บทที่ 4

อภิปรายและสรุปผลการทดลอง

จากผลการทดลองในบทที่ 3 จะพิจารณาได้ว่าสารสำคัญจากฝอยลมมีฤทธิ์สองอย่างต่อการหายใจของไมโตคอนเดรีย กล่าวคือ จะกระตุ้นการใช้ออกซิเจนในขนาด 0.1-4 มคก. (0.15-6.0 μM) เมื่อใช้ glutamate + malate เป็นสับสเตรท (รูปที่ 14) และขนาด 0.1-3 มคก.(0.15-4.5 μM) เมื่อใช้ succinate เป็นสับสเตรทตามลำดับ (รูปที่ 16) แต่ในขนาดที่มากกว่า 4.5 หรือ 6.0 μM จะยับยั้งการหายใจ (รูปที่ 15, 17) นอกจากนี้ยังสามารถกระตุ้น ATPase activity ของไมโตคอนเดรีย (ตารางที่ 11) จากเหตุผลนี้ จึงกล่าวได้ว่าสารสำคัญจากฝอยลมมีฤทธิ์เป็น uncoupler ของกระบวนการออกซิเดทีฟ ฟอสฟอริลเลชัน นั่นคือมีฤทธิ์ทำให้เกิดการไม่ควบคู่กัน (uncouple) ของการออกซิไดซ์สับสเตรท กับการสังเคราะห์ ATP (Hanstein, 1976; Heytler, 1981) สิ่งที่จะอภิปรายต่อไปนี้คือ แนวทางที่เป็นไปได้ของการเกิดอันคัปปลิงของสารสำคัญจากฝอยลม ว่าควรเป็นอย่างไร และโอกาสที่จะสามารถนำเอาฤทธิ์อันคัปปลิงของสารสำคัญจากฝอยลม ไปใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์

<u>กลไกการเกิดอันคัปปลิงในกระบวนออกซิเดทีฟ ฟอสฟอริลเลชันที่เกิดเนื่องจากฤทธิ์ของสารสำคัญจากฝอยลม</u>

ในปัจจุบัน ยังไม่ทราบถึงกลไกการเกิดอันคัปปลิง ในระดับโมเลกุลอย่างชัดเจน (Hanstein, 1976; Kessler et al., 1977; Terada, 1981) ซึ่งกลไกการเกิดอันคัปปลิงนี้อาจแตกต่างกันไป เช่น classical

uncoupler จะทำหน้าที่เป็น H^+ ionophores นำเอา H^+ จากภายนอกผ่านผนังชั้นในของไมโตคอนเดรียได้อย่างต่อเนื่อง และทำลาย H^+ gradient (Heytler, 1981) ส่วนสารอื่น ๆ ที่สามารถออกฤทธิ์ได้คล้ายกับ classical uncoupler เช่น oligomycin สามารถแสดงฤทธิ์อันคัปปลิงได้เมื่อมี Cl^- อยู่ใน incubation medium (Ariel and Avi-dor, 1973) valinomycin และ nigericin สามารถแสดงฤทธิ์อันคัปปลิงเมื่อมี K^+ อยู่ใน incubation medium carbocyanide dyes สามารถแสดงฤทธิ์อันคัปปลิงได้เมื่อมี Pi อยู่ใน incubation medium ส่วน chinoform (5-chloro-7-iodo-8-quinolinol) ก็จะแสดงฤทธิ์อันคัปปลิงได้เช่นกัน เมื่อมี Mg^{2+} และ Fe^{2+} ใน incubation medium (Terada, 1981) ซึ่งทั้งนี้การที่กลไกการเกิดอันคัปปลิงมีความแตกต่างกัน อาจขึ้นอยู่กับสูตรโครงสร้างทางเคมีของ uncouplers นั้น ๆ (Terada, 1981) อย่างไรก็ตามปัจจุบันเป็นที่ยอมรับกันว่า สารที่เป็น uncouplers จะมีคุณสมบัติคือทำให้เกิดการไม่ควบคู่กันของการออกซิไดซ์สับสเตรท กับปฏิกิริยาการสังเคราะห์ ATP โดยจะทำหน้าที่เป็น protonophoric uncouplers ส่งผ่าน H^+ เข้าสู่ผนังชั้นในของไมโตคอนเดรีย แล้วทำให้เกิดการสลายตัวของ high energy electrochemical gradient ซึ่งมีความจำเป็นในปฏิกิริยาต่าง ๆ เช่น การสังเคราะห์ ATP, การขนส่งอิออนต่างๆ ผ่านผนังชั้นในของไมโตคอนเดรีย, การสะสมแคลเซียม (รูปที่ 7) นอกจากนี้ยังกระตุ้นเอ็นไซม์ ATPsynthase ให้สลาย ATP มากขึ้น, ทำให้ไมโตคอนเดรียสูญเสียการควบคุมการหายใจ แต่จะไม่มีผลต่อการออกซิไดซ์สับสเตรท (Hanstein, 1976; Kessler, Tyson and Green, 1976; Terada, 1981)

จากผลการวิจัยพบว่า สารสำคัญจากฝอยลมมีฤทธิ์อันคัปปลิงต่อกระบวนการออกซิเดทีฟ ฟอสฟอริลเลชัน เนื่องจากสามารถกระตุ้น state 4 respiration ของไมโตคอนเดรีย และทำให้เกิดการไม่ควบคู่กันของกระบวนการออกซิเดทีฟ ฟอสฟอริลเลชัน ซึ่งพิจารณาได้จากการลดลงของค่า RCI และ อัตราส่วน ADP/O (ตารางที่ 3, 4) นอกจากนี้ยังทำให้มีการสังเคราะห์ ATP ลดลง เพิ่มการสลายตัวของ ATP มากขึ้น โดยกระตุ้น

การทำงานของเอ็นไซม์ ATPsynthase (ตารางที่ 11) ซึ่งเป็นคุณสมบัติของสาร uncouplers (Hanstein, 1976; Heytler, 1981; Terada, 1981)

ฤทธิ์อันคัปปลิงของสารสำคัญจากฝอยลม เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับ classical uncouplers ในหัวข้อต่อไปนี้

1. ผลต่อการหายใจของไมโตคอนเดรีย

1.1 ผลต่ออัตราการใช้ออกซิเจนของไมโตคอนเดรีย พบว่าสารสำคัญจากฝอยลมสามารถกระตุ้นการออกซิไดซ์สับสเตรทได้ กล่าวคือสามารถกระตุ้น state 4 respiration ได้ในขนาด 0.1-4 มคก.(0.15-6.0 μM) และ 0.1-3 มคก. (0.15-4.5 μM) เมื่อใช้สับสเตรทเป็น glutamate+ malate และ succinate ตามลำดับแต่เมื่อเพิ่มขนาดของสารสำคัญจากฝอยลมมากกว่า 4.5 หรือ 6μM จะมีผลยับยั้งการหายใจ (รูปที่ 18) ทำให้ค่า RCI และ อัตราส่วน ADP/O ลดลง (ตารางที่ 3, 4) ซึ่งกรณีนี้เหมือนกับฤทธิ์ของ DNP ซึ่งเป็น classical uncouplers (Hanstein, 1976; Heytler, 1981; Terada,1981) แต่มีฤทธิ์อ่อนกว่า DNP และที่ความเข้มข้นสูงๆ uncouplers จะมีฤทธิ์ยับยั้งการหายใจของไมโตคอนเดรียแต่กลไกในการยับยั้งยังไม่ทราบแน่ชัด อาจเกี่ยวกับยับยั้งการสะสมของสับสเตรท หรืออาจจะทำปฏิกิริยาโดยตรงกับโปรตีนที่อยู่บนลูกโซ่การหายใจ (Stockdale and Selwyn, 1971)

1.2 ผลของ oligomycin และ atractyloside ซึ่งเป็นสารที่ยับยั้งการเกิดฟอสฟอริลเลชันของ ADP ในไมโตคอนเดรีย (Lardy, Connelly and Johnson, 1964; Haugaard et al., 1969; Senior, 1973; Lehninger, 1975) พบว่าฤทธิ์อันคัปปลิงที่เกิดจากสารสำคัญจากฝอยลมไม่ถูกยับยั้งด้วย oligomycin และ atractyloside นั่นคือสารสำคัญจากฝอยลมสามารถแก้ไขฤทธิ์ในการยับยั้ง state 3 respiration ที่เกิดจาก oligomycin และ atractyloside ได้ (รูปที่ 23) แสดงว่าฤทธิ์อันคัปปลิงของสารสำคัญจากฝอยลมไม่เกี่ยวข้องกับการทำงานของเอ็นไซม์ ATPsynthase

จากการยับยั้งของ oligomycin (Senior,1973) และ adenine nucleotide translocator จากการยับยั้งของ atractyloside (Lehninger, 1975) ซึ่งเป็นสารที่ยับยั้งการเกิดฟอสฟอริลเลชันของไมโตคอนเดรียและ ทำให้เกิดการยับยั้งกระบวนการออกซิเดทีฟ ฟอสฟอริลเลชัน (Chappell and Crofts, 1965; Senior, 1973) แต่เนื่องจากสาร uncouplers สามารถทำให้เกิดการไม่ควบคู่กันของกระบวนการออกซิเดทีฟ ฟอสฟอริลเลชัน คือ แยกกระบวนการส่งผ่านอิเลคตรอนในลูกโซ่การหายใจกับการสังเคราะห์ ATP ออกจากกัน ดังนั้นถึงแม้การเกิดฟอสฟอริลเลชันจะถูกยับยั้งโดย oligomycin และ atractyloside แต่สาร uncouplers ทั่วไป เช่น DNP ยังสามารถกระตุ้นให้มีการออกซิไดซ์สับสเตรทต่อไปได้ ทำให้มีการใช้ออกซิเจนเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ซึ่งการออกฤทธิ์ของสารสำคัญจากฝอยลมในกรณีนี้ ก็เป็นไปในลักษณะเช่นเดียวกับ DNP (รูปที่ 24)

1.3 ผลของการเปลี่ยนแปลง pH ของ incubation medium ที่ pH 6.8,7.2 และ 7.6 กรณีนี้สารสำคัญจากฝอยลมให้ผลที่แตกต่างจาก DNP คือเมื่อเพิ่ม pH ของ incubation medium พบว่าจะไม่มีผลหรือมีผลน้อยมากต่อการออกฤทธิ์ของสารสำคัญจากฝอยลม (รูปที่ 25) ในขณะที่ DNP จะออกฤทธิ์กระตุ้นการหายใจของไมโตคอนเดรียน้อยลง เมื่อ pH สูงขึ้น (รูปที่ 26) เป็นไปได้ที่ว่าคุณสมบัติทางเคมีของทั้งสองแตกต่างกัน หรือมีกลไกอื่นร่วมด้วยนอกจาก protonophoric effect เช่น สารสำคัญจากฝอยลมจับกับ specific high affinity binding site สำหรับ uncouplers แล้วทำให้มีการกระตุ้นการหายใจของไมโตคอนเดรีย โดยไม่มีการปลดปล่อย H^+ ออกมา เนื่องจากมีการศึกษาถึง binding site พบว่ามี specific high affinity binding site สำหรับ uncouplers ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของ membrane sector ของเอ็นไซม์ ATPsynthase ที่ผนังชั้นในของไมโตคอนเดรีย (Katre and Wilson, 1978) หรือสารสำคัญจากฝอยลมไปจับกับโปรตีนเฉพาะ (specific protein) ในผนังชั้นในของไมโตคอนเดรีย (Hanstein , 1976) หรือไปจับกับ sulfhydryl groups บนผนังชั้นในของไมโตคอนเดรียแล้วทำให้เกิดอันคัปปลิง

1.4 ผลของการไม่มี Mg^{2+} ใน incubation medium พบว่าสารสำคัญจากฝอยลมมีแนวโน้มกระตุ้นการหายใจได้เร็วขึ้นเมื่อไม่มี Mg^{2+} ใน medium (รูปที่ 27, ตารางที่ 7) ซึ่งให้ผลที่ต่างไปจาก DNP ที่มีแนวโน้มกระตุ้นการหายใจลดลง เมื่อไม่มี Mg^{2+} (รูปที่ 27, ตารางที่ 8) เป็นไปได้ว่าการออกฤทธิ์ของสารสำคัญจากฝอยลมไม่ขึ้นกับ Mg^{2+} แม้ว่า Mg^{2+} จะมีความสำคัญต่อความสมบูรณ์ของไมโตคอนเดรีย (mitochondrial integrity) และจำเป็นต่อหน้าที่ในการควบคุมการหายใจของไมโตคอนเดรีย(Baltscheffsky, 1957; Le-quoc and Le-quoc,1982) หรือเมื่อไม่มี Mg^{2+} สารสำคัญจากฝอยลมจะเคลื่อนที่ผ่านผนังชั้นในของไมโตคอนเดรียได้มากขึ้น เนื่องจากไม่เกิดการผลักกันของประจุ +2 ของ Mg^{2+} และประจุบวกของ protonated form เช่น ในกรณีของ amiodarone (ณัฐาศิริ แซ่ยิบ, 2535) ซึ่งสารสำคัญจากฝอยลมน่าจะให้ผลในลักษณะเดียวกัน กรณีนี้เป็นอีกกรณีหนึ่งที่บ่งชี้ได้ว่าอาจมีความแตกต่างกัน ในกลไกการเกิดอันดับปลิงในระดับโมเลกุลของ DNP กับสารสำคัญจากฝอยลม

1.5 ผลของ DTNB และ DTT บนผนังชั้นในของไมโตคอนเดรีย (hydrophobic core) ของไมโตคอนเดรีย จะมี sulfhydryl groups อยู่ ซึ่งมีหน้าที่ควบคุม permeability ของผนังชั้นในของไมโตคอนเดรีย, ควบคุมความสมบูรณ์ของผนังชั้นในของไมโตคอนเดรีย (membrane integrity), การขนส่งอิออนต่างๆ, การทำงานของเอ็นไซม์ ATPsynthase และการควบคู่กันของกระบวนการออกซิเดทีฟ ฟอสฟอริลเลชัน (Le-quoc and Le-quoc, 1982) รูปที่ 28 B จะเห็นว่า DTNB ซึ่งเป็น aromatic disulfide สามารถยับยั้งการเกิดฟอสฟอริลเลชัน โดย ADP ได้ เพราะจะไปทำปฏิกิริยากับ sulfhydryl groups ที่อยู่บนผนังชั้นในของไมโตคอนเดรีย แล้วยับยั้งการส่งผ่าน Pi จากภายนอกเข้าสู่ไมโตคอนเดรีย แต่ไม่สามารถยับยั้งการออกซิไดซ์สับสเตรทของ DNP ได้ (Haugaard et al., 1969) ซึ่งต่างจากสารสำคัญจากฝอยลม กล่าวคือ DTNB จะทำให้ฤทธิ์อันดับปลิงของสารสำคัญจากฝอยลมลดน้อยลง อาจเป็นเพราะ DTNB ไปจับกับ sulfhydryl groups บนผนังชั้นในของไมโตคอนเดรีย ส่วน DTT ซึ่งเป็นสารที่ป้องกัน

sulfhydryl groups พบว่าไม่เปลี่ยนแปลงฤทธิ์อันคัปปลิงของสารสำคัญจากฝอยลม (รูปที่ 29 C) ดังนั้นผลจากการวิจัยนี้ชี้ว่าฤทธิ์อันคัปปลิงของสารสำคัญจากฝอยลมไม่ได้เกิดจากการจับกับ sulfhydryl groups แต่อย่างไรก็ตามในการเกิดอันคัปปลิงต้องอาศัย sulfhydryl groups ผลของ DTT ที่สามารถแก้ฤทธิ์ของ DTNB ได้ก็มีรายงานเช่นกัน (Haugaard et al., 1969)

1.6 ผลของ bovine serum albumin (BSA) พบว่าการให้ BSA ไม่ว่าก่อนหรือหลังการกระตุ้นด้วยสารสำคัญจากฝอยลม จะลดฤทธิ์ในการกระตุ้นการหายใจของสารสำคัญจากฝอยลม อาจเป็นเพราะสารสำคัญจากฝอยลมไปจับกับ BSA จึงทำให้ฤทธิ์อันคัปปลิงลดลง เนื่องจากมียาที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบันหลายชนิดสามารถจับกับ albumin ได้ อย่างไรก็ตามการออกฤทธิ์ของ BSA น่าจะเกิดขึ้นนอกไมโตคอนเดรีย เนื่องจาก BSA เป็นโปรตีนโมเลกุลใหญ่ไม่สามารถจะเคลื่อนที่ผ่านผนังชั้นในของไมโตคอนเดรียได้

2. ผลต่อ ATPase activity ของไมโตคอนเดรีย

2.1 ผลในการกระตุ้น ATPase activity พบว่าสารสำคัญจากฝอยลมสามารถกระตุ้น ATPase activity ได้ในขนาด 0.1-2 มคก. (0.1-1.98 μM) แต่ในขนาดที่สูงกว่า 1.98 μM จะมีผลยับยั้ง ATPase activity (รูปที่ 31, ตารางที่ 11) แต่มีฤทธิ์อ่อนกว่า DNP เมื่อเปรียบเทียบกัน (รูปที่ 32) ซึ่งฤทธิ์นี้ก็เหมือนกับ classical uncoupler ที่กระตุ้น ATPase activity แล้วส่งผลให้มีการสลาย ATP (ATP hydrolysis) (Hanstein, 1976; Heytler, 1981; Terada, 1981)

2.2 ผลของ oligomycin และ atractyloside ฤทธิ์ในการกระตุ้น ATPase activity ของสารสำคัญจากฝอยลม จะถูกยับยั้งได้โดย oligomycin และ atractyloside เช่นเดียวกับ DNP (ตารางที่ 12)

2.3 ผลของการเปลี่ยนแปลง pH ของ incubation medium ที่ pH 6.8, 7.2 และ 7.6 พบว่าผลในการกระตุ้น ATPase activity ให้ผลเช่นเดียวกับผลต่อกระบวนการหายใจ กล่าวคือ การเปลี่ยนแปลง pH ของ incubation medium ไม่มีผลหรือมีผลน้อยมากต่อการออกฤทธิ์ของสารสำคัญจากฝอยลมในการกระตุ้น ATPase activity ในขณะที่ฤทธิ์ของ DNP ในการกระตุ้น ATPase activity มีแนวโน้มลดลง เมื่อ pH ของ incubation medium สูงขึ้น (ตารางที่ 13) ซึ่งผลของ pH ต่อการออกฤทธิ์ของ DNP ในการกระตุ้น ATPase activity ที่เคยมีผู้ศึกษามา ก็ให้ผลเช่นเดียวกัน กล่าวคือ DNP 10^{-4} M จะกระตุ้น ATPase activity สูงสุดที่ pH 6.5 กระตุ้น ATPase activity ได้ครึ่งหนึ่งที่ pH 8.5 และถ้า pH เพิ่มขึ้นมากกว่า 9.5 จะยับยั้งการกระตุ้น ATPase activity การลดลงของ ATPase activity ที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย DNP เมื่อ pH สูงขึ้นอาจเป็นเพราะ DNP ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นกรดอ่อน เมื่ออยู่ใน medium ที่เป็นด่างมากขึ้นจะทำให้กลุ่ม phenol ของ DNP (phenolic-OH) ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นกรดจะทำหน้าที่เป็น acid-dissociable group จะแตกตัวมากขึ้น ทำให้ฤทธิ์ในการกระตุ้น ATPase activity ลดลง (Terada, 1981)

2.4 ผลของการไม่มี Mg^{2+} ใน incubation medium พบว่ามีความแตกต่างกันระหว่างสารสำคัญจากฝอยลมกับ DNP กล่าวคือเมื่อไม่เติม Mg^{2+} ลงไปใน incubation medium สารสำคัญจากฝอยลมสามารถกระตุ้น ATPase activity ได้ไม่แตกต่างไปจาก เมื่อมี Mg^{2+} ใน incubation medium ส่วน DNP มีแนวโน้มจะกระตุ้น ATPase activity ได้สูงขึ้นเมื่อไม่มี Mg^{2+} ใน incubation medium พบว่าฤทธิ์ของ DNP ในการกระตุ้น ATPase activity ให้ผลเช่นเดียวกับการวิจัยอื่น ๆ (Myers and Slater, 1957) การที่มีความแตกต่างกันไประหว่างสารทั้งสอง เป็นไปได้ว่ากลไกการเกิดอันคัปปลิงในระดับโมเลกุลต่างกัน

2.5 ผลของ DTNB และ DTT กรณีของ DTNB ที่ใช้กระตุ้น ATPase activity พบว่ามีผลลดฤทธิ์ในการกระตุ้น ATPase activity ของทั้ง DNP และสารสำคัญจากฝอยลม ซึ่ง DTNB เป็นสารที่ยับยั้งการเกิดฟอสฟอริลเลชัน โดยยับยั้งการส่งผ่าน Pi จากภายนอกเข้าไปในไมโตคอนเดรีย (Haugaard et al., 1969) มีผลให้ปฏิกิริยาการสังเคราะห์ ATP ลดลง เนื่องจากขาด Pi ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการทำปฏิกิริยา จึงไม่มีความเป็นไปได้ที่ปฏิกิริยาในทางกลับกัน (ATP hydrolysis) ก็จะลดลงด้วย เนื่องจาก DTNB ไม่มีผลใด ๆ ต่อเอ็นไซม์ ATPsynthase แต่ฤทธิ์ในการยับยั้งการกระตุ้น ATPase activity ของ DNP และสารสำคัญจากฝอยลม โดย DTNB อาจเกิดจากการที่ DTNB ไปทำปฏิกิริยาบางอย่างกับ sulfhydryl groups บนผนังชั้นในของไมโตคอนเดรีย แล้วส่งผลยับยั้ง ATPase activity ส่วน DTT จะไม่มีผลหรือมีผลน้อยมากต่อการกระตุ้น ATPase activity ของทั้งสารสำคัญจากฝอยลม และ DNP และ DTT สามารถแก้ฤทธิ์ (reverse) การยับยั้ง ATPase activity โดย DTNB ได้

<u>โอกาสที่จะสามารถนำเอาฤทธิ์อันคัปปลิงของสารสำคัญจากฝอยลมไปใช้ประโยชน์ทางการแพทย์</u>

จากการที่สารสำคัญจากฝอยลมมีฤทธิ์อันคัปปลิง ทำให้เกิดการไม่ควบคู่กันของกระบวนการออกซิเดทีฟ ฟอสฟอริลเลชัน กล่าวคือ กระตุ้นการออกซิไดซ์สับสเตรทเพิ่มขึ้น แต่ขณะเดียวกันก็เพิ่มการสลายของ ATP มากขึ้น โดยกระตุ้นเอ็นไซม์ ATPsynthase ทำให้มีปริมาณ ATP ภายในเซลล์ลดลง ซึ่ง ATP เป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการทำงานของเซลล์ เช่น ใช้ในการหดตัวของกล้ามเนื้อทุกชนิด ดังนั้นการลดลงของ ATP ภายในเซลล์ที่เกิดจากฤทธิ์ของสารสำคัญจากฝอยลม จะส่งผลให้กิจกรรม (activity) ต่าง ๆ ลดลงไปด้วย มีการคลายตัวของกล้ามเนื้อต่าง ๆ เช่น ที่ลำไส้ ทำให้แก้ไขอาการท้องเสียได้ นอกจากนี้ปริมาณ ATP ที่ลดลงอาจมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย ทำให้ใช้เป็นยาต้านแบคทีเรียได้ซึ่งก็เป็นข้อมูลสนับสนุนของการแพทย์แผนโบราณที่ใช้สมุนไพรในสกุล Usnea มาใช้รักษาโรคบิด (dysentry), แก้อาการท้องเสีย (diarrhea) ตลอดจนใช้เป็นยาต้านแบคทีเรีย (antibacterial), ต้านการอักเสบ (antiinflammatory) (Burkill, 1935)

ปัจจุบันยาหลายชนิดที่ใช้กันอยู่ ก็มีฤทธิ์อันคัปปลิงต่อกระบวนการออกซิเดทีฟ ฟอสฟอริลเลชัน ได้แก่ ยาปฏิชีวนะ (antibiotics) เช่น tetracyclin, sodium salicylate, acetylsalicylic acid พวก thyroid hormones เช่น tyroxine ยานอนหลับ (hypnotics) เช่น barbiturates และพวก nitrites, nitrates (Brody, 1955) กลุ่มยาสลบ (amine local anesthetics) เช่น butacaine (Garlid and Nakashima, 1983) ยารักษาโรคหัวใจเต้นผิดจังหวะ (antiarrhythmic drugs) เช่น amiodarone (ณัฐาศิริ แซ่ยิบ, 2535) ทำให้คิดถึงความเป็นไปได้ที่ว่า ฤทธิ์อันคัปปลิงอาจจะมีส่วนเกี่ยวข้องกับผลที่ได้จากการออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา (Brody, 1955) แต่สิ่งที่น่าสนใจก็คือความเป็นพิษจากฤทธิ์อันคัปปลิงที่อาจจะเกิดขึ้นต่อผู้ใช้ยา จากการวิจัยนี้ซึ่งเป็นการทดลองแบบ *in vitro* พบว่าสารสำคัญจากฝอยลมในขนาดสูงกว่า 4 μg

(6.0 μM) มีผลรบกวนการทำงานของไมโตคอนเดรีย ซึ่งเป็น organelle ที่สำคัญถือว่าเป็นแหล่งกำเนิดพลังงานของเซลล์ กล่าวคือการออกฤทธิ์ของสารสำคัญจากฝอยลมอาจจะก่อให้เกิดทั้งความเป็นพิษต่อเซลล์ และอาจทำให้มีประโยชน์ทางเภสัชวิทยาเมื่อมีการปรับขนาดที่ใช้ให้เหมาะสม แต่อย่างไรก็ตามก็ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงผลของสารสำคัญจากฝอยลมใน *in vivo*

กล่าวโดยสรุปแล้ว จากการวิจัยนี้พบว่าสารสำคัญจากฝอยลมมีฤทธิ์สองอย่างต่อกระบวนการออกซิเดทีฟ ฟอสฟอริลเลชัน ทั้งนี้ขึ้นกับขนาดที่ใช้ กล่าวคือมีฤทธิ์กระตุ้นการหายใจรวมทั้งกระตุ้น ATPase activity ในขนาดที่ต่ำกว่า 6 μM และจะมีฤทธิ์ยับยั้งการหายใจในขนาดที่สูงกว่า 6 μM ผลของสารสำคัญจากฝอยลมต่อการทำงานของไมโตคอนเดรีย มีคุณสมบัติบางอย่างเหมือน classical uncouplers แต่คุณสมบัติบางอย่างก็แตกต่างไปจาก classical uncouplers กลไกที่สารสำคัญจากฝอยลมทำให้เกิดอันคัปปลิงในระดับโมเลกุลยังไม่ทราบแน่ชัดอาจเกี่ยวข้องกับ protonophoric effects หรือการที่สารสำคัญจากฝอยลมไปจับกับโปรตีนเฉพาะในผนังชั้นในของไมโตคอนเดรีย ซึ่งเคยมีรายงานว่าปฏิกิริยาระหว่าง protein-phenol อาจเป็นปัจจัยสำคัญในการเกิดอันคัปปลิง (Weinbach,1956) หรือจับกับ specific high affinity binding site สำหรับ uncouplers แล้วทำให้เกิดฤทธิ์อันคัปปลิง (Katre and Wilson,1980) แต่ฤทธิ์อันคัปปลิงไม่น่าจะเกิดจากการจับกับ sulfhydryl groups เนื่องจาก DTT ไม่มีผลใด ๆ ต่อฤทธิ์อันคัปปลิงของสารสำคัญจากฝอยลม และการที่จะนำเอาสารสำคัญจากฝอยลมไปใช้ประโยชน์ทางการแพทย์นั้น ยังต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมทั้งใน *in vitro* และ *in vivo* อีกมาก เพื่อให้มีข้อมูลเกี่ยวกับฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและพิษวิทยามากเพียงพอ

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย