



บทที่ 3

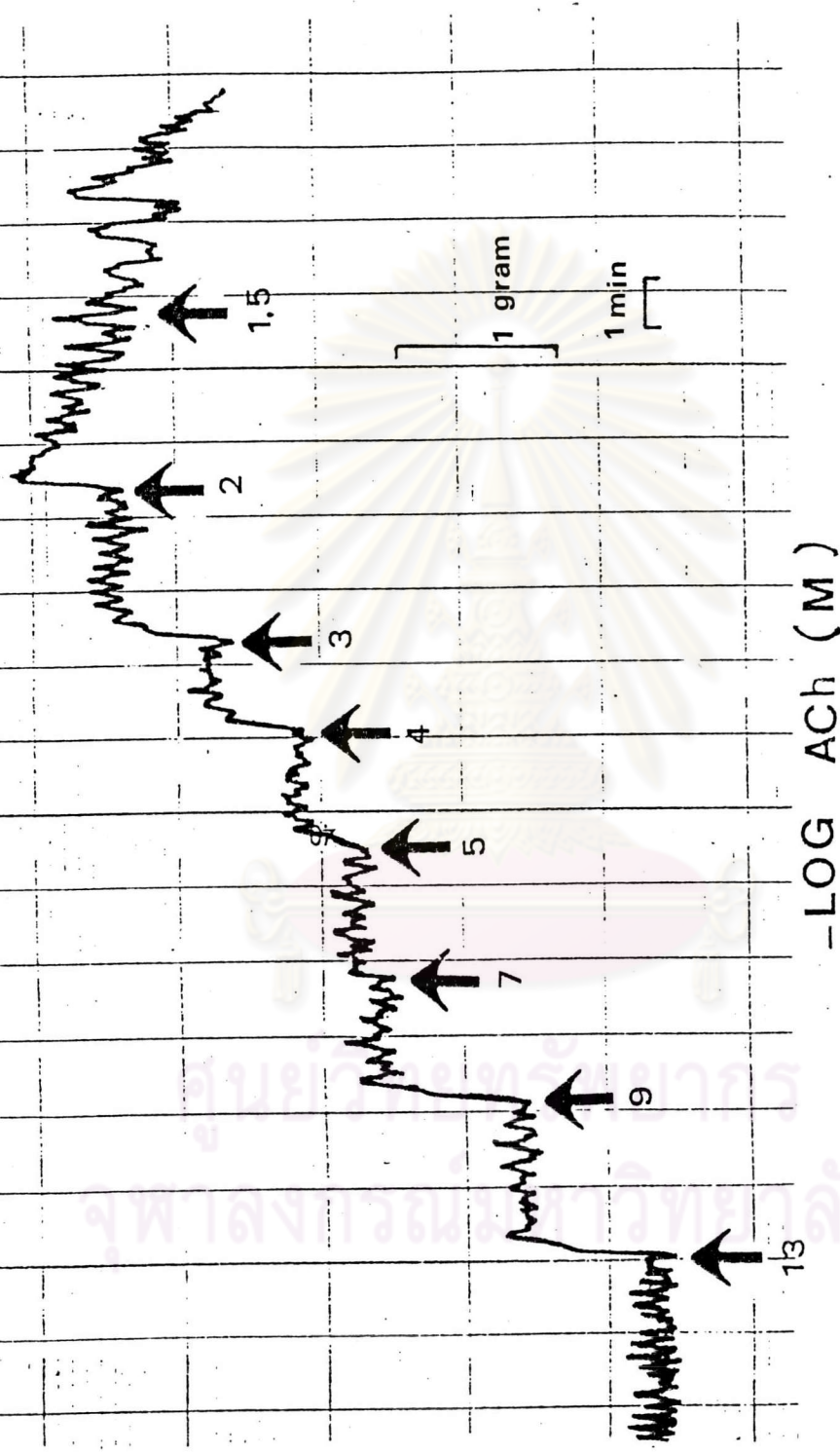
ผลการทดลอง

ผลของสารสกัดจากพืชหลายชนิด (AC_1 , AC_2 และ AC_3) ต่อการหดเกร็งของกล้ามเนื้อกระเพาะอาหารหนูขาวนอกร่างกาย (in vitro)

กล้ามเนื้อกระเพาะอาหารหนูขาวเมื่อ incubate อยู่ใน Tyrode's solution จะสามารถเกิดการหดเกร็งขึ้นเองได้ (generated action potential) การหดเกร็งจะเกิดแบบ spike potential ที่มีจังหวะสม่ำเสมอ และเมื่อกลิ้มเนื้อถูก depolarized ด้วย potassium-depolarizing Tyrode's solution พบว่าการหดเกร็งที่เกิดขึ้นได้เองนี้จะหายไป ผลการทดลองการตอบสนองของกล้ามเนื้อต่อสารกระตุ้นมีดังนี้

1. เมื่อใช้สารกระตุ้น ACh

กล้ามเนื้อกระเพาะอาหารจะตอบสนองต่อสารกระตุ้น ACh อย่างรวดเร็ว แรงหดเกร็งจะเพิ่มขึ้นพร้อมกับยังคงมีการหดเกร็งที่เกิดขึ้นได้เองแบบเป็นจังหวะสม่ำเสมอ (รูปที่ 4) โดยความถี่ (frequency) จะลดลง ระยะเวลา (duration) นานขึ้น และถ้าให้ ACh ขนาดสูงมาก ๆ อาจพบว่า การหดเกร็งที่เกิดขึ้นได้เองนี้จะหายไป การศึกษาเพื่อหาค่า cumulative dose-response curve พบว่า ACh ขนาดความเข้มข้น 1×10^{-13} M จะทำให้กล้ามเนื้อหดเกร็งได้ และเมื่อเพิ่มความเข้มข้น ACh ขึ้นเรื่อย ๆ แรงหดเกร็งก็จะสูงขึ้น จนกระทั่งเมื่อถึงระดับความเข้มข้น $1 \times 10^{-1.5}$ M จะพบว่ากล้ามเนื้อหดเกร็งได้สูงที่สุด (maximum contraction) ในระยะที่กล้ามเนื้อหดเกร็งสูงสุดนี้จะเห็นเส้นกราฟเริ่มลดต่ำลงที่เป็นดังนี้เพราะกล้ามเนื้อจะถูก desensitization จึงตอบสนองต่อตัวกระตุ้นลดลง (Bolton, 1979 a,b) แรงดึงตัวจึงลดน้อยลงแต่จะเป็นไปอย่างช้าๆและใช้ระยะเวลานานกว่ากล้ามเนื้อจะกลับคืนสู่ระดับปกติ



รูปที่ 4 กราฟแสดงการหดเกร็งกล้ามเนื้อกระเพาะอาหารหนูขาวใน Tyrode's solution เมื่อให้อะเซทิลโคลีน (acetylcholine) แบบสะสม (cumulative dose)

เส้นในแนวแกนอนแสดงเวลาเป็นนาที เส้นในแนวแกนตั้งแสดงการหดเกร็งเป็น กรัม

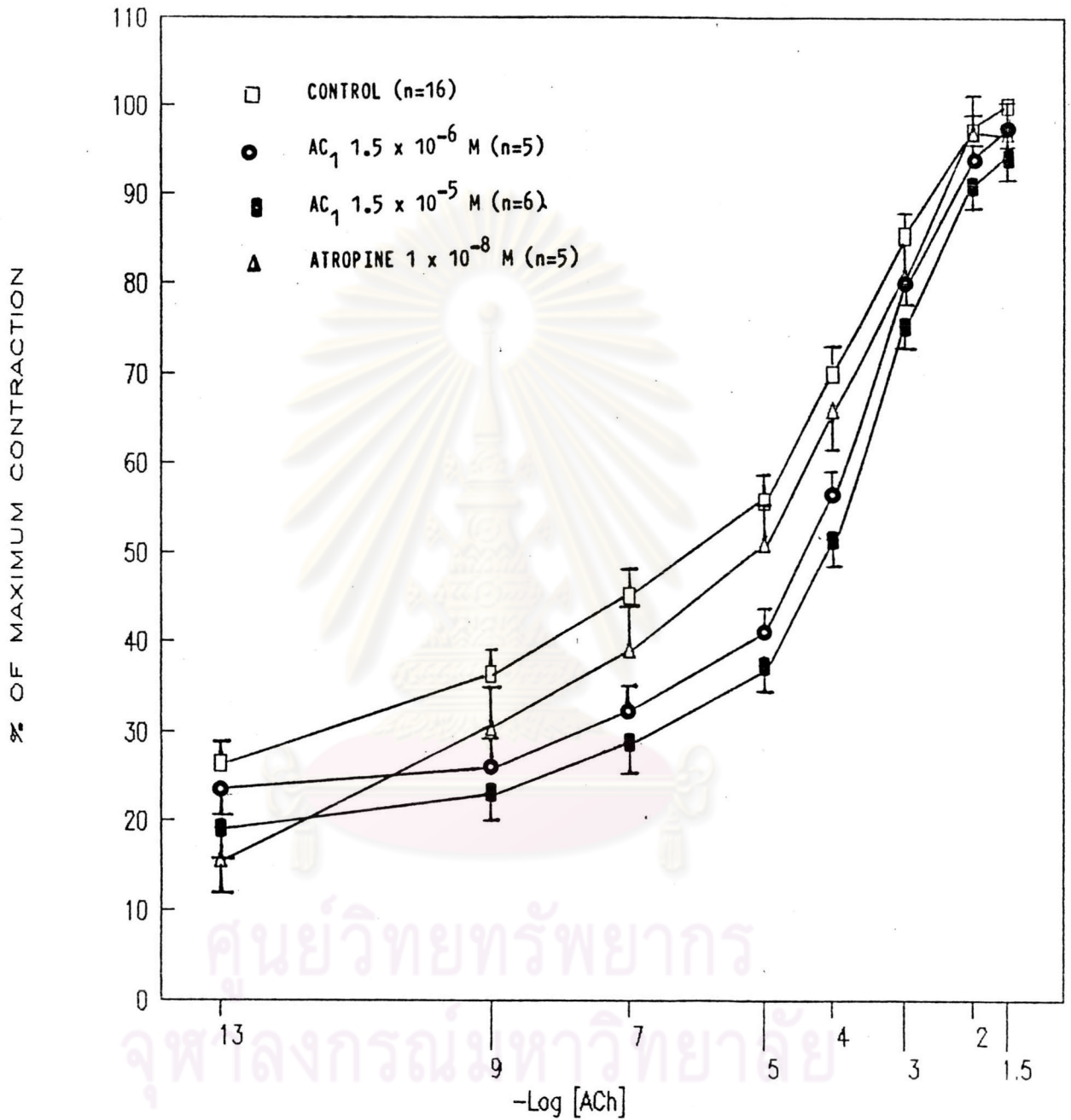
สำหรับการศึกษาเพื่อทดสอบฤทธิ์ของ AC_1 , AC_2 และ AC_3 โดยเปรียบเทียบกับ สารยับยั้งอะโทรปีน และดูผลของเอทานอลที่ใช้เป็นตัวทำละลายสารสกัดจากหัตถะลายโจร ต่อการหดเกร็งของกล้ามเนื้อเมื่อใช้ Ach เป็นสารกระตุ้นนั้น ผลการทดลองแสดงด้วยกราฟ รูปที่ 5-8 แต่ละจุดในเส้นกราฟเป็น ค่าเฉลี่ย \pm S.E.M. ของการหดเกร็งคิดเป็นร้อยละ ของการหดเกร็งสูงสุด

1.1 ผลการทดลองที่ใช้ AC_1 เป็นสารยับยั้ง (รูปที่ 5)

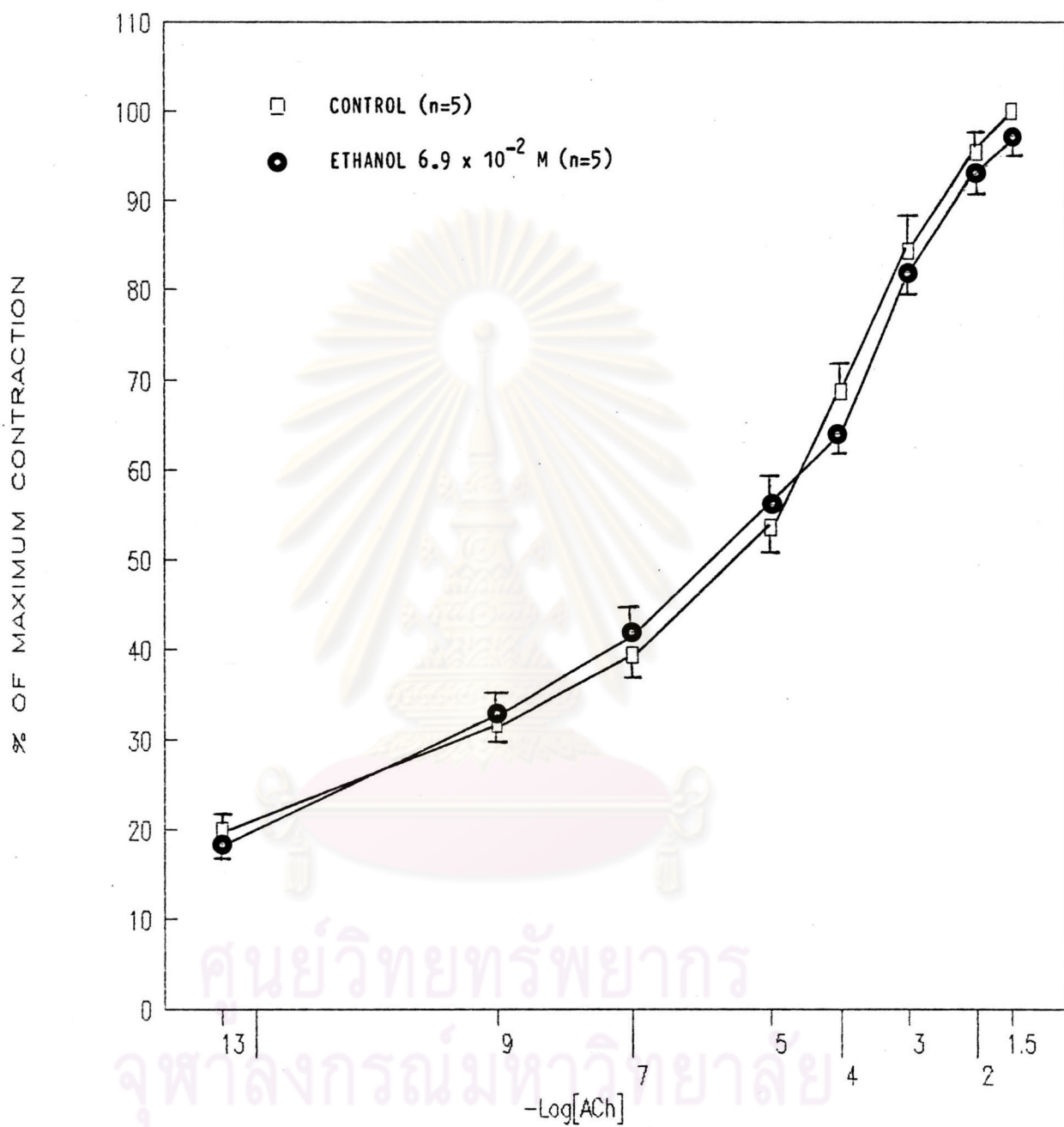
AC_1 มีฤทธิ์ยับยั้งการหดเกร็งของกระเพาะอาหารจากการใช้ Ach เป็นสารกระตุ้นได้ ความแรงในการยับยั้งจะขึ้นกับขนาดที่ใช้ (dose dependent) ฤทธิ์ของการยับยั้งจะเห็นชัดและมีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) เมื่อใช้ Ach ความเข้มข้นระหว่าง 1×10^{-13} M ถึง 1×10^{-4} M และถ้าเพิ่มความเข้มข้นของ Ach เป็น 1×10^{-3} M ถึง $1 \times 10^{-1.5}$ M ฤทธิ์ในการยับยั้งจะลดน้อยลงแต่ก็ยังมีผลทำให้ การหดเกร็งสูงสุดในกลุ่มที่ได้รับ AC_1 น้อยกว่ากลุ่มควบคุมโดย AC_1 ความเข้มข้น 1.5×10^{-6} M และ 1.5×10^{-5} M สามารถลดการหดเกร็งสูงสุดได้ร้อยละ 3.6 ± 0.8 และ 6.1 ± 1.4 ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม ผลในการลดการหดเกร็งสูงสุดจะไม่แตกต่างอย่างเด่นชัดระหว่างกลุ่มที่ได้รับ AC_1 และกลุ่มควบคุม แต่ผลของการออกฤทธิ์ของ AC_1 น่าจะเป็น non-competitive antagonist เหมือนที่พบในลำไส้เล็ก (เพชรรัตน์ พงศ์จรรยากุล, 2530) กราฟในรูปที่ 5 ได้แสดงผลเปรียบเทียบกับอะโทรปีนขนาด 1×10^{-8} M ซึ่งพบว่าอะโทรปีนให้ผลการออกฤทธิ์เป็นแบบ competitive antagonist สำหรับผลของเอทานอลที่ใช้เป็นตัวทำละลาย สารสกัดขนาดความเข้มข้น 6.9×10^{-2} M นั้น พบว่าไม่มีผลเปลี่ยนแปลงต่อการหดเกร็งของ กล้ามเนื้อกระเพาะอาหารหนูขาว (ดูรูปที่ 6) จากกราฟได้นำไปคำนวณหาค่า drug parameter ซึ่งสรุปไว้ในตารางที่ 2 จากค่า PD_2 จะพบว่าถ้าเพิ่มความเข้มข้นของ AC_1 จาก 1.5×10^{-6} M เป็น 1.5×10^{-5} M จะทำให้ค่า PD_2 ลดลงจาก 4.14 ± 0.14 เป็น 3.58 ± 0.9 ตามลำดับ

1.2 ผลการทดลองที่ใช้ AC_2 เป็นสารยับยั้ง (รูปที่ 7)

AC_2 มีฤทธิ์ยับยั้งการหดเกร็งกระเพาะอาหารได้ เช่นเดียวกับ AC_1 ความแรงในการยับยั้งจะขึ้นกับขนาดที่ใช้ ฤทธิ์ในการยับยั้งจะเห็นเด่นชัดและมีความแตกต่างจาก กลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ทุกขนาดความเข้มข้นของ Ach การหดเกร็งสูงสุด



รูปที่ 5 แสดงผลของ AC₁ คือ cumulative log dose-response curve ของ อะเซทิลโคลีน (acetylcholine) ที่กระตุ้นการหดเกร็งกระเพาะอาหารของหนูขาว แต่ละจุดในกราฟแสดงค่า $\bar{x} \pm \text{SEM}$.

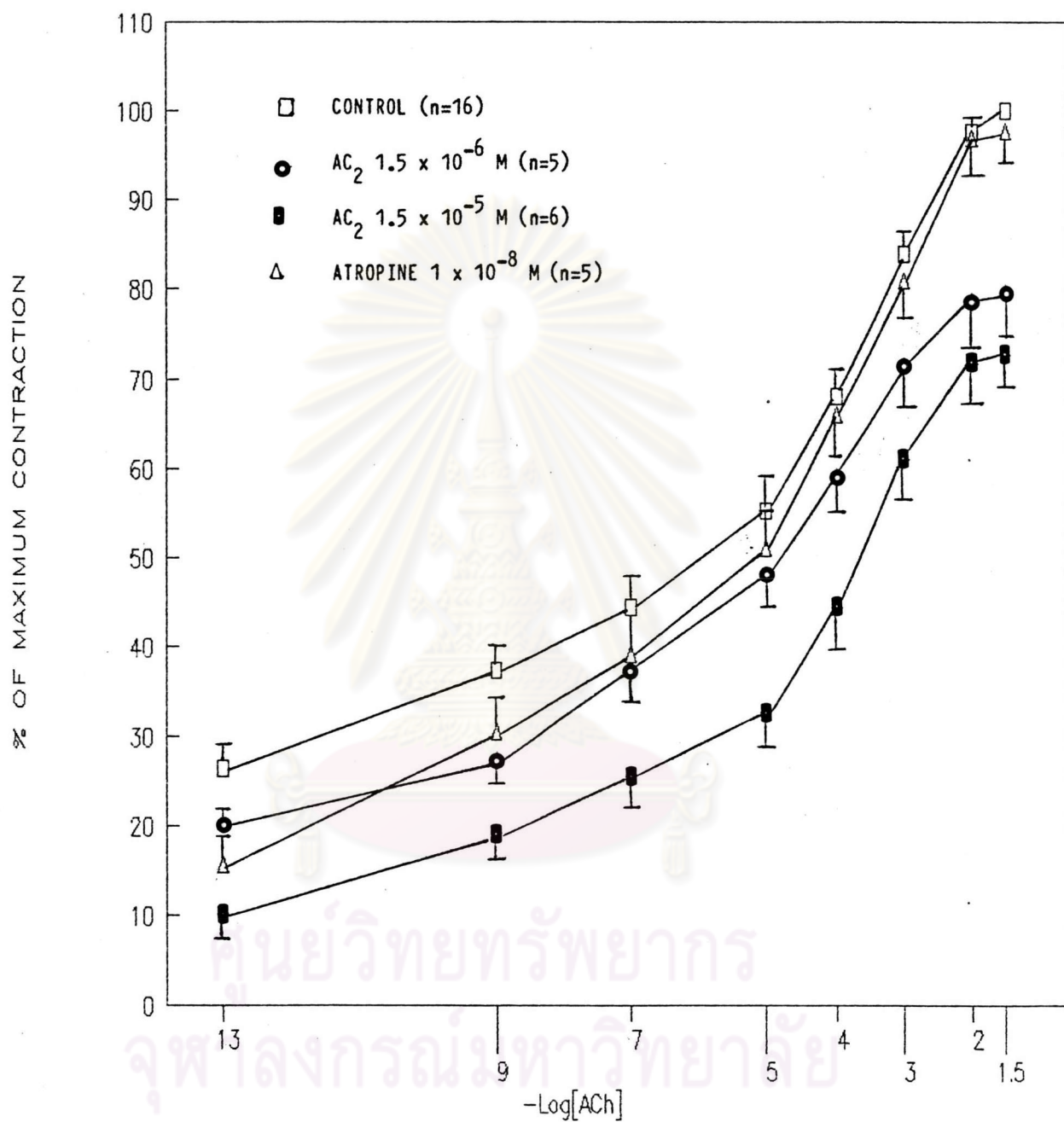


รูปที่ 6 แสดงผลของ เอทานอล (ethanol) ต่อ cumulative log dose-response curve ของอะเซทิลโคลีน (acetylcholine) ที่กระตุ้นการหดเกร็งกระเพาะอาหารของหนูขาว แต่ละจุดในกราฟแสดงค่า $\bar{x} \pm \text{SEM}$.

ตารางที่ 2 แสดงค่า

- pd'_2 ของ AC_1 , AC_2 และ AC_3
 - pa_2 ของเอทานอล (ethanol) และ อะโทรปีน (atropine)
- คำนวณจาก log dose-response curve ของ อะเซทิลโคลีน (acetylcholine) ที่กระตุ้นการหดเกร็งของกล้ามเนื้อกระเพาะอาหารหนูขาว

ANTAGONIST				LOG AFFINITY OF THE ANTAGONIST	
NON-COMPETITIVE ANTAGONIST				MEAN	SEM
AC_1	1.5×10^{-5}	M	$pd'_2 =$	3.58 (n = 6)	0.09
AC_1	1.5×10^{-6}	M	$pd'_2 =$	4.14 (n = 5)	0.14
AC_2	1.5×10^{-5}	M	$pd'_2 =$	4.38 (n = 6)	0.095
AC_2	1.5×10^{-6}	M	$pd'_2 =$	5.12 (n = 5)	0.19
AC_3	1.5×10^{-5}	M	$pd'_2 =$	4.27 (n = 6)	0.05
AC_3	1.5×10^{-6}	M	$pd'_2 =$	5.09 (n = 5)	0.05
COMPETITIVE ANTAGONIST					
ETHANOL	6.9×10^{-2}	M	$pa_2 =$	1.43 (n = 5)	0.19
ATROPINE	1×10^{-8}	m	$pa_2 =$	8.65 (n = 5)	0.39



รูปที่ 7 แสดงผลของ AC₂ ต่อ cumulative log dose-response curve ของ อะเซทิลโคลีน (acetylcholine) ที่กระตุ้นการหดเกร็งกระเพาะอาหารของหนูขาว แต่ละจุดในกราฟแสดงค่า $\bar{x} \pm \text{SEM}$.

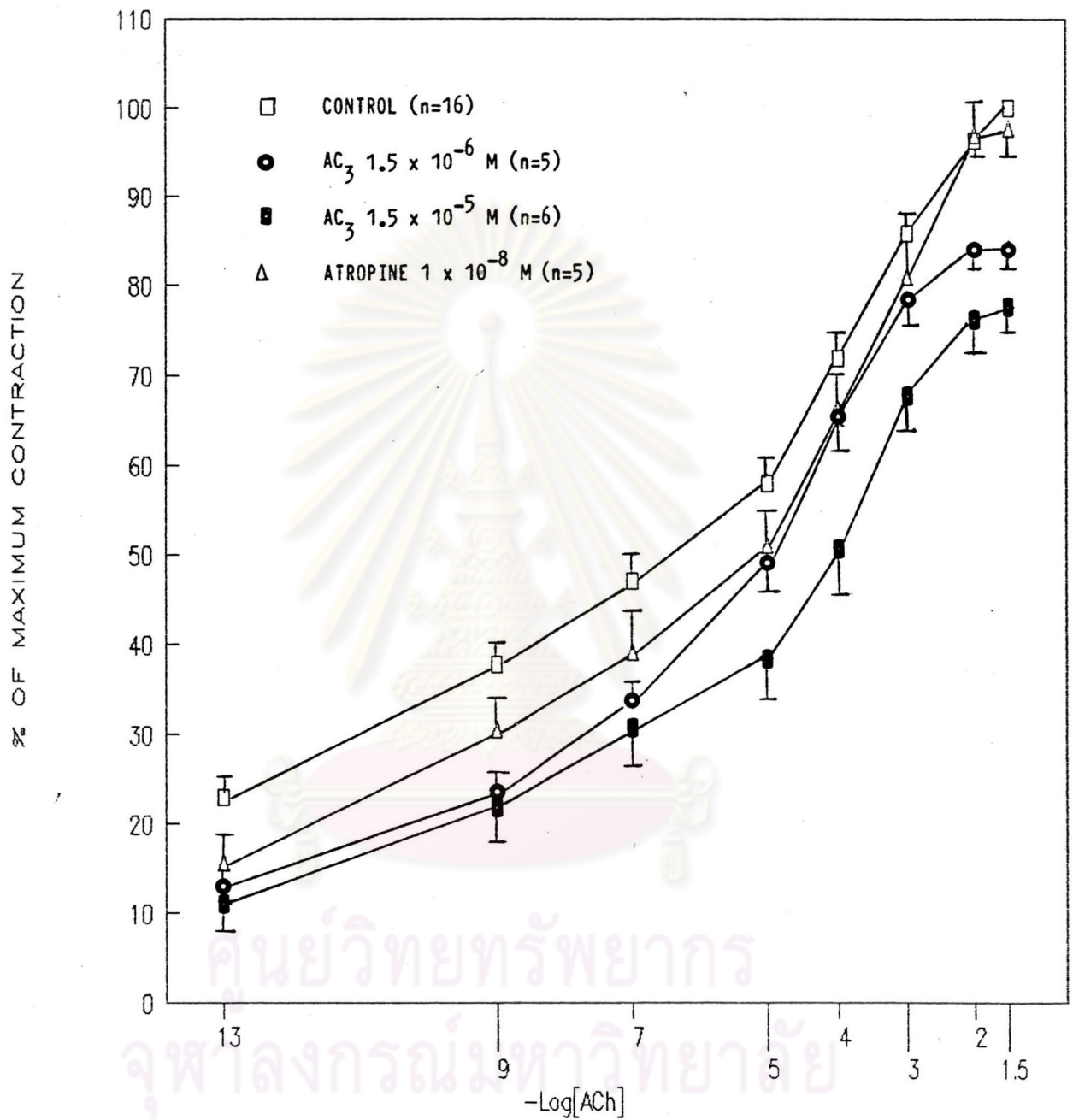
ในกลุ่มที่ได้รับ AC_2 จะลดต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างชัดเจน โดย AC_2 ขนาด $1.5 \times 10^{-6} M$ และ $1.5 \times 10^{-5} M$ จะลดการหดเกร็งสูงสุดได้ร้อยละ 20.36 ± 5.63 และ 27.45 ± 3.69 ตามลำดับ ผลการออกฤทธิ์ของ AC_2 เป็นแบบ non-competitive antagonist กราฟในรูปที่ 7 ได้แสดงผลของสารยับยั้งอะโทรปีนขนาด $1 \times 10^{-8} M$ เปรียบเทียบไว้ด้วย จากกราฟนำมาคำนวณหาค่า pd_2 (ดูตารางที่ 2) และจากค่า pd'_2 จะพบว่าถ้าเพิ่มความเข้มข้นของ AC_2 จาก $1.5 \times 10^{-6} M$ เป็น $1.5 \times 10^{-5} M$ จะทำให้ค่า pd'_2 ลดลงจาก 5.12 ± 0.19 เป็น 4.38 ± 0.09

1.3 ผลการทดลองที่ใช้ AC_3 เป็นสารยับยั้ง (รูปที่ 8)

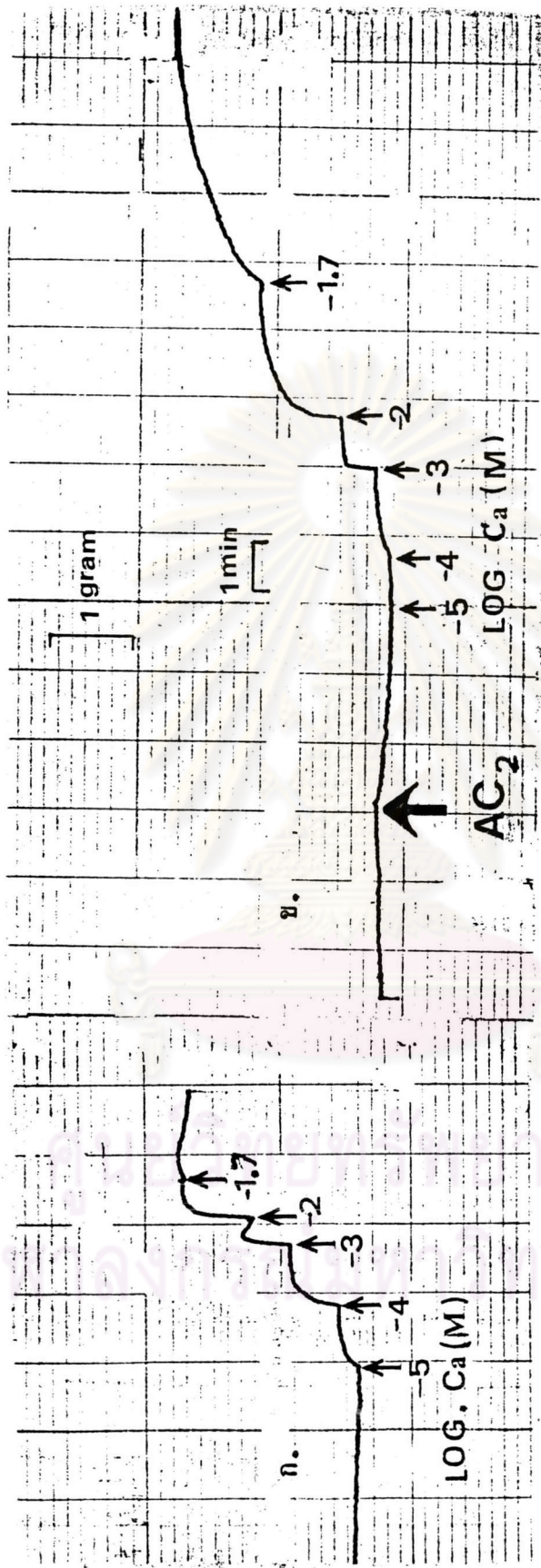
AC_3 มีฤทธิ์ยับยั้งการหดเกร็งของกระเพาะอาหารได้เช่นเดียวกับ AC_1 และ AC_2 ความแรงในการยับยั้งจะขึ้นกับขนาดที่ใช้ ฤทธิ์ในการยับยั้งจะเห็นเด่นชัดและมีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ทุกขนาดความเข้มข้นของ ACh การหดเกร็งสูงสุดในกลุ่มที่ได้รับ AC_3 จะลดต่ำกว่ากลุ่มควบคุม โดย AC_3 ขนาด $1.5 \times 10^{-6} M$ และ $1.5 \times 10^{-5} M$ จะลดการเกร็งสูงสุดได้ร้อยละ 15.9 ± 1.61 และ 22.44 ± 2.12 ตามลำดับ ผลการออกฤทธิ์ของ AC_3 เป็นแบบ non-competitive antagonist กราฟในรูปที่ 8 ได้แสดงผลของสารยับยั้งอะโทรปีนขนาด $1 \times 10^{-8} M$ เปรียบเทียบไว้ด้วย จากกราฟนำมาคำนวณหาค่า pd_2 (ดูตารางที่ 2) และจากค่า pd'_2 จะพบว่าถ้าเพิ่มความเข้มข้นของ AC_3 จาก $1.5 \times 10^{-6} M$ เป็น $1.5 \times 10^{-5} M$ จะทำให้ค่า pd'_2 ลดลงจาก 5.09 ± 0.05 เป็น 4.27 ± 0.05

2. เมื่อใช้สารกระตุ้น $CaCl_2$

การทดลองนี้จะปรับสภาวะของเยื่อหุ้มเซลล์เพื่อทำให้ potential operated calcium channel (POC) ถูกกระตุ้นโดยการ depolarized เซลล์กล้ามเนื้อด้วย potassium-depolarizing Tyrode's solution ซึ่งพบว่า action potential จะหายไปและการให้เซลล์ได้รับ K^+ ในปริมาณความเข้มข้นสูงนี้จะทำให้กล้ามเนื้อเกิดการหดเกร็งขึ้นทันทีระยะสั้นๆและจะลดลงอย่างรวดเร็วจนหายไปเมื่อหาค่า cumulative dose-response curve ของ $CaCl_2$ พบว่า $CaCl_2$ ขนาดความเข้มข้น $1 \times 10^{-5} M$ จะทำให้กล้ามเนื้อเริ่มหดเกร็งได้ การเพิ่มความเข้มข้นของ $CaCl_2$ จะทำให้การหดเกร็งสูงขึ้นเรื่อยๆ จนความเข้มข้นสูงถึง $1 \times 10^{-1.3} M$ กล้ามเนื้อจะมีการหดเกร็งสูงสุด (รูปที่ 9)



รูปที่ 8 แสดงผลของ AC₃ ต่อ cumulative log dose-response curve ของ อะเซทิลโคลีน (acetylcholine) ที่กระตุ้นการหดเกร็งกระเพาะอาหารของหนูขาว แต่ละจุดในกราฟแสดงค่า $\bar{x} \pm \text{SEM}$.



รูปที่ 9 กราฟแสดงการหดเกร็งของกล้ามเนื้อกระเพาะอาหารหนูขาวใน potassium depolarizing tyrode's solution เมื่อให้แคลเซียมคลอไรด์ (CaCl₂) แบบสะสม (cumulative dose)

ก. เมื่อให้แคลเซียมคลอไรด์แบบสะสม

ข. เมื่อให้ AC₂ 1.5x10⁻⁶ M. 5 นาที ก่อนให้แคลเซียมคลอไรด์แบบสะสม

เส้นในแนวแกนแสดงเวลาเป็นนาที เส้นในแนวแกนตั้งแสดงความแรงของการหดเกร็งเป็น กรัม

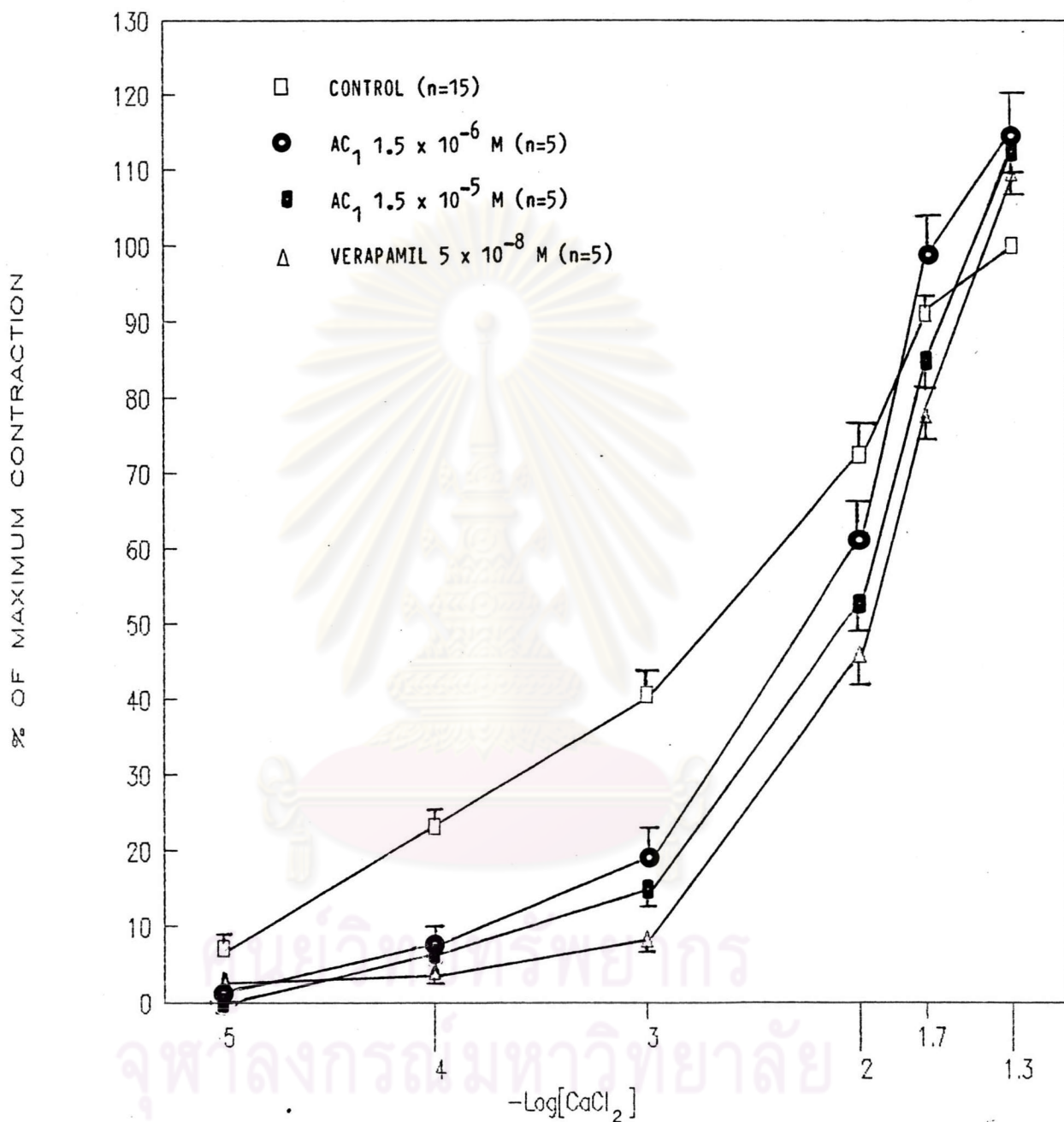
สำหรับการศึกษาเพื่อทดสอบฤทธิ์ของ AC_1 , AC_2 และ AC_3 โดยเปรียบเทียบกับสารยับยั้งเวอร่าปามิล และดูผลของเอทธานอลที่ใช้เป็นตัวทำละลายสารสกัดจากฟ้าทะลายโจรต่อการหดเกร็งของกล้ามเนื้อเมื่อใช้ $CaCl_2$ เป็นสารกระตุ้นนั้น ผลการทดลองแสดงด้วยกราฟรูปที่ 10 - 13 แต่ละจุดในกราฟเป็น ค่าเฉลี่ย \pm S.E.M. ของการหดเกร็งคิดเป็นร้อยละของการหดเกร็งสูงสุด

2.1 ผลการทดลองที่ใช้ AC_1 เป็นสารยับยั้ง (รูปที่ 10)

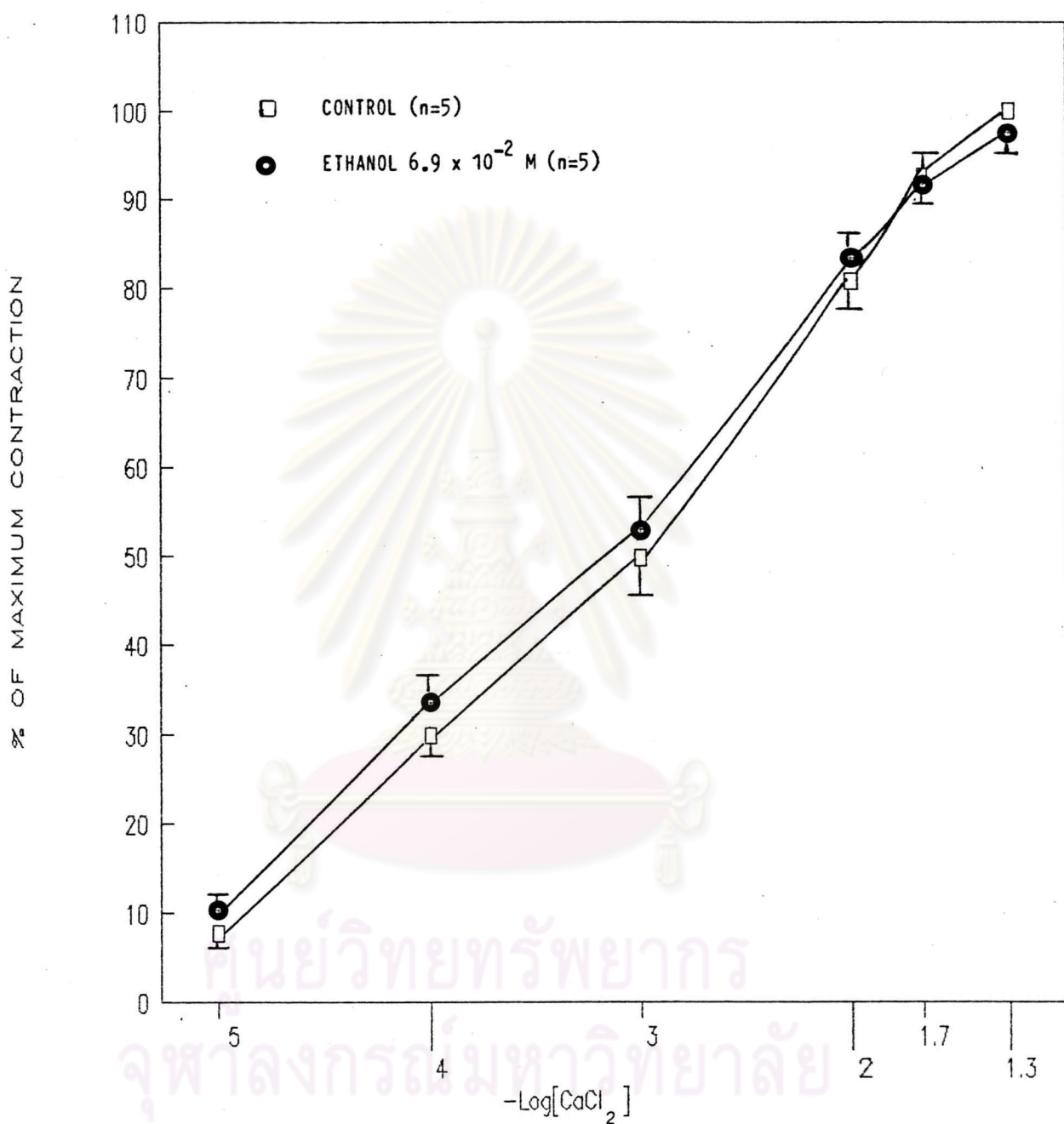
AC_1 มีฤทธิ์ยับยั้งการหดเกร็งของกล้ามเนื้อกระเพาะอาหาร จากการใช้ $CaCl_2$ เป็นสารกระตุ้นได้ ความแรงในการยับยั้งจะขึ้นกับขนาดที่ใช้ ฤทธิ์การยับยั้งจะเห็นชัดและมีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) เมื่อใช้ $CaCl_2$ ในความเข้มข้นน้อย ๆ (1×10^{-4} M ถึง 1×10^{-2} M) เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ $CaCl_2$ ขึ้น ($1 \times 10^{-1.7}$ M และ $1 \times 10^{-1.3}$ M) จะพบว่า AC_1 ขนาดความเข้มข้น 1.5×10^{-6} M ไม่สามารถยับยั้งได้ ส่วน AC_1 ขนาด 1.5×10^{-5} M จะเริ่มยับยั้งการหดเกร็งไม่ได้เมื่อเพิ่ม $CaCl_2$ เป็น $1 \times 10^{-1.3}$ M ค่าเฉลี่ยของการหดเกร็งสูงสุดในกลุ่มที่ได้รับ AC_1 จะสูงกว่ากลุ่มควบคุมโดย AC_1 ขนาดความเข้มข้น 1.5×10^{-6} M และ 1.5×10^{-5} M จะทำให้ $CaCl_2$ ขนาด $1 \times 10^{-1.3}$ M กระตุ้นการหดเกร็งกระเพาะอาหารได้สูงถึงร้อยละ 114.6 ± 4.3 และ 112.72 ± 1.1 ของกลุ่มควบคุมตามลำดับ ผลการออกฤทธิ์ของ AC_1 เช่นนี้จะเป็นแบบ competitive antagonist กราฟในรูปที่ 10 ได้แสดงผลเปรียบเทียบกับเวอร่าปามิล ความเข้มข้น 5×10^{-8} M ซึ่งพบว่า เวอร่าปามิลให้ผลการออกฤทธิ์เป็นแบบ competitive antagonist เช่นกัน สำหรับผลของเอทธานอลที่ใช้เป็นตัวทำละลายสารขนาดความเข้มข้น 6.9×10^{-2} M นั้น พบว่าไม่มีผลเปลี่ยนแปลงการหดเกร็งของกล้ามเนื้อกระเพาะอาหารหนูขาว (ดูรูปที่ 11) จากกราฟได้นำไปคำนวณหาค่า drug parameter ซึ่งสรุปไว้ในตารางที่ 3 ค่า PA_2 ของ AC_1 ความเข้มข้น 1.5×10^{-6} M และ 1.5×10^{-5} M มีค่าเท่ากับ 5.65 ± 0.14 และ 5.32 ± 0.05 ตามลำดับ ซึ่งค่าทั้งสองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

2.2 ผลการทดลองที่ใช้ AC_2 เป็นสารยับยั้ง (รูปที่ 12)

AC_2 มีฤทธิ์ยับยั้งการหดเกร็งของกล้ามเนื้อกระเพาะอาหารจากการใช้ $CaCl_2$ เป็นสารกระตุ้นได้ ความแรงในการยับยั้งจะขึ้นกับขนาดที่ใช้ เช่นเดียวกับ AC_1 ฤทธิ์



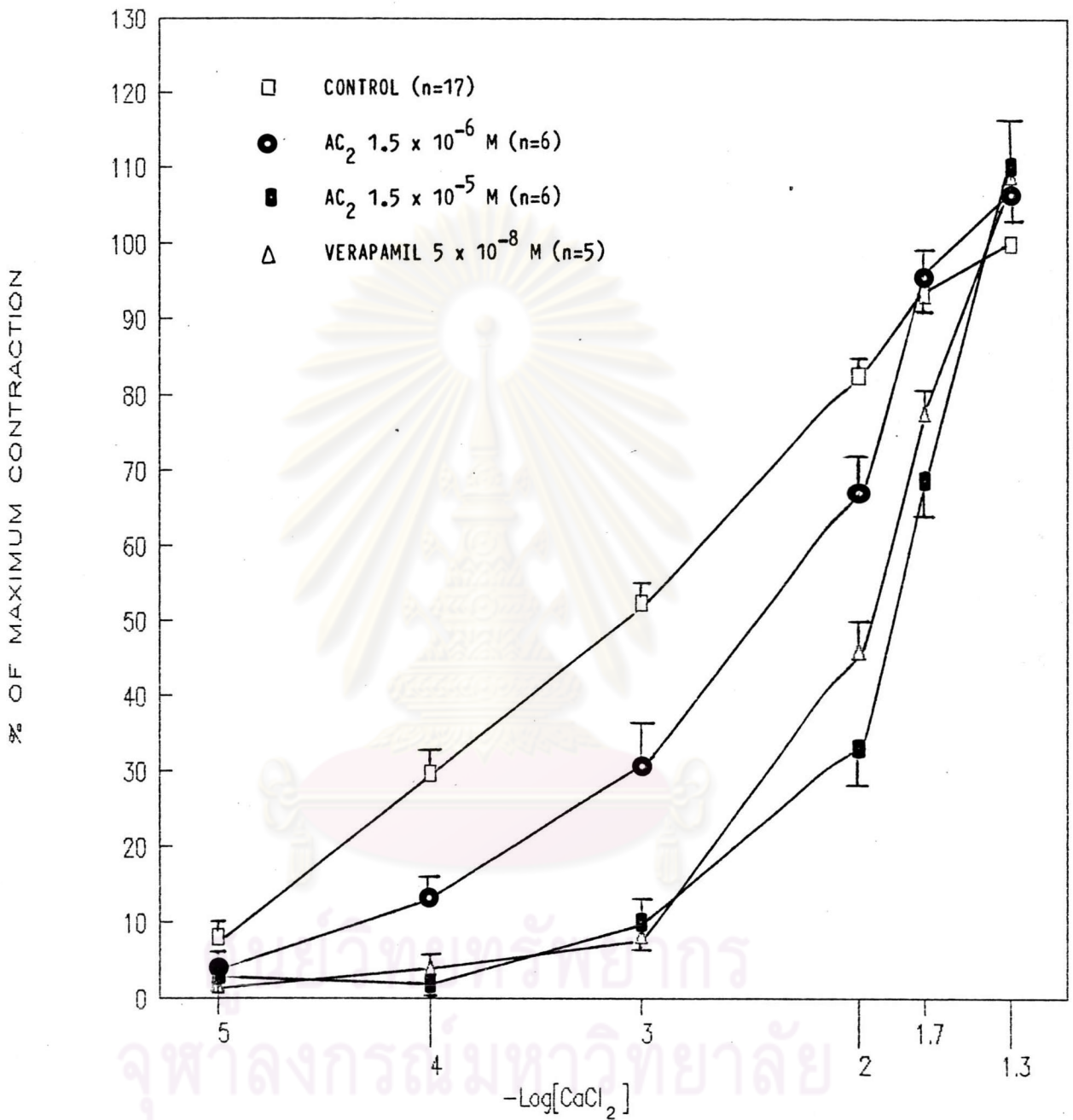
รูปที่ 10 แสดงผลของ AC₁ ต่อ cumulative log dose-response curve ของแคลเซียมคลอไรด์ (CaCl₂) ที่กระตุ้นการหดเกร็งกระเพาะอาหารของหนูขาว แต่ละจุดในกราฟแสดงค่า $\bar{x} \pm \text{SEM}$.



รูปที่ 11 แสดงผลของ เอทานอล (ethanol) ต่อ cumulative log dose-response curve ของแคลเซียมคลอไรด์ (CaCl_2) ที่ระดับการหดเกร็งกระเพาะอาหารของหนูขาว แต่ละจุดในกราฟแสดงค่า $\bar{x} \pm \text{SEM}$.

ตารางที่ 3 แสดงค่า pA_2 ของ AC_1 , AC_2 , AC_3 , เวรปามีล (verapamil) และ เอทานอล (ethanol) คำนวณจาก log dose-response curve ของ แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$) ที่กระตุ้นการหดเกร็งของกล้ามเนื้อกระเพาะอาหาร หนูขาว

ANTAGONIST			LOG AFFINITY OF THE ANTAGONIST		
COMPETITIVE ANTAGONIST				MEAN	SEM
AC_1	1.5×10^{-5} M		$pA_2 =$	5.32	0.05 (n = 5)
AC_1	1.5×10^{-6} M		$pA_2 =$	5.65	0.14 (n = 5)
AC_2	1.5×10^{-5} M		$pA_2 =$	6.19	0.08 (n = 6)
AC_2	1.5×10^{-6} M		$pA_2 =$	6.25	0.13 (n = 6)
AC_3	1.5×10^{-5} M		$pA_2 =$	5.55	0.07 (n = 5)
AC_3	1.5×10^{-6} M		$pA_2 =$	5.66	0.18 (n = 5)
VERAPAMIL	5×10^{-8} M		$pA_2 =$	8.19	0.03 (n = 5)
ETHANOL	6.9×10^{-2} M		$pA_2 =$	1.85	0.16 (n = 5)

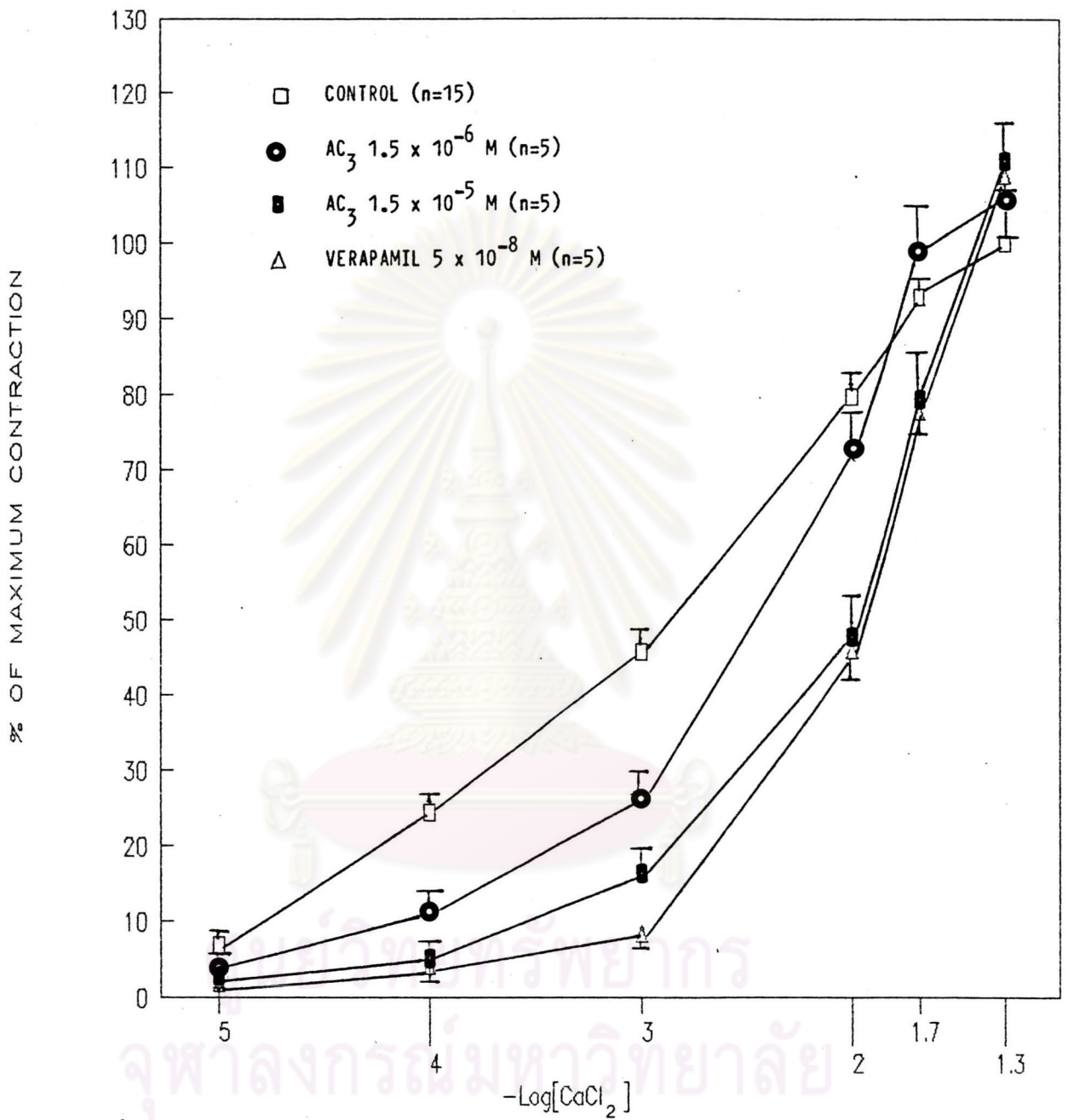


รูปที่ 12 แสดงผลของ AC₂ ต่อ cumulative log dose-response curve ของแคลเซียมคลอไรด์ (CaCl₂) ที่กระตุ้นการหดเกร็งกระเพาะอาหารของหนูขาว แต่ละจุดในกราฟแสดงค่า $\bar{x} \pm \text{SEM}$.

การยับยั้งจะเห็นชัดและมีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) เมื่อใช้ CaCl_2 ในความเข้มข้นน้อย ๆ ($1 \times 10^{-4} \text{ M}$ ถึง $1 \times 10^{-2} \text{ M}$) เมื่อเพิ่มขนาดความเข้มข้นของ CaCl_2 ขึ้น ($1 \times 10^{-1.7} \text{ M}$ และ $1 \times 10^{-1.3} \text{ M}$) จะพบว่า AC_2 ขนาด 1.5×10^{-6} ไม่สามารถยับยั้งได้ ส่วน AC_2 ขนาด $1.5 \times 10^{-5} \text{ M}$ จะเริ่มยับยั้งการหดเกร็งไม่ได้เมื่อเพิ่ม CaCl_2 เป็น $1 \times 10^{-1.3} \text{ M}$ ค่าเฉลี่ยของการหดเกร็งสูงสุดในกลุ่มที่ได้รับ AC_2 จะสูงกว่ากลุ่มควบคุมโดย AC_2 ขนาดความเข้มข้น $1.5 \times 10^{-6} \text{ M}$ และ $1.5 \times 10^{-5} \text{ M}$ จะทำให้ CaCl_2 ขนาด $1 \times 10^{-1.3} \text{ M}$ กระตุ้นการหดเกร็งของกระเพาะอาหารได้สูงถึงร้อยละ 106.86 ± 2.62 และ 109.56 ± 4.88 ของกลุ่มควบคุมตามลำดับ ผลการออกฤทธิ์ของ AC_2 เช่นนี้จะ เป็นแบบ competitive antagonist กราฟในรูปที่ 12 ได้แสดงผลเปรียบเทียบกับเวอร่าปามิล ความเข้มข้น $5 \times 10^{-8} \text{ M}$ ไว้ด้วย จากกราฟได้นำไปหาค่า pA_2 ซึ่งสรุปไว้ในตารางที่ 3 ค่า pA_2 ของ AC_2 ขนาด $1.5 \times 10^{-6} \text{ M}$ และ $1.5 \times 10^{-5} \text{ M}$ มีค่าเท่ากับ 6.25 ± 0.13 และ 6.19 ± 0.08 ตามลำดับ ซึ่งค่าทั้งสองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

2.3 ผลการทดลองที่ใช้ AC_3 เป็นสารยับยั้ง (รูปที่ 13)

AC_3 มีฤทธิ์ยับยั้งการหดเกร็งของกล้ามเนื้อกระเพาะอาหารจากการใช้ CaCl_2 เป็นสารกระตุ้นได้ ความแรงในการยับยั้งจะขึ้นกับขนาดที่ใช้เช่นเดียวกับที่พบใน AC_1 และ AC_2 ฤทธิ์การยับยั้งจะเห็นชัดและมีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) เมื่อใช้ CaCl_2 ในขนาดความเข้มข้นน้อย ๆ ($1 \times 10^{-4} \text{ M}$ ถึง $1 \times 10^{-2} \text{ M}$) แต่เมื่อเพิ่มขนาดความเข้มข้นของ CaCl_2 ขึ้น ($1 \times 10^{-1.7} \text{ M}$ และ $1 \times 10^{-1.3} \text{ M}$) จะพบว่า AC_3 ขนาดความเข้มข้น $1.5 \times 10^{-6} \text{ M}$ ไม่สามารถยับยั้งได้ ส่วน AC_3 ขนาด $1.5 \times 10^{-5} \text{ M}$ จะเริ่มยับยั้งการหดเกร็งไม่ได้ เมื่อเพิ่ม CaCl_2 เป็น $1 \times 10^{-1.3} \text{ M}$ ค่าเฉลี่ยของการหดเกร็งสูงสุดในกลุ่มที่ได้รับ AC_3 จะสูงกว่ากลุ่มควบคุม โดย AC_3 ขนาดความเข้มข้น $1.5 \times 10^{-6} \text{ M}$ และ $1 \times 10^{-5} \text{ M}$ จะทำให้ CaCl_2 ความเข้มข้น $1 \times 10^{-1.3} \text{ M}$ กระตุ้นการหดเกร็งของกระเพาะอาหารได้สูงถึงร้อยละ 105.9 ± 3.76 และ 111.3 ± 4.5 ของกลุ่มควบคุมตามลำดับ ผลการออกฤทธิ์ของ AC_3 นี้จะเป็นแบบ competitive antagonist กราฟในรูปที่ 13 ได้แสดงผลการเปรียบเทียบกับเวอร่าปามิล ความเข้มข้น $5 \times 10^{-8} \text{ M}$ ไว้ด้วย จากกราฟได้นำไปหาค่า pA_2 ซึ่งสรุปไว้ในตารางที่ 3 ค่า pA_2 ของ AC_3 ความเข้มข้น $1.5 \times 10^{-6} \text{ M}$ และ



รูปที่ 13 แสดงผลของ AC₃ ต่อ cumulative log dose-response curve ของแคลเซียมคลอไรด์ (CaCl₂) ที่กระตุ้นการหดเกร็งกระเพาะอาหารของหนูขาว แต่ละจุดในกราฟแสดงค่า $\bar{x} \pm \text{SEM}$.

1.5×10^{-5} M มีค่าเท่ากับ 5.66 ± 0.18 และ 5.55 ± 0.07 ตามลำดับ ซึ่งค่าทั้งสองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

ผลของการสกัดจากฟ้าทะลายโจร 3 ชนิด (AC_1 , AC_2 และ AC_3) ต่อการบีบตัวของกล้ามเนื้อกระเพาะอาหารหนูถีบจักรทั้งกระเพาะ ที่แยกออกมาจากร่างกาย (in vitro)

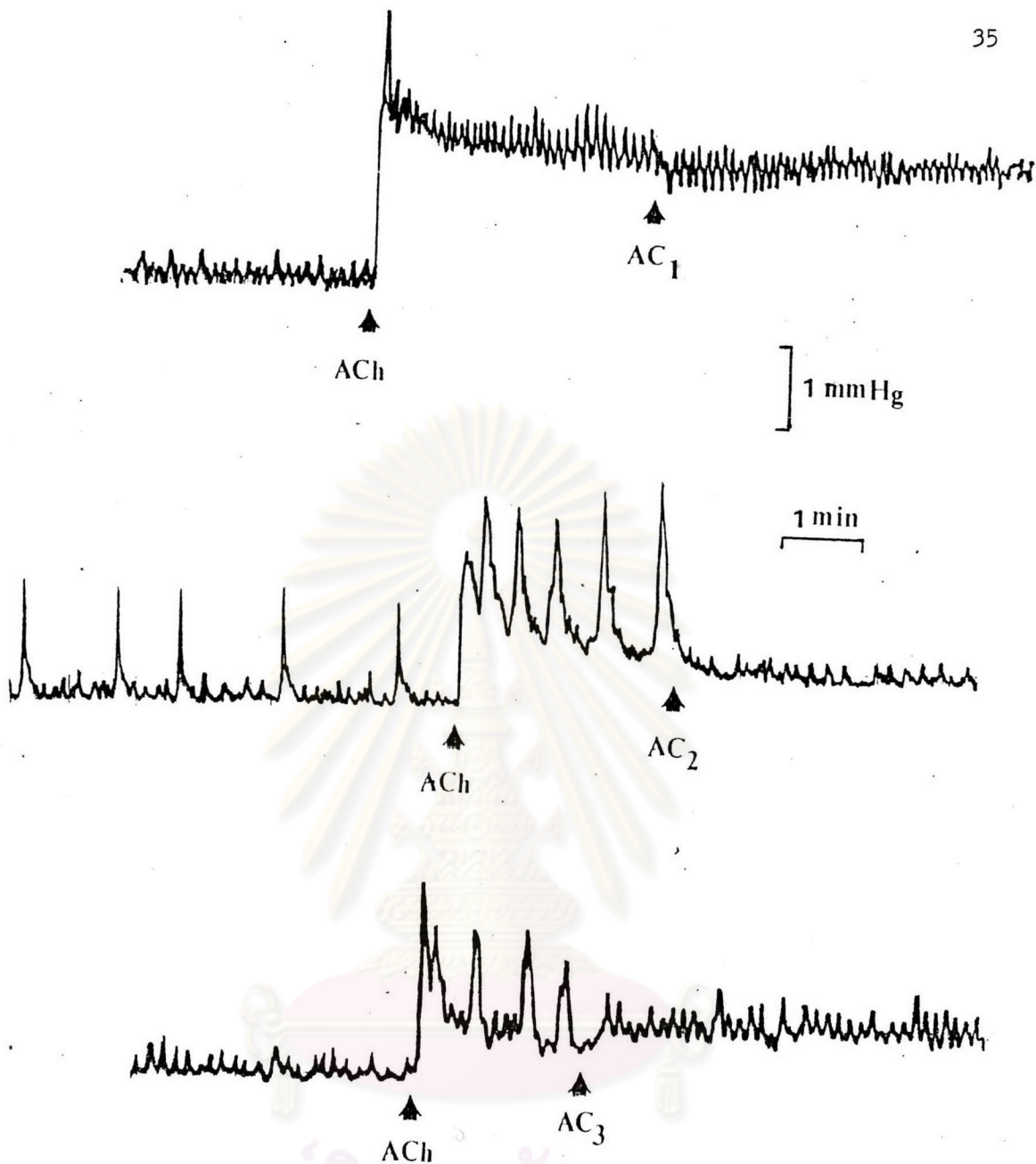
กล้ามเนื้อกระเพาะอาหารหนูถีบจักรเมื่อ incubate อยู่ใน Tyrode's solution จะสามารถเกิดการหดเกร็งเองได้ และเมื่อกล้ามเนื้อถูก depolarized ด้วย potassium-depolarizing Tyrode's solution พบว่าการหดเกร็งที่เกิดขึ้นได้เองนี้จะหายไป ผลการทดลองการตอบสนองของกล้ามเนื้อต่อสารกระตุ้นมีดังนี้

1. เมื่อใช้สารกระตุ้น ACh

ACh ขนาดความเข้มข้น 1×10^{-6} M จะกระตุ้นกล้ามเนื้อกระเพาะอาหารหนูถีบจักรทั้งกระเพาะให้เกิดการหดเกร็งขึ้นได้ โดยพบว่าการหดเกร็งที่เกิดขึ้นมีส่วนประกอบสองส่วน คือ phasic phase และ tonic phase ใน tonic phase จะพบว่า action potential ที่ปรากฏขึ้นมีความถี่ และความแรงของการหดเกร็ง (amplitude) เพิ่มมากกว่าก่อนได้รับสารกระตุ้น ACh โดยระยะ tonic phase จะใช้เวลานานกว่าจะกลับสู่ระดับปกติ

สำหรับการศึกษาเพื่อทดลองฤทธิ์ของ AC_1 , AC_2 และ AC_3 ต่อการหดเกร็งของกล้ามเนื้อกระเพาะอาหารหนูถีบจักรนั้น เลือกใช้สารทดลองความเข้มข้น 1.5×10^{-5} M เพื่อจะได้เห็นผลการทดลองชัดเจน ผลการทดลองแสดงด้วยกราฟรูปที่ 14-18

1.1 ผลของ AC_1 , AC_2 และ AC_3 ที่มีต่อการหดเกร็งของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรขณะเกิดการหดเกร็งสูงสุดเมื่อได้รับ ACh ความเข้มข้น 1×10^{-6} M (รูปที่ 14) ขณะที่ถูกกล้ามเนื้อกระเพาะอาหารเกิดการหดเกร็งสูงสุดจากการถูกกระตุ้นด้วย ACh เมื่อให้ AC_1 , AC_2 และ AC_3 พบว่าความแรงในการหดเกร็งจะลดลงทันที และรักษาระดับคงที่ไว้ระดับหนึ่ง ซึ่งใช้ระยะเวลายาวนานกว่าจะกลับคืนสู่ระดับปกติ และมีข้อน่าสังเกตว่า action potential ซึ่งมีขนาดเพิ่มขึ้นหลังจากได้รับสารกระตุ้นนั้น เมื่อใส่สารสกัดจากฟ้าทะลายโจรลงไป จะมีขนาดลดลงทันทีเห็นผลชัดเจนเมื่อใช้ AC_2 และ AC_3



รูปที่ 14 ผลของ AC₁, AC₂ และ AC₃ ความเข้มข้น 1.5×10^{-5} M. ที่มีต่อการหดเกร็งของกล้ามเนื้อกระเพาะอาหารหนูถีบจักรหึ่งกระเพาะนอกร่างกายในขณะเกิดการหดเกร็งสูงสุดเมื่อใช้อะเซทิลโคลีน (acetylcholine) 1×10^{-6} M. เป็นตัวกระตุ้น

เส้นในแนวแกนอนแสดงเวลาเป็นนาที และเส้นในแนวแกนตั้งแสดง ความแรงของการหดเกร็งเป็น มม.ปรอท

1.2 ผลการศึกษาเปรียบเทียบการหดเกร็งของกล้ามเนื้อกระเพาะอาหาร หนูถีบจักรเมื่อไม่ได้รับ AC_1 , AC_2 และ AC_3 และเมื่อได้รับ AC_1 , AC_2 และ AC_3 เป็นเวลานาน 5 นาที ก่อนให้สารกระตุ้น ACh ความเข้มข้น $1 \times 10^{-6} M$ ตามลำดับ

ผลของ AC_1 (รูปที่ 15)

AC_1 จะทำให้การหดเกร็งที่เกิดขึ้นได้เองในกระเพาะอาหารหนูถีบจักรมีขนาดและความถี่ลดลงอย่างชัดเจน และเมื่อใส่สารกระตุ้น ACh ขนาดความเข้มข้น $1 \times 10^{-6} M$ ลงไปพบว่า AC_1 จะลดการหดเกร็งสูงสุดได้ร้อยละ 15.35 ± 1.24 ซึ่งค่าการหดเกร็งสูงสุดในกลุ่มที่ได้รับ AC_1 จะแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

ผลของ AC_2 (รูปที่ 16)

AC_2 จะทำให้การหดเกร็งที่เกิดขึ้นได้เองในกระเพาะอาหารหนูถีบจักรหายไปถึงเห็นผลอย่างชัดเจน และระดับแรงดึงตัวปกติก็ลดต่ำลงจนเห็นได้ชัด เมื่อใส่สารกระตุ้น ACh ขนาดความเข้มข้น $1 \times 10^{-6} M$ ลงไปจะพบว่า AC_2 จะลดการหดเกร็งสูงสุดได้ร้อยละ 38.45 ± 3.68 ซึ่งค่าการหดเกร็งสูงสุดในกลุ่มที่ได้รับ AC_2 จะแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

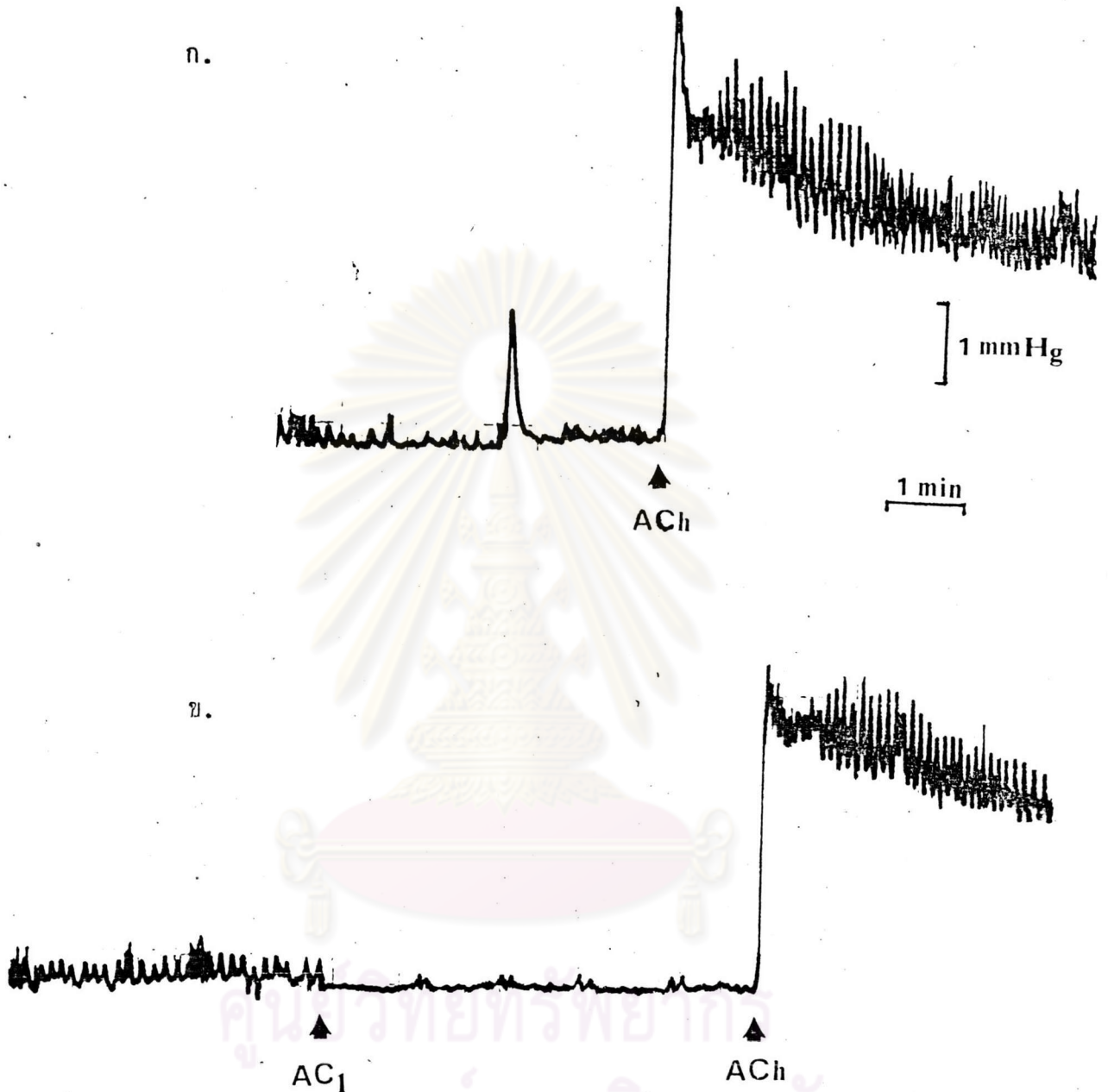
ผลของ AC_3 (รูปที่ 17)

AC_3 จะทำให้การหดเกร็งที่เกิดขึ้นได้เองในกระเพาะอาหารหนูถีบจักรมีขนาดและความถี่ลดลงอย่างชัดเจน และเมื่อใส่สารกระตุ้น ACh ขนาดความเข้มข้น $1 \times 10^{-6} M$ ลงไป พบว่า AC_3 จะลดการหดเกร็งสูงสุดได้ร้อยละ 21.42 ± 2.1 ซึ่งค่าการหดเกร็งสูงสุดในกลุ่มที่ได้รับ AC_3 จะแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

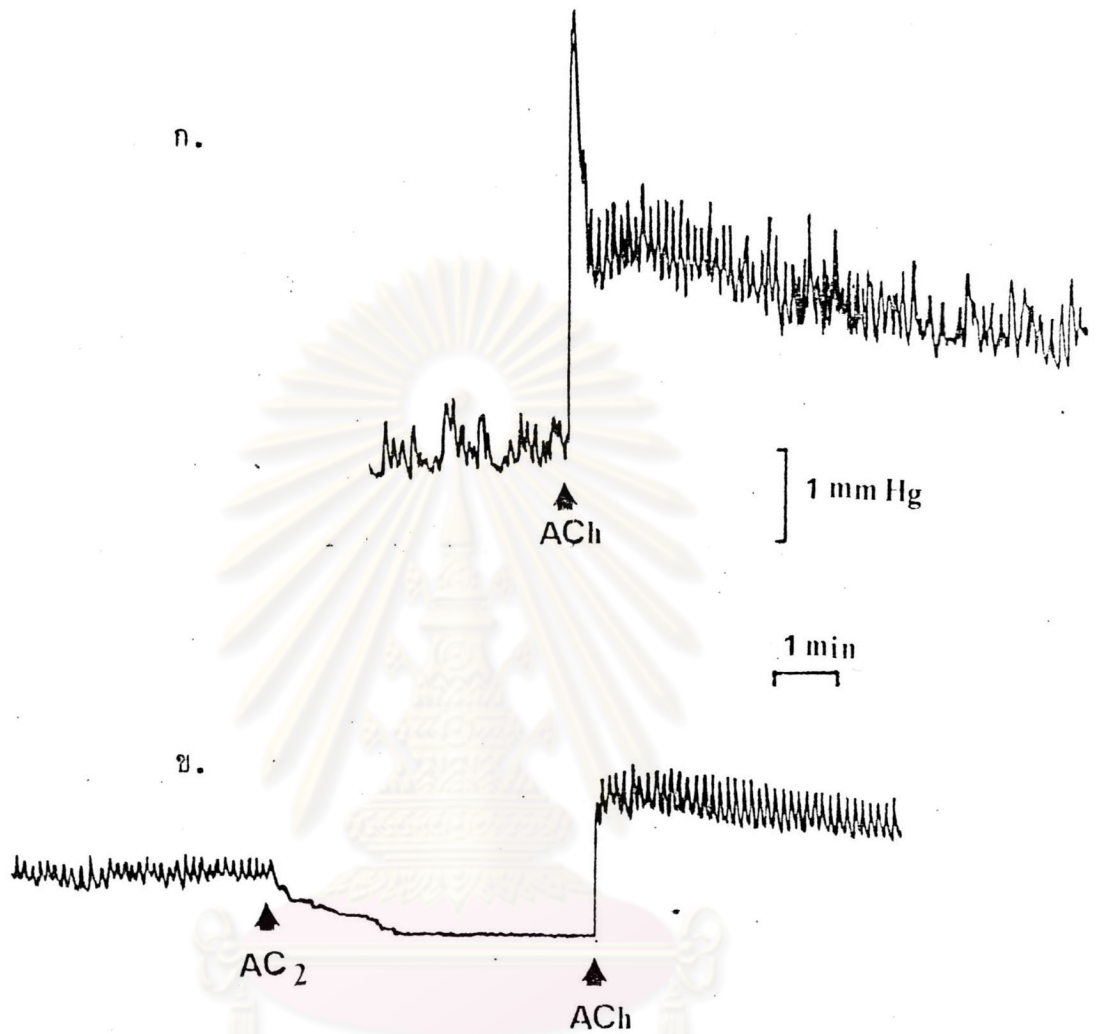
ผลการทดลองของ AC_1 , AC_2 และ AC_3 ที่ได้นำมาเปรียบเทียบเพื่อดูความแรงในการยับยั้งการหดเกร็ง (รูปที่ 18) ซึ่งจะพบว่า AC_2 สามารถยับยั้งการหดเกร็งของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรได้แรงที่สุด ส่วน AC_3 และ AC_1 มีฤทธิ์แรงรองลงมาตามลำดับ และแม้จะเห็นว่า AC_3 มีฤทธิ์แรงกว่า AC_1 (รูปที่ 18) แต่ผลการยับยั้งของสารทั้งสองตัวก็ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

2. เมื่อใช้สารกระตุ้น $CaCl_2$

2.1 ผลของ AC_1 , AC_2 และ AC_3 ที่มีต่อการบีบเกร็งของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรขณะที่เกิดการหดเกร็งสูงสุดเมื่อได้รับ $CaCl_2$ ความเข้มข้น $1 \times 10^{-3} M$



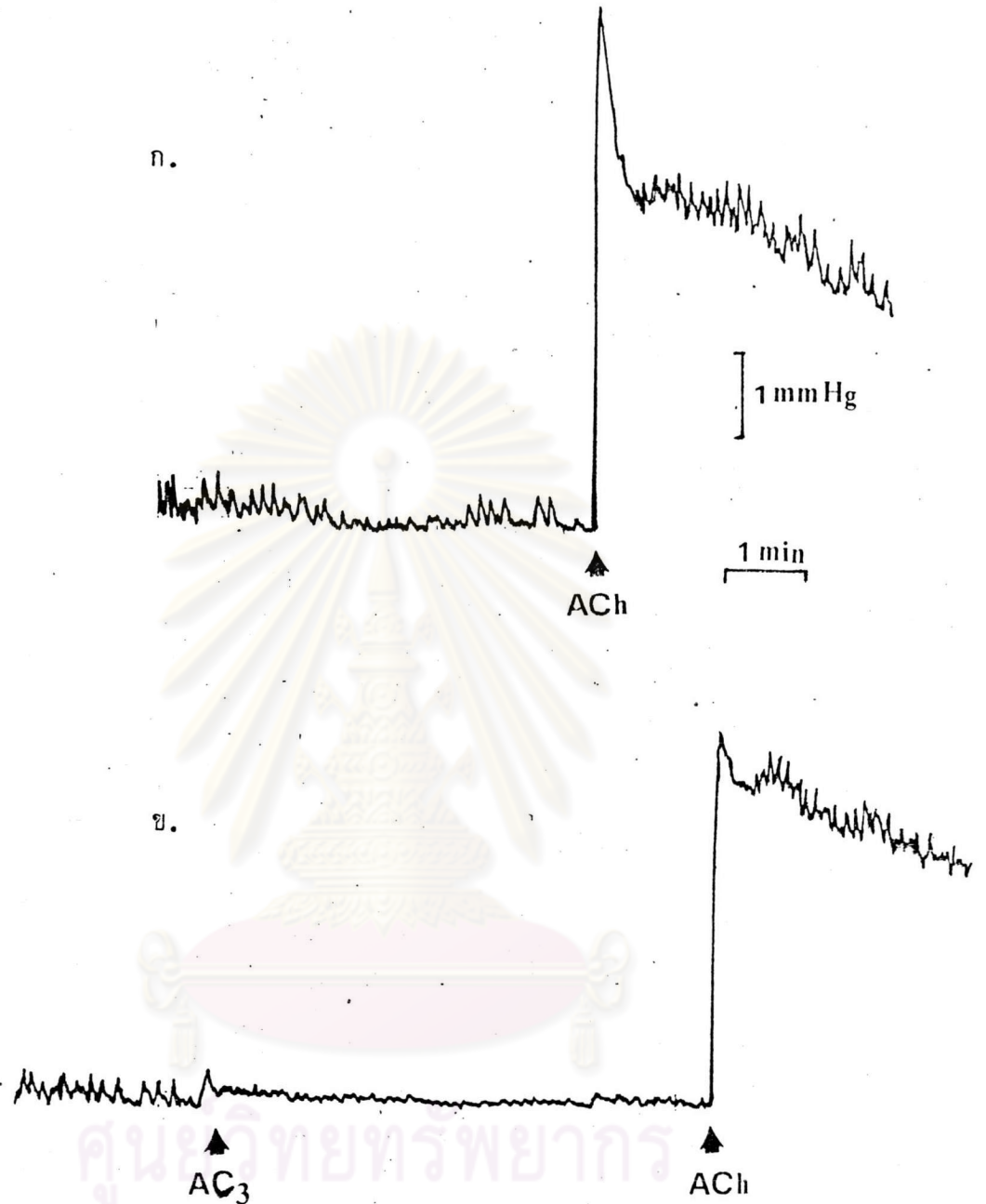
- รูปที่ 15 แสดงผลของ AC_1 ที่มีต่อการหดเกร็งของกล้ามเนื้อกระเพาะอาหาร
หนูถีบจักรทั้งกระเพาะนอกร่างกาย เมื่อใช้อะเซทิลโคลีน (acetylcholine)
 1×10^{-6} ม. เป็นตัวกระตุ้น
- ก. เมื่อให้สารกระตุ้น ACh 1×10^{-6} ม.
- ข. เมื่อให้ AC_1 ความเข้มข้น 1.5×10^{-5} ม. ก่อนให้ ACh 5 นาที
เส้นในแนวแกนอนแสดงเวลาเป็นนาที และเส้นในแนวแกนตั้งแสดง
ความแรงของการหดเกร็งเป็น มม. ปรอท



รูปที่ 16 แสดงผลของ AC₂ ที่มีต่อการหดเกร็งของกล้ามเนื้อกระเพาะอาหาร หนูถีบจักรทั้งกระเพาะนอกร่างกาย เมื่อใช้อะเซทิลโคลีน (acetylcholine) 1×10^{-6} ม. เป็นตัวกระตุ้น

ก. เมื่อให้สารกระตุ้น ACh 1×10^{-6} ม.

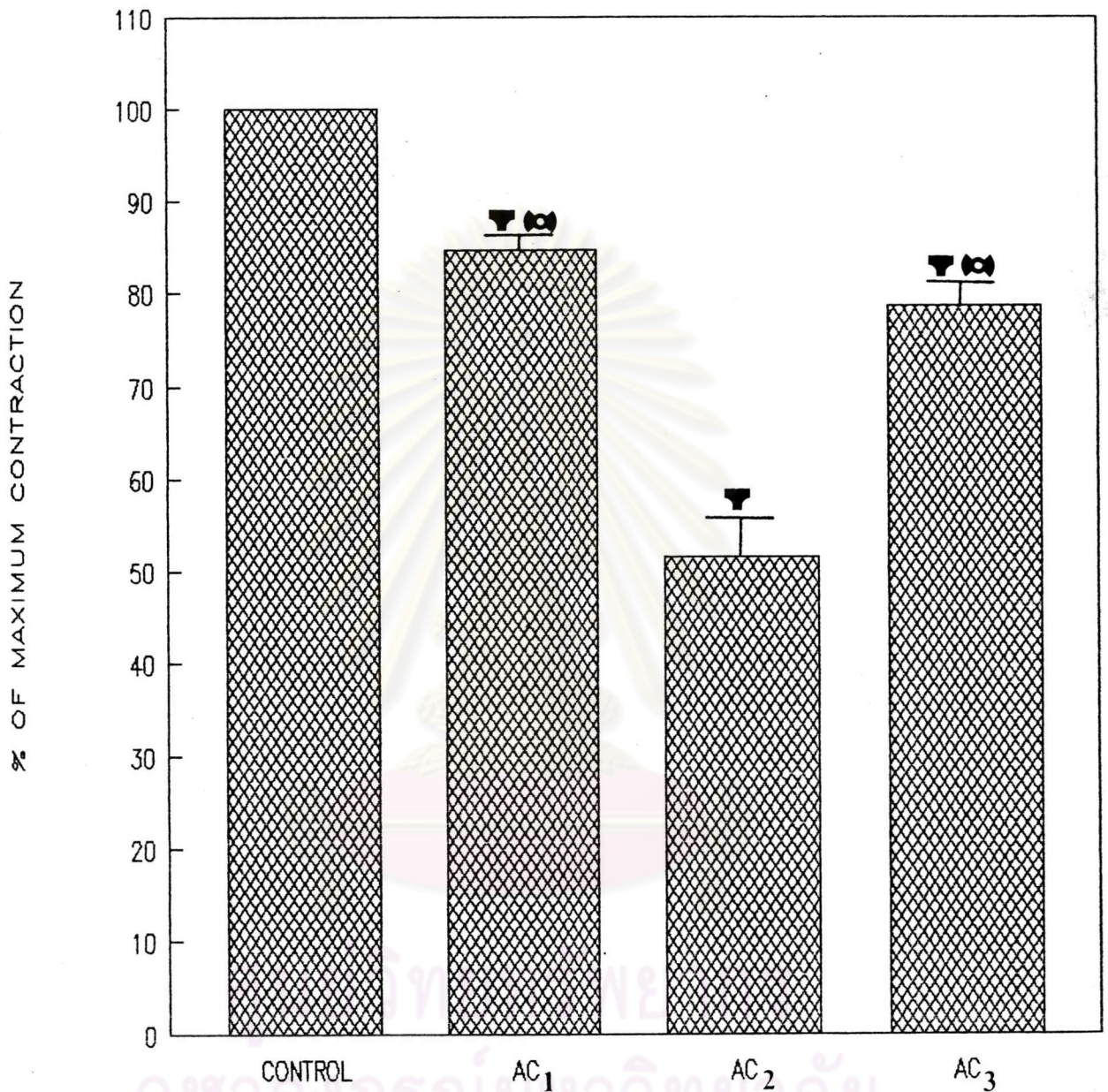
ข. เมื่อให้ AC₂ ความเข้มข้น 1.5×10^{-5} ม. ก่อนให้ ACh 5 นาที เส้นในแนวแกนอนแสดงเวลาเป็นนาที และเส้นในแนวแกนตั้งแสดง ความแรงของการหดเกร็งเป็น มม. ปรอท



รูปที่ 17 แสดงผลของ AC_3 ที่มีต่อการหดเกร็งของกล้ามเนื้อกระเพาะอาหาร หนูถีบจักรทั้งกระเพาะนอกร่างกาย เมื่อใช้อะเซทิลโคลีน (acetylcholine) 1×10^{-6} ม. เป็นตัวกระตุ้น

ก. เมื่อให้สารกระตุ้น ACh 1×10^{-6} ม.

ข. เมื่อให้ AC_3 ความเข้มข้น 1.5×10^{-5} ม. ก่อนให้ ACh 5 นาที เส้นในแนวแกนอนแสดงเวลาเป็นนาที และเส้นในแนวแกนตั้งแสดง ความแรงของการหดเกร็งเป็น มม. ปรอท



รูปที่ 18 แสดงผลเปรียบเทียบ AC₁, AC₂ และ AC₃ ที่มีต่อการหดเกร็งของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรทั้งกระเพาะนอกร่างกายเมื่อใช้อะเซทิลโคลีน (acetylcholine) 1×10^{-6} M. เป็นตัวกระตุ้น ตามการทดลองที่แสดงในรูป 15 - 17 กราฟแสดงค่า $\bar{x} \pm SEM$.

▼ แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

☞ แสดงถึงความแตกต่างจาก AC₂ อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

(1) เมื่อใช้ Tyrode's solution (รูปที่ 19)

Ca^{2+} จะกระตุ้นกล้ามเนื้อกระเพาะอาหารหนูถีบจักรให้เกิดการหดเกร็งขึ้น โดยพบว่าจะเป็นการตอบสนองแบบที่มีทั้ง phasic phase และ tonic phase พร้อมทั้งยังกระตุ้นให้ action potential มีความถี่สูงขึ้นอย่างชัดเจน และขณะที่เกิดการหดเกร็งสูงสุด เมื่อใส่สารทดลอง AC_1 , AC_2 และ AC_3 ขนาดความเข้มข้น 1.5×10^{-5} M ลงไปจะพบว่าแรงหดเกร็งลดลงอย่างเห็นได้ชัดเจน โดยเฉพาะ AC_1 จะเห็นว่าออกฤทธิ์ยับยั้งการหดเกร็งจากสารกระตุ้น Ca^{2+} ได้ดีกว่าสารกระตุ้น ACh (รูปที่ 15)

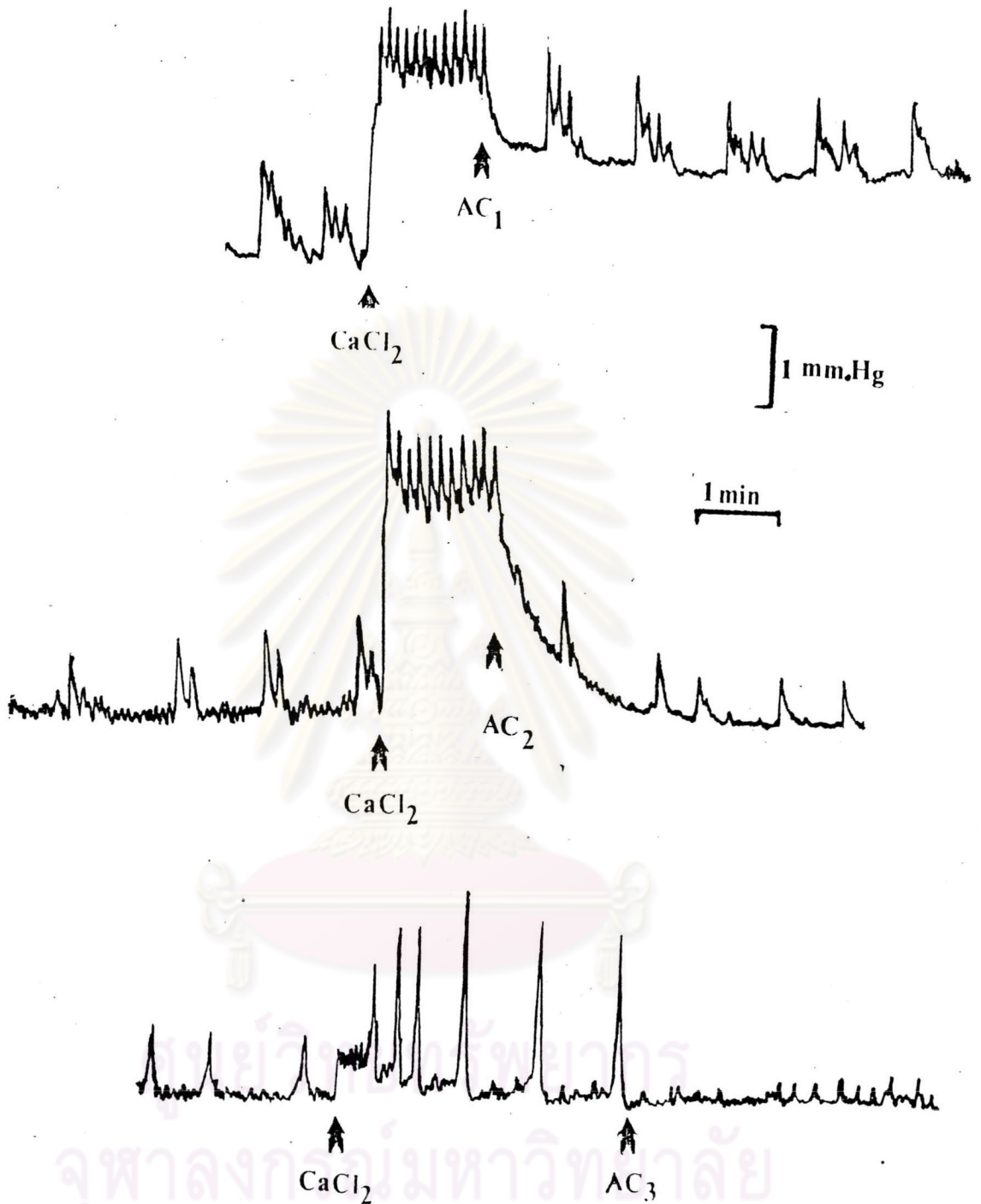
(2) เมื่อใช้ potassium-depolarizing Tyrode's solution (รูปที่ 20)

potassium-depolarizing Tyrode's solution จะไป depolarized กล้ามเนื้อกระเพาะอาหารหนูถีบจักร จึงพบว่า action potential จะหายไป Ca^{2+} จะกระตุ้นให้เกิดการหดเกร็งแบบ phasic และ tonic phase ชัดเจนกว่าใน Tyrode's solution และขณะที่เกิดการหดเกร็งสูงสุดเมื่อให้ AC_1 , AC_2 และ AC_3 ความเข้มข้น 1.5×10^{-5} M จะพบว่าการหดเกร็งลดลงอย่างรวดเร็ว และรักษาระดับคงที่ไว้ ซึ่งใช้ระยะเวลายาวนานมากกว่าจะกลับคืนสู่ระดับปกติ และเป็นที่น่าสังเกตว่าระดับแรงหดเกร็งของกล้ามเนื้อภายหลังจากที่ได้รับสารสกัด ในสภาวะ depolarization (ด้วยการใช้ K^+ ความเข้มข้นสูง) นี้จะมีระดับแรงดึงตัวสูงกว่าสภาวะปกติที่ใช้ Tyrode's solution (รูปที่ 19) ที่เป็นเช่นนี้อาจจะมีผลเกี่ยวข้องกับกลไกในการขับ Ca^{2+} ออกจากเซลล์ (calcium efflux) และ/หรือ calcium transport system ซึ่งควบคุมการสะสม Ca^{2+} เข้าไปใน intracellular organelles ก็ได้

2.2 ผลการศึกษาเปรียบเทียบการหดเกร็งของกล้ามเนื้อกระเพาะอาหาร

หนูถีบจักรเมื่อไม่ได้รับ AC_1 , AC_2 และ AC_3 และเมื่อได้รับ AC_1 , AC_2 และ AC_3 เป็นเวลานาน 5 นาทีก่อนใช้สารกระตุ้น $CaCl_2$ ความเข้มข้น 1×10^{-3} M (รูปที่ 21) ตามลำดับ

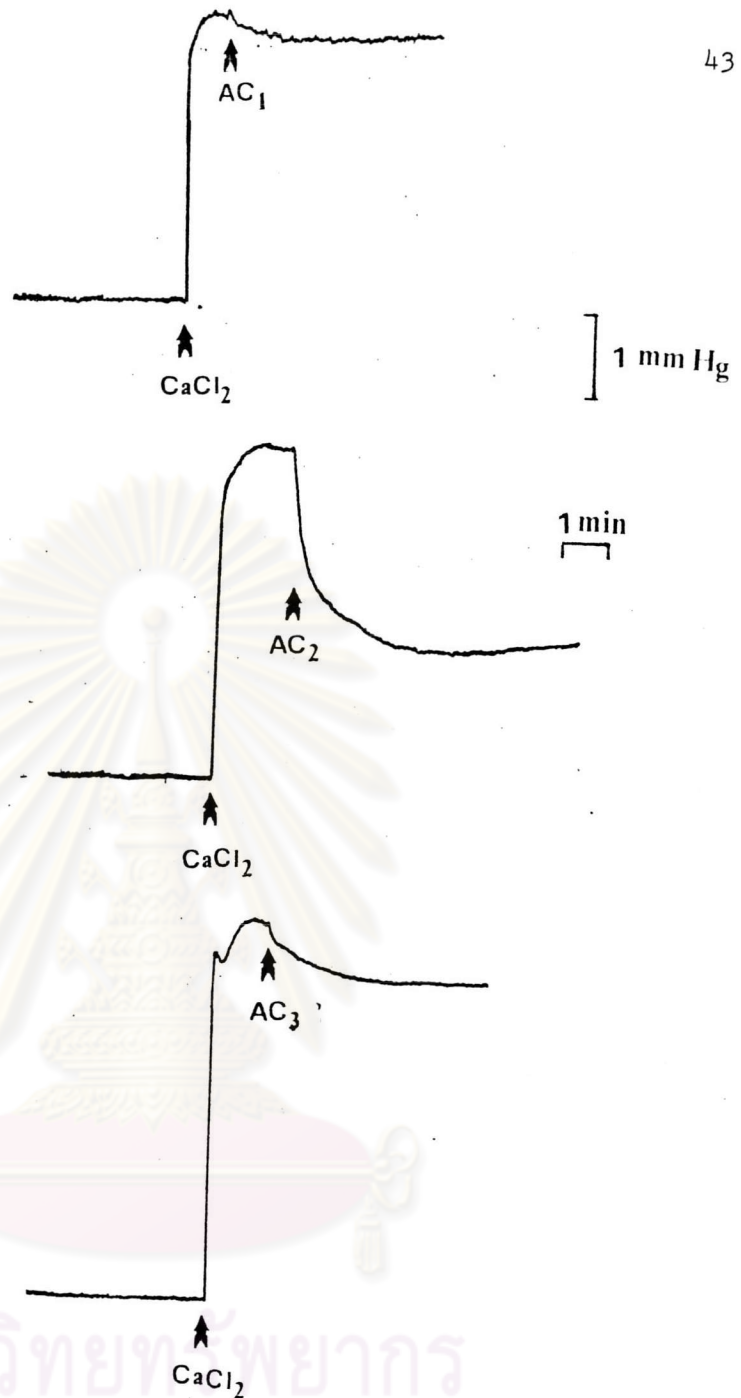
การให้ AC_1 , AC_2 และ AC_3 ไปก่อนให้สารกระตุ้น $CaCl_2$ ความเข้มข้น 1×10^{-3} M เป็นเวลานาน 5 นาที พบว่า AC_1 , AC_2 และ AC_3 ไม่สามารถยับยั้งการหดเกร็งของกล้ามเนื้อได้โดยพบว่าแรงหดเกร็งใน tonic phase จะค่อยๆเพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลาจนสูงกว่ากลุ่มควบคุม ที่เป็นดังนี้อาจเป็นเพราะปริมาณ Ca^{2+} ที่ออกฤทธิ์ไม่ได้เกิดจาก Ca^{2+}



รูปที่ 19

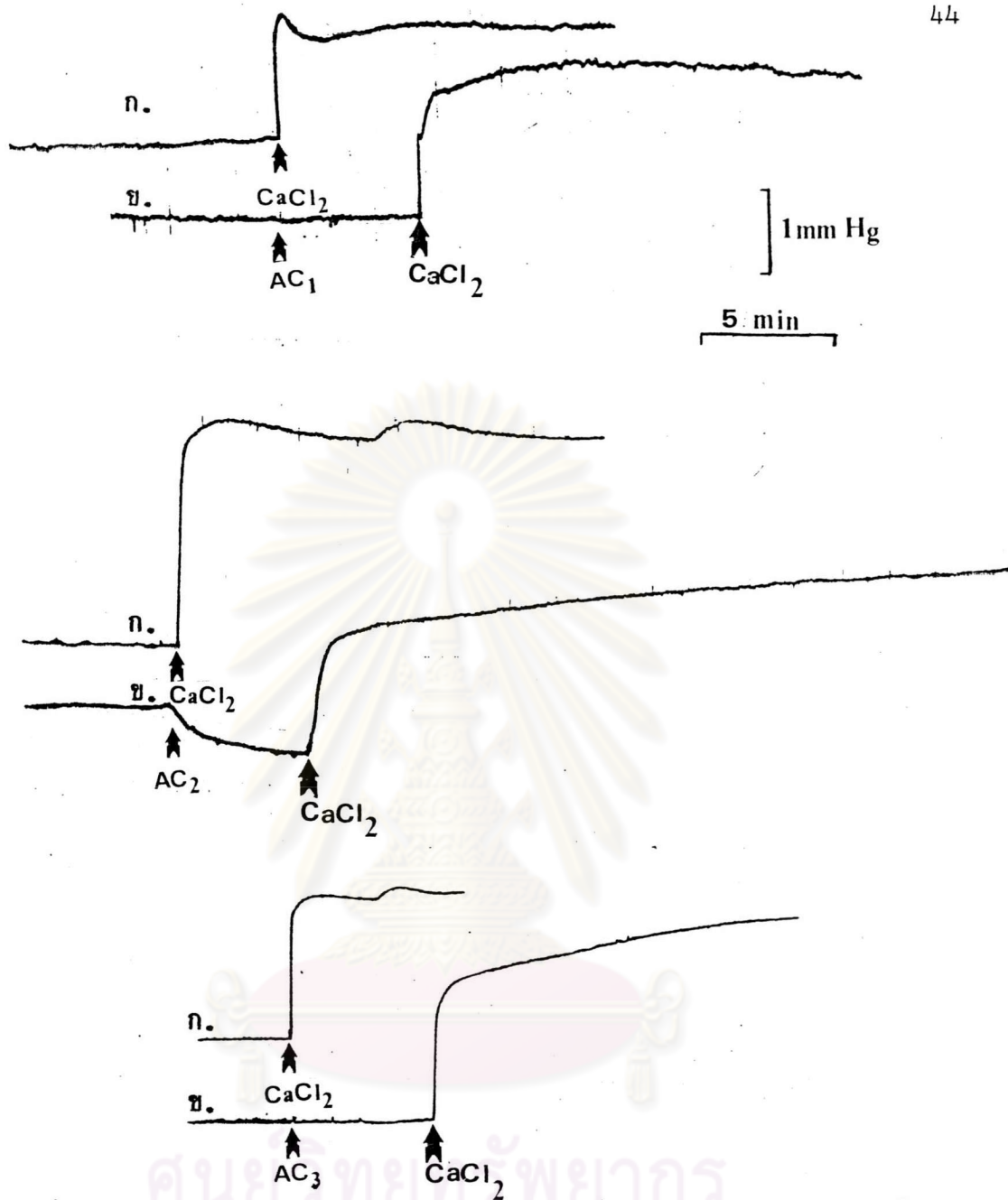
แสดงผลของ AC_1 , AC_2 และ AC_3 ความเข้มข้น 1.5×10^{-5} M. ที่มีต่อการหดเกร็งของกล้ามเนื้อกระเพาะอาหารหนูถีบจักรทั้งกระเพาะนอกร่างกายในขณะเกิดการหดเกร็งสูงสุดเมื่อใช้แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$) 1×10^{-3} M. เป็นตัวกระตุ้น

เส้นในแนวแกนอนแสดงเวลาเป็นนาที และเส้นในแนวแกนตั้งแสดงความแรงของการหดเกร็งเป็น มม. ปรอท



รูปที่ 20 แสดงผลของ AC_1 , AC_2 และ AC_3 ความเข้มข้น 1.5×10^{-5} M. ที่มีต่อการหดเกร็งของกล้ามเนื้อกระเพาะอาหารหนูถีบจักรทั้งกระเพาะนอก ร่างกายใน potassium depolarizing Tyrode's solution เมื่อใช้ แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$) 1×10^{-3} M. เป็นตัวกระตุ้น

เส้นในแนวแกนนอนแสดงเวลาเป็นนาที และเส้นในแนวแกนตั้งแสดง ความแรงของการหดเกร็งเป็น มม. ปรอท



รูปที่ 21 แสดงผลของ AC₁, AC₂, และ AC₃ ที่มีต่อการหดเกร็งของกล้ามเนื้อ
กระเพาะอาหารหนูถีบจักรทั้งกระเพาะนอก ร่างกาย เมื่อใช้แคลเซียมคลอไรด์
(CaCl₂) 1×10^{-3} M. เป็นตัวกระตุ้น

ก. เมื่อให้แคลเซียมคลอไรด์ 1×10^{-3} M.

ข. เมื่อให้ AC₁, AC₂ และ AC₃ ความเข้มข้น 1.5×10^{-5} M.

ก่อนให้แคลเซียมคลอไรด์ 5 นาที

เส้นในแนวแกนอนแสดง เวลาเป็นนาที เส้นในแนวแกนตั้งแสดง
ความแรงของการหดเกร็งเป็น มม.ปรอท

ที่ให้นิกระเปาะแก้วอย่างเดียว แต่อาจจะมี Ca^{2+} จาก Tyrode's solution ภายใน
กระเพาะอาหารค่อย ๆ ดูซึมเข้าสู่เซลล์และออกฤทธิ์ได้ด้วย จึงพบว่าแรงหดเกร็งจะค่อย ๆ
เพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ ดังนั้นจึงไม่ได้ทำการศึกษาคลอสสรุปผลเปรียบเทียบเช่นเดียวกับการ
ทดลองที่ใช้ Ach เป็นสารกระตุ้น (รูปที่ 18)



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย