หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

อภิปรายและสรุปผล

จากการทดลองฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาเบื้องต้นทราบว่า สารสกัดบริสุทธิ์ฟ้าทะลายโจร 3 ชนิด (AC_1, AC_2 และ AC_3) มีฤทธิ์ยับยั้งการหดเกร็งของกล้ามเนื้อเรียบ ผลการทดลองในกล้ามเนื้อกระเพาะอาหารหนูขาวและหนูถีบจักร พบว่า AC_1, AC_2 และ AC_3 มีฤทธิ์ยับยั้งการหดเกร็งได้เช่นกัน ความแรงในการยับยั้งจะขึ้นกับขนาดที่ใช้ (dose dependent) ผลการออกฤทธิ์ยับยั้งเป็นแบบ non-specific antagonist เช่นเดียวกับผลการทดลองในลำไส้เล็ก (เพชรรัฒน์ พงศ์จรรยากุล, 2530 : ผจงศิลป์ เพิงมาก, 2531) กลไกการออกฤทธิ์ที่แท้จริงยังไม่อาจสรุปได้ชัดเจนในขณะนี้ แต่ข้อมูลทางวิชาการของนักวิจัยบางท่านประกอบการอภิปรายผลการทดลองต่อไปนี้ อาจจะเป็นแนวทางนำไปสู่การทดลองเพื่อศึกษากลไกการออกฤทธิ์โดยละเอียดต่อไปได้

<u>ผลของสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร 3 ชนิด (AC_1, AC_2 และ AC_3) ต่อการหดเกร็งของกล้ามเนื้อกระเพาะอาหารหนูขาวนอกร่างกาย (in vitro)</u>

นักวิจัยพบว่าเยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) ของกล้ามเนื้อเรียบมีคุณสมบัติยอมให้ประจุอนินทรีย์ (inorganic ions) บางชนิดเคลื่อนที่ผ่านเข้ามาภายในเซลล์ได้ (permeability) สารที่มีความสามารถไปเปลี่ยนแปลงการเคลื่อนที่ของประจุบางชนิดจากภายนอกเซลล์เข้ามาภายในเซลล์นี้ จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง action potential ในกล้ามเนื้อที่สามารถหดเกร็งได้เอง (spontaneous contraction) และยังมีผลไปเปลี่ยนแปลงแรงหดเกร็งของกล้ามเนื้ออีกด้วย (Bolton , 1979 a) แรงหดเกร็งของกล้ามเนื้อจะเกิดขึ้นได้จากการทำงานของ contractile protein (actomyosin) และการ

ทำงานของโปรตีนนี้จะถูกควบคุมโดยปริมาณ Ca^{2+} ในไซโตพลาสซึมและ ATP (Guyton, 1986) ในการศึกษาวิจัยเพื่อดูฤทธิ์ของสารสกัดจากฟ้าทะลายโจรต่อการเปลี่ยนแปลงการหดเกร็งของกล้ามเนื้อ อาจทำได้โดยจัดเงื่อนไขการทดลองเพื่อแสดงภาวะการทำงานของกลไกที่ควบคุม membrane permeability 2 ชนิดคือ

- receptor-operated calcium channel (ROC)
- potential-operated calcium channel (POC)

การทดลองจึงเลือกใช้ตัวกระตุ้นสำหรับ channel 2 ชนิด คือ acetylcholine (ACh) และ calcium chloride ($CaCl_2$)

1. การใช้สารกระตุ้น ACh

กล้ามเนื้อกระเพาะอาหารจะมี muscarinic receptor อยู่บนเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งถูกกระตุ้นได้ด้วย ACh การกระตุ้น muscarinic receptor จะมีผลกระตุ้นให้ ROC เปิด จึงมี ionic current หรือ inward calcium current ผ่านเข้ามาภายในเซลล์ (Bolton ,1979 a,b ; Hurwitz ,1986) จากการศึกษาทาง electrophysiology พบว่าการกระตุ้น muscarinic receptor เยื่อหุ้มเซลล์จะยอมให้ประจุ Na^{+} เคลื่อนที่ผ่านเข้ามามากกว่าชนิดอื่น และในการทดลองที่ใช้ physiological solution ที่ปราศจาก Ca^{2+} พบว่า ACh ก็ยังคงออกฤทธิ์ได้ (Bolton , 1979 a,b) ประจุ Na^{+}, Ca^{2+} ที่เคลื่อนที่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์เข้ามาทาง ROC นี้ จะไปกระตุ้นให้มีการปลดปล่อย Ca^{2+} จากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์ (intracellular storage sites) (Edman และ Schild,1961; Bolton , 1979 a) ทำให้ Ca^{2+} ในไซโตพลาสซึมเพิ่มสูงขึ้น จึงมีผลไปกระตุ้น contractile protein (actomyosin) แล้วเกิดการหดเกร็งของกล้ามเนื้อขึ้นได้

การกระตุ้น muscarinic receptor โดย ACh นี้จะพบการเปลี่ยนแปลงที่สำคัญเกิดขึ้น 2 ทาง ได้แก่ การเปลี่ยนแปลงทางด้านชีวเคมี และ membrane potential (Bolton , 1979 a,b)

สำหรับการเปลี่ยนแปลงทางด้านชีวเคมีนั้นพบว่า มีการสร้าง C-GMP และ phosphatidyl inositol กระบวนการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีอาจเกิดขึ้นในระหว่างที่ receptor ถูกกระตุ้น ซึ่งจะทำให้ conductance ของเซลล์เปลี่ยนไป หรือเกิดขึ้นในขั้นตอนอื่นที่เกี่ยวข้องหรือแยกออกไปจากการกระตุ้น receptor ก็ได้ (Bolton , 1979 b) ขณะนี้

นักวิจัยยังไม่ทราบแน่ชัดเกี่ยวกับคุณสมบัติโดยละเอียดของ ROC เนื่องจากข้อมูลการทดลองมีน้อย (Hurwitz , 1986)

สำหรับการเปลี่ยนแปลง membrane potential นั้น พบว่าการใช้ ACh ในปริมาณความเข้มข้นที่สูงพอจะมีผลไปลด membrane potential หรือไป depolarized เยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งอาจจะไปกระตุ้น POC ได้ (Bolton , 1979 a ; Hurwitz , 1986)

ผลจากการทดลองในกระเพาะอาหารหนูขาวพบว่า ACh จะกระตุ้นให้เกิดแรงหดเกร็งได้อย่างรวดเร็วทุกขนาดความเข้มข้นของ ACh (1×10^{-13}M ถึง $1 \times 10^{-1.5}$M) จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง action potential โดยความถี่ลดลงระยะยาวนานขึ้น (รูปที่ 4) และการให้ ACh ปริมาณสูงมาก ๆ อาจพบว่า action potential หายไปได้ ซึ่งจากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า ACh จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการทำงานของ POC ด้วย เพราะเป็นที่ทราบกันว่ากลไกที่ควบคุมการเกิด action potential ในกล้ามเนื้อที่สามารถหดเกร็งได้เองนั้นคือ POC (Bolton , 1979 a) ภาวะที่กล้ามเนื้อมี action potential ลดลงจน action potential หายไปนี้คล้ายกับการทดลองที่ทำให้เกิด depolarization ของเซลล์ด้วย potassium-depolarizing Tyrode's solution (high K^+ concentration , Ca^{2+} free) ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่า ACh ในขนาดความเข้มข้นที่สูงพอจะทำให้เกิดแรงหดเกร็งได้โดยมีผลไป depolarized เซลล์ด้วย ซึ่งสนับสนุนรายงานของ Bolton (1979 a,b) ผลจากการที่ POC ถูกกระตุ้นจะทำให้มีประจุ Ca^{2+} (และ/หรือ Na^+ จะผ่านเข้ามาได้บ้าง ทั้งนี้ปริมาณจะเปลี่ยนแปลงไปตามชนิดของเนื้อเยื่อ) เคลื่อนที่ผ่านเข้ามาในเซลล์ ประจุ Ca^{2+} ที่เคลื่อนที่ผ่านเข้ามาจะมีผลไปกระตุ้นให้มีการปลดปล่อย Ca^{2+} จากแหล่งเก็บภายในเซลล์ เช่นเดียวกับการกระตุ้น ROC ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่า ACh ในขนาดความเข้มข้นที่สูงพอจะทำให้ปริมาณ Ca^{2+} ในไซโตพลาสซึมเพิ่มขึ้นได้เนื่องจากผลรวมของประจุที่ผ่านเข้ามาทาง ROC และ POC นี้ไปกระตุ้นให้เกิดการปลดปล่อย Ca^{2+} จากแหล่งสะสมภายในเซลล์

ผลของ AC_1, AC_2 และ AC_3 ที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการหดเกร็งของกล้ามเนื้อกระเพาะอาหารที่เกิดจากสารกระตุ้น ACh นั้น อาจเกิดขึ้นได้จากกลไกแบบใดแบบหนึ่งหรือทั้งสองแบบร่วมกันดังนี้

(1) ยับยั้งการเคลื่อนที่ของประจุที่ผ่านเข้ามาทาง ROC โดยอาจจะเกี่ยวข้องในกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีที่เกิดขึ้นจากการกระตุ้น muscarinic receptor แต่ไม่น่าจะเป็นไปได้ที่ AC_1, AC_2 และ AC_3 จะออกฤทธิ์โดยจับกับ muscarinic receptor เช่นเดียวกับ ACh เนื่องด้วยผลการออกฤทธิ์ของ AC_1, AC_2 และ AC_3 เป็นแบบ non-specific antagonist และหากเกิดขึ้นได้ก็ต้องเกิดควบคู่กับกลไกอื่นที่ควบคุมการหดเกร็งของกล้ามเนื้อ

(2) ยับยั้งการเปลี่ยนแปลง membrane potential โดยป้องกันผลของ ACh ที่ไป depolarized เซลล์ ซึ่งกลไกนี้อาจเกิดจาก AC_1, AC_2 และ AC_3 ไปจับกับ macromolecule ใน POC จึงป้องกันการเปลี่ยนแปลงหน้าที่ของ POC จากการถูกกระตุ้นเมื่อเกิด depolarization ผลก็คือยับยั้งการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} ผ่านเข้ามาทาง POC แรงหดเกร็งจึงลดน้อยลง

จากผลการคำนวณหาค่า pD_2' ของ AC_1, AC_2 และ AC_3 พบว่าค่าที่ได้จะเปลี่ยนแปลงไปตามความเข้มข้นของสาร ซึ่งถ้าเป็นเช่นนี้ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นอาจจะไม่เป็นไปตามเงื่อนไขที่ Van Rossum และคณะ (1963) เสนอสูตรนี้ไว้ Furchgott (1964) กล่าวไว้ว่ามีนักวิจัยหลายคนที่พบว่าค่าของ pD_2' ลดลงเมื่อความเข้มข้นของสาร antagonist เพิ่มขึ้นโดยพบว่าจะเกิดขึ้นได้เมื่อสารนั้นเป็น non-specific antagonist และมี spare receptor อยู่

ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่าการออกฤทธิ์ของ AC_1, AC_2 และ AC_3 ในการยับยั้งผลของ ACh ที่มีต่อกล้ามเนื้อกระเพาะอาหารนี้ ไม่ได้เกิดจากการจับกับ muscarinic receptor (ROC) แต่อาจจะมีส่วนเกี่ยวข้องกับกลไกที่ควบคุมการทำงานของ ROC และ/หรือเกี่ยวข้องกับกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีเมื่อ muscarinic receptor ถูกกระตุ้นจนถึงเกิดการหดเกร็งของกล้ามเนื้อ นอกจากนี้ยังอาจมีผลยับยั้งการเปลี่ยนแปลง membrane potential ที่เป็นผลจากการกระตุ้น muscarinic receptor ได้อีกด้วย

2. การใช้สารกระตุ้น $CaCl_2$

การทำให้เซลล์เกิด depolarization วิธีที่ง่ายคือใช้ chemical voltage clamp technique โดยให้ K^+ ความเข้มข้นสูง (Hara และ Szurszewski, 1986) เมื่อเซลล์ถูก depolarized จะทำให้ POC เปิด (Van Breeman และ Arronson และ Loutzenhiser, 1979) มีรายงานว่าปริมาณ K^+ ที่สูงมากนี้จะไม่มีผลต่อการปลดปล่อย Ca^{2+}

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

จากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์ แต่การที่ K^+ กระตุ้นให้เกิดการหดเกร็งของกล้ามเนื้อขึ้นได้อย่างรวดเร็วนั้นเป็นเพราะ K^+ ความเข้มข้นสูงจะทำให้เกิด depolarization และมีประจุภายนอกเซลล์เคลื่อนที่ผ่านเข้ามาภายในเซลล์ (Bolton , 1979 a) ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของ Ca^{2+} ภายนอกเซลล์จึงมีผลโดยตรงต่อการเปลี่ยนแปลงแรงหดเกร็งของกล้ามเนื้อ แม้ว่าสภาวะการเกิด deporalization เมื่อมีปริมาณ Ca^+ ภายนอกเซลล์สูงๆนี้ อาจจะกระตุ้นให้หลั่ง neurohormone จากปลายประสาทที่ควบคุมเซลล์กล้ามเนื้อได้ (Reuter, 1983) แต่ Hurwitz และคณะ (1980) ทำการทดลองในลำไส้เล็กของหนูตะเภาพบว่าการเกิด depolarization จะไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงแรงหดเกร็งจากสารกระตุ้น $CaCl_2$ ผลอาจจะเหมือนกันกับในกระเพาะอาหารซึ่งเป็น muscarinic receptor เช่นเดียวกันก็ได้ซึ่งคงจะต้องทำการศึกษาวิจัยเพิ่มเติมต่อไป สำหรับ Ca^{2+} ที่เคลื่อนที่ผ่านจากภายนอกเซลล์เข้ามาสู่ภายในเซลล์นี้ Hurwitz (1986) พบว่ามีกลไกที่ควบคุมอยู่หลายขั้นตอน Ca^{2+} ที่ผ่านเข้ามาจะไปกระตุ้นให้มีการปลดปล่อย Ca^{2+} จากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์ ทำให้ Ca^{2+} ในไซโตพลาสซึมสูงขึ้น จึงกระตุ้นให้เกิดการหดเกร็งของกล้ามเนื้อได้

ผลการทดลองของ AC_1, AC_2 และ AC_3 ที่พบว่าจะออกฤทธิ์ยับยั้งการหดเกร็งของกล้ามเนื้อกระเพาะอาหารที่เกิดจากการถูกกระตุ้นด้วย $CaCl_2$ ในความเข้มข้นน้อย ๆ (1×10^{-5}M ถึง 1×10^{-2}M) และถ้าเพิ่มความเข้มข้นของ $CaCl_2$ ให้สูงขึ้นจะเริ่มยับยั้งได้น้อยลงจนไม่สามารถยับยั้งการหดเกร็งได้นั้น ผลการออกฤทธิ์นี้เป็นแบบ competitive antagonist เหมือนกับเวอราปามิล มีผู้ศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของเวอราปามิลมากมายพบว่าการออกฤทธิ์เป็นแบบ calcium entry blocker (Godfraind และ Miller และ Wido , 1986) ป้องกันการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์เข้ามาภายในเซลล์ (Haeusler , 1972) โดยบริเวณที่ออกฤทธิ์น่าจะอยู่ที่เยื่อหุ้มเซลล์ (Bohr , 1964) และขนาดความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์เข้ามาภายในเซลล์ได้นี้จะมีผลยับยั้งการขับ Ca^{2+} ออกสู่ภายนอกเซลล์ (calcium efflux) ได้ด้วย (Speeding , 1983) และจากการที่พบว่าผลการยับยั้งเป็นแบบ reversible ได้เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ Ca^{2+} ภายนอกเซลล์นั้นกลไกการเกิดคงไม่ได้เป็นแบบ simple competition หรือ true competition ระหว่างเวอราปามิลกับ Ca^{2+} ที่ binding site เดียวกัน (Arunlakshana และ Schild , 1959 ; Hurwitz , 1986) แต่จะเป็นแบบ

pseudo-competitive effect ที่เกิดจากการมี Ca^{2+} อิสระเพิ่มมากขึ้นที่เยื่อหุ้มเซลล์ ยังผลให้เกิด Ca^{2+} gradient (Arunlakshana และ Schild , 1959) ซึ่งอาจจะมีผลไปลดประสิทธิภาพของสาร calcium entry blocker (Godfraind และคณะ , 1986) และ/หรือ antagonist ไปทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางอ้อมในกระบวนการที่เกี่ยวข้องกับ calcium binding และ calcium translocation ก็ได้ (Rosenberger และ Ticku และ Triggle , 1979) และมีข้อน่าสังเกตจากการทดลองของ Rosenberger และคณะ (1979) ที่ใช้แกลโลปามิล (gallopaill หรือ D 600) และ calcium antagonist ตัวอื่นในการยับยั้งการหดเกร็งของกล้ามเนื้อจากการถูกกระตุ้นที่ muscarinic receptor ของลำไส้เล็กของหนูตะเภา โดยพบว่าผลการยับยั้งของสารดังกล่าวเป็นแบบ non-competitive antagonist และเขายังได้พิสูจน์พบว่าสารยับยั้งแกลโลปามิลไม่ได้ออกฤทธิ์โดยการจับที่ muscarinic receptor สารยับยั้งแกลโลปามิลเป็นยาในกลุ่ม phenylalkylamines และออกฤทธิ์เป็น calcium entry blocker เช่นเดียวกับเวอราปามิล (Godfraind และคณะ , 1986) ซึ่งหากเปรียบเทียบผลของสารยับยั้งแกลโลปามิลกับ AC_1, AC_2 และ AC_3 ต่อการหดเกร็งของกล้ามเนื้อที่ถูกกระตุ้นที่ muscarinic receptor แล้วผลที่ได้ก็เป็น non-competitive antagonist เหมือนกัน

ดังนั้นการออกฤทธิ์ของ AC_1, AC_2 และ AC_3 ต่อการหดเกร็งของกล้ามเนื้อกระเพาะอาหารหนูขาวเมื่อถูกกระตุ้นด้วย $CaCl_2$ นั้นอาจจะมีกลไกการออกฤทธิ์คล้ายกับเวอราปามิลโดยเป็น calcium entry blocker ซึ่งบริเวณที่ออกฤทธิ์ (site of action) ยังไม่ทราบแน่ชัด อาจจะอยู่บนเยื่อหุ้มเซลล์เช่นเดียวกับเวอราปามิล หรืออาจเกี่ยวข้องกับการยับยั้งขั้นตอนที่ควบคุม calcium binding หรือ calcium translocation ซึ่งจะมีผลไปยับยั้งการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} ที่ผ่านเข้ามาภายในเซลล์ก็ได้

<u>ผลของสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร 3 ชนิด (AC_1, AC_2 และ AC_3) ต่อการหดเกร็งของกล้ามเนื้อกระเพาะอาหารหนูถีบจักรทั้งกระเพาะที่แยกออกมานอกร่างกาย (in vitro)</u>

1. เมื่อใช้สารกระตุ้น ACh

ACh จะกระตุ้นการหดเกร็งของกล้ามเนื้อกระเพาะอาหารหนูถีบจักรทั้งกระเพาะ

ให้เกิดการหดเกร็งแบบ phasic และ tonic phase โดย ACh ขนาดความเข้มข้น 1×10^{-6}M จะทำให้ action potential มีความแรงของการหดเกร็งและความถี่เพิ่มขึ้นด้วย กลไกในการเกิด phasic และ tonic phase จากการกระตุ้น ROC เชื่อว่าถูกควบคุมโดย Ca^{2+} จากแหล่งต่าง ๆ แต่ยังไม่สามารถแยกความแตกต่างของ phasic และ tonic phase ได้ชัดเจน (Hurwitz , 1986) ผลการทดลองที่พบว่า AC_1, AC_2 และ AC_3 สามารถลดความถี่และความแรงของการหดเกร็งของ action potential ได้นั้น กลไกน่าจะเกี่ยวข้องกับการยับยั้งการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} ที่ผ่านเข้ามาทาง POC ซึ่งเป็น channel ที่ควบคุมกลไกการเกิด action potential

2. เมื่อใช้สารกระตุ้น $CaCl_2$

Hurwitz (และคณะ 1980 , 1986) อธิบายการตอบสนองของกล้ามเนื้อแบบ phasic และ tonic phase เมื่อได้รับสารกระตุ้น Ca^{2+} ในขณะที่กล้ามเนื้อถูก depolarized ว่าการควบคุมการทำงานใน POC มี channel ที่ควบคุมอยู่ 2 ชนิด (subtype) ชนิดแรกควบคุมการเกิด phasic contraction โดยจะถูกกระตุ้นเมื่อมี K^+ ภายนอกเซลล์ในปริมาณสูง ๆ การกระตุ้น channel ชนิดนี้จะเพิ่ม calcium conductance จึงมี Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์เข้ามาภายในเซลล์ Ca^{2+} ที่ผ่านเข้ามาในไซโตพลาสซึมจะทำหน้าที่ปลดปล่อย Ca^{2+} จากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์ จึงทำให้ปริมาณ Ca^{2+} ในไซโตพลาสซึมสูงขึ้นและกระตุ้นให้เกิดการหดเกร็ง ซึ่งกลไกเหล่านี้เกิดขึ้นรวดเร็วมากจึงพบว่า phasic contraction จะเกิดขึ้นทันทีเมื่อกล้ามเนื้อถูก depolarized และที่เห็นว่า phasic phase เกิดขึ้นในระยะเวลาสั้นเพราะ channel ที่ควบคุมการเกิด phasic phase นี้จะถูกยับยั้งได้ด้วยปริมาณ Ca^{2+} ความเข้มข้นสูงจากภายนอกเซลล์ ส่วนตัวควบคุมการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์เข้ามาภายในเซลล์อีกชนิดหนึ่งของ POC นั้นเป็น channel ที่ถูกยับยั้งเมื่อภายนอกเซลล์มีปริมาณ K^+ ความเข้มข้นสูง แต่จะถูกกระตุ้นเมื่อภายนอกเซลล์มี Ca^+ ในปริมาณที่มากพอ channel ชนิดนี้จะควบคุมการเกิด tonic contraction โดยเมื่อถูกกระตุ้นจะยอมให้ Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์เคลื่อนที่ผ่านเข้ามาภายในเซลล์และเกิด inward calcium current ขึ้นระยะเวลาในการเกิด tonic phase จะยาวนานมาก (90 ถึง 120 นาที) ดังนั้นเมื่อ channel ชนิดแรกที่ควบคุม phasic contraction เปิด channel ที่ควบคุม tonic contraction จะถูกยับยั้งและเมื่อ channel ชนิดแรกถูกยับยั้ง channel ชนิดหลังจะถูกกระตุ้น

นอกจากนี้ Bolton (1979 a) ยังพบว่าการที่ระยะเวลาใน tonic phase ยาวนานมากเป็นเพราะขณะที่เกิด tonic phase ปริมาณ Ca^{2+} ภายในเซลล์จะสูงมาก จึงมีผลไปลดการทำงานของ Na pump ทำให้การแลกเปลี่ยน Na กับ K (Na^{+} - K^{+} exchange) ลดน้อยลงจึงพบว่า repolarization เกิดช้ามาก อย่างไรก็ดีการที่ tonic phase ยาวนานนี้น่าจะมีส่วนเกี่ยวข้องกับกลไกที่ควบคุมปริมาณ Ca^{2+} ภายในเซลล์ด้วย ซึ่งพบว่าเซลล์จะควบคุมปริมาณ Ca^{2+} ภายในเซลล์โดยการเก็บสะสมไว้ในอวัยวะภายในเซลล์ด้วยวิธี calcium transport system (Hurwitz และคณะ,1980) และ sarcoplasmic reticulum ในเซลล์ของกล้ามเนื้อเรียบมีบทบาทสำคัญในการควบคุมการคลายตัวของกล้ามเนื้อ (relaxation) สำหรับเวอราปามิลนั้น พบว่าจะมีผลยับยั้งการเก็บกลับ Ca^{2+} เข้าไปในแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์ได้ด้วย (Bolton , 1979 a)

สำหรับผลของ AC_1, AC_2 และ AC_3 ที่สามารถลดแรงตึงตัวของกล้ามเนื้อใน tonic phase ได้โดยเฉพาะเมื่อกล้ามเนื้อเกิด depolarization นั้น กลไกการออกฤทธิ์ยับยั้งค่อนข้างแน่ชัดว่ามีผลยับยั้งการทำงานของ channel ชนิดหนึ่งของ POC ที่ควบคุม tonic contraction ซึ่ง channel นี้อยู่ที่เยื่อหุ้มเซลล์ ส่วนฤทธิ์ยับยั้งจะมีต่อ phasic contraction หรือไม่อย่างไรนั้นคงต้องทำการศึกษาเพิ่มเติม นอกจากนี้ยังพบว่าภายหลังจากที่ AC_1, AC_2 และ AC_3 ยับยั้งแรงหดเกร็งใน tonic phase นั้น แรงตึงตัวของกล้ามเนื้อจะยังคงอยู่ และรักษาระดับคงที่ไว้ยาวนานมากกว่าจะกลับคืนสู่ระดับปกติ (base line) จึงเป็นไปได้ว่า AC_1, AC_2 และ AC_3 อาจจะมีผลยับยั้งกลไกที่ควบคุม calcium efflux และ/หรือ calcium transport system ซึ่งเป็นกลไกที่ช่วยทำให้กล้ามเนื้อคลายตัวโดยวิธีลดปริมาณ Ca^{2+} ในไซโตพลาสซึม โดยเวอราปามิลก็สามารถให้ผลยับยั้งกลไกนี้ได้เช่นเดียวกัน จึงเป็นแนวทางที่จะทำการศึกษาวิจัยต่อไป เพื่อใช้อธิบายกลไกการออกฤทธิ์ที่แท้จริงของ AC_1, AC_2 และ AC_3

สรุป

จากผลการวิจัยทำให้ทราบว่า AC_1 , AC_2 และ AC_3 มีฤทธิ์ยับยั้งการหดเกร็งของกล้ามเนื้อกระเพาะอาหารหนูขาวและหนูถีบจักรได้ ความสามารถในการยับยั้งจะขึ้นกับขนาด

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ที่ใช้ (dose dependent) และสารที่ออกฤทธิ์ยับยั้งได้แรงที่สุดคือ AC_2 ส่วน AC_3 และ AC_1 จะให้ผลรองลงมา กลไกการออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในเบื้องต้นนี้ทำให้ทราบว่าสารสกัดจากฟ้าทะลายโจรน่าจะเป็นแบบ non-specific antagonist โดยพบว่าผลการออกฤทธิ์ยับยั้งต่อสารกระตุ้น ACh ทาง ROC ให้ผลเป็นแบบ non-competitive antagonist เช่นเดียวกับผลการทดลองในลำไส้เล็ก ส่วนผลการออกฤทธิ์ยับยั้งต่อสารกระตุ้น $CaCl_2$ เมื่อกล้ามเนื้อถูก depolarized พบว่าจะให้ผลเป็นแบบ competitive antagonist กลไกของการออกฤทธิ์ที่แท้จริงยังไม่อาจสรุปได้ในขณะนี้ แต่น่าจะออกฤทธิ์คล้ายเวอราปามิลซึ่งสาร antagonist ตัวนี้เป็น calcium-entry blockers และผลของเวอราปามิลต่อกล้ามเนื้อกระเพาะอาหารเมื่อใช้สารกระตุ้น $CaCl_2$ จะเป็นแบบ competitive antagonist เหมือน AC_1 AC_2 และ AC_3 ดังนั้นหากจะสรุปกลไกการออกฤทธิ์ของ AC_1, AC_2 และ AC_3 อย่างกว้าง ๆ ไว้เพื่อประกอบการศึกษาค้นคว้าหากลไกการออกฤทธิ์โดยละเอียด ก็อาจจะกล่าวเป็นแนวทางได้ว่ากลไกการออกฤทธิ์ของ AC_1, AC_2 และ AC_3 อาจเกิดได้แบบใดแบบหนึ่งหรือหลายแบบร่วมกันดังนี้

1. ยับยั้งกลไกที่ควบคุมการทำงานของ ROC โดยอาจจะเกี่ยวข้องกับกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมที่เกิดขึ้นจากการที่ ROC ถูกกระตุ้น และ/หรือ เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงหลังจากที่ ROC ถูกกระตุ้นจนถึงเกิดการหดเกร็งของกล้ามเนื้อ เนื่องจากนักวิจัยพบว่าการกระตุ้น ROC จะเกิดการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีหลายอย่าง เช่นพบว่า มีการสร้าง C-GMP และ inositol 1-4-5 triphosphate (IP_3) ซึ่ง IP_3 นี้มีส่วนเกี่ยวข้องกับการปลดปล่อย Ca^{2+} จากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์ เป็นต้น

2. ยับยั้งกลไกที่ควบคุมการทำงานของ POC หรือการเปลี่ยนแปลง membrane potential โดยลักษณะของการออกฤทธิ์จะเป็นแแบบ calcum-entry blocker คล้ายกับเวอราปามิลบริเวณที่ออกฤทธิ์ (site of action) น่าจะอยู่ที่เยื่อหุ้มเซลล์ โดยเป็นที่ทราบว่า POC มี channel อยู่ 2 ชนิด (subtype) ชนิดแรกควบคุมการตอบสนองแบบ phasic contraction และชนิดที่สองควบคุมการตอบสนองแบบ tonic contraction ผลการทดลองเห็นชัดเจนว่า AC_1, AC_2 และ AC_3 มีผลยับยั้ง tonic contraction ได้

3. ยับยั้งกลไกที่ควบคุม calcium efflux และ/หรือ calcium transport system ของ intracellular organelles โดยกลไกแบบที่ 3 นี้ อาจจะเกิดขึ้นหรือไม่นั้นยังไม่ทราบ แต่ไม่ใช่เป็นกลไกหลัก เพียงแต่อาจจะเกิดร่วมกับกลไกในข้อที่ 1 หรือ 2 ก็ได้

ทั้งนี้เพราะมีรายงานว่าเวอราปามิลซึ่งให้ผลการทดลองเหมือนกับ AC_1, AC_2 และ AC_3 นั้น มีผลยับยั้ง calcium efflux และ calcium transport system ซึ่งเป็นกลไกที่ควบคุมปริมาณ Ca^{2+} ในไซโตพลาสซึมได้

จากที่กล่าวมาทั้งหมดนี้คงจะเป็นข้อมูลส่วนหนึ่งเพื่อประกอบการพิจารณาศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสกัดจากฟ้าทะลายโจรต่อไป และผลจากการทดลองในครั้งนี้จะใช้เป็นข้อมูลสนับสนุนรายงานการใช้สมุนไพรฟ้าทะลายโจรสำหรับรักษาโรคที่เกี่ยวกับระบบทางเดินอาหารทั้งจากแพทย์แผนโบราณและการวิจัยในคลีนิกตามที่ได้กล่าวมาแล้ว โดยเฉพาะผลงานการวิจัยที่ใช้ AC_2 จะเห็นผลการยับยั้งการหดเกร็งของกระเพาะอาหารหนูขาว และหนูถีบจักรชัดเจนมาก ซึ่งสารนี้แม้จะมีปริมาณน้อยกว่า AC_1 แต่อาจจะเป็นสารสำคัญของการออกฤทธิ์ของสมุนไพรฟ้าทะลายโจรก็ได้ ดังนั้น ผลการวิจัยในครั้งนี้คงจะเป็นประโยชน์ต่อการพัฒนางานวิจัยสมุนไพรเพื่อการพึ่งพาตนเองของประเทศไทยต่อไป

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย