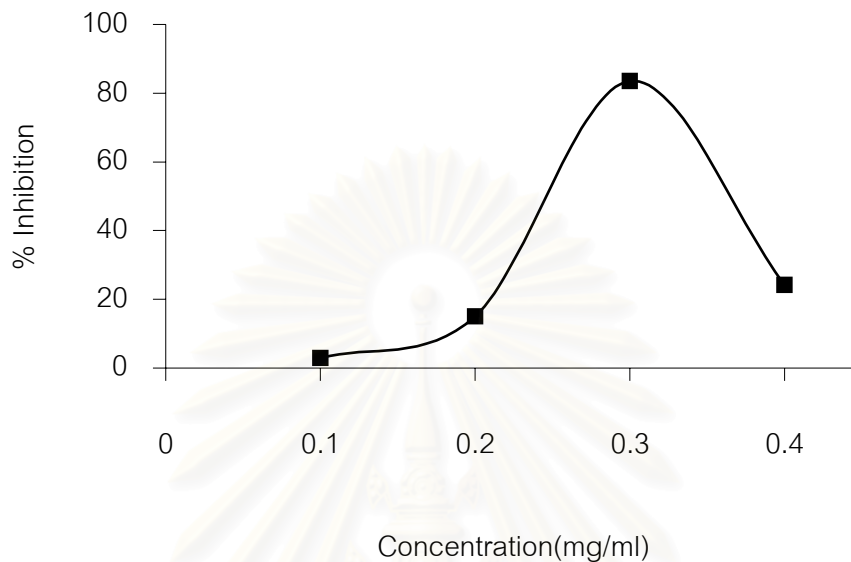
ตารางที่ 5 เปรียบเทียบการหดตัวของหลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์ ที่มีชั้น endothelial cells เมื่อกระตุ้นด้วย KCl ความเข้มข้นสูง ก่อนและหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (*Acacia catechu*, AC) ความเข้มข้น 0.4 mg/ml

การทดลอง	เปอร์เซ็นต์การหดตัวก่อนได้ AC	เปอร์เซ็นต์การหดตัวหลังได้ AC
1	100	67.593
2	100	83.197
3	100	58.607
4	100	60.938
5	100	90.579
6	100	97.679
Mean \pm SEM	100	76.432 \pm 6.401

รูปที่ 20 แสดงผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (AC) ความเข้มข้น 0.4 mg/ml ในหลอดเลือดสายสะดือที่มีชั้น endothelial cells ก่อน และหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือเมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ขนาดความเข้มข้น 5×10^{-4} M, 5×10^{-3} M, 15 และ 20 mM



รูปที่ 21 แสดงผลของสารสกัดสีเสียดเหนือที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือด เมื่อกระตุ้นด้วยสารมาตรฐาน KCl แบบสะสมความเข้มข้น

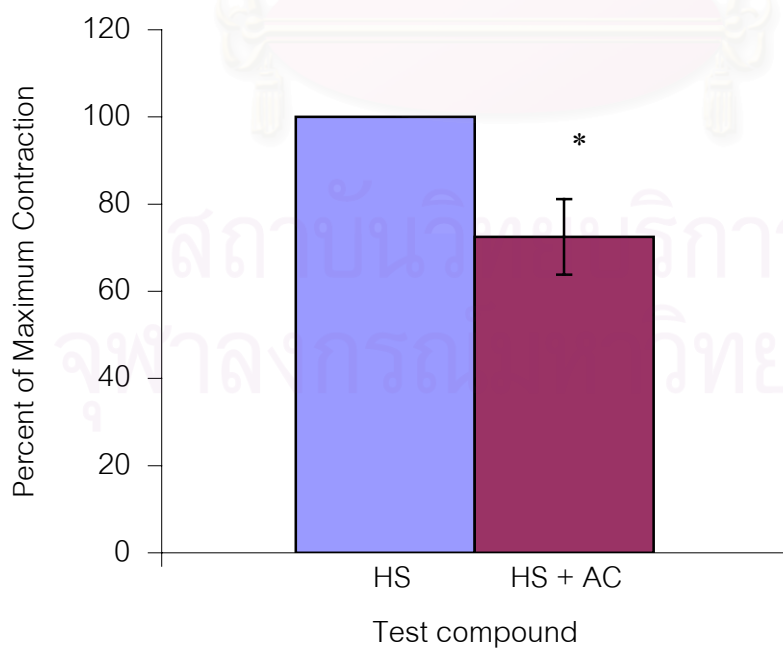


3) เมื่อกระตุ้นหลอดเลือดดำสายสะดือด้วย histamine ขนาดความเข้มข้น 10^{-5} M พบว่าสามารถกระตุ้นการหดตัวได้อย่างชัดเจน และเห็นผลเป็นเวลานาน วัดการหดตัวของหลอดเลือด ถือว่าเป็นการหดตัวก่อนได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (ตัวควบคุม) หลังจากนั้นล้างออกด้วย KHS หลายๆ ครั้ง แชน้ำเยื่อประมาณ 30 นาที โดยระหว่างนี้เปลี่ยนสารละลาย KHS ทุก 15 นาที จนกระทั่งความตึงตัวของหลอดเลือดเท่ากับ ความตึงตัวเมื่อเริ่มทำการทดลอง และคงที่ แล้วใส่สารที่ต้องการทดสอบ สารสกัดจากสีเสียดเหนือ ขนาด 0.1 mg/ml ลงไปก่อนประมาณ 10 นาที แล้วให้ histamine ขนาดความเข้มข้น 10^{-5} M และปล่อยให้หลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์หดตัวสูงสุด พบว่า ก่อนได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ ขนาด 0.1 mg/ml เมื่อกระตุ้นด้วย histamine หลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์ จะมีแรงตึงตัว 100 % และหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ เมื่อกระตุ้นด้วย histamine จะมีแรงตึงตัว เปรียบเทียบกับ maximum contraction มีค่า ร้อยละ 72.508 ± 8.668 ดังแสดงในตารางที่ 6 เมื่อเปรียบเทียบแรงตึงตัวของหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ก่อนและหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ พบว่า **แรงตึงตัวของหลอดเลือดแตกต่างกัน** อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.05$ ดังแสดงในรูปที่ 22

ตารางที่ 6 เปรียบเทียบการหดตัวของหลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์ ที่มีชั้น endothelial cells เมื่อกระตุ้นด้วย histamine ก่อนและหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (*Acacia catechu*, AC) ความเข้มข้น 0.1 mg/ml

การทดลอง	เปอร์เซ็นต์การหดตัว ก่อนได้ AC	เปอร์เซ็นต์การหดตัว หลังได้ AC
1	100	76.693
2	100	43.879
3	100	74.159
4	100	48.419
5	100	90.966
6	100	100.932
Mean \pm SEM	100	72.508 \pm 8.317

รูปที่ 22 แสดงผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือ(AC)ความเข้มข้น 0.1 mg/ml ในหลอดเลือดดำสายสะดือที่มีชั้น endothelial cells ก่อน และหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ เมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย histamine (HS) ความเข้มข้น 10^{-5} M

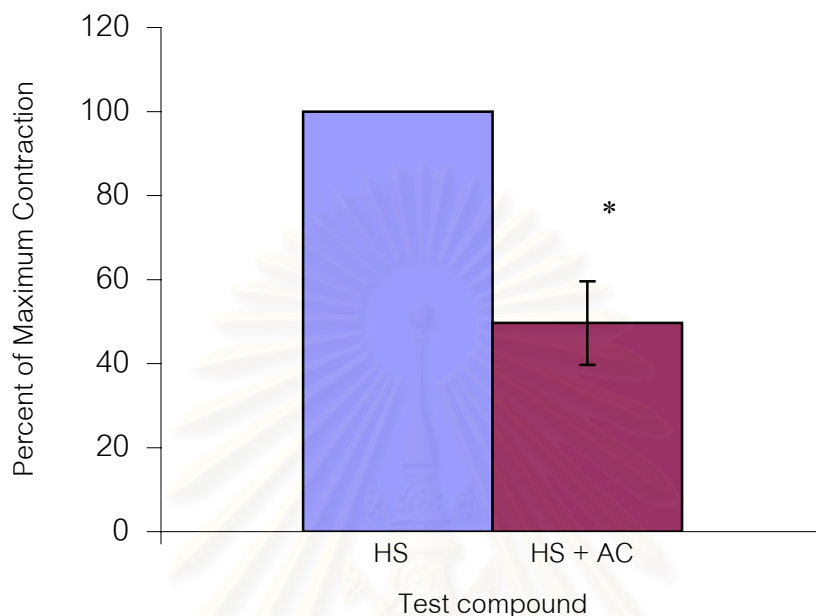


4) เมื่อกระตุ้นหลอดเลือดดำสายสะดือด้วย histamine ขนาดความเข้มข้น 10^{-5} M พบว่า สามารถกระตุ้นการหดตัวได้อย่างชัดเจน และเห็นผลเป็นเวลานาน วัดการหดตัวของหลอดเลือด ถือว่าเป็นการหดตัวก่อนได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (ตัวควบคุม) หลังจากนั้นล้างออกด้วย KHS หลายๆ ครั้ง แขนเนื้อเยื่อประมาณ 30 นาที โดยระหว่างนี้เปลี่ยนสารละลาย KHS ทุก 15 นาที จนกระทั่งความตึงตัวของหลอดเลือดเท่ากับ ความตึงตัวเมื่อเริ่มทำการทดลอง และคงที่ แล้วใส่สารที่ต้องการทดสอบ **สารสกัดจากสีเสียดเหนือ ขนาด 0.2 mg/ml** ลงไปก่อนประมาณ 10 นาที แล้วให้ histamine ขนาดความเข้มข้น 10^{-5} M และปล่อยให้หลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์หดตัวสูงสุด พบว่า ก่อนได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ ขนาด 0.2 mg/ml เมื่อกระตุ้นด้วย histamine หลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์จะมีแรงตึงตัว 100 % และหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ เมื่อกระตุ้นด้วย histamine จะมีแรงตึงตัว เปรียบเทียบกับ maximum contraction มีค่า ร้อยละ 49.655 ± 9.960 ดังแสดงในตารางที่ 7 เมื่อเปรียบเทียบแรงตึงตัวของหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ก่อนและหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ พบว่า **แรงตึงตัวของหลอดเลือดแตกต่างกัน** อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.05$ ดังแสดงในรูปที่ 23

ตารางที่ 7 เปรียบเทียบการหดตัวของหลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์ ที่มีชั้น endothelial cells เมื่อกระตุ้นด้วย histamine ก่อนและหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (*Acacia catechu*, AC) ความเข้มข้น 0.2 mg/ml

การทดลอง	เปอร์เซ็นต์การหดตัว	เปอร์เซ็นต์การหดตัว
	ก่อนได้ AC	หลังได้ AC
1	100	28.097
2	100	63.309
3	100	69.675
4	100	37.538
Mean \pm SEM	100	49.655 ± 9.960

รูปที่ 23 แสดงผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (AC) ความเข้มข้น 0.2 mg/ml ในหลอดเลือดสายสะดือที่มีชั้น endothelial cells ก่อน และหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ เมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย histamine (HS) ความเข้มข้น 10^{-5} M

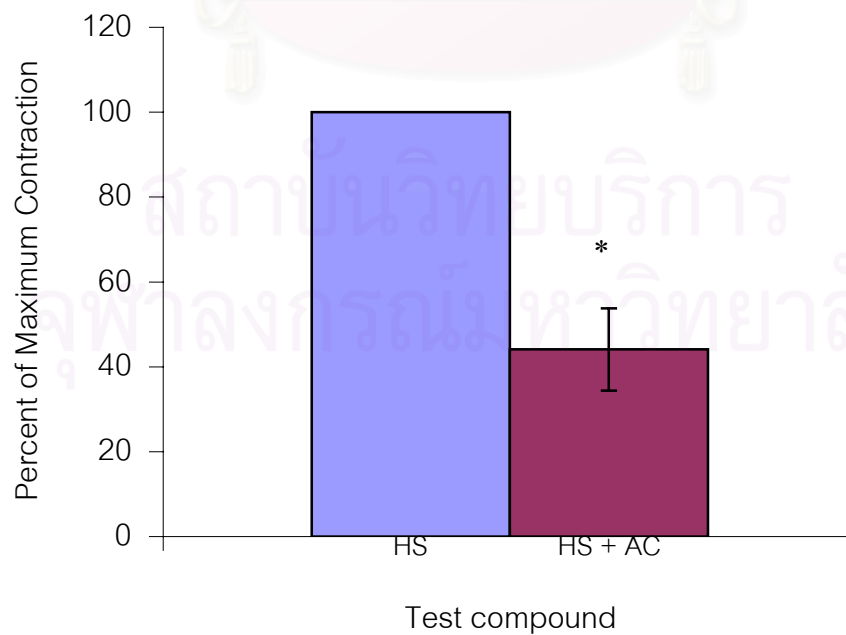


5) เมื่อกระตุ้นหลอดเลือดดำสายสะดือด้วย histamine ขนาดความเข้มข้น 10^{-5} M พบว่า สามารถกระตุ้นการหดตัวได้อย่างชัดเจน และเห็นผลเป็นเวลานาน วัดการหดตัวของหลอดเลือด ถือว่าเป็นการหดตัวก่อนได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (ตัวควบคุม) หลังจากนั้นล้างออกด้วย KHS หลายๆ ครั้ง แช่เนื้อเยื่อประมาณ 30 นาที โดยระหว่างนี้เปลี่ยนสารละลาย KHS ทุก 15 นาที จนกระทั่งความตึงตัวของหลอดเลือดเท่ากับ ความตึงตัวเมื่อเริ่มทำการทดลอง และคงที่ แล้วใส่สารที่ต้องการทดสอบ **สารสกัดจากสีเสียดเหนือ ขนาด 0.3 mg/ml** ลงไปก่อนประมาณ 10 นาที แล้วให้ histamine ขนาดความเข้มข้น 10^{-5} M และปล่อยให้หลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์หดตัวสูงสุด พบว่า ก่อนได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ ขนาด 0.3 mg/ml เมื่อกระตุ้นด้วย Histamine หลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์จะมีแรงตึงตัว 100 % และหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ เมื่อกระตุ้นด้วย histamine จะมีแรงตึงตัวเปรียบเทียบกับ maximum contraction มีค่าร้อยละ 44.108 ± 9.707 ดังแสดงในตารางที่ 8 เมื่อเปรียบเทียบแรงตึงตัวของหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ก่อนและหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ พบว่า **แรงตึงตัวของหลอดเลือดแตกต่างกัน** อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.05$ ดังแสดงในรูปที่ 24

ตารางที่ 8 เปรียบเทียบการหดตัวของหลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์ ที่มีชั้น endothelial cells เมื่อกระตุ้นด้วย histamine ก่อนและหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (*Acacia catechu*, AC) ความเข้มข้น 0.3 mg/ml

การทดลอง	เปอร์เซ็นต์การหดตัว ก่อนได้ AC	เปอร์เซ็นต์การหดตัว หลังได้ AC
1	100	28.410
2	100	60.285
3	100	18.062
4	100	69.675
5	100	39.700
Mean \pm SEM	100	44.108 \pm 9.707

รูปที่ 24 แสดงผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (AC) ความเข้มข้น 0.3 mg/ml ในหลอดเลือดสายสะดือที่มีชั้น endothelial cells ก่อน และหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ เมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย histamine (HS) ความเข้มข้น 10^{-5} M



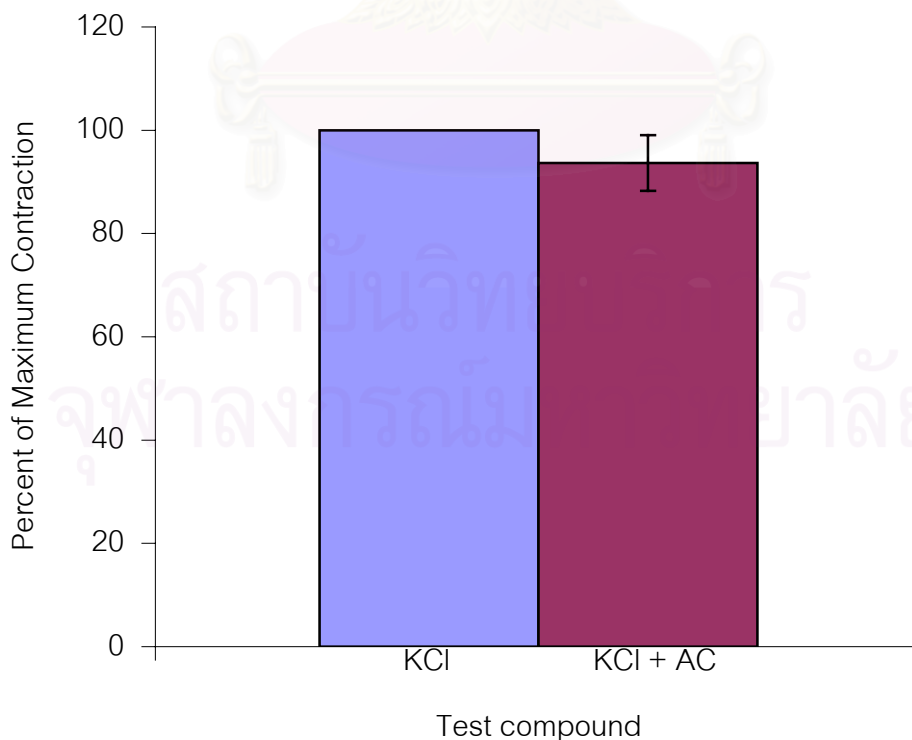
3. ผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนื่อที่มีความเข้มข้น 0.3 mg/ml ในหลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์ ที่ไม่มีชั้น endothelial cells เมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl และ histamine

1) เมื่อแยกหลอดเลือดดำสายสะดือออกจาก umbilical cord ได้แล้ว ทำให้หลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์ปราศจาก จากชั้น endothelial cells ได้โดยการใช้น้ cotton bud ขูดเอาชั้น endothelial cells ออก แล้วทำการกระตุ้นหลอดเลือดดำสายสะดือด้วย KCl ขนาดสูง แบบสะสมขนาดความเข้มข้น 5×10^{-4} M, 5×10^{-3} M, 15 และ 20 mM ตามลำดับ พบว่า สามารถกระตุ้นการหดตัวได้อย่างชัดเจน และเห็นผลเป็นเวลานาน วัดการหดตัวของหลอดเลือด ถือว่าเป็นการหดตัวก่อนได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ (ตัวควบคุม) หลังจากนั้นล้างออกด้วย KHS หลายๆ ครั้ง เชื้อเนื้อเยื่อประมาณ 30 นาที โดยระหว่างนี้เปลี่ยนสารละลาย KHS ทุก 15 นาที จนกระทั่งความตึงตัวของหลอดเลือดเท่ากับ แรงตึงตัวเมื่อเริ่มทำการทดลอง และคงที่ แล้วใส่สารที่ต้องการทดสอบ สารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ ขนาด 0.3 mg/ml ลงไปก่อนประมาณ 10 นาที แล้วให้ KCl ขนาดสูง แบบสะสมขนาดความเข้มข้น และปล่อยให้หลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์หดตัวสูงสุด พบว่า ก่อนได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ ขนาด 0.3 mg/ml เมื่อกระตุ้นด้วย KCl แบบสะสมความเข้มข้น หลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์จะมีแรงตึงตัว 100 % และหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ เมื่อกระตุ้นด้วย KCl แบบสะสมความเข้มข้น จะมีแรงตึงตัวร้อยละ 93.670 ± 5.375 ดังแสดงในตารางที่ 9 เมื่อเปรียบเทียบแรงตึงตัวของหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ก่อนและหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ พบว่า แรงตึงตัวของหลอดเลือดแตกต่างกัน อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.05$ ดังแสดงในรูปที่ 25

ตารางที่ 9 เปรียบเทียบการหดตัวของหลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์ ที่ไม่มีชั้น endothelial cells เมื่อกระตุ้นด้วย KCl ความเข้มข้นสูง ก่อนและหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (*Acacia catechu*, AC) ความเข้มข้น 0.3 mg/ml

การทดลอง	เปอร์เซ็นต์การหดตัว ก่อนได้ AC	เปอร์เซ็นต์การหดตัว หลังได้ AC
1	100	104.603
2	100	79.506
3	100	75.452
4	100	115.118
5	100	113.298
Mean \pm SEM	100	93.670 \pm 5.275

รูปที่ 25 แสดงผลของสารสกัดจากสีเสียด (AC) เหนือความเข้มข้น 0.3 mg/ml ในหลอดเลือดสายสะดือที่ไม่มีชั้น endothelial cells ก่อน และหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ เมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ขนาดความเข้มข้น 5×10^{-4} M, 5×10^{-3} M, 15 และ 20 mM

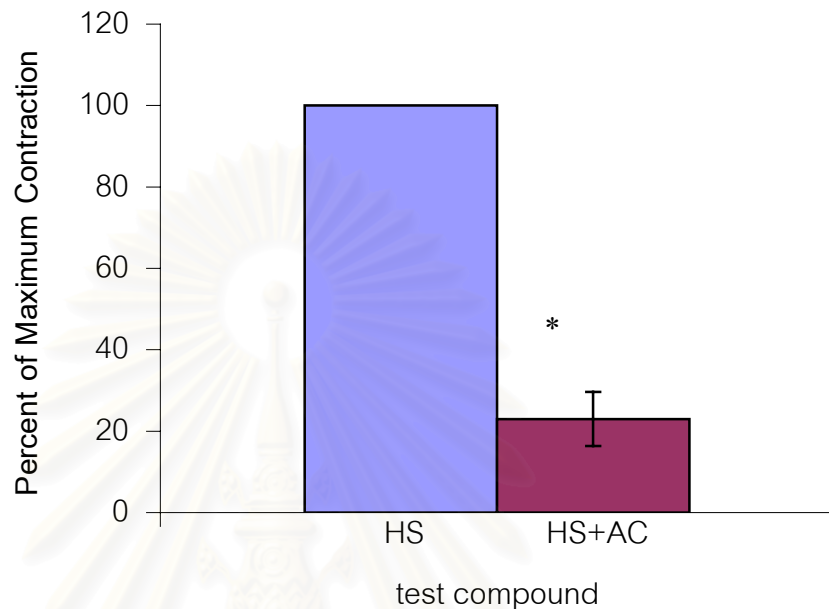


2) เมื่อแยกหลอดเลือดดำสายสะดือออกจาก umbilical cord ได้แล้ว ทำให้หลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์ปราศจาก จากชั้น endothelial cells ได้โดยการใช้น้ cotton bud ขูดเอาชั้น endothelial cells ออก แล้วทำการกระตุ้นหลอดเลือดดำสายสะดือ ด้วย histamine ความเข้มข้น 10^{-5} mM พบว่า สามารถกระตุ้นการหดตัวได้อย่างชัดเจน และเห็นผลเป็นเวลานาน วัดการหดตัวของหลอดเลือด ถือว่าเป็นการหดตัวก่อนได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ (ตัวควบคุม) หลังจากนั้นล้างออกด้วย KHS หลายๆ ครั้ง เชื้อเนื้อเยื่อประมาณ 30 นาที โดยระหว่างนี้เปลี่ยนสารละลาย KHS ทุก 15 นาที จนกระทั่งความตึงตัวของหลอดเลือดเท่ากับ ความตึงตัวเมื่อเริ่มทำการทดลอง และคงที่ แล้วสารที่ต้องการทดสอบ **สารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ ขนาด 0.3 mg/ml** ลงไปก่อนประมาณ 10 นาที แล้วให้ histamine ความเข้มข้น 10^{-5} mM และปล่อยให้หลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์หดตัวสูงสุด พบว่า ก่อนได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ ขนาด 0.3 mg/ml เมื่อกระตุ้นด้วย histamine หลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์จะมีแรงตึงตัว 100 % และหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ เมื่อกระตุ้นด้วย histamine จะมีแรงตึงตัวร้อยละ 22.982 ± 6.660 ดังแสดงในตารางที่ 10 เมื่อเปรียบเทียบแรงตึงตัวของหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ก่อนและหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ พบว่า **แรงตึงตัวของหลอดเลือดแตกต่างกัน** อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.05$ ดังแสดงในรูปที่ 26

ตารางที่ 10 เปรียบเทียบการหดตัวของหลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์ ที่ไม่มีชั้น Endothelial cells เมื่อกระตุ้นด้วย histamine ก่อนและหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ (*Acacia catechu*, AC) ความเข้มข้น 0.3 mg/ml

การทดลอง	เปอร์เซ็นต์การหดตัว ก่อนได้ AC	เปอร์เซ็นต์การหดตัว หลังได้ AC
1	100	-0.518
2	100	24.281
3	100	27.539
4	100	40.626
5	100	21.939
Mean \pm SEM	100	22.982 ± 6.660

รูปที่ 26 แสดงผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (AC) ความเข้มข้น 0.3 mg/ml ในหลอดเลือดสายสะดือที่ไม่มีชั้น endothelial cells ก่อน และหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ เมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย histamine (HS) ความเข้มข้น 10^{-5} M



4. ผลของสารสกัดสีเสียดเหนือ ในหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ เมื่อให้สารยับยั้งการหลั่ง EDRFs ได้แก่ N^G -nitro-L-arginine (NLA), Indomethacin (Indo) และ Tetracethylammonium chloride (TEA)

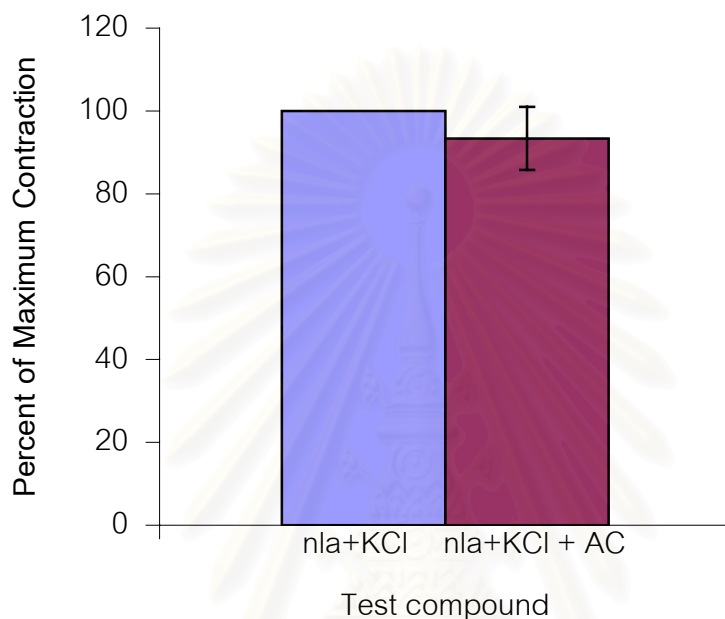
1) เมื่อกระตุ้นหลอดเลือดดำสายสะดือที่มีชั้น endothelial cell ด้วย NLA ความเข้มข้น 3×10^{-5} M แล้ววัดการหดตัวของหลอดเลือด พบว่า แรงตึงตัวของหลอดเลือดไม่เปลี่ยนแปลง เมื่อเวลาผ่านไปนาน 9 นาที ให้สารมาตรฐาน KCl ขนาดสูงความเข้มข้น 5×10^{-4} M, 5×10^{-3} M, 15 และ 20 mM ตามลำดับ แล้ววัดการหดตัวของหลอดเลือด ถือว่าเป็นการหดตัวก่อนได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (ตัวควบคุม) หลังจากนั้นล้างออกด้วย KHS หลายๆ ครั้ง แขนือเยื่อไว้ประมาณ 30 นาที โดยระหว่างนี้เปลี่ยนสารละลาย KHS ทุก 15 นาที จนกระทั่งความตึงตัวของหลอดเลือดเท่ากับ ความตึงตัวเมื่อเริ่มทำการทดลอง และคงที่ ใส่ NLA ลงไปนาน 4 นาที แล้วใส่สารที่ต้องการทดสอบ สารสกัดจากสีเสียดเหนือ ขนาด 0.3 mg/ml ลงไปนาน 5 นาที แล้วให้ KCl ขนาดสูง แบบสะสมขนาดความเข้มข้นขึ้น ปล่อยให้หลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์หดตัวสูงสุด พบว่า ก่อนได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ ขนาด 0.3 mg/ml และกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ขนาดสูง แบบสะสมขนาดความเข้มข้นแล้ว หลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์จะมีแรงตึง

ตัวร้อยละ 100 % และหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ เมื่อกระตุ้นด้วย KCl แบบผสมขนาด ความเข้มข้น จะมีแรงดึงตัวร้อยละ 93.363 ± 7.607 ดังแสดงในตารางที่ 11 เมื่อเปรียบเทียบแรง ดึงตัวของหลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์ เมื่อได้รับสารยับยั้งการสังเคราะห์ nitric oxide ด้วย NLA ก่อนและหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ ขนาด 0.3 mg/ml พบว่า แรงดึงตัวของหลอดเลือด แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.05$ ดังแสดงในรูปที่ 27

ตารางที่ 11 เปรียบเทียบการหดตัวของหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ ที่มีชั้น endothelial cell เมื่อ ได้รับสารยับยั้งการสังเคราะห์ nitric oxide, NLA ขนาด 3×10^{-5} mM เมื่อกระตุ้นด้วย KCl ขนาด สูง แบบผสมความเข้มข้น ก่อนและหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (*Acacia catechu*, AC) ความเข้มข้น 0.3 mg/ml

การทดลอง	เปอร์เซ็นต์การหดตัว ก่อนได้ AC	เปอร์เซ็นต์การหดตัว หลังได้ AC
1	100	128.883
2	100	90.666
3	100	61.199
4	100	92.702
5	100	64.143
Mean \pm SEM	100	93.363 ± 7.607

รูปที่ 27 แสดงผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือ(AC)ความเข้มข้น 0.3 mg/ml ในหลอดเลือดสายสะดือที่มีชั้น endothelial cells เมื่อได้รับสารยับยั้งการสังเคราะห์ nitric oxide NLA ขนาด 3×10^{-5} mM และกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ขนาดสูง แบบสะสมความเข้มข้น (5×10^{-4} M, 5×10^{-3} M, 15 และ 20 mM)



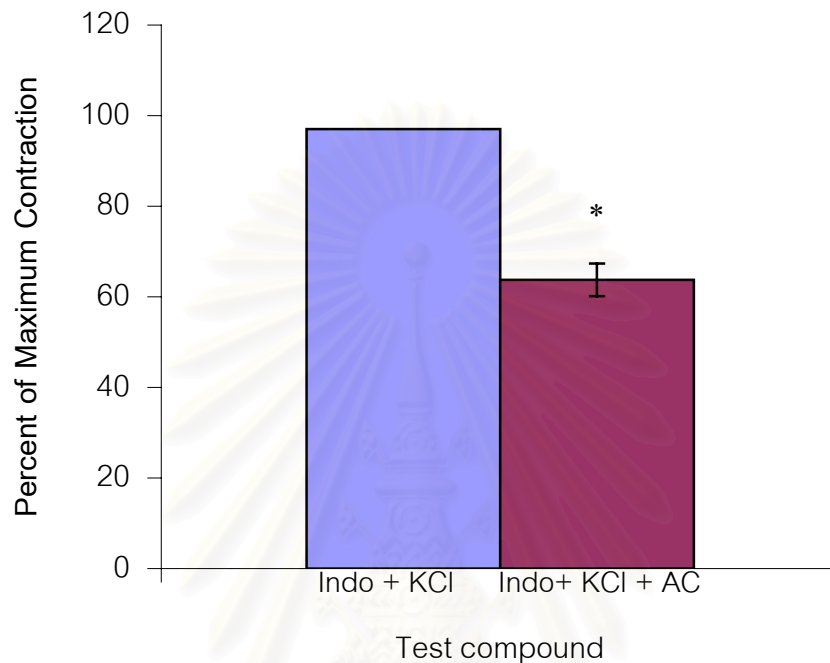
1) เมื่อกระตุ้นหลอดเลือดดำสายสะดือด้วย Indo ความเข้มข้น 5×10^{-5} M แล้ววัดการหดตัวของหลอดเลือด พบว่า แรงตึงตัวของหลอดเลือดไม่เปลี่ยนแปลง เมื่อเวลาผ่านไปนาน 9 นาที ให้สารมาตราฐาน KCl ขนาดสูง แบบสะสมความเข้มข้น 5×10^{-4} M, 5×10^{-3} M, 15 และ 20 mM ตามลำดับ แล้ววัดการหดตัวของหลอดเลือด ถือว่าเป็นการหดตัวก่อนได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (ตัวควบคุม) หลังจากนั้นล้างออกด้วย KHS หลายๆ ครั้ง แซ่เนื้อเยื่อไว้ประมาณ 30 นาที โดยระหว่างนี้เปลี่ยนสารละลาย KHS ทุก 15 นาที จนกระทั่งความตึงตัวของหลอดเลือดเท่ากับ ความตึงตัวเมื่อเริ่มทำการทดลอง และคงที่ ใส่ Indo ความเข้มข้น 5×10^{-5} M ลงไปนาน 4 นาที แล้วใส่สารที่ต้องการทดสอบ สารสกัดจากสีเสียดเหนือ ขนาด 0.3 mg/ml ลงไปนาน 5 นาที แล้วให้ KCl ขนาดสูง แบบสะสมขนาดความเข้มข้นขึ้น และปล่อยให้หลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์หดตัวสูงสุด พบว่า ก่อนได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ ขนาด 0.3 mg/ml และกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ขนาดสูง แบบสะสมขนาดความเข้มข้นแล้ว พบว่า หลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์จะมีแรงตึงตัว 100 % และหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ เมื่อกระตุ้นด้วย KCl ขนาดสูง แบบสะสมขนาดความเข้มข้น จะมีแรงตึงตัวร้อยละ 46 ± 3.584 ดังแสดงในตารางที่ 12

เมื่อเปรียบเทียบแรงดึงตัวของหลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์ เมื่อได้รับ Indo ซึ่งเป็น cyclooxygenase inhibitors ก่อนและหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ ขนาด 0.3 mg/ml แล้วพบว่า แรงดึงตัวของหลอดเลือดแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.05$ ดังแสดงในรูปที่ 28

ตารางที่ 12 เปรียบเทียบการหดตัวของหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ ที่มีชั้น endothelial cell เมื่อได้รับสารยับยั้งการสังเคราะห์ prostacyclin Indo ความเข้มข้น 5×10^{-5} mM เมื่อกระตุ้นด้วย KCl ขนาดสูง แบบสะสมความเข้มข้น ก่อน และหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (*Acacia catechu*, AC) ความเข้มข้น 0.3 mg/ml

การทดลอง	เปอร์เซ็นต์การหดตัว ก่อนได้ AC	เปอร์เซ็นต์การหดตัว หลังได้ AC
1	100	77.402
2	100	53.262
3	100	64.608
4	100	66.018
5	100	67.331
Mean \pm SEM	100	65.323 \pm 3.584

รูปที่ 28 แสดงผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือความเข้มข้น 0.3 mg/ml ในหลอดเลือดสายสะดือที่มีชั้น endothelial cells เมื่อได้รับ Indo ขนาด 5×10^{-5} M และกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ขนาดสูง แบบสะสมความเข้มข้น (5×10^{-4} M, 5×10^{-3} M, 15 และ 20 mM)



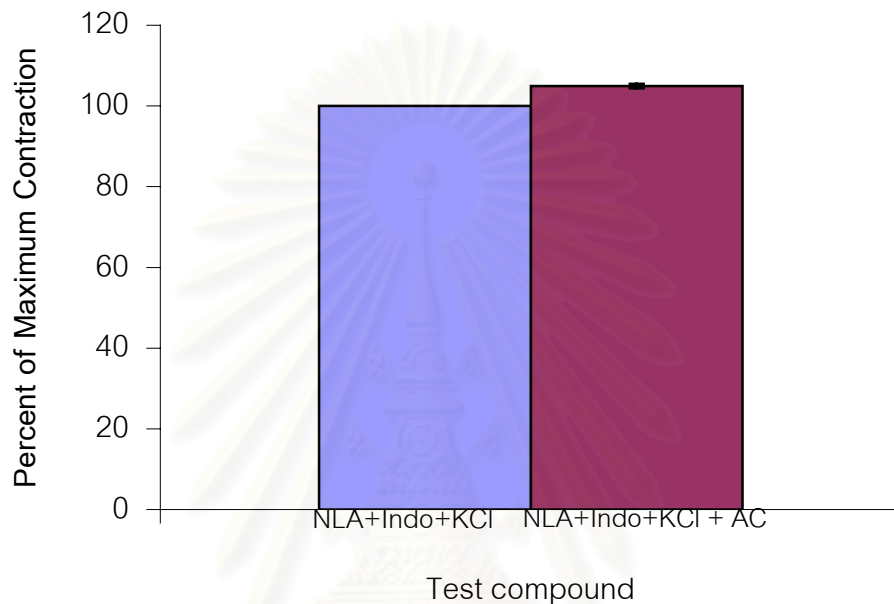
2) เมื่อกระตุ้นหลอดเลือดดำสายสะดือด้วย NLA ความเข้มข้น 3×10^{-5} M และ Indo ความเข้มข้น 5×10^{-5} M ที่นาทีที่ 1 และ 2 ตามลำดับ แล้ววัดการหดตัวของหลอดเลือด พบว่า แรงดึงตัวของหลอดเลือดไม่เปลี่ยนแปลง เมื่อเวลาผ่านไปนาน 8 นาที ให้สารมาตราฐาน KCl ความเข้มข้น 5×10^{-4} M, 5×10^{-3} M, 15 และ 20 mM ตามลำดับ แล้ววัดการหดตัวของหลอดเลือด ถือว่าเป็นการหดตัวก่อนได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (ตัวควบคุม) หลังจากนั้นล้างออกด้วย KHS หลายๆ ครั้ง แซ่เนื้อเยื่อไว้ประมาณ 30 นาที โดยระหว่างนี้เปลี่ยนสารละลาย KHS ทุก 15 นาที จนกระทั่งความตึงตัวของหลอดเลือดเท่ากับ ความตึงตัวเมื่อเริ่มทำการทดลอง และคงที่ใส่ NLA ความเข้มข้น 3×10^{-5} M และ Indo ความเข้มข้น 5×10^{-5} M ที่นาทีที่ 1 และ 2 ตามลำดับลงไปนาน 3 นาที แล้วใส่สารที่ต้องการทดสอบ คือ สารสกัดจากสีเสียดเหนือ ขนาด 0.3 mg/ml ลงไปนาน 5 นาที แล้วให้ KCl แบบสะสมขนาดความเข้มข้น 5×10^{-4} M, 5×10^{-3} M, 15 และ 20 mM ตามลำดับ พบว่า ก่อนได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ ขนาด 0.3 mg/ml และกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl แบบสะสมขนาดความเข้มข้นแล้ว พบว่า หลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์จะมีแรงดึงตัว 100 % และหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ เมื่อกระตุ้นด้วย KCl ขนาดสูง แบบสะสมขนาดความเข้มข้น จะมีแรงดึงตัวร้อยละ 104.946 ± 0.5627 ดังแสดงในตารางที่

13 เมื่อเปรียบเทียบแรงดึงตัวของหลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์ เมื่อได้รับสารยับยั้งการสังเคราะห์ nitric oxide ด้วย NLA และ Indo ซึ่งเป็น cyclooxygenase inhibitors ก่อนและหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ ขนาด 0.3 mg/ml แล้ว พบว่า แรงดึงตัวของหลอดเลือดแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.05$ ดังแสดงในรูปที่ 29

ตารางที่ 13 เปรียบเทียบการหดตัวของหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ ที่มีชั้น endothelial cell เมื่อได้รับ NLA ความเข้มข้น 3×10^{-5} M และ Indo ความเข้มข้น 5×10^{-5} M เมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ขนาดสูงแบบสะสมความเข้มข้น ก่อนและหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (Acacia catechu, AC) ความเข้มข้น 0.3 mg/ml

การทดลอง	เปอร์เซ็นต์การหดตัวก่อนได้ AC	เปอร์เซ็นต์การหดตัวหลังได้ AC
1	100	109.981
2	100	112.211
3	100	96.250
4	100	101.341
5	100	103.158
Mean \pm SEM	100	104.946 \pm 0.562

รูปที่ 29 แสดงผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ (AC) ความเข้มข้น 0.3 mg/ml ในหลอดเลือดสายสะดือที่มีชั้น endothelial cells เมื่อได้รับ NLA ความเข้มข้น 3×10^{-5} M และ Indo ขนาด 5×10^{-5} M เมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ขนาดสูง แบบสะสมความเข้มข้น (5×10^{-4} M, 5×10^{-3} M, 15 และ 20 mM)



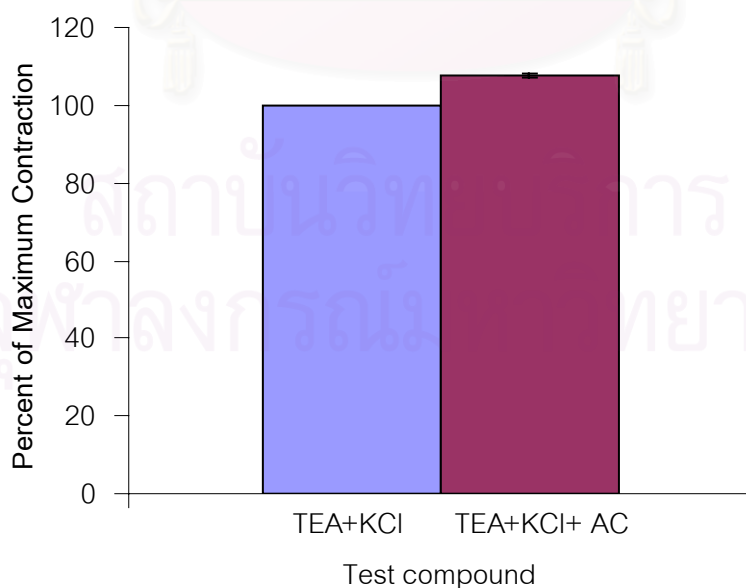
1) เมื่อกระตุ้นหลอดเลือดดำสายสะดือด้วย TEA ความเข้มข้น 10^{-10} M แล้ววัดการหดตัวของหลอดเลือด พบว่า แรงดึงตัวของหลอดเลือดมีการหดตัวเพิ่มขึ้น เมื่อเวลาผ่านไปนาน 9 นาที ให้สารมาตรฐาน KCl ขนาดสูง ความเข้มข้น 5×10^{-4} M, 5×10^{-3} M, 15 และ 20 mM ตามลำดับ แล้ววัดการหดตัวของหลอดเลือด ถือว่าเป็นการหดตัวก่อนได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ (ตัวควบคุม) หลังจากนั้นล้างออกด้วย KHS หลายๆ ครั้ง แช่เนื้อเยื่อไว้ประมาณ 30 นาที โดยระหว่างนี้เปลี่ยนสารละลาย KHS ทุก 15 นาที จนกระทั่งความดึงตัวของหลอดเลือดเท่ากับ ความดึงตัวเมื่อเริ่มทำการทดลอง และคงที่ ใส่ TEA ความเข้มข้น 10^{-10} M ลงไปนาน 4 นาที แล้วใส่สารที่ต้องการทดสอบ คือ สารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ ขนาด 0.3 mg/ml ลงไปนาน 5 นาที แล้วให้ KCl ขนาดความเข้มข้นขึ้น และปล่อยให้หลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์หดตัวสูงสุด พบว่า ก่อนได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ ขนาด 0.3 mg/ml และกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl แบบสะสมขนาดความเข้มข้นแล้ว พบว่า หลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์จะมีแรงดึงตัว 100 % และหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ เมื่อกระตุ้นด้วย KCl ขนาดสูง แบบสะสมขนาดความเข้มข้น จะมีแรงดึงตัวร้อยละ 95.859 ± 0.658 ดังแสดงในตารางที่ 14 เมื่อเปรียบเทียบแรงดึงตัว

ของหลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์ เมื่อได้รับ TEA ซึ่งเป็น potassium channel blocker ก่อนและหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ ขนาด 0.3 mg/ml แล้ว พบว่า แรงดึงตัวของหลอดเลือดแตกต่างกัน อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.05$ ดังแสดงในรูปที่ 30

ตารางที่ 14 เปรียบเทียบการหดตัวของหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ ที่มีชั้น endothelial cell เมื่อได้รับ TEA ความเข้มข้น 10^{-10} M เมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ขนาดสูง แบบสะสมความเข้มข้น ก่อนและหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (*Acacia catechu*, AC) ความเข้มข้น 0.3 mg/ml

การทดลอง	เปอร์เซ็นต์การหดตัวก่อนได้ AC	เปอร์เซ็นต์การหดตัวก่อนได้ AC
1	100	104.627
2	100	105.841
3	100	119.080
4	100	101.146
5	100	107.288
Mean \pm SEM	100	107.673 \pm 0.658

รูปที่ 31 แสดงผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (AC) ความเข้มข้น 0.3 mg/ml ในหลอดเลือดสายสะดือที่มีชั้น endothelial cells เมื่อได้รับ TEA ความเข้มข้น 10^{-10} M และกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ขนาดสูง แบบสะสมความเข้มข้น (5×10^{-4} M, 5×10^{-3} M, 15 และ 20 mM)

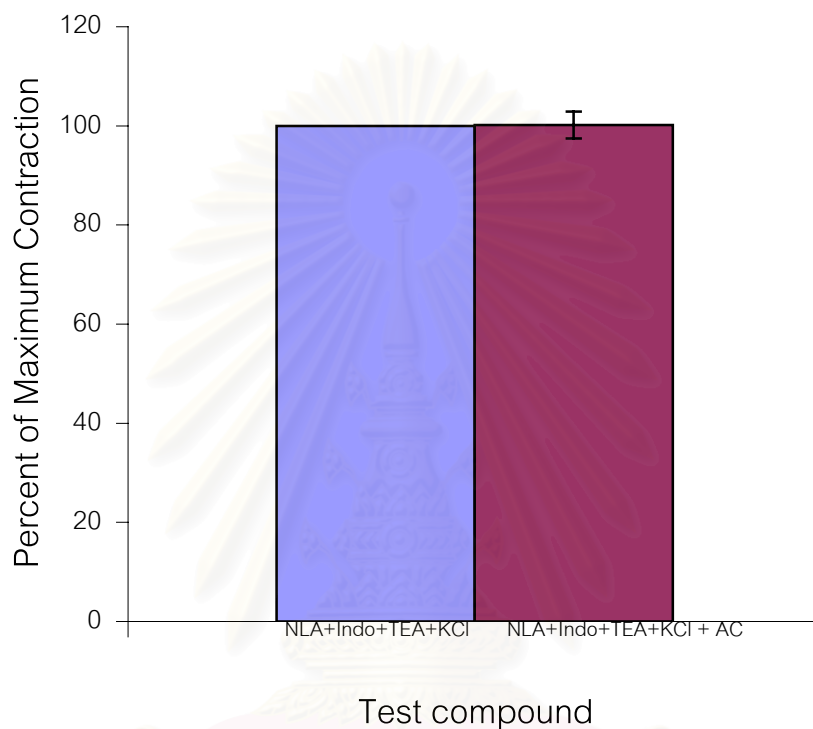


5) เมื่อกระตุ้นหลอดเลือดดำสายสะดือด้วย NLA ความเข้มข้น 3×10^{-5} M, Indo ความเข้มข้น 5×10^{-5} M และ TEA ความเข้มข้น 10^{-10} M ที่นาทีที่ 1, 2 และ 3 ตามลำดับ แล้ววัดการหดตัวของหลอดเลือด พบว่า แรงดึงตัวของหลอดเลือดไม่เปลี่ยนแปลง เมื่อเวลาผ่านไปนาน 7 นาที ให้สารมาตราฐาน KCl ขนาดสูง ความเข้มข้น 5×10^{-4} M, 5×10^{-3} M, 15 และ 20 mM ตามลำดับ แล้ววัดการหดตัวของหลอดเลือด ถือว่าเป็นการหดตัวก่อนได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (ตัวควบคุม) หลังจากนั้นล้างออกด้วย KHS หลายๆ ครั้ง แช่เนื้อเยื่อไว้ประมาณ 30 นาที โดยระหว่างนี้เปลี่ยนสารละลาย KHS ทุก 15 นาที จนกระทั่งความดึงตัวของหลอดเลือดเท่ากับ ความดึงตัวเมื่อเริ่มทำการทดลอง และคงที่ ใส่ NLA ความเข้มข้น 3×10^{-5} M, Indo ความเข้มข้น 5×10^{-5} M และ TEA ความเข้มข้น 10^{-10} M ที่นาทีที่ 1, 2 และ 3 ตามลำดับ นาน 2 นาที แล้วใส่สารที่ต้องการทดสอบ คือ **สารสกัดจากสีเสียดเหนือ ขนาด 0.3 mg/ml** ลงไปนาน 5 นาที แล้วให้ KCl ขนาดสูง แบบสะสมขนาดความเข้มข้นขึ้น ก่อนได้รับ**สารสกัดจากสีเสียดเหนือ ขนาด 0.3 mg/ml** และกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl แบบสะสมขนาดความเข้มข้นแล้ว พบว่า หลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์จะมีแรงดึงตัว 100 % และหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ เมื่อกระตุ้นด้วย KCl ขนาดสูง แบบสะสมขนาดความเข้มข้น จะมีแรงดึงตัวร้อยละ 100.156 ± 2.716 ดังแสดงในตารางที่ 15 เมื่อเปรียบเทียบแรงดึงตัวของหลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์ เมื่อได้รับสารยับยั้งการสังเคราะห์ nitric oxide และ NLA ร่วมกับ Indo ซึ่งเป็น cyclooxygenase inhibitors และร่วมกับ TEA ซึ่งเป็น potassium channel blocker ก่อนและหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ ขนาด 0.3 mg/ml แล้ว พบว่า แรงดึงตัวของหลอดเลือดแตกต่างกัน อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.05$ ดังแสดงในรูปที่ 31

ตารางที่ 15 เปรียบเทียบการหดตัวของหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ ที่มีชั้น endothelial cell เมื่อได้รับ NLA ความเข้มข้น 3×10^{-5} M Indo ขนาด 5×10^{-5} M และ TEA ความเข้มข้น 10^{-10} M เมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ขนาดสูง แบบสะสมความเข้มข้นก่อนและหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (*Acacia catechu*, AC) ความเข้มข้น 0.3 mg/ml

การทดลอง	เปอร์เซ็นต์การหดตัวก่อนได้ AC	เปอร์เซ็นต์การหดตัวก่อนได้ AC
1	100	98.896
2	100	82.834
3	100	111.448
4	100	107.446
5	100	100.522
Mean \pm SEM	100	100.156 \pm 2.716

รูปที่ 31 แสดงผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ (AC) ความเข้มข้น 0.3 mg/ml ในหลอดเลือดสายสะดือที่มีชั้น endothelial cells เมื่อได้รับ NLA ความเข้มข้น 3×10^{-5} M Indo ขนาด 5×10^{-5} M และ TEA ความเข้มข้น 10^{-10} M และกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ขนาดสูง แบบสะสมความเข้มข้น (5×10^{-4} M, 5×10^{-3} M, 15 และ 20 mM)



5. ผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ เมื่อให้สารยับยั้ง bradykinin receptor ได้แก่ icatibent (HOE 140) ในหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ที่มีชั้น endothelial cell

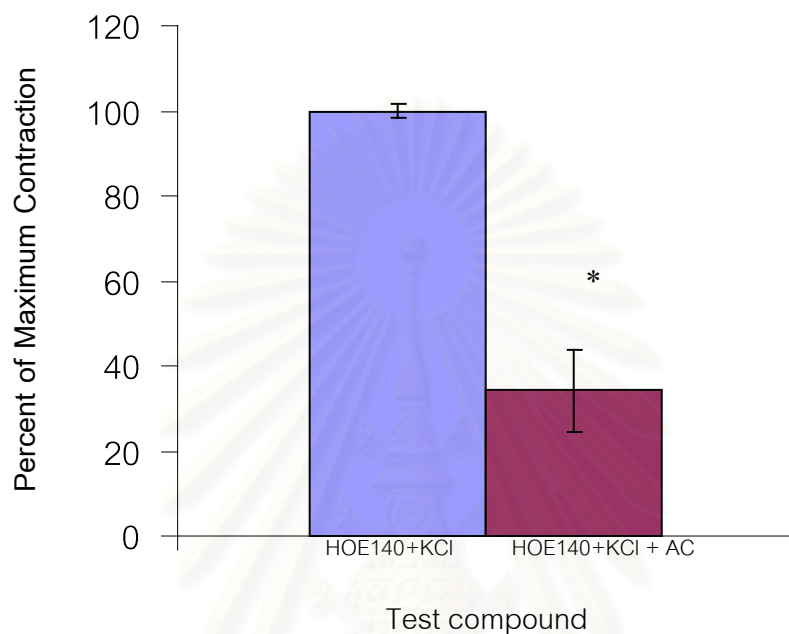
1) เมื่อกระตุ้นหลอดเลือดดำสายสะดือด้วย HOE 140 ความเข้มข้น 10^{-8} M แล้ววัดการหดตัวของหลอดเลือด พบว่า แรงดึงตัวของหลอดเลือดไม่เปลี่ยนแปลง เมื่อเวลาผ่านไปนาน 9 นาที ให้ KCl ขนาดสูง แบบสะสมความเข้มข้น 5×10^{-4} M, 5×10^{-3} M, 15 และ 20 mM ตามลำดับ แล้ววัดการหดตัวของหลอดเลือด ถือว่าเป็นการหดตัวก่อนได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ (ตัวควบคุม) หลังจากนั้นล้างออกด้วย KHS หลายๆ ครั้ง แขน้อเยื่อไว้ประมาณ 30 นาที โดยระหว่างนี้เปลี่ยนสารละลาย KHS ทุก 15 นาที จนกระทั่งความดึงตัวของหลอดเลือดเท่ากับ ความดึงตัวเมื่อเริ่มทำการทดลอง และคงที่ ใส่ HOE 140 ความเข้มข้น 10^{-8} M ลงไปนาน 4 นาที แล้วใส่สารที่ต้องการทดสอบ คือ สารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ ขนาด 0.3 mg/ml ลงไปนาน

5 นาที แล้วให้ KCl ขนาดสูง แบบสะสมขนาดความเข้มข้นขึ้น และปล่อยให้หลอดเลือดดำสาย สะดือมนุษย์หดตัวสูงสุด พบว่า ก่อนได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ ขนาด 0.3 mg/ml และกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ขนาดสูง แบบสะสมขนาดความเข้มข้นแล้ว พบว่า หลอดเลือดดำสาย สะดือมนุษย์จะมีแรงตึงตัว 100 % และหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ เมื่อกระตุ้นด้วย KCl ขนาดสูง แบบสะสมขนาดความเข้มข้น จะมีแรงตึงตัวร้อยละ 34.240 ± 9.757 ดังแสดงในตารางที่ 16 เมื่อเปรียบเทียบแรงตึงตัวของหลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์ เมื่อได้รับ HOE 140 ก่อนและหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ ขนาด 0.3 mg/ml แล้ว พบว่า **แรงตึงตัวของหลอดเลือด แตกต่างกัน** อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.05$ ดังแสดงในรูปที่ 32

ตารางที่ 16 เปรียบเทียบการหดตัวของหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ ที่มีชั้น endothelial cell เมื่อได้รับ HOE 140 ความเข้มข้น 10^{-8} M เมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ขนาดสูง แบบสะสมความเข้มข้นก่อนและหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (*Acacia catechu*, AC) ความเข้มข้น 0.3 mg/ml

การทดลอง	เปอร์เซ็นต์การหดตัว ก่อนได้ AC	เปอร์เซ็นต์การหดตัว หลังได้ AC
1	100	12.881
2	100	20.979
3	100	68.504
4	100	34.594
5	100	20.120
Mean \pm SEM	100	34.240 ± 9.757

รูปที่ 32 แสดงผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (AC) ความเข้มข้น 0.3 mg/ml ในหลอดเลือดสายสะดือที่มีชั้น endothelial cell เมื่อได้รับ HOE 140 ความเข้มข้น 10^{-8} M และกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ขนาดสูง แบบสะสมความเข้มข้น (5×10^{-4} M, 5×10^{-3} M, 15 และ 20 mM)



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

อภิปราย และสรุปผลการทดลอง

จากการตรวจวิเคราะห์รูปแบบหรือลักษณะองค์ประกอบของสารในสารสกัดสีเขียวเหนียว โดยอาศัยเทคนิค TLC ผลการวิเคราะห์ที่ได้สามารถที่จะใช้อ้างอิงในการพิสูจน์เอกลักษณ์และควบคุมคุณภาพวัตถุดิบที่นำมาใช้ในการศึกษาวิจัยได้

ผลของสารกระตุ้นมาตรฐาน KCl ความเข้มข้นสูง ในหลอดเลือดที่มี และไม่มีชั้น endothelial cells โดยการทำให้ปราศจากชั้น endothelial cell ด้วยการเข็ดออก พิสูจน์ยืนยันโดยนำไปตรวจสอบเนื้อเยื่อทางจุลกายวิภาค ด้วยการย้อม H&E และ CD 34 แสดงให้เห็นว่า หลอดเลือดที่ทำการเข็ดเอา endothelial cells ออกนั้น ปราศจาก endothelial cell แล้ว

เมื่อได้รับ KCl ขนาดสูง จะทำให้หลอดเลือดเกิดการหดตัว และการให้ KCl เข้าพบว่าการตอบสนองจะแตกต่างจากครั้งแรกเพียงเล็กน้อย ทั้งนี้ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ และการตอบสนองของหลอดเลือดที่มี endothelial cells และไม่มี endothelial cells พบว่า ไม่มีความแตกต่างกัน แสดงให้เห็นว่า หลอดเลือดสามารถตอบสนองต่อ KCl ได้ทั้งในสถานะที่มี endothelial cells และไม่มีชั้น endothelial cells และการออกฤทธิ์ของ KCl ไม่ขึ้นกับ endothelial cells ทั้งนี้เกิดจากการมี action potential ที่ผนังเซลล์ เนื่องจากมีการเคลื่อนที่ของ K^+ จากภายนอกเซลล์โดยผ่านทาง K^+ -channel ทำให้ปริมาณของ K^+ ภายในเซลล์สูงขึ้น เป็นผลให้ความต่างศักย์ของเซลล์มีค่าลดลง เกิด membrane depolarization เปิด calcium channel ส่งผลทำให้ Ca^{2+} เคลื่อนที่เข้าสู่เซลล์ทาง VOC ผลจาก Ca^{2+} เคลื่อนที่เข้าสู่เซลล์จะไปเหนี่ยวนำให้เกิดการกระตุ้นให้มีการหลั่ง Ca^{2+} จากแหล่งเก็บภายใน SR ทำให้ปริมาณของแคลเซียมภายในเซลล์เพิ่มขึ้น Ca^{2+} ร่วมกับ calmodulin กลายเป็น Ca^{2+} -calmodulin complex ซึ่งจะไปกระตุ้น myosin light chain kinase ทำให้เกิด myosin phosphorylation และทำปฏิกิริยากับ actin ส่งผลทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ โดยลักษณะการหดตัวในระยะแรกจะเกิดอย่างรวดเร็ว และหลังจากนั้นการหดตัวจะเกิดเป็นระยะเวลาสั้น ทั้งนี้เกิดเนื่องจากแคลเซียมภายในเซลล์เพิ่มขึ้นนั่นเอง

ในการศึกษาผลของสารสกัดสีเขียวเหนียวในหลอดเลือดสายสะดือที่มีชั้น endothelial cell เมื่อถูกกระตุ้นด้วยสารมาตรฐาน KCl

ทดสอบเพื่อหาขนาดความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารสกัดสีเขียวเหนียว ที่จะทำให้เกิดการตอบสนองสูงสุด โดยทำการศึกษาในหลอดเลือดที่มีชั้น endothelial cells พบว่า หลังจากให้สารสกัดสีเขียวเหนียว และกระตุ้นให้หลอดเลือดหดตัวด้วย KCl ขนาดสูง แบบสะสมความเข้มข้น

หลอดเลือดดำจะมีแรงตึงตัวลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับแรงตึงตัวของหลอดเลือดก่อนได้รับสารสกัดสีเสียดเหนือ และเมื่อเปรียบเทียบกับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัว (percent inhibition of contraction) ของหลอดเลือดกับขนาดความเข้มข้นของสารสกัดสีเสียดเหนือ พบว่า สารสกัดสีเสียดเหนือที่ความเข้มข้น 0.3 mg/ml สามารถทำให้เกิดเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัวสูงสุด และการออกฤทธิ์ของสารสกัดสีเสียดเหนือจะออกฤทธิ์แบบ dose-dependent ในขณะที่ ความเข้มข้น 0.4 mg/ml สามารถยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจากการออกฤทธิ์ของสารสกัดสีเสียดเหนือมีลักษณะเป็น biphasic คือที่ความเข้มข้นต่ำจะมี selectivity ต่อตำแหน่งของการออกฤทธิ์ แต่เมื่อความเข้มข้นสูงขึ้นสารสกัดสีเสียดเหนือสามารถออกฤทธิ์ที่ตำแหน่งอื่นอย่างไม่เฉพาะเจาะจง ทำให้ผลที่ได้กลับตรงข้ามกับการให้สารสกัดสีเสียดเหนือขนาดต่ำ

สารสกัดสีเสียดเหนือสามารถยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดได้ ทั้งนี้ อาจเกิดจากสารเคมีที่พบในสีเสียดเหนือ ซึ่งจากรายงานการศึกษาก่อนหน้านี้ พบว่าสารเคมีส่วนใหญ่ที่พบในสีเสียดเหนือ เป็นสาร flavonoid จำพวก polyphenolic⁶⁸ ซึ่งพบมากในผัก ผลไม้ และเมล็ดพืชต่างๆ มากมาย เครื่องดื่มหลายชนิดได้แก่ ชา กาแฟ เบียร์ และ ไวน์ จะพบ flavonoid โดยเฉพาะ catechin และ catechin gallate ester นอกจากนี้ยังมี flavonols จำพวก quercetin, kaempferol และ glycoside ต่างๆ จะพบในเครื่องดื่มชนิดต่างๆ ได้แก่ ชาเขียว, ชาดำ และ ไวน์แดง⁶⁷

คุณสมบัติของ catechin ที่พบในองุ่น⁶⁸ พบว่า สามารถทำให้หลอดเลือดคลายตัว ซึ่งการศึกษาต่อมา ในหลอดเลือดแดงของกระต่าย จะพบว่า ไวน์แดงสามารถกระตุ้นให้ endothelial cell หลังสารที่ทำให้หลอดเลือดคลายตัวได้ โดยเกี่ยวข้องกับ polymeric procyanidins ซึ่งเป็นส่วนของ flavonoids ซึ่งการตอบสนองดังกล่าวน่าจะเกี่ยวข้องกับ NO⁶⁹ และจากการศึกษาผลของ procyanidins ที่แยกได้จาก cocoa ต่อหลอดเลือดกระต่าย พบว่า procyanidins ที่แยกได้ สามารถทำให้หลอดเลือดคลายตัวได้ โดยออกฤทธิ์ผ่าน endothelial cell⁶⁹

หลอดเลือดที่ได้รับ KCl ภายหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือขนาด 0.3 mg/ml พบว่าหลอดเลือดที่มีชั้น endothelial cells จะมีแรงตึงตัวลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับแรงตึงตัวของหลอดเลือดที่ไม่มีชั้น endothelial cells (เท่ากับร้อยละ 15.444 และ 87.466 ตามลำดับ) หรือเมื่อคิดเป็นค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัว (percent inhibition of contraction) จะพบว่า หลอดเลือดที่มีชั้น endothelial cells จะมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัว มากกว่าหลอดเลือดที่ไม่มีชั้น endothelial cells ซึ่งแสดงให้เห็นว่า การออกฤทธิ์ของสารสกัดจากสีเสียดเหนือ จะออกฤทธิ์ได้เมื่อมีชั้น endothelial cells ซึ่งเป็นที่ทราบกันดีว่า endothelial cells สามารถสร้างสาร EDRFs และ EDHF ที่ทำให้หลอดเลือดคลายตัวได้

จากผลของสารสกัดสีเสียดเหนือ ในหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ เมื่อให้สารยับยั้งการหลัง EDRFs ได้แก่ N^G -nitro-L-arginine (NLA), indomethacin (Indo) และ สารยับยั้งการทำงานของ K^+ -channel ได้แก่ tetraethylammonium chloride (TEA) จะพบว่า NLA ทำให้การออกฤทธิ์ของสารสกัดสีเสียดเหนือ

เหนือ ที่ยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดจากการตอบสนองต่อ KCl มีผลลดน้อยลง ทั้งนี้เนื่องจาก NLA ยับยั้งการสังเคราะห์ NO จาก endothelial cell แล้วจะทำให้ระดับของ cGMP เพิ่มขึ้น ยับยั้งการหลั่ง Ca^{2+} จากแหล่งเก็บภายในเซลล์ และยับยั้งการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} ผ่าน ROC²⁹ ดังนั้นมีผลทำให้หลอดเลือดคลายตัวได้ ดังนั้นการออกฤทธิ์ของสารสกัดสีเสียดเหนือ น่าจะมีส่วนเกี่ยวข้องกับการสร้าง NO จาก endothelial cell

เมื่อให้ Indo จะพบว่า การออกฤทธิ์ของสารสกัดสีเสียดเหนือ ที่ยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดจากการตอบสนองต่อ KCl มีผลลดน้อยลง Indo ออกฤทธิ์ยับยั้ง cyclooxygenase enzyme ในขั้นตอนการสังเคราะห์ prostacyclin (PGI_2) โดย endothelial cell เนื่องจากการทำงานของ PGI_2 คล้ายกับการทำงานของ NO โดยเพิ่มระดับของ cAMP³² ให้สูงขึ้น ยับยั้งการหลั่ง Ca^{2+} จากแหล่งเก็บ และยับยั้งการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} ผ่าน ROC มีผลทำให้หลอดเลือดเกิดการคลายตัวมีฤทธิ์ขยายหลอดเลือด ดังนั้น การออกฤทธิ์ของสารสกัดสีเสียดเหนือ น่าจะเกี่ยวข้องกับการสร้าง prostacyclin จาก endothelial cell

การให้ NLA และ Indo ร่วมกัน พบว่าทำให้การออกฤทธิ์ของสารสกัดสีเสียดเหนือ ที่ยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดจากการตอบสนองต่อ KCl มีผลลดน้อยลง แต่หลอดเลือดยังมีการหดตัว แสดงว่ายังมีฤทธิ์ของสารสกัดสีเสียดเหนือ

ดังนั้นการให้สารยับยั้งการสร้าง NO หรือสารยับยั้งการทำงานของ cyclooxygenase เพียงอย่างเดียว หรือให้ร่วมกัน แล้วพบว่า การออกฤทธิ์ของสารสกัดสีเสียดเหนือ ที่ยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดที่ตอบสนองต่อ KCl มีผลลดน้อยลง แต่ยังคงยับยั้งไม่สมบูรณ์ แสดงว่า NLA และ Indo ไม่สามารถยับยั้งฤทธิ์ของสารสกัดสีเสียดเหนือได้หมด ดังนั้นการออกฤทธิ์ของสารสกัดสีเสียดเหนือ น่าจะเกี่ยวข้องกับ pathway อื่น เช่น EDHF ซึ่งจะกระตุ้น K^+ -channel โดยตรงทำให้เกิด K^+ efflux ออกจากเซลล์ทำให้มีการเปลี่ยนแปลง membrane potential สูสภาพ hyperpolarization กระตุ้นให้เกิดการคลายตัวของหลอดเลือด จากผลการทดลองที่ให้ tetraethylammonium chloride (TEA) ซึ่งเป็นสารยับยั้งการทำงานของ K^+ -channel ทำให้ K^+ ไม่สามารถผ่านเข้าเซลล์ได้ จึงทำให้ไม่เกิด hyperpolarization ของ cell membrane พบว่า TEA ทำให้การออกฤทธิ์ของสารสกัดสีเสียดเหนือ ที่ยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดจากการตอบสนองต่อ KCl มีผลยับยั้งอย่างสมบูรณ์

เมื่อให้ N^G -nitro-L-arginine (NLA) ร่วมกับ Indomethacin (Indo) และร่วมกับ tetraethylammonium chloride (TEA) สารสกัดจากสี่เสียดเหนือไม่สามารถกระตุ้นให้ endothelial cell หลัง NO, PGI_2 และยับยั้งการทำงานของ EDHF ดังนั้นการออกฤทธิ์ของสารสกัดสี่เสียดเหนือ ที่ยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดจากการตอบสนองต่อ KCl มีผลยับยั้งอย่างสมบูรณ์

เมื่อพิจารณาการออกฤทธิ์ NO และ PGI_2 จะทำให้ cGMP และ cAMP เพิ่มขึ้น ตามลำดับ cGMP ที่เพิ่มขึ้นจะยับยั้งการเพิ่ม Ca^{2+} ภายในเซลล์ ส่วน cAMP จะกระตุ้น PKA (protein kinase A) และ cGMP จะกระตุ้น PKG (protein kinase G) มีผลยับยั้ง phosphorylation ของ myosin light chain และยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือด

การออกฤทธิ์ของ NO ยังพบว่าผ่านขบวนการ hyperpolarization แต่การเกิด hyperpolarization จาก NO และ EDHF นั้นมีความแตกต่างกัน กล่าวคือ inhibitor ของ Ca^{2+} activated K^+ -channel (K^+ Ca^{2+}) เช่น TEA สามารถยับยั้งได้เฉพาะ EDHF-mediated hyperpolarization ส่วน inhibitor ของ ATP-sensitive K^+ -channel (KATP) เช่น glibenclamide ไม่สามารถยับยั้ง EDHF-mediated hyperpolarization ได้ แต่สามารถยับยั้ง NO-mediated hyperpolarization ในการทดสอบในครั้งนี้ไม่ได้ทำการศึกษาโดยให้ ATP-sensitive K^+ -channel inhibitor ดังนั้นจึงไม่สามารถตอบได้ว่า สารสกัดสี่เสียดเหนือทำให้เกิดการคลายตัวของหลอดเลือดโดยผ่าน ATP-sensitive K^+ -channel หรือไม่ จากการทดลองสรุปได้ว่า สารสกัดสี่เสียดเหนือทำให้หลอดเลือดเกิดการคลายตัวได้ โดยกระตุ้นให้ endothelial cell หลัง EDRF ได้แก่ NO และ PGI_2 และกระตุ้น K^+ -channel เกิด hyperpolarization ทำให้ smooth muscle คลายตัวได้

หลอดเลือดที่ได้รับ histamine หลังจากได้รับสารสกัดสี่เสียดเหนือ พบว่าหลอดเลือดที่มี และไม่มีชั้น endothelial cells ซึ่งหดตัวจากผลของ histamine พบว่าสารสกัดจากสี่เสียดเหนือไม่สามารถยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดได้ ทั้งนี้เนื่องจากการหดตัวของหลอดเลือดดำสายสะดือที่มี และไม่มีชั้น endothelial cell ที่กระตุ้นด้วย histamine นั้นอาจจะสัมพันธ์กับการเกิด depolarization และการเปลี่ยนแปลงของ action potential ของ cell membrane ของ smooth muscle ซึ่งเกี่ยวข้องกับ endothelial cells

การให้ HOE140 ซึ่งเป็นสารปิดกั้นการทำงานของ bradykinin receptor (bradykinin receptor antagonist) พบว่า ทำให้การออกฤทธิ์ของสารสกัดสี่เสียดเหนือ ที่ยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดจากการตอบสนองต่อ KCl ไม่มีผลลดลง ทั้งนี้คิดว่า สารสกัดจากสี่เสียดเหนือ สามารถยับยั้งฤทธิ์ของ KCl ได้ โดยที่ไม่เกี่ยวข้องกับการทำงานของ bradykinin

สรุปผลการทดลอง

สารสกัดสีเสียดเหนื่อ มีสารประกอบสำคัญ เป็นสารจำพวก flavonoids การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาเพื่อหาฤทธิ์ขยายหลอดเลือด และกลไกการออกฤทธิ์ของสารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ โดยทำการศึกษาในหลอดเลือดดำ ที่แยกจากสายสะดือมนุษย์ ในการศึกษาครั้งนี้ ได้ทำการสกัดสีเสียดเหนื่อด้วย ethanol และทำ TLC finger-print ศึกษาถึงรูปแบบ (pattern) ขององค์ประกอบในสารสกัด สีเสียดเหนื่อ

จากผลการทดลอง สรุปได้ว่า สารสกัดสีเสียดเหนื่อมีฤทธิ์ขยายหลอดเลือด ทั้งนี้โดยผ่านกลไกการหลั่ง NO, PGI₂ และ EDHF จาก endothelial cell สารสำคัญที่ออกฤทธิ์อาจเป็นสารจำพวก flavonoids การออกฤทธิ์ของสารสกัดสีเสียดเหนื่อไม่น่าจะเกี่ยวข้องกับการทำงานของ bradykinin ในการศึกษาครั้งนี้ไม่ได้ทำการวัดปริมาณ NO และ PGI₂ ใน cell culture

ทั้งนี้ควรมีการศึกษาต่อ โดยการวัดปริมาณของ NO, PGI₂ และ EDHF ในเซลล์เยื่อผนังหลอดเลือดที่เพาะเลี้ยง (cultured endothelial cells)

และถ้าสามารถยืนยันการออกฤทธิ์ที่แน่ชัดแล้วควรมีการศึกษาต่อทางด้านประสิทธิผลและความปลอดภัย ได้แก่ ฤทธิ์ทั่วไปทางเภสัชวิทยาต่อระบบสำคัญของร่างกาย, ศึกษาพิษวิทยา เมื่อได้รับข้อมูลยืนยัน efficacy และ safety ในระยะก่อนคลินิกแล้วจึงนำไปใช้ประโยชน์ทางการรักษา เช่น ความดันโลหิตสูง และขยายหลอดเลือด เพื่อพัฒนาเป็นยาสมุนไพรต่อไป

รายการอ้างอิง

1. จำรูญ มีখনอน บรรณาธิการ. รายงานการพัฒนาสมุนไพรไทย ในทศวรรษแรกแห่งการสาธารณสุขมูลฐาน พ.ศ. 2521-2530. สำนักงานคณะกรรมการการสาธารณสุข กระทรวงสาธารณสุข
2. แผนพัฒนาสมุนไพรในแผนพัฒนาเศรษฐกิจ และสังคมแห่งชาติ ฉบับที่ 6 (2530-2534) คณะกรรมการจัดทำแผนงานสมุนไพรแห่งชาติ ในคณะกรรมการแห่งชาติทางยาสมุนไพร
3. World Health Organisation. Research Guidelines for evaluating the safety and efficacy of herbal medicines. Regional Office for the Western Pacific, Manila, 1993
4. Krisana Kraisintu. Herbal Medicine-The Next Step. สรุปผลการประชุมวิชาการ เรื่อง “แนวทางการพัฒนา และการกำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์สมุนไพร กรกฎาคม 2542 ณ สถาบันวิทยาศาสตร์การแพทย์ทหาร กรมแพทย์ทหารบก
5. Health Information Division, Bureau of health policy and plan . จำนวนตายตามเพศ และสาเหตุ กับอัตราประชากร 100,000 คน [online]. (n.d.). Available from: <http://www.moph.go.th/ops/bhpp/val41.html> [1999, June]
6. Bertram G. Katzung. Basic and Clinical Pharmacology. eight edition. The McGraw-Hill companies, 2001.
7. Ganong W.F. Review of Medical Physiology. seventeenth Edition. Aa LANGE medical book, 1995
8. Rang H.P., and other. Pharmacology. Fourth edition. Churohill Livingstone, 2001
9. David E. Mohrman and Lois Jane Heller. Cardiovascular Physiology. Fourth edition : McGRAW-HILL INTERNATIONAL EDITIONS, 1995
10. Hideaki Karaki and George B. Weiss. Calcium Release in Smooth Muscle. Life sciences. 42 (1988) : 111-122.
11. ศุภชัย ไชยธีระพันธ์ และ สมชาย เข็มมอ่อง, บรรณาธิการ. Endothelium. พิมพ์ครั้งที่ 1 กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2540
12. ปิยะมิตร ศรีธรา บรรณาธิการ. ACE-inhibitor พิมพ์ครั้งที่ 1 ธันวาคม 2538 กรุงเทพมหานคร

13. Vanhoutte PM.,Boulanger CM, Mambouli JV.Endothelium-derived relaxing factors and converting enzyme inhibition.Am J Cardiol. 76(1995) : 3E-12E.
14. Folkow B. Physiological aspects of primary hypertension. Physiol Rev.62(1982):347-504.
15. Gibbons GH.,Dzau VJ.The emerging concept of vascular remodeling. N Eng J Med. 330(1994):1431-1438.
16. Radomaski MW., Palmer RMJ., Mocada S. Endogenous nitric oxide inhibits human platelets adhesion to vascular endothelium.Lancet.2(1987):1057-1058.
17. Radomaski MW., Palmer RMJ., Mocada S. Comparative pharmacology of endothelium-derived relaxing factor,nitric oxide and prostacyclin in platelets. Br J Pharmacol.92(1987):181-187.
18. John R. Vane; Erik E. Anggard and Regaina M. Regulatory functions of the vascular endothelium. N Eng J Med 323 (1990): 27-36.
19. Harder DR., Sanchez-ferrer C,Kauser K, Stekiel WJ., Rubanui GM. Pressure release a transferable endothelial contractile factor in cat cerebral arteries. Circ Res 65(1989):193-198.
20. Rubanyi GM.; Freay AD.;Johns A.;Kauser K.;Harder DR. Mechanoreception by the endothelium :mediators and mechanism of pressure- and flow- induced vascular response.Blood vessels. 27(1991):246-257.
21. Levien ER.Endothelins.N Eng J Med.333(1995):356-363
22. Thomas F. and Luscher. The endothelial in hypertension: by stander, target or mediator? J Hypertens. 2(1994) supply 10: S105-S116.
23. Yanagisawa M., Kurihara H. and Kimura S., et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cell.Nature.332(1988):411-415
24. Hamberg M., Svensson J. and Samuelsson B. Thromboxanes: a new group of biologically active compounds derived from prostaglandin endoperoxide. Proc Natl Acad Sci USA.72 (1975): 2994-2998 .

25. Furchgott RF. and Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. Nature. 288 (1980): 373-376.
26. Palmer RM., Ashton DS., Moncada S. vascular endothelial cell synthesizes nitric oxide from L-arginine. Nature. 333 (1988):646-666.
27. Moncada S. Nitric oxide J Hypertens 12(suppl 10)(1994) :s35-s39.
28. Azuma H., Ishikawa M., Sekizaki S., Endothelium-dependent inhibition of platelet aggregation. Br J Pharmacol. 88(1986):411-415.
29. Collins P., Griffith TM., Henderson AH., Lewis MJ. Endothelium-derived relaxing factors alter calcium fluxes in rabbit aorta :A cyclic guanosine monophosphate-mediated effect. J Physiol (Lond). 381(1986):427-437.
30. Vanhoutte PM. How to assess endothelial function in human blood vessels. J hypertens. 17(1999):1047-1058.
31. Moncada S., Gryglewski R., Bunting S., Vane JR. An enzyme isolated from arteries transforms prostaglandin endoperoxidase to an unstable substance that inhibits platelet aggregation. Nature 263(1976):663-665.
32. Tateoson JE., Moncada S., Vane JR. Effect of prostacyclin (PGX) on cyclic AMP concentration in human platelets. Prostaglandins. 13(1977):389-397.
33. FitzGerald GA., Brash AR., Falardeau P., Oates JA. Estimated rate of prostacyclin secretion into the circulation of normal man. J Clin Invest. 68(1981):1272-1275.
34. Bursch W., Schulte-Hermann R. Cytoprotective effect of Iloprost against liver cell death induced by carbon tetrachloride (CCl₄) or bromobenzene. In: Gryglewski RJ, Stock G, eds. Prostacyclin and its analogue Iloprost. Berlin: Springer-Verlag (1987):257-268.
35. Crutchley DJ., Ryan JW., Ryan US., Fisher GH., Bradykinin induces release of prostacyclin and thromboxanes from bovine pulmonary artery endothelial cell. Bioch Biophys Acta. 751(1983):99-107.
36. Brayden J.E. Membrane hyperpolarization is a mechanism of endothelial-dependent cerebral vasodilation. Am J Physiol. 256 (1990): H668-H673.
37. Hecker M., Bara AT., Bauersachs J., Characterization of endothelium-derived

- hyperpolarizing factors as a cytochrome P450-derived arachidonic acid metabolite in mammals. J Physiol.481(1994):407-414.
38. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis-an update. N Engl J Med.58 (1986):488-500.
39. Munro JM., Cortran RS. The pathogenesis of atherosclerosis: atherogenesis and inflammation. Lab Invest.58 (1988):249-261.
40. Boulanger C.M. and Vanhoutte P.M. The Endothelium: A pivotal role in health and cardiovascular disease. Houston (1994): 55-62
41. Nancy J. Brown, Douglas E. Vaughan. Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors. Circulation.97(1998):1411-1420.
42. Ross R., The pathogenesis of atherosclerosis :a perspective for the 1990s. Nature 362(1993):801-809.
43. Mombouli J. Potentiation of Endothelium-Dependent Relaxations to Bradykinin by Angiotensin I Converting Enzyme Inhibitors in Canine Coronary Artery Involves Both Endothelium-Derived Relaxing and Hyperpolarizing Factors. Cir Res.71(1992): 137- 144
44. Erdos EG. The angiotensin I converting enzyme. Fed Proc.36(1977):1760-1765.
45. Zimmerman BG, Sybertz EJ, Wong PC. Interaction between sympathetic and renin-angiotensin system. J hypertens.2 (1984):581-587
46. Garg UC, Hassid A. Nitric oxide-generating vasodilators and 8-bromo-cyclic guanosine monophosphate inhibit mitogenesis and proliferation of cultured rat vascular smooth muscle cells. J clin Invest.83(1989):1774-1777.
47. Dubey OB., Luscher TF. Nitric oxide inhibits angiotensin II induced migration of smooth muscle cells. Hypertension 22(1993):412.
48. De Caterina R., Lippa P., Peng HB., et al. Nitric oxide decreases cytokine-induced endothelial activation. J Clin Invest. 96(1995):60-68.
49. Folkow B., Johansson B., Mellander S., The comparative effect of angiotensin and noradrenaline on constructive vascular remodeling. Acta Physiol Scand.53(1961)99-104.
50. Vanhoutte PM. Endothelium and control of vascular function: state of the art lecture. Hypertension.13 (1989):658-667.

51. Edward J.M., Weiner R. and Kaley G. Inhibition of Bradykinin Vasodilation and Potentiation of Norepinephrine and Angiotensin Vasoconstriction by Inhibitors of Prostaglandin Synthesis in Skeletal Muscle of the Rat. Circ Res. 37 (1975): 430-437
52. Wiemer G, Schilkens BA, Becker RHA, et al. Ramiprilat Enhance Endothelial Autocoid Formation by Inhibiting Breakdown of Endothelium-Derived Bradykinin. Hypertension 18(1991):558-563.
53. Nakashima M. and Mombouli J. Endothelial-Dependent Hyperpolarization Caused by Bradykinin in Human Coronary Arteries. J Clin Invest. 92 (1993): 2867-2871.
54. สรรวรุช สุมาวงศ์.บรรณารักษาร .คู่มือการฝากครรภ์และการคลอด.ภาควิชาสูติศาสตร์-นรีเวชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล พิมพ์ครั้งที่ 14 กรุงเทพมหานคร.2533 :223-224
55. College of Medicine. Atlas of Histology [online].(n.d.).Available from: <http://www.med.uiuc.edu/histo/small/atlas/object/1113.html>. [2003,Mar30]
56. Fetal circulation [online].(n.d.).Available from : <http://www.cayuga-cc.edu/about/facultypages/greer/biol204/heart4/heart4.html>. [2003,Mar 30]
57. สุจิตต์ เผ่าสวัสดิ์, ศุภวัฒน์ ชุตินวงศ์, ดำรง เจริญประยูร, สุทัศน์ กลกิจโกวินท์ บรรณารักษาร สูติศาสตร์ ภาควิชาสูติศาสตร์-นรีเวชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย พิมพ์ครั้งที่ 4 กรุงเทพมหานคร.2533.
58. Okatani Y., Taniguchi K and Sagara Y. Amplifying effect of endothelin-1 on serotonin-induced vasoconstriction of human umbilical artery. Am J Obs and Gyn. 44(1995):1240-1245.
59. Crawford JM. Vascular anatomy of the human placenta. Am J Obs and Gyn. 84(1962):1543-1567.
60. Bodelsson G & Stjernquist M. Characterization of contractile adrenoceptors in the human umbilical artery. Eur J Pharmacol 282(1995):95-101
61. Reilly, ED., Russel PT. Neurohistochemical evidence supporting an absence of adrenergic and cholinergic innervation in the human placenta and umbilical cord. Anato rec. 188(1977):277-287.

62. Boura AL.,Walter AW.Autocoids and the control of vascular tone in the human umbilical-placenta circulation.Placenta. 12(1990):453-477.
63. สุทัศน์ งามวงศ์.บรรณาธิการ.สมุนไพรพื้นบ้านที่ไม่มงคล พระราชทานประจำจังหวัด.มติชน (2543).
64. David MR., Culbreth Acomprehensive Guide to the Botanical Medicine Of Edgar Cayce in Anaul of Meteria Medica and Pharmacology.(1927)
65. กองวิจัยทางการแพทย์.สมุนไพรพื้นบ้าน ตอนที่1. กรุงเทพมหานคร:กรมวิทยาศาสตร์.กระทรวงสาธารณสุข,(2526) หน้า 108
66. Pioneer enterprise.Acacia catechu willd. [online].(n.d.).Available from : [http:// www.pioneerherbs.com](http://www.pioneerherbs.com). [2000,June]
67. Formica JV.,Regelson W. Review of the biology of quercetin and related bioflavonoid.Food Chem Toxicol. 33(1995):1061-1080.
68. Fitzpatrick DF.,Hirschfield SL.,Coffey RG.Endothelium-dependent vasorelaxing activity of wine and other grape products.Am J Physiol.265(1993):H774-H778.
69. Cock TM, Angus JA. Endothelium-dependent relaxation of coronary arteries by noradrenaline and serotonin.Nature.305(1983):627-630.
70. Karim M,McCormick K and Kappagoda C.T. Effect of cocoa extracts on endothelium-dependent relaxation.J Nutr.130(2000):2105s-2108s
71. Sham J.S.K., Chiu K.W. and Pang P.K.T. Hypotensive action of *Acacia catechu*. Planta Med. 50(1983): 177-179.
72. Bolton TB. Mechanism of action of transmitters and other substance on smooth muscle.Physiol Rev.59(1979b):606-718.
73. Van de Voorde J, Vanderstichele H, Leusen I, Release of endothelium-derived relaxing factor from human umbilical vessels.Circ Res.60(1987):517-522.



ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

ตารางที่ 17 เปรียบเทียบผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (Acacia catechu, AC) ความเข้มข้น 0.1 mg/ml ในหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ที่มีชั้น endothelial cells ก่อน และหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือเมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl

การทดลอง	แรงดึงตัวของหลอดเลือดก่อนได้รับ ace 0.1 mg/ml ที่เวลาต่างๆ															
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
n1	0.000	-0.088	-0.111	-0.155	-0.333	-0.411	6.480	44.797	74.896	82.696	82.969	81.625	81.277	80.114	76.122	69.309
n2	0.000	0.661	0.570	0.458	0.590	2.491	27.834	72.027	94.483	99.052	100.000	97.523	89.578	80.336	75.974	47.512
n3	0.000	-1.505	-3.384	-4.159	-4.330	11.141	57.115	79.407	85.449	86.729	88.249	89.471	90.668	91.125	92.587	92.996
n4	0.000	-0.241	-0.312	0.299	0.232	8.047	49.422	85.248	96.685	99.342	100.000	98.014	89.123	76.670	68.100	68.100

การทดลอง	แรงดึงตัวของหลอดเลือดหลังได้รับ ace 0.1 mg/ml ที่เวลาต่างๆ															
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
n1	0	0.722	0.500	0.199	0.647	1.095	1.824	15.278	59.542	90.572	98.599	100.000	99.471	97.242	94.285	84.331
n2	0	0.035	0.654	11.472	33.539	54.620	67.221	73.029	73.880	73.647	74.034	74.560	74.760	74.615	47.639	47.639
n3	0	0.224	-0.944	-2.548	21.205	69.141	87.790	93.028	95.108	98.326	98.498	99.302	99.596	99.651	98.834	100.000
n4	0	-1.062	-0.881	-0.200	22.340	63.458	78.208	82.099	84.959	86.150	86.869	87.559	88.215	88.674	88.674	88.674

ตารางที่ 18 เปรียบเทียบผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (AC) ความเข้มข้น 0.2 mg/ml ในหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ที่มีชั้น endothelial cell ก่อน และหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือเมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ขนาดสูง

การทดลอง	แรงดึงตัวของหลอดเลือดก่อนได้รับ ace 0.2 mg/ml ที่เวลาต่างๆ															
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
n1	0	0	0.812	-0.494	2.747	50.256	94.943	100.000	95.571	90.433	86.373	81.401	76.920	71.581	66.560	64.236
n2	0	0	-2.083	-3.484	-4.252	7.701	59.952	88.325	94.528	97.574	99.907	100.000	99.427	98.673	96.518	94.887
n3	0	0	-1.430	-2.502	-2.604	-1.248	27.175	82.988	100.000	96.392	91.571	90.260	90.273	91.133	91.074	90.474
n4	0	0	-1.677	-1.862	-1.645	9.777	64.695	92.977	96.221	95.945	94.616	96.847	99.882	100.000	98.028	97.282
n5	0	0	-0.022	0.500	0.727	0.712	11.809	68.589	100	98.078	94.576	92.235	90.343	86.904	84.556	81.902

การทดลอง	แรงดึงตัวของหลอดเลือดหลังได้รับ ace 0.2 mg/ml ที่เวลาต่างๆ															
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
n1	0	0	-1.077	-2.268	-2.303	-1.803	22.926	69.895	85.857	84.671	82.072	79.950	78.629	77.214	76.129	75.647
n2	0	0	-2.288	-5.858	-6.505	-0.740	38.577	65.111	69.316	70.574	71.957	70.834	68.230	65.703	63.625	61.780
n3	0	0	-0.425	-1.062	-1.476	6.396	39.972	68.115	75.879	77.749	78.271	77.054	74.953	73.478	72.016	70.795
n4	0	0	1.249	1.438	3.143	5.099	16.222	44.127	65.880	77.498	81.295	85.252	88.665	96.414	90.533	90.260

ตารางที่ 19 แสดงผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (AC) ความเข้มข้น 0.3 mg/ml ในหลอดเลือดสายสะดือที่มีชั้น endothelial cells ก่อน และหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือเมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ขนาดสูง

การทดลอง	แรงดึงตัวของหลอดเลือดก่อนได้รับ ace 0.3 mg/ml ที่เวลาต่างๆ															
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
n1	0	0	-5.851	-7.247	-8.007	12.898	73.295	93.847	100	92.736	86.593	83.134	81.466	79.726	78.745	77.474
n2	0	0	-1.877	-2.283	-2.453	-0.325	48.579	90.224	99.751	100	95.650	98.092	99.160	95.509	92.811	91.268
n3	0	0	0.404	1.349	8.006	46.612	87.217	99.952	100	96.776	93.213	89.887	86.872	84.125	81.868	80.312
n4	0	0	-0.960	-1.185	-1.337	-1.512	6.201	63.250	100	94.545	90.055	91.447	94.748	96.532	97.981	98.515
n5	0	0	1.269	1.583	0.852	0.532	6.634	49.699	100	96.696	87.509	86.886	87.177	87.948	88.354	88.403

การทดลอง	แรงดึงตัวของหลอดเลือดหลังได้รับ ace 0.3 mg/ml ที่เวลาต่างๆ															
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
n1	0	0	0.361	0.646	7.697	19.691	20.251	17.570	15.572	13.920	13.930	13.661	13.602	12.062	8.547	8.895
n2	0	0	-0.471	-0.368	0.994	7.601	15.053	16.698	16.556	16.150	15.580	14.581	14.514	14.451	14.038	11.938
n3	0	0	-0.135	-0.315	-0.416	-0.499	0.147	1.420	2.800	3.888	4.840	5.743	6.404	6.785	6.933	6.942
n4	0	0	-0.603	-0.798	-0.648	0.306	5.631	11.554	13.777	15.669	16.801	17.205	17.625	17.844	17.475	17.681
n5	0	0	-0.190	-0.459	-0.170	3.449	14.411	20.865	18.980	17.191	16.383	15.952	15.488	15.378	15.706	15.783

ตารางที่ 20 แสดงผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (AC) ความเข้มข้น 0.4 mg/ml ในหลอดเลือดสายสะดือที่มีชั้น endothelial cells ก่อน และหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือเมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ขนาดสูง

การทดลอง	แรงดึงตัวของหลอดเลือดก่อนได้รับ ace 0.4 mg/ml ที่เวลาต่างๆ															
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
n1	0	0.23411	0.062	0.204	26.008	93.405	100.000	97.247	96	93.481	92.050	90.965	89.081	88.371	89.005	87.132
n2	0	-3.73341	-5.964	-6.188	72.241	100.000	100.000	97.122	94.342	92	90.799	89.984	89.666	90.257	89.416	89.326
n3	0	-0.68159	1.110	1.665	40.648	100.000	99.664	96.546	95	93.468	91.404	89.667	90.316	91.120	91.574	92.180
n4	0	-0.1548	0.062	0.251	15.064	74.469	98.447	99.948	100	99.513	99.216	99.061	99.087	98.562	97.842	97.563
n5	0	-0.021	-0.107	-0.011	8.610	60.626	94.705	99.320	100	99.834	99.695	99.344	99.274	99.626	99.908	100.000
n6	0	-3.376	-5.337	-6.174	29.224	93.597	100.000	98.468	97.063	95.554	93.617	92.533	91.537	90.839	89.541	89.129

การทดลอง	แรงดึงตัวของหลอดเลือดหลังได้รับ ace 0.4 mg/ml ที่เวลาต่างๆ															
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
n1	0	-0.265	-0.383	-0.515	13.837	51.920	61.866	63.722	64.473	65.008	65.171	64.991	64.583	63.847	63.343	62.881
n2	0	0.031	-0.117	0.231	15.630	49.089	62.062	67.016	70.242	72.427	74.807	76.980	79.276	81.089	82.298	83.274
n3	0	0.129	0.079	0.820	11.260	47.457	56.611	57.300	57.925	57.761	57.643	56.664	55.180	53.889	53.505	51.820
n4	0	-0.629	-0.603	-0.198	22.790	58.559	60.496	60.321	59.685	59.021	59.932	60.834	60.759	60.513	61.721	61.237
n5	0	0.379	-1.591	3.047	57.613	77.966	78.628	85.772	89.127	89.451	89.654	90.666	90.666	90.952	91.130	90.814
n6	0	-0.542	-0.603	-1.171	26.556	75.724	80.464	83.264	87.675	90.068	91.675	92.858	94.065	94.112	95.316	95.024

ตารางที่ 21 แสดงผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือ(AC)ความเข้มข้น 0.1 mg/ml ในหลอดเลือดสายสะดือที่มีชั้น endothelial cells ก่อน และหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ เมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย histamine (HS)

การทดลอง	แรงดึงตัวของหลอดเลือดก่อนได้รับ AC 0.1 ที่เวลาต่างๆ															
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
n1	0	-0.008	36.882	99.672	100.000	92.490	86.965	83.835	82.814	78.094	75.756	70.686	67.614	56.930	49.199	38.851
n2	0	-0.813	46.090	100.000	98.181	92.231	85.363	76.069	68.857	65.301	61.419	56.913	51.044	47.207	46.529	42.945
n3	0	-0.927	60.002	100.000	98.919	96.247	92.035	88.022	83.208	75.038	67.936	59.788	51.515	43.961	34.089	29.005
n4	0	-0.197	66.005	100.000	95.367	88.663	84.026	80.947	75.641	70.028	68.423	60.544	54.613	47.604	47.072	45.596
n5	0	-0.266	15.044	78.846	99.559	99.510	100.000	99.911	99.487	99.300	98.470	96.828	97.238	96.790	98.538	93.865
n6	0	-0.734	22.568	88.558	96.249	95.346	94.623	94.260	93.925	94.680	96.290	100.000	96.146	96.364	96.895	96.052

การทดลอง	แรงดึงตัวของหลอดเลือดหลังได้รับ AC 0.1 ที่เวลาต่างๆ															
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
n1	0	7.425	60.028	88.497	69.827	60.682	49.169	38.295	27.799	21.738	32.938	45.322	35.047	21.056	19.301	27.337
n2	0	5.786	36.475	49.905	45.384	33.125	25.643	19.513	15.097	12.436	11.592	10.701	10.210	10.746	11.484	11.687
n3	0	-0.459	17.526	70.390	67.642	51.515	33.762	23.411	16.577	14.023	9.958	8.318	6.881	6.175	9.020	29.104
n4	0	-0.415	10.195	43.890	43.074	31.690	20.974	13.411	9.693	8.150	6.709	8.381	17.121	19.862	7.911	5.718
n5	0	-0.193	23.383	72.760	82.248	85.217	87.267	94.419	95.802	94.655	91.731	89.418	87.317	87.802	88.306	88.788
n6	0	-1.463	24.439	76.439	83.633	88.303	93.261	91.552	96.366	91.811	89.302	95.382	91.997	88.747	84.911	83.012

ตารางที่ 22 แสดงผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (AC) ความเข้มข้น 0.2 mg/ml ในหลอดเลือดสายสะดือที่มีชั้น endothelial cells ก่อน และหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ เมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย histamine (HS)

การทดลอง	แรงดึงตัวของหลอดเลือดก่อนได้รับ AC 0.2 mg/ml ที่เวลาต่างๆ															
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
n1	0	14.0158	87.167	100.000	94.791	87.587	82.193	81.109	78.191	73.859	70.615	66.199	60.948	57.141	54.335	52.470
n2	0	17.03	91.610	100.000	95.029	86.697	79.987	71.997	65.377	60.673	53.515	47.945	42.123	37.303	33.395	33.009
n3	0	-0.0085	55.780	100.000	88.708	83.783	75.113	68.550	61.054	51.764	41.949	35.510	29.234	24.482	20.016	17.538
n4	0	-0.5425	62.754	100.000	94.563	89.501	83.144	78.021	67.662	63.072	53.000	47.414	40.816	35.690	30.409	25.020

การทดลอง	แรงดึงตัวของหลอดเลือดหลังได้รับ AC 0.2 mg/ml ที่เวลาต่างๆ															
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
n1	0	9.728	57.000	51.640	29.862	21.717	16.311	11.932	8.709	6.973	5.701	5.005	4.305	3.947	3.467	3.205
n2	0	27.391	82.190	63.053	43.248	33.904	27.808	22.652	18.309	15.948	14.680	13.808	12.702	11.436	10.697	10.318
n3	0	45.388	40.242	19.331	11.511	6.320	2.116	-0.978	-2.645	-3.866	-4.535	-5.207	-5.550	-6.011	-6.263	-6.326
n4	0	46.036	29.959	13.321	5.471	0.351	-3.981	-7.630	-9.613	-10.678	-11.411	-12.339	-13.404	-14.024	-14.342	-14.795

ตารางที่ 23 แสดงผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (AC) ความเข้มข้น 0.3 mg/ml ในหลอดเลือดสายสะดือที่มีชั้น endothelial cells ก่อน และหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนือ เมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย Histamine (HS)

การทดลอง	แรงดึงตัวของหลอดเลือดก่อนได้รับ AC 0.3 mg/ml ที่เวลาต่างๆ															
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
n1	0	-1.1638	53.750	100.000	87.059	82.744	70.349	65.098	61.130	57.143	51.620	46.789	43.758	41.622	38.945	39.779
n2	0	-1.4909	51.958	94.256	90.866	89.244	90.413	96.569	98.841	97.911	95.127	95.868	100.000	98.000	94.850	93.165
n3	0	0.27167	100.000	69.988	55.748	47.228	40.665	35.812	34.422	32.793	32.006	31.009	29.289	27.265	25.674	23.808
n4	0	-0.125	43.489	95.209	98.904	99.570	99.696	100.000	99.105	96.189	95.537	96.525	94.588	90.835	87.055	83.479
n5	0	0.245	46.203	100.000	99.000	96.738	93.216	89.767	86.807	80.910	79.393	75.316	69.164	63.981	61.044	52.276

การทดลอง	แรงดึงตัวของหลอดเลือดหลังได้รับ AC 0.3 mg/ml ที่เวลาต่างๆ															
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
n1	0	23.030	27.508	21.938	13.788	10.051	7.215	4.123	1.526	-0.115	-1.495	-2.793	-4.567	-5.322	-5.823	-5.903
n2	0	43.836	63.133	61.808	55.506	48.659	41.788	33.798	29.867	25.847	21.115	19.135	11.760	9.544	7.086	6.341
n3	0	3.568	18.410	14.769	12.877	11.729	10.861	10.431	9.788	9.926	9.062	8.910	7.989	7.285	6.621	6.530
n4	0	1.754	36.963	74.548	69.156	62.063	59.362	48.673	40.376	37.545	31.620	28.783	28.783	28.783	28.783	28.783
n5	0	3.254	32.223	35.298	22.627	17.680	15.334	12.596	11.939	11.442	10.792	10.324	10.324	10.324	10.324	10.324

ตารางที่ 24 แสดงผลของสารสกัดจากสีเสียด(AC)เหนื่อความเข้มข้น 0.3 mg/ml ในหลอดเลือดสายสะดือที่ไม่มีชั้น endothelial cells ก่อน และหลังได้รับสารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ เมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ขนาดสูง

การทดลอง	แรงดึงตัวของหลอดเลือดก่อนได้รับ ace 0.3 mg/ml ที่เวลาต่างๆ															
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
n1	0	-1.7929	-3.062	-3.177	40.448	90.725	90.893	90.451	91.248	91.489	91.914	91.793	92.049	91.885	91.785	91.987
n2	0	-0.2762	0.091	2.088	17.205	86.730	100.000	91.759	82.157	79.735	79.266	76.466	76.192	74.559	72.833	71.716
n3	0	0.05442	9.439	69.128	98.659	100.000	98.695	95.787	93.127	90.568	88.564	87.226	85.785	84.585	84.129	82.697
n4	0	0.39197	1.036	4.498	26.227	57.156	74.006	82.978	86.412	85.858	85.103	83.761	80.700	77.627	75.251	71.970
n5	0	0.119	0.498	7.105	34.610	67.098	82.702	87.856	88.224	86.393	83.525	79.826	76.493	73.458	71.036	69.375

การทดลอง	แรงดึงตัวของหลอดเลือดหลังได้รับ ace 0.3 mg/ml ที่เวลาต่างๆ															
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
n1	0	0.177	2.237	44.274	83.975	86.864	89.809	91.667	92.149	92.339	93.451	96.098	97.592	98.434	99.414	100.000
n2	0	-1.056	-1.010	9.917	74.965	77.489	53.117	46.151	40.637	36.476	34.953	33.623	30.009	32.425	29.146	29.167
n3	0	-0.586	-0.279	20.328	77.464	67.623	54.184	46.376	41.873	39.048	37.278	36.226	35.359	34.810	34.390	33.825
n4	0	0.169	1.780	11.515	43.215	73.308	89.752	97.844	100.000	99.118	95.759	91.583	85.918	81.422	76.862	72.925
n5	0	0.414	3.599	17.497	44.487	68.666	84.046	93.140	97.768	99.730	100.000	98.099	95.456	93.214	90.743	87.335

ตารางที่ 25 แสดงผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนื่อ(AC)ความเข้มข้น 0.3 mg/ml ในหลอดเลือดสายสะดือที่มีชั้น endothelial cells เมื่อได้รับสารยับยั้งการสังเคราะห์ nitric oxide NG-nitro-L-arginine (NLA) ขนาด 3×10^{-5} mM และกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ขนาดสูง แบบสะสมความเข้มข้น

การทดลอง	แรงดึงตัวของหลอดเลือดก่อนได้รับ ace 0.3 mg/ml ที่เวลาต่างๆ																									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
n1	0	-0.233	-0.651	-0.491	-0.624	-0.398	-0.036	-0.275	-0.400	-1.116	-0.529	-0.101	0.418	35.204	67.609	70.861	73	73.030	71.016	72.738	75.626	77.042	78.828	78.416	78.056	77.312
n2	0	-1.557	-2.682	-3.947	-1.728	-1.744	2.005	3.625	2.997	2.652	0.476	4.274	5.395	25.926	78.414	88.652	92	92.641	91.339	91.180	93.344	96.755	100	96.153	96.053	95.194
n3	0	-0.194	-0.303	-0.709	-0.210	-0.029	0.095	-0.064	-0.025	-0.183	-0.278	-0.638	-0.726	-0.303	29.243	100	94.157	77.459	72.897	71.360	70.216	68.061	68.027	65.601	64.875	62
n4	0	-0.346	-0.746	-1.613	-1.759	-1.407	-1.547	-1.858	-2.240	-2.235	-2.582	-3.038	-2.941	-2.645	10.702	94.756	100	67.544	59.872	58.653	57.734	56.046	55.713	55.973	55.821	55.790
n5	0	-8.258	-13.75	-17.25	-18.94	-21.24	-22.59	-23.83	-24.25	-24.75	-25.46	-26.01	-26.30	41.512	96.835	99.912	100	99.014	97.735	97.260	96.872	95.983	95.581	95.023	93.886	93.258

การทดลอง	แรงดึงตัวของหลอดเลือดหลังได้รับ ace 0.3 mg/ml ที่เวลาต่างๆ																									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
n1	0	-0.469	4.109	10.872	11.621	13.155	13.712	11.196	6.685	3.759	2.196	0.718	-0.092	1.260	35.749	97.805	96.832	95	94.173	93.362	92.657	92.058	91.162	90.652	89.501	88.164
n2	0	-0.772	4.236	12.459	14.144	15.087	14.357	6.997	0.622	-1.707	-2.721	-3.785	-4.277	-4.096	11.072	78.042	84.686	82	81.333	81.039	80.695	80.022	79.550	79.155	78.618	78.265
n3	0	0.368	-0.126	4.735	11.781	17.406	21.871	22.844	18.234	11.665	9.616	8.185	5.978	6.016	10.944	61.450	98.245	98.937	100	99.908	99.536	98.395	97.784	96.961	95.342	94.826
n4	0	-1.519	-3.229	4.139	13.225	19.014	28.705	28.924	28.837	26.103	26.952	27.966	25.118	28.156	37.054	87.238	98.442	100	99	97.091	93.731	92.787	94.300	92.641	92.776	90.188
n5	0	-0.598	1.247	8.051	12.693	16.165	19.661	17.490	13.594	9.955	9.011	8.271	6.682	7.834	23.705	81.134	94.551	94.063	93.511	92.850	91.655	90.815	90.699	89.852	89.059	87.861

ตารางที่ 26 แสดงผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือ(AC)ความเข้มข้น 0.3 mg/ml ในหลอดเลือดสายสะดือที่มีชั้น endothelial cells เมื่อได้รับสารยับยั้งการสังเคราะห์ Indomethacin ขนาด 5×10^{-5} mM และกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ขนาดสูง แบบสะสมความเข้มข้น

การทดลอง	แรงดึงตัวของหลอดเลือดก่อนได้รับ AC 0.3 mg/ml ที่เวลาต่างๆ																									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
n1	0	-1.490	-1.021	-7.478	-19.03	-30.31	-42.27	-51.42	-57.94	-63.48	-67.59	-70.16	-72.79	-74.28	-71.08	-35.45	17.322	38.178	49.689	53.841	57.310	58.394	59.238	58.749	61.188	60.803
n2	0	-0.830	-0.228	-0.870	-1.527	-1.880	-3.126	-3.574	-3.657	-4.127	-4.251	-4.658	-4.892	-4.973	-1.319	61.902	97.135	98.066	98.535	99.175	98.717	97.970	97.881	98.168	98.764	100.00
n3	0	0.143	0.859	0.859	0.424	0.300	0.280	-0.039	0.139	0.024	-0.142	-0.231	-0.071	-0.231	0.162	56.885	100	99.789	99.172	99.046	98.705	98.301	97.780	97.147	95.936	94.120
n4	0	0.085	0.585	0.752	0.981	0.650	0.786	0.471	0.396	0.341	0.234	0.419	0.214	0.204	12.453	81.256	100	98.904	98.007	96.378	94.822	93.427	92.578	91.969	91.672	90.816

การทดลอง	แรงดึงตัวของหลอดเลือดหลังได้รับ AC 0.3 mg/ml ที่เวลาต่างๆ																									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
n1	0	0.721	3.071	4.248	5.020	5.093	4.878	3.519	2.025	0.138	-0.675	-0.702	-1.345	-0.494	-1.193	1.516	30.617	66	72.612	78.179	83.319	87.991	91.368	95.372	97.546	100.00
n2	0	0.169	1.537	2.490	3.272	2.732	2.467	2.731	1.318	0.389	-0.431	-0.760	-0.453	-1.020	0.177	49.669	90.704	95	97.486	98.530	98.355	98.867	99.824	100	99.360	99.134
n3	0	0.496	2.294	1.756	1.200	1.080	0.327	-1.535	-4.349	-6.280	-6.992	-7.280	-7.851	-8.635	2.606	73.706	99.020	99.154	100	99.943	100	99.545	99.453	99.512	99.722	99.250
n4	0	0.103	1.725	1.596	1.244	1.133	0.664	-0.486	-1.550	-1.850	-2.262	-2.929	-3.685	-3.467	26.617	94.967	100	96	93	90.800	90.280	89.795	89.443	89.201	88.802	88.725

ตารางที่ 27 แสดงผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (AC) ความเข้มข้น 0.3 mg/ml ในหลอดเลือดสายสะดือที่มีชั้น endothelial cells เมื่อได้รับ NG-nitro-L-arginine (NLA) ความเข้มข้น 3×10^{-5} M Indo ขนาด 5×10^{-5} M และกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ขนาดสูง แบบสะสมความเข้มข้น

การทดลอง	แรงดึงตัวของหลอดเลือดก่อนได้รับ AC 0.3 mg/ml ที่เวลาต่างๆ																									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
n1	0	-0.940	-0.246	0.743	1.096	0.722	0.336	0.270	-0.426	-0.789	-1.271	-1.508	-1.787	-1.717	9.699	68.930	86.215	86.011	86.222	86.607	86.296	86.532	86.478	86.090	85.829	85.778
n2	0	-0.732	-1.287	-0.765	-0.191	-0.639	-1.236	-1.637	-1.924	-2.530	-2.958	-3.527	-3.172	-3.327	-1.615	31.977	86.290	85.494	83.165	82.659	82.756	82.900	82.904	83.089	83.229	83.144
n3	0	-0.168	0.076	3.276	4.465	4.290	4.409	4.833	5.041	5.435	5.894	6.528	7.109	7.846	39.905	91.736	98.233	98.234	97.926	98.151	99.075	99.666	99.695	99.866	99.845	100
n4	0	0.041	0.032	1.500	2.861	3.633	4.049	4.734	4.856	5.061	5.403	5.563	6.333	6.838	8.886	60.508	95.104	95.912	95.651	95.430	95.578	95.640	95.650	96.002	96.123	96.197

การทดลอง	แรงดึงตัวของหลอดเลือดหลังได้รับ AC 0.3 mg/ml ที่เวลาต่างๆ																									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
n1	0	-0.242	1.126	3.262	3.519	3.289	3.585	3.264	2.833	2.031	1.206	0.753	-0.107	-0.699	-0.844	14.224	86.682	100	97.815	95.863	94.859	94.115	93.345	93.292	92.616	91.379
n2	0	-0.334	0.114	4.696	5.922	5.189	4.498	3.438	1.899	-0.226	-1.426	-2.068	-2.651	-3.097	-3.033	8.599	77.091	100	94.967	92.204	91.077	90.585	89.890	89.731	89.388	89.205
n3	0	-0.567	-0.930	1.775	7.363	6.787	5.322	2.882	-3.508	-8.355	-11.14	-12.66	-13.93	-14.97	-8.449	50.244	95.482	95.028	95.433	96.088	96.121	95.425	94.569	93.775	92.928	92.269
n4	0	-0.480	-0.871	1.777	5.198	5.058	4.624	3.530	0.178	-2.984	-4.347	-5.179	-5.778	-6.326	-5.511	48.883	96.810	99.952	100	99.253	97.979	96.688	95.752	95.064	94.302	93.797

ตารางที่ 28 แสดงผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (AC) ความเข้มข้น 0.3 mg/ml ในหลอดเลือดสายสะดือที่มีชั้น endothelial cells เมื่อได้รับ TEA ขนาด 10-10 M และกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ขนาดสูง แบบสะสมความเข้มข้น

การทดลอง	แรงดึงตัวของหลอดเลือดก่อนได้รับ AC 0.3 mg/ml ที่เวลาต่างๆ																									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
n1	0.000	-0.671	-0.380	-0.380	-0.679	-0.634	0.112	-0.035	-0.510	-0.594	0.303	-0.184	0.173	0.070	0.070	90.485	89.554	89.563	89.124	100	91.084	89.935	90.017	90.273	90.274	90.314
n2	0.000	0.585	0.639	0.508	0.222	0.930	0.653	0.945	0.257	0.233	0.622	0.292	0.153	40.161	83.282	81.837	81.757	82.040	82.549	84.582	86.905	87.774	89.326	91.536	93.249	94.303
n3	0.000	-1.529	-4.141	-5.897	-6.276	-6.721	-8.150	-9.884	-11.01	-12.02	-13.14	-14.63	-15.79	-16.29	24.012	75.490	71.552	72.322	72.975	73.505	75.816	78.933	80.312	82.361	82.095	81.941
n4	0.000	0.073	0.263	1.878	4.063	5.573	6.991	7.716	8.398	8.706	9.015	9.626	9.341	9.235	52.549	99.153	96.583	95.687	95.141	96.178	96.751	96.147	96.373	97.824	99.677	99.842
n5	0.000	-0.385	-0.905	-0.973	-0.667	-0.213	-0.098	-0.315	-0.715	-0.919	-0.801	-1.224	-1.530	8.294	39.978	86.741	84.861	84.903	84.947	88.566	87.639	88.197	89.007	90.499	91.324	91.600

การทดลอง	แรงดึงตัวของหลอดเลือดหลังได้รับ AC 0.3 mg/ml ที่เวลาต่างๆ																									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
n1	0	-0.306	-0.306	-0.305	0.813	1.347	1.200	0.947	-0.192	-0.042	-0.674	-0.583	-1.070	-1.496	-0.979	-0.443	94.473	94	94.412	94.412	98.103	87.253	87.253	76.285	75.847	53.030
n2	0	0.943	1.727	2.185	2.543	3.605	5.077	5.612	5.131	4.351	4.818	4.963	5.476	5.689	24.381	74.734	75.403	84	90.209	95.205	98.615	98.756	100	97.342	93.498	92.793
n3	0	-0.303	0.428	2.128	2.665	2.765	2.967	2.031	0.786	-0.559	-1.721	-2.109	-2.765	-2.968	39.823	83.609	82.484	84.783	91	97.384	100	99.429	95.178	93.293	92.185	88.317
n4	0	0.070	0.816	2.407	3.268	4.173	5.326	3.415	1.101	0.603	-0.159	-0.239	-0.176	10.579	71.628	83.797	83.160	87	94	96.939	98.082	99.594	100	99.894	99.345	99.666
n5	0	0.101	0.666	1.604	2.322	2.972	3.642	3.001	1.707	1.088	0.566	0.508	0.367	2.951	33.713	60.424	83.880	87.580	92.617	95.985	98.700	96.258	95.608	91.703	90.219	83.452

ตารางที่ 29 แสดงผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนือ (AC) ความเข้มข้น 0.3 mg/ml ในหลอดเลือดสายสะดือที่มีชั้น endothelial cells เมื่อได้รับ NG-nitro-L-arginine (NLA) ความเข้มข้น 3×10^{-5} M, Indo ขนาด 5×10^{-5} M และ TEA ขนาด 10-10 เมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ขนาดสูง แบบสะสมความเข้มข้น

การทดลอง	แรงดึงตัวของหลอดเลือดก่อนได้รับ ace 0.3 mg/ml ที่เวลาต่างๆ																									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
n1	0	-0.143	-0.181	3.631	7.044	9.518	12.041	12.867	13.042	13.014	13.358	13.444	13.574	13.501	16.223	56.121	100	97.640	95.375	93.614	92.990	92.271	91.623	91.193	90.467	89.964
n2	0	0.281	-0.079	6.009	8.258	11.221	13.845	15.230	16.215	17.577	18.706	19.742	20.520	21.036	25.130	57.582	100	98.423	97.526	97.252	96.667	96.297	96.200	96.166	95.457	95.651
n3	0	-0.486	0.667	4.059	7.399	10.947	11.847	12.681	13.814	14.959	15.420	17.686	19.975	21.149	26.607	58.039	83.839	85.786	85.793	85.576	84.780	84.838	85.069	84.658	84.468	85
n4	0	-0.861	0.802	7.294	15.537	18.857	24.799	27.354	30.148	30.011	30.475	32.649	33.737	33.366	46.575	86.649	94.109	91.024	90.437	90.154	90.536	88.372	85.861	86.538	84.442	84.964
n5	0	-0.302	0.302	5.248	9.559	12.636	15.633	17.033	18.305	18.890	19.490	20.880	21.951	22.263	28.634	64.598	94.487	93.218	92.283	91.649	91.243	90.444	89.688	89.639	88.709	88.809

การทดลอง	แรงดึงตัวของหลอดเลือดหลังได้รับ ace 0.3 mg/ml ที่เวลาต่างๆ																									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
n1	0	-0.469	4.109	10.872	11.621	13.155	13.712	11.196	6.685	3.759	2.196	0.718	-0.092	1.260	35.749	97.805	96.832	95.216	94.173	93.362	92.657	92.058	91.162	90.652	89.501	88.164
n2	0	-0.772	4.236	12.459	14.144	15.087	14.357	6.997	0.622	-1.707	-2.721	-3.785	-4.277	-4.096	11.072	78.042	84.686	82.099	81.333	81.039	80.695	80.022	79.550	79.155	78.618	78.265
n3	0	0.368	-0.126	4.735	11.781	17.406	21.871	22.844	18.234	11.665	9.616	8.185	5.978	6.016	10.944	61.450	98.245	98.937	100	99.908	99.536	98.395	97.784	96.961	95.342	94.826
n4	0	-1.519	-3.229	4.139	13.225	19.014	28.705	28.924	28.837	26.103	26.952	27.966	25.118	28.156	37.054	87.238	98.442	100	98.539	97.091	93.731	92.787	94.300	92.641	92.776	90.188
n5	0	-0.598	1.247	8.051	12.693	16.165	19.661	17.490	13.594	9.955	9.011	8.271	6.682	7.834	23.705	81.134	94.551	94.063	93.511	92.850	91.655	90.815	90.699	89.852	89.059	87.861

ตารางที่ 30 แสดงผลของสารสกัดจากสีเสียดเหนื (AC) ความเข้มข้น 0.3 mg/ml ในหลอดเลือดสายสะดือที่มีชั้น endothelial cells เมื่อได้รับ HOE 140 ความเข้มข้น 10-8 เมื่อกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ขนาดสูง แบบสะสมความเข้มข้น

การทดลอง	แรงดึงตัวของหลอดเลือดก่อนได้รับ ace 0.3 mg/ml ที่เวลาต่างๆ																									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
n1	0.000	0.179	0.077	0.082	-0.222	-0.479	-0.399	-0.277	-0.277	-0.289	-0.289	-0.203	-0.057	-0.324	-0.185	0.021	95.351	100	88.833	88.833	83.097	95.792	96.302	97.456	95.906	66.724
n2	0.000	-2.283	-4.084	-5.033	-5.442	-5.979	-6.348	-6.825	-6.825	-6.871	-7.101	-7.249	-7.505	-7.485	-7.639	14.421	95.552	100	90.576	86.748	84.331	82.452	79.222	73.824	48.768	20.657
n3	0.000	0.128	-0.971	-0.535	-1.808	-0.582	-1.210	-1.459	-1.598	-2.115	-2.129	-2.413	-2.417	-3.692	16.942	95.089	100	97.143	95.465	94.673	95.914	96.747	97.475	98.407	98.998	97.973
n4	0.000	0.227	-0.050	-0.223	-0.227	-0.407	-0.711	-0.978	-1.029	-1.244	-0.974	-0.929	-1.196	-1.550	18.997	93.200	98.372	94.608	94.607	97.277	98.174	99.368	100	99.360	99.979	99.632
n5	0.000	-0.558	-0.926	-0.566	-0.912	-0.506	-0.569	-0.852	-1.028	-0.996	-2.164	-1.431	-1.730	-2.013	37.347	100	89.556	81.612	82.448	83.558	85.499	87.213	88.269	89.537	87.354	90.353
n6	0.000	0.022	-0.310	-0.573	-0.765	-0.154	-0.585	-0.602	-0.395	-0.804	-0.302	-0.330	-0.602	-0.283	56.725	100	94.686	93.111	92.487	92.049	92.379	91.993	92.078	91.617	91.375	90.486

การทดลอง	แรงดึงตัวของหลอดเลือดหลังได้รับ ace 0.3 mg/ml ที่เวลาต่างๆ																									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
n1	0.000	0.197	-0.053	-0.053	-0.152	-0.152	0.065	0.257	-0.484	-1.125	-1.157	-1.637	-1.637	-1.697	-1.697	-1.697	-1.697	-1.228	-1.228	5.066	27.083	14.234	11.620	10.665	11.493	12.213
n2	0.000	-1.279	-1.575	-1.993	-2.258	-2.542	-2.785	-3.165	-4.052	-4.893	-5.550	-5.835	-6.072	-6.221	-6.548	-6.548	-6.548	3.423	3.423	19.756	20.544	17.660	19.144	17.242	8.948	10.543
n3	0.000	0.428	0.015	-0.652	-0.568	-0.701	-0.738	-1.365	-2.426	-3.265	-4.025	-4.547	-5.785	-5.504	-5.803	12.277	71.744	71.020	67.006	67.053	65.139	65.459	64.182	64.126	64.654	64.654
n4	0.000	0.130	-0.175	-0.291	-0.738	-0.825	-0.961	-1.487	-2.266	-3.874	-5.367	-6.194	-7.288	-7.615	-8.184	21.539	73.653	73.352	72.680	73.528	71.871	69.752	66.978	65.053	62.448	62.448
n5	0.000	-0.432	-1.169	-0.455	-0.593	-0.268	-0.859	-0.637	-1.310	-1.954	-2.024	-2.212	-1.873	-1.963	-2.421	20.713	36.016	30.310	30.667	31.351	31.120	31.171	29.729	29.045	28.063	26.136
n6	0.000	-1.178	-2.246	-2.258	-2.437	-2.000	-2.927	-2.423	-4.312	-5.152	-6.021	-6.019	-6.324	-6.925	-7.108	12.740	27.562	19.682	17.982	16.306	15.581	15.075	14.795	14.091	12.193	12.920

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากสีเสียดเหนือนำมาศึกษา

วิธีการวิเคราะห์ TLC

1. แยกสารสกัดด้วยเทคนิค TLC โดยใช้ solvent system ดังนี้
 - Ethly acetate : Chloroform : Acetic acid 7:2:1(v/v/v)
 - Ethly acetate : Dichloromethane : Acetic acid 7:2:1 (v/v/v)โดยปริมาตร solvent ที่ใช้ คือ 10 ml. ใช้เวลาในการทำให้ TLC tank อิ่มตัว 10-15 min.
2. เตรียมสารสกัดสีเสียดเหนือนำมาโดยให้มีความเข้มข้น 100 mg/ml โดยใช้ น้ำเป็นตัวทำละลาย แล้ว Shake ด้วยเครื่อง Vortex-genie เป็นเวลา 1 นาที นำไป spot บนแผ่น TLC plate ให้ได้เส้นผ่านศูนย์กลาง 2-3 mm ปริมาตร 2 μ l ด้วย disposable micropipette (ห่างจาก ตำแหน่งขอบล่างของ TLC plate 1 cm) แล้ววางลงบน TLC tank
3. เมื่อถึง front line (9 cm) นำ TLC plate ออก แล้วดูภายใต้แสง UV ความยาวคลื่น 254 nm และ 366 nm บันทึกผล
4. นำ TLC plate ไป spray ด้วย anisaldehyde reagent บันทึกผล ทำซ้ำอีก 2 ครั้ง

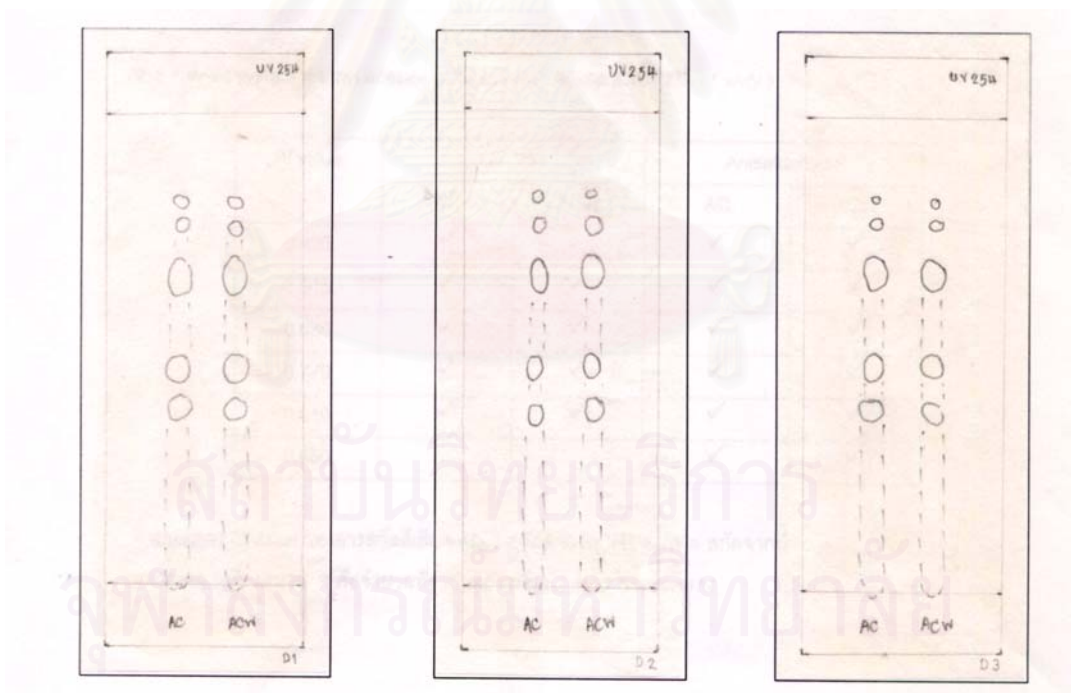
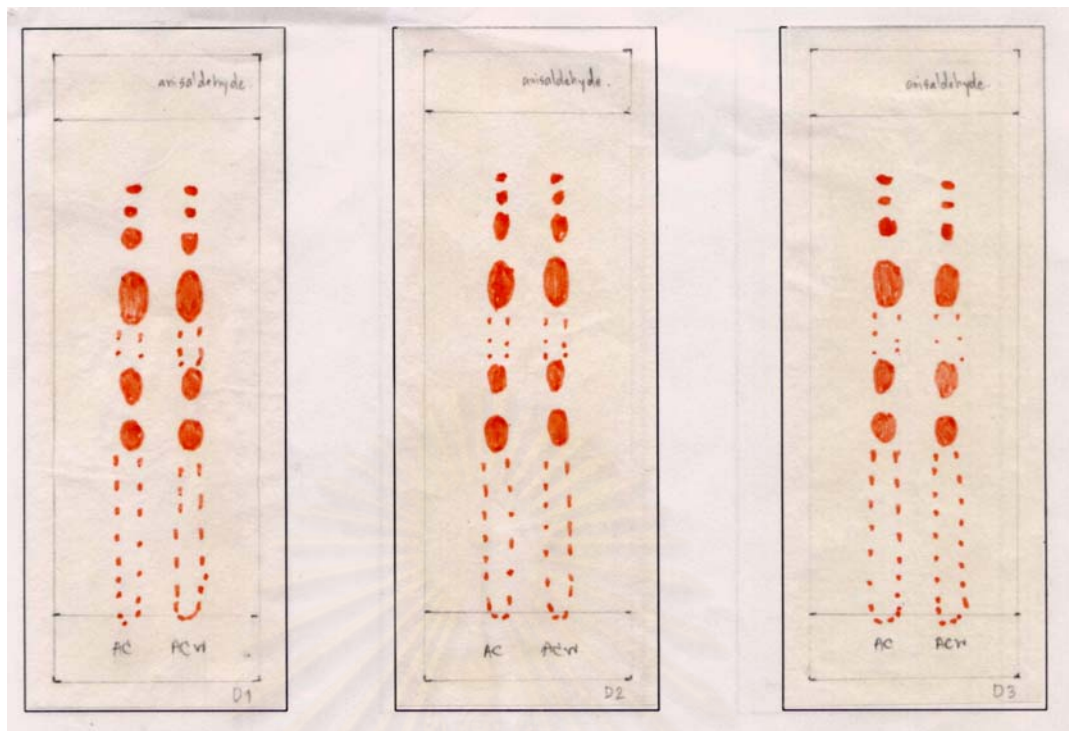
ผลการวิเคราะห์ TLC

1. solvent system = Ethly acetate : Chloroform : Acetic acid 7:2:1(v/v/v) ได้ผลการทดลองดังนี้

ตารางที่ 31 แสดง Rf value ของสารสกัดสีเสียดเหนือนำมา โดยใช้ Ethly acetate : Chloroform : Acetic acid 7:2:1(v/v/v) เป็น solvent system (AC= สกัดจาก EtOH, ACW=สกัดจากน้ำ)

Rf value	UV254		Anisaldehyde	
	AC	ACW	AC	ACW
0.375	✓	✓	✓	✓
0.475	✓	✓	✓	✓
0.660	✓	✓	✓	✓
0.765	✓	✓	✓	✓
0.820	✓	✓	✓	✓
0.865	-	-	✓	✓

หมายเหตุ ✓ คือจำนวนที่ซ้ำกันอย่างน้อย 2 ใน 3 ครั้งที่ทดลอง



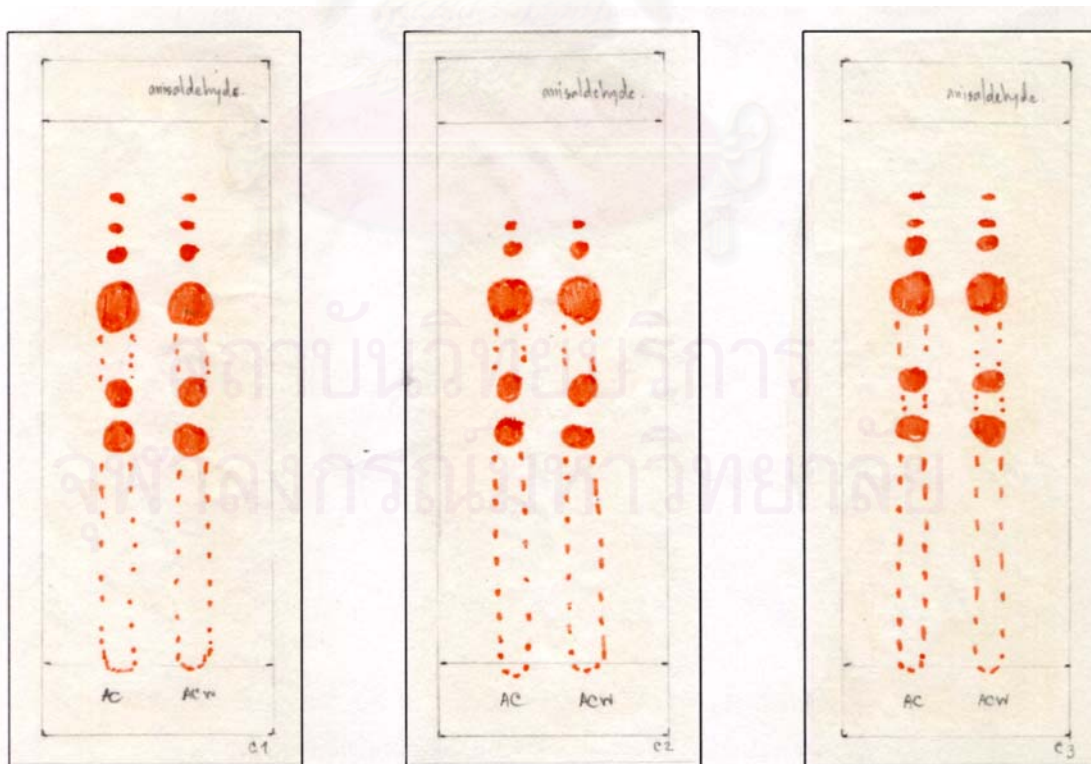
- หมายถึง สารสกัดสีเสียดเหนือที่ positive ต่อ anisaldehyde reagent
- หมายถึง สารสกัดสีเสียดเหนือที่ positive ต่อ UV254

2. solvent system = Ethly acetate : Dichloromethane : Acetic acid 7:2:1 (v/v/v)

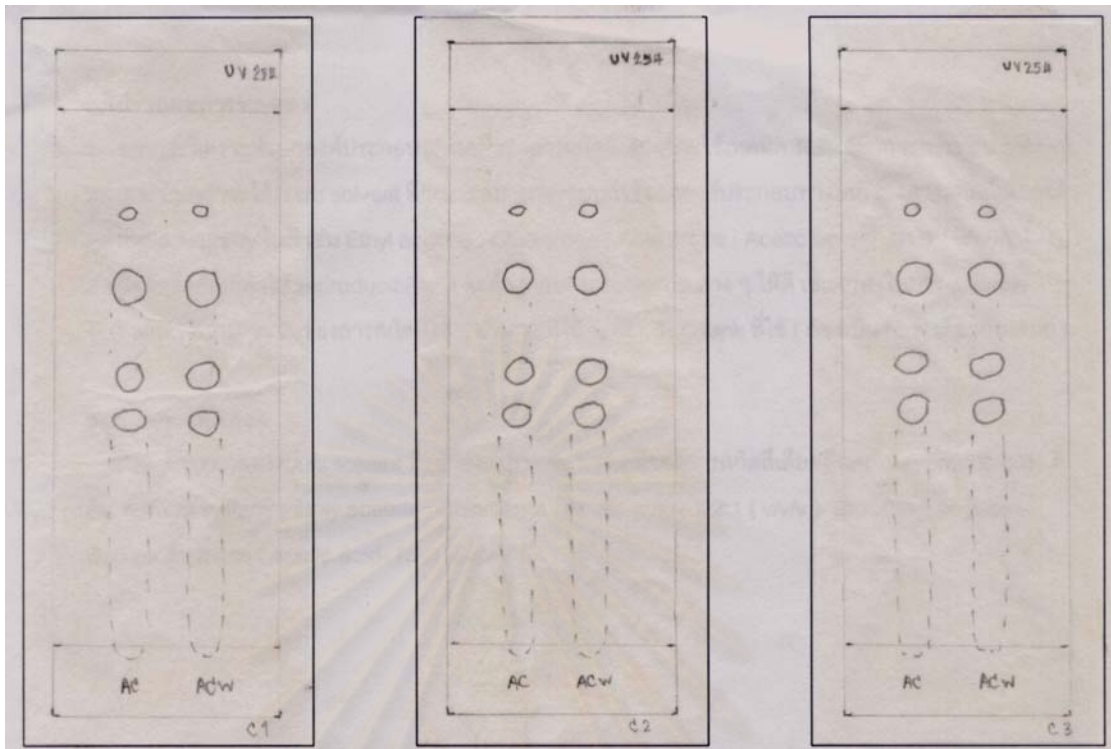
ตารางที่ 32 แสดง Rf value ของสารสกัดสีเสียดเหนือโดยใช้ Ethly acetate : Dichloromethane : Acetic acid 7:2:1 (v/v/v) เป็น solevent system (AC= สกัดจาก EtOH, ACW=สกัดจากน้ำ)

Rf value	UV254		Anisaldehyde	
	AC	ACW	AC	ACW
0.425	✓	✓	✓	✓
0.515	✓	✓	✓	✓
0.680	✓	✓	✓	✓
0.770	✓	✓	✓	✓
0.810	✓	✓	✓	✓
0.860	-	-	✓	✓

หมายเหตุ ✓ คือจำนวนที่ซ้ำกันอย่างน้อย 2 ใน 3 ครั้งที่ทดลอง



● หมายถึง สารสกัดสีเสียดเหนือที่ positive ต่อ anisaldehyde reagent



- หมายถึง สารสกัดสีเสียดเหนือที่ positive ต่อ UV254

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาว พินิจส์ ปราบโรค เกิดเมื่อวันที่ 10 มกราคม 2519 ที่จังหวัดแพร่ สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี พยาบาลศาสตรบัณฑิต จากมหาวิทยาลัยมหิดล เมื่อปี พ.ศ. 2541 หลังจากนั้น ได้เข้าปฏิบัติงานในตำแหน่งพยาบาลประจำการ หน่วยบำบัดพิเศษศัลยกรรม ชั้น 5 (ICU 5) โรงพยาบาลรามาริบัติ และ สมัครเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเภสัชวิทยา จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2542



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย