

บทที่ 3

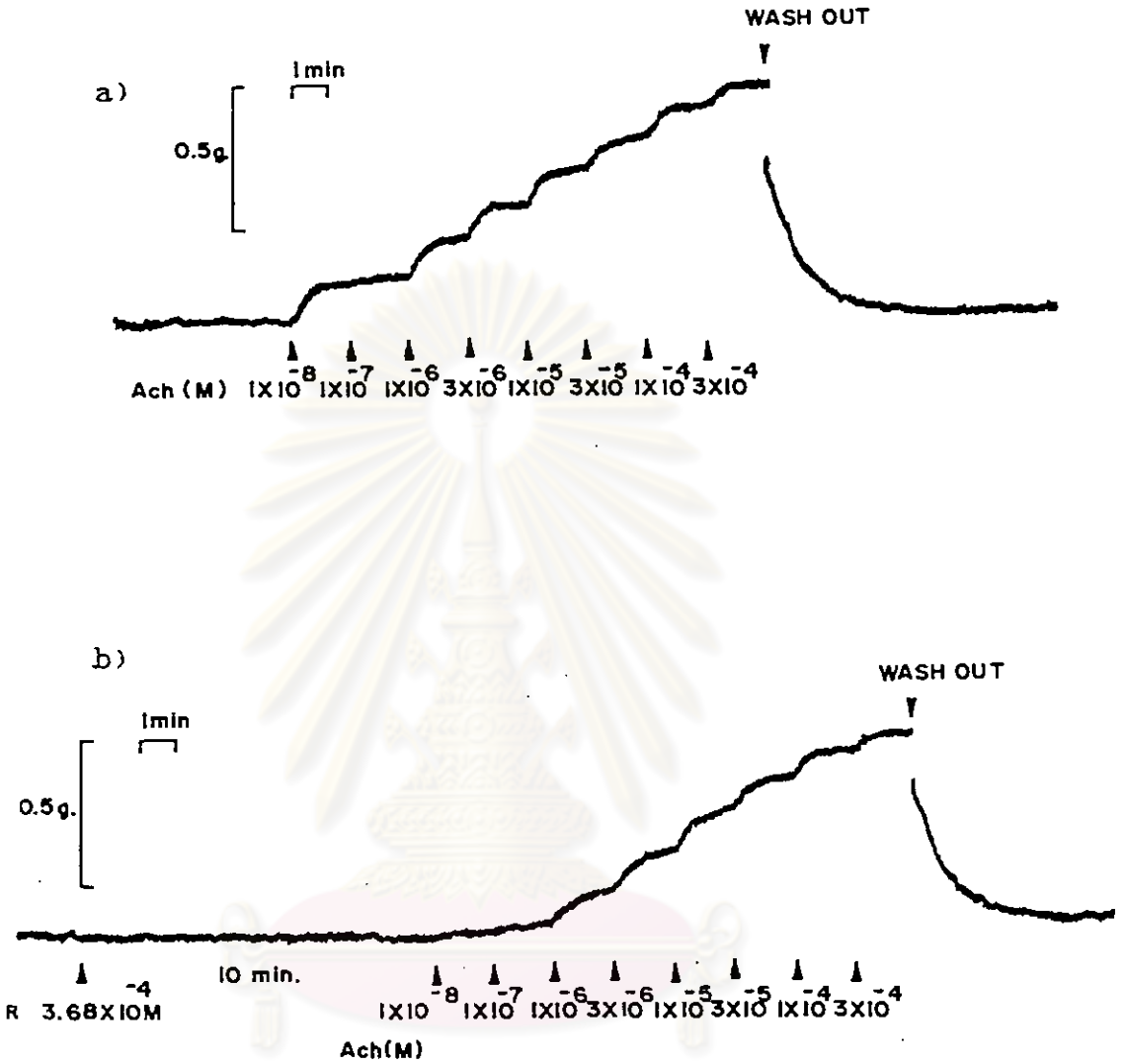
ผลการทดลอง

ผลการทดลองในหนูขาว

1. ผลของอัลคาลอยด์ (R) ต่อ cumulative dose-response curve เมื่อกระตุ้นด้วยสารมาตรฐานกระตุ้นการหดตัวของหลอดเลือด

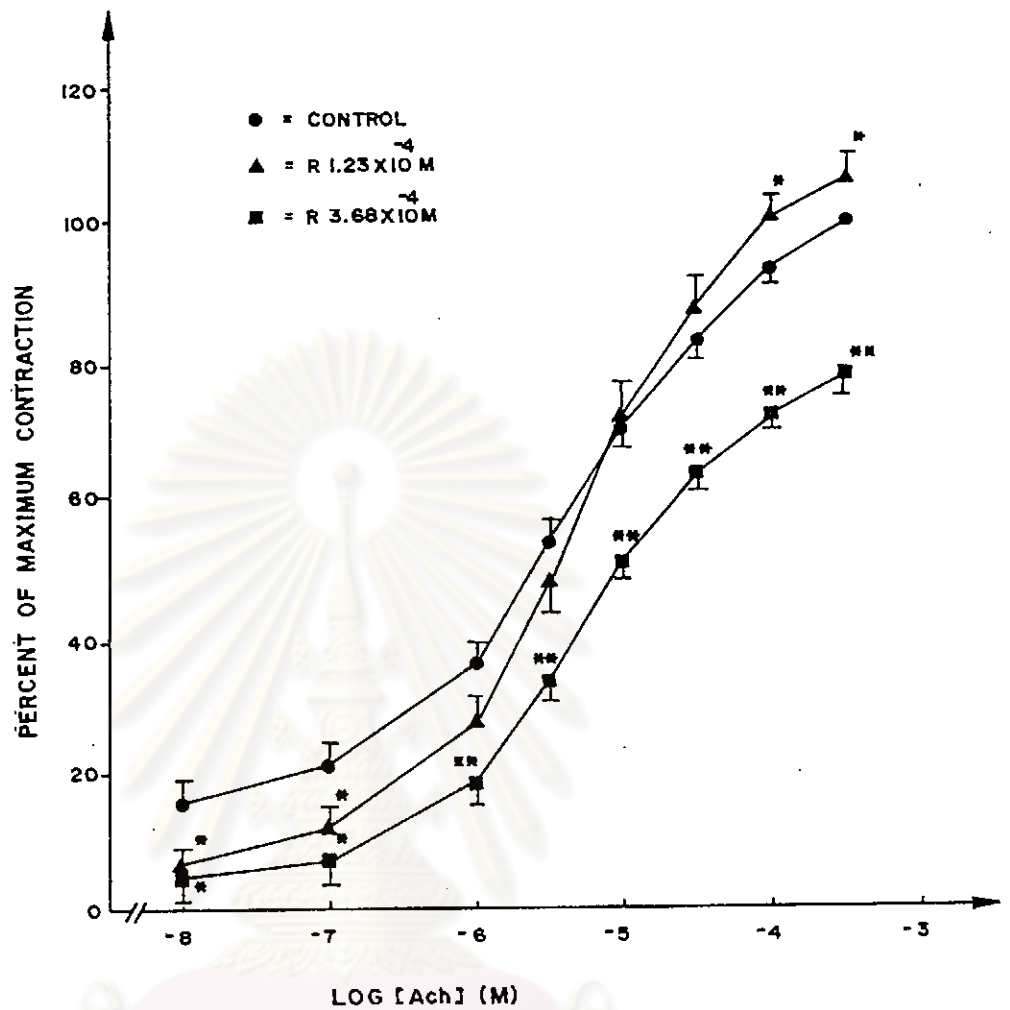
1.1 เมื่อกระตุ้นด้วย Ach

เมื่อให้ Ach แบบสะสมขนาด (1.0×10^{-8} - 3.0×10^{-4} M) หลอดลมจะตอบสนองโดยการหดตัวได้เพิ่มขึ้นตามขนาดของ Ach ที่เพิ่มขึ้น จนถึง Ach ขนาด 3.0×10^{-4} M (submaximal dose) หลอดลมจะหดตัวคิดเทียบเป็น 100% contraction ศึกษาผลของอัลคาลอยด์ (R) โดยการให้อัลคาลอยด์ (R) ก่อน 10 นาที แล้วจึงให้ cumulative dose ของ Ach ผลการทดลองแสดงด้วยรูปภาพที่ 9 และ 10 พบว่าอัลคาลอยด์ (R) สามารถต้านฤทธิ์การกระตุ้นของ Ach ได้ โดยที่ความเข้มข้นต่ำๆ ของ Ach (1.0×10^{-8} - 1.0×10^{-5} M) อัลคาลอยด์ (R) ขนาด 1.23×10^{-4} M สามารถต้านฤทธิ์การกระตุ้นของ Ach ได้ แต่ที่ความเข้มข้นของ Ach สูงขึ้น (3.0×10^{-5} - 3.0×10^{-4} M) อัลคาลอยด์ (R) กลับเสริมฤทธิ์การกระตุ้นของ Ach โดยเพิ่มการหดตัวสูงสุด (maximum contraction) ได้ $6.91 \pm 1.88\%$ ของกลุ่มควบคุม (รูปภาพที่ 10) เมื่อเพิ่มขนาดของอัลคาลอยด์ (R) เป็น 3.68×10^{-4} M พบว่าสามารถต้านฤทธิ์การกระตุ้นของ Ach ได้เพิ่มขึ้น โดยมีผลในการต้านฤทธิ์การกระตุ้นแบบ non-competitive antagonism และลดการหดตัวสูงสุด (maximum contraction) ได้ $21.70 \pm 2.46\%$ ของกลุ่มควบคุม มีค่า pD_2 เท่ากับ 2.84 ± 0.09 เปรียบเทียบผลการทดลองกับ verapamil ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม calcium antagonist ขนาด 1.0×10^{-6} M และ (dl)-isoproterenol ซึ่งเป็นสารในกลุ่มที่กระตุ้น β -adrenergic receptor ขนาด 1×10^{-6} M ผลการทดลองแสดงด้วยรูปภาพที่ 11, 12 และ 13 พบว่า verapamil ขนาด



ศูนย์วิทยุทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

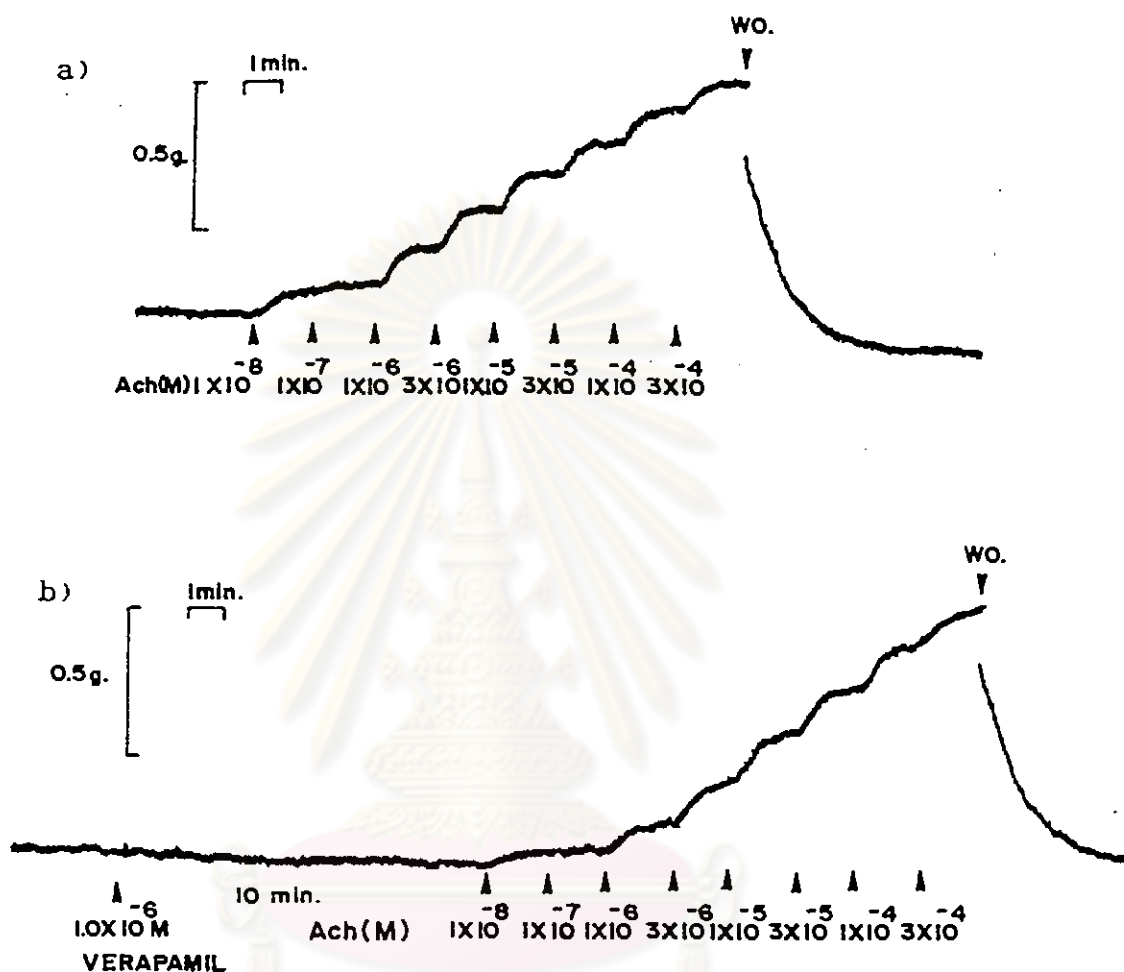
รูปภาพที่ 9 แสดงผลของอัลคาลอยด์ (R) ต่อ cumulative dose-response เมื่อกระตุ้นกล้ามเนื้อหลอดลมด้วย Ach a) เป็นกลุ่มควบคุม, b) เมื่อให้อัลคาลอยด์ (R) 3.68×10^{-4} M ก่อน 10 นาที



รูปภาพที่ 10 กราฟแสดงผลของ R ต่อ cumulative dose-response curve ของ Ach ในหลอดลมที่แยกจากหนูขาว แต่ละจุดในกราฟ แสดงค่า $\bar{X} \pm \text{SEM}$

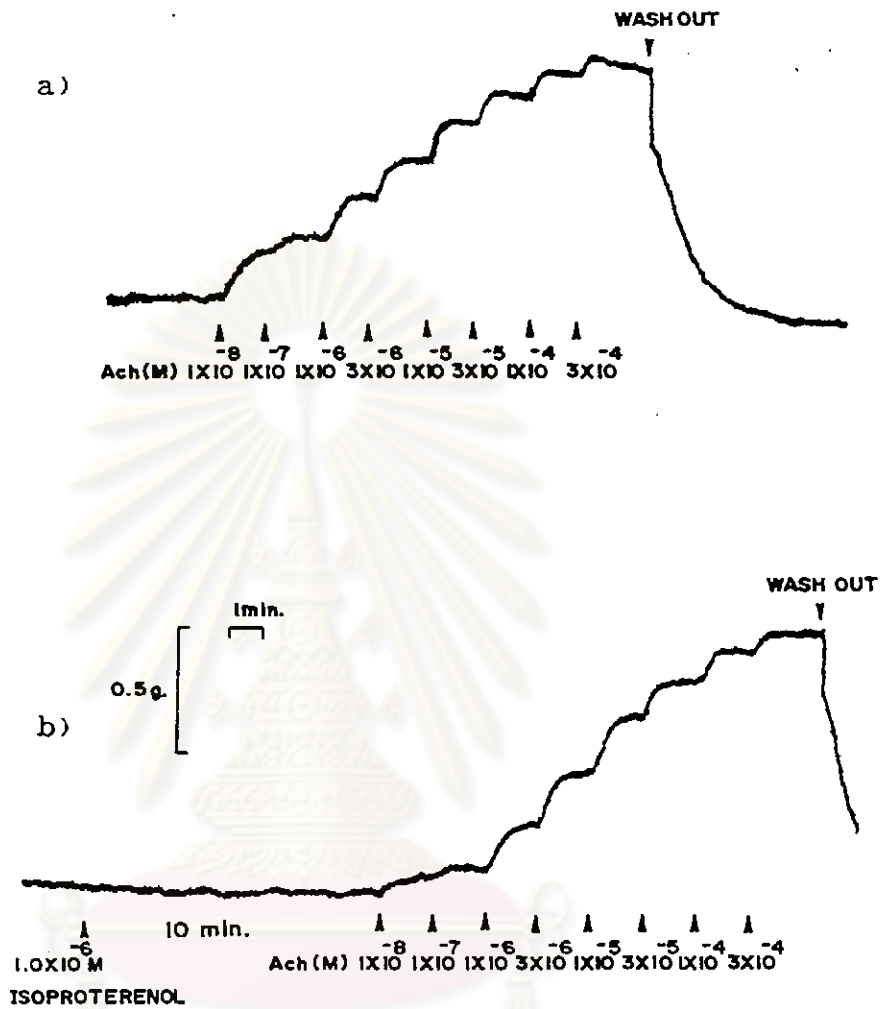
* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
($p < 0.05$)

** แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
($p < 0.001$)

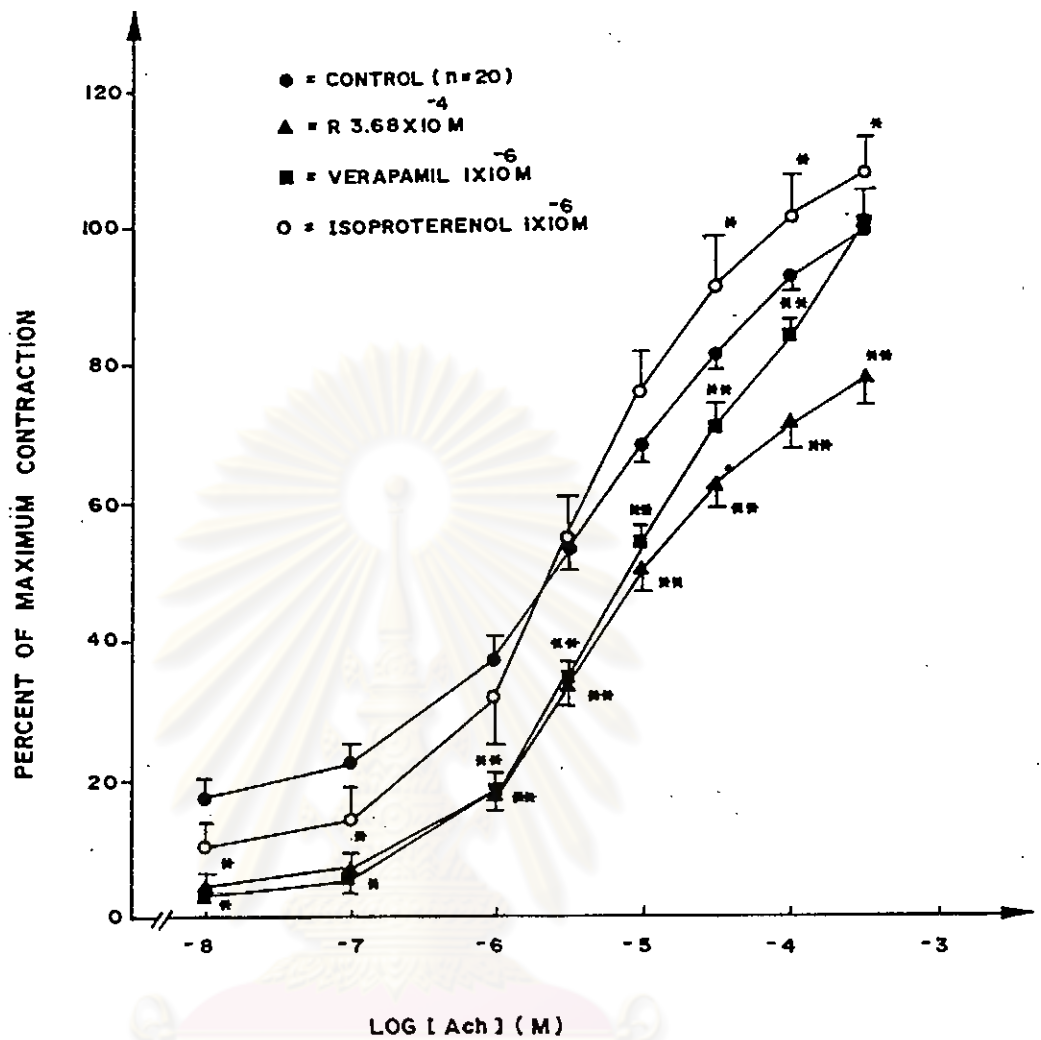


ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปภาพที่ 11 แสดงผลของ verapamil ต่อ cumulative dose-response เมื่อกระตุ้นกล้ามเนื้อหลอดลมด้วย Ach a) เป็นกลุ่มควบคุม, b) เมื่อให้ verapamil 1.0×10^{-5} M ก่อนการให้ Ach 10 นาที



รูปภาพที่ 12 แสดงผลของ isoproterenol ต่อ cumulative dose-response เมื่อกระตุ้นกล้ามเนื้อหลอดลมด้วย Ach a) แสดงกลุ่มควบคุม, b) เมื่อให้ isoproterenol ก่อนการให้ Ach 10 นาที



รูปภาพที่ 13 กราฟแสดงผลของ R 3.68x10⁻⁴ M, verapamil 1x10⁻⁶ M และ isoproterenol 1x10⁻⁶ M ต่อ cumulative dose-response curve ของ Ach ในหลอดลมที่แยกจากหนูขาว แต่ละจุดในกราฟแสดงค่า $\bar{X} \pm \text{SEM}$

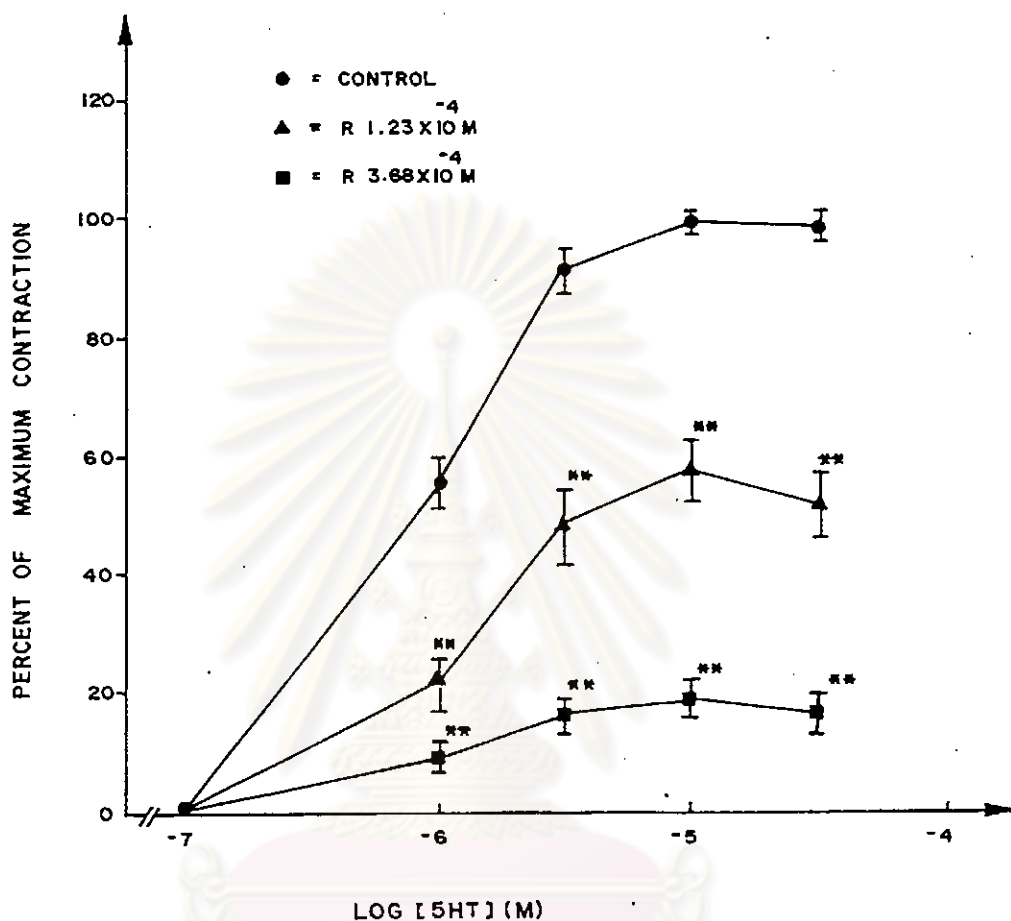
* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p < 0.05)

** แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p < 0.001)

1.0×10^{-6} M สามารถต้านฤทธิ์การกระตุ้นของ Ach เป็นแบบ competitive antagonism มีค่า pA_{50} เท่ากับ 5.97 ± 0.17 ส่วน (dl)-isoproterenol ขนาด 1.0×10^{-6} M สามารถต้านฤทธิ์การกระตุ้นของ Ach ที่ความเข้มข้นต่ำๆ (1.0×10^{-8} - 1.0×10^{-6} M) แต่ที่ความเข้มข้นที่สูงขึ้นของ Ach (3.0×10^{-6} - 3.0×10^{-4} M) (dl)isoproterenol จะช่วยเสริมฤทธิ์การกระตุ้น โดยสามารถเพิ่มการหดตัวสูงสุด (maximum contraction) ได้ $8.57 \pm 2.47\%$ ของกลุ่มควบคุม (รูปภาพที่ 13)

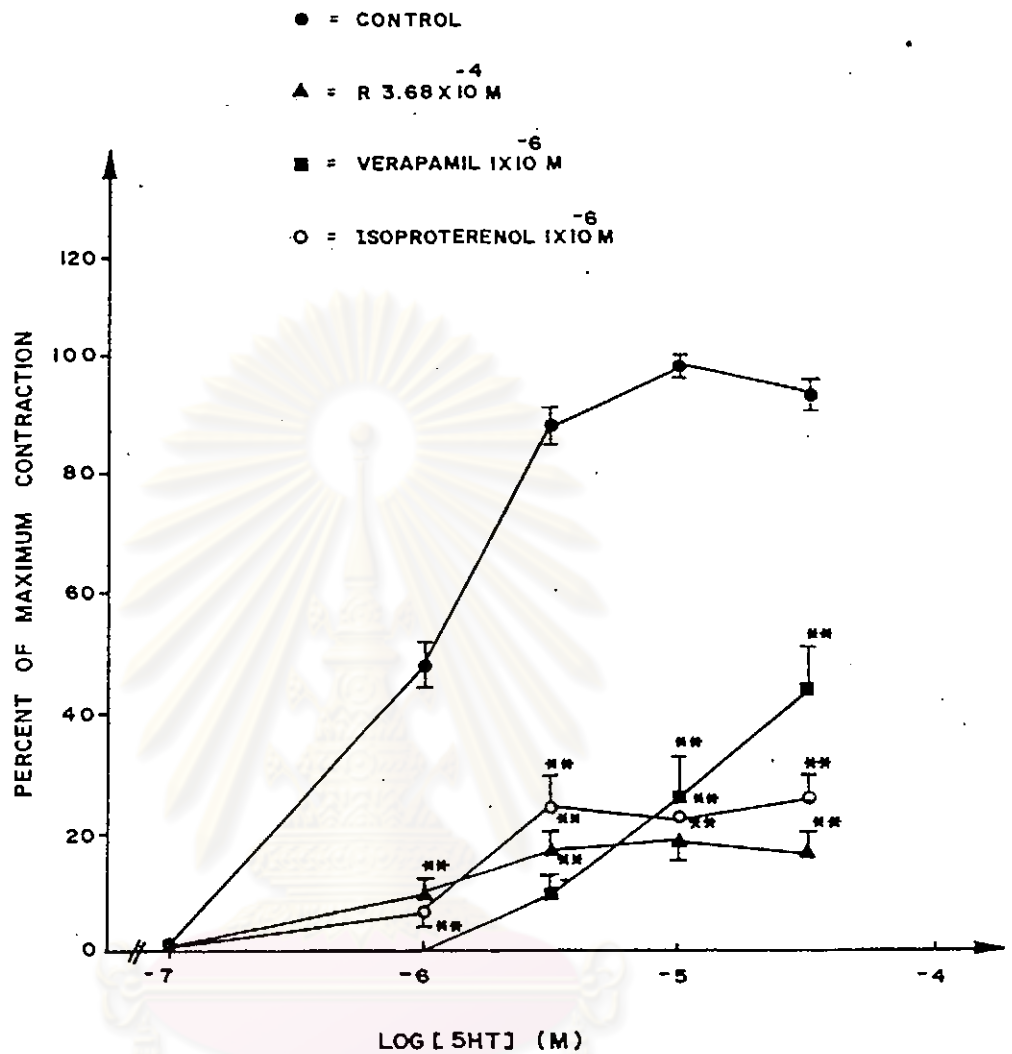
1.2 เมื่อกระตุ้นด้วย 5 HT

เมื่อให้ 5HT แบบสะสมขนาด (1.0×10^{-7} - 3.0×10^{-5} M) หลอดลมจะตอบสนองโดยการหดตัวได้เพิ่มขึ้นตามขนาดของ 5HT ที่เพิ่มขึ้น จนถึงการหดตัวสูงสุด (maximum contraction) ศึกษาผลของอัลคาลอยด์ (R) โดยการให้อัลคาลอยด์ (R) ก่อน 10 นาที แล้วจึงให้ cumulative dose ของ 5HT ผลการทดลองแสดงด้วยรูปภาพที่ 14 พบว่าอัลคาลอยด์ (R) มีฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อหลอดลมที่กระตุ้นด้วย 5HT แบบสะสมขนาดได้ โดยความแรงในการยับยั้งจะขึ้นกับขนาดที่ใช้ (dose-dependent) และลักษณะของการยับยั้งเป็นแบบ non-competitive antagonism โดยที่อัลคาลอยด์ (R) ขนาด 1.23×10^{-4} M สามารถลดการหดตัวสูงสุด (maximum contraction) ได้ $42.32 \pm 4.39\%$ ของกลุ่มควบคุมและมีค่า pD_{50} เท่ากับ 3.77 ± 0.08 อัลคาลอยด์ (R) ในขนาด 3.68×10^{-4} M สามารถลดการหดตัวสูงสุด (maximum contraction) ได้ $80.79 \pm 2.28\%$ ของกลุ่มควบคุมและมีค่า pD_{50} เท่ากับ 4.08 ± 0.07 ซึ่งไม่แตกต่างจากค่า pD_{50} ของอัลคาลอยด์ (R) 1.23×10^{-4} M อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.01$) เปรียบเทียบผลการทดลองกับเมื่อให้ verapamil 1.0×10^{-6} M และ (dl)-isoproterenol 1.0×10^{-6} M ผลการทดลองแสดงด้วยรูปภาพที่ 15 พบว่าอัลคาลอยด์ (R) ขนาด 3.68×10^{-4} M ให้ผลในการยับยั้งการหดตัวของหลอดลม เมื่อกระตุ้นด้วย 5HT แบบสะสมขนาดด้วยความแรงที่ใกล้เคียงกับการยับยั้งด้วย isoproterenol หรือ verapamil โดยมีลักษณะการยับยั้งแบบ non-competitive antagonism ซึ่ง



รูปภาพที่ 14 กราฟแสดงผลของ R ต่อ cumulative dose-response curve ของ 5HT ในหลอดลมที่แยกจากหนูขาว แต่ละจุดในกราฟ แสดงค่า $\bar{X} \pm \text{SEM}$

** แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
($p < 0.001$)



รูปภาพที่ 15 กราฟแสดงผลของ R 3.68×10^{-4} M, verapamil 1×10^{-6} M และ isoproterenol 1×10^{-6} M ต่อ cumulative dose-response curve ของ 5HT ในหลอดลมที่แยกจากหนูขาว แต่ละจุดในกราฟ แสดงค่า $\bar{X} \pm \text{SEM}$

** แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

($p < 0.001$)

อัลคาลอยด์ (R) 3.68×10^{-4} M, isoproterenol 1.0×10^{-6} M และ verapamil 1.0×10^{-6} M สามารถลดการหดตัวสูงสุด (maximum contraction) ได้ 80.93 ± 1.85 , 76.86 ± 2.23 และ $75.54 \pm 9.03\%$ ของกลุ่มควบคุมตามลำดับและที่ความเข้มข้นของ 5HT 1.0×10^{-6} M นั้น verapamil สามารถจะยับยั้งการหดตัวได้ 100% ค่า pD'_2 ดังแสดงในตารางที่ 3

2. ผลของอัลคาลอยด์ (R) ต่อ cumulative dose-response curve เมื่อกระตุ้นด้วย $CaCl_2$ ใน potassium-depolarizing solution เมื่อให้ $CaCl_2$ แบบสะสมขนาด (0.5 mM-10 mM) ในสารละลาย potassium-depolarizing กล้ามเนื้อหลอดลมจะหดตัวได้เพิ่มขึ้นตามขนาดของ $CaCl_2$ ที่เพิ่มขึ้น ศึกษาผลของอัลคาลอยด์ (R) โดยการให้อัลคาลอยด์ (R) ก่อน 10 นาที แล้วจึงให้ cumulative dose ของ $CaCl_2$ ผลการทดลองแสดงด้วยรูปภาพที่ 16 พบว่าอัลคาลอยด์ (R) สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อหลอดลมที่กระตุ้นด้วย $CaCl_2$ ในสารละลาย potassium depolarizing ได้โดยความแรงในการยับยั้งจะเพิ่มขึ้นตามขนาดของอัลคาลอยด์ (R) ที่เพิ่มขึ้น (dose-dependent) อัลคาลอยด์ (R) ขนาด 1.23×10^{-4} M และ 3.68×10^{-4} M สามารถลดการหดตัวสูงสุด (maximum contraction) ได้ $44.61 \pm 2.15\%$ และ $83.72 \pm 2.13\%$ ของกลุ่มควบคุมตามลำดับ เปรียบเทียบผลกับ verapamil ขนาด 1.0×10^{-6} M ซึ่งสามารถลดการหดตัวสูงสุดได้ $75.08 \pm 4.28\%$ ของกลุ่มควบคุม โดยค่า pD'_2 แสดงในตารางที่ 4

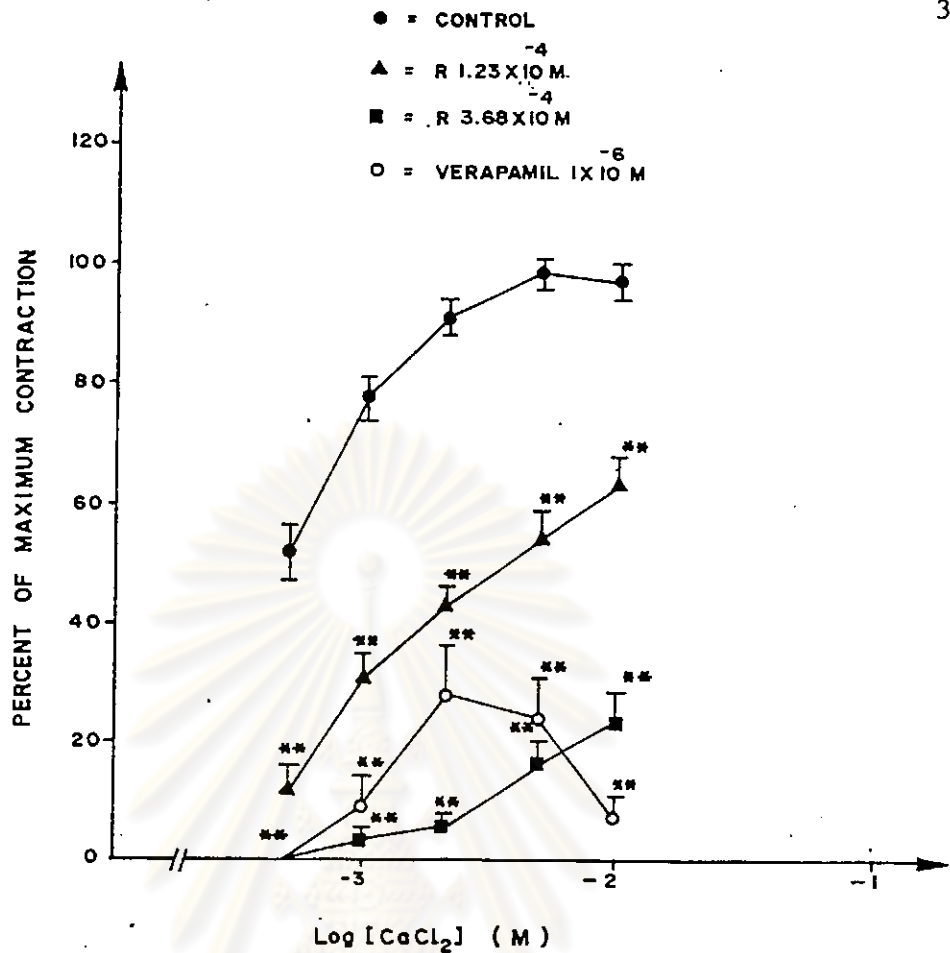
3. ผลของ Ca^{2+} -free Krebs Henseleit solution ต่อการหดตัวของหลอดลมเมื่อกระตุ้นด้วย Ach หรือ 5HT

ให้ Ach ขนาดความเข้มข้นเดียว (single dose) กับกล้ามเนื้อหลอดลมที่ equilibrate อยู่ในสารละลาย Krebs Henseleit กล้ามเนื้อจะตอบสนองด้วยการหดตัวในลักษณะที่เรียกว่า sustained contraction ดังรูปภาพที่ 17 หลังจากเปลี่ยนแปลงสารละลายเป็น Ca^{2+} -free Krebs Henseleit solution พบว่ากล้ามเนื้อที่มีการหดตัวได้น้อยลง โดยที่

ตารางที่ 3 แสดงค่า pD_5 ของอัลคาลอยด์ (R), verapamil และ (dl)-isoproterenol จากการศึกษาผลของสารเหล่านี้ต่อ cumulative dose-response curve ของ 5HT

non-competitive antagonist	pD_5
อัลคาลอยด์(R) $3.68 \times 10^{-4} M$	4.08 ± 0.07
verapamil $1 \times 10^{-6} M$	6.51 ± 0.13
(dl)-isoproterenol $1 \times 10^{-6} M$	6.53 ± 0.11

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปภาพที่ 16 กราฟแสดงผลของ R 1.23×10^{-4} M และ 3.68×10^{-4} M ต่อ cumulative dose-response curve ของ CaCl₂ ในสารละลาย potassium-depolarizing ของหลอดลมที่แยกจากหนูขาวเปรียบเทียบกับ verapamil 1×10^{-6} M แต่ละจุดในกราฟแสดงค่า $\bar{X} \pm \text{SEM}$

** แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

(p < 0.001)

ตารางที่ 4 แสดงค่า pD'_2 ของอัลคาลอยด์ (R) และ verapamil จากการศึกษาคurve ของสารเหล่านี้ต่อ cumulative dose-response curve ของ $CaCl_2$ ใน potassium-depolarizing solution

non-competitive antagonist	pD'_2
อัลคาลอยด์ (R) $1.23 \times 10^{-4} M$	* 3.82 ± 0.05
อัลคาลอยด์ (R) $3.68 \times 10^{-4} M$	* 4.19 ± 0.09
verapamil $1.0 \times 10^{-6} M$	6.51 ± 0.15

* แสดงความไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.01$)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

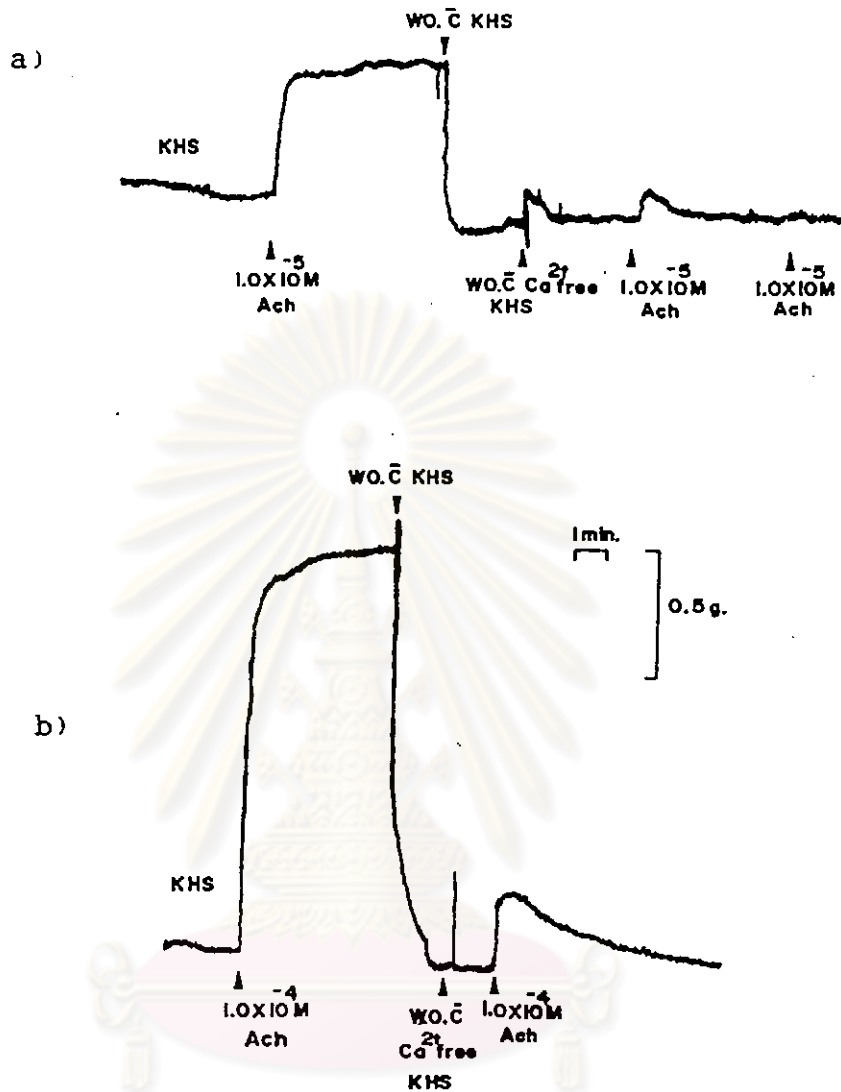
Ach ขนาด 1.0×10^{-7} M กล้ามเนื้อจะไม่มี การหดตัวเลย แต่ในขนาด 1.0×10^{-6} M, 1.0×10^{-5} M และ 1.0×10^{-4} M กล้ามเนื้อจะหดตัวได้น้อยลง เมื่อเทียบกับในสารละลาย Krebs Henseleit และลักษณะการหดตัวของ กล้ามเนื้อจะหดตัวจนสูงสุดแล้วค่อยๆ คลายตัวลงจนกระทั่งถึงระดับความตึง ขณะเริ่มต้นทดลองดังแสดงในรูปภาพที่ 17 และ 18

เมื่อใช้ 5HT ในขนาดความเข้มข้น 1.0×10^{-7} , 1.0×10^{-6} และ 1.0×10^{-5} M เป็นสารกระตุ้นการหดตัวแทน Ach พบว่าสารละลาย Ca^{2+} -free Krebs Henseleit สามารถยับยั้งการหดตัวได้ 100% ในทุกๆ ขนาดความเข้มข้นของ 5HT

4. ผลของอัลคาลอยด์ (R) ต่อการหดตัวของหลอดลมที่กระตุ้น โดย BaCl_2

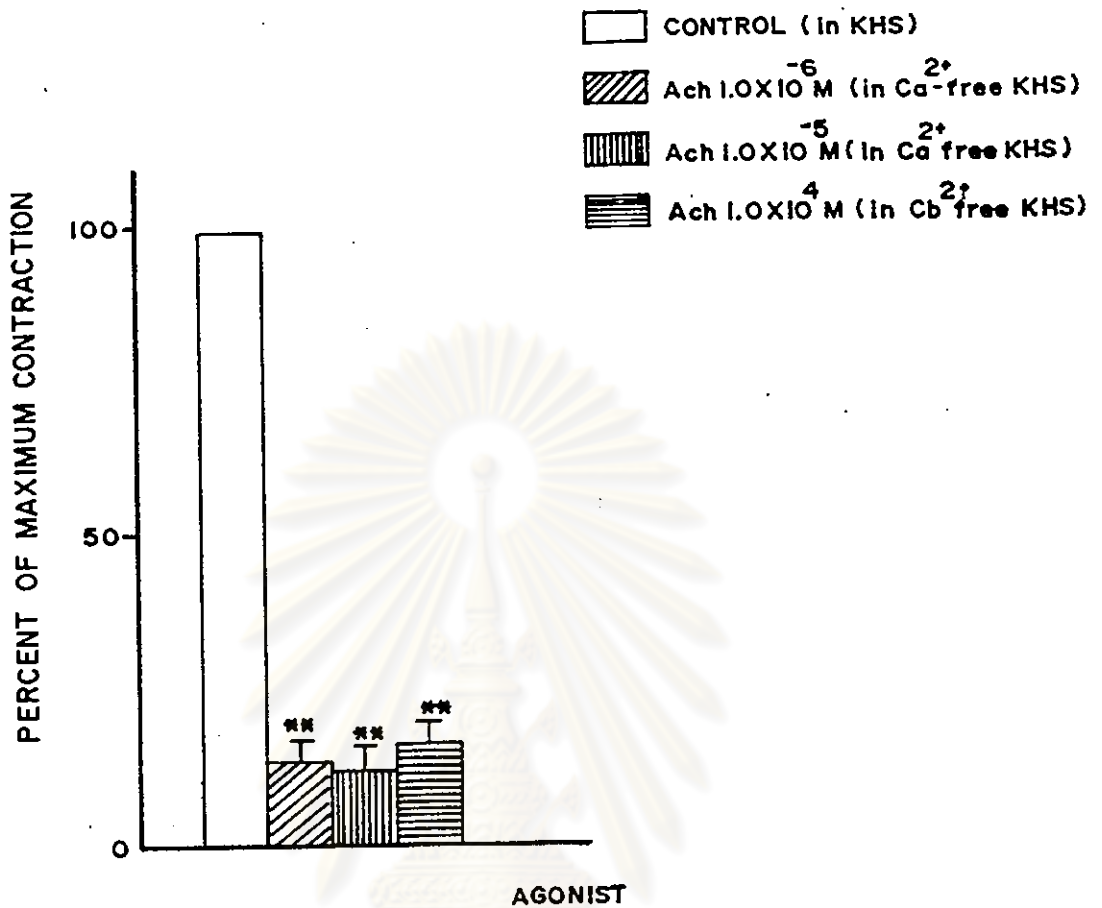
4.1 ผลของอัลคาลอยด์ (R) ต่อ cumulative dose-response curve เมื่อกระตุ้นด้วย BaCl_2 ในสารละลาย HCO_3^- -free solution

พบว่าในสารละลาย HCO_3^- -free solution นี้ BaCl_2 สามารถกระตุ้นให้กล้ามเนื้อหลอดลมหดตัวได้ และการหดตัวจะเพิ่มขึ้นตามขนาดของ BaCl_2 ที่เพิ่มขึ้น และเมื่อศึกษาผลของอัลคาลอยด์ (R) ต่อการกระตุ้นนี้ โดยเปรียบเทียบกับ verapamil 1.0×10^{-6} M ผลการทดลองแสดงด้วยรูปภาพที่ 19 และ 20 ซึ่งอัลคาลอยด์ (R) สามารถยับยั้งการหดตัวได้โดยมีลักษณะการยับยั้งเป็นแบบ non-competitive antagonism และขึ้นกับขนาดของอัลคาลอยด์ (R) ที่ใช้ (dose-dependent) โดยอัลคาลอยด์ (R) ขนาด 1.23×10^{-4} M และ 3.68×10^{-4} M สามารถลดการหดตัวสูงสุด (maximum contraction) ได้ 24.18 ± 5.41 และ $61.11 \pm 2.97\%$ ของกลุ่มควบคุมและมีค่า pD_2 เท่ากับ 3.57 ± 0.12 และ 3.70 ± 0.07 ตามลำดับ ซึ่งค่า pD_2 ของอัลคาลอยด์ทั้งสองขนาดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) เปรียบเทียบผลกับ verapamil 1.0×10^{-6} M พบว่าสามารถลดการหดตัวสูงสุดได้ $71.12 \pm 4.01\%$ ของกลุ่มควบคุมและมีค่า pD_2 เท่ากับ 6.43 ± 0.15 โดย

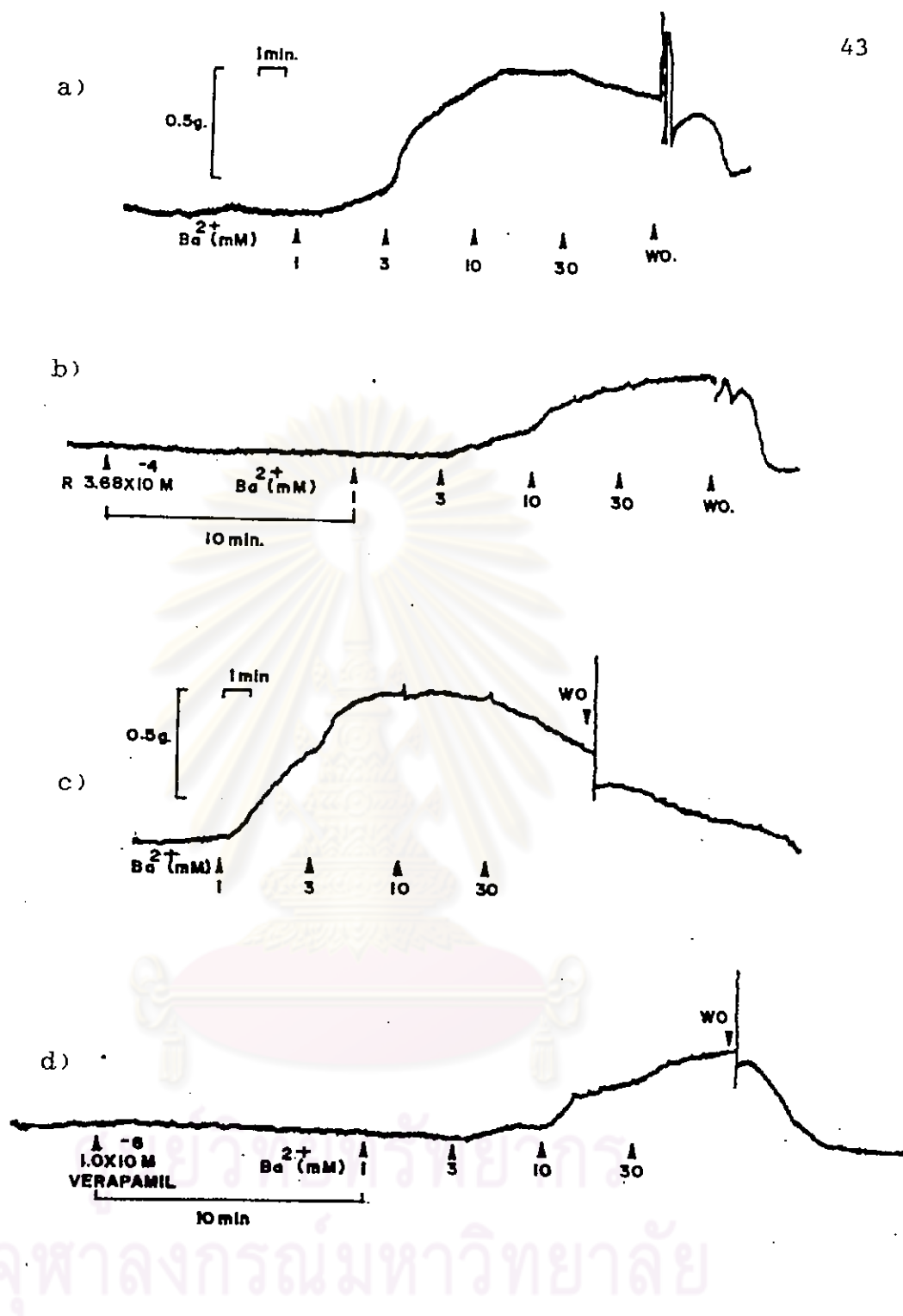


ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

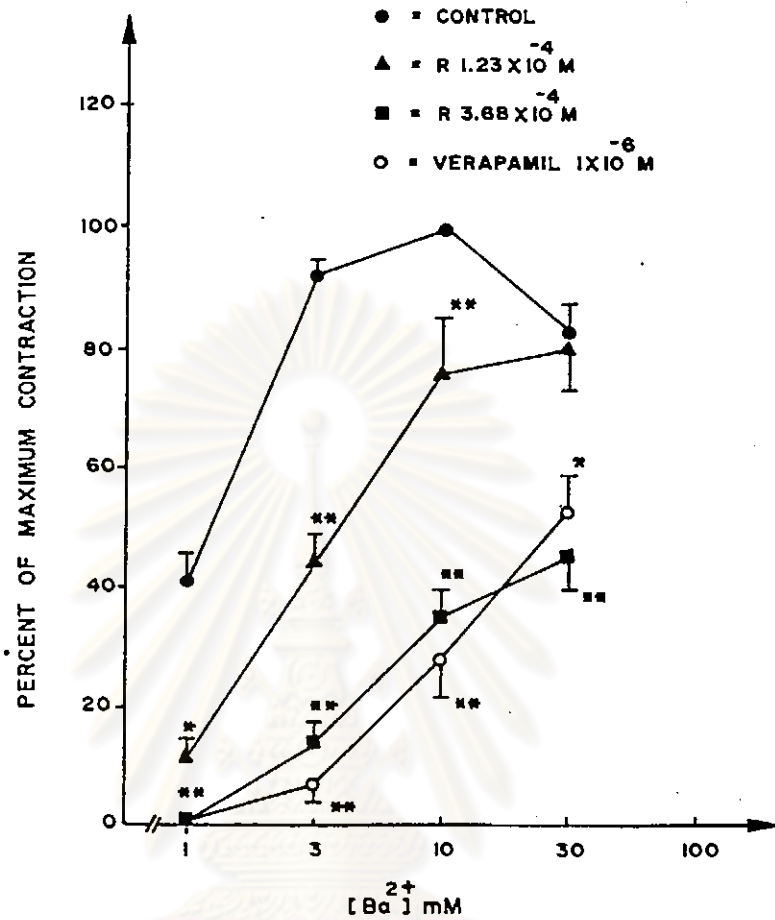
รูปภาพที่ 17 แสดงผลของ Ca^{2+} -free Krebs Henseleit solution ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อหลอดลมที่แยกจากตัวหนูขาว เมื่อกระตุ้นด้วย Ach 1.0×10^{-5} M (a) และ 1.0×10^{-4} M (b)



รูปภาพที่ 18 กราฟแสดงผลของ Ca^{2+} -free Krebs Henseleit solution ต่อการหดตัวของหลอดเลือดเมื่อกระตุ้นด้วย Ach โดยการหดตัวเมื่อกระตุ้นด้วย Ach ในแต่ละความเข้มข้นในสารละลาย KHS คิดเป็น 100% contraction จัดเป็นกลุ่มควบคุม
 ** แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
 ($p < 0.001$)



รูปภาพที่ 19 แสดงผลของอัลคาลอยด์ (R) (a-b) ต่อการหดตัวของหลอดลม เมื่อกระตุ้นด้วย $BaCl_2$ แบบสะสมขนาดในสารละลาย HCO_3^- free เปรียบเทียบผลการทดลองกับ verapamil (c-d)



รูปภาพที่ 20 กราฟแสดงผลของอัลคาลอยด์ (R) ต่อ cumulative dose-response curve ของ BaCl_2 ในสารละลาย HCO_3^- -free เปรียบเทียบผลกับ verapamil แต่ละจุดในกราฟแสดงค่า $\bar{x} \pm \text{SEM}$

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

** แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$)

verapamil 1.0×10^{-6} M และอัลคาลอยด์ (R) 3.68×10^{-4} M สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อได้ 100% ที่ความเข้มข้นของ BaCl_2 1 mM

4.2 ผลของอัลคาลอยด์ (R) ต่อ cumulative dose-response curve เมื่อกระตุ้นด้วย BaCl_2 ในสารละลาย HCO_3^- -free-potassium depolarizing

พบว่าในสารละลาย HCO_3^- -free-potassium depolarizing solution นี้ BaCl_2 สามารถกระตุ้นให้กล้ามเนื้อหดตัวได้ (รูปภาพที่ 21) โดยกล้ามเนื้อจะหดตัวสูงสุดเมื่อให้ BaCl_2 ขนาด 3 mM และ เมื่อเพิ่มขนาดของ BaCl_2 ขึ้นอีกการหดตัวของกล้ามเนื้อจะลดลง ศักยภาพของอัลคาลอยด์ (R) ขนาด 3.68×10^{-4} M โดยเปรียบเทียบผลการทดลองกับ เมื่อใช้ verapamil 1.0×10^{-6} M พบว่าอัลคาลอยด์ (R) และ verapamil สามารถลดการหดตัวสูงสุด (maximum contraction) ได้ 84.89 ± 4.45 และ $79.99 \pm 3.89\%$ ของกลุ่มควบคุมและมีค่า pD'_2 เท่ากับ 4.20 ± 0.07 และ 6.59 ± 0.03 ตามลำดับและสามารถลดการหดตัวได้ 100% ที่ BaCl_2 1 mM ทั้งใน verapamil และอัลคาลอยด์ (R)

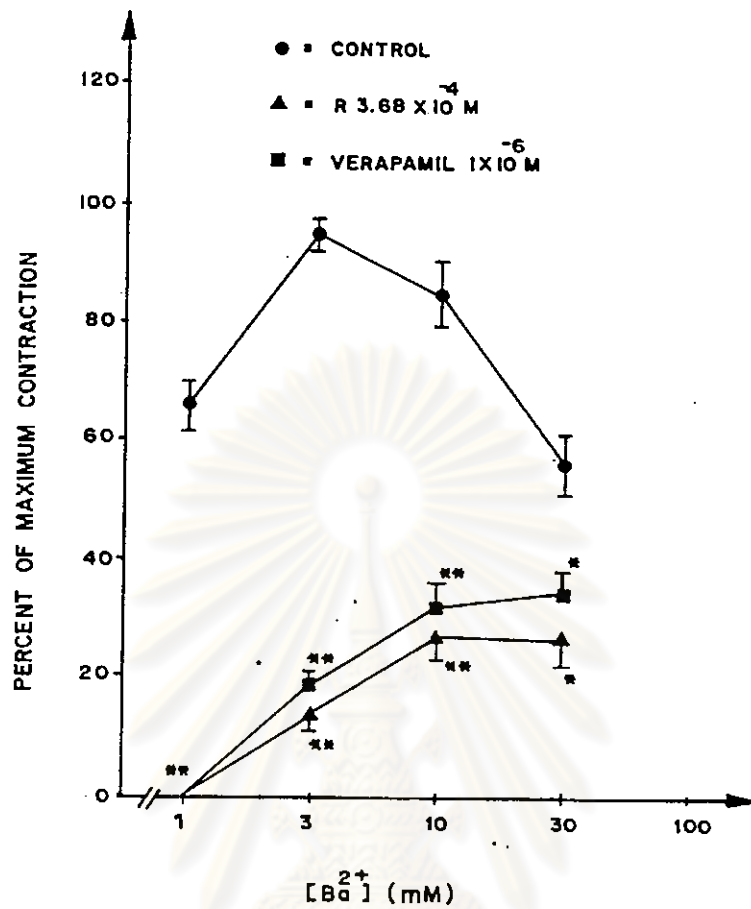
4.3 ผลของอัลคาลอยด์ (R) ต่อ cumulative dose response curve เมื่อกระตุ้นด้วย BaCl_2 ในสารละลาย Ca^{2+} and HCO_3^- free solution

พบว่าในสารละลาย Ca^{2+} and HCO_3^- -free solution นี้ BaCl_2 สามารถกระตุ้นให้กล้ามเนื้อหดตัวได้ (รูปภาพที่ 22) โดยกล้ามเนื้อจะหดตัวสูงสุด (maximum contraction) ได้ที่ความเข้มข้นของ BaCl_2 10 mM เมื่อเพิ่มขนาดของ BaCl_2 การหดตัวของกล้ามเนื้อจะลดลง ศักยภาพของอัลคาลอยด์ (R) ขนาด 3.68×10^{-4} M ต่อการกระตุ้นด้วย BaCl_2 แบบสะสมขนาด (1 mM-30 mM) โดยเปรียบเทียบผลกับการให้ verapamil ขนาด 1.0×10^{-6} M ผลการทดลองแสดงด้วยรูปภาพที่ 22 พบว่าอัลคาลอยด์ (R) สามารถลดการหดตัวได้ 100% ที่ความเข้มข้นของ BaCl_2 1 mM และสามารถลดการหดตัวสูงสุด (maximum contraction) ได้ $71.00 \pm 2.17\%$

ของกลุ่มควบคุมในขณะที่ verapamil สามารถลดการหดตัวของกล้ามเนื้อหลอดลม
ได้ 100% ที่ความเข้มข้นของ BaCl_2 1 mM และ 3 mM และสามารถลด
การหดตัวสูงสุด (maximum contraction) ได้ $77.57 \pm 2.41\%$ ของกลุ่ม
ควบคุม โดยค่า pD'_2 ของอัลคาลอยด์(R) และ verapamil คือ 3.82 ± 0.02
และ 6.55 ± 0.04 ตามลำดับ



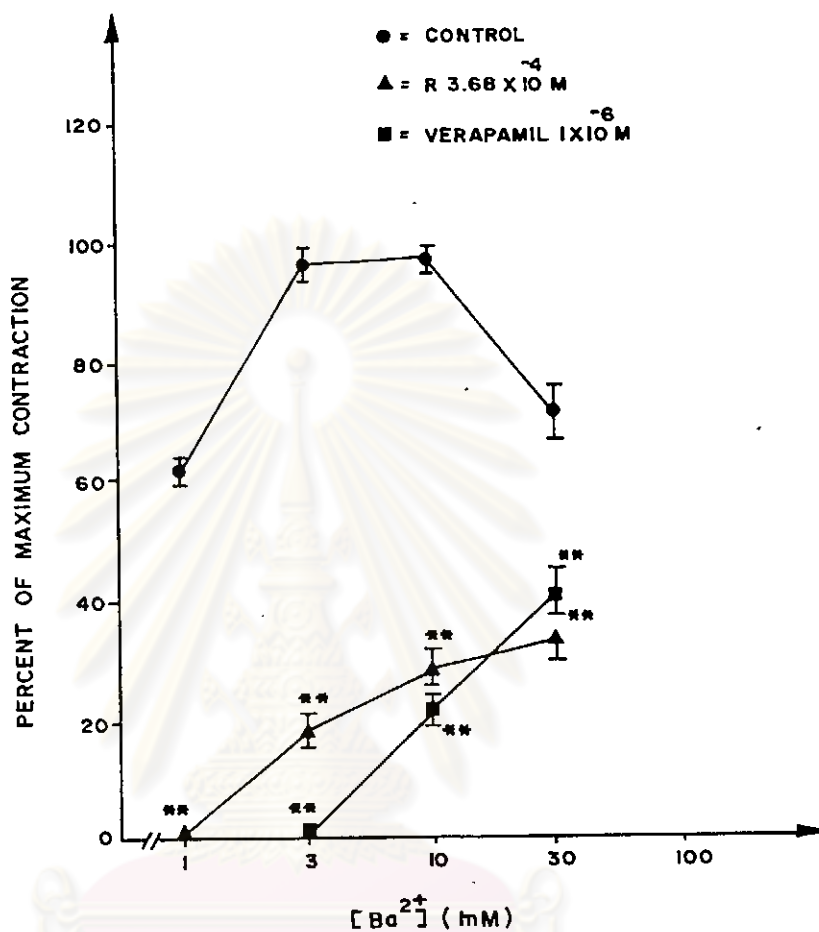
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปภาพที่ 21 กราฟแสดงผลของอัลคาลอยด์ (R) ต่อ cumulative dose-response curve ของ BaCl₂ ในสารละลาย HCO₃⁻-free potassium depolarizing เปรียบเทียบผลกับ verapamil แต่ละจุดในกราฟแสดงค่า $\bar{X} \pm \text{SEM}$

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p < 0.05)

** แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p < 0.001)



รูปภาพที่ 22 กราฟแสดงผลของอัลคาลอยด์ (R) ต่อ cumulative dose-response curve ของ BaCl_2 ในสารละลาย Ca^{2+} and HCO_3^- -free เปรียบเทียบผลกับ verapamil แต่ละจุดในกราฟแสดงค่า $\bar{X} \pm \text{SEM}$

** แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

($p < 0.001$)

ผลการทดลองในหนูตะเภา

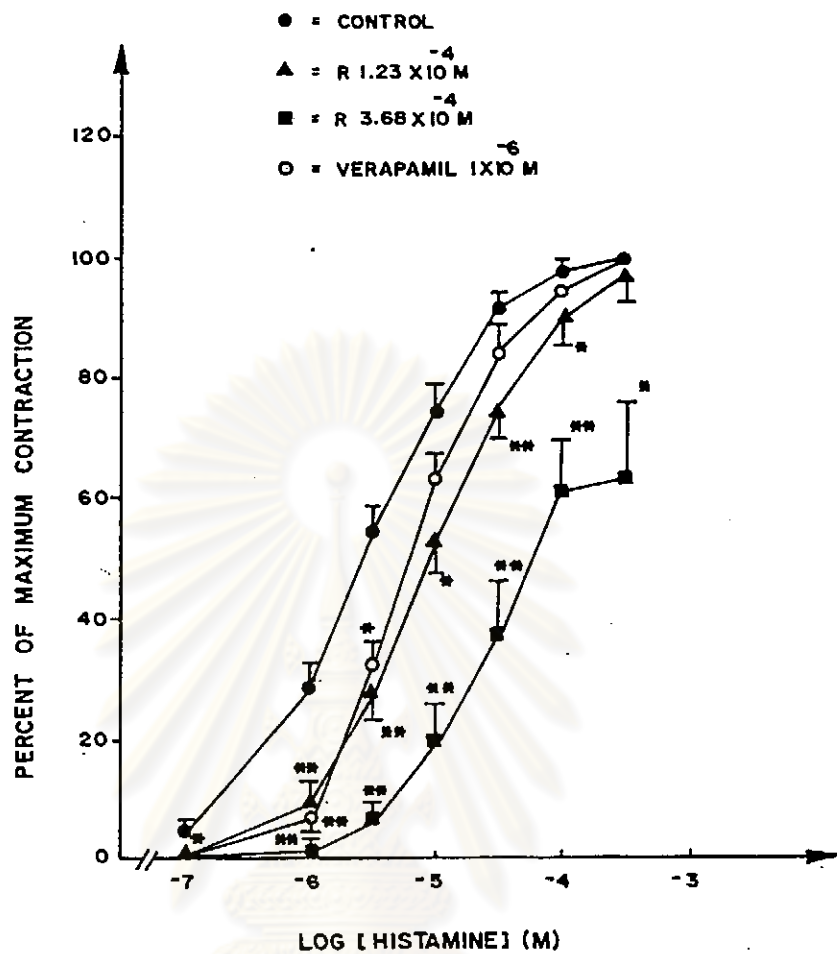
1. ผลของอัลคาลอยด์ (R) ต่อ cumulative dose-response curve เมื่อกระตุ้นด้วย histamine

เมื่อให้ histamine แบบสะสมขนาด

(1.0×10^{-7} - 3.0×10^{-4} M) กับกล้ามเนื้อหลอดเลือดที่ equilibrate อยู่ในสารละลาย Krebs Henseleit ที่มี indomethacin 2.8×10^{-6} M อยู่ด้วย พบว่า histamine สามารถกระตุ้นให้กล้ามเนื้อหลอดเลือดหดตัวได้เพิ่มขึ้นตามขนาดที่เพิ่มขึ้น (รูปภาพที่ 23) ศึกษาผลของอัลคาลอยด์ (R) ขนาด 1.23×10^{-4} และ 3.68×10^{-4} M ต่อการหดตัวที่กระตุ้นด้วย histamine และเปรียบเทียบผลกับ verapamil 1.0×10^{-6} M ผลการทดลองแสดงด้วยรูปภาพที่ 23 พบว่าอัลคาลอยด์ (R) สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อหลอดเลือดที่กระตุ้นด้วย histamine ได้ โดยมีความแรงในการยับยั้งเพิ่มขึ้นตามขนาดของอัลคาลอยด์ (R) ที่เพิ่มขึ้น (dose-dependent) และอัลคาลอยด์ (R) ขนาด 1.23×10^{-4} M มีลักษณะการยับยั้งแบบ competitive antagonism โดยมีค่าการหดตัวสูงสุด (maximum contraction) ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ดังรูปภาพที่ 23 และ ค่า pA_2 เท่ากับ 4.35 ± 0.14 ในขณะที่อัลคาลอยด์ (R) ขนาด 3.68×10^{-4} M มีลักษณะการยับยั้งแบบ non-competitive antagonism โดยสามารถลดการหดตัวสูงสุดได้ $36.44 \pm 8.79\%$ ของกลุ่มควบคุมมีค่า pD_2 เท่ากับ 3.17 ± 0.26 เปรียบเทียบผลกับ verapamil ขนาด 1.0×10^{-6} M ซึ่งมีลักษณะการยับยั้งแบบ competitive antagonism มีค่า pA_2 เท่ากับ 6.03 ± 0.15

2. ศึกษาผลของอัลคาลอยด์ (R) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดเมื่อกระตุ้นด้วย TEA แบบสะสมขนาด

TEA (1-8 mM) สามารถกระตุ้นให้กล้ามเนื้อหลอดเลือดหดตัวเพิ่มขึ้นตามขนาดของ TEA ที่เพิ่มขึ้น พบว่าอัลคาลอยด์ (R) ขนาด 3.68×10^{-4} M สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อหลอดเลือดที่กระตุ้นด้วย TEA โดยสามารถลดการหดตัวสูงสุด (maximum contraction) ได้ $38.20 \pm 0.82\%$ ของ



รูปภาพที่ 23 กราฟแสดงผลของอัลคาลอยด์ (R) ต่อ cumulative dose-response curve ของ histamine เปรียบเทียบกับ verapamil แต่ละจุดในกราฟแสดงค่า $\bar{X} \pm \text{SEM}$

- * แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)
- ** แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$)

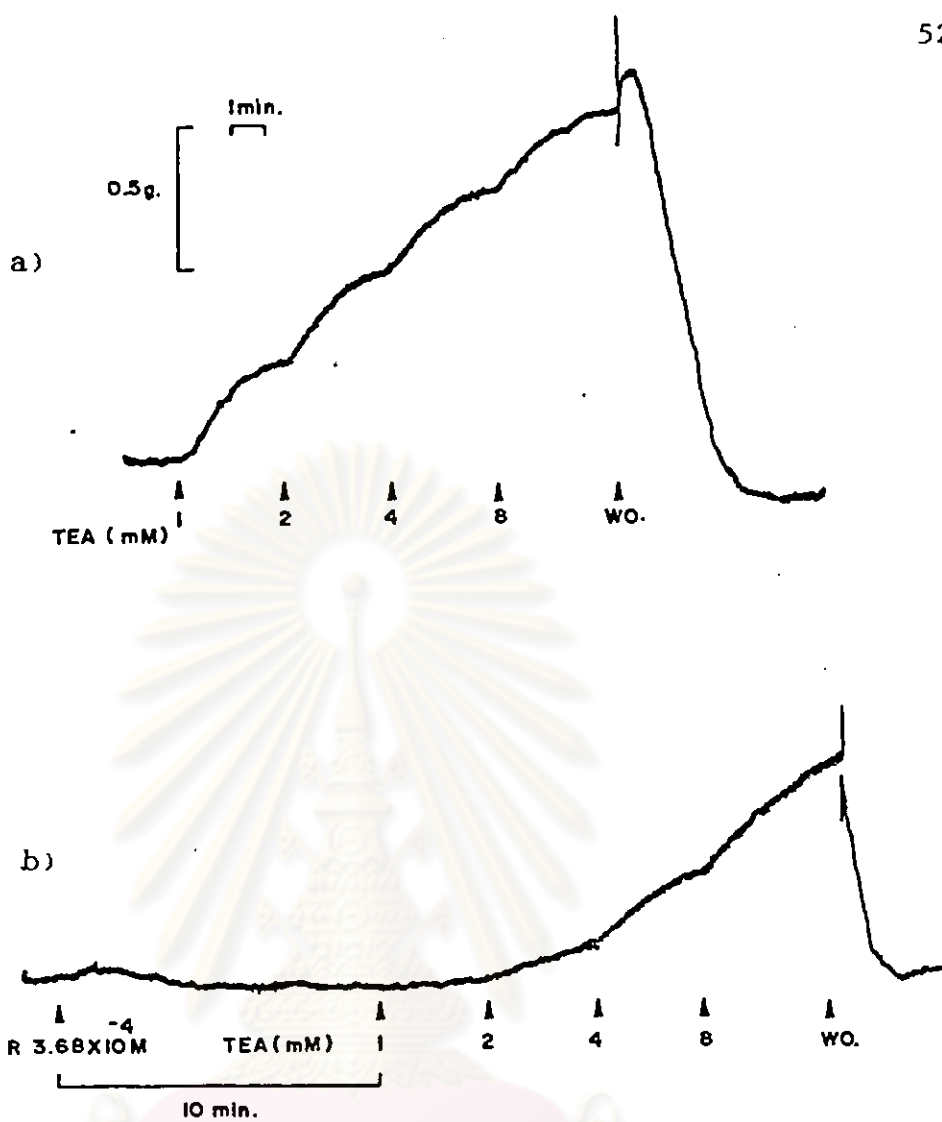
กลุ่มควบคุม เปรียบเทียบกับ verapamil 1.0×10^{-6} M พบว่าสามารถลดการหดตัวสูงสุด (maximum contraction) ได้ $71.66 \pm 2.40\%$ ของกลุ่มควบคุม (รูปภาพที่ 24, 25 และ 26)

3. ผลของ TEA ในการต้านฤทธิ์การยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดโดยอัลคาลอยด์ (R) เมื่อกระตุ้นด้วย histamine, acetylcholine และ CaCl_2 ใน potassium-depolarizing solution.

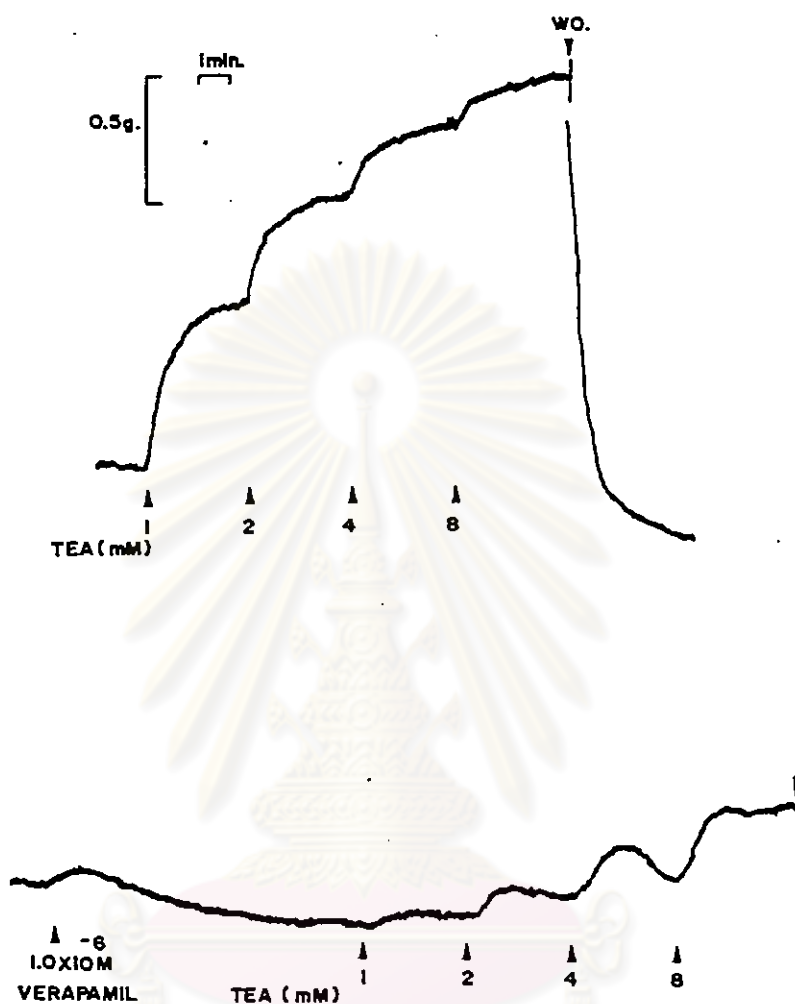
เมื่อให้ histamine 1.0×10^{-5} M หลอดลมจะหดตัวจนกระทั่งสูงสุดและคงที่ หลังจากนั้นให้อัลคาลอยด์ (R) 3.68×10^{-4} M พบว่าสามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อหลอดลมได้ $56.03 \pm 1.74\%$ เมื่อกล้ามเนื้อคลายตัวจนเริ่มคงที่ จึงศึกษาผลของ TEA 8 mM พบว่า TEA สามารถกระตุ้นให้กล้ามเนื้อหดตัวได้เพิ่มขึ้นดังแสดงในรูปภาพที่ 27(a) เปรียบเทียบผลการทดลองกับเมื่อใช้ verapamil 0.5×10^{-4} M แทนอัลคาลอยด์ (R) พบว่า verapamil สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อหลอดลมที่กระตุ้นด้วย histamine ได้ ใกล้เคียงกับอัลคาลอยด์ (R) คือยับยั้งได้ $57.60 \pm 1.98\%$ และเมื่อให้ TEA 8 mM พบว่ากล้ามเนื้อไม่สามารถหดตัวได้เพิ่มขึ้น (รูปภาพที่ 27(b))

เมื่อให้ Ach 1.0×10^{-6} M เป็นตัวกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อและทำการทดลองเช่นเดียวกับเมื่อใช้ histamine เป็นตัวกระตุ้น พบว่าอัลคาลอยด์ (R) 3.68×10^{-4} M สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อได้ $89.45 \pm 0.32\%$ และเมื่อให้ TEA 8 mM หลังจากทีกล้ามเนื้อคลายตัวจนคงที่แล้ว พบว่า TEA สามารถทำให้กล้ามเนื้อหดตัวได้อีกดังแสดงด้วยรูปภาพที่ 28(a) เปรียบเทียบผลกับเมื่อให้ verapamil 0.5×10^{-4} M แทนอัลคาลอยด์ (R) พบว่า verapamil สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อได้ $80.08 \pm 3.24\%$ และเมื่อให้ TEA 8 mM พบว่ากล้ามเนื้อสามารถหดตัวได้อีก แต่จะเพิ่มการหดตัวทีละน้อยในอัตราเร็วที่ช้ากว่าเมื่อใช้อัลคาลอยด์ (R) เป็นตัวยับยั้ง (รูปภาพที่ 28(b))

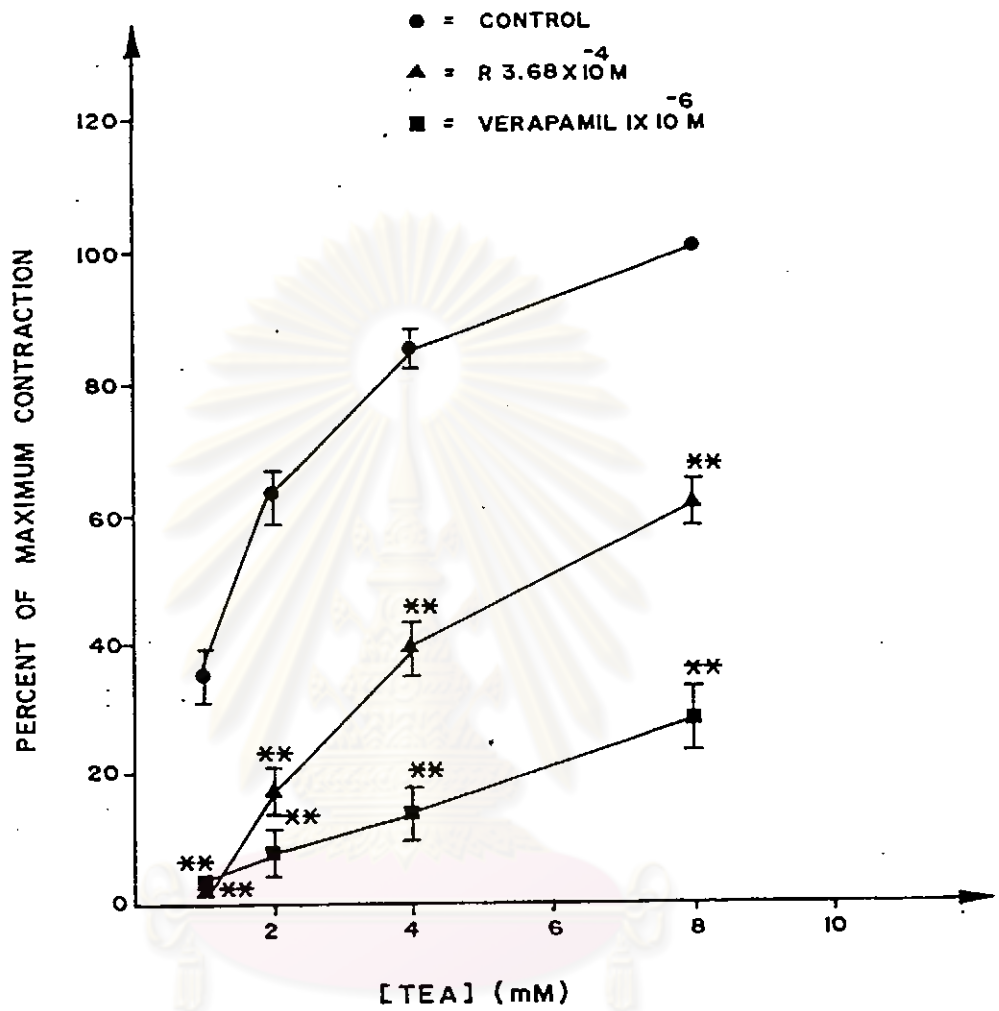
เมื่อให้ CaCl_2 2.5 mM ในสารละลาย potassium-depolarizing เป็นตัวกระตุ้น ให้อัลคาลอยด์ 3.68×10^{-4} M เป็นสารยับยั้ง



รูปภาพที่ 24 แสดงผลของอัลคาลอยด์ (R) ต่อการหดตัวของหลอดลม
หนูตะเภาเมื่อกระตุ้นด้วย TEA แบบสะสมขนาด a) แสดงถึง
กลุ่มควบคุม, b) แสดงถึงผลของ R ขนาด 3.68×10^{-4} M

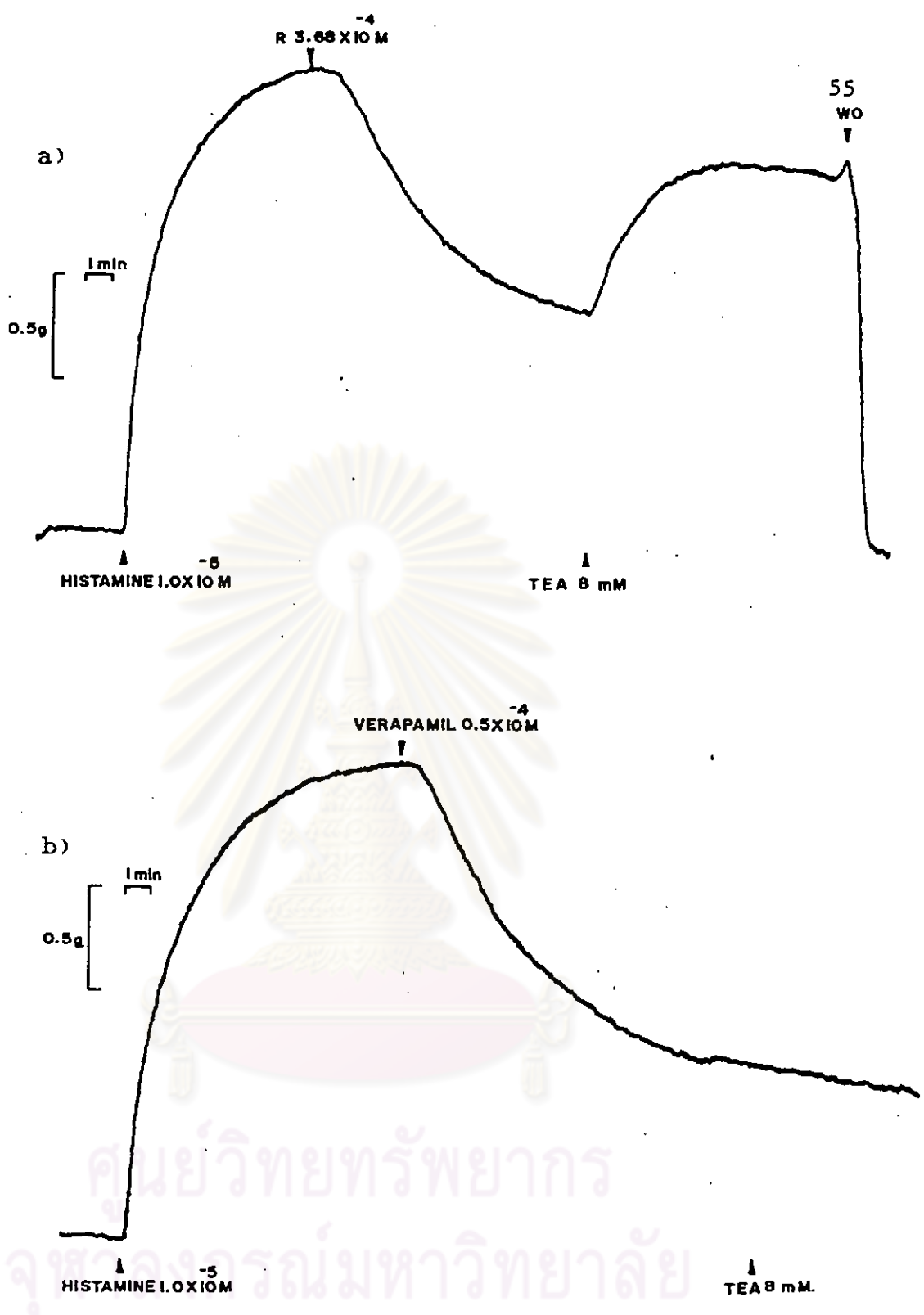


รูปภาพที่ 25 แสดงผลของ verapamil ต่อการหดตัวของหลอดลม
หนูตะเภาเมื่อกระตุ้นด้วย TEA แบบสะสมขนาด

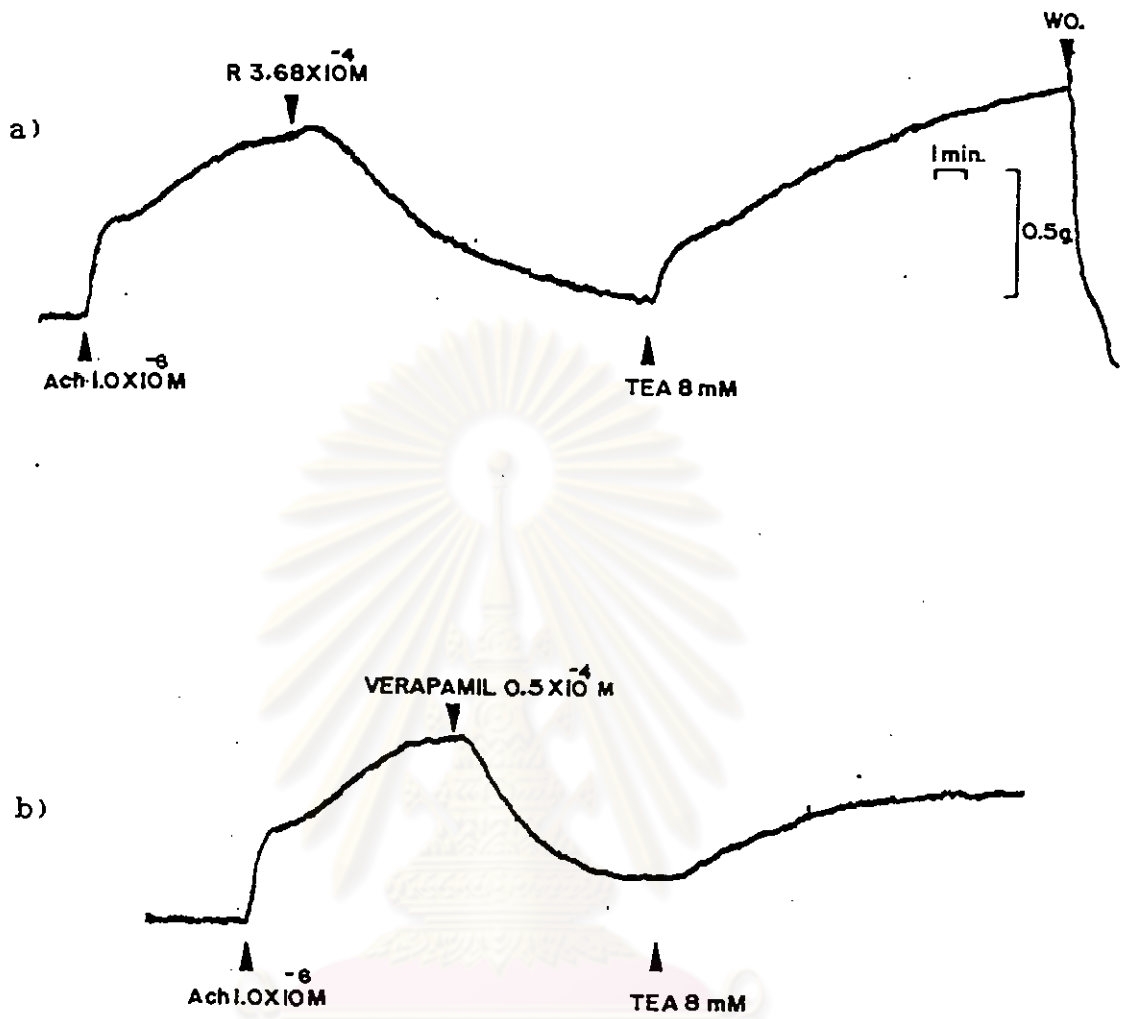


รูปภาพที่ 26 กราฟแสดงผลของอัลคาลอยด์ (R) และ verapamil ต่อการหดตัวของหลอดลมหนูตะเภาเมื่อกระตุ้นด้วย TEA แบบสะสมขนาด แต่ละจุดในกราฟแสดงค่า $\bar{X} \pm \text{SEM}$

** แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$)



รูปภาพที่ 27 แสดงผลของ TEA ในการต้านฤทธิ์การยับยั้งการหดตัวของหลอดลมหนูตะเภาโดยอัลคาลอยด์ (R) (a) และโดย verapamil (b) เมื่อกระตุ้นกล้ามเนื้อด้วย histamine

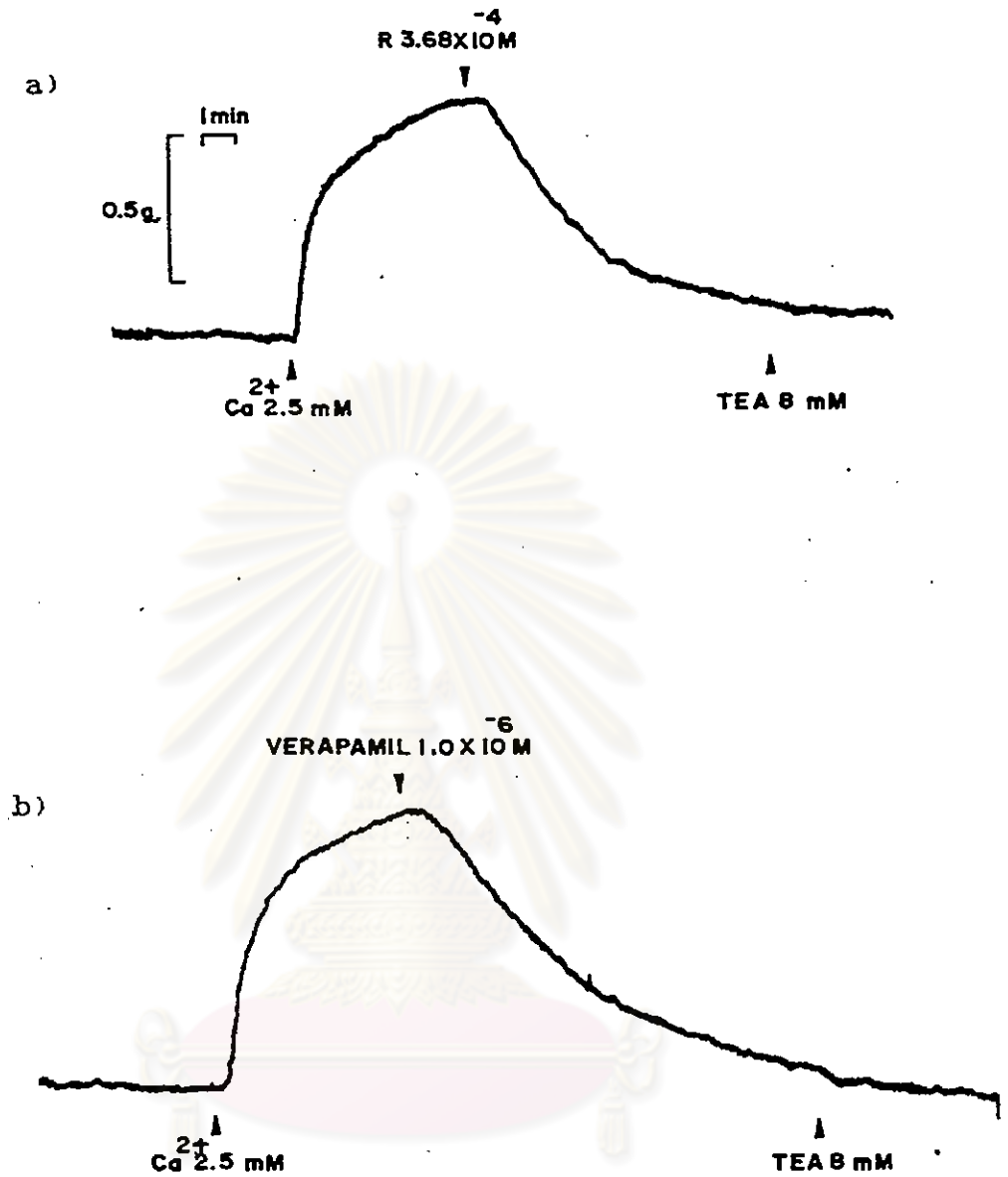


รูปภาพที่ 28 แสดงผลของ TEA ในการต้านฤทธิ์การยับยั้งการหดตัวของหลอดลมหนูตะเภาโดยอัลคาลอยด์ (R) (a) และโดย verapamil (b) เมื่อกระตุ้นกล้ามเนื้อด้วย Ach

การหดตัวแล้วให้ TEA 8 mM พบว่า กล้ามเนื้อไม่มีการหดตัวได้เพิ่มขึ้น
เปรียบเทียบกับเมื่อให้ verapamil 1.0×10^{-6} M (ขนาดที่มีความแรง
ในการยับยั้งใกล้เคียงกับอัลคาลอยด์ (R) 3.68×10^{-6} M) พบว่าเมื่อให้ TEA
กล้ามเนื้อจะคลายตัวลงจากเดิมอีกเล็กน้อย (รูปภาพที่ 29)



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปภาพที่ 29 แสดงผลของ TEA ในการต้านฤทธิ์การยับยั้งการหดตัวของ หลอดลมหนูตะเภาโดยอัลคาลอยด์ (R) (a) และโดย verapamil (b) เมื่อกระตุ้นด้วยกล้ามเนื้อด้วย $CaCl_2$ ในสารละลาย potassium-depolarizing