

ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบและผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรต่อ
แรงดึงตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ที่แยกจากกายหนูขาว

นางสาว ปาณิสรา อัจฉา

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเภสัชวิทยา (สหสาขาวิชา)

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2551

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EFFECTS OF VOLATILE OILS FROM HERBAL COMPRESS AND HERBAL STREAM
PRODUCT ON VASCULAR TONE OF ISOLATED RAT AORTA

Miss Panissara Arj-am

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

(Interdisciplinary Program)

Graduate School

Chulalongkorn University

Academic Year 2008

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์

ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบและผลิตภัณฑ์สำหรับ
อบสมุนไพรต่อแรงดึงตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ที่แยกจากกาย
หนูขาว

โดย

นางสาว ปาณิสรา อัจฉา

สาขาวิชา

เภสัชวิทยา

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุรีย์ เจียรณมงคล

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

รองศาสตราจารย์ ดร.ประสาน ธรรมอุปกกรณ์

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร.พรพจน์ เปี่ยมสมบุญ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. สุพัตตรา ศรีไชยรัตน์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุรีย์ เจียรณมงคล)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(รองศาสตราจารย์ ดร.ประสาน ธรรมอุปกกรณ์)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ จันทน์ อธิพานิชพงศ์)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร. จงกล เทียงดาห์)

ปาณิสรา อัจฉา : ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบและผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรต่อแรงตึงตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ที่แยกจากกายหนูขาว. (EFFECTS OF VOLATILE OILS FROM HERBAL COMPRESS AND HERBAL STEAM PRODUCT ON VASCULAR TONE OF ISOLATED RAT AORTA) อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : ผศ.ดร. สุรีย์ เจียรณมงคล, อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม : รศ.ดร.ประสาน ธรรมอุปกกรณ์, 86 หน้า.

ในการศึกษานี้ได้ศึกษาผลของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบและผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรโดยเปรียบเทียบกับน้ำมันไพลต่อการคลายตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ที่แยกจากกายหนูขาว โดยใช้หนูขาวพันธุ์ Wistar rats เพศผู้ น้ำหนัก 250-400 กรัม นำมาผ่าแยก thoracic aorta และตัดเป็นท่อนขนาด 5-7 มิลลิเมตร แล้วนำไปแขวนใน organ bath ที่บรรจุ Krebs-Henseleit solution ผลของสารทดสอบทั้ง 3 ชนิด พบว่าสามารถทำให้หลอดเลือดทั้งแบบที่มีและไม่มีเซลล์เยื่อหุ้มคลายตัวจากการกระตุ้นให้หดตัวด้วย phenylephrine (PE, 10 μ M) และ potassium chloride (KCl, 40 mM) ได้ โดยที่เซลล์เยื่อหุ้มมีอิทธิพลต่อการคลายตัวของหลอดเลือดที่เกิดจากผลของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบเท่านั้น และเมื่อทำการศึกษาผลโดยตรงต่อกล้ามเนื้อเรียบ พบว่า สารทดสอบทั้ง 3 ชนิด (50 - 200 μ g/ml) สามารถยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดเมื่อกระตุ้นด้วย PE (10 μ M) และ KCl (40 mM) ได้ และที่ความเข้มข้น 200 μ g/ml สามารถยับยั้งการกระตุ้นให้หดตัวด้วยแคลเซียมคลอไรด์แบบสะสมขนาดในสภาวะ high K^+ - Ca^{2+} -free ซึ่งแสดงให้เห็นถึงผลที่มีต่อการเคลื่อนที่เข้าสู่เซลล์ของ Ca^{2+} นอกจากนี้สารทั้ง 3 ชนิด (200 μ g/ml) สามารถยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดจากการกระตุ้นด้วย caffeine (10^{-2} M) ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีเพียงน้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรที่สามารถยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดจากการกระตุ้นด้วย PE (10 μ M) ในสภาวะที่ปราศจาก Ca^{2+} ซึ่งผลดังกล่าวแสดงให้เห็นความแตกต่างของสารทั้ง 3 ชนิดที่มีต่อการหลั่ง Ca^{2+} จากแหล่งเก็บภายในเซลล์ นอกจากนี้การศึกษากลไกการคลายตัวของสารทดสอบทั้ง 3 ชนิดในหลอดเลือดทั้งแบบที่มีและไม่มีเซลล์เยื่อหุ้มโดยใช้ตัวยับยั้งการคลายตัวต่างๆ พบว่า ในหลอดเลือดแบบที่มีเซลล์เยื่อหุ้ม L-NAME (100 μ M) และ methylene blue (10 μ M) สามารถยับยั้งผลการคลายตัวของน้ำมันไพลได้ ส่วน glybenclamide (10 μ M) พบว่าสามารถยับยั้งการคลายตัวจากน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบได้ และ tetraethylammonium (1 mM) สามารถยับยั้งการคลายตัวจากน้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรได้ ส่วนผลการศึกษาในหลอดเลือดแบบที่ไม่มีเซลล์เยื่อหุ้ม พบว่า propranolol (10 μ M) สามารถยับยั้งการคลายตัวจากน้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรได้ ดังนั้นจึงอาจสรุปได้ว่าน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบและผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพร ซึ่งมีส่วนประกอบหลักได้แก่ น้ำมันไพล นั้นมีกลไกในการออกฤทธิ์ให้เกิดการคลายตัวต่างกัน ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการที่มีสมุนไพรเป็นองค์ประกอบแตกต่างกัน โดยน้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรมีฤทธิ์ในการทำให้หลอดเลือดคลายตัวได้ดีที่สุด

สาขาวิชา..เภสัชวิทยา..... ลายมือชื่อ.....
ปีการศึกษา..2551..... ลายมือชื่อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....
ลายมือชื่อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม.....

4889103620 : MAJOR PHARMACOLOGY

KEY WORDS: HERBAL COMPRESS/ HERBAL STREAM/ RAT AORTA/ VASCULAR TONE/ VOLATILE OIL
 PANISSARA ARJ-AM : EFFECTS OF VOLATILE OILS FROM HERBAL COMPRESS AND HERBAL
 STREAM PRODUCT ON VASCULAR TONE OF ISOLATED RAT AORTA. ADVISOR : ASST. PROF.
 SUREE JIANMONGKOL, Ph.D., CO- ADVISOR : ASSOC. PROF. PRASAN DHUMMA-UPAKORN,
 Ph.D., 86 pp.

This study aimed to investigate the vasorelaxation effects of volatile oil from herbal compress and herbal stream product in comparison with plai oil in the *in vitro* method of isolated rat aorta. The thoracic aorta were isolated from male Wistar rats (250-400g), and cut into rings of 5-7 mm in width. The aortic rings were suspended in organ bath containing Krebs-Henseleit solution (KHS) and connected to force transducer. The results showed that all of the tested materials induced relaxation of endothelium-intact and denuded rings pre-contracted with both phenylephrine (PE, 10 μ M) and potassium chloride (KCl, 40 mM). Endothelium had influence on the vasorelaxation effect of volatile oil from herbal compress. All of the tested products (50 - 200 μ g/ml) significantly inhibited the contraction induced by PE (10 μ M), KCl (40 mM) in normal KHS and CaCl_2 in high K^+ - Ca^{2+} free condition. Hence, these tested products interfered with the calcium flux into intracellular space. Furthermore, at 200 μ g/ml these oils also inhibited the caffeine-induced aortic contraction. However, only volatile oil from herbal stream product could inhibit PE-induced contraction in Ca^{2+} - free condition. These data suggested that these tested products partially interfered with Ca^{2+} - release from its internal store. In addition, the mechanisms of vasorelaxation were investigated with the use of several vasorelaxant inhibitors. In endothelium-intact rings, the vasorelaxant effect of plai oil was reduced by L-NAME (100 μ M) and methylene blue (10 μ M), suggesting the role of NO-cGMP pathway. The vasorelaxant effect of volatile oil from herbal compress was reduced by glybenclamide whereas that from herbal stream product was reduced by tetraethylammonium. In endothelium-denuded rings, the vasorelaxant effect of volatile oil from herbal stream product was reduced by propranolol, suggesting the involvement of β -receptor. Taken together, although the main component of volatile oils from herbal compress and herbal stream product was plai oil, these two types of volatile oils demonstrated its different mechanism of vasorelaxation. This might be due to other components in the products. From this study, volatile oil from herbal stream was the most potent vasorelaxant on vascular smooth muscle.

Field of Study : ..Pharmacology.. Student's Signature :.....

Academic Year : 2008..... Advisor's Signature :.....

Co-Advisor's Signature :.....

กิตติกรรมประกาศ

ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.สุรีย์ เจียรณมงคล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และ รศ.ดร.ประสาน ธรรมอุปกรณ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำ ให้ความรู้ ชี้แนะแนวทาง ตลอดจนความช่วยเหลือในทุกๆด้านเพื่อให้วิทยานิพนธ์สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณ รศ. ดร.พ.ต.ท.(หญิง) สมทรง ลาวัณย์ประเสริฐ หัวหน้าภาควิชาเภสัชวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่กรุณาอำนวยความสะดวกในเรื่องการใช้สถานที่ เครื่องมือ และอุปกรณ์ต่างๆในการทำวิจัย

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร. สุพัตรา ศรีชัยรัตน์, รศ. จันทนี อธิพานิชพงศ์ และ รศ.ดร. จงกล เทียงดาห์ ที่กรุณามาเป็นกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่าน ที่ได้ให้ความรู้ตลอดการศึกษาในระดับมหาบัณฑิต ตลอดจนบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่กรุณาให้ทุนอุดหนุนการวิจัยครั้งนี้

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณมารดาของข้าพเจ้าที่ท่านได้ให้การสนับสนุนในด้านการศึกษาและให้กำลังใจทั้งให้สิ่งที่ดีแก่ข้าพเจ้าเสมอมา และขอขอบคุณทุกท่านที่ได้มีส่วนช่วยเหลือในความสำเร็จของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฌ
สารบัญภาพ.....	ญ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ.....	ณ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
แผนงานวิจัย.....	3
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
ฤทธิ์ของสมุนไพรที่เป็นองค์ประกอบของลูกประคบและผลิตภัณฑ์สำหรับอบ	
สมุนไพร	4
กลไกที่ควบคุมการทำงานของกล้ามเนื้อเรียบ.....	7
กลไกที่ควบคุมการไหลเข้าของ Ca^{2+} จากภายนอกเข้าสู่เซลล์.....	9
กลไกที่ควบคุมการหลั่งของ Ca^{2+} จากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์.....	10
การคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด.....	11
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	
สัตว์ทดลอง เครื่องมืออุปกรณ์ สารเคมี.....	13
วิธีการวิจัย.....	15
การวิเคราะห์ข้อมูล.....	23

บทที่ 4 ผลการทดลอง

1. ผลของน้ำมันไพล น้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบและผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรที่มีต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่	24
2. ผลของน้ำมันไพล น้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบและผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรในการยับยั้งการตอบสนองของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ เมื่อถูกกระตุ้นด้วย PE และ KCl ในสารละลายที่มี Ca^{2+}	27
2.1 เมื่อใช้ PE ความเข้มข้น 10 μ M เป็นตัวกระตุ้นการหดตัว	27
2.2 เมื่อใช้ KCl ความเข้มข้น 40 mM เป็นตัวกระตุ้นการหดตัว	28
2.3 เมื่อใช้ $CaCl_2$ ในสภาวะ high K^+ - Ca^{2+} -free	28
3. ผลของน้ำมันไพล น้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบและผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรที่มีต่อการเปลี่ยนแปลง Ca^{2+} ที่ปล่อยออกจากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์ของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ในสารละลายที่ปราศจาก Ca^{2+}	29
3.1 เมื่อใช้ PE ความเข้มข้น 10 μ M เป็นตัวกระตุ้น	29
3.2 เมื่อใช้ caffeine ความเข้มข้น 10 mM เป็นตัวกระตุ้น	29
4. ผลของน้ำมันไพล น้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบและผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรที่มีต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ โดยกลไกที่เกี่ยวข้องกับเซลล์เยื่อหุ้มโดยกลไกที่เกี่ยวข้องและไม่เกี่ยวข้องกับเซลล์เยื่อหุ้ม ...	30
บทที่ 5 อภิปรายและสรุปผลการทดลอง	69
รายการอ้างอิง	73
ภาคผนวก	78
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์	86

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
1. ค่า IC ₅₀ ของสารทดสอบ (10-70 $\mu\text{g/ml}$) ที่มีผลต่อการคลายตัวของหลอดเลือดเมื่อถูกกระตุ้นให้หดตัวด้วย PE (10 μM)	25
2. ค่า IC ₅₀ ของสารทดสอบ (10-70 $\mu\text{g/ml}$) ที่มีผลต่อการคลายตัวของหลอดเลือดเมื่อถูกกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl (40 mM)	26
3. ส่วนประกอบ Physiological solution	79
4. ข้อมูลของสารทดสอบ (50 - 200 $\mu\text{g/ml}$) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว เมื่อกระตุ้นด้วย PE (10 μM) หรือ KCl (40 mM)	80
5. ข้อมูลของสารทดสอบ (200 $\mu\text{g/ml}$) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว เมื่อกระตุ้นด้วย PE (10 μM) หรือ Caffeine (10 mM) ในสารละลาย Ca ²⁺ - free	81
6. ข้อมูลของสารทดสอบ (200 $\mu\text{g/ml}$) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว เมื่อกระตุ้นด้วย ด้วย CaCl ₂ แบบ cumulative dose-response curve ในสารละลาย high K ⁺ - Ca ²⁺ -free	82
7. ข้อมูลของน้ำมันไพลที่ความเข้มข้น 500 $\mu\text{g/ml}$ ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดแดงใหญ่ เมื่อให้ vasodilation inhibitor ในสารละลายที่มี Ca ²⁺	83
8. ข้อมูลของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบที่ความเข้มข้น 500 $\mu\text{g/ml}$ ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดแดงใหญ่ เมื่อให้ vasodilation inhibitor ในสารละลายที่มี Ca ²⁺	84
9. ข้อมูลของน้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรที่ความเข้มข้น 500 $\mu\text{g/ml}$ ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดแดงใหญ่ เมื่อให้ vasodilation inhibitor ในสารละลายที่มี Ca ²⁺	85

สารบัญญภาพ

ภาพประกอบ	หน้า
1. การควบคุมการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ	9
2. ผลของเซลล์เยื่อบุผิวที่มีต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด	12
3. ผลของน้ำมันไพลที่มีต่อการคลายตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ชนิดที่มีเซลล์เยื่อบุผิวโดยหลอดเลือดถูกเหนี่ยวนำให้หดตัวด้วย PE (10 μ M)	33
4. ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบที่มีต่อการคลายตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ชนิดที่มีเซลล์เยื่อบุผิว โดยหลอดเลือดถูกเหนี่ยวนำให้หดตัวด้วย PE (10 μ M)	33
5. ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรที่มีต่อการคลายตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ชนิดที่มีเซลล์เยื่อบุผิว โดยหลอดเลือดถูกเหนี่ยวนำให้หดตัวด้วย PE (10 μ M)	34
6. ผลของ DMSO ที่มีต่อการคลายตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ชนิดที่มีเซลล์เยื่อบุผิว โดยหลอดเลือดถูกเหนี่ยวนำให้หดตัวด้วย PE (10 μ M)	34
7. ผลของน้ำมันไพลที่มีต่อการคลายตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ชนิดที่ไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว โดยหลอดเลือดถูกเหนี่ยวนำให้หดตัวด้วย PE (10 μ M)	35
8. ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบที่มีต่อการคลายตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ชนิดที่ไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว โดยหลอดเลือดถูกเหนี่ยวนำให้หดตัวด้วย PE (10 μ M)	35
9. ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรที่มีต่อการคลายตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ชนิดที่ไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว โดยหลอดเลือดถูกเหนี่ยวนำให้หดตัวด้วย PE (10 μ M)	36
10. ผลของ DMSO ที่มีต่อการคลายตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ชนิดที่ไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว โดยหลอดเลือดถูกเหนี่ยวนำให้หดตัวด้วย PE (10 μ M)	36
11. ผลของน้ำมันไพลที่มีต่อการคลายตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ชนิดที่มีเซลล์เยื่อบุผิว โดยหลอดเลือดถูกเหนี่ยวนำให้หดตัวด้วย KCl (40 mM)	37
12. ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบ ที่มีต่อการคลายตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ชนิดที่มีเซลล์เยื่อบุผิว โดยหลอดเลือดถูกเหนี่ยวนำให้หดตัวด้วย KCl (40 mM)	37

ภาพประกอบ

หน้า

13. ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรที่มีต่อการคลายตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ชนิดที่มีเซลล์เยื่อบุผิว โดยหลอดเลือดถูกเหนี่ยวนำให้หดตัวด้วย KCl (40 mM)	38
14. ผลของ DMSO ที่มีต่อการคลายตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ชนิดที่มีเซลล์เยื่อบุผิว โดยหลอดเลือดถูกเหนี่ยวนำให้หดตัวด้วย KCl (40 mM)	38
15. ผลของน้ำมันไพลที่มีต่อการคลายตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ชนิดที่ไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว โดยหลอดเลือดถูกเหนี่ยวนำให้หดตัวด้วย KCl (40 mM)	39
16. ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบ ที่มีต่อการคลายตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ชนิดที่ไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว โดยหลอดเลือดถูกเหนี่ยวนำให้หดตัวด้วย KCl (40 mM)	39
17. ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรที่มีต่อการคลายตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ชนิดที่ไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว โดยหลอดเลือดถูกเหนี่ยวนำให้หดตัวด้วย KCl (40 mM)	40
18. ผลของ DMSO ที่มีต่อการคลายตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ชนิดที่ไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว โดยหลอดเลือดถูกเหนี่ยวนำให้หดตัวด้วย KCl (40 mM)	40
19. ผลของสารทดสอบ (10 – 70 µg/ml) ที่มีต่อการคลายตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่แบบมีเซลล์เยื่อบุผิว (A) และไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว (B) ที่ถูกกระตุ้นด้วย PE (10 µM)	41
20. ผลของสารทดสอบ (10 – 70 µg/ml) ที่มีต่อการคลายตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่แบบมีเซลล์เยื่อบุผิว (A) และไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว (B) ที่ถูกกระตุ้นด้วย KCl 40mM	42
21. ผลของ DMSO ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย PE (10 µM) ในสารละลายที่มี Ca ²⁺	43
22. ผลของน้ำมันไพล (100 µg/ml) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย PE (10 µM) ในสารละลายที่มี Ca ²⁺	43
23. ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบ (100 µg/ml) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย PE (10 µM) ในสารละลายที่มี Ca ²⁺	44

ภาพประกอบ

หน้า

24. ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพร (100 µg/ml) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย PE (10 µM) ในสารละลายที่มี Ca ²⁺	44
25. ผลของ DMSO ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl (40 mM) ในสารละลายที่มี Ca ²⁺	45
26. ผลของน้ำมันไพล (100 µg/ml) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl (40 mM) ในสารละลายที่มี Ca ²⁺	45
27. ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบ (100 µg/ml) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl (40 mM) ในสารละลายที่มี Ca ²⁺	46
28. ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพร (100 µg/ml) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl (40 mM) ในสารละลายที่มี Ca ²⁺	46
29. ผลของสารทดสอบ (50 - 200 µg/ml) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว เมื่อกระตุ้นด้วย PE (10 µM)	47
30. ผลของสารทดสอบ (50 - 200 µg/ml) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว เมื่อกระตุ้นด้วย KCl (40 mM)	48
31. ผลของสารทดสอบ (200 µg/ml) ที่มีต่อกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิวในสารละลาย high K ⁺ - Ca ²⁺ -free	49
32. ผลของ DMSO ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl ₂ แบบ cumulative dose-response curve ในสารละลาย high K ⁺ - Ca ²⁺ -free	50
33. ผลของน้ำมันไพล (200 µg/ml) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl ₂ แบบ cumulative dose-response curve ในสารละลาย high K ⁺ - Ca ²⁺ -free	51
34. ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบ (200 µg/ml) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl ₂ แบบ cumulative dose-response curve ในสารละลาย high K ⁺ - Ca ²⁺ -free	52

35. ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพร (200 µg/ml) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl ₂ แบบ cumulative dose-response curve ในสารละลาย high K ⁺ - Ca ²⁺ -free	53
36. ผลของน้ำมันไพล, น้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบและผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรความเข้มข้น 200 µg/ml ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl ₂ แบบ cumulative dose-response curve ในสารละลาย high K ⁺ - Ca ²⁺ -free	54
37. ผลของ DMSO ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย PE (10 µM) ในสารละลาย Ca ²⁺ - free	55
38. ผลของน้ำมันไพล (200 µg/ml) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย PE (10 µM) ในสารละลาย Ca ²⁺ - free	55
39. ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบ (200 µg/ml) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย PE (10 µM) ในสารละลาย Ca ²⁺ - free	56
40. ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพร (200 µg/ml) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย PE (10 µM) ในสารละลาย Ca ²⁺ - free	56
41. ผลของ DMSO ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย Caffeine (10 mM) ในสารละลาย Ca ²⁺ - free ..	57
42. ผลของน้ำมันไพล (200 µg/ml) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย Caffeine (10 mM) ในสารละลาย Ca ²⁺ - free	57
43. ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบ (200 µg/ml) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย Caffeine (10 mM) ในสารละลาย Ca ²⁺ - free	58
44. ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพร (200 µg/ml) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย Caffeine (10 mM) ในสารละลาย Ca ²⁺ - free	58

ภาพประกอบ	หน้า
45. ผลของสารทดสอบ (200 µg/ml) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว เมื่อกระตุ้นด้วย PE 10 µM ในสารละลาย Ca ²⁺ - free	59
46. ผลของสารทดสอบ (200 µg/ml) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว เมื่อกระตุ้นด้วย Caffeine (10 mM) ในสารละลาย Ca ²⁺ - free	60
47. ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพร (500 µg/ml) ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ (แบบมีเซลล์เยื่อบุผิว) เมื่อให้ atropine (10 µM)	61
48. ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพร (500 µg/ml) ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ (แบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว) เมื่อให้ atropine (10 µM)	61
49. ผลของน้ำมันไพล (500 µg/ml) ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ (แบบมีเซลล์เยื่อบุผิว) เมื่อให้ L-NAME (100 µM)	62
50. ผลของน้ำมันไพล (500 µg/ml) ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ (แบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว) เมื่อให้ L-NAME (100 µM)	62
51. ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบ (500 µg/ml) ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ (แบบมีเซลล์เยื่อบุผิว) เมื่อให้ L-NAME (100 µM)	63
52. ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบ (500 µg/ml) ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ (แบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว) เมื่อให้ L-NAME (100 µM)	63
53. ผลของน้ำมันไพล (500 µg/ml) ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ (แบบมีเซลล์เยื่อบุผิว) เมื่อให้ methylene blue (10 µM)	64
54. ผลของน้ำมันไพล (500 µg/ml) ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ (แบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว) เมื่อให้ methylene blue (10 µM)	64
55. ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพร (500 µg/ml) ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ (แบบมีเซลล์เยื่อบุผิว) เมื่อให้ propranolol (10 µM)	65

ภาพประกอบ	หน้า
56. ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพร (500 µg/ml) ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ (แบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว) เมื่อให้ propranolol (10 µM)	65
57. ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบ (500 µg/ml) ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ (แบบมีเซลล์เยื่อบุผิว) เมื่อให้ glybenclamide (10 µM)	66
58. ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบ (500 µg/ml) ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ (แบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว) เมื่อให้ glybenclamide (10 µM)	66
59. ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพร (500 µg/ml) ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ (แบบมีเซลล์เยื่อบุผิว) เมื่อให้ TEA (1 mM)	67
60. ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพร (500 µg/ml) ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ (แบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว) เมื่อให้ TEA (1 mM)	67
61. ข้อมูลของสารทดสอบ (500 µg/ml) ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดแดงใหญ่แบบมีเซลล์เยื่อบุผิว และไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว	68

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

AC	adenylate cyclase
ATP	adenosine 5'-triphosphate
BK	large-conductance Ca^{2+} -activated K^+ channel
Ca^{2+}	calcium ion
cAMP	cyclic adenosine 3', 5' monophosphate
CCIR	calcium-induced calcium release
cGMP	cyclic guanosine 3', 5' monophosphate
COX	cyclooxygenase
DG	diacylglycerol
DMSO	dimethyl sulfoxide
EDHF	endothelium-derived hyperpolarizing factor
GC	guanylate cyclase
GTP	guanosine 5'-triphosphate
HC	herbal compress
HS	herbal stream
IICR	IP_3 -induced calcium release
IP_3	inositol 1,4,5-trisphosphate
K^+	potassium ion
K_{ATP} channel	ATP-sensitive K^+ channel
K_{Ca} channel	Ca^{2+} -activated K^+ channel
K_{dr} channel	delayed-rectifier K^+ channel
KCl	potassium chloride
KHS	Krebs-Henseleit solution
L-NAME	N^{G} -nitro-L-arginine methyl ester
M	molar
MB	methylene blue
MLC	myosin light chain
MLCK	myosin light chain kinase

mM	millimolar
Na ⁺	sodium ion
NCX	Na ⁺ /Ca ²⁺ exchanger
NO	nitric oxide
PE	phenylephrine
PGI ₂	prostacyclin
PKC	protein kinase C
PLC	phospholipase C
ROC	receptor-operated Ca ²⁺ channel
SR	sarcoplasmic recticulum
TEA	tetraethylammonium
VOC	voltage-operated Ca ²⁺ channel
α	alpha
β	beta
μ	micro

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

สมุนไพรบำบัด (aromatherapy) คือการใช้น้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากส่วนต่างๆของพืชสมุนไพรมาใช้ในการรักษาโรค (Cooke and Ernst, 2000) ซึ่งมีมาตั้งแต่ 4000 ปีก่อนคริสตกาลในพิธีกรรมทางศาสนา โดยส่วนต่างๆของพืชสมุนไพร เช่น เนื้อไม้ ยางไม้ มาเผาเพื่อทำให้เกิดกลิ่นหอมและรู้สึกผ่อนคลาย และยังมีการนำน้ำมันหอมระเหยมาใช้ในการบำบัดรักษาโรค โดยในอียิปต์ได้มีการบันทึกไว้ว่ามีการนำพืชสมุนไพรที่ให้กลิ่นหอมเพื่อมาทำน้ำมันนวด ยารักษาโรค ผลิตภัณฑ์บำรุงผิว เป็นต้น ในส่วนของประเทศไทยเองก็มีการใช้กลิ่นหอมจากสมุนไพรเป็นยาหอม ยาต้ม อาหาร อบสมุนไพร มานานแล้วเช่นกัน (สิริลักษณ์ มาลานิยม, 2545)

ปัจจุบันการนวดด้วยน้ำมันหอมระเหยเป็นที่สนใจอย่างมาก เช่น การนวดด้วยผลิตภัณฑ์ลูกประคบรวมทั้งผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพร มีการพิจารณานำน้ำมันหอมระเหยมาใช้ในโรงพยาบาลเพื่อช่วยผ่อนคลายผู้ป่วยที่มีความกังวลต่อผลการรักษา (Cooke and Ernst, 2000) เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยจะมีผลต่อระบบของร่างกายเกือบทุกส่วน กลิ่นของน้ำมันหอมระเหยจะกระตุ้นสมองส่วนที่มีผลต่ออารมณ์ การสูดดมน้ำมันหอมระเหยจะช่วยคลายกังวล ช่วยลดอาการประสาทตึงเครียด กระตุ้นร่างกายและจิตใจทำให้รู้สึกสดชื่น (สิริลักษณ์ มาลานิยม, 2545) โดยส่วนประกอบที่สำคัญในผลิตภัณฑ์ลูกประคบและผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรได้แก่ ไพล ซึ่งจากการศึกษาพบว่า น้ำมันไพลมีผลต่อแรงดึงตัวกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด ทั้งนี้ ส่วนหนึ่งอาจเกี่ยวข้องกับการรบกวน การเคลื่อนที่ของแคลเซียม(Ca^{2+}) จากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ หรือมีผลต่อการเคลื่อนที่ Ca^{2+} ภายในเซลล์ นอกจากนี้ น้ำมันไพลอาจไปรบกวนการทำงานของหลอดเลือดผ่านทาง endothelium factors เช่น nitric oxide(NO)/ Cyclic guanosine monophosphate (cGMP) pathway, hyperpolarizing, cyclooxygenase, muscarinic receptors และ β -adrenoceptor (Mesripong, 2006) อย่างไรก็ตามน้ำมันระเหยง่ายลูกประคบและผลิตภัณฑ์อบสมุนไพรซึ่งมีส่วนผสมของสมุนไพรหลายชนิดได้แก่ ไพล, ขมิ้นชัน, ตะไคร้, ใบมะกรูด, ผิวมะกรูด และการบูร เป็นต้น ยังต้องได้รับการศึกษาเพิ่มเติม

ดังนั้นจุดประสงค์การทดลองนี้ เพื่อศึกษาฤทธิ์ของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบและผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรซึ่งมีผลช่วยผ่อนคลายกล้ามเนื้อนั้น จะมีผลต่อความตึงตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่เช่นเดียวกับน้ำมันไพล ซึ่งคาดว่าน้ำมันระเหยง่ายดังกล่าวอาจมีผลให้หลอดเลือดคลายตัว โดยอาจมีผลต่อกลิไกในการขยายของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดโดยตรง หรืออาจมีฤทธิ์ยับยั้งกลไกการหดตัวของหลอดเลือด

สมมติฐานการวิจัย

น้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบและผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรมีผลในการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ที่แยกจากกายหนูขาวทั้งนี้การออกฤทธิ์ของน้ำมันระเหยง่ายดังกล่าวขึ้นอยู่กับการทำงานของเซลล์เยื่อบุผิว (endothelium cells)

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาผลของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบและผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรที่มีต่อการตอบสนองของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ โดยศึกษาผลต่อการตอบสนองต่อตัวกระตุ้นการหดตัวที่กลไกต่างๆ เช่น α -adrenoceptor agonist, potassium chloride (KCl) และ caffeine โดยเปรียบเทียบกับผลของน้ำมันไพล

2. เพื่อศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบและผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพร ในการทำให้หลอดเลือดแดงใหญ่ที่มี endothelium และ ไม่มี endothelium เกิดการคลายตัวโดยเปรียบเทียบกับน้ำมันไพล

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

เพื่อเข้าใจกลไกการออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบและผลิตภัณฑ์อบสมุนไพรที่มีต่อความตึงตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ ซึ่งจะเป็นข้อมูลที่สามารถจะนำไปประยุกต์ใช้หรือพัฒนาทางการแพทย์แผนไทยหรือทางเภสัชวิทยาต่อไป

แผนงานวิจัย (Research plan)

สารทดสอบ : น้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบและผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพร

การทดสอบผลของสารทดสอบที่มีต่อความตึงตัวของหลอดเลือด

dose-dependent effect on vascular tone

ผลของสารทดสอบต่อการหดตัวของหลอดเลือด

ผลในการยับยั้งการหดตัว

ยับยั้งการ เข้าสู่เซลล์ของ Ca^{2+}

- Receptor-operated calcium channel
 - Phenylephrine
- Voltage-operated calcium channel
 - Potassium chloride
 - High K^+ - Ca^{2+} free

ยับยั้งการหลั่ง Ca^{2+} จากแหล่งสะสมภายในเซลล์

- Inositol 1,4,5-triphosphate (IP_3) receptor
 - Phenylephrine
- Ryanodine receptor
 - Caffeine

ผลของสารทดสอบต่อการคลายตัวของหลอดเลือด

หลอดเลือดที่มี และไม่มี endothelium

- NO pathway
 - N^G -nitro-L-arginine methyl ester (NOS inhibitor)
- β_2 receptor
 - Propranolol (β_2 antagonist)
- Hyperpolarisation
 - Glybenclamide
 - Tetraethylammonium
- Muscarinic receptor
 - Atropine (muscarinic antagonist)
- Prostacyclin pathway
 - Indomethacin (cox inhibitor)
- Guanylyl cyclase (GC)
 - Methylene blue (GC inhibitor)

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การประคบด้วยสมุนไพร คือการใช้สมุนไพรหลายอย่าง เช่น ไพล ผิวมะกรูด ตะไคร้ ขมิ้นชัน การบูร เป็นต้น มาห่อรวมกันด้วยผ้าดิบเป็นลูกประคบ หนึ่งให้ร้อนแล้วนำมาประคบ ซึ่งสามารถลดอาการปวดข้อเข้าได้ในด้านการลดการเกร็งหรือความตึงตัวของกล้ามเนื้อ ด้วยยาสมุนไพรซึ่งมีไพลนั้น น้ำมันไพลมีสรรพคุณ ลดการอักเสบ แก้ปวดข้อ ทำให้กล้ามเนื้อคลายตัว แก้เคล็ดขัดยอก ฟกช้ำ ส่วนการบูรช่วยแต่งกลิ่นให้หอม ใช้บรรเทาอาการปวดหลัง ปวดข้อ และข้อบวม โดยทำให้กล้ามเนื้อคลายตัวเมื่ออุณหภูมิบริเวณผิวหนัง กระตุ้นการไหลเวียนโลหิต เป็นต้น (เพ็ญญา ทรัพย์เจริญ และ ภัทราพร ตั้งสุขฤทัย, 2550)

การอบสมุนไพร เป็นการอบความร้อนรูปแบบหนึ่ง ซึ่งคนไทยนิยมใช้กันมานาน เช่น ใช้ในผู้ป่วยหลังคลอด หรือแม้แต่ใช้ในการบำบัดรักษาโรคต่างๆ การอบสมุนไพร โดยประโยชน์ที่ได้เกิดจากไอบุความร้อนและไอบุสมุนไพร (คณิน ไตรพิพิธิสิริวัฒน์, 2548) ทั้งนี้สมุนไพรที่เป็นตัวยาจะช่วยบำรุงผิวพรรณ หรือรักษาโรคบางชนิดขึ้นกับชนิดของสมุนไพรที่มีในผลิตภัณฑ์ เช่นการใช้ในโรคหอบหืดในระยที่มีอาการไม่รุนแรง, โรคภูมิแพ้, เป็นหวัด น้ำมูกไหลแต่ไม่มีอาการแห้งตันของน้ำมูก, อัมพาต ปวดเมื่อยร่างกาย และช่วยมารดาหลังคลอดบุตร ดังนั้นส่วนผสมของสมุนไพรที่ใช้ในการทำผลิตภัณฑ์ลูกประคบและผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรจึงมีความสำคัญในการกำหนดการใช้ประโยชน์ของผลิตภัณฑ์เช่นกัน ซึ่งองค์ประกอบหลักของลูกประคบและผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพร ได้แก่ ไพล ขมิ้นชัน

อย่างไรก็ตามการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของลูกประคบและผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรมีอยู่อย่างจำกัด ส่วนใหญ่จะเป็นข้อมูลเกี่ยวกับสมุนไพรแต่ละชนิดซึ่งเป็นองค์ประกอบของผลิตภัณฑ์ ดังนี้

ไพล มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Zingiber cassumunar* Roxb. ชื่อพ้องคือ *Zingiber purpureum* Roscoe. จัดอยู่ในวงศ์ Zingiberaceae จำพวกเดียวกับขิง ข่า ขมิ้น และมีชื่อท้องถิ่นว่า ปูลอย ปูเลย(ภาคเหนือ) ว่านไฟ(ภาคกลาง) มินะสะล่าง(เงี้ยว-แม่ฮ่องสอน) ไพลเป็นไม้ล้มลุก มีลำต้นใต้ดินเรียกว่าเหง้า มีเนื้อในสีเหลืองอมเขียวและมีกลิ่นหอมเฉพาะ (มานิช วามานนท์ และคณะ, 2537) น้ำมันไพล สกัดได้จากเหง้าของไพล โดยการกลั่นด้วยไอน้ำ มีลักษณะเป็นของเหลวไม่มีสี หรือมีสีเหลืองอ่อน ปราศจากตะกอนและสารแขวนลอย ไม่มีการแยกชั้นของน้ำ มี

กลิ่นเฉพาะตัว องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญคือ α -pinene, sabinene, α -terpinene, γ -perpinene และ terpinene-4-ol มีคุณสมบัติสำคัญ ช่วยแก้อาการฟกช้ำ เคล็ดขัดยอก ข้อเท้าแพลง (สิริลักษณ์ มาลานิยม, 2545)

การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของไหลพบฤทธิ์ด้านการหดเกร็งของกล้ามเนื้อเรียบ ตัวอย่างสารที่พบได้แก่ สาร D มีชื่อทางเคมีว่า [(E)-4-(3',4'-dimethoxyphenyl) but-3-en-1-ol] ที่แยกจากสารสกัดจากไหลด้วยเฮกเซน เมื่อนำมาทดสอบกับกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วนปลายของหนูตะเภา พบว่าสาร D สามารถยับยั้งฤทธิ์ของ histamine, acetylcholine, nicotin และได้อย่างสมบูรณ์ที่ความเข้มข้นที่เหมาะสม และสารดังกล่าวสามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมที่ถูกกระตุ้นด้วย histamine และกล้ามเนื้อกระบังลมที่ถูกกระตุ้นด้วยไฟฟ้าได้ (นียดา เกียรติยิ่งสุลี และคณะ, 2522) นอกจากนี้ สารสกัดจากไหลด้วยน้ำมีผลยับยั้งการบีบตัวของมดลูก ลำไส้และกระเพาะอาหารของหนูขาวได้อย่างสมบูรณ์ในความเข้มข้นที่เหมาะสม แต่ฤทธิ์ดังกล่าวของน้ำสกัดไหลต่อมดลูกและลำไส้สามารถยับยั้งได้โดย syntocinon และ acetylcholine ตามลำดับ เมื่อทดสอบกับกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดแดงจากสายสะดือเด็กทารกไม่พบการออกฤทธิ์ของน้ำสกัดไหลที่ชัดเจน (วัลภา อนันตศานต์ และเล็ก นพดลรัตน์กุล, 2523) การศึกษาเพื่อหากลไกการออกฤทธิ์ของน้ำสกัดไหลในมดลูกและลำไส้ของหนูขาว พบว่าเมื่อให้ยากลุ่ม α และ β -adrenergic blocking agents ไม่สามารถยับยั้งฤทธิ์ของน้ำสกัดไหลได้ แต่ยาหรือสารที่มีผลโดยตรงต่อกล้ามเนื้อเรียบ เช่น calcium chloride, syntocinon และ acetylcholine สามารถยับยั้งผลของสารสกัดได้ แสดงว่า น้ำสกัดไหลอาจจะไม่ได้ออกฤทธิ์ที่ α - หรือ β -adrenergic receptor แต่ออกฤทธิ์โดยตรงกับกล้ามเนื้อเรียบโดยลดระดับหรือยับยั้ง calcium หรืออาจจะลดอัตราการเกิด spontaneous action potential ของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบโดยตรง (วัลภา อนันตศานต์, 2525) นอกจากนี้ไหลยังมีฤทธิ์ในด้านอื่นๆ เช่น ฤทธิ์ลดการอักเสบ พบว่ามีการศึกษาโดยได้ทำการทดสอบสาร phenylbutenoids ในไหลจำนวน 7 ชนิด ต่อการยับยั้งเอนไซม์ในกระบวนการอักเสบ (cyclooxygenase-2) พบว่ามีสาร 4 ชนิดที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ ได้แก่ สาร phenylbutenoid dimer 2 ชนิด มีค่าความเข้มข้นที่ยับยั้งเอนไซม์ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ (IC₅₀) เท่ากับ 2.71 และ 3.64 μ M สาร phenylbutenoid monomer 2 ชนิด มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 14.97 และ 20.68 μ M ตามลำดับ (Han et al., 2005)

ขมิ้นชัน มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า Curcuma มี 2 species คือ *Curcuma longa* Linn และ *Curcuma domestica* Valetton อยู่ในวงศ์ Zingiberaceae เป็นไม้ล้มลุก มีเหง้าใต้ดิน เนื้อในสีเหลือง อมส้ม มีกลิ่นหอม ใบออกเป็นรัศมีติดผิวดิน รูปหอกแกมขอบขนาน ปลูกทั่วไปในเขตร้อน ชอบขึ้นในที่ชื้น พบได้ทุกภาคของประเทศไทย ส่วนใหญ่มีการใช้ราก หรือเหง้า เป็นเครื่องเทศใน

การประกอบอาหาร สีส้มอาหาร หรือสีข้อม นอกจากนี่ยังเป็นสมุนไพรที่ใช้เป็นยากกลางบ้าน รักษาโรคต่าง ๆ ได้หลายชนิดคือ ใช้ทาแก้กลากเกลื้อน แก้พิษงูกัด ใช้เป็นยาแก้ท้องร่วง แก้ท้องอืด ท้องเฟ้อ แก้อักเสบ ฯลฯ จากการศึกษาทางเคมีพบว่าขมิ้นชัน curcuma มีองค์ประกอบที่สำคัญอยู่ 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ essential oil หรือน้ำมันขมิ้น (Turmeric oil) และสาร (ผง) สีเหลือง นอกจากนั้นก็ยังมีย oleoresin และแป้ง(starch) (อัมพวัน อภิสริยะกุล, 2546)

การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของขมิ้นชันพบฤทธิ์ต้านการอักเสบ โดยสารสกัดเมทานอลของขมิ้น มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ cyclooxygenase-II (COX-II) และ nitric oxide synthase (iNOS) (Hong *et al.*, 2002) นอกจากนี้สารออกฤทธิ์สำคัญของขมิ้นชันได้แก่สารในกลุ่ม curcumin เช่น monodemethoxycurcumin และ bisdemethoxycurcumin ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้ง เอนไซม์ cyclooxygenase-I (COX-I) และ cyclooxygenase-II (COX-II) ได้ (Lantz *et al.*, 2005; Ramsewak, Dewitt and Nair, 2000; Venkateshwarlu, 1997) นอกจากนี้ยังพบว่าขมิ้นชันมีฤทธิ์ต้านการเกิดแผลและสมานแผลในกระเพาะอาหาร, ฤทธิ์ต้านการแพ้, ฤทธิ์ลดการบีบตัวของลำไส้, ฤทธิ์ลดอาการแน่นจุกเสียด, ฤทธิ์ขับน้ำดี, ฤทธิ์รักษาอาการท้องเสีย, ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา ยีสต์, ฤทธิ์ต้านปรสิติ, ฤทธิ์ป้องกันตับอักเสบ, ฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์, ฤทธิ์ต้านความเป็นพิษต่อยีน และฤทธิ์สมานแผล อีกด้วย

ตะไคร้ ชื่อทางวิทยาศาสตร์คือ *Cymbopogon citrates* (DC. Ex Nees) Stapf. วงศ์ Graminae ชื่ออื่นๆคือ คาหอม (เงี้ยว-แม่ฮ่องสอน), จะโคร(เหนือ), เชิดเกรย, เหลอะเกรย(เขมร-สุรินทร์), ไคร(ใต้) สรรพคุณทางยา ใช้ทั้งต้นเป็นยารักษาโรคหืด แก้ปวดท้อง ขับปัสสาวะและแก้อหิวาตกโรค หรือทำเป็นยาทานวดก็ได้ และยังใช้รวมกับสมุนไพรชนิดอื่นรักษาโรคได้ เช่น บำรุงธาตุ เจริญอาหาร และขับเหงื่อ (กองกานดา ชยามฤต, 2540) น้ำมันตะไคร้สกัดได้จากส่วนเหนือดินของต้นตะไคร้ โดยการกลั่นด้วยไอน้ำ มีลักษณะเป็นของเหลวใสสีเหลืองอ่อน หรือสีเหลืองปนน้ำตาลอ่อน มีกลิ่นเฉพาะตัว องค์ประกอบสารเคมีที่สำคัญคือ citral มีคุณสมบัติสำคัญคือ ช่วยในการขับลม แก้อักเสบ ลดการตีงเครียดของระบบประสาท ใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารและเครื่องดื่ม ส่วนน้ำมันตะไคร้หอมซึ่งสกัดได้จากใบตะไคร้หอมสดที่ทำให้แห้งหมาดๆ โดยแบ่งเป็น 2 ชนิด คือ น้ำมันตะไคร้หอมชวา และน้ำมันตะไคร้หอมซีลอน องค์ประกอบสารเคมีที่สำคัญคือ geraniol และ citronella มีคุณสมบัติสำคัญคือ ช่วยในการแต่งกลิ่นรสอาหาร เป็นส่วนประกอบเครื่องสำอาง และใช้ไล่แมลง (สิริลักษณ์ มาลานิยม, 2545)

มะกรูด ชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Citrus hystrix* DC. ชื่ออื่น ๆ ส้มกรูด, ส้มมั่วผี (ภาคใต้) มะหูด (หนองคาย) ส้มมะกรูด (ภาคกลาง) มะขูด, มะขุน(ภาคเหนือ) มะขู (กะเหรี่ยง แม่ฮ่องสอน)

โกรัยเซียด(เขมร) วงศ์ Rutaceae ใบสีเขียวแก่พื้นผิวใบเรียบเกลี้ยง เป็นมัน ค่อนข้างหนา มีกลิ่นหอมมากเพราะมีต่อมน้ำมันอยู่ ลักษณะผลมีผิวเปลือกนอกขรุขระ ผลอ่อนมีเป็นสีเขียวแก่ เมื่อผลสุกก็จะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองสด พันธุ์ที่มีผลเล็ก ผิวจะขรุขระน้อยกว่าและไม่มีจุกที่ขั้ว น้ำมันผิวมะกรูดที่สกัดโดยการกลั่นด้วยไอน้ำ มีลักษณะเป็นของเหลวใส สีเหลืองอ่อน หรือสีเหลืองปนน้ำตาลอ่อน มีกลิ่นเฉพาะตัว องค์ประกอบสารเคมีที่สำคัญคือ β -pinene, limonene sabinene และ citronellal มีคุณสมบัติสำคัญคือ ช่วยในการแต่งกลิ่นรสอาหาร ใช้ในการบำบัดแบบสูดคนธบำบัด ช่วยให้คลายกังวล ทำให้สดชื่น ส่วนน้ำมันใบมะกรูด สกัดได้จากใบมะกรูด โดยการกลั่นด้วยไอน้ำ มีลักษณะเช่นเดียวกับน้ำมันที่สกัดได้จากผิว องค์ประกอบสารเคมีที่สำคัญคือ citronellal มีคุณสมบัติสำคัญคือ ช่วยในการแต่งกลิ่นรสอาหาร เป็นส่วนประกอบทางยา และเครื่องสำอาง (สิริลักษณ์ มาลานิยม, 2545)

ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง : กลไกที่ควบคุมการทำงานของกล้ามเนื้อเรียบ

หลอดเลือดมีหน้าที่ในการลำเลียงเลือดไปเลี้ยงเนื้อเยื่อและอวัยวะต่างๆทั่วร่างกาย จึงต้องมีกระบวนการในการควบคุมการไหลหรือการส่งผ่านเลือดในสภาวะที่ร่างกายมีความต้องการแรงดันเลือดหรือการแพร่กระจายของเลือดที่ต่างกันเพื่อปรับความสมดุล การควบคุมนี้เกิดขึ้นที่ผนังของหลอดเลือดซึ่งประกอบจากเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ โดยการหดหรือคลายตัวของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบจะมีผลต่อความสามารถในการไหลของเลือด และมีผลต่อ hemodynamic ของระบบไหลเวียนตลอดจนการทำงานของระบบหัวใจและหลอดเลือดจากการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของแรงต้านทานของหลอดเลือด (total peripheral resistance) (Jackson, 2000; Webb, 2003)

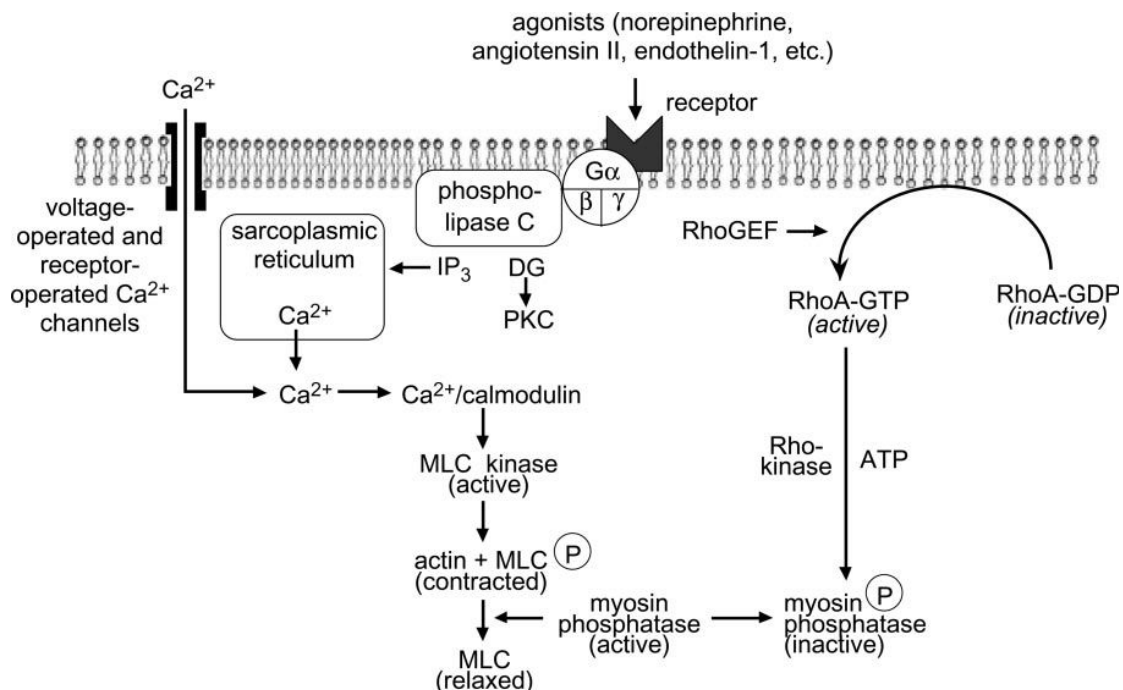
การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด

โดยปกติเซลล์กล้ามเนื้อเรียบในร่างกายจะถูกควบคุมให้หดตัวด้วย ฮอริโมน, หรือสารสื่อประสาทอื่นๆ (Webb, 2003) ซึ่งเมื่อมีการเข้าจับกับตัวรับที่จำเพาะกับการหดตัวจะเกิดการกระตุ้นผ่าน guanosine 5'-triphosphate (GTP) binding protein หลายชนิด ส่วนหนึ่งอาจมีผลต่อ ion channel ต่างๆ หรือมีผลกระตุ้นให้เกิดการเพิ่มขึ้นของ phospholipase C (Karakci, *et al.*, 1997) แล้ว phospholipase C ที่เพิ่มขึ้นนี้จะสร้าง inositol 1,4,5-trisphosphate (IP₃) และ diacylglycerol(DG) จาก membrane lipid phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate ซึ่ง IP₃ ที่สร้างขึ้นนี้จะเข้าจับกับตัวรับที่จำเพาะบน sarcoplasmic reticulum (SR) มีผลทำให้เกิดการหลั่ง Ca²⁺ จากภายใน ส่วน DG จะเกี่ยวข้องกับ Ca²⁺ โดยไปกระตุ้น protein kinase C (PKC) ซึ่ง PKC

นี้จะมีบทบาทที่จำเพาะในแต่ละเนื้อเยื่อ ส่วนใหญ่มีผลทำให้เกิดการหดตัว เช่นทำให้เกิด phosphorylation ของ L-type Ca^{2+} channel หรือโปรตีนอื่นๆที่เป็นตัวควบคุมให้เกิด cross-bridge cycling โดย L-type Ca^{2+} channel (voltage-operated Ca^{2+} channels) ที่อยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์และยังเกิดการเปิดให้ Ca^{2+} ไหลเข้าได้เมื่อเกิด membrane depolarization (Webb, 2003)

Ca^{2+} ที่เพิ่มขึ้นจากทั้งสองทางนี้ ไม่ว่าจะกระตุ้นให้มีการหลั่ง Ca^{2+} จากภายในเซลล์หรือให้ Ca^{2+} ไหลเข้าผ่าน Ca^{2+} channel ต่างมีผลทำให้ระดับ Ca^{2+} ภายในเซลล์สูงขึ้น (Karaki *et al.*, 1997) ซึ่ง Ca^{2+} เป็นสารตั้งต้นให้เกิดการหดตัว โดย Ca^{2+} จะเข้าจับกับ calmodulin แล้วมีผลให้เกิดการกระตุ้น myosin light chain kinase (MLC kinase) ซึ่ง MLC kinase นี้จะทำให้เกิด phosphorylation กับ myosin light chain มีผลทำให้สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับ actin ได้ เกิดการ cross-bridge cycling เซลล์กล้ามเนื้อเรียบมีขนาดสั้นลง ทำให้หดเล็กดหดตัว (Webb, 2003)

นอกจากการเปลี่ยนแปลง ระดับ Ca^{2+} ภายในเซลล์ที่เกิดแค่ชั่วคราวแล้วการหดตัวก็เป็นผลจากการตอบสนองของกล้ามเนื้อเรียบต่อความไวของ Ca^{2+} ที่มีอยู่ นอกจากนี้ กลไกที่เกี่ยวข้องกับการหดตัวอีกประการหนึ่งได้แก่ Rho kinase ซึ่งจะถูกระตุ้นในช่วงเวลาเดียวกับที่ phospholipase C ถูกระตุ้น โดยผ่านการกระตุ้น small GTP-binding protein RhoA โดย RhoA นี้จะมีผลกระตุ้นการทำงานของ Rho kinase ทำให้เกิดการยับยั้งการทำงานของ myosin phosphatase ดังนั้นในขณะที่เกิดการหดตัว myosin light chain จะไม่ถูก dephosphorylate จึงยังสามารถทำปฏิกิริยากับ actin ได้และหดเล็ดยังอยู่ในสภาวะที่มีการหดตัว (Webb, 2003; Ratz *et al.*, 2005)



รูปที่ 1 การควบคุมการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ (Webb, 2003)

จึงเห็นได้ว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดเริ่มเกิดขึ้นจากการเพิ่มขึ้นของระดับ Ca²⁺ ภายในเซลล์ซึ่งได้มาจากสองทางคือกระตุ้นให้มีการหลั่ง Ca²⁺ จากภายในเซลล์หรือให้ Ca²⁺ ไหลเข้าผ่าน Ca²⁺ channel (Karaki *et al.*, 1997) ดังนั้นหากสามารถควบคุมกลไกที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มระดับของ Ca²⁺ ได้ก็จะสามารถควบคุมการหดตัวได้

กลไกควบคุมการไหลเข้าของ Ca²⁺ จากภายนอกเข้าสู่เซลล์

กลไกการควบคุมการไหลเข้าของ Ca²⁺ จากภายนอกเข้าสู่เซลล์โดยผ่านทาง Ca²⁺ channel นั้นมีหลักๆคือ กลไกที่เกี่ยวข้องกับ receptor-operated Ca²⁺ channel (ROC) และ voltage-operated Ca²⁺ channel (VOC) (Karaki *et al.*, 1997; Webb, 2003)

การกระตุ้นการทำงานของ ROC ทำให้ Ca²⁺ จากภายนอกเข้าสู่เซลล์ได้ในกรณีที่มิสามารถกระตุ้นที่ receptor ที่จำเพาะ เช่น phenylephrine (PE) มากระตุ้นที่ α₁-adrenoceptor เกิดการส่งสัญญาณภายใน ตลอดจนมีผลทำให้มีการหลั่ง Ca²⁺ จากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์ ซึ่งจะมีผลทำให้ ROC เปิดออกเกิดการไหลเข้าของ Ca²⁺ มีผลต่อเนื่องและทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในลักษณะ tonic ได้ (Karaki *et al.*, 1997)

VOC มีทั้งหมด 6 ชนิด แต่ในกล้ามเนื้อเรียบมีเพียงชนิดเดียวที่เกี่ยวข้องกับกลไกหลักในการนำ Ca^{2+} จากภายนอกเข้าสู่เซลล์นั่นคือ L-type Ca^{2+} channel ซึ่งถูกควบคุมให้เปิดได้ด้วยความต่างศักย์ไฟฟ้าที่เยื่อหุ้มเซลล์โดยจะถูกกระตุ้นให้เปิดเมื่ออยู่ในสภาวะที่เรียกว่า membrane depolarization ดังนั้นการกระตุ้นจากภาวะ high K^+ หรือ KCl ทำให้เกิด depolarization และมีการเปิดของ L-type Ca^{2+} channel มีการไหลเข้าของ Ca^{2+} ซึ่งจะทำให้ระดับ Ca^{2+} ภายในเซลล์เพิ่มขึ้นและกระตุ้นการทำงานของ calmodulin มีผลให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบดังที่อธิบายไว้แล้วได้ (Karaki *et al.*, 1997; Ledoux *et al.*, 2006)

กลไกควบคุมการหลั่งของ Ca^{2+} จากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์

กลไกควบคุมการหลั่งของ Ca^{2+} จากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์ซึ่งได้แก่ sarcoplasmic reticulum (SR) มีกลไกหลักที่เกี่ยวข้องคือ IP_3 -induced calcium release (IICR) และ Calcium-induced calcium release (CCIR)

IICR เกิดจากการกระตุ้นที่ receptor ที่จำเพาะ ซึ่งได้แก่ inositol 1,4,5-trisphosphate (IP_3) ทั้งนี้ IP_3 ก็เกิดจากการกระตุ้นที่ α_1 -adrenoceptor แล้วจะเข้าจับกับตัวรับที่จำเพาะบน SR มีผลทำให้เกิดการหลั่ง Ca^{2+} จากภายใน (Webb, 2003) ซึ่งสามารถศึกษาในแบบจำลองการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในสภาวะที่กระตุ้นด้วย PE ในสภาวะที่ปราศจาก Ca^{2+} ภายนอกเซลล์โดยจะพบการหดตัวรวดเร็วในลักษณะที่เรียกว่า transient contraction (Karaki *et al.*, 1997)

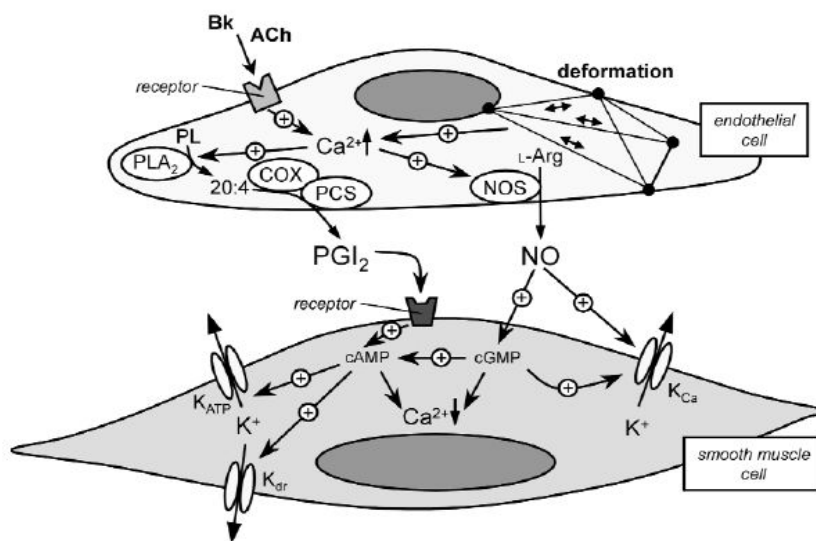
กลไกการกระตุ้นการหลั่ง Ca^{2+} จาก SR อีกกรณีหนึ่งคือ การกระตุ้นผ่าน ryanodine receptor ทั้งนี้การศึกษาในแบบจำลองการหดตัวที่ปราศจาก Ca^{2+} โดยให้สารกระตุ้น เช่น caffeine จะสามารถกระตุ้นที่ ryanodine receptor ได้โดยตรงจะทำให้เกิดการหดตัวในลักษณะที่เป็นแบบ transient contraction และในกรณีของ caffeine นั้น หลังจากการหดตัวดังกล่าวแล้ว หลอดเลือดจะคลายตัวโดยแรงดึงตัวของหลอดเลือดจะลดลงต่ำกว่าแรงดึงตัวขณะพัก ซึ่งเกิดขึ้นจาก ผลของ caffeine ในการเพิ่มของ cyclic adenosine 3',5'-monophosphate (cyclic AMP, cAMP) และยับยั้งการทำงานของ MLC kinase (Karaki *et al.*, 1997; Imaizumi *et al.*, 1999)

การรบกวนกลไกการควบคุมการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด เช่นผลของสารต่อ receptor หรือ signaling pathway ตลอดจน ผลกระทบต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับ Ca^{2+} ภายในเซลล์ จะมีผลต่อการทำงานของกล้ามเนื้อเรียบในส่วนที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมความตึงตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้ (Webb, 2003)

การคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด

เซลล์เยื่อบุผิวมีบทบาทสำคัญในการควบคุมความตึงตัวของหลอดเลือดโดยการหลั่ง autacoid เช่น nitric oxide (NO), prostacyclin (PGI₂) และ endothelium-derived hyperpolarizing factor (EDHF) โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อระดับของ Ca²⁺ ภายในเซลล์เยื่อบุเพิ่มขึ้น จะทำให้เกิดการสังเคราะห์ และหลั่ง NO เพิ่มขึ้น (Hecker, 2000; Ledoux *et al.*, 2006) โดย NO ถูกสังเคราะห์จากปฏิกิริยาเปลี่ยน L-arginine เป็น citrulline และ NO โดยมี NO synthase เป็นเอนไซม์สำคัญจากนั้น NO จะเคลื่อนที่ผ่านจากเซลล์เยื่อบุผิวเข้ากล้ามเนื้อเรียบและเข้าไปจับกับ heme group ซึ่งเป็นส่วนประกอบที่มีอยู่มากของ soluble guanylate cyclase (soluble GC) มีผลกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์นี้ (Ignarro, 1989) soluble GC จะผลกระตุ้นการเปลี่ยน guanosine triphosphate (GTP) ให้เป็น cyclicguanosine monophosphate (cGMP) จึงทำให้ระดับของ cGMP ใน cytosol ของกล้ามเนื้อเรียบเพิ่มขึ้น (Hofmann *et al.*, 2000) ส่วนการสังเคราะห์ prostacyclin (PGI₂) ซึ่งเกิดขึ้นโดยมี arachidonic acid เป็นสารตั้งต้น มี cyclooxygenase เป็นเอนไซม์ที่สำคัญใน pathway ของการสังเคราะห์ ซึ่ง PGI₂ ออกฤทธิ์โดยกระตุ้นเอนไซม์ adenylate cyclase ทำให้มีระดับของ cAMP เพิ่มขึ้น โดยทั้ง cGMP และ cAMP ที่เพิ่มขึ้นจากการออกฤทธิ์ของ NO และ PGI₂ นั้นจะมีผลทำให้กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดเกิดการคลายตัวได้โดยจะมีผลลดความเข้มข้นของ Ca²⁺ ภายในเซลล์ด้วยการยับยั้ง Ca²⁺ ไม่ให้เข้าเซลล์ โดยทำให้เกิดภาวะ hyperpolarization กระตุ้นให้มีการ uptake Ca²⁺ เข้าสู่แหล่งเก็บภายในเซลล์ และเพิ่มการขับ Ca²⁺ ออกจากเซลล์โดยการกระตุ้นที่ sarcolemmal Ca²⁺-pump และ Na⁺/Ca²⁺ exchanger (NCX) (Nishimura, 2006) จากการที่ cGMP และ cAMP ยับยั้ง Ca²⁺ ไม่ให้เข้าเซลล์ โดยทำให้เกิดภาวะ hyperpolarization นั้นทำได้โดยกระตุ้นที่ K⁺ channel มีผลให้ K⁺ ภายในเซลล์ออกไปนอกเซลล์ และไปมีผลยับยั้งการเปิดของ Voltage-operated calcium channels สำหรับ K⁺ channel ที่เกี่ยวข้องกับภาวะ hyperpolarization นี้มีหลายชนิด เช่น Ca²⁺-activated K⁺ channel (K_{Ca} channel), ATP-sensitive K⁺ channel (K_{ATP} channel) และ delayed-rectifier K⁺ channel (K_{dr} channel) โดย NO จะมีผลกระตุ้นที่ K_{Ca} channel ทั้งโดยตรงและโดยอ้อมอันเป็นผลจากการเพิ่มขึ้นของ cGMP ภายในเซลล์ ซึ่งผลโดยอ้อมนี้ยังไปกระตุ้นที่ K_{ATP} channel อีกด้วย ส่วน PGI₂ จะมีผลกระตุ้นที่ K_{ATP} channel และ K_{dr} channel อันเป็นผลโดยอ้อมจากการเพิ่มขึ้นของ cAMP ด้วยเช่นกัน (Hecker, 2000) นอกจากนี้ยังพบว่า การเกิด hyperpolarization เนื่องจากการเพิ่มขึ้นของ Ca²⁺ ที่เซลล์เยื่อบุผิวยังสามารถส่งผ่าน myoendothelial gap junction แล้วไป hyperpolarize ที่เซลล์กล้ามเนื้อเรียบได้ โดยการเกิด hyperpolarization ที่เซลล์เยื่อบุผิวนี้จะเกี่ยวข้องกับ small-conductance SK3 channel และ intermediate-conductance IK

channel ซึ่งเป็น Ca^{2+} -activated K^+ channel ที่มีเฉพาะบนเซลล์เยื่อบุผิวเท่านั้น ส่วน Ca^{2+} -activated K^+ channel ที่อยู่บนเซลล์กล้ามเนื้อเรียบจะเป็นชนิด large-conductance Ca^{2+} -activated K^+ channel (BK) (Ledoux *et al.*, 2006)



รูปที่ 2 ผลของเซลล์เยื่อบุผิวที่มีต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด (Hecker , 2000)

ส่วนการคลายตัวที่ไม่เกี่ยวข้องกับเซลล์เยื่อบุผิวนั้นสามารถเกิดขึ้นได้โดยการกระตุ้นที่ β -adrenoceptor ในกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดจะเพิ่มการ coupling ของ β -adrenoceptor กับ Gs protein ซึ่งจะทำให้เกิดการกระตุ้น adenylyl cyclase และกระตุ้นการสร้าง cAMP มีผลทำให้หลอดเลือดเกิดการคลายตัว โดยส่วนหนึ่ง ซึ่งจะไปยับยั้ง MLCK นอกจากนี้ ยังมีผลลด Ca^{2+} sensitivity เช่นกัน (Baloglu *et al.*, 2007)

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

สัตว์ทดลอง

หนูขาวสายพันธุ์ Wistar rats น้ำหนัก 250-400 กรัม จากสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล ศาลายา จังหวัดนครปฐม และนำมาเลี้ยงต่อที่คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เพื่อทำการปรับสภาพร่างกาย 1-2 สัปดาห์ก่อนทำการทดลอง โดยการศึกษาทั้ง การเลี้ยงดูและการดำเนินการวิจัยเกี่ยวกับสัตว์ทดลองได้ผ่านการรับรองจากคณะกรรมการด้านจริยธรรมของการวิจัยในสัตว์และมนุษย์เรียบร้อยแล้ว

เครื่องมือ

1. Organ bath แบบ double walled Harvard type ประกอบด้วย ผนังแก้ว 2 ชั้น ชั้นในบรรจุสารละลายที่ให้หล่อเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็น สารละลาย Krebs-Henseleit มีความจุ 10 มิลลิลิตร สำหรับแช่เนื้อเยื่อที่แยกจากกายแล้วมาทดลอง และมีช่องให้ก๊าซ carbogen (O_2 95% + CO_2 5%) ผ่านเข้าไปได้ โดยชั้นนอกของ organ bath มีน้ำไหลเวียนที่ส่งมาจาก water bath ซึ่งมีอุณหภูมิที่ 37 ± 0.5 องศาเซลเซียส pH 7.4 ± 0.5 โดยผ่าน thermoregulating water pump เป็นตัวส่งน้ำตามอุณหภูมิที่กำหนดมาหล่อเลี้ยง organ bath ให้มีอุณหภูมิคงที่ตลอดการทดลอง

2. water bath แบบ thermo bath model SCBI พร้อมด้วย thermoregulator water pump model 2E-NY ของบริษัท Little Giant pump

3. เครื่องมือวัดการหดตัวของเนื้อเยื่อแบบ Force transducer รุ่น MLT 050/A (ADInstruments, Australia)

4. เครื่องแปลงและขยายสัญญาณรุ่น PowerLab /4sp พร้อมโปรแกรม PowerLab (Chart V 5.0.2) (ADInstruments, Australia)

5. ก๊าซ carbogen (O_2 95% + CO_2 5%) ของบริษัท Thai Industrial Gas (TIG)

สารเคมี

Acetylcholine (Ach)	: endothelium dependent vasodilator
Atropine	: muscarinic antagonist
Caffeine	: Ca^{2+} release from sarcoplasmic reticulum (SR)

Dimethyl sulfoxide (DMSO)	: solvent
Glibenclamide	: an inhibitor of ATP-sensitive potassium channel
Indomethacin	: an inhibitor of cyclooxygenase
Methylene Blue	: an inhibitor of soluble guanylyl cyclase
N^G -nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME)	: an inhibitor of nitric oxide synthase
Phenylephrine (PE)	: α -adrenoceptor agonist
Potassium chloride (KCl)	: membrane depolarization agent
Propranolol	: β -adrenoceptor antagonist
Tetraethylammonium (TEA)	: an inhibitor of Ca^{2+} -activated potassium channel

สารเคมีจาก Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, U.S.A.)

สารเคมีที่ใช้เตรียมสารละลาย Krebs-Henseleit

Sodium chloride (NaCl)

Potassium chloride (KCl)

Calcium chloride ($CaCl_2$)

Magnesium chloride ($MgCl_2$)

Potassium phosphate (KH_2PO_4)

Sodium bicarbonate ($NaHCO_3$)

Glucose

Magnesium sulfate ($MgSO_4$)

Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA)

สารเคมีจาก Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, U.S.A.) และ APS Chemicals Limited. (Seven Hills, NSW, Australia)

สารทดสอบ

น้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบมีองค์ประกอบของ sabinene 3.35%, β -pinene 2.55%, cymene (ปริมาณน้อยมาก), 1,8-cineol (ปริมาณน้อยมาก), limonene 2.66%, γ -terpinene

1.30%, camphor 2.2%, citronellal 12.18%, Terpinen-4-ol 11.77%, α -terpineol 1.88%, citronellol 3.09%, Citral b 1.2%, Citral a 1.27%, borneol 2.1% และ zingiberene 1.1%

น้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรมีองค์ประกอบของ sabinene 5.90%, β -pinene 6.67%, cymene 1.46%, 1,8-cineol 1.52%, limonene 4.27%, γ -terpinene 1.52%, camphor 15.2%, citronellal 4.98%, Terpinen-4-ol 10.49%, α -terpineol 1.09%, citronellol 1.07%, Citral b 2.57% และ Citral a 3.27%

ส่วนน้ำมันไพโลที่ใช้เป็นสารเปรียบเทียบมีองค์ประกอบของ α -pinen 1.68%, sabinene 39.13%, α -terpinene 2.44%, γ -terpinen 5.67%, terpiene-4-ol 34.12% และ (E)-1-(3,4-dimethoxyphenyl)butadiene (DMPBD) 2.40%

สารทดสอบได้รับความอนุเคราะห์จากฝ่ายเภสัชและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (โดยนำมาละลายใน DMSO 99.5% ให้ DMSO มีความเข้มข้นสุดท้ายน้อยกว่า 0.07% (v/v) ซึ่งเป็นความเข้มข้นของ DMSO ที่ไม่มีผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดของหนูขาว)

วิธีดำเนินการวิจัย

การเตรียมหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว

1. ตมสลบหนูขาวด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ แล้วทำการเคล็ดอนกระดูกคอ (cervical dislocation) จากนั้นเปิดช่องอก ทำการผ่าแยกเอาหลอดเลือดแดงใหญ่ออกจากกายหนูขาวและนำมาแช่ในสารละลาย Krebs-Henseleit ที่หล่อเลี้ยงด้วยก๊าซ carbogen (O_2 95% และ CO_2 5%) ไว้พร้อม เพื่อทำความสะอาดและเนื้อเยื่อเกี่ยวพันออกให้หมดเหลือเพียงหลอดเลือดขาวชून จากนั้นตัดหลอดเลือดแนวขวางออกเป็น 4 ส่วน ขนาดประมาณ 5-7 มิลลิเมตร

2. เมื่อได้กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดตามที่ต้องการแล้ว แขนงขึ้นหลอดเลือดโดยให้ด้านหนึ่งคล้องติดกับลวดของแท่งพลาสติก ที่ไว้ใช้เป็นตัวยึดเมื่อนำไปใส่ใน organ bath ซึ่งใน organ bath จะมีสารละลาย Krebs-Henseleit อยู่ 10 มิลลิลิตร และมีก๊าซ carbogen ผ่านตลอดควบคุมอุณหภูมิที่ 37 ± 0.5 องศาเซลเซียส pH 7.4 ± 0.5 ส่วนอีกด้านของชิ้นหลอดเลือดต่อกับ isometric transducer ซึ่งจะต่อเชื่อมเข้ากับเครื่องบันทึกผลและขยายสัญญาณไฟฟ้า โดยเริ่มให้มีความตึงตัวของกล้ามเนื้อขณะพัก 1 กรัม จากนั้น incubate เนื้อเยื่อประมาณ 60 นาทีจนกระทั่งมีความตึงตัวคงที่ โดยต้องเปลี่ยนสารละลาย Krebs-Henseleit ทุก 15 นาที

หมายเหตุ ในการทำการทดลองส่วนที่เป็นปราศจากเซลล์เยื่อบุผิว (endothelium) นั้น ต้องนำชิ้นหลอดเลือดมาทำการขูดเซลล์เยื่อบุผิวออกให้หมด โดยใช้สำลีพันปลายเข็มบางๆสอดเข้าไปขูดด้านในของหลอดเลือดเบาๆ ซึ่งการทดสอบว่าหลอดเลือดนั้นปราศจากเซลล์เยื่อบุผิวแล้วทำได้โดยใช้การกระตุ้นการหดตัวของหลอดเลือดด้วย phenylephrine (PE) $10\ \mu\text{M}$ แล้วให้ acetylcholine (Ach) $10\ \mu\text{M}$ ซึ่งเป็น endothelium dependent vasodilator หากหลอดเลือดปราศจากเซลล์เยื่อบุผิวแล้วจะไม่ตอบสนองต่อ Ach สำหรับหลอดเลือดที่ยังคงมีเซลล์เยื่อบุผิวอยู่นั้น จะต้องตอบสนองต่อ Ach โดยมีการคลายตัวอย่างน้อย 40-80% ซึ่งก่อนทำการทดลองในแต่ละครั้งต้องมีการทดสอบหาเปอร์เซ็นต์ของเซลล์เยื่อบุผิวทุกครั้ง

วิธีการทดลอง

1. ศึกษาผลของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบและผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรที่มีต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่

ในการศึกษาครั้งนี้ตัวกระตุ้นที่ใช้ได้แก่ PE ความเข้มข้น $10\ \mu\text{M}$ หรือ KCl ความเข้มข้น 40 mM โดย PE เป็น α -adrenoceptor agonist ซึ่งจะเกี่ยวข้องกับการนำ Ca^{2+} เข้าสู่เซลล์โดยผ่านทาง receptor-operated calcium channel (ROC) ส่วน KCl มีผลต่อการเปลี่ยนแปลง membrane potential ทำให้เกิดภาวะ membrane depolarization ซึ่งจะมีผลในการนำ Ca^{2+} เข้าสู่เซลล์โดยผ่านทาง voltage-operated calcium channel (VOC)

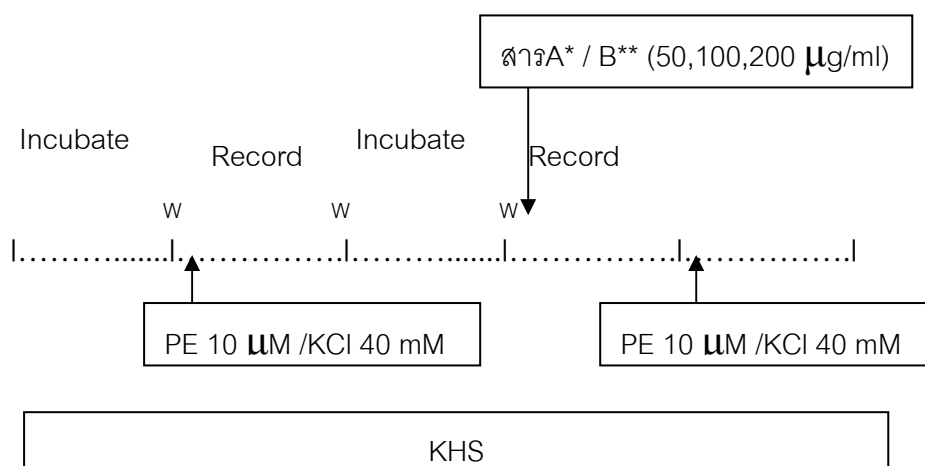
ในขั้นแรกจะทำการทดสอบผลของสารทดสอบที่มีต่อการคลายตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่แบบมีและไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว ที่ถูกกระตุ้นด้วย PE ความเข้มข้น $10\ \mu\text{M}$ หรือ KCl ความเข้มข้น 40 mM

การทดสอบเริ่มจาก เมื่อเตรียมกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดจนมีความตึงคั่งที่ในสารละลาย Krebs-Henseleit และทำการทดสอบแล้วกระตุ้นการหดตัวด้วย PE ความเข้มข้น $10\ \mu\text{M}$ หรือ KCl ความเข้มข้น 40 mM เพื่อบันทึกผลการหดตัวจนถึง plateau state เพื่อดูความพร้อมของหลอดเลือดที่จะทำการทดสอบต่อไป จากนั้นล้างออกด้วยสารละลาย Krebs-Henseleit 3 ครั้ง incubate อีก 60 นาทีจนมีความตึงคั่งที่ ในการทดสอบสารทดสอบนั้น เติมสารทดสอบในความเข้มข้นต่างๆ ($10-70\ \mu\text{g/ml}$) โดยเทียบกับน้ำมันไพลที่ความเข้มข้นเดียวกันเป็น positive control

การทดสอบเริ่มจาก เมื่อเตรียมกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดจนมีความตึงคงที่ในสารละลาย Krebs-Henseleit แล้วกระตุ้นการหดตัวด้วย PE ความเข้มข้น 10 μM หรือ KCl ความเข้มข้น 40 mM เพื่อบันทึกผลการหดตัวจนถึง plateau state จากนั้นล้างออกด้วยสารละลาย Krebs-Henseleit 3 ครั้ง incubate อีก 60 นาทีจนมีความตึงคงที่ ในการทดสอบสารทดสอบนั้น เติมสารทดสอบในความเข้มข้นต่างๆ (50,100 และ 200 $\mu\text{g/ml}$) โดยเทียบกับน้ำมันไพลที่ความเข้มข้นเดียวกัน เป็นเวลา 10 นาที แล้วจึงทำการกระตุ้นการหดตัวด้วยตัวกระตุ้น เพื่อบันทึกผลการหดตัวเปรียบเทียบการหดตัวก่อนและหลังใส่สารทดสอบ (ตามแผนภาพการทดลองที่ 2)

ทั้งนี้ผลของสารทดสอบที่มีต่อการตอบสนองของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดนั้นจะคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ของการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบจากการกระตุ้นด้วยตัวกระตุ้นเมื่อได้รับสารทดสอบเทียบกับการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบจากการกระตุ้นด้วยตัวกระตุ้นก่อนได้รับสารทดสอบ

แผนภาพการทดลองที่ 2



* สาร A คือ น้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบ

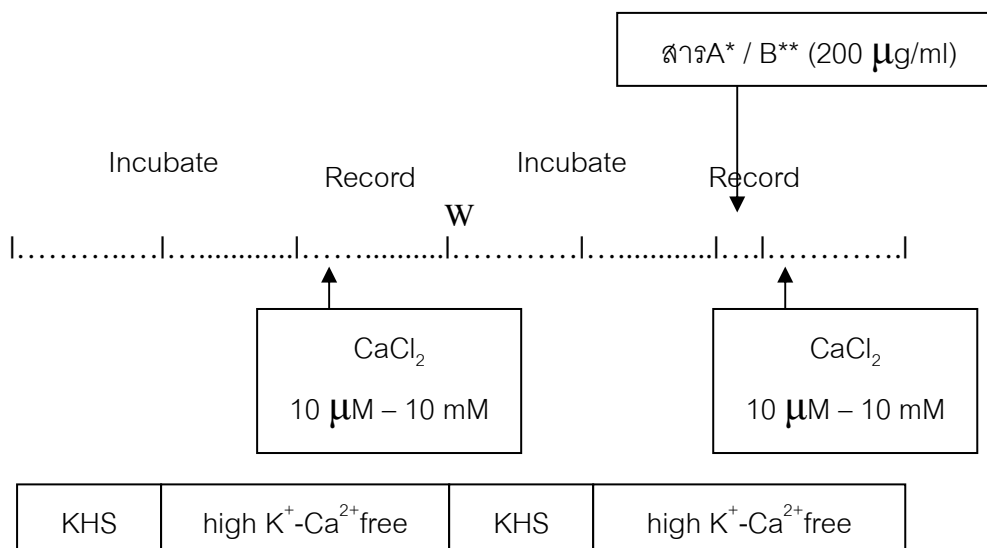
**สาร B คือ น้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพร

นอกจากนี้ จะทำการศึกษาผลของสารทดสอบต่อการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} อีอิสระจากภายนอกเข้าสู่เซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดในสภาวะที่มี K^+ สูง และสารละลายปราศจาก Ca^{2+} (calcium-free depolarization solution หรือ high K^+ -free Ca^{2+} solution) ซึ่งจะเป็นการดูผลของสารทดสอบที่มีต่อการนำ Ca^{2+} เข้าสู่เซลล์โดยผ่านทาง voltage-operated calcium channel (VOC)

การทดสอบเริ่มจาก เมื่อเตรียมกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดจนมีความตึงคงที่ในสารละลาย Krebs-Henseleit แล้วเปลี่ยนเป็นสารละลายที่ปราศจาก Ca^{2+} ที่มี K^+ สูง incubate จนมีความตึงคงที่ จากนั้นกระตุ้นการหดตัวด้วย CaCl_2 แบบสะสมขนาดในช่วงความเข้มข้นระหว่าง $10 \mu\text{M}$ – 10 mM เพื่อกระตุ้นการหดตัวจนเกิดการหดตัวสูงสุดบันทึกผลการหดตัว แล้วล้างออกด้วยสารละลาย Krebs-Henseleit 3 ครั้ง เพื่อทดสอบผลของสารทดสอบ เตรียมกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดให้มีความตึงคงที่ในสารละลาย Krebs-Henseleit แล้วเปลี่ยนเป็นสารละลายที่ปราศจาก Ca^{2+} ที่มี K^+ สูง incubate จนมีความตึงคงที่ เติมสารทดสอบในความเข้มข้น $200 \mu\text{g/ml}$ โดยเทียบกับน้ำมันไพลที่ความเข้มข้นเดียวกัน เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นกระตุ้นการหดตัวด้วย CaCl_2 แบบสะสมขนาด ในช่วงความเข้มข้นระหว่าง $10 \mu\text{M}$ – 10 mM บันทึกผลการหดตัว (ตามแผนภาพการทดลองที่ 3)

ทั้งนี้ผลของสารทดสอบต่อการตอบสนองของกล้ามเนื้อเรียบนั้นจะคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ของการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบเมื่อได้รับ CaCl_2 แบบสะสมขนาด หลังได้รับสารทดสอบในสารละลายที่ปราศจาก Ca^{2+} ที่มี K^+ สูง เทียบกับการหดตัวสูงสุดของกล้ามเนื้อเรียบเมื่อได้รับ CaCl_2 แบบสะสมขนาด ก่อนได้รับสารทดสอบในสารละลายที่ปราศจาก Ca^{2+} ที่มี K^+ สูง

แผนภาพการทดลองที่ 3



* สาร A คือ น้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบ

**สาร B คือ น้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพร

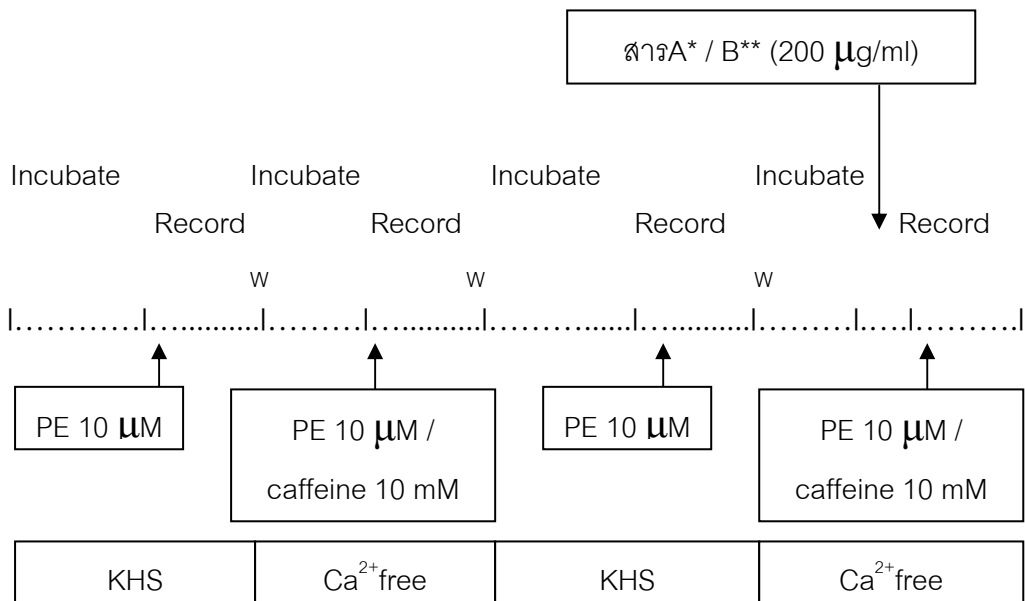
3. ศึกษาผลของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบและจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงการหลั่ง Ca^{2+} ออกจากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์ของกล้ามเนื้อเรียบ

ในการศึกษาครั้งนี้ตัวกระตุ้นที่ใช้ได้แก่ PE ที่ความเข้มข้น 10 μ M หรือ caffeine ที่ความเข้มข้น 10 mM ในสภาวะที่ปราศจาก Ca^{2+} โดย PE เป็น α -adrenoceptor agonist ซึ่งจะเกี่ยวข้องกับการหลั่ง Ca^{2+} ออกจาก sarcoplasmic reticulum ซึ่งอยู่ภายในเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ โดยผ่านทาง IP_3 pathway ส่วนการให้ caffeine เป็นการกระตุ้นให้มีการปลดปล่อย Ca^{2+} ออกจาก sarcoplasmic reticulum ซึ่งอยู่ภายในเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับ ryanodine receptor (Karakı *et al.*, 1997; Imaizumi *et al.*, 1999) ทั้งนี้ในการศึกษาทำในสภาวะที่ปราศจาก Ca^{2+} เพื่อลดปัจจัยรบกวนจากภายนอกเซลล์

การทดสอบเริ่มจาก เมื่อเตรียมกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดจนมีความตึงคงที่ในสารละลาย Krebs-Henseleit ใช้สารกระตุ้นการหดตัวคือ PE 10 μ M บันทึกผลการหดตัวจนถึง plateau state จากนั้นล้างออกด้วยสารละลาย Krebs-Henseleit ที่ปราศจาก Ca^{2+} 3 ครั้ง incubate อีก 15 นาทีในสารละลาย Krebs-Henseleit ที่ปราศจาก Ca^{2+} กระตุ้นการหดตัวด้วย PE 10 μ M หรือ caffeine 10 mM บันทึกผลการหดตัว เพื่อทดสอบผลของสารทดสอบ ทำการทดลองซ้ำข้างต้น เริ่มทำการ incubate อีก 60 นาที ในสารละลาย Krebs-Henseleit เพื่อเตรียมกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดจนมีความตึงคงที่ กระตุ้นการหดตัวด้วย PE 10 μ M บันทึกผลการหดตัวจนถึง plateau state จากนั้นล้างออกด้วยสารละลาย Krebs-Henseleit ที่ปราศจาก Ca^{2+} 3 ครั้ง incubate อีก 15 นาที ในสารละลาย Krebs-Henseleit ที่ปราศจาก Ca^{2+} ครั้งนี้ให้สารทดสอบที่ความเข้มข้น 200 μ g/ml โดยเทียบกับน้ำมันไพลที่ความเข้มข้นเดียวกัน ทิ้งไว้ 10 นาที แล้วจึงทำการกระตุ้นการหดตัวอีกครั้งด้วยตัวกระตุ้น บันทึกผลการหดตัว เปรียบเทียบการหดตัวก่อนและหลังใส่สารทดสอบ (ตามแผนภาพการทดลองที่ 4)

ทั้งนี้ผลของสารทดสอบที่มีต่อการตอบสนองของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดนั้นจะคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ของการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบจากการกระตุ้นด้วยตัวกระตุ้นเมื่อได้รับสารทดสอบเทียบกับการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบจากการกระตุ้นด้วยตัวกระตุ้นก่อนได้รับสารทดสอบ

แผนภาพการทดลองที่ 4



* สาร A คือ น้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบ

**สาร B คือ น้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพร

4. ศึกษาผลของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบและผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรที่มีต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ โดยกลไกที่เกี่ยวข้องและไม่เกี่ยวข้องกับเซลล์เยื่อบุผิว

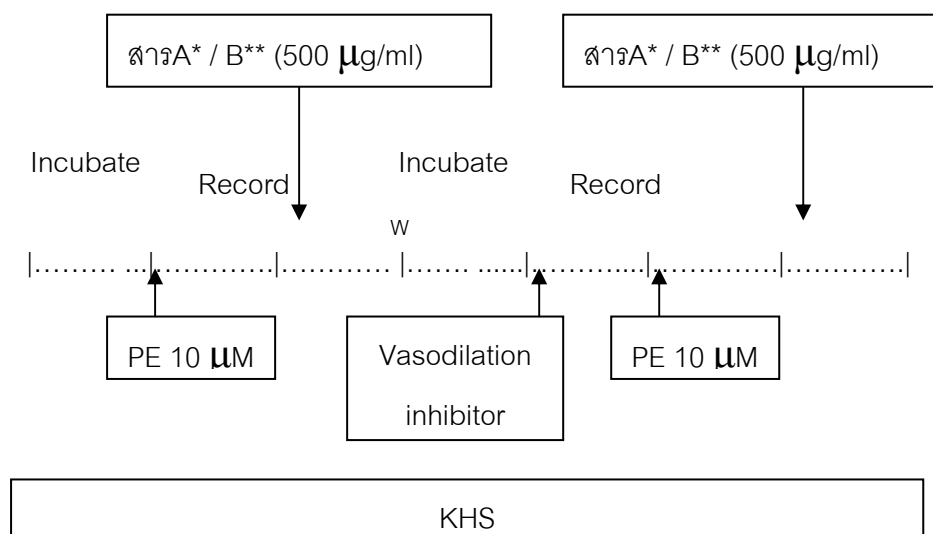
การศึกษาค้นคว้าของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบและผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรต่อการคลายตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ เริ่มจาก เมื่อกล้ามเนื้อที่เตรียมไว้ในสารละลาย Krebs-Henseleit มีความตึงคงที่ โดยแบ่งเป็นกลุ่มที่มีเซลล์เยื่อบุผิวและไม่มีเซลล์เยื่อบุผิวไว้แล้วเพื่อเปรียบเทียบผลที่มีต่อการคลายตัว เริ่มทดลองโดย กระตุ้นให้เกิดการหดตัวด้วย PE 10 µM เมื่อกล้ามเนื้อหดตัวจนถึง plateau state จึงเติมสารทดสอบ คือ น้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบและผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรที่มีความเข้มข้น 500 µg/ml บันทึกผลการคลายตัว

ในการศึกษากลไกของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบและผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรต่อการคลายตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่นั้น ทำการทดลองซ้ำข้างต้น โดย incubate กล้ามเนื้อ

เรียบหลอดเลือดกับสารยับยั้งการคลายตัวของกล้ามเนื้อการออกฤทธิ์ที่จำเพาะต่างๆ ได้แก่ atropine (10 μM), glybenclamide (10 μM), indomethacin (10 μM), L-NAME (100 μM), methylene blue (10 μM), propranolol (10 μM) หรือ TEA (1 mM) เป็นเวลา 15-20 นาที ก่อนที่จะกระตุ้นให้กล้ามเนื้อหดตัวด้วย PE ความเข้มข้น 10 μM จนถึง plateau state จึงเติมสารทดสอบ คือ น้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบและผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรที่ความเข้มข้น 500 $\mu\text{g/ml}$ บันทึกผลการคลายตัวของกล้ามเนื้อเปรียบเทียบทำการทดลองทุกขั้นตอนเหมือนกัน แต่ใช้สารทดสอบคือ น้ำมันไพลที่ความเข้มข้น 500 $\mu\text{g/ml}$ เท่ากัน (ตามแผนภาพการทดลองที่ 5)

ทั้งนี้ ผลของสารทดสอบต่อการตอบสนองของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดนั้นจะคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ของการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบเมื่อได้รับสารทดสอบโดยการคลายตัวที่ได้นี้จะคิดเป็น 100% เมื่อเทียบกับการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบเมื่อได้รับสารทดสอบหลังจากที่มีการให้สารยับยั้งกลไกที่จำเพาะต่างๆต่อการคลายตัวซึ่งเป็นกลไกที่เกี่ยวข้องกับการมีและไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว

แผนภาพการทดลองที่ 5



* สาร A คือ น้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบ

**สาร B คือ น้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพร

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ผลการทดลองรายงานเป็นค่าเฉลี่ย (mean) \pm ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานจากค่าเฉลี่ย (standard error of the mean) ของเปอร์เซ็นต์การตอบสนองของกล้ามเนื้อเรียบเมื่อได้รับสารทดสอบเทียบกับก่อนได้รับสารทดสอบ ตามที่ระบุไว้ในวิธีการทดลอง โดยมีค่า $n=4-6$

การวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มของสารทดสอบและกลุ่มควบคุมใช้ one-way analysis of variance (ANOVA) ตามด้วย post hoc test ชนิด Dunnett's โดยพิจารณาความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p<0.05$)

การคำนวณ pD_2' ใช้วิธีของ Van Rossum และคณะ (Van Rossum, *et al.*, 1963)

$$pD_2' = -\log [B] + \log([E_{AM}]/[E_{AMB}]-1)$$

เมื่อ $[B]$ คือ ขนาดความเข้มข้นของ non competitive antagonist ในหน่วยโมลาร์

$[E_{AM}]$ และ $[E_{AMB}]$ คือ ค่าการหดตัวสูงสุด (maximum contraction) ที่เกิดจากตัวกระตุ้นเมื่อไม่มีและมีสารยับยั้งอยู่ด้วย ตามลำดับ

บทที่ 4

ผลการทดลอง

1. ผลของน้ำมันไพล น้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบและผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรที่มีต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่

ในการทดสอบฤทธิ์ในการทำให้หลอดเลือดคลายตัวนั้น ได้ทำการศึกษาทั้งในหลอดเลือดแบบที่มีเซลล์เยื่อบุผิวและไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว โดยค่าเฉลี่ยแรงตึงในการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแบบมีและไม่มีเซลล์เยื่อบุผิวเมื่อได้รับ PE 10 μM คือ 1.537 ± 0.103 g (n = 22) และ 1.135 ± 0.133 g (n = 22) ตามลำดับ และค่าเฉลี่ยแรงตึงของการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแบบมีและไม่มีเซลล์เยื่อบุผิวเมื่อได้รับ KCl 40 mM คือ 1.287 ± 0.088 g (n = 18) และ 1.096 ± 0.123 g (n = 16) ตามลำดับ ทั้งนี้ ในการศึกษานี้มีกลุ่มควบคุมได้แก่กลุ่ม DMSO 0.07% (v/v) ซึ่งเป็นตัวทำละลายน้ำมันไพล น้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบและผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพร

จากการศึกษาพบว่า เมื่อใช้ PE เป็นตัวกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแล้วให้สารทดสอบทั้ง 3 ชนิด มีผลทำให้หลอดเลือดทั้งในสภาวะที่มีเซลล์เยื่อบุผิวและไม่มีเซลล์เยื่อบุผิวคลายตัวได้ ดังตัวอย่างแสดงในรูปที่ 3-18 อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณารูปที่ 19 แล้วจะเห็นได้ว่าความแรงในการตอบสนองของหลอดเลือดที่มีและไม่มีเซลล์เยื่อบุผิวต่อสารทดสอบทั้ง 3 ชนิด แตกต่างกัน ซึ่งแสดงถึงอิทธิพลของเซลล์เยื่อบุผิวอาจจะมีต่อการคลายตัวของสารทั้ง 3 ชนิด โดยในหลอดเลือดแบบที่มีเซลล์เยื่อบุผิว (รูปที่ 19A) พบว่า น้ำมันไพลและน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบที่ให้แบบสะสมขนาดในช่วงความเข้มข้นที่ใช้ในการศึกษานี้มีความแรงในการทำให้กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดที่มีเซลล์เยื่อบุผิวคลายตัวไม่แตกต่างกัน ในขณะที่น้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรมีความแรงสูงสุดในการทำให้กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดคลายตัว

ในกรณีการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิวเมื่อได้รับสารทดสอบทั้ง 3 ชนิดนั้น พบว่า ความแรงในการทำให้กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดคลายตัวของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบและน้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรไม่แตกต่างกัน โดยที่สารทั้ง 2 ชนิดทำให้กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดคลายตัวได้ดีกว่าน้ำมันไพลและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังแสดงในรูปที่ 19B)

ทั้งนี้ จากความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและผลในการคลายตัวได้คำนวณ IC_{50} เพื่อเปรียบเทียบความแรงของสารทดสอบทั้ง 3 ชนิดดังแสดงในตารางที่ 1 ซึ่งเมื่อพิจารณาอัตราส่วน IC_{50} ระหว่างกล้ามเนื้อเรียบที่มีและไม่มีเซลล์เยื่อบุผิวแล้วจะเห็นว่า เซลล์เยื่อบุผิวจะมีอิทธิพลอย่างเด่นชัดต่อฤทธิ์การคลายตัวของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบ โดยการมีอยู่ของเซลล์เยื่อบุผิวทำให้ฤทธิ์ของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบออกฤทธิ์ได้ลดลง ในกรณีที่ใช้ PE เป็นตัวกระตุ้นให้หดตัว

ตารางที่ 1 ค่า IC_{50} ของน้ำมันไพล น้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบและผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรที่มีผลต่อการคลายตัวของหลอดเลือดเมื่อถูกกระตุ้นให้หดตัวด้วย PE 10 μM โดยให้สารทดสอบแบบสะสมขนาดในช่วงความเข้มข้น 10-70 $\mu g/ml$

สารทดสอบ	IC_{50} ($\mu g/ml$)		IC 50 Ratio (Intact/ denuded)
	Endothelium intact	Endothelium denuded	
น้ำมันไพล(10-70 $\mu g/ml$)	56.0 \pm 2.03	60.5 \pm 2.95	0.926
น้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบ (10-70 $\mu g/ml$)	57.1 \pm 3.55	49.4 \pm 2.02*	1.156
น้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์ สำหรับอบสมุนไพร (10-70 $\mu g/ml$)	44.1 \pm 4.38	50.5 \pm 1.59*	0.873

ตารางแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (n=4-6)

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มน้ำมันไพล ($p < 0.05$)

ตารางที่ 2 แสดงค่า IC₅₀ ของน้ำมันไพล น้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบและผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรที่มีผลต่อการคลายตัวของหลอดเลือดเมื่อถูกกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl 40 mM โดยให้สารทดสอบแบบสะสมขนาดในช่วงความเข้มข้น 10-70 µg/ml

สารทดสอบ	IC 50 (µg/ml)		IC 50 Ratio (Intact/ denuded)
	Endothelium intact	Endothelium denuded	
น้ำมันไพล(10-70 µg/ml)	44.4 ± 0.77	42.6 ± 2.81	1.042
น้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบ (10-70 µg/ml)	37.1 ± 3.19	46.3 ± 1.05	0.801 [@]
น้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์ สำหรับอบสมุนไพร (10-70 µg/ml)	28.6 ± 1.75*	29.4 ± 1.92*	0.973

ตารางแสดงค่าเฉลี่ย ± ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (n=4-6)

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มน้ำมันไพล (p<0.05)

@ แสดงถึงความแตกต่างระหว่างกลุ่มที่มีและไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว (p<0.05)

อย่างไรก็ตามเมื่อทำการเปลี่ยนสารกระตุ้นการหดตัวจาก PE เป็น KCl แล้วทำการทดสอบฤทธิ์คลายตัวของสารทดสอบทั้ง 3 ชนิด ดังตัวอย่างปรากฏตามรูปที่ 11-18 พบว่าน้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรมีความแรงสูงสุดในการทำให้หลอดเลือดทั้งชนิดที่มีเซลล์เยื่อบุผิวและไม่มีเซลล์เยื่อบุผิวคลายตัว โดยในกรณีของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดที่มีเซลล์เยื่อบุผิวนั้น ลำดับความแรงในการคลายตัวของสารทดสอบจากสูงสุดไปต่ำสุด คือ น้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพร > น้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบ > น้ำมันไพลตามลำดับ ดังแสดงในกราฟรูปที่ 20A)

ในกรณีของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดที่ไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว พบว่า ลำดับความแรงได้แก่น้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพร > น้ำมันไพล > น้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบตามลำดับ ดังแสดงในกราฟรูปที่ 20B) ทั้งนี้ค่า IC₅₀ ของสารทั้ง 3 ชนิดต่อการคลายตัวของหลอดเลือดได้ถูกแสดงในตารางที่ 2 โดยพบว่าเซลล์เยื่อบุผิวมีผลต่อการตอบสนองของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดต่อการออกฤทธิ์ของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบ โดยการมีอยู่ของเซลล์เยื่อบุผิวทำให้ฤทธิ์ของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบออกฤทธิ์ได้มากขึ้น

โดยสรุปเมื่อเปรียบเทียบผลของสารทั้ง 3 ชนิด ในสภาวะที่ใช้ตัวกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่แตกต่างกันแล้วพบความแตกต่างในการออกฤทธิ์ของสารแต่ละชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งสำหรับกรณีของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบแม้ว่าจะทำให้กล้ามเนื้อเรียบหดเลือดเกิดการคลายตัวได้เช่นเดียวกับน้ำมันไพล แต่เมื่อใช้ตัวกระตุ้นให้เกิดการหดตัวต่างกัน คือ PE หรือ KCl และใช้กล้ามเนื้อเรียบหดเลือดแบบมีเซลล์เยื่อบุผิวและไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว พบว่ามีลักษณะการคลายตัวที่ต่างกันอย่างเห็นได้ชัด และน้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรมีฤทธิ์ในการทำให้หลอดเลือดคลายตัวได้ดีที่สุด

2. ผลของน้ำมันไพล น้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบและจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรที่มีต่อการตอบสนองของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ เมื่อใช้ตัวกระตุ้นให้เกิดการหดตัวโดยผ่านกลไกที่เกี่ยวข้องกับการนำ Ca^{2+} เข้าสู่เซลล์

การศึกษานี้เป็นการศึกษาผลโดยตรงของสารทดสอบที่มีต่อการนำ Ca^{2+} เข้าสู่เซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด ดังนั้นจึงทำการศึกษากการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดที่ไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว ที่ตอบสนองต่อการกระตุ้นด้วย PE และ KCl ซึ่งตัวกระตุ้นทั้ง 2 ชนิดจะทำให้เกิดแรงหดตัวเฉลี่ยที่ 0.819 ± 0.021 g ($n = 51$) และ 0.774 ± 0.008 g ($n = 41$) ตามลำดับ และแรงหดตัวของกล้ามเนื้อหลังได้รับสารทดสอบ ได้แสดงเป็นร้อยละของแรงหดตัวที่เกิดขึ้นก่อนได้รับสารทดสอบ

2.1 เมื่อใช้ PE ความเข้มข้น $10 \mu\text{M}$ เป็นตัวกระตุ้นการหดตัว

เนื่องจากการศึกษานี้ใช้ DMSO ความเข้มข้น 0.07% (v/v) เป็นตัวทำละลายสารทดสอบ ดังนั้น จึงใช้เป็นกลุ่มควบคุมเพื่อเปรียบเทียบผลของสารทดสอบ โดยที่กล้ามเนื้อเรียบที่ได้รับ DMSO ในความเข้มข้นดังกล่าวไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงความตึงตัวขณะพัก (รูปที่ 21) ตลอดจน DMSO ไม่มีผลยับยั้งการตอบสนองของหลอดเลือดต่อการกระตุ้นด้วย PE ความเข้มข้น $10 \mu\text{M}$ โดยค่าเฉลี่ยการหดตัวอยู่ที่ $99.36 \pm 0.71\%$

จากการศึกษาพบว่า น้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบและผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรที่ความเข้มข้น 50, 100 และ $200 \mu\text{g/ml}$ สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดที่ถูกกระตุ้นให้หดตัวด้วย PE ได้เช่นเดียวกับน้ำมันไพล (รูปที่ 21-24) โดยแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และลักษณะการยับยั้งการตอบสนองดังกล่าวขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารทดสอบคือเมื่อเพิ่มความเข้มข้นจะมีผลยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหด

เลือดที่ถูกกระตุ้นให้หดตัวด้วย PE ได้มากขึ้นซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกันทั้ง น้ำมันไพล น้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบและผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพร ดังปรากฏตามรูปที่ 29 โดยค่าเฉลี่ยของสารทดสอบทั้ง 3 ชนิดในการยับยั้งการหดตัวแสดงในภาคผนวกตารางที่ 4

2.2 เมื่อใช้ KCl ความเข้มข้น 40 mM เป็นตัวกระตุ้นการหดตัว

เนื่องจากการศึกษาครั้งนี้ใช้ DMSO ความเข้มข้น 0.07% (v/v) เป็นตัวทำละลายสารทดสอบ จึงให้เป็นกลุ่มควบคุมเพื่อเปรียบเทียบผลของสารทดสอบ โดยที่กล้ามเนื้อเรียบที่ได้รับ DMSO ในความเข้มข้นดังกล่าวไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงความตึงตัวของมัด (รูปที่ 25) ตลอดจน DMSO ไม่มีผลยับยั้งการตอบสนองของหลอดเลือดต่อการกระตุ้นด้วย KCl ความเข้มข้น 40 mM โดยค่าเฉลี่ยการหดตัวอยู่ที่ $101.23 \pm 2.99\%$

จากการศึกษาพบว่า สารทดสอบทั้ง 3 ชนิดที่ความเข้มข้น 50, 100 และ 200 $\mu\text{g/ml}$ (รูปที่ 26-28) สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดที่ถูกกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl โดยแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และลักษณะการยับยั้งการตอบสนองดังกล่าวขึ้นอยู่กับความเข้มข้น สิ่งที่ต่างและเห็นได้ชัดคือ ความแรงในการยับยั้งการหดตัวเมื่อความเข้มข้นเป็น 200 $\mu\text{g/ml}$ โดยสารที่มีความแรงมากที่สุดคือน้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพร ดังปรากฏตามกราฟรูปที่ 30 และค่าเฉลี่ยของสารทดสอบทั้ง 3 ชนิดในการยับยั้งการหดตัวแสดงในภาคผนวกตารางที่ 4

2.3 ผลต่อการตอบสนองต่อ CaCl_2 ของกล้ามเนื้อเรียบในสถานะ high K^+ - Ca^{2+} -free

จากการศึกษาพบว่า เมื่อให้สารทดสอบทั้ง 3 ชนิดที่ความเข้มข้น 200 $\mu\text{g/ml}$ ในสถานะ high K^+ - Ca^{2+} -free พบว่าสามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแบบไม่มีเซลล์เยื่อหุ้ม เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบสะสมขนาดได้ (รูปที่ 31-35) แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยมีลักษณะเป็นแบบ non-competitive antagonist ดังแสดงในกราฟรูปที่ 36 ซึ่งน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบมีความสามารถในการยับยั้งได้มากกว่า น้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรและน้ำมันไพลตามลำดับ โดยเมื่อเปรียบเทียบค่า pD_2' ของน้ำมันไพล น้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบและผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพร จะได้เป็น 3.07 ± 0.23 , 3.82 ± 0.11 และ 3.68 ± 0.26 ตามลำดับ

3. ผลของน้ำมันไพล น้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบและผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรที่มีต่อการเปลี่ยนแปลง Ca^{2+} จากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์ของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ในสารละลายที่ปราศจาก Ca^{2+}

3.1 เมื่อใช้ PE ความเข้มข้น 10 μM เป็นตัวกระตุ้นให้เกิดการหดตัวในสภาวะที่ปราศจาก Ca^{2+}

DMSO ความเข้มข้น 0.07% (v/v) ใช้เป็นตัวทำละลายสารทดสอบ จึงให้เป็นกลุ่มควบคุมเพื่อเปรียบเทียบผลของสารทดสอบ โดยที่กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดที่ไม่มีเซลล์เยื่อบุผิวที่ได้รับ DMSO ในความเข้มข้นดังกล่าวไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงความตึงตัวขณะพัก ผลของการให้ DMSO แล้วกระตุ้นด้วย PE ในสภาวะที่ปราศจาก Ca^{2+} (รูปที่ 37) ค่าเฉลี่ยความแรงในการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่ไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว คือ $118.15 \pm 10.77\%$ เมื่อเทียบกับก่อนให้ ซึ่งใช้เป็นกลุ่มควบคุม

จากการศึกษาพบว่า เมื่อให้น้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบ ความเข้มข้น 200 $\mu g/ml$ ก่อนการกระตุ้นด้วย PE ในสภาวะที่ปราศจาก Ca^{2+} พบว่าน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบที่ความเข้มข้นดังกล่าวมีผลต่อการตอบสนองของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม โดยค่าเฉลี่ยความแรงในการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ คือ $109.07 \pm 13.14\%$ เมื่อเทียบกับก่อนให้ สารทดสอบ (รูปที่ 39) ซึ่งแตกต่างจากผลของน้ำมันไพล (รูปที่ 38) และน้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพร (รูปที่ 40) ที่ความเข้มข้นเดียวกันสามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่กระตุ้นด้วย PE ในสภาวะที่ปราศจาก Ca^{2+} ได้โดยค่าเฉลี่ยของแรงของการหดตัวลดลงเหลือ $88.37 \pm 10.96\%$ และ 69.48 ± 11.46 ตามลำดับ ซึ่งแสดงในภาคผนวกตารางที่ 6 โดยผลที่ได้จากน้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังแสดงในกราฟรูปที่ 45

3.2 เมื่อใช้ caffeine ความเข้มข้น 10 mM เป็นตัวกระตุ้นให้เกิดการหดตัวในสภาวะที่ปราศจาก Ca^{2+}

ผลของการให้ DMSO ความเข้มข้น 0.07% (v/v) แล้วกระตุ้นด้วย caffeine ในสภาวะที่ปราศจาก Ca^{2+} (รูปที่ 41) ค่าเฉลี่ยความแรงในการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่ไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว คือ $123.50 \pm 8.05\%$ เมื่อเทียบกับก่อนให้ ซึ่ง DMSO ใช้เป็นตัวทำละลายสารทดสอบ จึงให้เป็นกลุ่มควบคุมเพื่อเปรียบเทียบผลของสารทดสอบ

จากการศึกษาพบว่า เมื่อให้น้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบ ความเข้มข้น 200 $\mu g/ml$ ก่อนการกระตุ้นด้วย caffeine ในสภาวะที่ปราศจาก Ca^{2+} พบว่าน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบที่ความเข้มข้นดังกล่าวมีผลต่อการตอบสนองของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแตกต่างจากกลุ่ม

ควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยค่าเฉลี่ยความแรงในการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลดลงเหลือ $54.15 \pm 16.68\%$ เมื่อเทียบกับก่อนให้สารทดสอบ (รูปที่ 43) ซึ่งเป็นในทิศทางเดียวกับผลของน้ำมันไพล (รูปที่ 42) และน้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพร (รูปที่ 44) โดยที่ความเข้มข้นเดียวกันนี้สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่กระตุ้นด้วย caffeine ในสภาวะที่ปราศจาก Ca^{2+} ได้โดยค่าเฉลี่ยของความแรงของการหดตัวลดลงเหลือ $48.06 \pm 15.81\%$ และ $41.09 \pm 14.15\%$ ตามลำดับซึ่งแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังแสดงในกราฟรูปที่ 46 และภาคผนวกตารางที่ 6

4. ผลของน้ำมันไพล น้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบและผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรที่มีต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ โดยกลไกที่เกี่ยวข้องและไม่เกี่ยวข้องกับเซลล์เยื่อบุผิว

ในการศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของสารทดสอบทั้ง 3 ชนิดได้ศึกษาที่ความเข้มข้น $500 \mu\text{g/ml}$ การศึกษาการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดจากการกระตุ้นให้หดตัวด้วย PE $10 \mu\text{M}$ โดยการศึกษาได้ใช้สารยับยั้งการคลายตัวด้วยกลไกการออกฤทธิ์ที่จำเพาะต่างๆ ได้แก่ atropine ($10 \mu\text{M}$), glybenclamide ($10 \mu\text{M}$), indomethacin ($10 \mu\text{M}$), L-NAME ($100 \mu\text{M}$), methylene blue ($10 \mu\text{M}$), propranolol ($10 \mu\text{M}$) หรือ TEA (1 mM) ผลที่ได้แสดงค่าในตารางที่ 7-9 และกราฟในรูปที่ 61

จากการศึกษานี้พบว่าสำหรับกลไกที่เกี่ยวข้องกับเซลล์เยื่อบุผิวนั้น ในกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแบบมีเซลล์เยื่อบุผิว atropine ซึ่งเป็น muscarinic antagonist สามารถยับยั้งการคลายตัวของหลอดเลือดจากผลของน้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรที่ความเข้มข้น $500 \mu\text{g/ml}$ ได้ (รูปที่ 47) แต่ในหลอดเลือดแบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว atropine ก็สามารถยับยั้งการคลายตัวของหลอดเลือดจากผลของน้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรได้เช่นกัน (รูปที่ 48) และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังนั้น ผลที่เกิดขึ้นในหลอดเลือดแบบมีเซลล์เยื่อบุผิวอาจไม่เกี่ยวข้องกับการให้ atropine ส่วนผลที่เกิดในการทดสอบที่ให้ น้ำมันไพลและน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ไม่ได้ให้และให้ atropine

ในกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแบบมีเซลล์เยื่อบุผิว L-name ซึ่งเป็น inhibitor ของ nitric oxide synthase สามารถยับยั้งการคลายตัวของหลอดเลือดจากผลของน้ำมันไพลที่ความเข้มข้น $500 \mu\text{g/ml}$ ได้ (รูปที่ 49) และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งต่างกับผลที่เกิดขึ้นในหลอดเลือดแบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว (รูปที่ 50) ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าน้ำมันไพลมีกลไกการคลายตัวที่เกี่ยวข้องกับ NO pathway ในส่วนผลที่เกิดขึ้นกับผลของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบและ

จากผลิตภัณฑ์สำหรับบอบสมุนไพรมัน L-name มีผลยับยั้งการคลายตัวของหลอดเลือดทั้งแบบมีและไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว (รูปที่ 51-52) ได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญดังนั้นการออกฤทธิ์ของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบอาจไม่เกี่ยวข้องกับ NO pathway

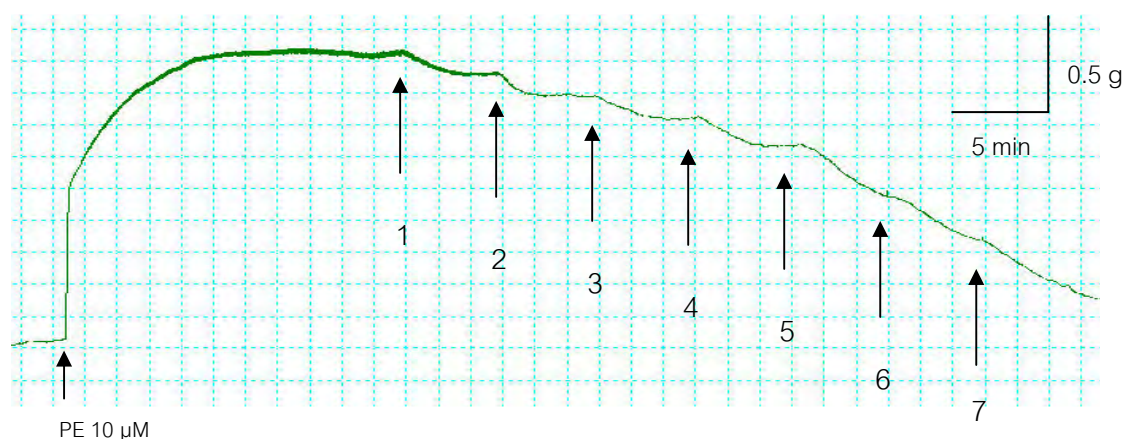
ผลที่พบจากการให้ L-NAME ดังกล่าวสอดคล้องกับผลที่เกิดขึ้นเมื่อให้ methylene blue ซึ่งเป็น inhibitor ของ soluble guanylyl cyclase ที่เกี่ยวข้องกับ NO pathway เช่นกัน โดยพบว่าในกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแบบมีเซลล์เยื่อบุผิว methylene blue สามารถยับยั้งการคลายตัวของหลอดเลือดจากผลของน้ำมันไพลที่ความเข้มข้น 500 $\mu\text{g/ml}$ ได้ (รูปที่ 53) และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งต่างกับผลที่เกิดขึ้นในหลอดเลือดแบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว (รูปที่ 54) ในส่วนผลที่เกิดขึ้นกับผลของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบและผลิตภัณฑ์สำหรับบอบสมุนไพรมัน methylene blue ไม่มีผลยับยั้งการคลายตัวของหลอดเลือดทั้งแบบมีและไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว

ในส่วนของกลไกการคลายตัวที่ไม่เกี่ยวข้องกับเซลล์เยื่อบุผิว พบว่า propranolol ซึ่งเป็น β -adrenoceptor antagonist ไม่เห็นผลชัดเจนในการยับยั้งการคลายตัวของหลอดเลือดแบบมีและไม่มีเซลล์เยื่อบุผิวจากผลของน้ำมันไพลและน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบที่ความเข้มข้น 500 $\mu\text{g/ml}$ แต่ในหลอดเลือดแบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว propranolol สามารถยับยั้งการคลายตัวของหลอดเลือดจากผลของน้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับบอบสมุนไพรมันได้ (รูปที่ 56) แตกต่างกับก่อนให้ propranolol อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

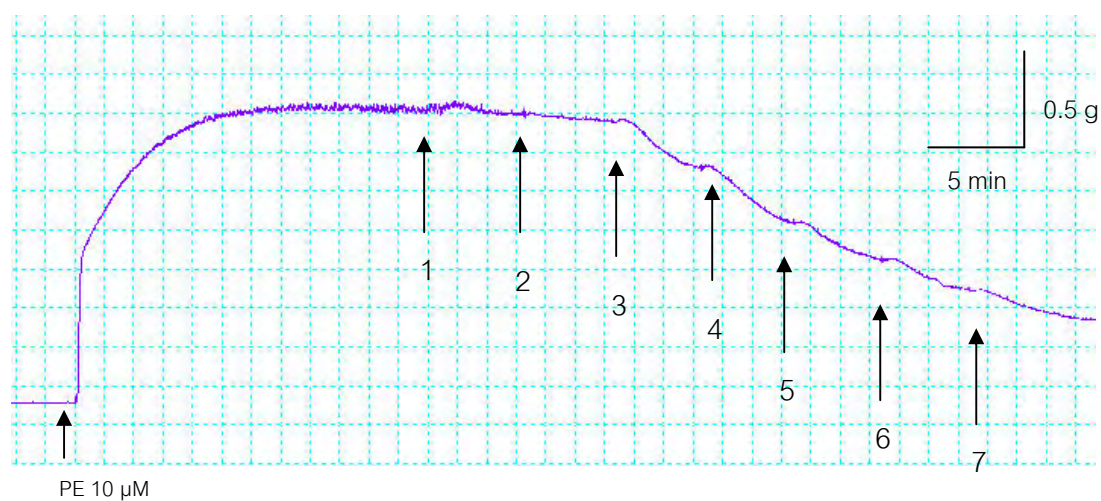
ผลการศึกษาที่ใช้ glybenclamide ซึ่งเป็น inhibitor ของ ATP-sensitive potassium channel ที่อยู่บนกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดนั้น พบว่า สามารถยับยั้งการคลายตัวของหลอดเลือดแบบมีเซลล์เยื่อบุผิวจากผลของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบที่ความเข้มข้น 500 $\mu\text{g/ml}$ ได้ (รูปที่ 58) โดยแตกต่างกับก่อนให้ glybenclamide อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งต่างจากผลของน้ำมันไพลและน้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับบอบสมุนไพรมันที่พบว่า เมื่อให้ glybenclamide มีผลทำให้การคลายตัวของหลอดเลือดแบบมีเซลล์เยื่อบุผิวเกิดการคลายตัวเพิ่มขึ้น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ผลที่เกิดขึ้นเมื่อให้ TEA ซึ่งเป็น inhibitor ของ Ca^{2+} -activated potassium channel โดยจะมีผลในการยับยั้ง channel ทั้งชนิดที่มีอยู่บนเซลล์เยื่อบุผิวและที่อยู่ในเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด ในการศึกษาพบว่า ในกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแบบมีเซลล์เยื่อบุผิว TEA สามารถยับยั้งการคลายตัวของหลอดเลือดจากผลของน้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับบอบสมุนไพรมันที่ความเข้มข้น 500 $\mu\text{g/ml}$ ได้ (รูปที่ 59) และแตกต่างกับผลที่เกิดขึ้นในกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว (รูปที่ 60) ในส่วนผลที่เกิดขึ้นกับผลของน้ำมันไพลและน้ำมันระเหยง่าย

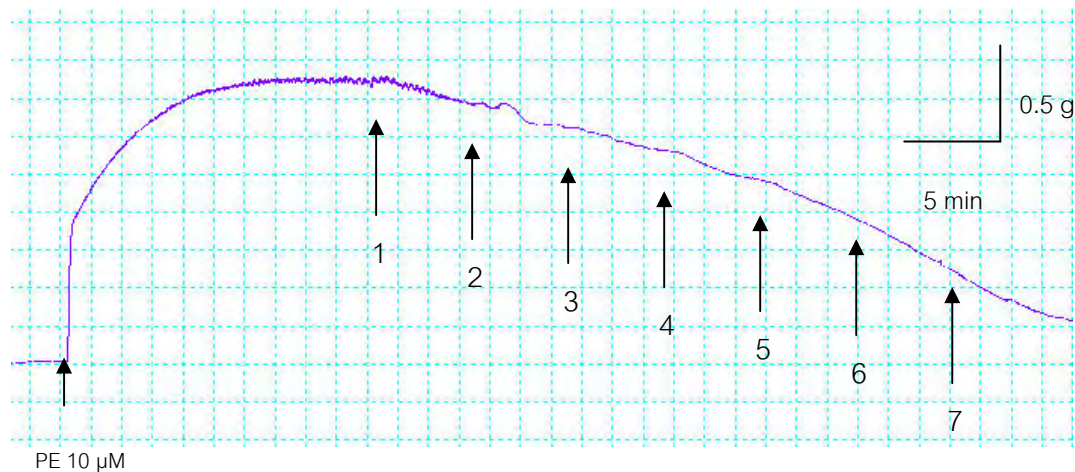
จากลูกประคบนั้น TEA ไม่มีเห็นผลยับยั้งการคลายตัวของหลอดเลือดอย่างชัดเจนทั้งแบบมีและไม่
มีเซลล์เยื่อหุ้ม



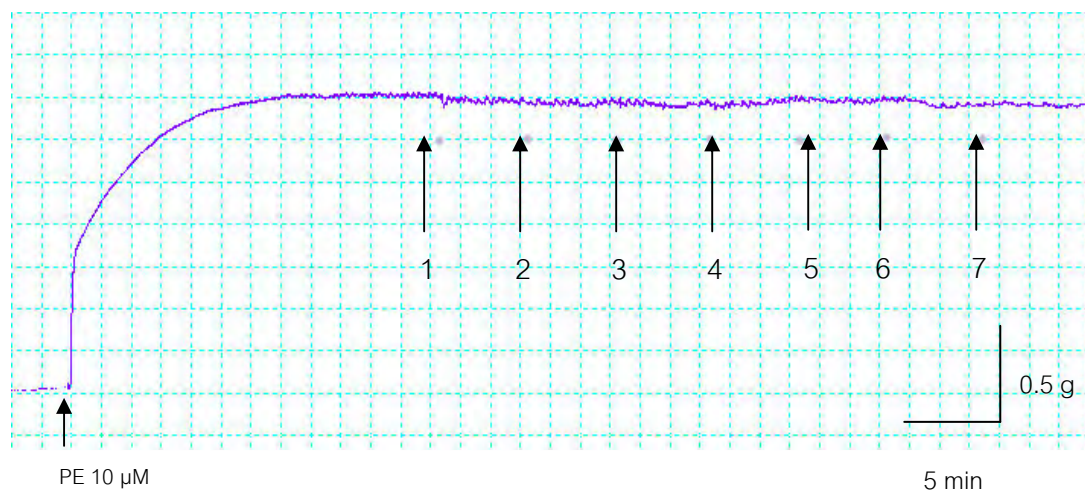
รูปที่ 3 ผลของน้ำมันไพลที่มีต่อการคลายตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ชนิดที่มีเซลล์เยื่อบุผิว โดยหลอดเลือดถูกเหนี่ยวนำให้หดตัวด้วย PE ($10 \mu\text{M}$) เมื่อแรงดึงตัวคงที่จึงเริ่มให้สารทดสอบแบบสะสมขนาด ความเข้มข้นที่ให้ 1=10, 2=20, 3=30, 4=40, 5=50, 6=60 และ 7=70 $\mu\text{g/ml}$



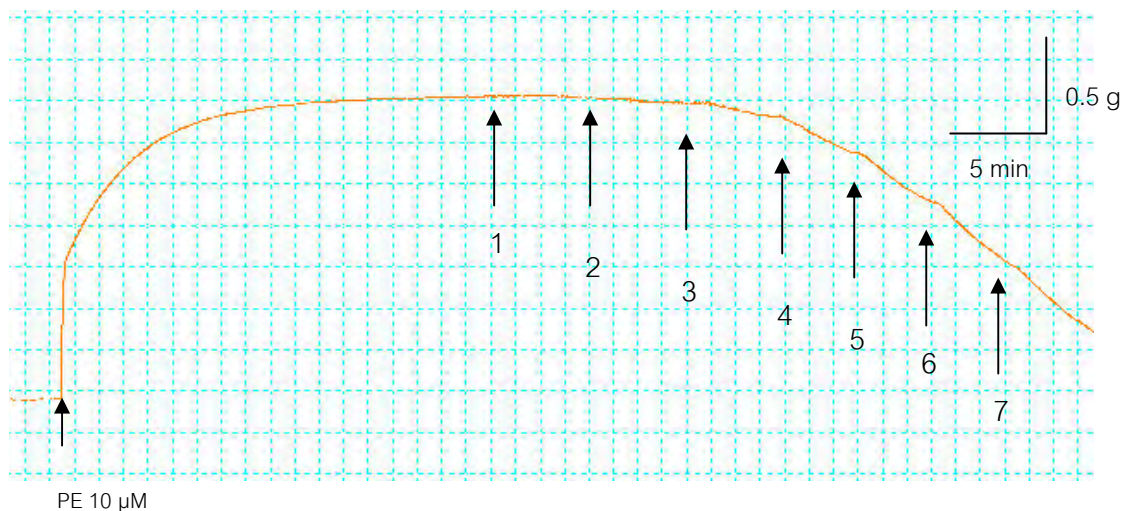
รูปที่ 4 ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบที่มีต่อการคลายตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ชนิดที่มีเซลล์เยื่อบุผิว โดยหลอดเลือดถูกเหนี่ยวนำให้หดตัวด้วย PE ($10 \mu\text{M}$) เมื่อแรงดึงตัวคงที่จึงเริ่มให้สารทดสอบแบบสะสมขนาด ความเข้มข้นที่ให้ 1=10, 2=20, 3=30, 4=40, 5=50, 6=60 และ 7=70 $\mu\text{g/ml}$



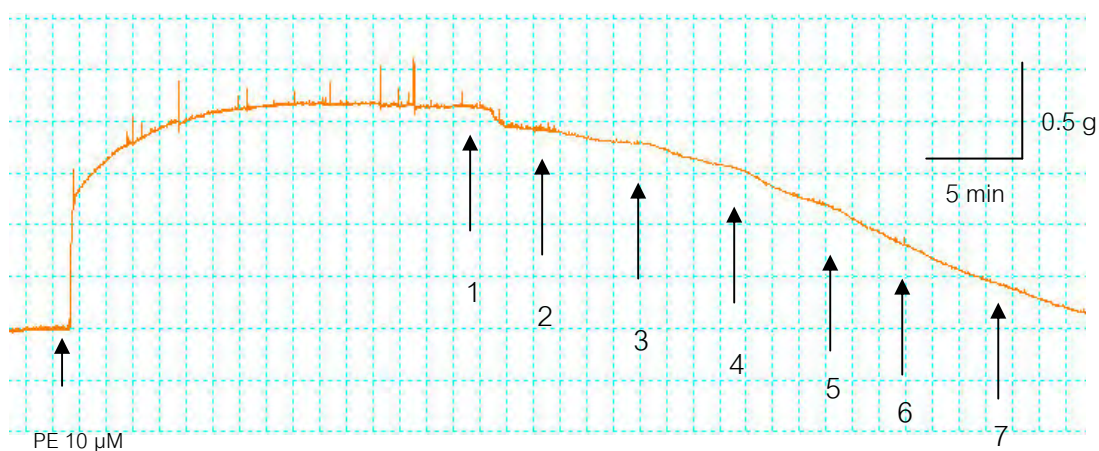
รูปที่ 5 ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรที่มีต่อการคลายตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ชนิดที่มีเซลล์เยื่อบุผิว โดยหลอดเลือดถูกเหนี่ยวนำให้หดตัวด้วย PE ($10 \mu\text{M}$) เมื่อแรงดึงตัวคงที่จึงเริ่มให้สารทดสอบแบบสะสมขนาด ความเข้มข้นที่ให้ 1=10, 2=20, 3=30, 4=40, 5=50, 6=60 และ 7=70 $\mu\text{g/ml}$



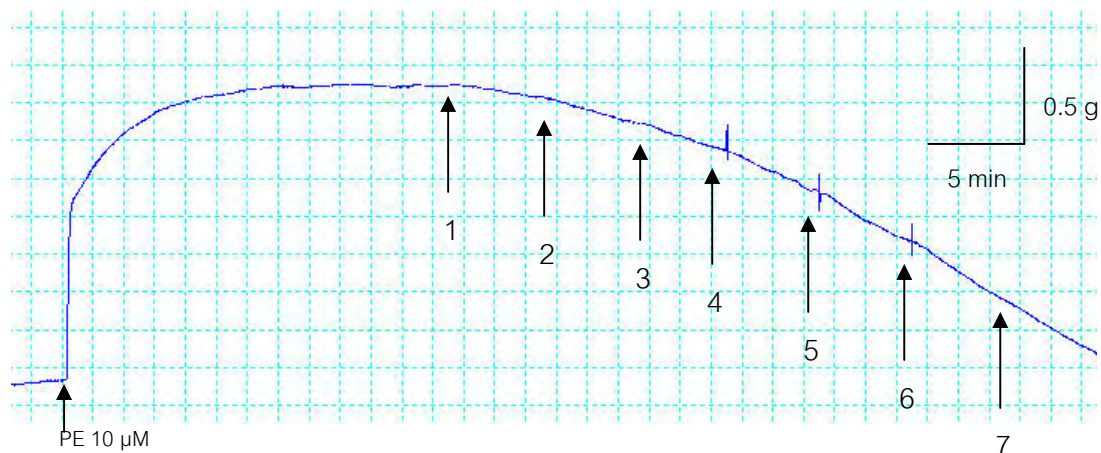
รูปที่ 6 ผลของ DMSO ที่มีต่อการคลายตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ชนิดที่มีเซลล์เยื่อบุผิว โดยหลอดเลือดถูกเหนี่ยวนำให้หดตัวด้วย PE ($10 \mu\text{M}$) เมื่อแรงดึงตัวคงที่จึงเริ่มให้สารทดสอบแบบสะสมขนาด ทั้งนี้ DMSO ใช้เป็นตัวทำละลายของสารทดสอบทั้งหมด



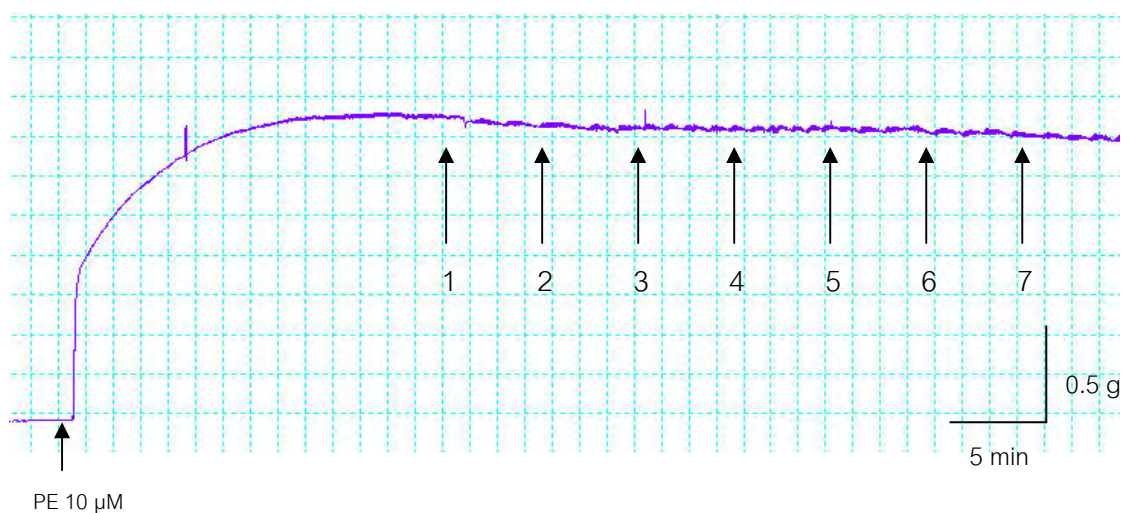
รูปที่ 7 ผลของน้ำมันไพลที่มีต่อการคลายตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ชนิดที่ไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว โดยหลอดเลือดถูกเหนี่ยวนำให้หดตัวด้วย PE ($10\ \mu\text{M}$) เมื่อแรงดึงตัวคงที่จึงเริ่มให้สารทดสอบแบบสะสมขนาด ความเข้มข้นที่ให้ 1=10, 2=20, 3=30, 4=40, 5=50, 6=60 และ 7=70 $\mu\text{g/ml}$



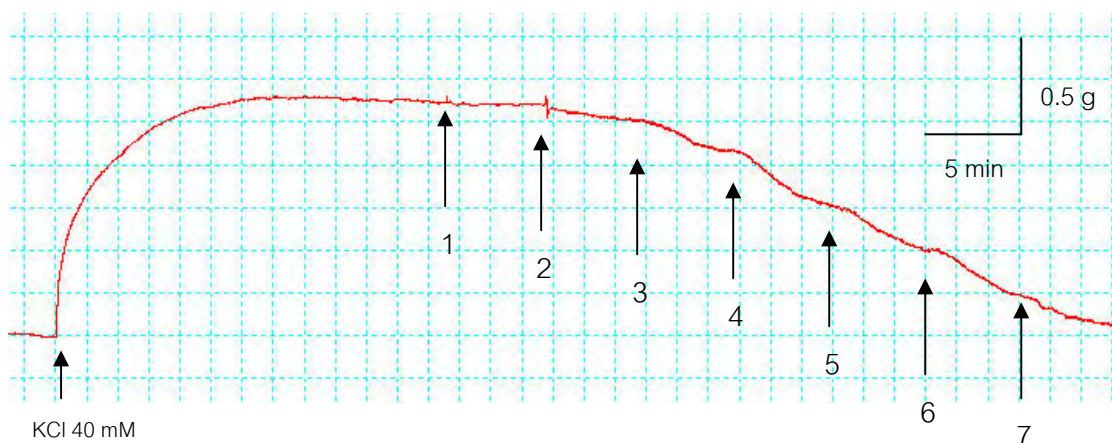
รูปที่ 8 ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบที่มีต่อการคลายตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ชนิดที่ไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว โดยหลอดเลือดถูกเหนี่ยวนำให้หดตัวด้วย PE ($10\ \mu\text{M}$) เมื่อแรงดึงตัวคงที่จึงเริ่มให้สารทดสอบแบบสะสมขนาด ความเข้มข้นที่ให้ 1=10, 2=20, 3=30, 4=40, 5=50, 6=60 และ 7=70 $\mu\text{g/ml}$



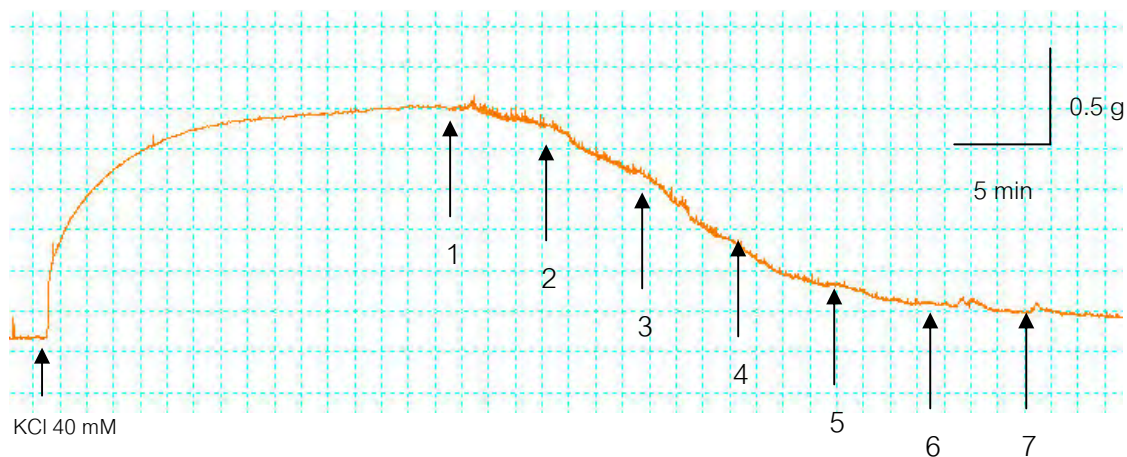
รูปที่ 9 ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรที่มีต่อการคลายตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ชนิดที่ไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว โดยหลอดเลือดถูกเหนี่ยวนำให้หดตัวด้วย PE (10 μ M) เมื่อแรงดึงตัวคงที่จึงเริ่มให้สารทดสอบแบบสะสมขนาด ความเข้มข้นที่ให้ 1=10, 2=20, 3=30, 4=40, 5=50, 6=60 และ 7=70 μ g/ml



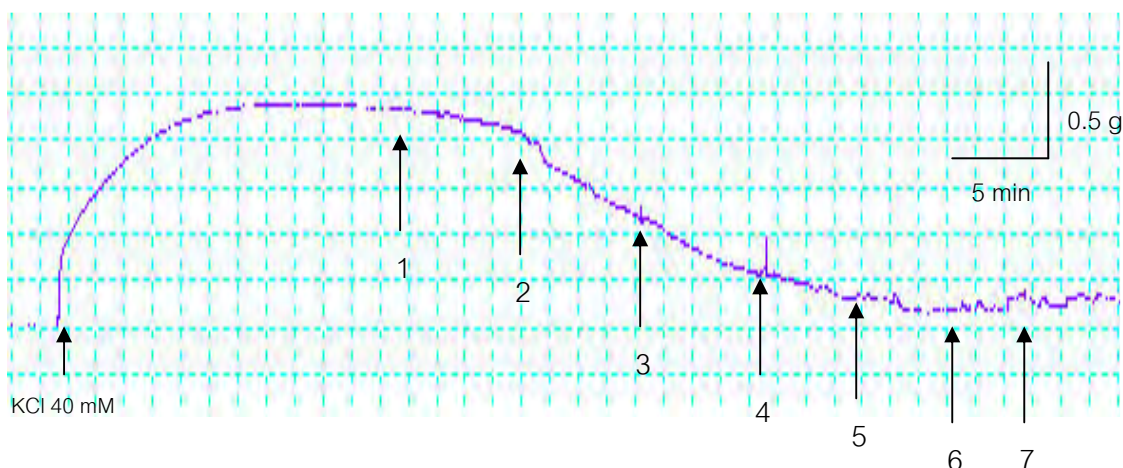
รูปที่ 10 ผลของ DMSO ที่มีต่อการคลายตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ชนิดที่ไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว โดยหลอดเลือดถูกเหนี่ยวนำให้หดตัวด้วย PE (10 μ M) เมื่อแรงดึงตัวคงที่จึงเริ่มให้สารทดสอบแบบสะสมขนาด ทั้งนี้ DMSO ใช้เป็นตัวทำละลายของสารทดสอบทั้งหมด



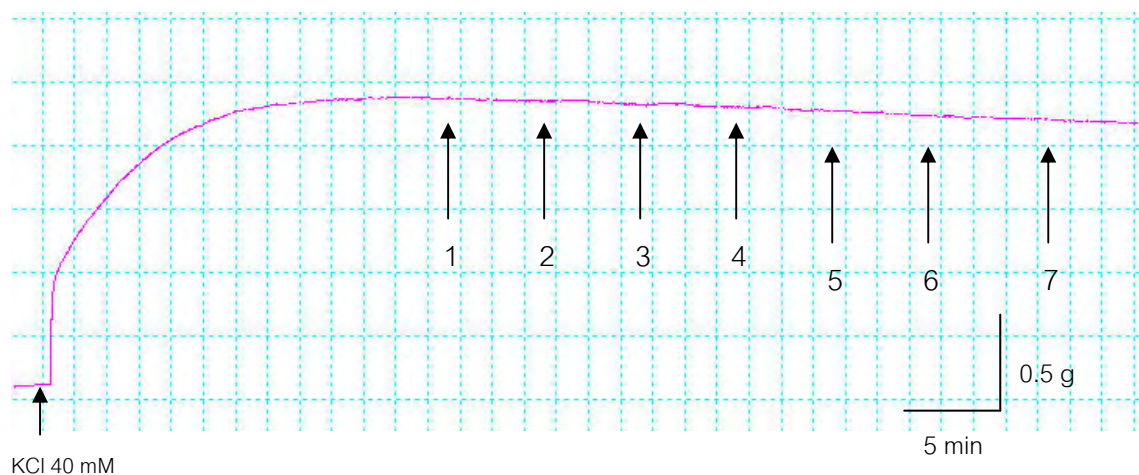
รูปที่ 11 ผลของน้ำมันไพลที่มีต่อการคลายตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ชนิดที่มีเซลล์ผิว โดยหลอดเลือดถูกเหนี่ยวนำให้หดตัวด้วย KCl (40 mM) เมื่อแรงตึงตัวคงที่จึงเริ่มให้สารทดสอบแบบสะสมขนาด ความเข้มข้นที่ให้ 1=10, 2=20, 3=30, 4=40, 5=50, 6=60 และ 7=70 $\mu\text{g/ml}$



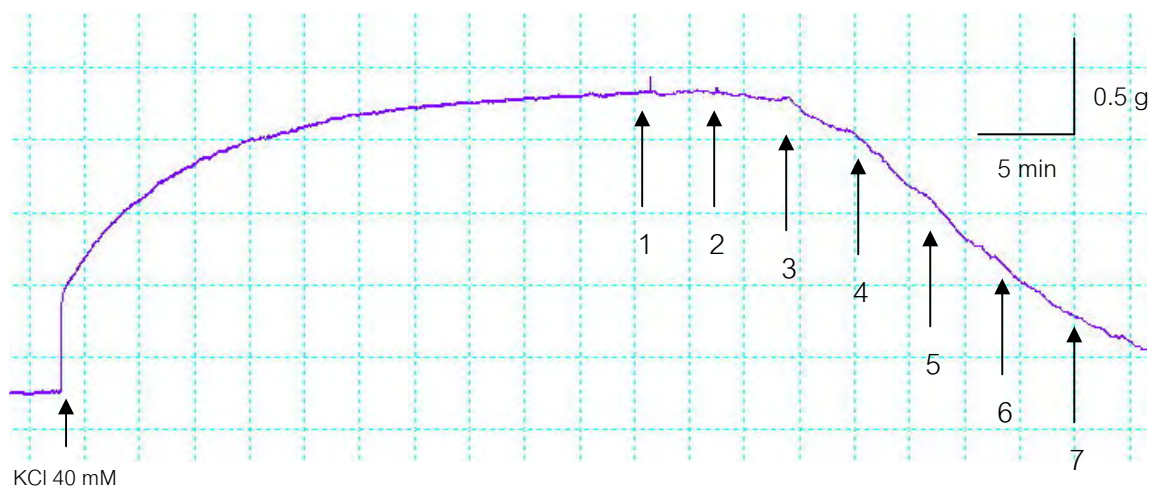
รูปที่ 12 ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบที่มีต่อการคลายตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ชนิดที่มีเซลล์เยื่อบุผิว โดยหลอดเลือดถูกเหนี่ยวนำให้หดตัวด้วย KCl (40 mM) เมื่อแรงตึงตัวคงที่จึงเริ่มให้สารทดสอบแบบสะสมขนาด ความเข้มข้นที่ให้ 1=10, 2=20, 3=30, 4=40, 5=50, 6=60 และ 7=70 $\mu\text{g/ml}$



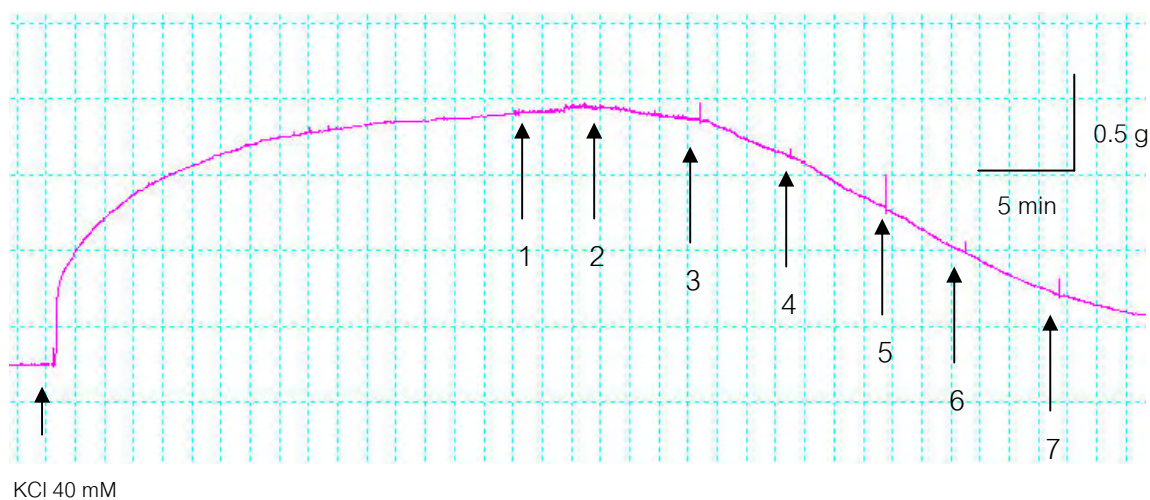
รูปที่ 13 ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรที่มีต่อการคลายตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ชนิดที่มีเซลล์เยื่อบุผิว โดยหลอดเลือดถูกเหนี่ยวนำให้หดตัวด้วย KCl (40 mM) เมื่อแรงดึงตัวคงที่จึงเริ่มให้สารทดสอบแบบสะสมขนาด ความเข้มข้นที่ให้ 1=10, 2=20, 3=30, 4=40, 5=50, 6=60 และ 7=70 $\mu\text{g/ml}$



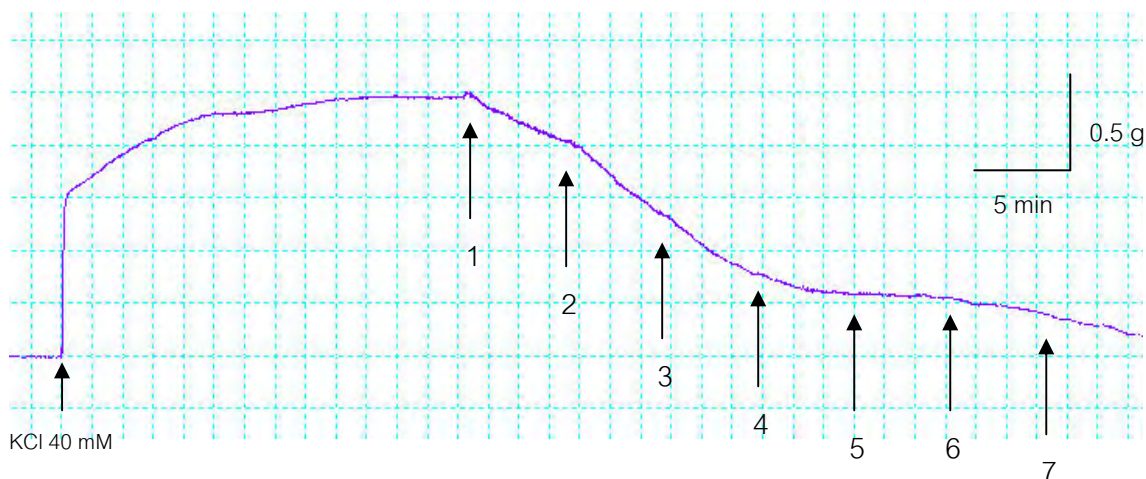
รูปที่ 14 ผลของ DMSO ที่มีต่อการคลายตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ชนิดที่มีเซลล์เยื่อบุผิว โดยหลอดเลือดถูกเหนี่ยวนำให้หดตัวด้วย KCl (40 mM) เมื่อแรงดึงตัวคงที่จึงเริ่มให้สารทดสอบแบบสะสมขนาด ทั้งนี้ DMSO ใช้เป็นตัวทำละลายของสารทดสอบทั้งหมด



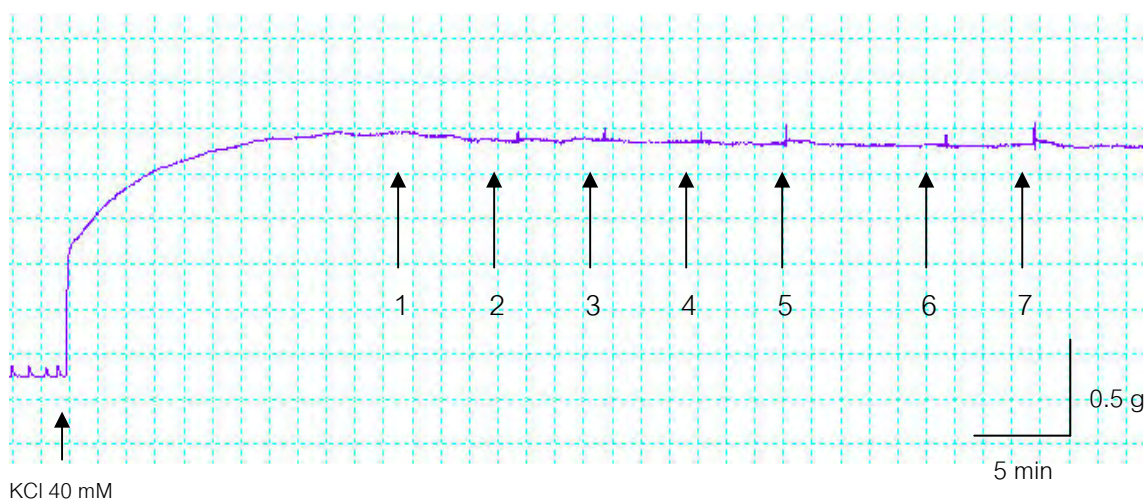
รูปที่ 15 ผลของน้ำมันไพลที่มีต่อการคลายตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ชนิดที่ไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว โดยหลอดเลือดถูกเหนี่ยวนำให้หดตัวด้วย KCl (40 mM) เมื่อแรงดึงตัวคงที่จึงเริ่มให้สารทดสอบแบบสะสมขนาด ความเข้มข้นที่ให้ 1=10, 2=20, 3=30, 4=40, 5=50, 6=60 และ 7=70 $\mu\text{g/ml}$



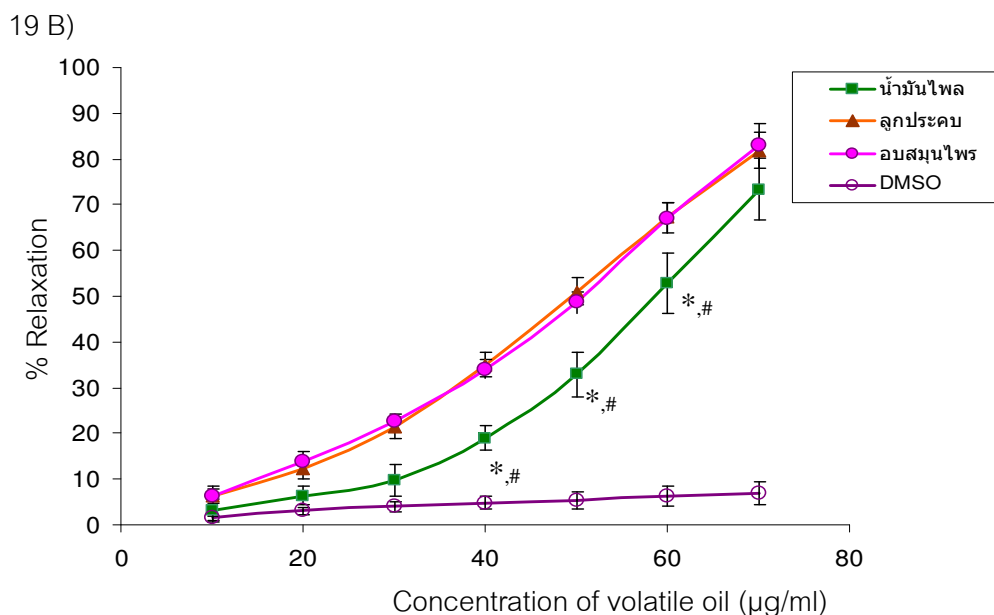
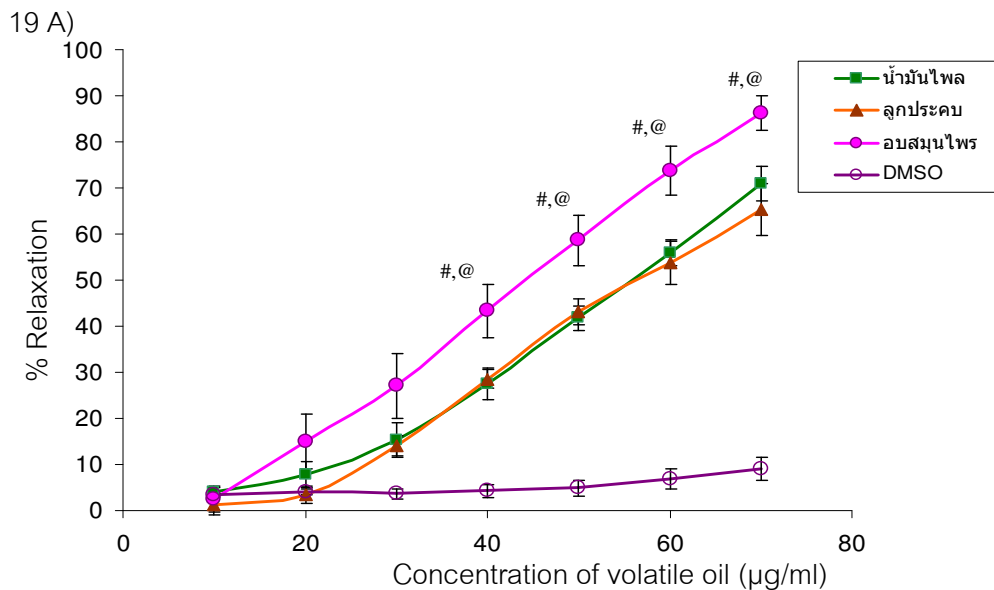
รูปที่ 16 ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบที่มีต่อการคลายตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ชนิดที่ไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว โดยหลอดเลือดถูกเหนี่ยวนำให้หดตัวด้วย KCl (40 mM) เมื่อแรงดึงตัวคงที่จึงเริ่มให้สารทดสอบแบบสะสมขนาด ความเข้มข้นที่ให้ 1=10, 2=20, 3=30, 4=40, 5=50, 6=60 และ 7=70 $\mu\text{g/ml}$



รูปที่ 17 ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรที่มีต่อการคลายตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ชนิดที่ไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว โดยหลอดเลือดถูกเหนี่ยวนำให้หดตัวด้วย KCl (40 mM) เมื่อแรงดึงตัวคงที่จึงเริ่มให้สารทดสอบแบบสะสมขนาด ความเข้มข้นที่ให้ 1=10, 2=20, 3=30, 4=40, 5=50, 6=60 และ 7=70 $\mu\text{g/ml}$



รูปที่ 18 ผลของ DMSO ที่มีต่อการคลายตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ชนิดที่ไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว โดยหลอดเลือดถูกเหนี่ยวนำให้หดตัวด้วย KCl (40 mM) เมื่อแรงดึงตัวคงที่จึงเริ่มให้สารทดสอบแบบสะสมขนาด ทั้งนี้ DMSO ใช้เป็นตัวทำละลายของสารทดสอบทั้งหมด



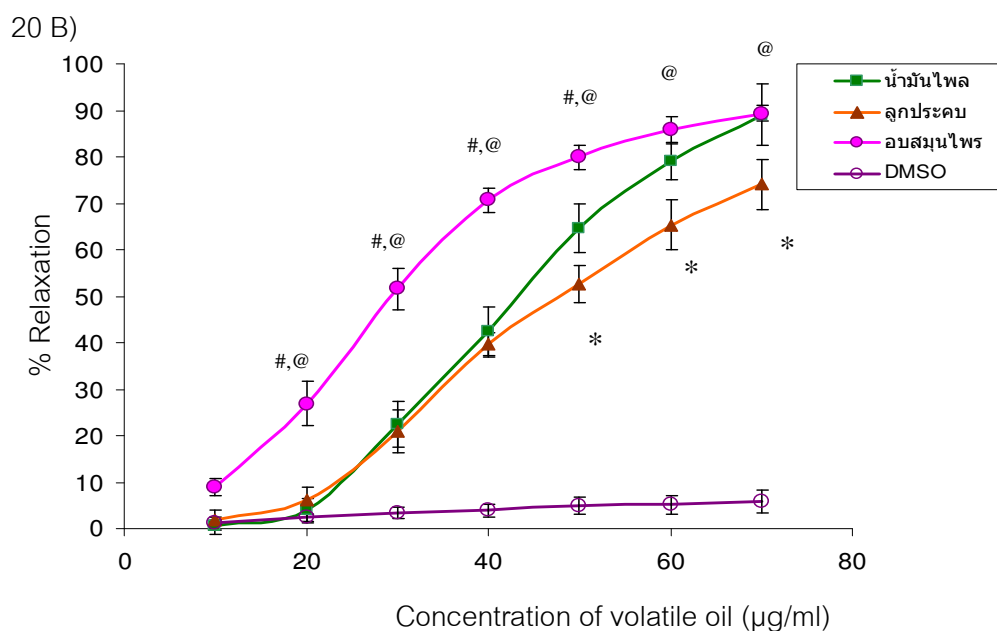
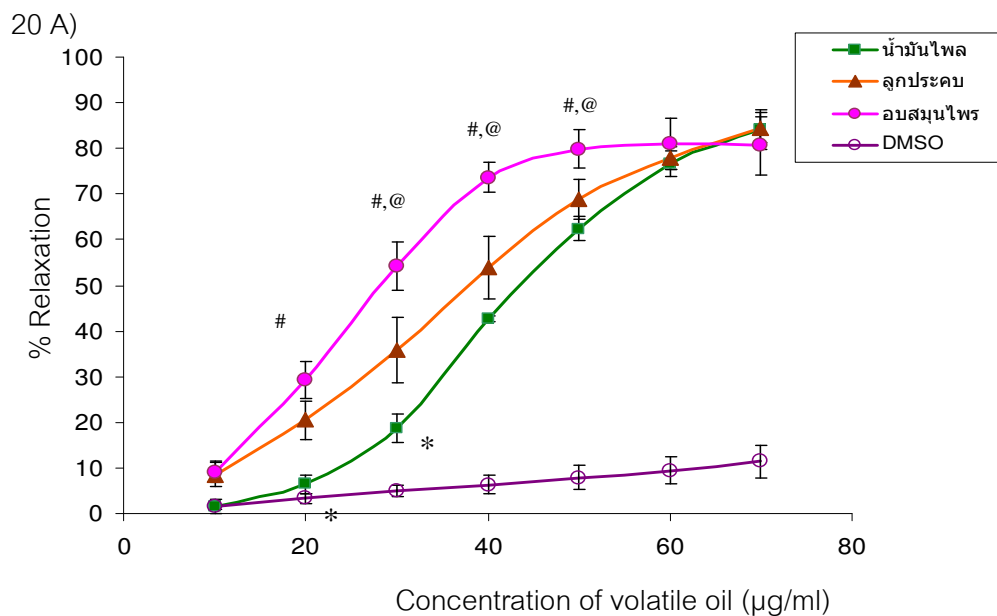
รูปที่ 19 ผลของน้ำมันไพล น้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบและผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพร โดยให้แบบสะสมขนาด (10 – 70 µg/ml) ที่มีต่อการคลายตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่แบบมีเซลล์เยื่อบุผิว (A) และไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว (B) ที่ถูกกระตุ้นด้วย PE 10 µM

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย ± ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (n=4-5)

* แสดงถึงความแตกต่างระหว่างน้ำมันไพลกับลูกประคบที่ความเข้มข้นเดียวกัน ($p < 0.05$)

แสดงถึงความแตกต่างระหว่างน้ำมันไพลกับอบสมุนไพรที่ความเข้มข้นเดียวกัน ($p < 0.05$)

@ แสดงถึงความแตกต่างระหว่างลูกประคบกับอบสมุนไพรที่ความเข้มข้นเดียวกัน ($p < 0.05$)



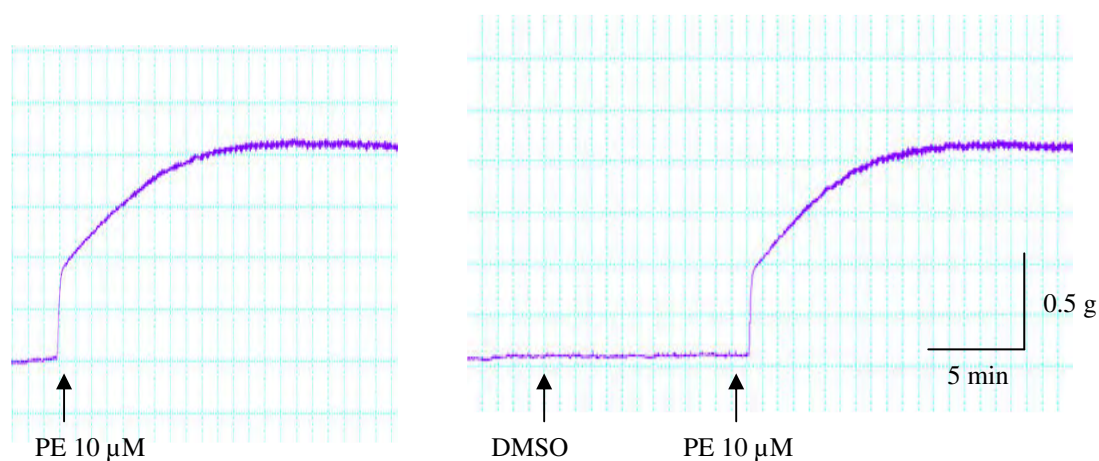
รูปที่ 20 ผลของ น้ำมันไพล น้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบและผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรมะนาว โดยให้แบบสะสมขนาด (10 – 70 µg/ml) ที่มีต่อการคลายตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่แบบมีเซลล์เยื่อหุ้ม (A) และไม่มีเซลล์เยื่อหุ้ม (B) ที่ถูกกระตุ้นด้วย KCl 40mM

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย ± ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (n=4-5)

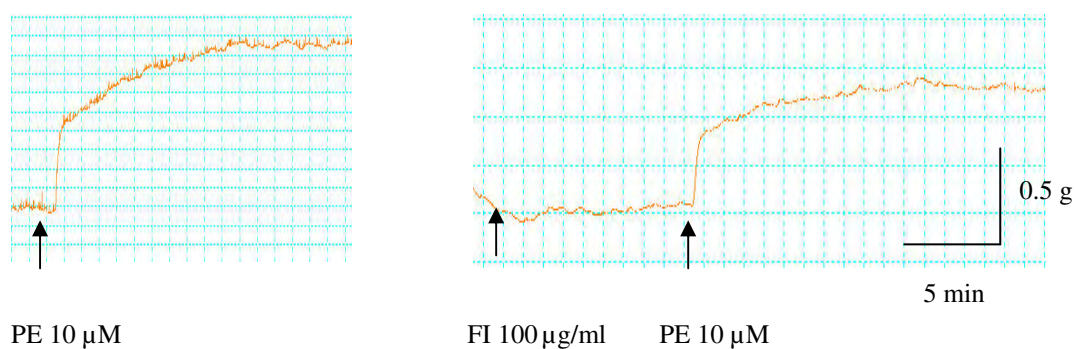
* แสดงถึงความแตกต่างระหว่างน้ำมันไพลกับลูกประคบที่ความเข้มข้นเดียวกัน (p<0.05)

แสดงถึงความแตกต่างระหว่างน้ำมันไพลกับอบสมุนไพรมะนาวที่ความเข้มข้นเดียวกัน (p<0.05)

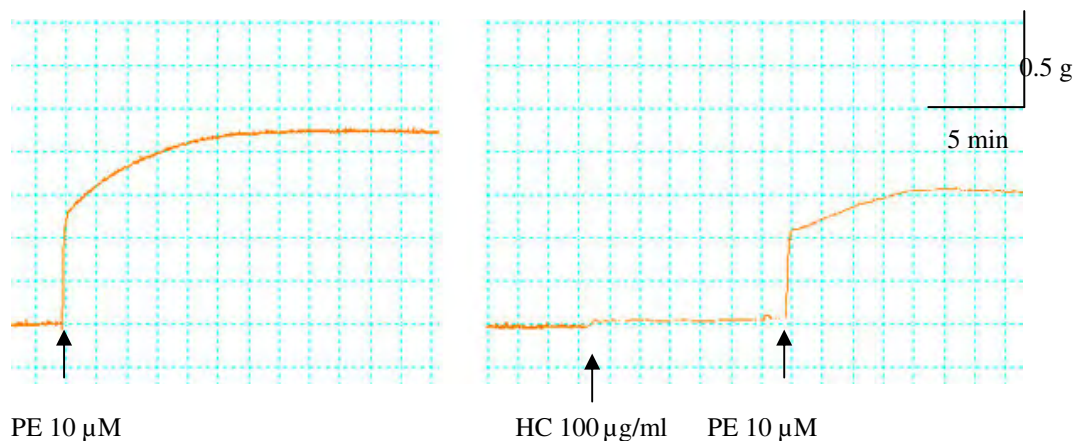
@ แสดงถึงความแตกต่างระหว่างลูกประคบกับอบสมุนไพรมะนาวที่ความเข้มข้นเดียวกัน (p<0.05)



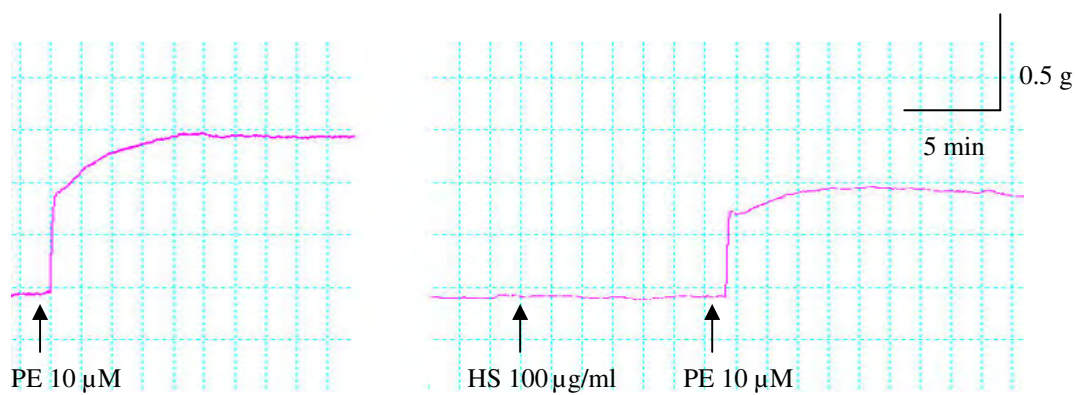
รูปที่ 21 ผลของDMSOต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อหุ้มผิว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย PE 10 μM ในสารละลายที่มี Ca^{2+}



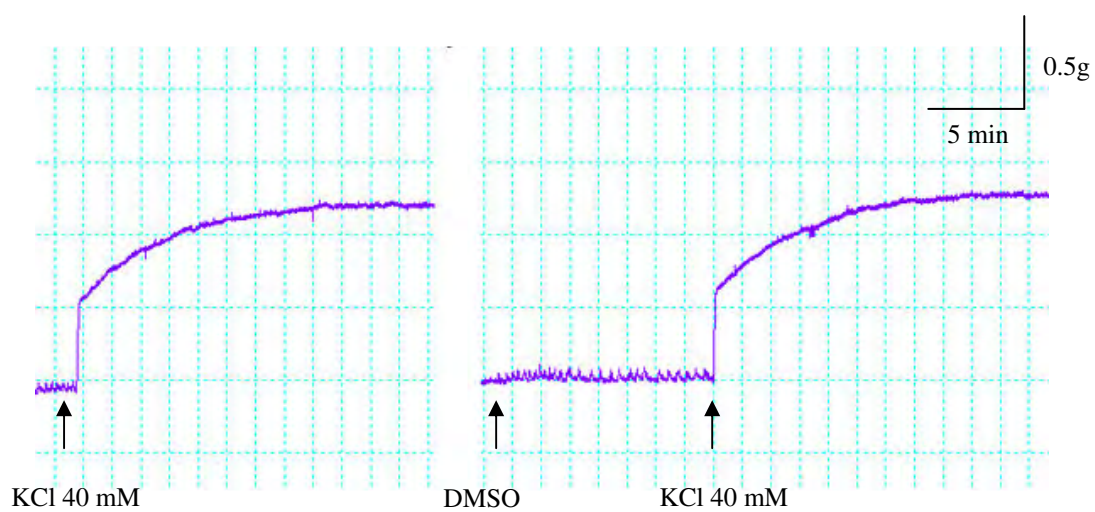
รูปที่ 22 ผลของน้ำมันไพล (FI) ความเข้มข้น 100 μg/ml ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อหุ้มผิว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย PE 10 μM ในสารละลายที่มี Ca^{2+}



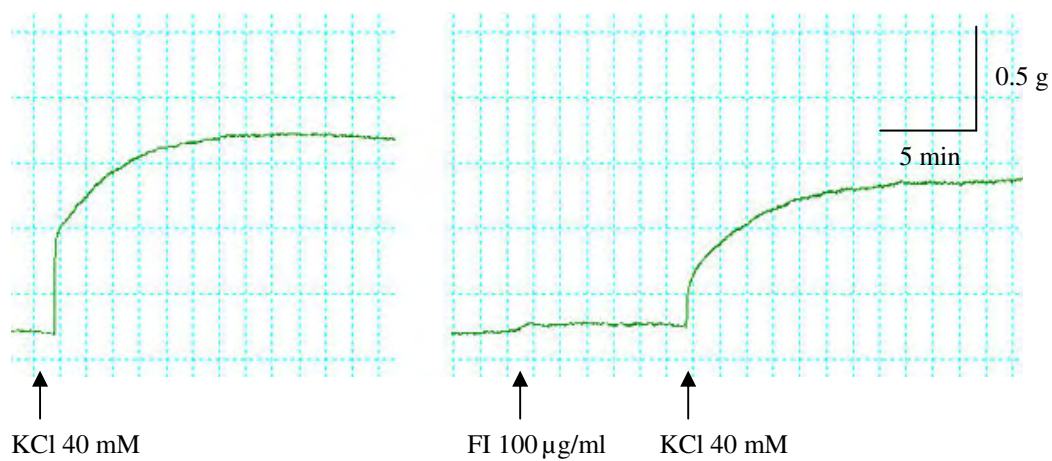
รูปที่ 23 ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบ(HC) ความเข้มข้น 100 μ g/ml ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อหุ้ม เมื่อถูกกระตุ้นด้วย PE 10 μ M ในสารละลายที่มี Ca^{2+}



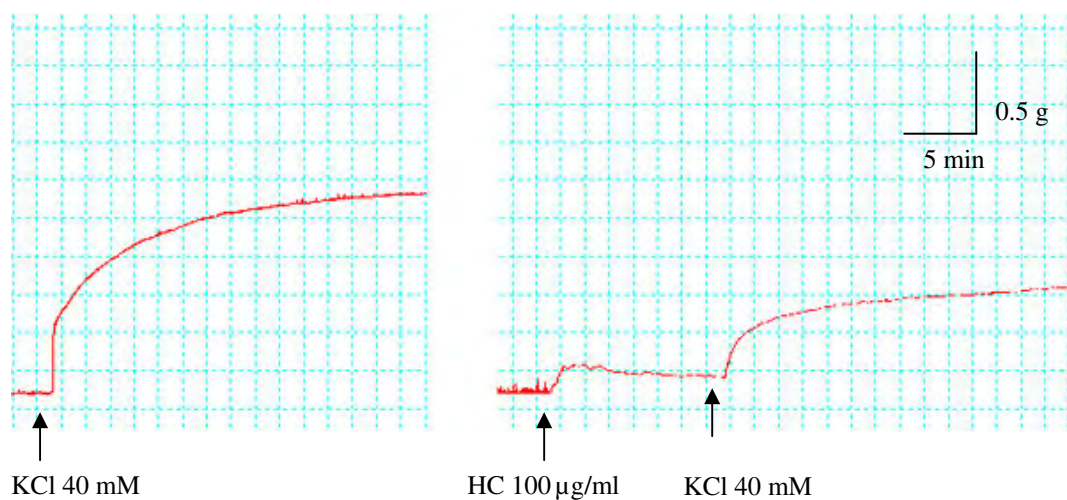
รูปที่ 24 ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพร(HS) ความเข้มข้น 100 μ g/ml ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อหุ้ม เมื่อถูกกระตุ้นด้วย PE 10 μ M ในสารละลายที่มี Ca^{2+}



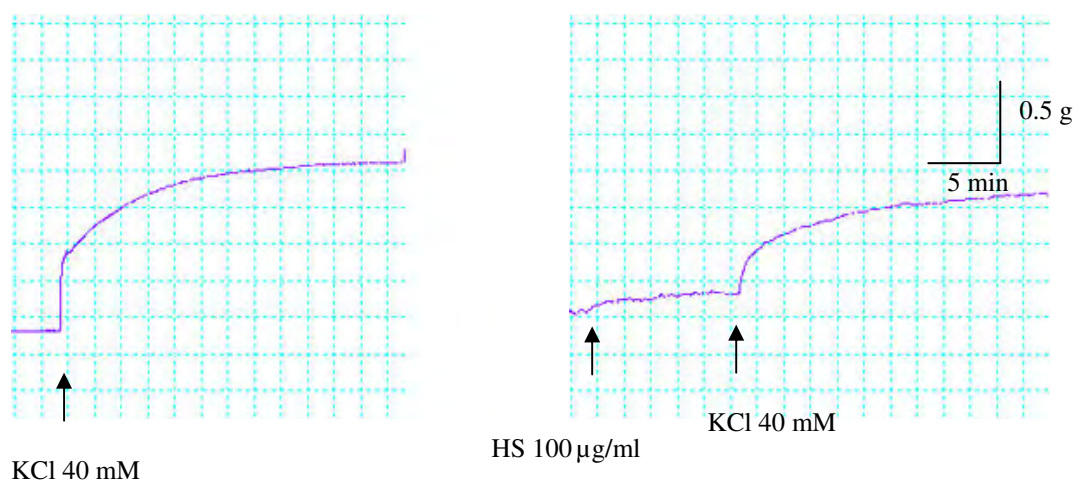
รูปที่ 25 ผลของ DMSO ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อหุ้มผิว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM ในสารละลายที่มี Ca^{2+}



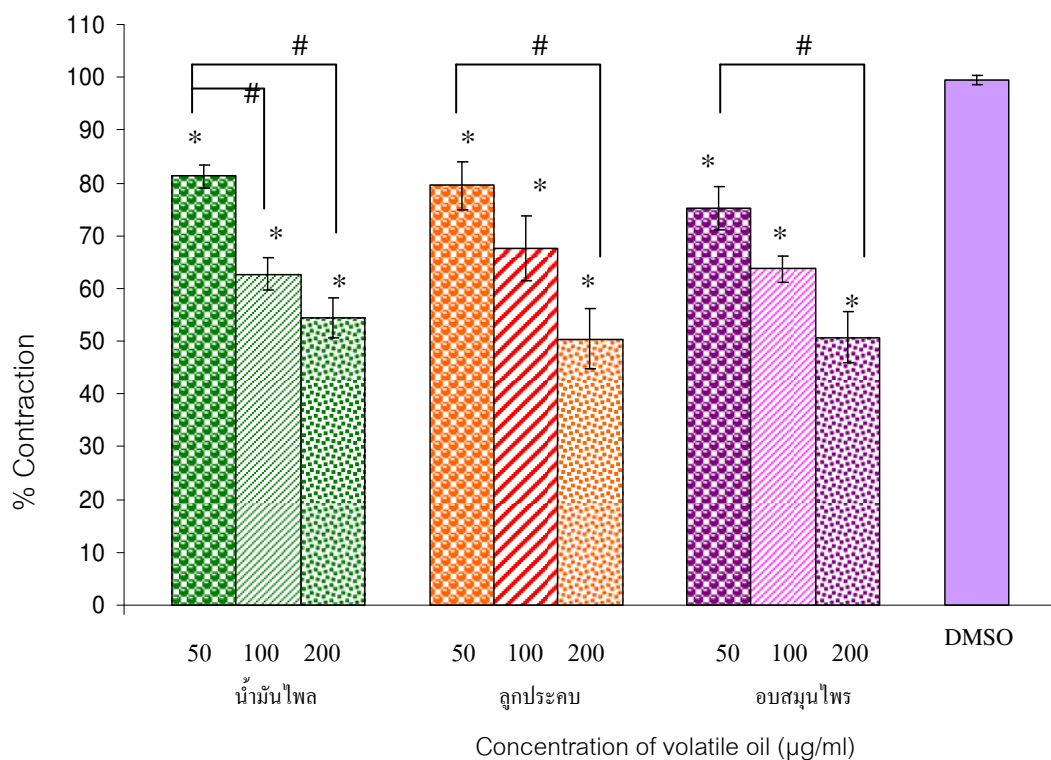
รูปที่ 26 ผลของน้ำมันไพล (FI) ความเข้มข้น 100 µg/ml ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อหุ้มผิว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM ในสารละลายที่มี Ca^{2+}



รูปที่ 27 ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบ(HC) ความเข้มข้น 100 µg/ml ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อหุ้ม เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM ในสารละลายที่มี Ca^{2+}



รูปที่ 28 ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพร(HS) ความเข้มข้น 100 µg/ml ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อหุ้ม เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM ในสารละลายที่มี Ca^{2+}

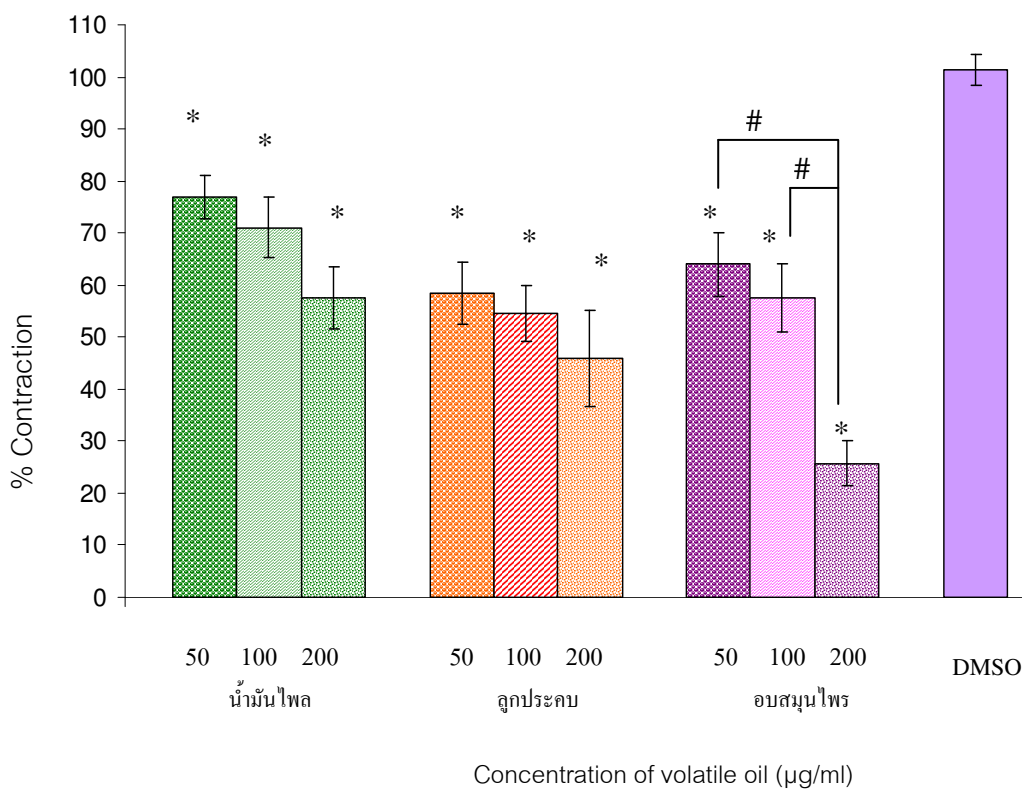


รูปที่ 29 ผลของน้ำมันไพล, น้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบและผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรรวม ความเข้มข้น 50, 100 และ 200 µg/ml ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว เมื่อกระตุ้นด้วย PE 10 µM

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย ± ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (n=4-6)

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม (p<0.05)

แสดงถึงความแตกต่างจากความเข้มข้นอื่น (p<0.05)

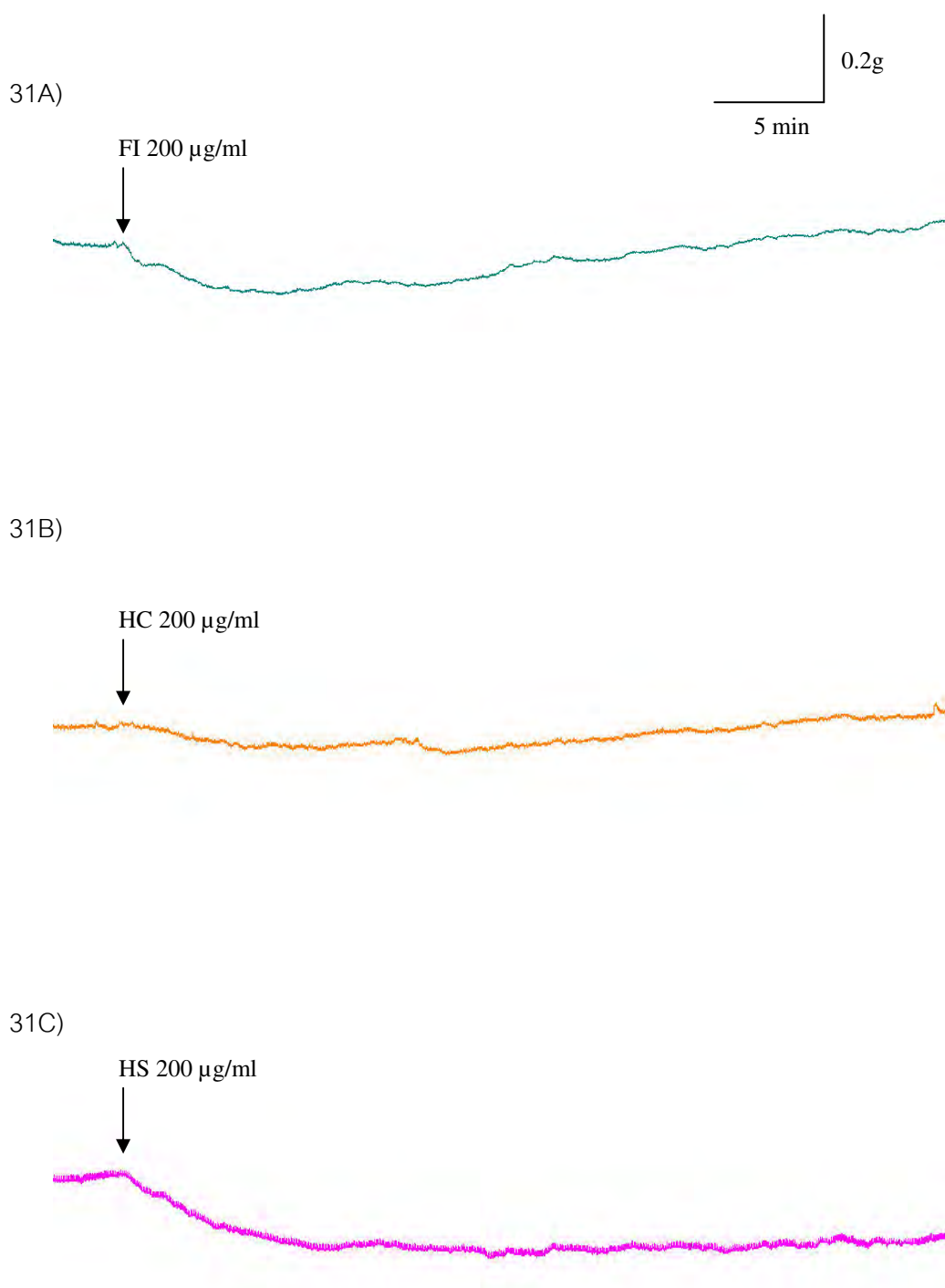


รูปที่ 30 ผลของน้ำมันไพล, น้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบและผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรรวม ความเข้มข้น 50, 100 และ 200 µg/ml ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อหุ้ม เมื่อกระตุ้นด้วย KCl 40 mM

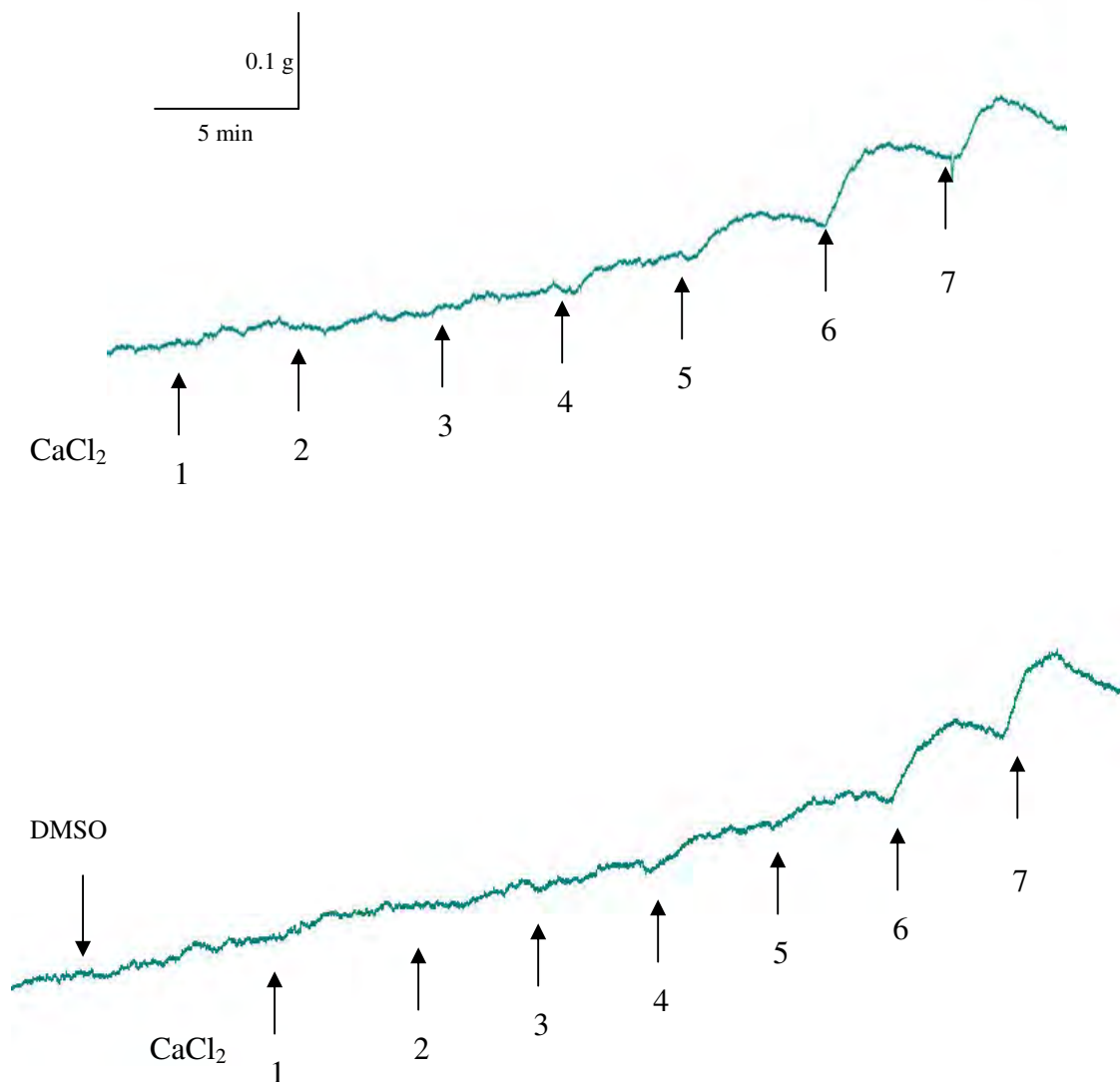
กราฟแสดงค่าเฉลี่ย ± ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (n=4-5)

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม ($p < 0.05$)

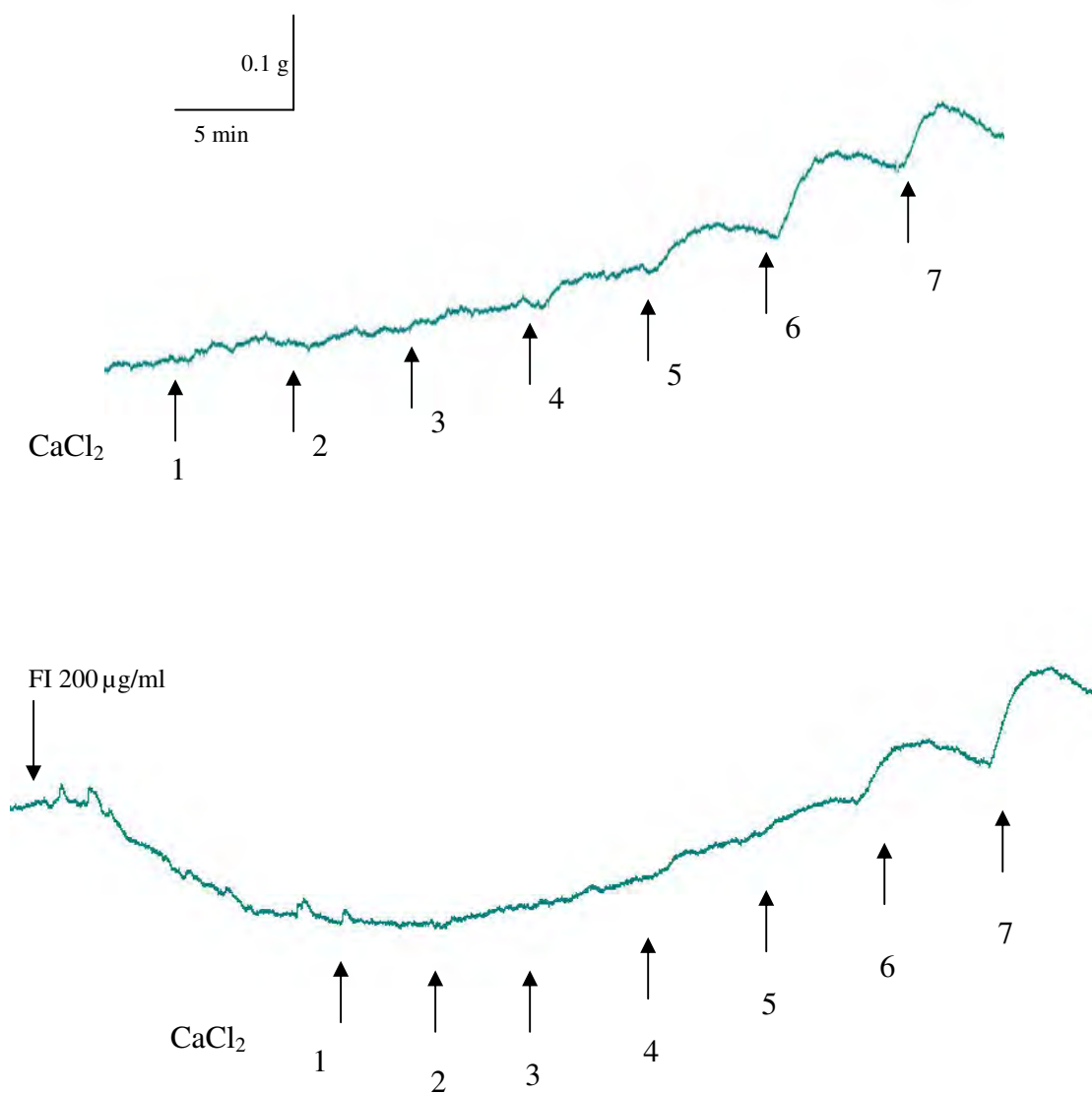
แสดงถึงความแตกต่างจากความเข้มข้นอื่น ($p < 0.05$)



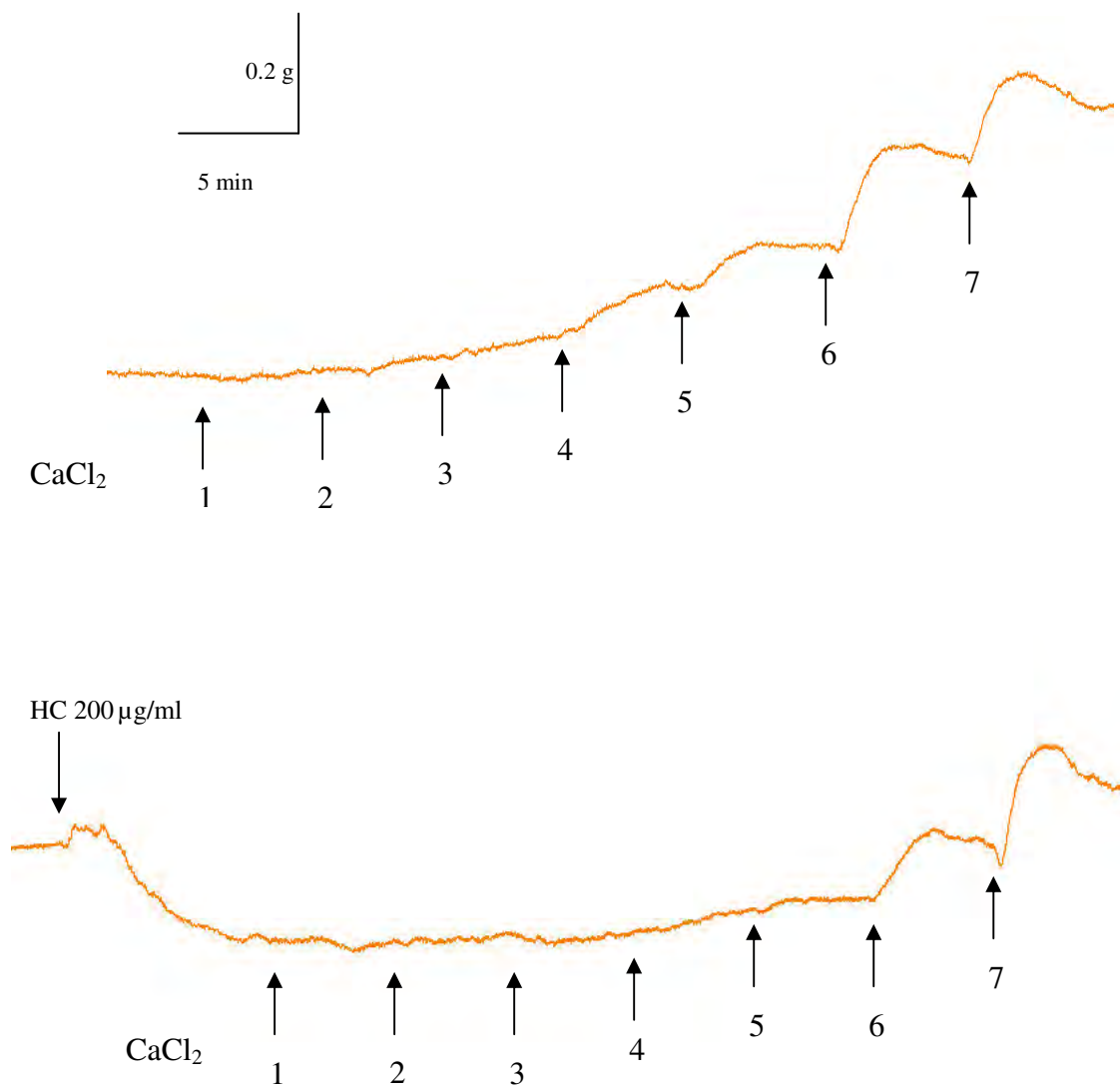
รูปที่ 31 ผลของน้ำมันไพล (A), น้ำมันระเหยจากลูกประคบ (B) และน้ำมันระเหยจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพร (C) ความเข้มข้น 200 µg/ml ที่มีต่อกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อหุ้มในสารละลาย high K^+ - Ca^{2+} -free



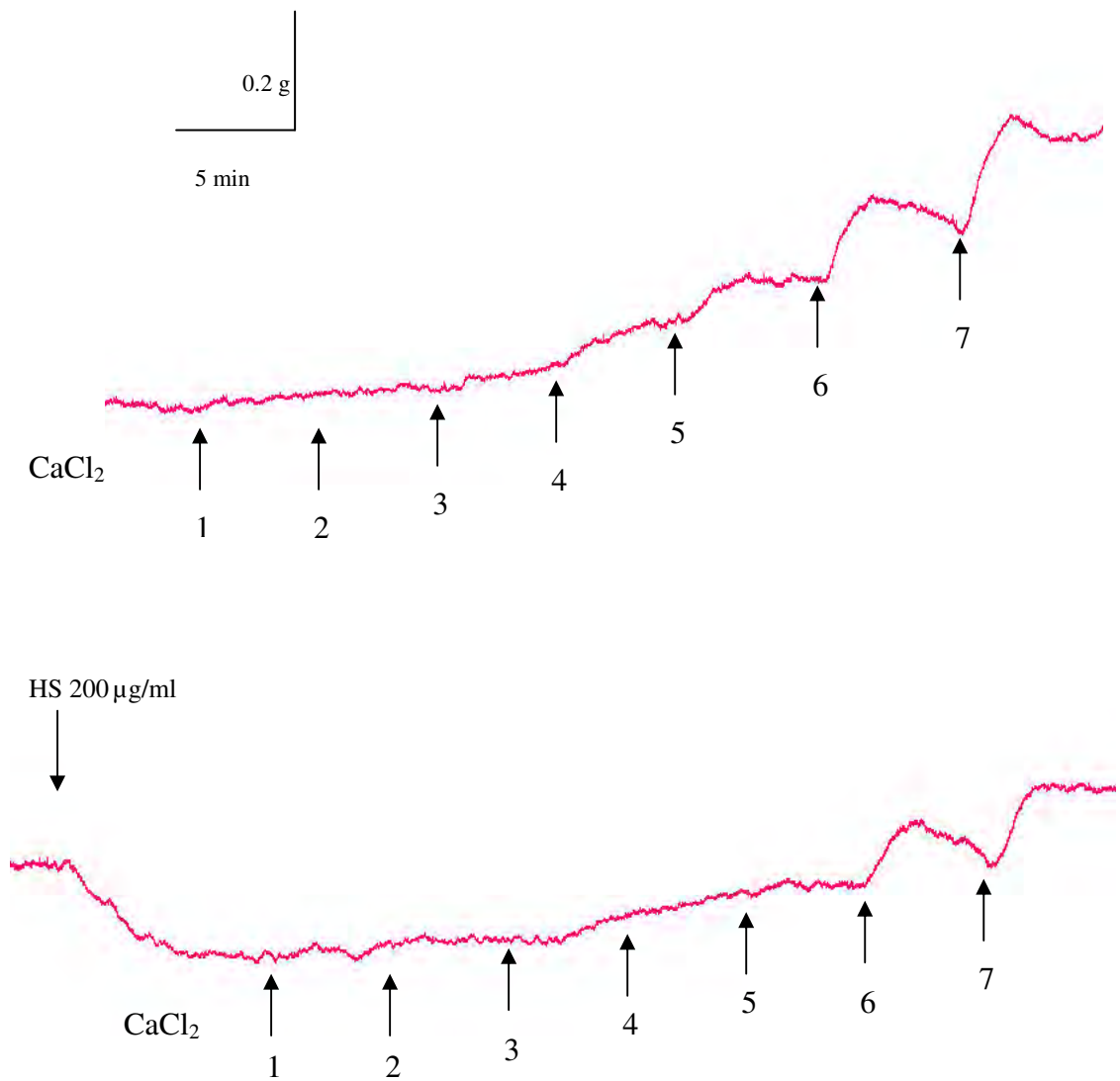
รูปที่ 32 ผลของDMSO ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อ
ผิว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl₂ แบบ cumulative dose-response curve ในสารละลาย
high K⁺ - Ca²⁺-free



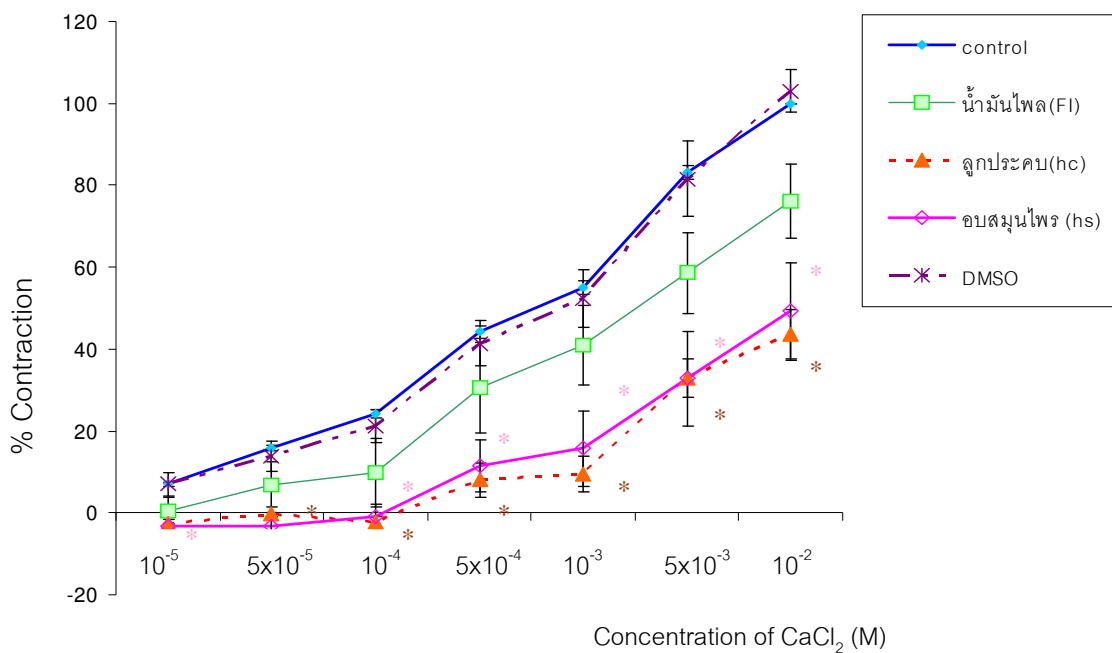
รูปที่ 33 ผลของน้ำมันไพล (FI) ความเข้มข้น 200 $\mu\text{g/ml}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative dose-response curve ในสารละลาย high K^+ - Ca^{2+} -free



รูปที่ 34 ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบ (HC) ความเข้มข้น 200 $\mu\text{g/ml}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative dose-response curve ในสารละลาย high K^+ - Ca^{2+} -free



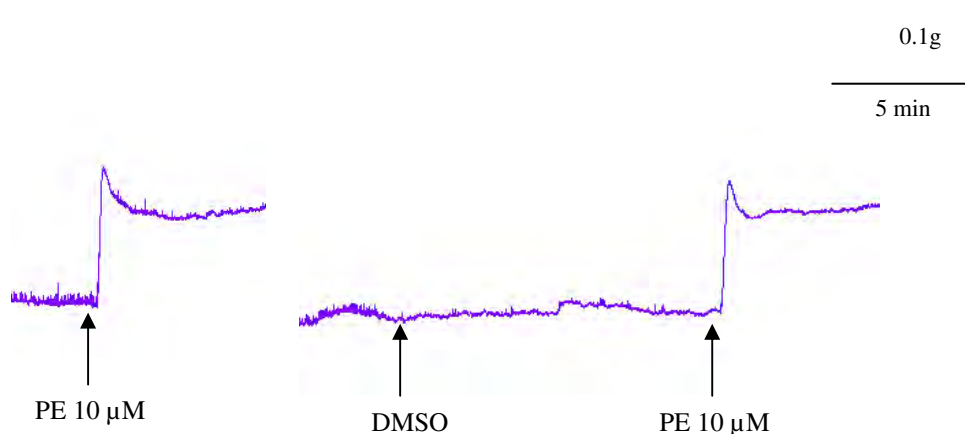
รูปที่ 35 ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพร (HS) ความเข้มข้น 200 µg/ml ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อหุ้ม เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative dose-response curve ในสารละลาย high K^+ - Ca^{2+} -free



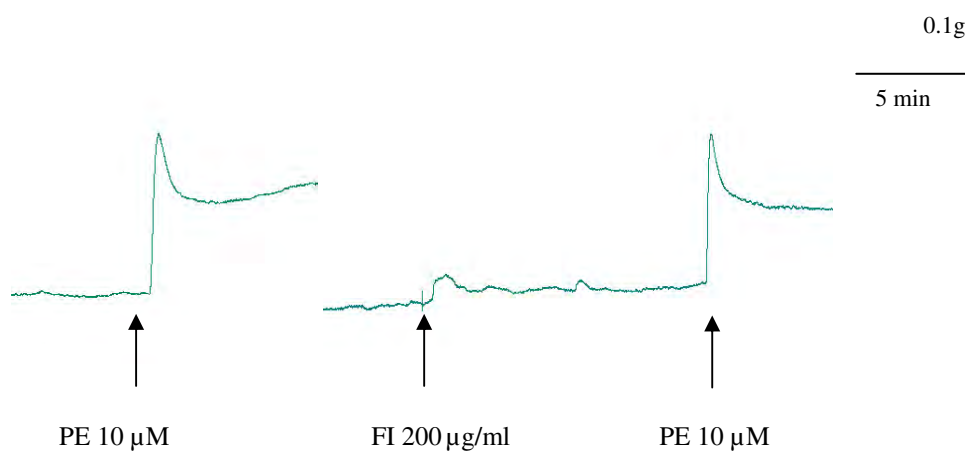
รูปที่ 36 ผลของน้ำมันไพล, น้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบและผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรมความเข้มข้น 200 $\mu\text{g/ml}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl₂ แบบ cumulative dose-response curve ในสารละลาย high K⁺ - Ca²⁺-free

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (n=4-5)

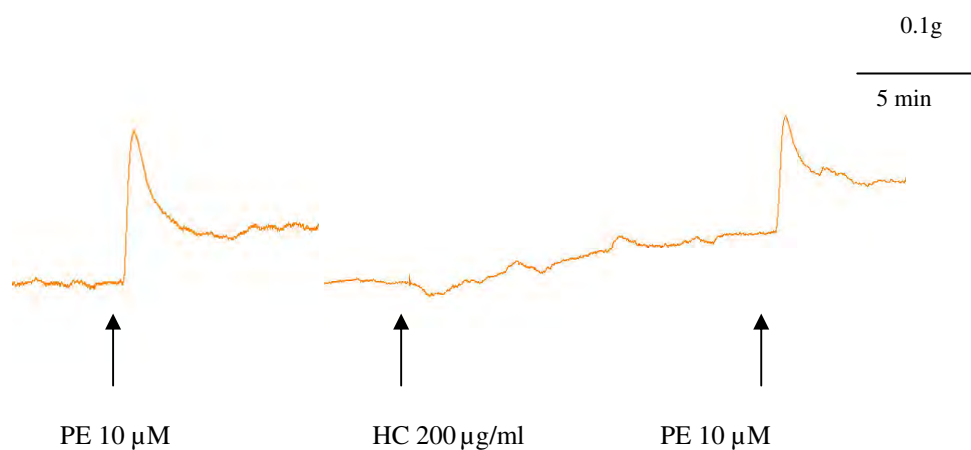
* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม (p<0.05)



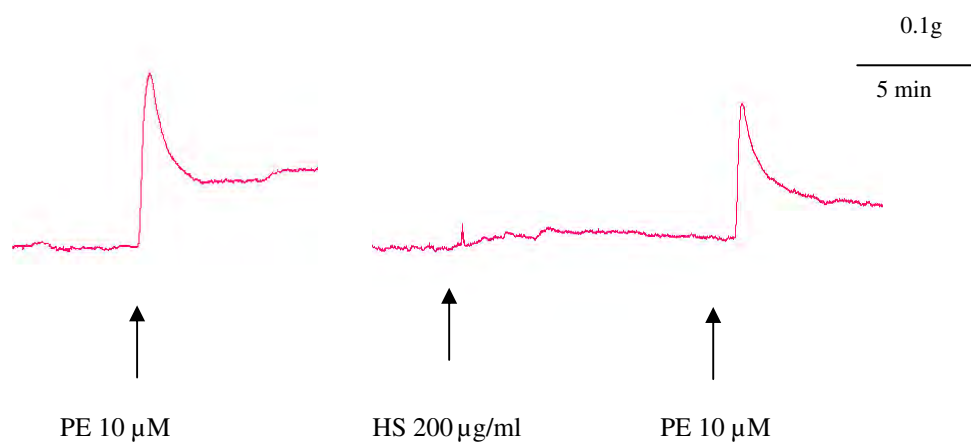
รูปที่ 37 ผลของDMSO ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อหุ้ม เมื่อถูกกระตุ้นด้วย PE 10 μM ในสารละลาย Ca²⁺ - free



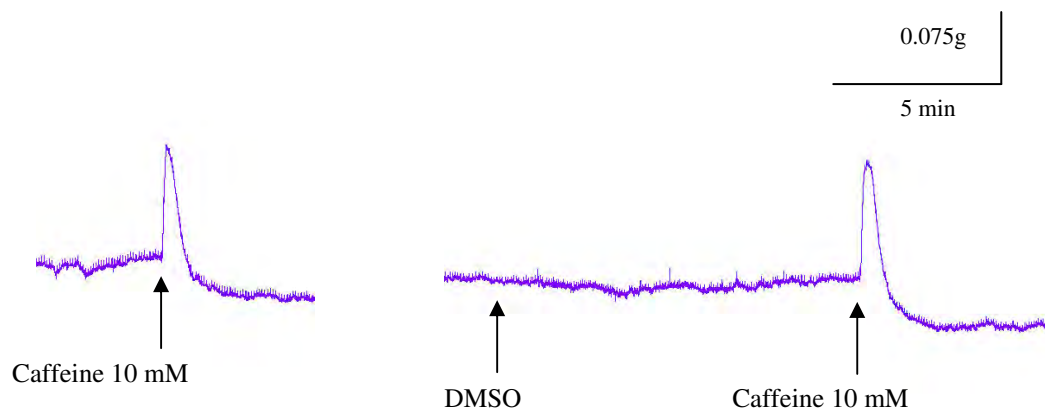
รูปที่ 38 ผลของน้ำมันไพล (FI) ความเข้มข้น 200 μg/ml ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อหุ้ม เมื่อถูกกระตุ้นด้วย PE 10 μM ในสารละลาย Ca²⁺ - free



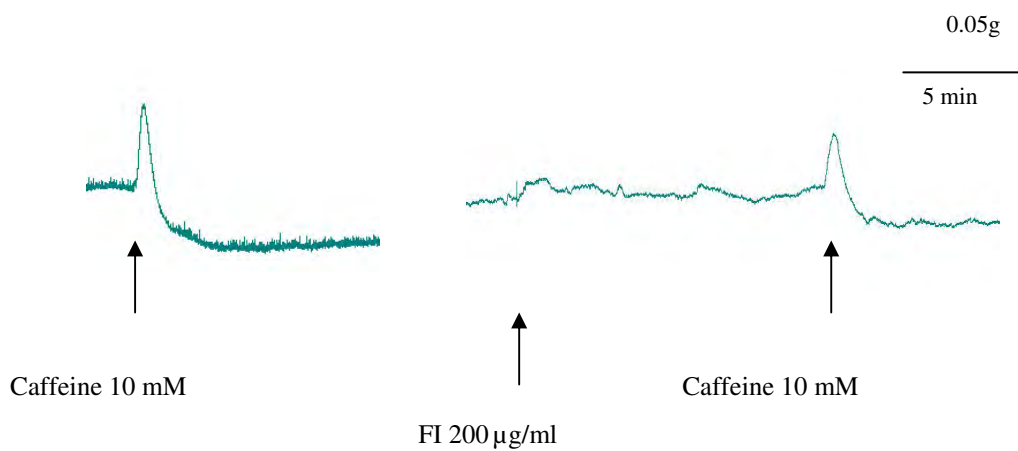
รูปที่ 39 ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบ (HC) ความเข้มข้น 200 $\mu\text{g/ml}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย PE 10 μM ในสารละลาย Ca^{2+} - free



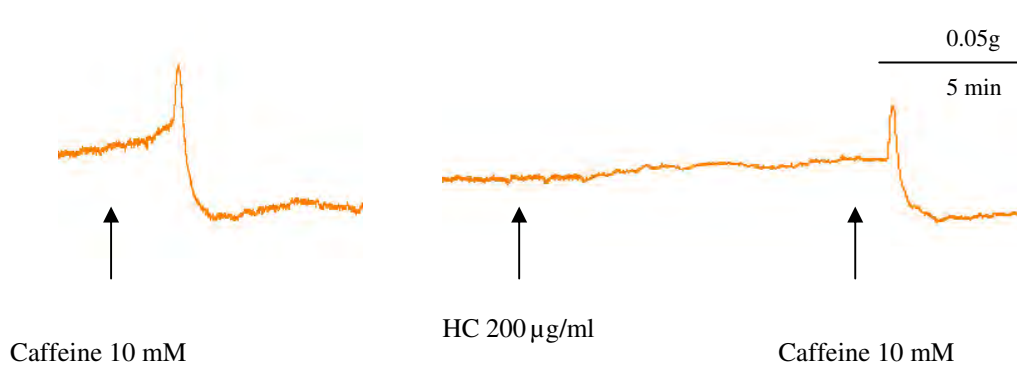
รูปที่ 40 ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพร(HS) ความเข้มข้น 200 $\mu\text{g/ml}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย PE 10 μM ในสารละลาย Ca^{2+} - free



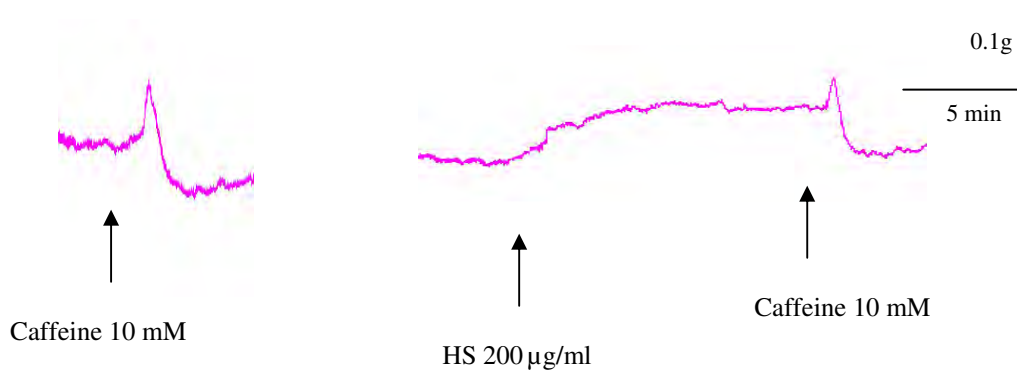
รูปที่ 41 ผลของDMSO ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อหุ้ม เมื่อถูกกระตุ้นด้วย Caffeine 10 mM ในสารละลาย Ca^{2+} - free



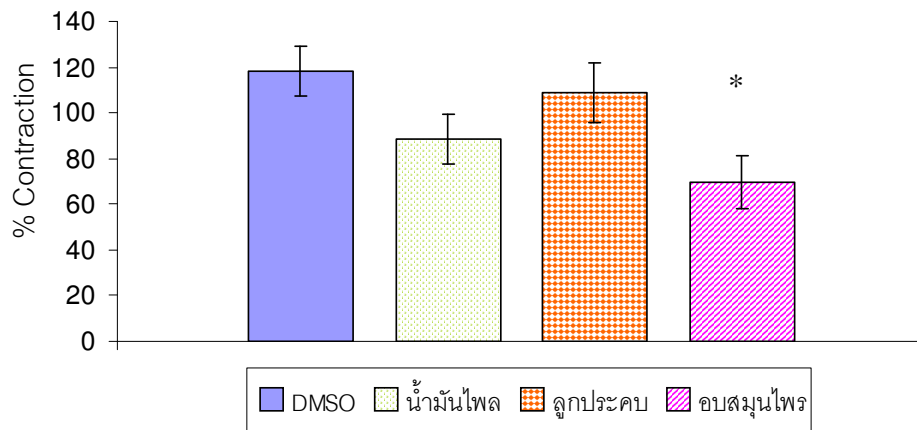
รูปที่ 42 ผลของน้ำมันไพล (FI) ความเข้มข้น 200 µg/ml ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อหุ้ม เมื่อถูกกระตุ้นด้วย Caffeine 10 mM ในสารละลาย Ca^{2+} - free



รูปที่ 43 ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบ (HC) ความเข้มข้น 200 µg/ml ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย Caffeine 10 mM ในสารละลาย Ca^{2+} - free



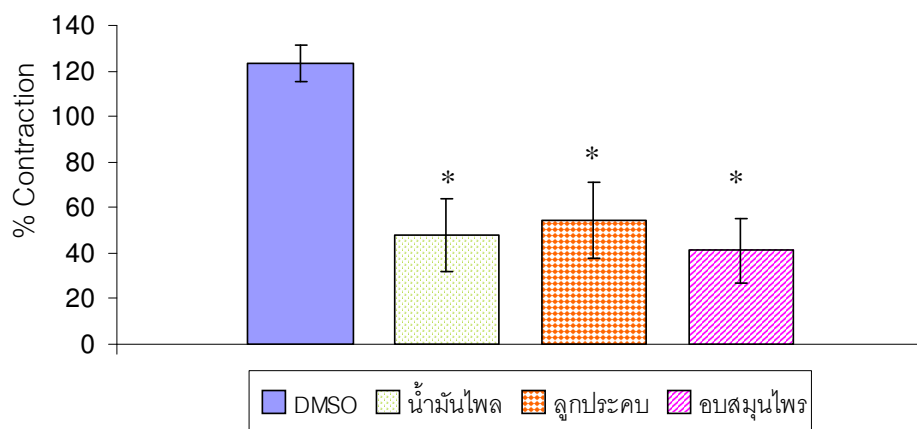
รูปที่ 44 ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพร (HS) ความเข้มข้น 200 µg/ml ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย Caffeine 10 mM ในสารละลาย Ca^{2+} - free



รูปที่ 45 ผลของน้ำมันไพล, น้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบและผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรความเข้มข้น 200 $\mu\text{g/ml}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อหุ้ม เมื่อกระตุ้นด้วย PE 10 μM ในสารละลาย Ca^{2+} - free

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (n=4-5)

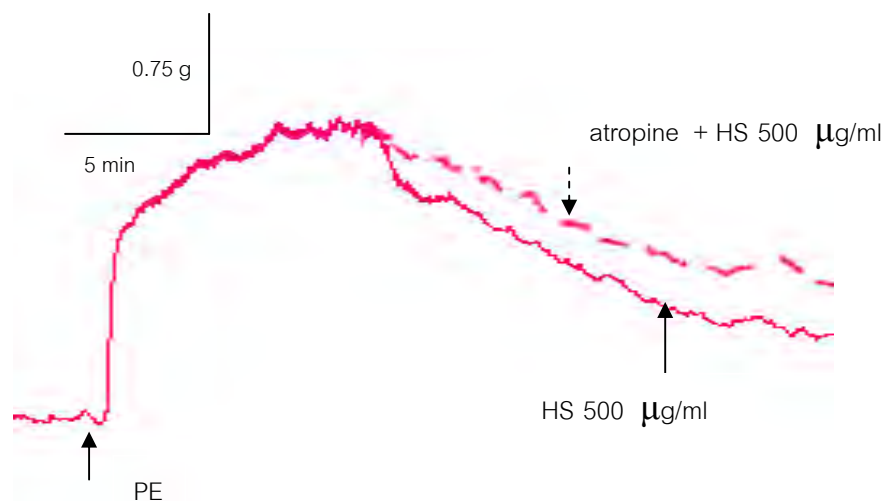
* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม DMSO ($p < 0.05$)



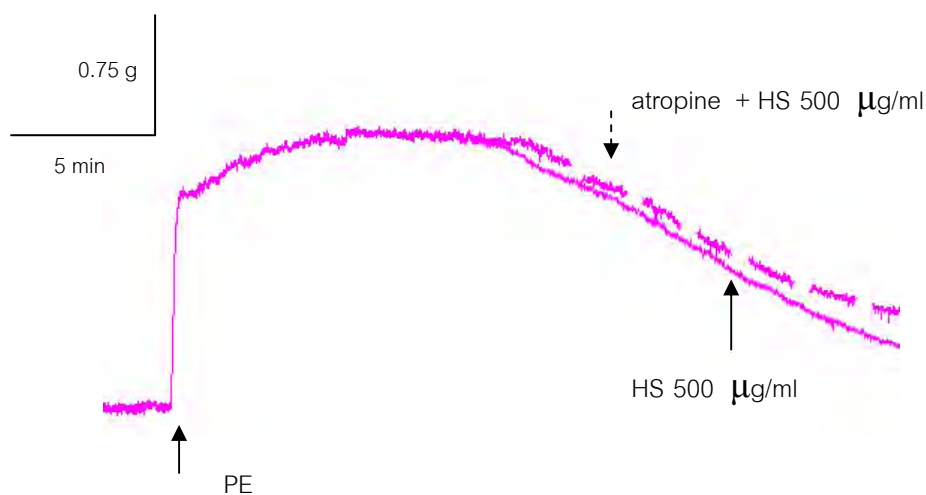
รูปที่ 46 ผลของน้ำมันไพล, น้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบและผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรความเข้มข้น 200 $\mu\text{g/ml}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว เมื่อกระตุ้นด้วย Caffeine 10 mM ในสารละลาย Ca^{2+} - free

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (n=4-5)

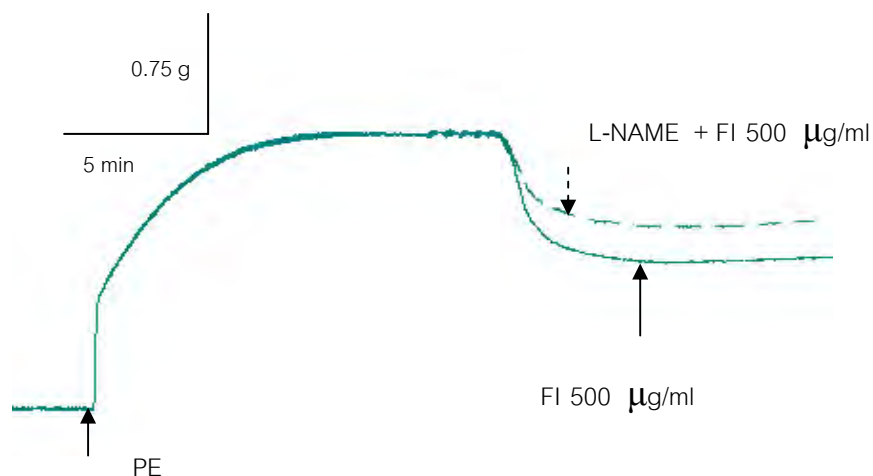
* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม DMSO ($p < 0.05$)



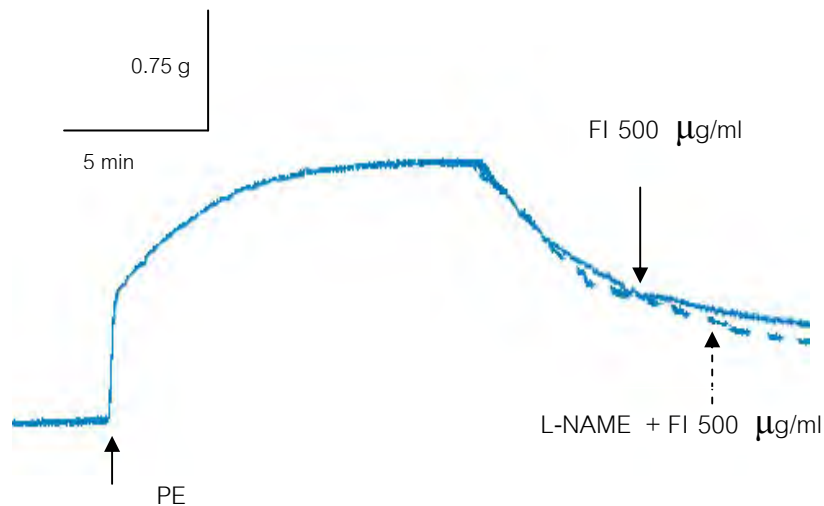
รูปที่ 47 ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพร (HS) ความเข้มข้น 500 $\mu\text{g/ml}$ ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ (แบบมีเซลล์เยื่อบุผิว) เมื่อให้ atropine (10 μM) ในสารละลายที่มี Ca^{2+} โดยใช้ PE (10 μM) เป็นตัวกระตุ้นให้หดตัว (รูปที่แสดงนี้เป็นการ overlay ของ tracing ก่อนและหลังให้ vasodilation inhibitor)



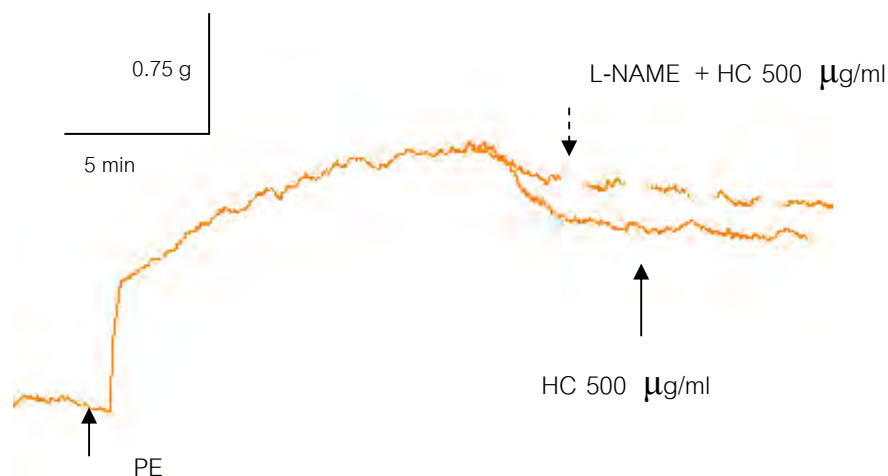
รูปที่ 48 ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพร (HS) ความเข้มข้น 500 $\mu\text{g/ml}$ ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ (แบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว) เมื่อให้ atropine (10 μM) ในสารละลายที่มี Ca^{2+} โดยใช้ PE (10 μM) เป็นตัวกระตุ้นให้หดตัว (รูปที่แสดงนี้เป็นการ overlay ของ tracing ก่อนและหลังให้ vasodilation inhibitor)



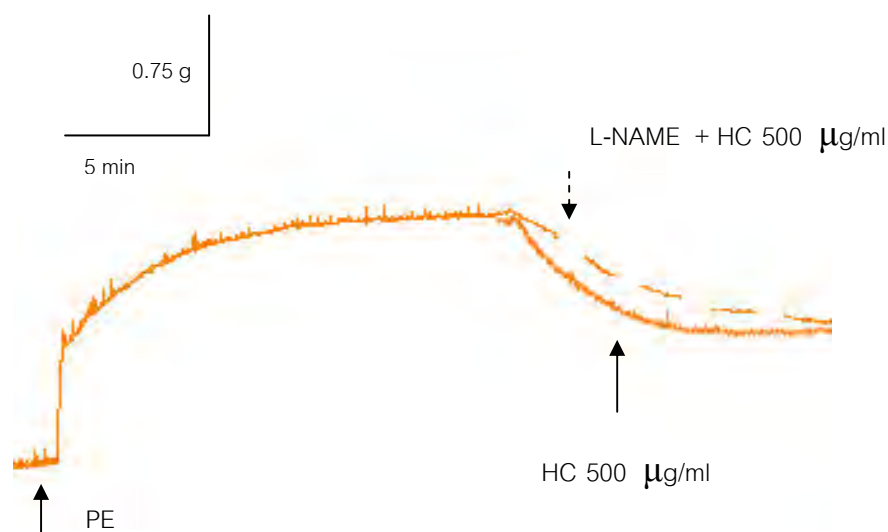
รูปที่ 49 ผลของน้ำมันไพล(FI) ความเข้มข้น 500 $\mu\text{g/ml}$ ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ (แบบมีเซลล์เยื่อบุผิว) เมื่อให้ L-NAME (100 μM) ในสารละลายที่มี Ca^{2+} โดยใช้ PE (10 μM) เป็นตัวกระตุ้นให้หดตัว (รูปที่แสดงนี้เป็นการ overlay ของ tracing ก่อนและหลังให้ vasodilation inhibitor)



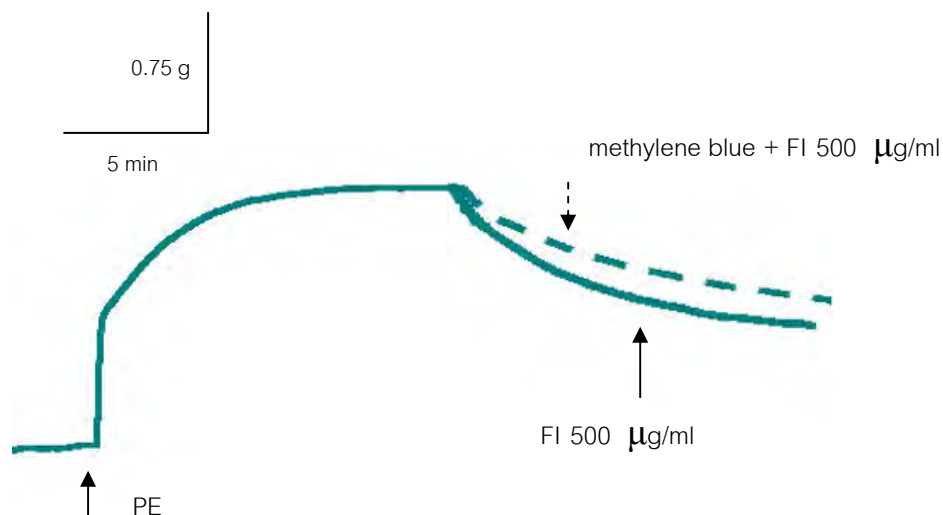
รูปที่ 50 ผลของน้ำมันไพล(FI) ความเข้มข้น 500 $\mu\text{g/ml}$ ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ (แบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว) เมื่อให้ L-NAME (100 μM) ในสารละลายที่มี Ca^{2+} โดยใช้ PE (10 μM) เป็นตัวกระตุ้นให้หดตัว (รูปที่แสดงนี้เป็นการ overlay ของ tracing ก่อนและหลังให้ vasodilation inhibitor)



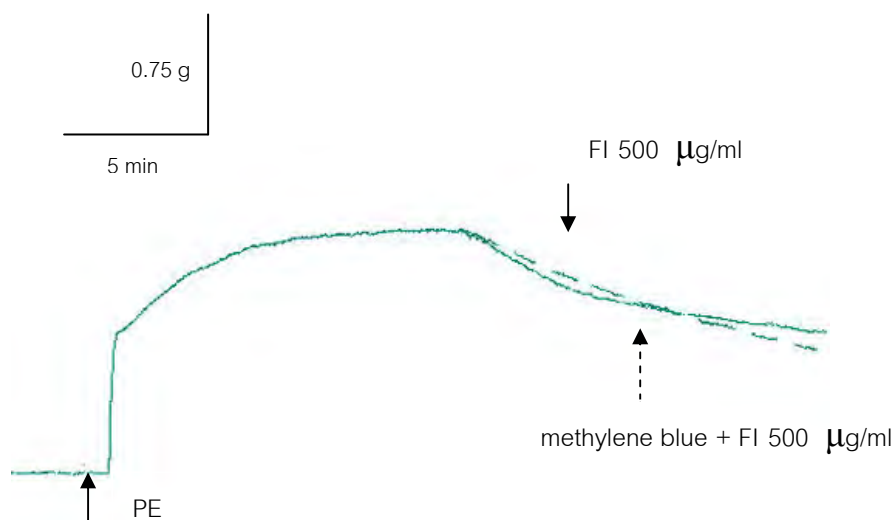
รูปที่ 51 ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบ(HC) ความเข้มข้น 500 $\mu\text{g/ml}$ ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ (แบบมีเซลล์เยื่อบุผิว) เมื่อให้ L-NAME (100 μM) ในสารละลายที่มี Ca^{2+} โดยใช้ PE (10 μM) เป็นตัวกระตุ้นให้หดตัว (รูปที่แสดงนี้เป็นการ overlay ของ tracing ก่อนและหลังให้ vasodilation inhibitor)



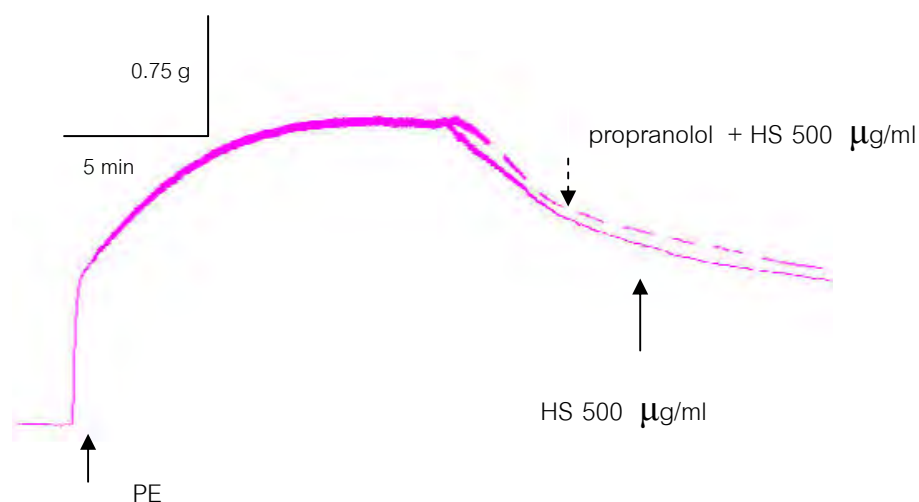
รูปที่ 52 ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบ(HC) ความเข้มข้น 500 $\mu\text{g/ml}$ ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ (แบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว) เมื่อให้ L-NAME (100 μM) ในสารละลายที่มี Ca^{2+} โดยใช้ PE (10 μM) เป็นตัวกระตุ้นให้หดตัว (รูปที่แสดงนี้เป็นการ overlay ของ tracing ก่อนและหลังให้ vasodilation inhibitor)



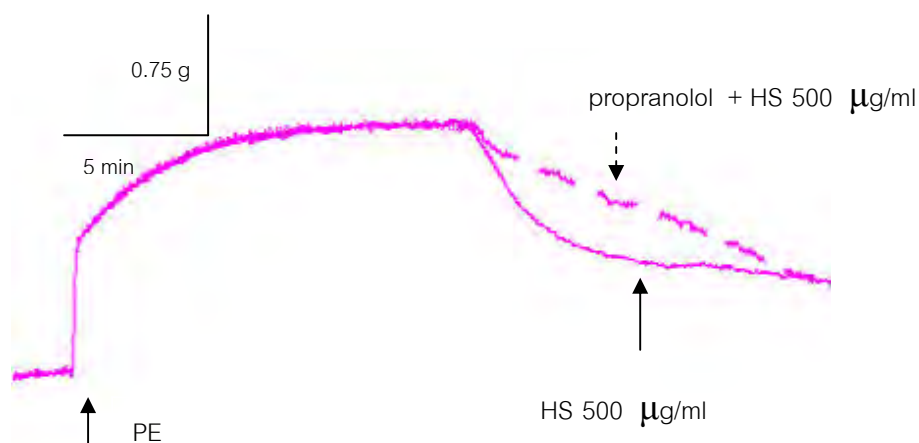
รูปที่ 53 ผลของน้ำมันไพล(FI) ความเข้มข้น 500 $\mu\text{g/ml}$ ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ (แบบมีเซลล์เยื่อบุผิว) เมื่อให้ methylene blue (10 μM) ในสารละลายที่มี Ca^{2+} โดยใช้ PE (10 μM) เป็นตัวกระตุ้นให้หดตัว (รูปที่แสดงนี้เป็นการ overlay ของ tracing ก่อนและหลังให้ vasodilation inhibitor)



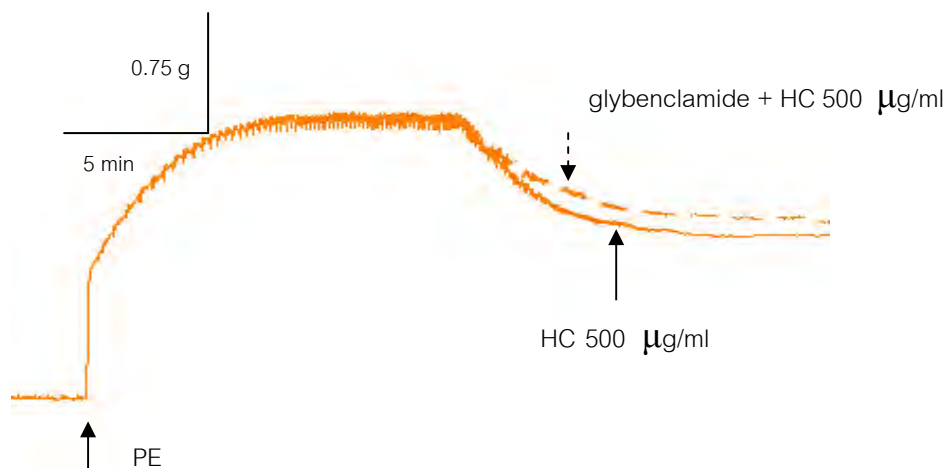
รูปที่ 54 ผลของน้ำมันไพล(FI) ความเข้มข้น 500 $\mu\text{g/ml}$ ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ (แบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว) เมื่อให้ methylene blue (10 μM) ในสารละลายที่มี Ca^{2+} โดยใช้ PE (10 μM) เป็นตัวกระตุ้นให้หดตัว (รูปที่แสดงนี้เป็นการ overlay ของ tracing ก่อนและหลังให้ vasodilation inhibitor)



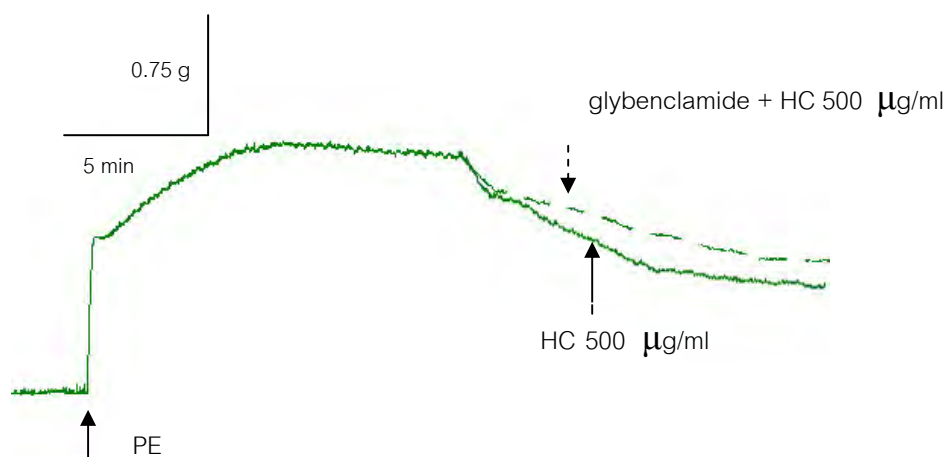
รูปที่ 55 ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับบอบสมุนไพรมะพร้าว(HS) ความเข้มข้น 500 $\mu\text{g/ml}$ ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ (แบบมีเซลล์เยื่อบุผิว) เมื่อให้ propranolol (10 μM) ในสารละลายที่มี Ca^{2+} โดยใช้ PE (10 μM) เป็นตัวกระตุ้นให้หดตัว (รูปที่แสดงนี้เป็นการ overlay ของ tracing ก่อนและหลังให้ vasodilation inhibitor)



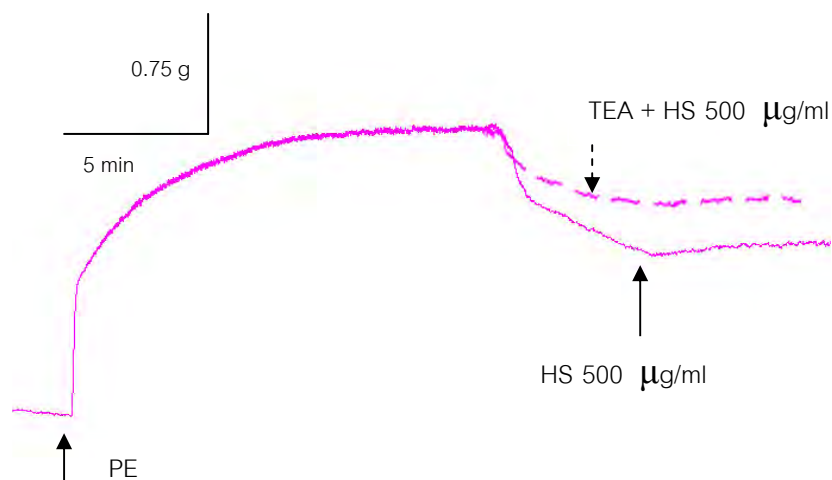
รูปที่ 56 ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับบอบสมุนไพรมะพร้าว(HS) ความเข้มข้น 500 $\mu\text{g/ml}$ ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ (แบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว) เมื่อให้ propranolol (10 μM) ในสารละลายที่มี Ca^{2+} โดยใช้ PE (10 μM) เป็นตัวกระตุ้นให้หดตัว (รูปที่แสดงนี้เป็นการ overlay ของ tracing ก่อนและหลังให้ vasodilation inhibitor)



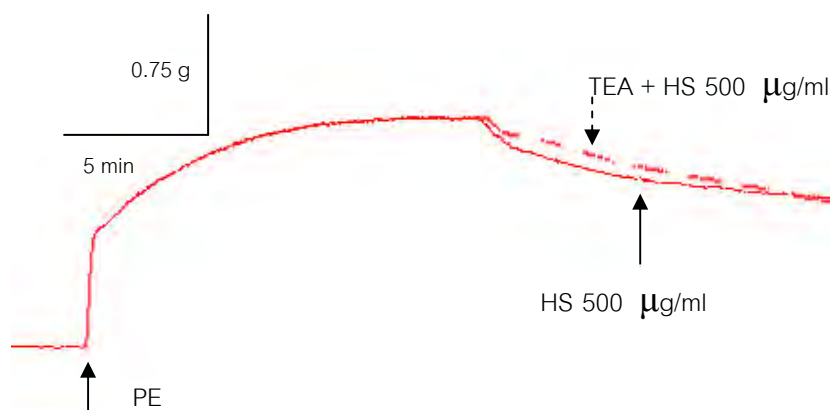
รูปที่ 57 ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบ(HC) ความเข้มข้น 500 $\mu\text{g/ml}$ ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ (แบบมีเซลล์เยื่อหุ้ม) เมื่อให้ glybenclamide (10 μM) ในสารละลายที่มี Ca^{2+} โดยใช้ PE (10 μM) เป็นตัวกระตุ้นให้หดตัว (รูปที่แสดงนี้เป็นการ overlay ของ tracing ก่อนและหลังให้ vasodilation inhibitor)



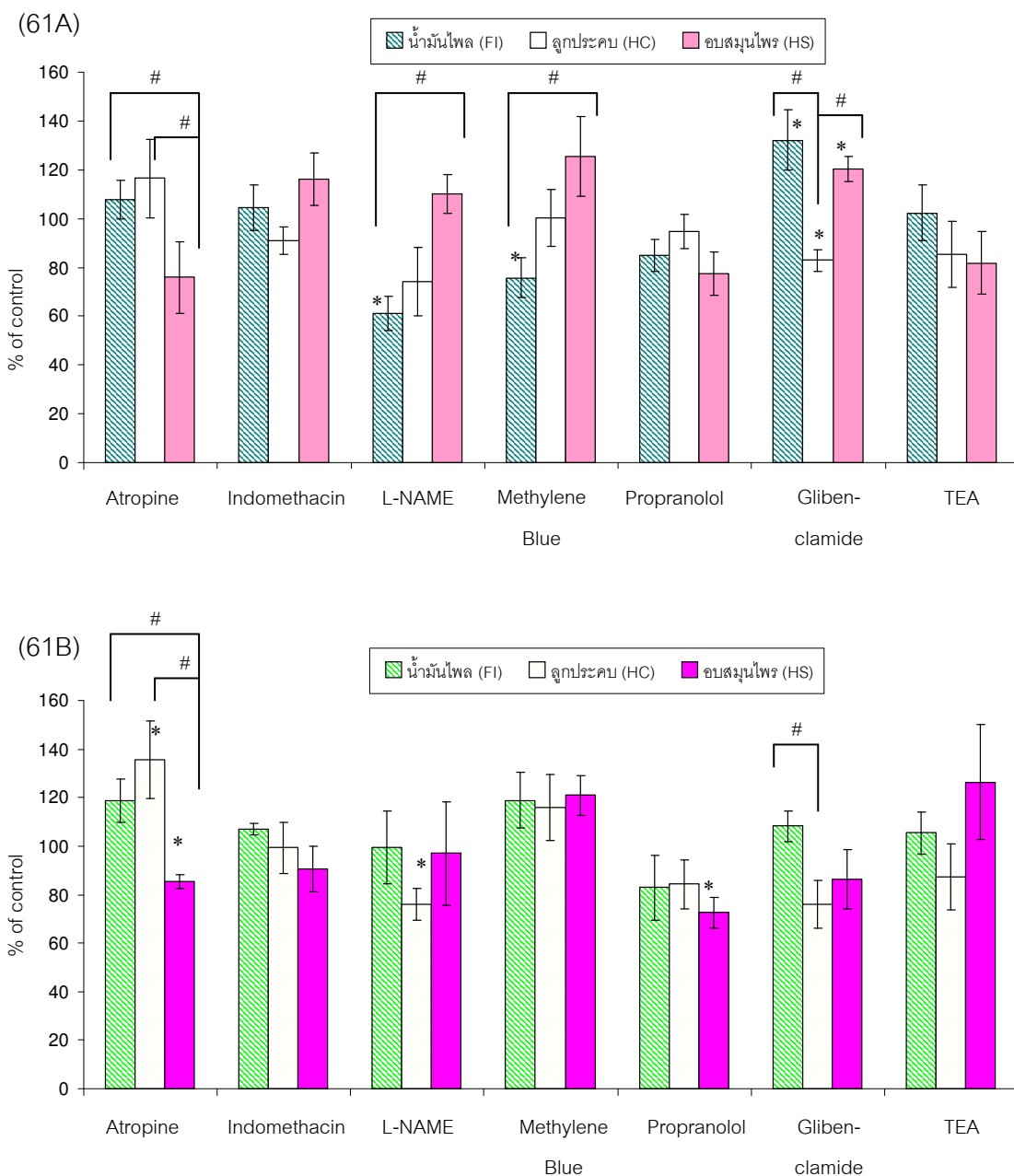
รูปที่ 58 ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบ(HC) ความเข้มข้น 500 $\mu\text{g/ml}$ ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ (แบบไม่มีเซลล์เยื่อหุ้ม) เมื่อให้ glybenclamide (10 μM) ในสารละลายที่มี Ca^{2+} โดยใช้ PE (10 μM) เป็นตัวกระตุ้นให้หดตัว (รูปที่แสดงนี้เป็นการ overlay ของ tracing ก่อนและหลังให้ vasodilation inhibitor)



รูปที่ 59 ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพร(HS) ความเข้มข้น 500 $\mu\text{g/ml}$ ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ (แบบมีเซลล์เยื่อบุผิว) เมื่อให้ TEA (1 mM) ในสารละลายที่มี Ca^{2+} โดยใช้ PE (10 μM) เป็นตัวกระตุ้นให้หดตัว (รูปที่แสดงนี้เป็นการ overlay ของ tracing ก่อนและหลังให้ vasodilation inhibitor)



รูปที่ 60 ผลของน้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพร(HS) ความเข้มข้น 500 $\mu\text{g/ml}$ ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ (แบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว) เมื่อให้ TEA (1 mM) ในสารละลายที่มี Ca^{2+} โดยใช้ PE (10 μM) เป็นตัวกระตุ้นให้หดตัว (รูปที่แสดงนี้เป็นการ overlay ของ tracing ก่อนและหลังให้ vasodilation inhibitor)



รูปที่ 61 ข้อมูลของน้ำมันไหล น้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบและผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรที่ความเข้มข้น 500 $\mu\text{g/ml}$ ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดแดงใหญ่แบบมีเซลล์เยื่อหุ้ม(A) และไม่มีเซลล์เยื่อหุ้ม(B) เมื่อให้ atropine (10 μM), L-NAME (100 μM), indomethacin (10 μM), propranolol (10 μM), methylene blue (10 μM), glibenclamide (10 μM) หรือ TEA (1 mM) ในสารละลายที่มี Ca^{2+} โดยใช้ PE เป็นตัวกระตุ้นให้หดตัว ($n=4-6$)

* แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกลุ่มหลังให้ antagonist กับก่อนให้ โดยเปอร์เซ็นต์การคลายตัวก่อนให้ antagonist จะทำการ normalized เป็น 100% ($p<0.05$)

แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบระหว่างกลุ่มของสารทดสอบ ($p<0.05$)

บทที่ 5

อภิปรายและสรุปผลการทดลอง

การใช้ลูกประคบและการอบสมุนไพรนั้นเชื่อว่ามีผลทำให้ผ่อนคลาย เลือดไหลเวียนดี ดังนั้นการศึกษาวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสารทดสอบที่มีต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ ตลอดจนกลไกการออกฤทธิ์ของผลิตภัณฑ์ตำรับนี้ เนื่องจากสมุนไพรที่นำมาเป็นส่วนประกอบของการทำผลิตภัณฑ์ลูกประคบและผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรนั้นมีความแตกต่างหลากหลายไปแต่ละสูตร ซึ่งการที่มีสมุนไพรหลายชนิดมารวมกันนั้นเป็นไปได้ว่าบางตัวอาจออกฤทธิ์เสริมกัน และบางตัวอาจออกฤทธิ์ต้านกัน ดังนั้นผลที่ได้จากการศึกษานี้จึงเป็นการศึกษาผลรวมของฤทธิ์ของสมุนไพรหลายชนิดที่มาเป็นส่วนประกอบกัน โดยใช้น้ำมันไพลซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของทั้งสองผลิตภัณฑ์เป็นตัวเปรียบเทียบ

ในลำดับแรกได้มีการศึกษาเพื่อหาค่า IC_{50} ซึ่งได้จากผลในการทำให้หลอดเลือดคลายตัวของสารทดสอบโดยใช้ตัวกระตุ้นให้หดตัวที่มีกลไกในการออกฤทธิ์ที่ต่างกันคือ PE และ KCl และทดสอบกับกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแบบที่มีและไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว พบว่าในทุกสภาวะของการทดสอบนั้น น้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรมีความแรงมากที่สุด ในขณะที่น้ำมันไพลซึ่งใช้เป็นตัวแทนเปรียบเทียบมีความแรงน้อยที่สุด และจากการศึกษานี้พบข้อสังเกตที่ว่าเซลล์เยื่อบุผิวมีอิทธิพลต่อการคลายตัวของหลอดเลือดที่เกิดจากผลของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบโดยหากใช้ PE เป็นตัวกระตุ้นให้เกิดการหดตัว เมื่อให้น้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบจะพบว่ากล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแบบที่มีเซลล์เยื่อบุผิวจะคลายตัวได้น้อยกว่าแบบที่ไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว แต่เมื่อเปลี่ยนตัวกระตุ้นเป็น KCl จะให้ผลในทางตรงกันข้าม

เนื่องจากฤทธิ์ในการคลายตัวของสารทดสอบทั้ง 3 ชนิด เกิดจากกลไกทั้งส่วนที่เกี่ยวข้องและไม่เกี่ยวข้อง กับอิทธิพลของเซลล์เยื่อบุผิว ดังนั้นการศึกษานี้จึงประกอบด้วยผลของสารที่มีโดยตรงต่อการทำงานของกล้ามเนื้อเรียบและผลที่มีต่อเซลล์เยื่อบุผิว โดยดูจากฤทธิ์ในการยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบทั้งการยับยั้งการนำ Ca^{2+} เข้าสู่เซลล์ผ่านทาง Ca^{2+} channel ทั้งการยับยั้งกลไกที่เกี่ยวข้องกับการหลั่ง Ca^{2+} จากภายในเซลล์ และกลไกการคลายตัวของหลอดเลือดทั้งที่เกี่ยวข้องและไม่เกี่ยวข้อง กับเซลล์เยื่อบุผิว

เมื่อพิจารณาผลของสารทดสอบต่อการเคลื่อนที่เข้าของ Ca^{2+} นั้นสามารถสรุปได้ว่า สารทดสอบทั้ง 3 ชนิดสามารถยับยั้งการหดตัวที่กระตุ้นด้วย PE และ KCl ในสภาวะที่มี Ca^{2+} ภายนอกได้ แสดงว่าสารทดสอบทั้ง 3 ชนิดสามารถยับยั้งการเคลื่อนที่เข้าของ Ca^{2+} ได้จากกลไกผ่านทาง α_1 -adrenoceptor และ membrane depolarization (Karaki *et al.*, 1997; Webb, 2003) ซึ่งแสดงความไม่จำเพาะต่อกลไกใดกลไกหนึ่ง ผลในการยับยั้งการนำ Ca^{2+} จากภายนอกเข้าสู่เซลล์นั้นได้ศึกษาเพิ่มเติมเพื่อยืนยันข้อสมมติฐานดังกล่าวโดยศึกษาการเคลื่อนที่เข้าสู่เซลล์ของ Ca^{2+} ผ่านทาง VOC ที่ถูกทำให้เปิดด้วยการทำให้กล้ามเนื้อเรียบเกิด membrane depolarization ในสภาวะที่ปราศจาก Ca^{2+} ภายนอกและมี potassium (K^+) สูง ซึ่งในกรณีนี้การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบจะแปรผันตามปริมาณที่เพิ่มขึ้นของ Ca^{2+} อิสระที่ให้ ผลของการทดสอบได้ชี้ให้เห็นว่า สารทดสอบทั้ง 3 ชนิดสามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในสภาวะดังกล่าว โดยมีลักษณะเป็นแบบ non-competitive antagonist โดยลำดับความแรงในการยับยั้งการเคลื่อนที่เข้าของ Ca^{2+} ในสภาวะนี้ได้แก่ น้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบ > น้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพร > น้ำมันไพล ดังนั้นจากผลการศึกษาจึงสามารถสรุปได้ว่ากลไกการออกฤทธิ์ของสารทดสอบทั้ง 3 ชนิดส่วนหนึ่งเกิดจากความสามารถในการยับยั้งการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} จากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ผ่านทาง Ca^{2+} channel ได้ ซึ่งในส่วนของน้ำมันไพลนั้นพบว่าสอดคล้องกับผลการศึกษาที่เคยมีก่อนหน้านี้ (Mesripong, 2006) อย่างไรก็ตาม ฤทธิ์ในการยับยั้งการเคลื่อนที่เข้าของ Ca^{2+} ที่ VOC นั้น น้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบและผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรสามารถยับยั้งได้มากกว่าน้ำมันไพล ยิ่งไปกว่านั้น ในขนาดความเข้มข้นที่สูงขึ้น (200 $\mu\text{g/ml}$) น้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรสามารถยับยั้งการเคลื่อนที่เข้าของ Ca^{2+} จากกลไกผ่านทาง membrane depolarization ได้มากกว่าน้ำมันไพลและน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบอย่างเห็นได้ชัด แม้ว่าในขนาดความเข้มข้นที่น้อยกว่าจะให้ผลไม่แตกต่างกัน

ในส่วนของผลของสารทดสอบทั้ง 3 ชนิดที่มีต่อการยับยั้งการหลั่ง Ca^{2+} จากแหล่งเก็บภายในเซลล์ได้ถูกศึกษาโดยทำการศึกษากการหดตัวในสภาวะที่ปราศจาก Ca^{2+} ภายนอกเซลล์ซึ่งการศึกษาชี้ให้เห็นว่า สารทดสอบทั้ง 3 ชนิดมีผลยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแบบไม่มีเซลล์เยื่อหุ้มที่เกิดจากการหลั่งของ Ca^{2+} จากแหล่งเก็บภายในเซลล์จากการกระตุ้นด้วย caffeine มีเพียงอบสมุนไพรเท่านั้นที่ยับยั้งการหลั่งของ Ca^{2+} จากการกระตุ้นที่ IP_3 receptor จึงสามารถสรุปได้ว่า สารทดสอบทั้ง 3 ชนิดสามารถยับยั้งการหลั่งของ Ca^{2+} จากแหล่งเก็บภายในเซลล์จากกลไกผ่านทาง ryanodine receptor ได้ (Karaki *et al.*, 1997; Imaizumi *et al.*, 1999) โดยที่น้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรแตกต่างจากสารทดสอบอื่นในการที่มีผล

อย่างไม่จำเพาะต่อการหลั่ง Ca^{2+} จากแหล่งเก็บภายใน เนื่องจากมีผลต่อกลไกที่ผ่าน ryanodine receptor และ IP_3 receptor

ส่วนการศึกษากลไกในการทำให้เกิดการคลายตัวของสารทดสอบทั้ง 3 ชนิดนั้น ได้มีการใช้สารยับยั้งการคลายตัวด้วยกลไกการออกฤทธิ์ที่จำเพาะต่างๆทั้งที่เกี่ยวข้องและไม่เกี่ยวข้องกับเซลล์เยื่อบุผิว ได้แก่ atropine (10 μ M), glybenclamide (10 μ M), indomethacin (10 μ M), L-NAME (100 μ M), methylene blue (10 μ M), propranolol (10 μ M) หรือ TEA (1 mM) นั้น ผลการศึกษาได้ชี้ให้เห็นถึงความแตกต่างอย่างชัดเจนเกี่ยวกับการออกฤทธิ์ที่ทำให้เกิดการคลายตัวของสารทดสอบทั้ง 3 ชนิด โดยในส่วนของน้ำมันไพล่นั้น มีเพียง L-NAME และ methylene blue เท่านั้นที่สามารถยับยั้งการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดแบบมีเซลล์เยื่อบุผิวเมื่อนำน้ำมันไพล์ได้ ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่า น้ำมันไพล์อาจกระตุ้นการหลั่ง NO จากเซลล์เยื่อบุผิวและส่งผลให้กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดคลายตัว โดยที่น้ำมันไพล์ไม่ได้กระตุ้นผ่านทาง cholinergic receptor เนื่องจาก atropine ไม่มีผลยับยั้ง (Hecker, 2000; Ledoux *et al.*, 2006) อย่างไรก็ตาม ผลของน้ำมันไพล์ต่อ endothelium-independent pathway ในการทำให้กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดคลายตัวนั้นไม่น่าจะเกี่ยวข้องกับ β -adrenoceptor

สำหรับฤทธิ์ในการทำให้เกิดการคลายตัวของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบนั้น พบว่าน่าจะมีฤทธิ์ที่ทำให้กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดคลายตัวได้โดยทำให้เกิด hyperpolarization ด้วยการนำ K^+ ออกจากภายในเซลล์สู่ภายนอกเซลล์ผ่านทาง ATP-sensitive potassium channel เนื่องจากในการใช้ inhibitor ต่างๆในการศึกษาฤทธิ์การคลายตัวทั้งที่เกี่ยวข้องและไม่เกี่ยวข้องกับเซลล์เยื่อบุผิว มีเพียง glybenclamide เท่านั้นที่สามารถยับยั้งการคลายตัวของหลอดเลือดเมื่อได้รับน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบได้อย่างชัดเจน (Karaki *et al.*, 1997; Hecker, 2000) ซึ่งผลที่ได้นี้ไม่พบในการทดสอบด้วยน้ำมันไพล์และน้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพร ส่วนกรณีที่ atropine สามารถยับยั้งการคลายตัวของหลอดเลือดแบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิวที่ได้รับน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบนั้น อาจเป็นผลจากการที่ atropine มีฤทธิ์ส่วนหนึ่งในการต้านการหดตัวเมื่อกระตุ้นที่ α -adrenoceptor (Chang and Hahn, 1995) ดังนั้นจึงมีผลทำให้หลอดเลือดที่กระตุ้นด้วย PE หดตัวได้ไม่เต็มที่จึงมีผลต่อการคลายตัวของหลอดเลือดได้

ในกรณีการคลายตัวจากน้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรนั้น การศึกษาโดยการใช้ inhibitor ต่างๆทั้งที่เกี่ยวข้องและไม่เกี่ยวข้องกับเซลล์เยื่อบุผิว พบว่า มีเพียง propranolol และ TEA ที่ให้ผลในการต้านฤทธิ์การคลายตัวที่ชัดเจน โดย propranolol สามารถยับยั้งฤทธิ์การคลายตัวของหลอดเลือดทั้งแบบที่มีและไม่มีเซลล์เยื่อบุผิวจากการให้น้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพร ดังนั้นน้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรน่าจะ

มีฤทธิ์ส่วนหนึ่งที่ทำให้กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดคลายตัวได้โดยเกี่ยวกับการกระตุ้นที่ β -adrenoceptor ที่อยู่บนกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด (Baloglu *et al.*, 2007) และ TEA สามารถยับยั้งฤทธิ์การคลายตัวของหลอดเลือดแบบที่มีเซลล์เยื่อบุผิวได้โดยแตกต่างกับหลอดเลือดแบบที่ไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว

ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่า น้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรน่าจะมีฤทธิ์ส่วนหนึ่งที่มีผลทำให้กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดคลายตัวได้โดยทำให้เกิด hyperpolarization ที่เซลล์เยื่อบุผิวแล้วส่งผลให้กล้ามเนื้อเรียบเกิดการคลายตัว ซึ่งการเกิด hyperpolarization ที่เซลล์เยื่อบุผิวนั้นทำได้ด้วยการนำ K^+ ออกจากภายในเซลล์สู่ภายนอกเซลล์ผ่านทาง SK3 channel และ/หรือ IK channel ซึ่งเป็น Ca^{2+} -activated K^+ channel ที่มีเฉพาะบนเซลล์เยื่อบุผิวเท่านั้น (Ledoux *et al.*, 2006) ซึ่งผลที่ได้จากการศึกษาหากลไกการออกฤทธิ์ในการคลายตัวของสารทดสอบนี้ไม่พบในการทดสอบด้วยน้ำมันโพลและน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบ

นอกจากสารทดสอบทั้ง 3 จะออกฤทธิ์ผ่านทางกลไกการคลายตัวที่ได้ทำการทดสอบในงานวิจัยนี้แล้ว ยังมีความเป็นไปได้ว่าสารทดสอบทั้ง 3 อาจจะมีผลทำให้กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดเกิดการคลายตัวได้โดยเกี่ยวข้องกับกลไกการลด Ca^{2+} Sensitivity หรือกระตุ้นการทำงานของ MLC phosphatase ซึ่งมีผลทำให้เกิดการคลายตัวได้ หรืออาจจะเกี่ยวข้องกับการกระตุ้นการทำงานของ Ca, Mg -ATPase กระตุ้นให้มีการ uptake Ca^{2+} เข้าสู่แหล่งเก็บภายในเซลล์ และเพิ่มการขับ Ca^{2+} ออกจากเซลล์โดยการกระตุ้นที่ Ca^{2+} -pump และ Na^+/Ca^{2+} exchanger (NCX) ที่เยื่อหุ้มเซลล์ (Webb, 2003; Nishimura, 2006)

จากการศึกษาทั้งหมดดังกล่าวมานี้ จึงสามารถสรุปได้ว่าองค์ประกอบของสมุนไพรในตำรับการทำลูกประคบและผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรที่ต่างกัน มีผลให้การออกฤทธิ์รวมของสารทั้ง 2 ต่างกัน ซึ่งต่างก็มีผลต่อการคลายตัวของหลอดเลือดโดยรวมได้ดีกว่าน้ำมันโพล และสามารถทำให้กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดทั้งแบบที่มีและไม่มีเซลล์เยื่อบุผิวคลายตัวได้ ดังนั้นการศึกษานี้จึงเป็นการยืนยันว่าน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบและผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรตำรับนี้สามารถทำให้หลอดเลือดคลายตัว มีผลให้เลือดไหลเวียนดี ช่วยให้เกิดการผ่อนคลายได้ทั้งสามารถนำไปใช้ได้ในกรณีที่หลอดเลือดนั้นอยู่ในสภาวะที่เซลล์เยื่อบุผิวเสียสภาพอันเนื่องมาจากปัจจัยทางด้านอายุหรือสุขภาพ โดยน้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรมีผลต่อการคลายตัวของหลอดเลือดโดยรวมได้ดีที่สุด

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

กองกานดา ชยามฤต. 2540. **สมุนไพรไทย ตอนที่6**. พิมพ์ครั้งที่1. กรุงเทพฯ.

คณิน ไตรพิพิธสิริวัฒน์. 2548 **การอบสมุนไพร**[online]. บัลวี ศูนย์ธรรมชาติบำบัด. แหล่งที่มา:
<http://www.balavi.com/webboard/QAview.asp?id=3827> [7 ตุลาคม 2550]

นียดา เกียรติยิ่งอังศุลี มนัส หวังหมัด กมล สวัสดิ์มงคล และคณะ. 2522. ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของ
สารสำคัญจากไพล (*Zingiber cassumunar* Roxb.). **วารสาร
กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์** 21(1):13-24.

เพ็ญนภา ทรัพย์เจริญ และ ภัทราพร ตั้งสุขฤทัย. **จะอย่างไรเมื่อท่านปวดข้อ ข้อฝืด ข้อเสื่อม**
[online]. สถาบันการแพทย์แผนไทย. แหล่งที่มา: <http://www.halalthailand.com/healthy/subindex.php?page=content&category=&subcategory=&id=32> [5 ตุลาคม 2550]

มานิช วามานนท์ และคณะ. 2537. **ยาสมุนไพรสำหรับงานสาธารณสุขมูลฐาน**. พิมพ์ครั้งที่ 1.:โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก. 120-121.

วัลภา อนันตสานต์ และเล็ก นพดลรัตน์กุล. 2523. การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของน้ำสกัดไพล (ปู่เลย) ต่อกลิ้มเนื้อเรียบในหนูขาว ตอนที่1. **วารสารสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ** 12(1): 51-68.

วัลภา อนันตสานต์. 2525. การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของน้ำสกัดไพล (ปู่เลย) ต่อกลิ้มเนื้อเรียบในหนูขาว ตอนที่ 2. **วารสารสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ** 14(1): 1-24.

วิชัย รุ่งตระกูล. 2546. **นวัตกรรมสมุนไพร : ไพลทานอยด์ (PlaitanoidsTm)** [Online]. แหล่งที่มา: <http://www.royin.go.th/th/knowledge/detail.php?ID=915> [5 ตุลาคม 2550]

สมสุข มัจฉาชีพ. 2534. **พืชสมุนไพร**. พิมพ์ครั้งที่ 1. โรงพิมพ์นันทชัย. 150.

สิริลักษณ์ มาลานิยม. 2545. **น้ำมันหอมระเหยสารสกัดจากพืชสมุนไพรไทย**. สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมสาร 28: 3-6.

อัมพวัน อภิสริยะกุล. 2546. **ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของขมิ้นชัน**[Online]. แหล่งที่มา: <http://www.ist.cmu.ac.th/riseat/nl/2003/10/05.php> [5 ตุลาคม 2550]

ภาษาอังกฤษ

Bakris, G.L. 2007. Pharmacological augmentation of endothelium-derived nitric oxide synthesis. *Journal of Managed Care Pharmacy* 13(5): S9-S12.

Baloglu, E., Kiziltepe, O., and Gürdal, H. 2007 The role of Gi proteins in reduced vasorelaxation response to beta-adrenoceptor agonists in rat aorta during maturation. *European Journal of Pharmacology* 564: 167-73.

Chang, K.C., and Hahn, K.H. 1995. Is alpha-adrenoceptor blockade responsible for atropine flush? *European Journal of Pharmacology* 284(3): 331-4.

Cohen, J.D. 2007. Overview of physiology, vascular biology, and mechanism of hypertension. *Journal of Managed Care Pharmacy* 13(5): S6-S8.

Cooke, B., and Ernst, E. 2000. Aromatherapy: a systematic review. *British Journal of General Practice* 50: 493-496

De Angelis, A., Rinaldi, B., Capuano, A., Rossi, F., and Filippelli, A. 2004. Indomethacin potentiates acetylcholine-induced vasodilation by increasing free radical production. *British Journal of Pharmacology* 142(8):1233-40.

- Han, A.R., Kim, M.S., Jeong Y.H., Lee S.K., and Seo E.K. 2005. Cyclooxygenase-2 inhibitory phenylbutenoids from the rhizomes of *Zingiber cassumunar*. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin** 53(11): 1466-68.
- Hecker, M. 2000. Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factor-Fact or Fiction? **News in Pharmacological Sciences** 15:1-5
- Hofmann, F., Ammendola, A., and Schlossman, J. 2000. Rising behind NO: cGMP-dependent protein kinases. **Journal of Cell Science** 113: 1671-1676
- Hong, C.H., Hur, S.K., Oh, O.J., Kim, S.S., Nam, K.A., and Lee, S.K. 2002. Evaluation of natural products on inhibition of inducible cyclooxygenase (COX-2) and nitric oxide synthase (iNOS) in cultured mouse macrophage cells. **Journal of Ethnopharmacol** 83:153-9.
- Ignarro, L.J. 1989. Endothelium-derived nitric oxide: actions and properties. **FASEB Journal** 3: 31-36.
- Imaizumi, Y., Ohi, Y., Yamamura, H., Ohya, S., Muraki, K., and Watanabe, M. 1999. Ca²⁺ spark as a regulator of ion channel activity. **Japanese Journal of Pharmacology** 80(1):1-8.
- Jackson, W.F. 2000. Ion Channels and Vascular Tone. **Journal of American Heart Association** 35:173-178.
- Johnson, M. 1998. The beta-adrenoceptor. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine** 158:S146-53.
- Karaki, H., et al. 1997. Calcium movements, distribution, and functions in smooth muscle. **Pharmacological Reviews** 49(2):157-230

- Lantz, R.C., Chen, G.J., Solyom, A.M., Jolad, S.D., Timmermann, B.N., et al. 2005. The effect of turmeric extracts on inflammatory mediator production. **Phytomedicine** 12:445-52.
- Ledoux, J., Werner, M.E., Brayden, J.E., and Nelson, M.T. 2006. Calcium-activated potassium channels and the regulation of vascular tone. **Physiology** 21:69-78. Review.
- Lee, J.W., Min, H.Y., Han, A.R., Chung, H.J., Park, E.J., et al. 2007. Growth inhibition and induction of G1 phase cell cycle arrest in human lung cancer cells by a phenylbutenoid dimer isolated from *zingiber cassumunar*. **Biological & Pharmaceutical Bulletin** 30(8): 1561-1564.
- Masuda, T. and Jitoe, A. 1995. Phenylbutenoid monomers from the rhizomes of *zingiber cassumunar*. **Phytochemistry** 39(2): 459-461.
- Mesripong, R. 2006. **Effects of oil from Zingiber cassumunar Roxb. On vascular tone of isolated rat aorta.** Master's Thesis, Department of Pharmacology, Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University.
- Nagano, T., Oyama, Y., Kajita, N., Chikahisa, L., Nakata, M., et al. 1997. New curcuminoids isolated from *zingiber cassumunar* protect cells suffering from oxidative stress: A flow-cytometric study using rat thymocytes and H₂O₂. **Japanese Journal of Pharmacology** 75: 363-370.
- Nakno, D., Kwak, C.J., Fujii, K., Ikemura, K., Satake, A., et al. 2006. Sesamin metabolites induce an endothelial nitric oxide-dependent vasorelaxation through their antioxidative property-independent mechanism: possible involvement of the metabolites in the antihypertensive effect of sesamin. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics** 318(1): 328-335.

- Nishimura, J. 2006. Topics on the $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger: involvement of $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger in the vasodilator-induced vasorelaxation. **Journal of Pharmacological Society** 102(1):27-31.
- Ramsewak, R.S., Dewitt, D.L., and Nair, M.G. 2000. Cytotoxicity, antioxidant and anti-inflammatory activities of curcumins I-III from *Curcuma longa*. **Phytomedicine** 7(4):303-8.
- Ratz, P.H., Berg, K.M., Urban, N.H., and Miner, A.S. 2005. Regulation of smooth muscle calcium sensitivity: KCl as a calcium-sensitizing stimulus. **American Journal of Physiology. Cell Physiology** 288(4):C769-83.
- Venkateshwarlu, V. 1997. Cyclo-oxygenase inhibitors from spices. **Indian Drugs** 34(8):427-32.
- Webb, R.C. 2003. Smooth muscle contraction and relaxation. **Advances in Physiology Education** 27(1-4):201-6.

ภาคผนวก

ตารางที่ 3 ส่วนประกอบ Physiological solution (มิลลิโมล/ลิตร)

สารเคมี	Physiological solution		
	Kreb Henseleit	Ca ²⁺ -free Kreb Henseleit	Potassium Depolarizing
NaCl	118	118	27
KCl	4.7	4.7	100
CaCl ₂	2.5	-	-
MgSO ₄	1.0	1.0	-
NaHCO ₃	25	25	14.0
KH ₂ PO ₄	1.2	1.2	-
Glucose	11.1	11.1	10
EDTA	-	0.1	-
MgCl ₂	-	-	2.25

(De Angelis et. al., 2004)

ตารางที่ 4 ข้อมูลของ DMSO, น้ำมันไพล, น้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบและผลิตภัณฑ์สำหรับ
 ออบสมุนไพรความเข้มข้น 50, 100 และ 200 $\mu\text{g/ml}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ
 ของหลอดเลือดแดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว เมื่อกระตุ้นด้วย PE 10 μM หรือ KCl
 40 mM

สารทดสอบ	ความเข้มข้น ($\mu\text{g/ml}$)	การหดตัว (%)	
		PE 10 μM	KCl 40 mM
น้ำมันไพล	50	81.24 \pm 2.56*	76.79 \pm 4.18*
	100	62.64 \pm 3.06*	71.07 \pm 5.90*
	200	54.41 \pm 3.72*	57.53 \pm 6.06*
น้ำมันระเหยง่าย จากลูกประคบ	50	79.5 \pm 4.46*	58.42 \pm 6.02*
	100	67.57 \pm 6.24*	54.64 \pm 5.34*
	200	50.22 \pm 4.64*	45.94 \pm 9.13*
น้ำมันระเหยง่ายจาก ผลิตภัณฑ์สำหรับ ออบสมุนไพร	50	75.11 \pm 4.13*	64.06 \pm 6.11*
	100	63.67 \pm 2.51*	57.55 \pm 6.67*
	200	50.67 \pm 4.88*	25.74 \pm 4.39*
DMSO	0.07% (v/v)	99.36 \pm 0.71	101.23 \pm 2.99

ตารางแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (n=4-6)

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม ($p < 0.05$)

ตารางที่ 5 ข้อมูลของ DMSO, น้ำมันไพล, น้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบและผลิตภัณฑ์สำหรับ
 อบสมุนไพรรักษาความเข้มข้น 200 $\mu\text{g/ml}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด
 แดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อหุ้ม เมื่อกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative dose-
 response curve ในสารละลาย high K^+ - Ca^{2+} -free

CaCl ₂ concentration (M)	การหดตัว (%)				
	Control	น้ำมันไพล (200 $\mu\text{g/ml}$)	ลูกประคบ (200 $\mu\text{g/ml}$)	อบสมุนไพรรักษา (200 $\mu\text{g/ml}$)	DMSO
10^{-5}	6.96 \pm 0.43	0.58 \pm 3.28	-2.51 \pm 1.93	-3.20 \pm 1.79*	7.05 \pm 2.80
5×10^{-5}	15.86 \pm 0.53	6.84 \pm 5.48	-0.35 \pm 0.48*	-3.16 \pm 2.16*	13.89 \pm 3.95
10^{-4}	24.15 \pm 1.0	9.79 \pm 8.32	-2.19 \pm 1.20*	-0.91 \pm 2.95*	21.25 \pm 5.72
5×10^{-4}	44.22 \pm 1.46	30.55 \pm 11.19	8.01 \pm 4.22*	11.42 \pm 6.34*	41.33 \pm 8.97
10^{-3}	54.98 \pm 1.70	40.94 \pm 9.56	9.50 \pm 4.24*	15.73 \pm 9.28*	52.37 \pm 9.27
5×10^{-3}	83.02 \pm 1.64	58.56 \pm 9.88	32.91 \pm 4.82*	32.78 \pm 11.45*	81.53 \pm 10.49
10^{-2}	100 \pm 0	76.24 \pm 9.00	43.54 \pm 6.19*	49.38 \pm 11.78*	103.05 \pm 6.29

ตารางแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (n=4-5)

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม (p<0.05)

ตารางที่ 6 ข้อมูลของ DMSO, น้ำมันไพล, น้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบและผลิตภัณฑ์สำหรับ
 ออบสมุนไพรความเข้มข้น 200 $\mu\text{g/ml}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด
 แดงใหญ่แบบไม่มีเซลล์เยื่อหุ้ม เมื่อกระตุ้นด้วย PE 10 μM หรือ Caffeine 10 mM
 ในสารละลาย Ca^{2+} - free

สารทดสอบ	การหดตัว (%) เมื่อให้สารกระตุ้น	
	PE 10 μM	Caffeine 10 mM
น้ำมันไพล(200 $\mu\text{g/ml}$)	88.37 \pm 10.96	48.06 \pm 15.81*
น้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบ (200 $\mu\text{g/ml}$)	109.07 \pm 13.14	54.15 \pm 16.68*
น้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์ สำหรับออบสมุนไพร (200 $\mu\text{g/ml}$)	69.48 \pm 11.46	41.09 \pm 14.15*
DMSO 0.07% (v/v)	118.15 \pm 10.77	123.50 \pm 8.05

ตารางแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (n=4-6)

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม ($p < 0.05$)

ตารางที่ 7 ข้อมูลของน้ำมันไพลที่ความเข้มข้น 500 $\mu\text{g/ml}$ ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดแดงใหญ่ เมื่อให้ atropine (10 μM), L-NAME (100 μM), indomethacin (10 μM), propranolol (10 μM), methylene blue (10 μM), glybenclamide (10 μM) หรือ TEA (1 mM) ในสารละลายที่มี Ca^{2+} และกระตุ้นให้หดตัวด้วย PE 10 μM

Antagonist	การคลายตัว (%) เมื่อเทียบกับก่อนให้ antagonist เป็น 100%	
	Endothelium-Intact	Endothelium-Denuded
atropine (10 μM)	107.72 \pm 7.97	118.61 \pm 9.02
indomethacin (10 μM)	104.48 \pm 9.34	107.10 \pm 2.36
L-NAME (100 μM)	61.15 \pm 6.81 ^{*@}	99.62 \pm 15.03 [@]
methylene blue (10 μM)	75.70 \pm 8.29 [@]	118.92 \pm 11.70 [@]
propranolol (10 μM)	84.84 \pm 6.39	82.89 \pm 13.35
glybenclamide (10 μM)	132.20 \pm 12.33 [*]	108.23 \pm 6.25
TEA (1 mM)	102.33 \pm 11.42	105.35 \pm 8.73

ตารางแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (n=4-6)

* แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกลุ่มหลังให้ antagonist กับก่อนให้ โดยเปอร์เซ็นต์การคลายตัวก่อนให้ antagonist จะทำการ normalized เป็น 100% ($p < 0.05$)

@ แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกลุ่มที่มีและไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว ($p < 0.05$)

ตารางที่ 8 ข้อมูลของน้ำมันระเหยง่ายจากลูกประคบที่ความเข้มข้น 500 $\mu\text{g/ml}$ ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดแดงใหญ่ เมื่อให้ atropine (10 μM), L-NAME (100 μM), indomethacin (10 μM), propranolol (10 μM), methylene blue (10 μM), glybenclamide (10 μM) หรือ TEA (1 mM) ในสารละลายที่มี Ca^{2+} และกระตุ้นให้หดตัวด้วย PE 10 μM

Antagonist	การคลายตัว (%) เมื่อเทียบกับก่อนให้ antagonist เป็น 100%	
	Endothelium-Intact	Endothelium-Denuded
atropine (10 μM)	116.42 \pm 16.15	135.64 \pm 16.07*
indomethacin (10 μM)	90.85 \pm 5.57	99.32 \pm 10.47
L-NAME (100 μM)	74.25 \pm 14.14	76.07 \pm 6.70*
methylene blue (10 μM)	100.30 \pm 11.49	115.86 \pm 13.60
propranolol (10 μM)	94.81 \pm 7.05	84.28 \pm 9.99
glybenclamide (10 μM)	82.85 \pm 4.54*	76.01 \pm 8.89
TEA (1 mM)	85.48 \pm 13.51	87.13 \pm 13.66

ตารางแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (n=4-6)

* แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกลุ่มหลังให้ antagonist กับก่อนให้ โดยเปอร์เซ็นต์การคลายตัวก่อนให้ antagonist จะทำการ normalized เป็น 100% (p<0.05)

@ แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกลุ่มที่มีและไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว (p<0.05)

ตารางที่ 9 ข้อมูลของน้ำมันระเหยง่ายจากผลิตภัณฑ์สำหรับอบสมุนไพรที่ความเข้มข้น 500 $\mu\text{g/ml}$ ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดแดงใหญ่ เมื่อให้ atropine (10 μM), L-NAME (100 μM), indomethacin (10 μM), propranolol (10 μM), methylene blue (10 μM), glybenclamide (10 μM) หรือ TEA (1 mM) ในสารละลายที่มี Ca^{2+} และกระตุ้นให้หดตัวด้วย PE 10 μM

Antagonist	การคลายตัว (%) เมื่อเทียบกับก่อนให้ antagonist เป็น 100%	
	Endothelium-Intact	Endothelium-Denuded
atropine (10 μM)	76.02 \pm 14.71	85.57 \pm 2.84*
indomethacin (10 μM)	116.14 \pm 10.77 [@]	90.72 \pm 9.34 [@]
L-NAME (100 μM)	110.18 \pm 8.04	96.95 \pm 21.24
methylene blue (10 μM)	125.43 \pm 16.37	120.85 \pm 8.30
propranolol (10 μM)	77.40 \pm 8.85	72.57 \pm 6.29*
glybenclamide (10 μM)	120.33 \pm 5.21* [@]	86.42 \pm 12.17 [@]
TEA (1 mM)	81.69 \pm 12.80 [@]	126.37 \pm 23.81 [@]

ตารางแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (n=4-6)

* แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกลุ่มหลังให้ antagonist กับก่อนให้ โดยเปอร์เซ็นต์การคลายตัวก่อนให้ antagonist จะทำการ normalized เป็น 100% (p<0.05)

[@] แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกลุ่มที่มีและไม่มีเซลล์เยื่อบุผิว (p<0.05)

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาว ปาณิสรา อัจฉา เกิดเมื่อวันที่ 29 ธันวาคม 2524 ที่กรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต (ฟิสิกส์) จากคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล เมื่อปีการศึกษา 2547 และได้ศึกษาต่อในระดับปริญญาโทหลักสูตรวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาเภสัชวิทยา (สหสาขา) ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2548