

บทที่ 4

อภิปรายและสรุปผลการทดลอง

อัลคาลอยด์หลักจากเปลือกต้นของต้นตาสลึง (D. cyrtobotryum Miq.) เป็นอัลคาลอยด์ที่ละลายได้ดีในน้ำได้สารละลายสีเหลืองจาง จากการพิสูจน์เอกลักษณ์โดยตรงศาสตราจารย์ ดร. เอกรินทร์ สายฟ้า ภาควิชาเภสัชพฤกษศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เชื่อว่ามีสูตรโครงสร้างเช่นเดียวกับ rohitukine ดังได้กล่าวมาแล้ว จากการทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาพบว่าอัลคาลอยด์ จาก D. binectariferum มีคุณสมบัติเป็นทั้งสารต้านการอักเสบและสารปรับเปลี่ยนภูมิคุ้มกัน (anti-inflammatory and immuno modulatory properties) โดยมีกลไกการออกฤทธิ์ที่แตกต่างไปจากยาในกลุ่ม NSAID และ immunomodulators (Lakdawala et al., 1988) และการศึกษาในกล้ามเนื้อเรียบพบว่าอัลคาลอยด์ จาก D. cyrtobotryum Miq. (R) สามารถยับยั้งการหดเกร็งของลำไส้เล็ก ของกระต่าย หนูตะเภาและกระเพาะอาหารของหนูถีบจักร (สมชาย แสงอำนาจเดช, 2534) และสามารถลดการหดเกร็งของหลอดเลือด aorta ที่แยกจากหนูขาว (จินทนา, เลอमानนท์, 2534) ซึ่งเมื่อพิจารณาสูตรโครงสร้างของอัลคาลอยด์ที่ แยกจาก D. binectariferum พบว่าคล้ายคลึงกับโครงสร้างของ cromakalim (BRL34915) ซึ่งมีคุณสมบัติในการเปิด K^+ channel (Cook, 1988) และคลาย กล้ามเนื้อหลอดเลือดและหลอดลมได้ดี (potent vasodilator and bronchodilator) ในการวิจัยนี้จึงสนใจศึกษาผลของอัลคาลอยด์ (R) ต่อ กล้ามเนื้อหลอดลมเพื่อเปรียบเทียบผลดูว่าอัลคาลอยด์นี้มีความเฉพาะเจาะจงต่อ เนื้อเยื่ออย่างหนึ่งอย่างใดหรือไม่ และเพื่อหาตำแหน่งในการออกฤทธิ์ของอัลคาลอยด์ (R) ต่อการหดตัวของหลอดลม นอกจากนี้ยังเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการนำสมุนไพร มาใช้ประโยชน์ เพราะทราบมาเป็นเวลานานแล้วว่า การเกิดการอักเสบ (inflammation) ที่ epithelium ของทางเดินหายใจนั้นเป็นลักษณะเด่นและ พบได้ในคนไข้หอบหืด (Dunnill, 1960) และ epithelium มีบทบาทสำคัญ ในการควบคุมการตอบสนองของกล้ามเนื้อหลอดลมต่อสารกระตุ้นต่างๆ (Holroyde, 1986; Farmer et al., 1986; Lev et al., 1990; Morrison, Gao and Vanhoutte, 1990)

โดยที่อัลคาลอยด์จาก D. binectariferum สามารถลดการอักเสบ. และถ้าอัลคาลอยด์จาก D. cyrtobotryum Miq. (R) สามารถลดการหดตัวของหลอดลมได้ คงจะมีการพิจารณานำอัลคาลอยด์ (R) มาศึกษาในการใช้ทางคลินิกต่อไปข้างหน้า

ในการหดตัวและคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบทางเดินหายใจนั้นจะเกี่ยวข้องกับ coupling mechanism กล่าวคือสารสื่อประสาท (neurotransmitters) และ mediators จับกับ receptors แล้วส่งสัญญาณผ่านทาง G-protein ไปที่ ion channel และระบบการสร้าง second messenger ทำให้ Ca^{2+} ภายในเซลล์เพิ่มขึ้น ซึ่งจะมีผลไปควบคุมการเกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ (cross-bridge) (Coburn and Baron, 1990) โดย Coburn และ Baron ได้แบ่ง coupling mechanism ในกล้ามเนื้อเรียบทางเดินหายใจออกเป็น 2 ชนิด ดังนี้

1. กลไกที่ขึ้นกับการเปลี่ยนแปลงศักย์ไฟฟ้าที่ผิวของ membrane (electromechanical coupling; EMC) ซึ่งจะเกี่ยวข้องกับ

- Agonist-Evoked Membrane Depolarization เป็นการ coupling ระหว่าง receptor กับ ion channel โดยที่ G-protein จะเป็นตัวส่งสัญญาณจาก receptor ทำให้เกิด membrane depolarization แล้วมีผลไปกระตุ้นให้ Voltage-dependent Ca^{2+} channel เปิดออก มีการผ่านของ Ca^{2+} (influx) เข้าสู่ภายในเซลล์ผ่านทาง channel นี้

- Receptor Operated Channel (ROC) เป็นการ coupling ระหว่าง receptor กับ non voltage-gated Ca^{2+} channel ซึ่งสามารถก่อให้เกิด inward current แล้วไป depolarize ผิวของ membrane ให้ถึง threshold ที่สามารถกระตุ้น voltage-gated Ca^{2+} channel ได้

2. กลไกที่ไม่ขึ้นกับการเปลี่ยนแปลงศักย์ไฟฟ้าที่ผิวของ membrane (Pharmacomechanical coupling; PMC)

- ผ่าน $Ins(1,4,5)P_3$; เป็นการ coupling ระหว่าง receptors กับ second messenger โดย G-protein เมื่อมีการกระตุ้น receptors จะมีการ hydrolysis ของ PIP_2 ได้สาร $Ins(1,4,5)P_3$ (second messenger) ซึ่งจะไปเปิด Ca^{2+} channel ที่แหล่งเก็บ Ca^{2+}

ภายในเซลล์ทำให้ Ca^{2+} เคลื่อนออกจาก cytosolic compartment มีผลทำให้กล้ามเนื้อเรียบหดตัว

- ผ่าน cAMP หรือ cGMP; เป็นการ coupling ระหว่าง receptors กับ second messenger โดย G-protein เมื่อมีการกระตุ้น receptor จะมีการสร้าง cAMP หรือ cGMP เพิ่มขึ้น (Popesco et al., 1985; Madison and Brown, 1988; Hall, Donalson and Hill, 1989) และมีผลไปยับยั้งการสร้าง $Ins(1,4,5)P_3$ ทำให้เกิดการคลายตัวของกล้ามเนื้อ

มีรายงานพบว่า Ach ออกฤทธิ์ต่อหลอดลมโดยการจับกับ M_3 receptor subtype โดยมี PMC ผ่านทาง $Ins(1,4,5)P_3$ และมี EMC ผ่านทาง voltage dependent Ca^{2+} channel (Rasmussen, Kelly and Douglas, 1990; Yang, Chou and Sung, 1991; Morrison and Vanhoutte, 1992) ในการศึกษาผลของอัลคาลอยด์ (R) ต่อ cumulative dose-response curve (CDR) ของ Ach พบว่าอัลคาลอยด์ (R) 1.23×10^{-4} M สามารถเลื่อนกราฟ CDR ของ Ach ไปทางขวาที่ความเข้มข้นของ Ach 1.0×10^{-8} - 1.0×10^{-5} M แต่เมื่อความเข้มข้นของ Ach สูงขึ้น (3.0×10^{-5} - 3.0×10^{-4} M) อัลคาลอยด์ (R) กลับเลื่อนกราฟไปทางซ้ายและสูงขึ้น (รูปภาพที่ 10) อย่างไรก็ตามเมื่อเพิ่มขนาดของอัลคาลอยด์ (R) เป็น 3.68×10^{-4} M พบว่า สามารถเลื่อนกราฟ CDR ของ Ach ไปทางขวาและลดค่าการหดตัวสูงสุด (maximum contraction) ได้ กล่าวคืออัลคาลอยด์ (R) สามารถยับยั้งการหดตัวของหลอดลมที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย Ach ในลักษณะ dose-dependent manner และเป็น non-competitive antagonism (Winter, 1992) แสดงว่าอัลคาลอยด์ (R) มีฤทธิ์ยับยั้งโดยไม่ได้แข่งขันจับที่ muscarinic receptor

5 HT receptors จำแนกตามคุณสมบัติทางชีววิทยาและเภสัชวิทยาของโมเลกุลได้อย่างน้อย 3 ชนิด คือ $5HT_1$, $5HT_2$ และ $5HT_3$ (Zifa and Fillion, 1992) โดยที่ $5HT_2$ -receptors เกี่ยวข้องกับกระบวนการกระตุ้นและควบคุมการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ (Barnes, Chung and Page, 1988) ในการศึกษาผลของอัลคาลอยด์ (R) ต่อกราฟ CDR ของ

5HT พบว่าอัลคาลอยด์ (R) 1.23×10^{-4} M และ 3.68×10^{-4} M สามารถเลื่อนกราฟ CDR ไปทางขวาและลดค่าการหดตัวสูงสุด (maximum contraction) ได้โดยมีลักษณะเป็น dose-dependent manner และ non-competitive antagonism. (รูปภาพที่ 14) แสดงว่าอัลคาลอยด์ (R) มีฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวที่กระตุ้นด้วย 5HT โดยไม่ได้แข่งขันจับที่ 5HT receptors โดยในการทดลองศึกษาผลของอัลคาลอยด์ (R) ต่อกราฟ CDR ของ Ach และ 5HT นั้นจะเปรียบเทียบผลกับเมื่อให้ verapamil 1.0×10^{-6} M และ isoproterenol 1.0×10^{-6} M พบว่าอัลคาลอยด์ (R) สามารถแสดงผลในการยับยั้งได้เช่นเดียวกับ verapamil และ isoproterenol (รูปภาพที่ 13 และ 15) แต่จากการทดลองนาร์รอง (ไม่ได้แสดงผลการทดลอง) พบว่า propranolol (β -blocker) สามารถต้านฤทธิ์การยับยั้งของ isoproterenol ได้ แต่ไม่สามารถต้านฤทธิ์การยับยั้งของอัลคาลอยด์ (R) กล่าวคืออัลคาลอยด์ (R) ไม่ได้ออกฤทธิ์ผ่าน β -adrenergic receptors เมื่อพิจารณาความแรง (potency) ในการยับยั้งของอัลคาลอยด์ (R) เมื่อกระตุ้นด้วย Ach และ 5HT พบว่าอัลคาลอยด์ (R) 3.68×10^{-4} M มีความแรง (potency) ในการยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเมื่อกระตุ้นด้วย 5HT ($pD'_2 = 4.08 \pm 0.07$) มากกว่าเมื่อกระตุ้นด้วย Ach ($pD'_2 = 2.84 \pm 0.09$) ทำนองเดียวกันกับที่พบใน verapamil 1.0×10^{-6} M (พิจารณาจากรูปภาพที่ 13, 15 และค่า pA_2 และ pD'_2 ของ verapamil) ซึ่งเราทราบว่า verapamil ออกฤทธิ์โดยการจับกับ L-type channel ของ voltage-dependent Ca^{2+} channels แต่ไม่ได้ออกฤทธิ์ที่ receptor-operated Ca^{2+} channels (Baba et al., 1985; Speding and Paoletti, 1992) แสดงว่าสำหรับการกระตุ้นกล้ามเนื้อด้วย 5HT นั้น จะมีการผ่านเข้าเซลล์ (influx) ของ Ca^{2+} จากภายนอกผ่านทาง voltage-dependent Ca^{2+} channels เป็นกลไกหลัก

ในสารละลายที่มี K^+ ขนาดสูงจะสามารถทำให้เกิด membrane depolarization แล้วมีผลไปเปิด voltage-dependent Ca^{2+} channel ทำให้ Ca^{2+} ภายนอกเซลล์ผ่านเข้า (influx) สู่ภายในเซลล์ (Bolton, 1979) และในสภาวะเช่นนี้จะเป็นรูปแบบการหดตัวของกล้ามเนื้อที่กระตุ้นผ่านทาง EMC เพียงกลไกเดียว (pure EMC) โดยการหดตัวนี้จะขึ้นกับปริมาณ Ca^{2+} ภายนอก

เซลล์และสามารถยับยั้งได้ด้วยการ repolarize membrane โดยการผ่านกระแสไฟฟ้า (Coburn, 1979) และด้วยการปิดกั้นการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์ผ่านทาง Ca^{2+} channel โดยการให้สารกลุ่ม calcium antagonists (Godfraind, Miller and Wido, 1986) จากผลของอัลคาลอยด์ (R) ต่อกราฟ CDR ของ CaCl_2 ในสารละลาย K^+ -depolarizing (รูปภาพที่ 16) พบว่าอัลคาลอยด์ (R) สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อได้เช่นเดียวกับ verapamil แสดงว่าอัลคาลอยด์ (R) สามารถยับยั้งการผ่านของ Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์สู่ภายในเซลล์ทาง voltage-dependent Ca^{2+} channel ได้ แต่ด้วยกลไกของการ repolarize membrane หรือกลไกเช่นเดียวกับ verapamil (calcium antagonist) ยังไม่ทราบแน่ชัด

ผลของ Ca^{2+} -free Krebs Henseleit solution ต่อการหดตัวของหลอดลมเมื่อกระตุ้นด้วย Ach หรือ 5HT พบว่าในสารละลาย Krebs Henseleit สาร Ach กระตุ้นให้กล้ามเนื้อหดตัวแบบ sustained contraction แต่ในขณะที่ปราศจาก Ca^{2+} ภายนอกเซลล์ (Ca^{2+} -free Krebs Henseleit solution) Ach กระตุ้นให้กล้ามเนื้อหดตัวแบบ transient contraction (รูปภาพที่ 17) ในความแรงของการหดตัว (amplitude) ที่ลดลง และเมื่อกระตุ้นซ้ำด้วย Ach จะไม่พบการหดตัวของกล้ามเนื้ออีก แสดงว่า Ach มี PMC แล้วเกิดการหลั่ง Ca^{2+} จากแหล่งเก็บ Ca^{2+} ภายในเซลล์ (Yang et al., 1991) ในขณะที่เมื่อกระตุ้นด้วย 5HT สารละลาย Ca^{2+} -free Krebs Henseleit สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อได้ทั้งหมด แสดงให้เห็นว่าเมื่อใช้ 5HT เป็นสารกระตุ้นมีความต้องการในการใช้ Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์อย่างมากในการกระตุ้นให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อหลอดลมหนูขาวและผลการทดลองนี้สนับสนุนผลการทดลองที่พบว่าอัลคาลอยด์ (R) มีความแรง (potency) ในการยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเมื่อกระตุ้นด้วย 5HT มากกว่า เมื่อกระตุ้นด้วย Ach

ผลของอัลคาลอยด์ (R) ต่อกราฟ CDR ของ Ba^{2+} มีรายงานว่า voltage-dependent Ca^{2+} channel จะ permeable ต่อ Ba^{2+} มากกว่า Ca^{2+} (Yoshino and Yabu, 1985) และ Ba^{2+} สามารถจะ depolarize

membrane แล้วมีผลไปเปิด voltage-dependent Ca^{2+} channel และในสภาวะที่ปราศจาก Ca^{2+} ภายนอกเซลล์นั้น Ba^{2+} สามารถผ่านเข้าเซลล์ทาง channel นี้ แล้วทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อหลอดเลือด aorta (Karaki et al., 1986) จากผลการทดลองในหลอดลมที่แยกจากหนูพบว่า Ba^{2+} กระตุ้นให้หลอดลมหดตัวได้ทั้งในสารละลาย normal solution, Ca^{2+} -free และ K^+ -depolarizing solution กล่าวคือ Ba^{2+} กระตุ้นให้หลอดลมหดตัวได้ในทำนองเดียวกันกับที่พบในกล้ามเนื้อหลอดเลือดแดงและอัลคาลอยด์ (R) สามารถยับยั้งการหดตัวนี้ได้เป็นการยืนยันว่าอัลคาลอยด์ (R) ออกฤทธิ์ยับยั้งการผ่านเข้าเซลล์ของไอออนทาง voltage-dependent Ca^{2+} channel แต่ด้วยกลไกใดยังไม่ทราบ

ผลของอัลคาลอยด์ (R) ต่อกราฟ CDR ของ histamine ในการศึกษาในหนูตะเภา พบว่าอัลคาลอยด์ (R) แสดงคุณสมบัติในการยับยั้งคล้ายกับที่ทำการทดลองโดยการให้ Ach และ 5HT เป็นสารกระตุ้นในการศึกษากับหนูขาว กล่าวคือความสามารถในการยับยั้งจะเพิ่มขึ้นตามขนาดของอัลคาลอยด์ (R) ที่เพิ่มขึ้น (dose-dependent manner) และอัลคาลอยด์ (R) ขนาด 3.68×10^{-6} M จะมีลักษณะการยับยั้งแบบ non-competitive คือสามารถเลื่อนกราฟ CDR ของ histamine ไปทางขวาและลดค่าการหดตัวสูงสุด (maximum contraction) ได้ (Winter, 1992) ดังนั้นจากผลการทดลองที่อัลคาลอยด์ (R) สามารถลดการหดตัวของกล้ามเนื้อหลอดลมจากการกระตุ้นด้วย Ach และ 5HT ในหนูขาว และ histamine ในหนูตะเภา กล่าวได้ว่าอัลคาลอยด์ (R) มีคุณสมบัติยับยั้งการหดตัวของหลอดลมแบบไม่เฉพาะเจาะจงต่อตัวกระตุ้นและออกฤทธิ์คล้ายกับ calcium antagonists ทั้งในกล้ามเนื้อเรียบทางเดินอาหาร (สมชาย แสงอำนาจเดช, 2534), หลอดเลือดแดง aorta (จันทนา เลอमानนท์, 2534) และหลอดลมดังผลการทดลองข้างต้น กระนั้นก็ตามจากความก้าวหน้าและพัฒนาการในการศึกษาเกี่ยวกับ K^+ -channel ที่พบว่า K^+ -channel openers เช่น BRL34915 สามารถออกฤทธิ์คลายกล้ามเนื้อหลอดเลือดและหลอดลมได้ (Buckingham et al., 1986; Clapham and Wilson, 1986; Hamilton et al., 1986; Weir and Weston, 1986; Quast, 1987; Arch et al., 1988) เช่นเดียวกับ calcium antagonists และมีการศึกษาทางด้านเภสัชวิทยาของ K^+ -channel ที่พบว่ามีความเกี่ยวข้องกันอย่างใกล้ชิด

กับ voltage-dependent Ca^{2+} channel (Cook, 1988) กล่าวคือ การเปิด K^+ -channel จะทำให้ membrane potential เป็นลบมากขึ้น (hyperpolarization) แล้วมีผลทำให้การเปิดของ voltage-dependent Ca^{2+} channel ลดลง กอปรกับอัลคาลอยด์ (R) มีสูตรโครงสร้างเหมือนกับ อัลคาลอยด์ที่แยกได้จาก D. binectariferum โดยประกอบด้วย benzopyran nucleus ซึ่งคล้ายคลึงกับ BRL 34915 ในการวิจัยนี้จึงสนใจที่จะศึกษาเพิ่มเติมว่าอัลคาลอยด์ (R) ออกฤทธิ์เกี่ยวข้องกับ K^+ channel หรือไม่ แต่ข้อจำกัดที่ไม่สามารถศึกษาทาง electrophysiology และศึกษาการผ่านของ ion ที่ K^+ -channel โดยตรงได้ จึงเลือกใช้ K^+ channel blockers ที่มีการศึกษากันอย่างกว้างขวางคือ TEA โดยมีรายงานว่า TEA จะออกฤทธิ์โดยตรงที่กล้ามเนื้อเรียบหลอดลม (Kroeger and Stephens, 1975; Kanan and Daniel, 1978) โดยการจับกับ receptor ที่ด้านนอกและด้านในของ membrane (Pongs, 1992) แล้วทำให้มีการลด K^+ conductance (Kirkpatrick, 1975; Kroeger and Stephens, 1975) ทำให้เกิด membrane depolarization แล้วมีผลไปเปิด voltage-gated Ca^{2+} channel มีการผ่านของ Ca^{2+} จากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ (Kirkpatrick, 1975) ทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้ ผลของอัลคาลอยด์ (R) 3.68×10^{-4} M ต่อกราฟ CDR ของ TEA (1-8 mM) พบว่าอัลคาลอยด์ (R) สามารถเลื่อนกราฟ CDR ของ TEA ไปทางขวาและลดค่าการหดตัวสูงสุด (maximum contraction) ได้ $38.20 \pm 0.82\%$ ในขณะที่ verapamil 1.0×10^{-6} M สามารถเลื่อนกราฟไปทางขวาได้เช่นกันและลดค่าการหดตัวสูงสุด (maximum contraction) ได้ $71.66 \pm 2.40\%$ (รูปภาพที่ 26) จะเห็นว่า verapamil ลดค่าการหดตัวสูงสุดได้มากกว่าอัลคาลอยด์ (R) ประมาณเกือบ 2 เท่า แต่จากผลการทดลองในกราฟ CDR ของ CaCl_2 ในสารละลาย K^+ -depolarizing กลับพบว่าอัลคาลอยด์ (R) 3.68×10^{-4} M สามารถลดค่าการหดตัวสูงสุด ($83.72 \pm 2.13\%$) ได้มากกว่า verapamil 1.0×10^{-6} M ($75.08 \pm 4.28\%$) เล็กน้อย นั่นคือถึงแม้อัลคาลอยด์ (R) จะยับยั้งการผ่านของ Ca^{2+} ผ่านทาง voltage-dependent Ca^{2+} channel ที่กระตุ้นโดยตรงด้วย CaCl_2 ในสารละลาย K^+ -depolarizing (pure EMC) ได้ใกล้เคียงกับ verapamil 1.0×10^{-6} M แต่สำหรับการกระตุ้น voltage-

dependent Ca^{2+} channel ทางอ้อมโดยการให้ K^+ channel blocker แล้ว verapamil กลับมีผลในการยับยั้งที่มากกว่าอย่างเห็นได้ชัด แสดงให้เห็นว่า อัลคาลอยด์ (R) และ verapamil มีกลไกการออกฤทธิ์ที่แตกต่างกัน

มีรายงานถึงการศึกษากลไกในการกระตุ้นกล้ามเนื้อเรียบด้วยสารกระตุ้น (agonists) เช่น Ach, serotonin และ histamine เกี่ยวข้องกับ EMC ผ่านทาง voltage-dependent Ca^{2+} channel และ PMC ผ่านทาง $Ins(1,4,5)P_3$ (Grandordy et al., 1986; Grandordy and Barnes, 1987; Hall and Hill, 1988; Hall et al., 1989; Coburn and Baron, 1990) จากการศึกษาผลของ TEA 8 mM ในการต้านฤทธิ์การยับยั้งการหดตัวของอัลคาลอยด์ (R) 3.68×10^{-4} M เมื่อกระตุ้นด้วย histamine 1.0×10^{-5} M จะเห็นว่าต้องให้ verapamil ซึ่งทราบว่ายับยั้งการผ่านของ Ca^{2+} จากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ที่ voltage-dependent Ca^{2+} channel (Godfraind et al., 1986) ในขนาดสูงขึ้น (0.5×10^{-4} M) เพื่อให้ได้ผลในการยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อใกล้เคียงกับเมื่อใช้อัลคาลอยด์ (R) 3.68×10^{-4} M เป็นตัวยับยั้ง ถ้าอัลคาลอยด์ (R) มีกลไกในการยับยั้งเช่นเดียวกับ verapamil ควรจะให้ผลที่ใกล้เคียงกันหลังจากที่ให้ TEA 8 mM แต่ผลการทดลองพบว่า TEA สามารถกระตุ้นให้กล้ามเนื้อหดตัวได้ใหม่หลังจากคลายกล้ามเนื้อด้วยอัลคาลอยด์ (R) ในขณะที่ TEA ไม่สามารถกระตุ้นให้กล้ามเนื้อหดตัวได้ใหม่หลังจากคลายกล้ามเนื้อด้วย verapamil 0.5×10^{-4} M (รูปภาพที่ 27) เมื่อใช้ Ach 1.0×10^{-5} M เป็นตัวกระตุ้น (รูปภาพที่ 28) พบว่า TEA สามารถกระตุ้นให้กล้ามเนื้อหดตัวได้ใหม่หลังจากคลายกล้ามเนื้อด้วย verapamil 0.5×10^{-4} M แต่การหดตัวนี้จะเกิดขึ้นช้าๆ และมีความแรง (amplitude) น้อยกว่าเมื่อใช้อัลคาลอยด์ (R) เป็นตัวยับยั้ง อย่างไรก็ตาม เมื่อกระตุ้นด้วย $CaCl_2$ 2.5mM ในสารละลาย K^+ -depolarizing พบว่า TEA 8mM ไม่สามารถกระตุ้นให้มีการหดตัวได้ใหม่ทั้งที่ใช้อัลคาลอยด์ (R) และ verapamil เป็นตัวยับยั้ง (รูปภาพที่ 29) จะสังเกตเห็นว่าการให้ verapamil ขนาด 1.0×10^{-5} M ก็ให้ผลในการยับยั้ง K^+ -induced contracture ได้ใกล้เคียงกับการใช้อัลคาลอยด์ (R) 3.68×10^{-4} M ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองข้างต้นที่ผ่านมา

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาผลของอัลคาลอยด์ (R) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อหลอดลมที่แยกจากตัวหนูขาวและหนูตะเภา อาจสรุปได้ว่าอัลคาลอยด์ (R) สามารถลดการหดตัวของกล้ามเนื้อหลอดลมที่กระตุ้นด้วย Ach, 5HT, CaCl_2 , BaCl_2 ในหนูขาว และ histamine, TEA ในหนูตะเภา โดยความสามารถในการยับยั้งขึ้นกับปริมาณของอัลคาลอยด์ (R) (dose-dependent manner) และกลไกในการยับยั้งไม่ได้เฉพาะเจาะจงต่อ receptor ตำแหน่งในการออกฤทธิ์น่าจะอยู่ที่ membrane ของกล้ามเนื้อแล้วมีผลไปยับยั้งการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} ผ่านเข้าเซลล์ทาง voltage-dependent Ca^{2+} channel คล้ายกับ calcium antagonist เชื่อว่าด้วยกลไกที่แตกต่างไปจาก calcium antagonist โดยยังไม่ทราบกลไกที่แน่ชัด แต่ด้วยสูตรโครงสร้างที่คล้ายกับ benzopyran K^+ channel openers จึงน่าสนใจศึกษาเพิ่มเติมต่อไป อย่างไรก็ตามอัลคาลอยด์ (R) อาจจะมีกลไกอื่นในการคลายกล้ามเนื้อ เช่น ควบคุมการทำงานของโปรตีนควบคุมการหดตัวและคลายตัวของกล้ามเนื้อ เป็นต้น ถึงแม้อัลคาลอยด์ (R) จะมีความแรง (potency) ในการยับยั้งการหดตัวของหลอดลมที่กระตุ้นด้วยสารกระตุ้น (agonists) ได้น้อยเมื่อเปรียบเทียบกับ verapamil แต่จากฤทธิ์ของอัลคาลอยด์ (R) ที่สามารถลดการอักเสบและปรับเปลี่ยนภูมิคุ้มกันได้เป็นสิ่งที่น่าสนใจนำมาศึกษากับสภาวะการอักเสบที่เกิดขึ้นกับคนไข้หอบหืดอันจะเป็นประโยชน์ในการพัฒนาสมุนไพรตามลือท่งมาใช้ในทางคลินิกในลำดับต่อไป

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย