โครงการวิจัย

เรื่อง

การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาเบื้องต้น ของพืชสกุล *Erythroxylum* ในภาคใต้ของประเทศไทย

(A Preliminary Study in Pharmacological Effect of *Erythroxylum species* Naturally Grown in the South of Thailand)

หัวหน้าโครงการ

นาย ปิติ ทฤษฎิคุณ

ผู้ร่วมโครงการ

นาย เมธี สรรพานิช

นาย ณรงค์ สุภาวิดา

นาย กิจจา สว่างเจริญ

คณะวิทยาศาสตร์ และ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินงบประมาณ ประจำปี 2528

QK495 E82 P94
2530
10 IN.V. 1539
Order Key 7680
94938

บทคัดย่อ

ในการศึกษานี้เป็นการทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาเบื้องต้นของสารสกัดหยาบ (Crude extract) จากใบของไม้แก่นแดง (*Erythroxylum cuneatum*) ที่ขึ้นตามธรรมชาติในภาคใต้ของประเทศไทย ต่อกิจกรรมการเคลื่อนที่ (Locomotor activity) ในหนูถีบจักรขาว โดยใช้ Amphetamine เป็นยามาตรฐาน และผลเบื้องต้นต่อหัวใจส่วนเอเตรียของหนูตะเภา (Guinea pig atria) ใน Organ bath experiment

จากการทดสอบผลการทดสอบด้วย 2-Way ANOVA พบว่าสารสกัดที่ฉีดเข้าใต้ผิวหนัง (ขนาด 300, 500, 1000 และ 2,000 mg/kg, s.c) ไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมการเคลื่อนที่ในหนูถีบจักรขาวอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ฉีด Amphetamine เข้าใต้ผิวหนัง (2.5, 5, 10 และ 20 mg/kg, i.p.) จะเพิ่มกิจกรรมการเคลื่อนที่อย่างมีนัยสำคัญ

ในการศึกษาจาก Isolated organ bath พบว่า สารสกัดหยาบเข้าไปจะทำให้เกิดการลดแรงบีบตัวและอัตราการเต้นของเอเตรียที่มีลักษณะเป็น Dose-dependent และ Isoproterenol ไม่สามารถต้านฤทธิ์ของสารสกัดได้ ไม่ว่าจะให้เพียง 0.1 ml หรือให้เข้าไปจนมีปริมาตรสะสมทั้งหมดเป็น 0.3 ml

สรุปผลจากการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดต่อกิจกรรมการเคลื่อนที่ในหนูถีบจักรขาว พบว่าสารสกัดไม่มีผลต่อกิจกรรมการเคลื่อนที่ของหนูถีบจักรขาว ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากว่าในสารสกัดมีปริมาณของสารที่มีฤทธิ์กระตุ้นระบบประสาทส่วนกลางเพียงเล็กน้อย ส่วนผลการทดสอบเบื้องต้นของสารสกัดต่อหัวใจส่วนเอเตรียของหนูตะเภานั้น พบว่าสารสกัดสามารถลดแรงบีบตัว (Force of contraction) และอัตราการเต้นของหัวใจส่วนเอเตรีย (Heart rate) ได้ซึ่งการลดดังกล่าวสามารถต่อต้านได้โดย Isoproterenol แต่ไม่ถูกต้านโดย Atropine ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจากว่าการต้านฤทธิ์ระหว่างสารสกัดหยาบกับ Isoproterenol อาจเป็น Physiological antagonism คือออกฤทธิ์กันคนละตำแหน่งของหัวใจ ส่วนที่ Atropine ไม่สามารถต้านฤทธิ์ของสารสกัดได้ แสดงว่า การลดแรงบีบตัวของเอเตรียไม่เกี่ยวข้องกับ Muscarinic recepter ในหัวใจ

จากการทดลองและข้อสังเกตที่ได้จากการศึกษาในโครงการนี้เห็นว่า แนวทางในการศึกษาต่อไปควรจะได้ลองทำการแยกสารบริสุทธิ์ออกจากสารสกัดหยาบ เพื่อยืนยันให้ชัดเจนว่าสารสกัดดังกล่าวมีผลต่อกิจกรรมการเคลื่อนที่ของหนูถีบจักรขาวหรือไม่ และศึกษาผลของสารบริสุทธิ์ในอวัยวะที่แยกออกมา (Isolated organ) ของระบบต่างๆ และการทดสอบอื่นๆต่อไป

บทนำ

พืชในตระกูล Erythroxylum หรือไม้เจตมูล หรือไม้แก่นแดงเป็นพืชที่มีหลายชนิด (*Species*) เช่น *E. novogranatase, E. coca, E. ecarinatum* และ *E. cuneatum* พืชในตระกูลนี้เป็นไม้พุ่มหรือไม้ขนาดกลางขึ้นตามชายป่าใกล้ชายฝั่งทะเล ตามป่าโปร่งหรือป่าดงดิบทั่วไป ลักษณะของใบเป็นชนิดใบเดี่ยวที่เรียงสลับกัน ส่วนมากเป็นรูปไข่กลับ หลังใบสีเข้มเป็นมัน ท้องใบสีนวลอ่อน ดอกมีขนาดเล็ก สีขาวอมเขียวอ่อน ๆ ออกเดี่ยว ๆ หรือเป็นกระจุกตามง่ามใบ กลีบรองกลีบดอกและกลีบดอกมีอย่างละ 5 กลีบ เกสรตัวผู้มี 10 อัน ผลเล็กกลมยาว อุ้มน้ำ มีเมล็ดแข็งมาก 1 เมล็ด ส่วนใหญ่เป็นไม้พื้นเมืองของ
อเมริกาใต้ (บุศบรรณ ณ สงขลา, 2520)

ต้นโคคา (Coca) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Erythroxylum coca* หรือเรียกกันโดยทั่วไปว่าต้นโคคา จัดอยู่ในวงศ์ (Family) *Erythroxylaceae* หรือตระกูลโคคา ต้นโคคาเป็นพันธุ์ไม้ที่ขึ้นตามธรรมชาติในป่าดงดิบในทวีปอเมริกาใต้ เช่น ในประเทศ เปรู และโบลิเวีย (Ritchie and Greene, 1985), (Varro E. *et al.* 1981) โคเคน (Cocaine) ถูกสกัดออกมาจากใบของต้นโคคาครั้งแรกโดย Niemann แต่ไม่ปรากฏหลักฐานเรื่องเวลา แต่ได้สังเกตว่าสารตัวนี้มีรสชมและทำให้ลิ้นชา

ในปี 1880 Von Anrep ศึกษาฤทธิ์ของโคเคนที่ทำให้เกิดการชาเมื่อนำมาฉีดเข้าใต้ผิวหนัง และได้เสนอแนะให้ใช้อัลคาลอยด์ชนิดนี้เป็นยาชาในการรักษาโรคตา

ในปี 1884 Sigmund Freud และ Karl Koller นำมาใช้กับผู้ป่วยรายหนึ่งเพื่อให้เลิกติดฝิ่น และประสบความสำเร็จ แต่ผู้ป่วยรายนี้กลับเปลี่ยนมาติดโคเคนแทน และต่อมาโคลเลอร์ได้นำเอาโคเคนมาใช้เป็นยาชาในการรักษาโรคตาเป็นครั้งแรก

ในปี 1884 Hall เป็นคนแรกที่นำโคเคนมาใช้เป็นยาชาในทางทันตกรรม และในปีต่อมา Halsted ได้ทดลองศึกษาและพบว่าโคเคนสามารถขัดขวางการส่งผ่านกระแสไฟฟ้าในเส้นประสาท (Nerve tranmission) ได้ และในปี 1885 Corning ได้นำโคเคนมาเป็นยาในการทำสลบไขสันหลัง (Spinal anesthesia) ในสุนัข ซึ่งเป็นจุดเริ่มต้นของการใช้โคเคนเป็นยาชาและยาสลบไขสันหลังกับมนุษย์ในเวลาต่อมา

ไม้แก่นแดง (*Erythroxylum cuneatum*) เป็นไม้ต้นขนาดเล็กสูง 4-10 เมตร พบทั่วไปตามป่าดงดิบใกล้ชายฝั่งทะเลและป่าดงดิบแล้งในภาคเหนือ ภาคตะวันออก และภาคตะวันตกเฉียงใต้ ที่สูงจากระดับน้ำทะเล 300-500 เมตร ไม่ผลัดใบ เรือนยอดเป็นพุ่มทึบกลม สีเขียวเข้ม กิ่งแขนงตั้งฉากกับลำต้น กิ่งอ่อนมีรอยแผลของหูใบเป็นรอยหรือเกือบรอบกิ่ง เปลือกเรียบสีน้ำตาลเปลือกในสีน้ำตาลปนแดงอ่อน กะพี้ขาวปนเหลือง แก่นสีน้ำตาล ใบมีรูปร่างมนขอบขนาน และรูปไข่กลับ ขนาด 2-3.5 x 5-10 เซนติเมตร โคนใบสอบเรียวปลายใบมนมีขนาดกว้างทางโคน หรือปลายหยักเว้าเข้าเล็กน้อย เนื้อใบหนาเกลี้ยงเป็นมัน หลังใบสีเขียวเข้ม ขอบใบสีจาง ท้องใบสีนวล หรือจางมากเส้นแขนงใบมี 7-10 คู่ เส้นคดและปลายเชื่อม

ติดห่างจากขอบใบเข้ามามากเส้นร่างแหเห็นชัดทั้งสองด้าน มีหูใบที่ร่วงหลุดเร็วแต่จะทิ้งรอยแผลไว้ให้เห็นชัดตามกิ่งอ่อน ดอกมีขนาดเล็กสีขาว ออกเดี่ยว ๆ หรือเป็นกระจุกตามง่ามใบและเหนือรอยแผลใบ ทั้งกลีบดอกและกลีบรองกลีบดอกมีอย่างละ 5 กลีบ เกสรตัวผู้มี 10 อัน โคนก้านเกสรเชื่อมติดกันเป็นหลอด รังไข่มี 3 ช่อง แต่ละช่องมีไข่อ่อน 1 ท่อ หลอดเกสรตัวเมียมี 3 อัน ผลมีสัณฐานกลมยาวสีเหลือง-แดง เป็นพูตามยาวผล 3 พู ผลอุ้มน้ำ ยังคงปรากฏกลีบรอง กลีบดอก และหลอดเกสรตัวผู้ติดอยู่ที่ขั้ว มีเมล็ดเดี่ยว

ระยะการเป็นดอก-ผลของไม้แก่นแดงไม่ค่อยแน่นอน แต่ส่วนมากจะออกดอกในระหว่างเดือนกุมภาพันธ์-พฤษภาคม และเป็นผลระหว่างเดือนมีนาคม-มิถุนายน บางทีกิ่งเดียวกันมีทั้งดอกและผล

ในการศึกษาครั้งนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาเบื้องต้นของสารสกัดหยาบ (Crude extract) จากส่วนใบของไม้แก่นแดง (*Erythroxylum cuneatum*) ที่ขึ้นตามธรรมชาติในภาคใต้ของประเทศไทย ตัวอย่างใบที่ใช้ในการศึกษานี้เก็บมาจากน้ำตกหงาว อำเภอเมือง จังหวัดระนอง เดือนตุลาคม 2526 โดยดูผลของสารสกัดหยาบต่อกิจกรรมการเคลื่อนที่ (Locomotor activity) ในหนูถีบจักรขาว (Albino mice) และผลต่อหัวใจส่วนเอเดรียที่แยกออกมาจากหนูตะเภา (Guinea pig atria)

ตอนที่ 1 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบ และ Amphetamine ต่อกิจกรรมการเคลื่อนที่ (Locomotor activity) ในหนูถีบจักร

วัสดุอุปกรณ์

1.1 สารสกัดหยาบจากใบของไม้แก่นแดง *(Erythroxylum cuneatum)*

1.1.1 วิธีการสกัด

นำใบของไม่แก่นแดงมาตากแห้ง แล้วบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบด (Blender) จากนั้นนำไปแช่ใน 95% เอธานอล (Commercial grade โรงงานสุรา-อยุธยา กรมสรรพสามิต) กรองด้วยกระดาษกรอง ทำให้แห้งในเครื่องระเหยแบบลดความดัน (Rotavapor) จะได้สารสกัดหยาบ (Crude extract) เป็นของเหลวหนืด

1.1.2 การเตรียมสารละลายของสารสกัดหยาบสำหรับฉีด

ละลายสารสกัดหยาบในสารละลายผสม 1:9 ของ Tween 80 (DIFCO Laboratory, Detroit, Michigan, USA) กับ Polythyleneglycol (Srich and United Dispensary Ltd. Partnership) แล้วเจือจางด้วย NSS (0.9% Sodium chloride solution หรือ Normal saline solution)

ในกลุ่มควบคุม (control) นั้น สัตว์ทดลองจะได้รับน้ำยา (Vehicle) ซึ่งประกอบด้วย Tween 80 และ Ethyleneglycol และ NSS ในอัตราส่วนเดียวกับที่ใช้ในการเตรียมสารละลายของสารสกัดหยาบสำหรับฉีด

ในการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดหยาบต่อกิจกรรมการเคลื่อนที่ในหนูถีบจักรขาวนี้ สัตว์ทดลองจะได้รับยาโดยการฉีดเข้าใต้ผิวหนัง (Subcutaneous injection) ในขนาดปริมาตร (Dose volum) 10 ml/kg ตลอดการทดลอง

1.2 สารละลายแอมเฟตามีน (Amphetamine) สำหรับฉีด

ในการทดลองนี้จะใช้ Amphetamine sulfate เป็นยามาตรฐาน (Standard drug) โดยละลายแอมเฟตามีน (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข) ใน NSS ให้มีความเข้มข้นที่จะให้แก่สัตว์ทดลองได้ในขนาดปริมาตร (Dose volume) 10 ml/kg กลุ่มควบคุมจะได้รับ NSS ในขนาดปริมาตร 10 ml/kg เช่นเดียวกัน

ในการทดลองเพื่อดูผลของแอมเฟตามีนต่อกิจกรรมการเคลื่อนที่ในหนูถีบจักรขาวนี้ สัตว์ทดลองจะได้รับยาโดยการฉีดเข้าช่องท้อง (Intraperitoneal injection)

1.3 สัตว์ทดลอง

ในการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดหยาบที่มีต่อกิจกรรมการเคลื่อนที่ (Locomotor activity) นั้น ใช้หนูถีบจักรขาวพันธุ์สวิส (Swiss Albino mice) เพศเมีย น้ำหนักตัว 20-30 กรัม เลี้ยงด้วยน้ำก๊อกและอาหารเม็ด (Gold Coin) ในหน่วยเรือนเลี้ยงสัตว์ทดลองคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่

สัตว์ทดลองจะถูกนำมาจากเรือนเลี้ยงรับรอง มาเลี้ยงไว้ที่หน้าห้องปฏิบัติการอย่างน้อย 2 วัน ในกล่องโลหะขนาด 25 x 40 x 17 เซนติเมตร โดยแยกเป็นกลุ่ม กลุ่มละ 10-15 ตัว สัตว์จะได้รับน้ำและอาหารตราบจนถึงเวลาทำการทดลอง

1.4 เครื่องมือที่ใช้วัดกิจกรรมการเคลื่อนที่

เครื่องมือนี้สร้างขึ้นในภาควิชาเภสัชวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ประกอบด้วย 2 ส่วน คือ ส่วนที่เป็นกล่องสำหรับใส่สัตว์ทดลอง (Experimental cage) และส่วนที่เป็นกล่องอุปกรณ์อิเลคทรอนิค ที่ทำหน้าที่เป็นเครื่องบันทึกการนับ (Counting recorder)

กล่องสำหรับใส่สัตว์ทดลองทำด้วยแผ่นพลาสติกใส ขนาดความหนา 5 มิลลิเมตร ยาว 43.80 เซนติเมตร และสูง 15.15 เซนติเมตร ในด้านยาวจะติดตั้งดวงไฟขนาดประมาณ 10 วัตต์ 2 ดวง ให้ห่างกันประมาณ 17 เซนติเมตร และในด้านตรงกันข้าม จะติดตั้งเครื่องจับแสง (Light detector หรือ Photoelectric cells) 2 ตัว ที่คอยรับแสงจากดวงไฟแต่ละดวง เครื่องวัดแสงทั้งสองนี้จะต่อสายเข้ากับกล่องอุปกรณ์อิเลคทรอนิค และสามารถบันทึกการนับได้ โดยที่สัตว์ทดลองตัดลำแสงหนึ่งลำแสงใด เครื่องจะบันทึกการนับหนึ่งครั้ง เมื่อครบกำหนดเวลาการทดลอง (40 นาที) แล้ว สามารถตั้ง "0" ในเครื่องวัดได้ใหม่

วิธีทดลอง

การทดลองทั้งหมดจะทำในระหว่างเวลา 8.30-13.30 น. ในห้องปฏิบัติการที่ควบคุมอุณหภูมิที่ 22 ± 1 องศาเซลเซียส ด้วยเครื่องปรับอากาศ ประตูและหน้าต่างห้องปิดสนิท หน้าต่างที่เป็นกระจกจะถูกกรุไว้ด้วยกระดาษโปสเตอร์สีดำชนิดหนา เพื่อป้องกันแสงสว่าง

แบ่งสัตว์ทดลองเป็นชุดๆละ 3 ตัว ซึ่งสัตว์ทดลองแต่ละชุดนี้ในกลุ่มควบคุม (Control) จะได้รับน้ำยาโดยการฉีดเข้าทางใต้ผิวหนัง (Vehicle,s.c.) หรือได้รับ NSS โดยการฉีดเข้าทางช่องท้อง (NSS, i.p.) ส่วนในกลุ่มที่ได้รับยา (Treated groups) นั้น แต่ละชุดจะได้รับสารสกัดหยาบ (s.c.) ในขนาด 300, 500, 1000 หรือ 2000 mg/kg ตามลำดับ หรือได้รับ Amphetamine (i.p) ในขนาด 2.5, 5, 10, หรือ 20 mg/kg ตามลำดับ

ปรากฏบนเครื่องบันทึกทุก 5 นาทีเป็นเวลา 40 นาที ค่าที่บันทึกได้นี้จะเป็นค่าสะสม (Cumulative counts)

เนื่องจากได้สร้างเครื่องวัดกิจกรรมการเคลื่อนที่เพียงเครื่องเดียว จึงแยกการทดลองออกตามขนาด (Dose) ของยาหรือสารสกัดหยาบที่ใช้ โดยแต่ละการทดลองจะมีกลุ่มควบคุม (Control) และกลุ่มได้รับยา (Treated) และจัดลำดับการทดลองในแต่ละวันไว้ดังนี้ คือ

- กลุ่มได้รับยา
- กลุ่มควบคุม
- กลุ่มได้รับยา
- กลุ่มควบคุม
- กลุ่มได้รับยา

ดังนั้น ในการทดลองแต่ละวัน จะใช้สัตว์ทดลอง 2 ชุด ในกลุ่มควบคุม และ 3 ชุด ในกลุ่มได้รับยา ค่าของการนับที่ได้แต่ละเวลาจะนำไปทดสอบด้วยวิธีทางสถิติ โดยใช้วิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวนอันเนื่องมาจากตัวแปรสองตัว (2-Way ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % (0.05)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติดังกล่าวนี้ ใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSSPC ในการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยเครื่องไมโครคอมพิวเตอร์

ผลการทดลอง

1. ผลของสารสกัดหยาบต่อกิจกรรมการเคลื่อนที่ของหนูถีบจักร

1.1. กลุ่มที่ได้รับสารสกัดหยาบ 300 mg/kg

ตารางที่ 1 ก. แสดงค่า Mean ± SD ของค่าสะสมของการนับ (Counts) ในเวลาหลังจากได้รับการฉีดเข้าใต้ผิวหนังในกลุ่มควบคุม (Vehicle 10 ml/kg) และกลุ่มได้รับยา (สารสกัดหยาบ 300 mg/kg) n = จำนวนชุดของการทดลอง

เวลา (นาที)	ค่าสะสมการนับ (Mean ± SD) (n)	
	กลุ่มควบคุม	กลุ่มได้รับยา
5	387.50 ± 11.70 (4)	392.50 ± 72.85 (6)
10	738.25 ± 67.00 (4)	654.83 ± 69.93 (6)
15	1036.25 ± 68.35 (4)	914.00 ± 93.58 (6)
20	1279.25 ± 183.75 (4)	1151.50 ± 177.63 (6)
25	1457.00 ± 282.70 (4)	1356.50 ± 272.61 (6)
30	1658.75 ± 383.55 (4)	1462.50 ± 301.88 (6)
35	1750.25 ± 424.79 (4)	1548.50 ± 286.57 (6)
40	1846.50 ± 485.03 (4)	1634.50 ± 303.75 (6)

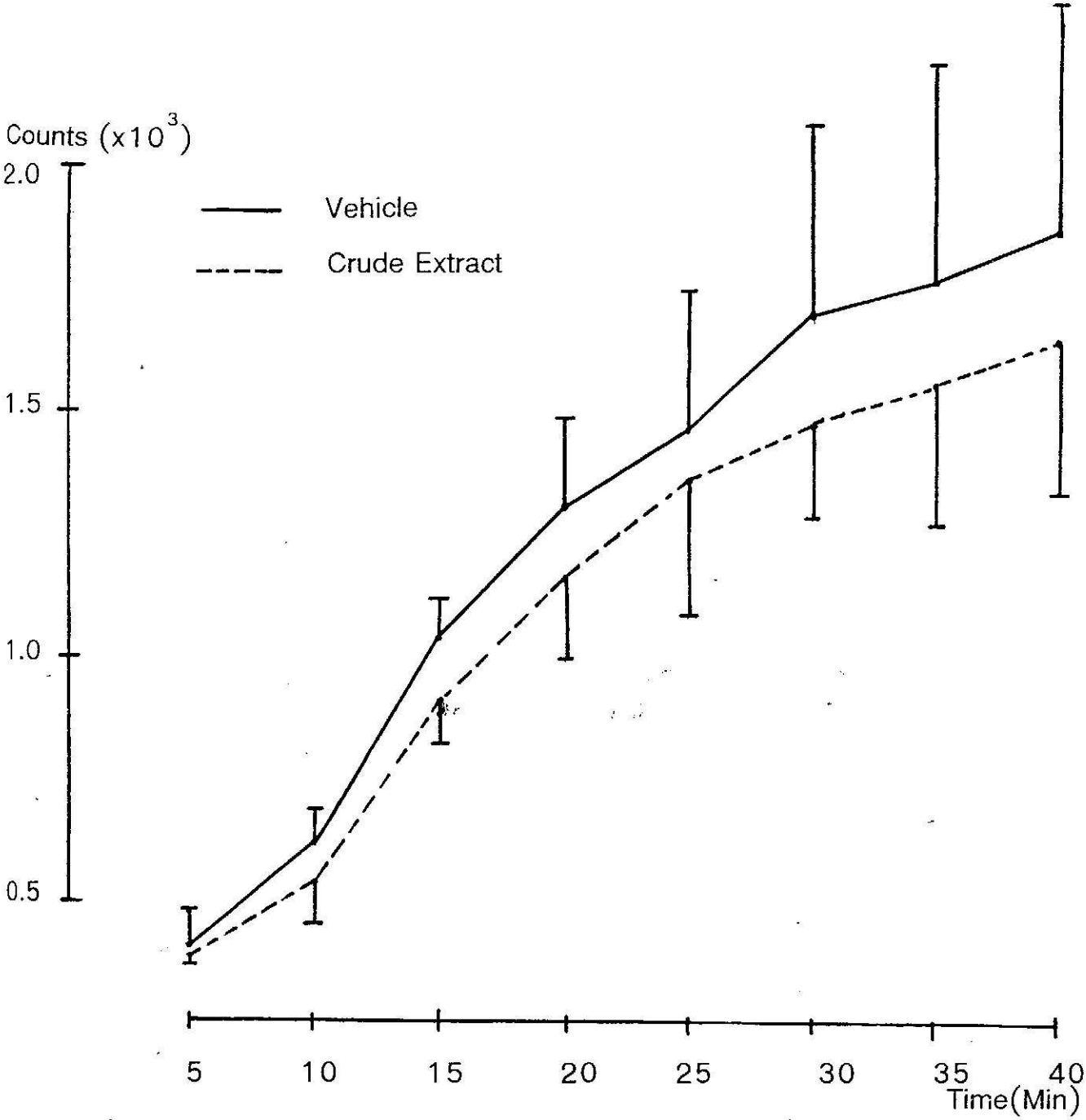
ตารางที่ 1 ข สรุปผล 2-Way ANOVA

	S.S	DF	MS	F	P
Time	15191274.117	1	15191274.117	246.220	0.000
Treated	343416.502	1	343416.502	5.556	N.S
Interaction	15534690.619	2	4467345.309	125.893	0.000
Total	20285426.200	79	256777.547		

N.S. = Not significant

Time = เวลาหลังการให้น้ำยา (Vehicle) หรือสารสกัดหยาบ 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 นาที

Treated= น้ำยา (10 ml/kg Vehicle) และ 300 mg/kg ของสารสกัดหยาบ



รูปที่ 1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของค่าสะสม (Cumulative counts) ที่วัดในกลุ่มควบคุม (10 ml/kg Vehicle) และกลุ่มได้รับสารสกัดหยาบ (300 mg/kg Crude extract) กับเวลาหลังได้รับยา (Min)

1.2. กลุ่มที่ได้รับสารสกัดหยาบ 500 mg/kg

ตารางที่ 2 ก แสดงค่า Mean ± SD ของค่าสะสมของการนับ (Counts) ในเวลาหลังจากได้รับการฉีดเข้าใต้ผิวหนังในกลุ่มควบคุม (Vehicle 10 ml/kg) และกลุ่มได้รับยา (สารสกัดหยาบ 500 mg/kg) n = จำนวนชุดของการทดลอง

เวลา (นาที)	ค่าสะสมการนับ (Mean ± SD) (n)	
	กลุ่มควบคุม	กลุ่มได้รับยา
5	353.50 ± 39.65 (4)	385.00 ± 88.53 (6)
10	622.25 ± 145.32 (4)	653.67 ± 179.68 (6)
15	935.00 ± 197.34 (4)	898.83 ± 306.18 (6)
20	1277.75 ± 369.73 (4)	1043.50 ± 323.49 (6)
25	1558.25 ± 465.01 (4)	1217.67 ± 456.59 (6)
30	1721.00 ± 482.21 (4)	1337.67 ± 536.47 (6)
35	1946.25 ± 593.23 (4)	1542.17 ± 633.88 (6)
40	2260.50 ± 876.26 (4)	1700.00 ± 690.71 (6)

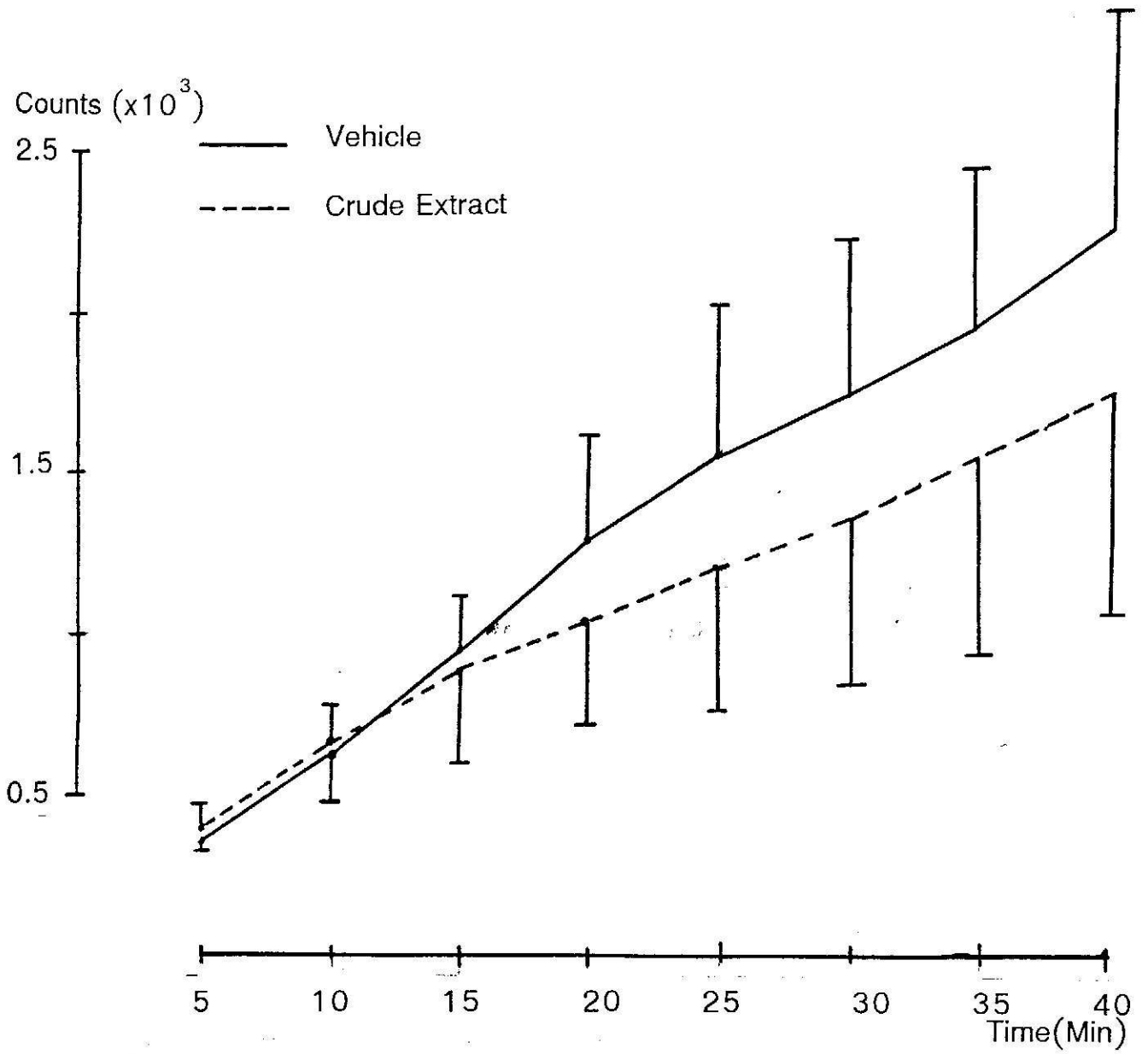
ตารางที่ 2 ข สรุปผล 2-Way ANOVA

	S.S	DF	MS	F	P
Time	19556443.501	1	19556443.501	104.964	0.000
Treated	1078444.800	1	1078444.800	5.788	N.S
Interaction	20634888.301	2	10317444.150	55.376	0.000
Total	34981231.987	79			

N.S. = Not significant

Time = เวลาหลังการให้น้ำยา (Vehicle) หรือสารสกัดหยาบ 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 นาที

Treated= น้ำยา (10 ml/kg Vehicle) และ 500 mg/kg ของสารสกัดหยาบ



รูปที่ 2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของค่าสะสม (Cumulative counts) ที่วัดในกลุ่มควบคุม (10 ml/kg Vehicle) และกลุ่มได้รับสารสกัดหยาบ (500 mg/kg Crude extract) กับเวลาหลังได้รับยา (Min)

1.3. กลุ่มที่ได้รับสารสกัดหยาบ 1,000 mg/kg

ตารางที่ 3 ก แสดงค่า Mean ± SD ของค่าสะสมของการนับ (Counts) ในเวลาหลังจากได้รับการฉีดเข้าใต้ผิวหนังในกลุ่มควบคุม (Vehicle 10 ml/kg) และกลุ่มได้รับยา (สารสกัดหยาบ 1,000 mg/kg) n = จำนวนชุดของการทดลอง

เวลา (นาที)	ค่าสะสมการนับ Mean ± SD (n)	
	กลุ่มควบคุม	กลุ่มได้รับยา
5	344.50 ± 55.01 (4)	349.00 ± 40.69 (6)
10	533.00 ± 120.22 (4)	623.80 ± 136.86 (6)
15	718.00 ± 137.22 (4)	812.40 ± 163.09 (6)
20	884.50 ± 217.79 (4)	961.20 ± 188.99 (6)
25	1036.50 ± 239.05 (4)	1066.20 ± 250.67 (6)
30	1097.75 ± 266.63 (4)	1248.60 ± 282.47 (6)
35	1224.75 ± 250.99 (4)	1247.60 ± 259.21 (6)
40	1276.75 ± 256.28 (4)	1423.00 ± 392.19 (6)

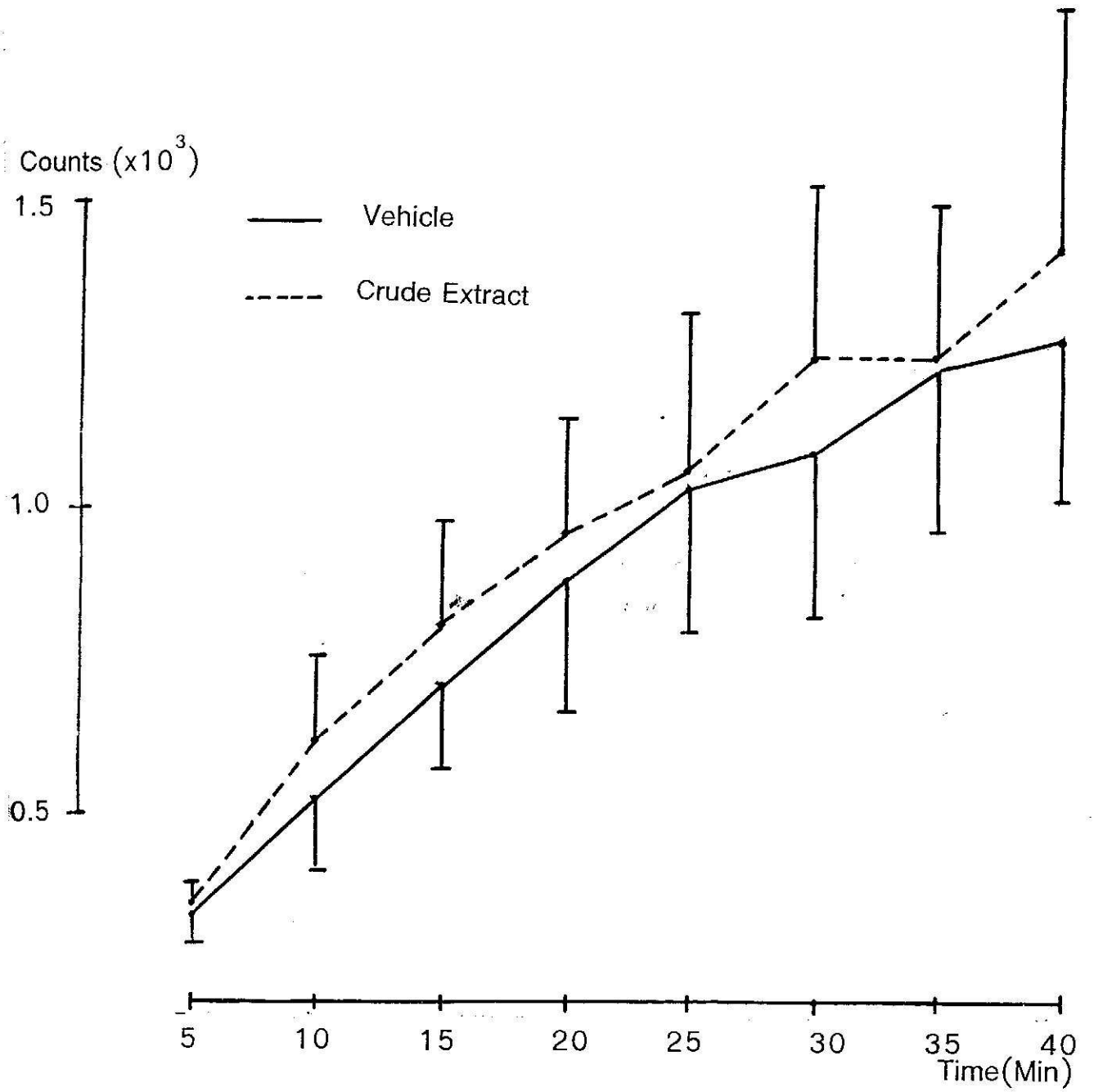
ตารางที่ 3 ข สรุปผล 2-Way ANOVA

	S.S	DF	MS	F	P
Time	7341194.931	1	7341194.931	162.094	0.000
Treated	105421.556	1	105421.556	2.356	N.S
Interaction	7446616.487	2	7446616.487	83.225	0.000
Total	10533517.504	71			

N.S. = Not significant

Time = เวลาหลังการให้น้ำยา (Vehicle) หรือสารสกัดหยาบ 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 นาที

Treated= น้ำยา (10 ml/kg Vehicle) และ 1,000 mg/kg ของสารสกัดหยาบ



รูปที่ 3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของค่าสะสม (Cumulative counts) ที่วัดในกลุ่มควบคุม (10 ml/kg Vehicle) และกลุ่มได้รับสารสกัดหยาบ (1,000 mg/kg Crude extract) กับเวลาหลังได้รับยา (Min)

1.4. 2,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของสารสกัดหยาบ (s.c.)

ตารางที่ 4 ก แสดงค่า Mean ± SD ของค่าสะสมของการนับ (Counts) ในเวลาหลังจากได้รับการฉีดเข้าใต้ผิวหนังในกลุ่มควบคุม (Vehicle 10 ml/kg) และกลุ่มได้รับยา (สารสกัดหยาบ 2,000 mg/kg) n = จำนวนชุดของการทดลอง

เวลา (นาที)	ค่าสะสมการนับ Mean ± SD (n)	
	กลุ่มควบคุม	กลุ่มได้รับยา
5	444.25 ± 93.60 (4)	317.67 ± 65.09 (6)
10	740.00 ± 122.05 (4)	503.67 ± 78.48 (6)
15	1000.25 ±162.06 (4)	617.50 ± 86.78 (6)
20	1176.50 ± 218.12 (4)	699.00 ± 112.36 (6)
25	1331.00 ± 218.12 (4)	744.17 ± 131.54 (6)
30	1415.00 ± 232.35 (4)	788.67 ± 153.57 (6)
35	1366.75 ± 186.75 (4)	842.67 ± 184.50 (6)
40	1459.75 ± 215.44 (4)	911.00 ± 164.33 (6)

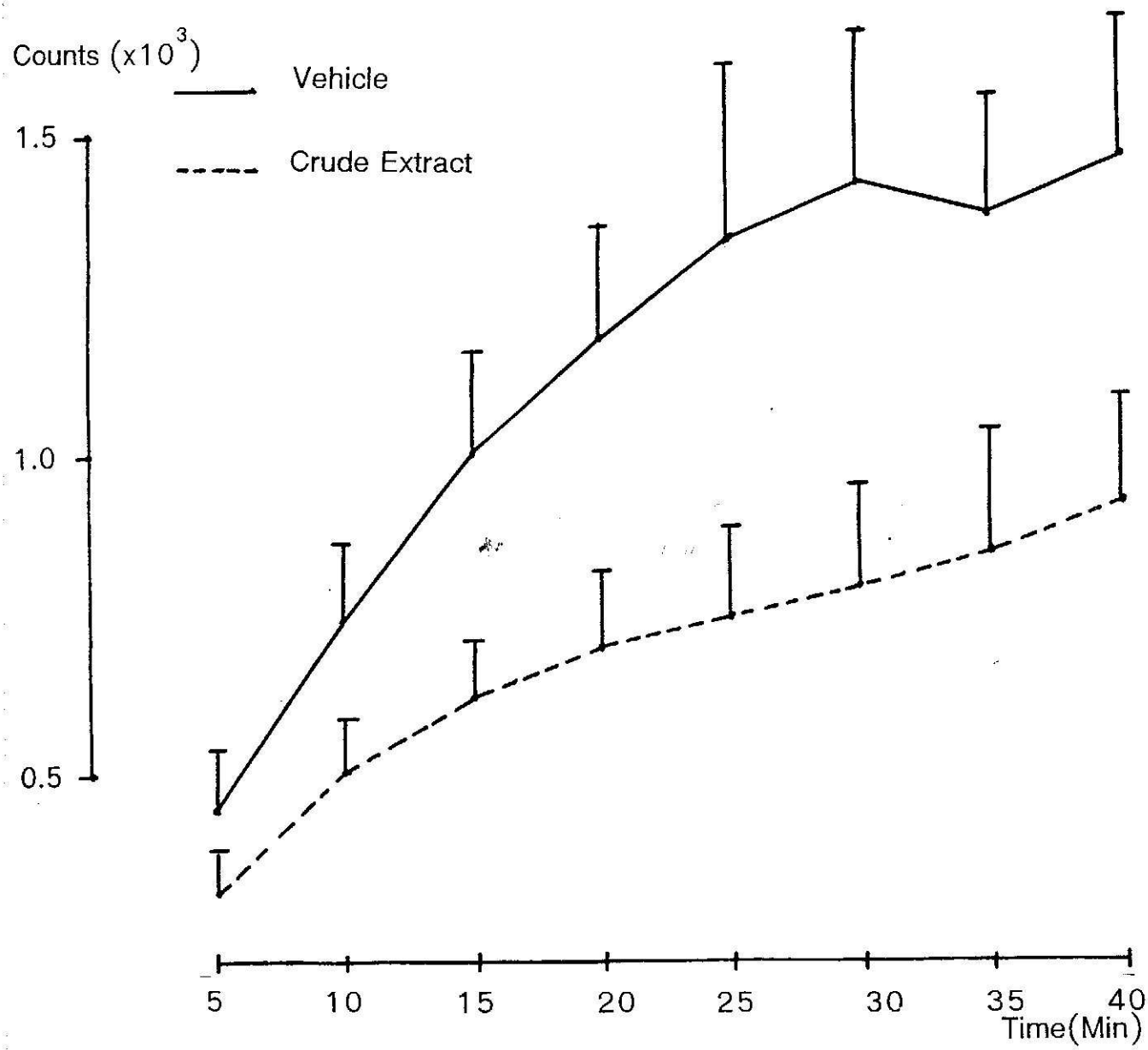
ตารางที่ 4 ข สรุปผล 2-Way ANOVA

	S.S	DF	MS	F	P
Time	15191274.117	1	15191274.117	246.220	0.000
Treated	343416.502	1	343416.502	5.556	N.S
Interaction	15534690.619	2	7767345.329	125.893	0.000
Total	20285426.200	79	256777.547		

N.S. = Not significant

Time = เวลาหลังการให้น้ำยา (Vehicle) หรือสารสกัดหยาบ 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 นาที

Treated= น้ำยา (10 ml/kg Vehicle) และ 2,000 mg/kg ของสารสกัดหยาบ



รูปที่ 4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของค่าสะสม (Cumulative counts) ที่วัดในกลุ่มควบคุม (10 ml/kg Vehicle) และกลุ่มได้รับสารสกัดหยาบ (2,000 mg/kg Crude extract) กับเวลาหลังได้รับยา (Min)

จากผลการทดลองที่แสดงไว้ในตารางที่ 1.ก และ 1.ข ถึง ตารางที่ 4.ก และ 4.ข รวมทั้งกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าสะสม (Cumulative counts) กับเวลาที่วัด แสดงไว้ในรูปที่ 12 13 14 และ 15

เมื่อทำการทดสอบด้วย 2-Way ANOVA (ดูตารางที่ 1.ข ถึง 4.ข) แสดงความมีนัยสำคัญของเวลา (Time) และนัยสำคัญของ Interaction แต่ไม่แสดงนัยสำคัญของการใช้ยา (Treated)

การทดสอบ ANOVA ได้ผลเช่นเดียวกันไม่ว่าจะให้สารสกัดหยาบในขนาด 300, 500, 1000 หรือ 2000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม กล่าวคือ ผลที่ได้จากกลุ่มที่ได้รับยา (Treated) จะไม่แตกต่างจากผลในกลุ่มควบคุม (Control) อย่างมีนัยสำคัญ

จากผลการทดลองสรุปได้ว่า สารสกัดหยาบไม่ว่าจะให้ในขนาด 300 500 1,000 หรือ 2,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จะไม่มีผลที่ทำให้เกิดความเปลี่ยนแปลงต่อพฤติกรรมการเคลื่อนที่ในหนูถีบจักรที่ทำการทดสอบแต่อย่างใด

2. ผลของยาแอมเฟตามีนต่อกิจกรรมการเคลื่อนที่ของหนูถีบจักร

2.1 กลุ่มที่ได้รับ Amphetamine ขนาด 2.5 mg/kg

ตารางที่ 5 ก. แสดงค่า Mean ± SD ของค่าสะสมของการนับ (Counts) ในเวลาหลังจากได้รับการฉีดเข้าช่องท้องในกลุ่มควบคุม (NSS) และกลุ่มได้รับ Amphetamine (2.5 mg/kg)
n = จำนวนชุดของการทดลอง

เวลา (นาที)	ค่าสะสมการนับ (Mean ± SD) (n)	
	กลุ่มควบคุม	กลุ่มได้รับยา
5	423.17 ± 74.58 (4)	516.43 ± 71.11 (6)
10	770.17 ± 132.05 (4)	1000.71 ± 133.63 (6)
15	1044.67 ± 190.33 (4)	1503.57 ± 260.78 (6)
20	1266.33 ± 401.04 (4)	1958.86 ± 389.03 (6)
25	1418.83 ± 506.83 (4)	2476.29 ± 586.91 (6)
30	1488.83 ± 519.34 (4)	2913.14 ± 673.01 (6)
35	1620.17 ± 605.22 (4)	3168.67 ± 757.41 (6)
40	1682.67 ± 567.17 (4)	3519.50 ± 925.97 (6)

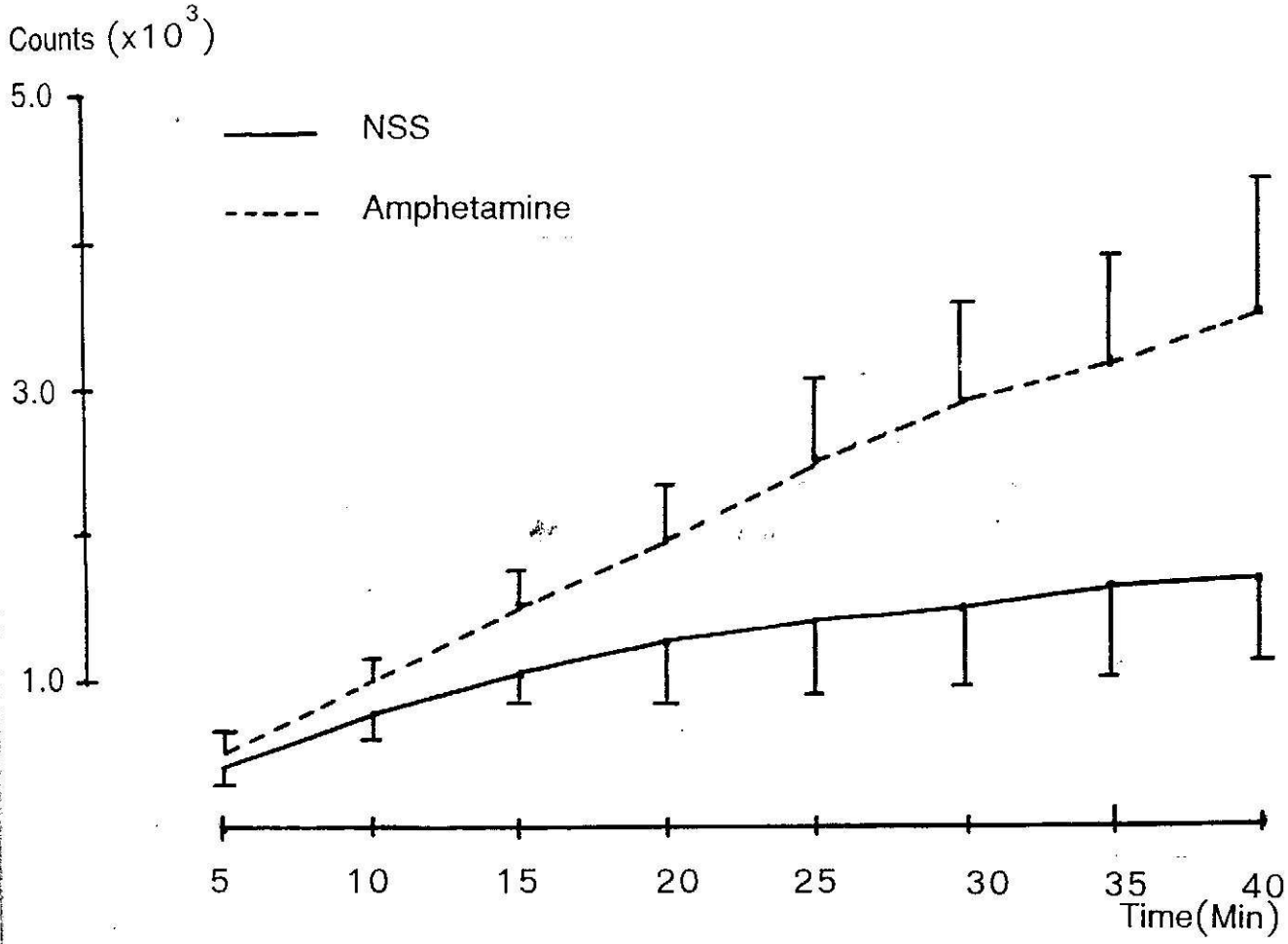
ตารางที่ 5 ข สรุปผล 2-Way ANOVA

	S.S	DF	MS	F	P
Time	82601383.669	1	82601383.669	411.478	0.000
Treated	16783537.500	1	16783537.500	83.607	N.S
Interaction	99384921.169	2	49692460.584	247.543	0.000
Total	118054022.625	95	118054022.625		

N.S. = Not significant

Time = เวลาหลังจากได้รับ NSS หรือ Amphetamine 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 นาที

Treated= NSS (10 ml/kg) และ Amphetamine (2.5 mg/kg)



รูปที่ 5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของค่าสะสม (Cumulative counts) ที่วัดในกลุ่มควบคุม (10 ml/kg NSS) และกลุ่มได้รับยา (2.5 mg/kg Amphetamine) กับเวลาหลังการได้รับยา (Min)

1.2 กลุ่มที่ได้รับ **Amphetamine 5 mg/kg**

ตารางมี่ 6 ก. แสดงค่า Mean ± SD ของค่าสะสมของการนับ (Counts) ในเวลาหลังจากได้รับการฉีดเข้าช่องท้องในกลุ่มควบคุม (NSS) และกลุ่มได้รับ Amphetamine (5 mg/kg)

n = จำนวนชุดของการทดลอง

เวลา (นาที)	ค่าสะสมการนับ (Mean ± SD) (n)	
	กลุ่มควบคุม	กลุ่มได้รับยา
5	424.00 85.69 (4)	519.33 59.34 (6)
10	839.17 128.66 (4)	995.67 66.71 (6)
15	1147.50 146.63 (4)	1465.00 178.22 (6)
20	1469.33 172.53 (4)	1965.00 245.43 (6)
25	1735.00 170.53 (4)	2511.67 393.71 (6)
30	1863.17 203.81 (4)	3117.83 452.65 (6)
35	2076.33 271.48 (4)	3752.83 567.69 (6)
40	2379.00 304.36 (4)	4296.17 751.79 (6)

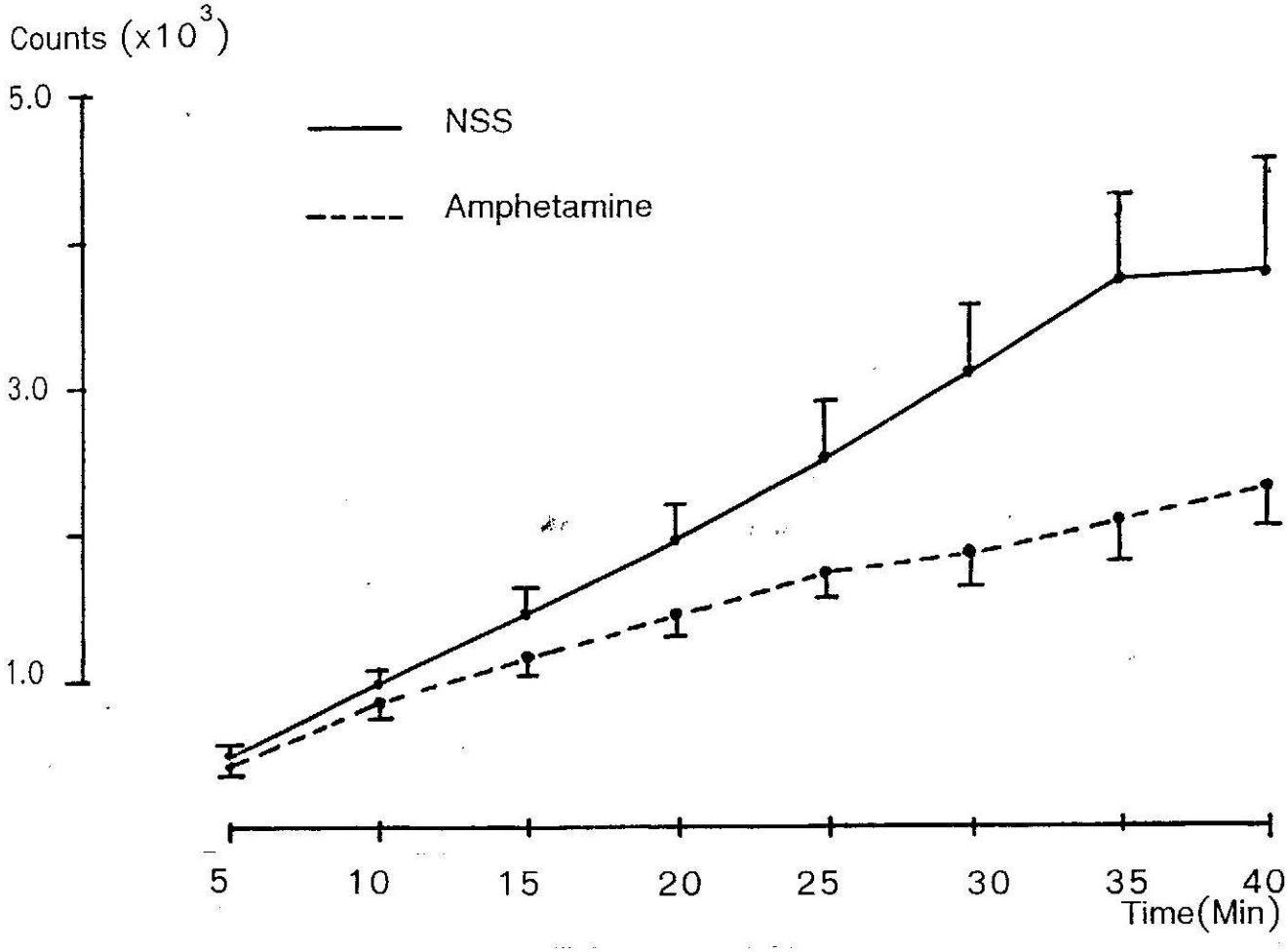
ตารางที่ 6 ข สรุปผล 2-Way ANOVA

	S.S	DF	MS	F	P
Time	81126331.050	7	82601383.669	411.478	0.000
Treated	33632705.042	1	16783537.500	83.607	N.S
Interaction	114759036.091	2	49692460.584	247.543	0.000
Total	154373129.333	95	118054022.625		

N.S. = Not significant

Time = เวลาหลังจากได้รับ NSS หรือ Amphetamine 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 นาที

Treated= NSS (10 ml/kg) และ Amphetamine (5 mg/kg)



รูปที่ 6 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของค่าสะสม (Cumulative counts) ที่วัดในกลุ่มควบคุม (10 ml/kg NSS) และกลุ่มได้รับยา (5 mg/kg Amphetamine) กับเวลาหลังการได้รับยา (Min)

CENTRAL LIBRARY
PRINCE OF SONGKLA UNIVERSITY

2.3 กลุ่มที่ได้รับ **Amphetamine 10 mg/kg**

ตารางที่ 7 ก. แสดงค่า Mean ± SD ของค่าสะสมของการนับ (Counts) ในเวลาหลังจากได้รับการฉีดเข้าช่องท้องในกลุ่มควบคุม (NSS) และกลุ่มได้รับ Amphetamine (10 mg/kg)

n = จำนวนชุดของการทดลอง

เวลา (นาที)	ค่าสะสม (Mean ± SD) (n)	
	กลุ่มควบคุม	กลุ่มได้รับยา
5	436.83 103.00 (4)	546.17 70.54 (6)
10	806.50 193.99 (4)	1100.33 265.15 (6)
15	1137.83 307.52 (4)	1718.83 297.75 (6)
20	1414.50 490.24 (4)	2330.17 356.32 (6)
25	1574.83 620.87 (4)	2927.67 415.87 (6)
30	1744.50 757.66 (4)	3463.33 469.15 (6)
35	1956.83 941.09 (4)	4011.17 568.41 (6)
40	2076.33 1065.17 (4)	4519.83 658.90 (6)

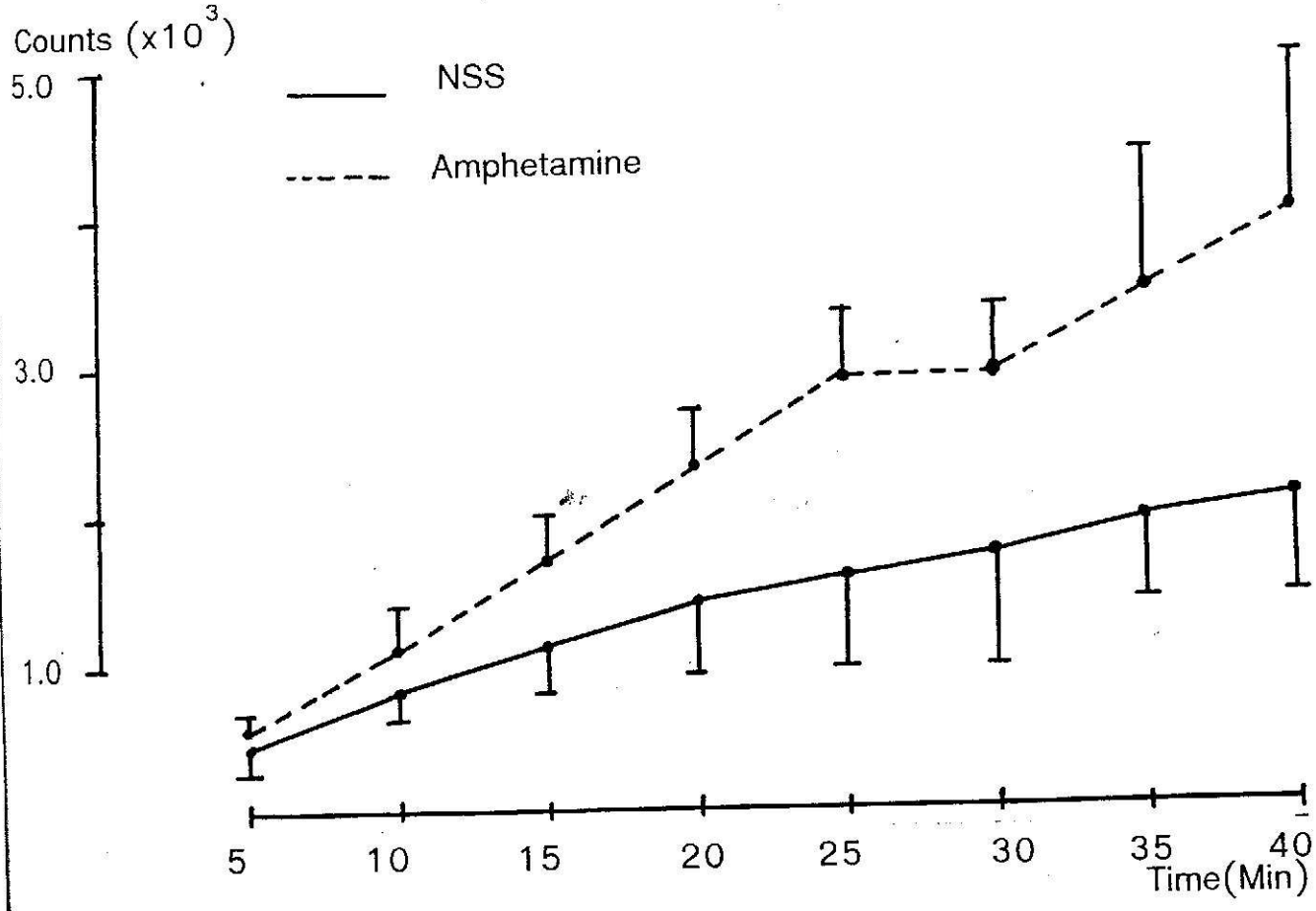
ตารางที่ 7. ข สรุปผล 2-Way ANOVA

	S.S	DF	MS	F	P
Time	52623729.936	1	52623729.936	164.174	0.000
Treated	22091743.274	1	22091743.274	68.921	0.000
Interaction	74715473.210	2	37357736.370	116.548	0.000
Total	106769010.233	102	4046755.002		

N.S. = Not significant

Time = เวลาหลังจากได้รับ NSS หรือ Amphetamine 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 นาที

Treated= NSS (10 ml/kg) และ Amphetamine (10 mg/kg)



รูปที่ 7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของค่าสะสม (Cumulative counts) ที่วัดในกลุ่มควบคุม (10 ml/kg NSS) และกลุ่มได้รับยา (10 mg/kg Amphetamine) กับเวลาหลังการได้รับยา (Min)

2.4 กลุ่มที่ได้รับ Amphetamine 20 mg/kg

ตารางที่ 8 ก. แสดงค่า Mean ± SD ของค่าสะสมของการนับ (Counts) ในเวลาหลังจากได้รับการฉีดเข้าช่องท้องในกลุ่มควบคุม (NSS) และกลุ่มได้รับ Amphetamine (20 mg/kg)

n = จำนวนชุดของการทดลอง

เวลา (นาที)	ค่าสะสม (Mean± SD) (n)					
	กลุ่มควบคุม			กลุ่มได้รับยา		
5	389.00	43.34	(4)	459.00	68.35	(6)
10	755.00	85.75	(4)	1018.83	211.11	(6)
15	1059.25	71.50	(4)	1578.83	437.85	(6)
20	1198.50	80.68	(4)	2038.83	560.12	(6)
25	1299.25	126.19	(4)	2574.83	703.49	(6)
30	1381.25	163.85	(4)	3069.67	807.94	(6)
35	1404.50	141.43	(4)	3526.00	910.21	(6)
40	1496.00	150.69	(4)	4082.67	823.01	(6)

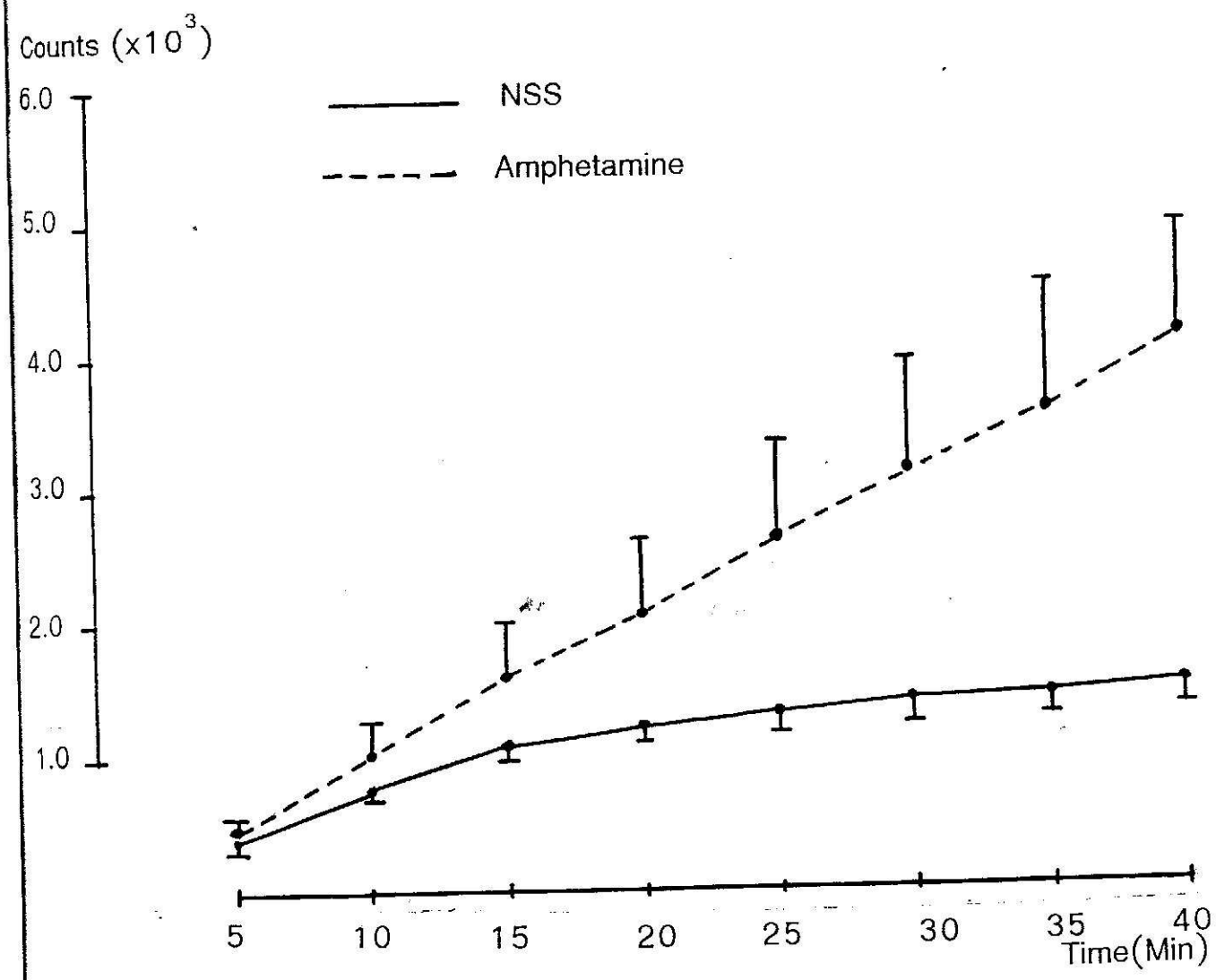
ตารางที่ 8. ข สรุปผล 2-Way ANOVA

	S.S	DF	MS	F	P
Time	55631213.315	7	55631213.315	140.289	0.000
Treated	26316118.502	1	26316118.502	66.363	0.000
Interaction	81947331.817	2	40973665.984	103.326	0.000
Total	112481458.388	79	1423815.925		

N.S. = Not significant

Time = เวลาหลังจากได้รับ NSS หรือ Amphetamine 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 นาที

Treated= NSS (10 ml/kg) และ Amphetamine (20 mg/kg)



รูปที่ 8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของค่าสะสม (Cumulative counts) ที่วัดในกลุ่มควบคุม (10 ml/kg NSS) และกลุ่มได้รับยา (20 mg/kg Amphetamine) กับเวลาหลังการได้รับยา (Min)

ผลการทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 5.ก และ 5.ข ถึง 8 ก. และ 8.ข รวมทั้งกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างสะสม (Cumulative counts) กับเวลาที่วัด แสดงไว้ในรูปที่ 16, 17, 18, และ 19

เมื่อทำการทดสอบด้วย 2-Way ANOVA (ดูตารางที่ 5.ข ถึง 8.ข) แสดงความมีนัยสำคัญของเวลา (Time) การได้รับยา (Treated) และ Interaction โดยผลการทดสอบ ANOVA ได้ผลเช่นเดียวกันไม่ว่าจะให้แอมเฟตามีนในขนาด 2.5, 5, 10 และ 20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แสดงว่าผลที่ได้ในกลุ่มที่ได้รับยา (Treated) จะสูงกว่าจากผลที่ได้จากกลุ่มควบคุม (control) อย่างมีนัยสำคัญ

จากผลการทดลองสรุปได้ว่า แอมเฟตามีนไม่ว่าจะในขนาด 2.5, 5, 10 หรือ 20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จะเพิ่มกิจกรรมการเคลื่อนที่ของหนูถีบจักรขาวอย่างมีนัยสำคัญ

ตอนที่ 2 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดต่อหัวใจส่วนเอเตรีย ของหนูตะเภา (Guinea pig atria)

วัสดุอุปกรณ์

2.1 สัตว์ทดลอง

ในการทดลองนี้ ใช้หนูตะเภา (Guinea pig) พันธุ์พื้นบ้าน ไม่จำกัดเพศ น้ำหนักตัว 250-300 กรัม ซึ่งเลี้ยงในหน่วยเรือนเลี้ยงสัตว์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ โดยเลี้ยงด้วยน้ำก๊อกและอาหารเม็ดเล็ก (Starfeed, กรุงเทพฯโภคภัณฑ์) สัตว์ทดลองจะถูกนำมาจากหน่วยเรือนเลี้ยงสัตว์เมื่อถึงเวลาทำการทดลอง สัตว์ได้รับอาหารและน้ำตราบจนถึงเวลาทำการทดลอง

2.2 การเตรียมน้ำยา

2.2.1 การเตรียมสารละลายของสารสกัดหยาบ

เตรียมสารละลายของสารสกัดหยาบตามวิธีที่กล่าวในข้อ 1.1.2 ให้ได้สารละลายของสารสกัดหยาบที่มีความเข้มข้น 1,000 mg/10 ml

2.2.2 การเตรียมน้ำยา Isoproterenol และ Atropine

ละลาย Isoproterenol และ Atropine sulfate (Sigma Chemical Company, U.S.A) ในสารละลายเครบส์ (Kreb's solution ดูส่วนประกอบในข้อ 2.3.1) ให้ได้สารละลายที่มีความเข้มข้นขนาด $1x10^{-5}$ gm/ml

2.3 การเตรียมหัวใจส่วนเอเตรียจากหนูตะเภา

2.3.1 การแยกหัวใจส่วนเอเตรีย

ฆ่าหนูตะเภาโดยดึงกระดูกคอต่อให้หลุด แล้วตัด Common carotid artery เพื่อไม่ให้เลือดคั่งอยู่ในหัวใจ จากนั้นเปิดทรวงอก ตัดหัวใจทั้งอันออกมาแช่ในสารละลายเครบส์ ซึ่งมีส่วนประกอบดังนี้ (กรัมต่อลิตร) : NaC1 = 6.92, KCl = 0.35, $MgSO_4 .7H_2O$ = 0.29, $CaC1_2$ = 0.56, KH_2PO_4 = 0.16, $NaHCO_3$ = 2.1, D-Glucose = 2.0, Ascorbic acid = 0.02 และ EDTA = 0.025 หัวใจได้รับออกซิเจนโดยการพ่นแก๊สผสมออกซิเจน 95% และคาร์บอนไดอ็อกไซด์ 5 % ลงไปในสารละลายตลอดเวลา จากนั้นแยกหัวใจส่วน Atria ออกจาก Ventricle ด้วยกรรไกร โดยค่อยๆ ตัดหัวใจส่วน Ventricle ออกทีละน้อย ตัดหลอดเลือดและเนื้อเยื่อพังผืดที่ติดอยู่กับ Atria ออกให้

หมด Atria ที่ได้จะเต้นได้ด้วยตัวเอง โดยอาศัยสัญญาณจาก Pacemaker ที่อยู่บน Atria ด้านขวา ซึ่งจะสังเกตได้จากปลายที่เรียวแหลมกว่า

2.3.2 การเตรียมการทดลอง

ใช้เข็มโค้งขนาดเล็กร้อยด้ายทางตรงปลาย Atria ด้านขวา ผูกด้ายเป็นห่วงเพื่อใช้สำหรับคล้องกับตะขอแก้ว ทำเช่นเดียวกันนี้กับ Atria ด้านซ้าย แต่ทิ้งปลายด้ายไว้ให้ยาวเพื่อไว้ผูกกับ Force displacement transducer ของเครื่อง Polygraph จากนั้นนำ Atria ไปจัดไว้ใน Organ bath ขนาด 25 ml ที่มีสารละลายเครบส์อยู่ อุณหภูมิของสารละลายจะถูกรักษาไว้ให้คงที่ที่ 37 องศาเซลเซียส และ Atria จะได้รับแก๊สผสมออกซิเจน 95% และคาร์บอนไดออกไซด์ 5% ตลอดเวลา ปรับแรงตึงตัวของ Atria ด้วยน้ำหนัก 2 กรัม ปล่อยให้ Atria อยู่ในสภาวะเช่นนี้เป็นเวลา 30 นาที ก่อนจะเริ่มทำการทดลอง ทั้งนี้ เพื่อให้ Atria ปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมใหม่ ในช่วงเวลานี้ให้เปลี่ยนสารละลายเครบส์ทุกๆ 10 นาที

2.3.3 การบันทึกการตอบสนองของ Atria

ความแรงในการบีบตัวของ Atria (Force of contraction) และอัตราการเต้นของ Atria จะถูกบันทึกไว้เป็นกราฟ โดยเครื่อง Polygraph (Grass Instruments Medical, Quincy, Mass., U.S.A. Model 7LSA Serial no. 751S6G)

วิธีทดลอง

ผลของสารสกัดหยาบต่อหัวใจส่วน Atria ของหนูตะเภา

หลังจากปล่อยให้ Atria อยู่ในสภาวะปรับตัวเป็นเวลา 30 นาทีแล้ว เริ่มให้ยาโดยใช้สารสกัดหยาบก่อน ครั้งแรกให้สารสกัดเข้าไป 0.2 ml หลังจากการให้ยาแต่ละครั้งจะต้องทิ้งไว้ประมาณ 5-8 นาที เพื่อให้เครื่อง Polygraph บันทึกผลของแรงบีบตัวของ Atria (Force of contraction) และอัตราการเต้นของหัวใจ (Heart rate) บนกราฟ แล้วล้างออกด้วยสารละลายเครบส์ 3 ครั้ง ทิ้งไว้ให้ Atria คืนสู่สภาวะปกติ โดยสังเกตจากกราฟของแรงบีบตัวของ Atria คือปล่อยให้แรงบีบตัวของหัวใจคงที่เป็นเวลาอย่างน้อย 15 นาที แล้วจึงให้ยาครั้งต่อไป โดยเพิ่มปริมาตรของยาขึ้นไปเรื่อยๆ เป็น 0.4, 0.6 และ 0.8 มิลลิลิตร ดูผลการทดลองในรูปที่ 9

ผลของ Isoproterenol และ Atropine ต่อฤทธิ์ของสารสกัดหยาบที่มีต่อหัวใจส่วน Atria ของหนูตะเภา

ให้สารสกัดหยาบแก่ Atria 0.8 ml ทิ้งไว้ประมาณ 5 นาที เพื่อให้เครื่องบันทึกผลของแรงบีบตัวของ Atria (Force of contraction) และอัตราการเต้นของหัวใจ (Heart rate) บนกราฟ

แล้วให้ Isoproterenol ที่มีความเข้มข้น $1x10^{-5}$ gm/ml จำนวน 0.1 ml ทิ้งไว้ 2 นาที หลังจากนั้นล้าง Atria ด้วยสารละลายเครบส์ 3 ครั้ง ปล่อยทิ้งไว้ให้แรงบีบตัวของเอเตรียคงที่ 15 นาที ดูผลการทดลองในรูปที่ 10

ทำการทดลองกับ Atria ด้วยวิธีที่กล่าวข้างต้นนี้ แต่ใช้ Atropine แทน Isoproterenol โดยใช้ Atropine 20 mg/ml ให้เข้าไปใน Organ bath ในขนาด 0.1 ml 3 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 2 นาที ดูผลการทดลองในรูปที่ 11

ผลการทดลอง

ผลของสารสกัดหยาบต่อหัวใจส่วนเอเตรียของหนูตะเภา

ผลการทดลองดังปรากฏในรูปที่ 9 พบว่าสารสกัดหยาบขนาด 0.2, 0.4 และ 0.8 มิลลิตร จะทำให้เกิดการลดแรงบีบตัว (Force of contraction) ของเอเตรียอย่างชัดเจน และในภาวะเดียวกันจะมีการลดของอัตราการเต้นของเอเตรียพร้อมๆ กันด้วย

ลักษณะการลดแรงบีบตัวของเอเตรีย เมื่อให้สารสกัดหยาบเข้าไป จะมีลักษณะเป็น Dose-dependent คือในปริมาณที่สูงขึ้นจะมีการลดแรงบีบตัวของเอเตรียได้มากขึ้น

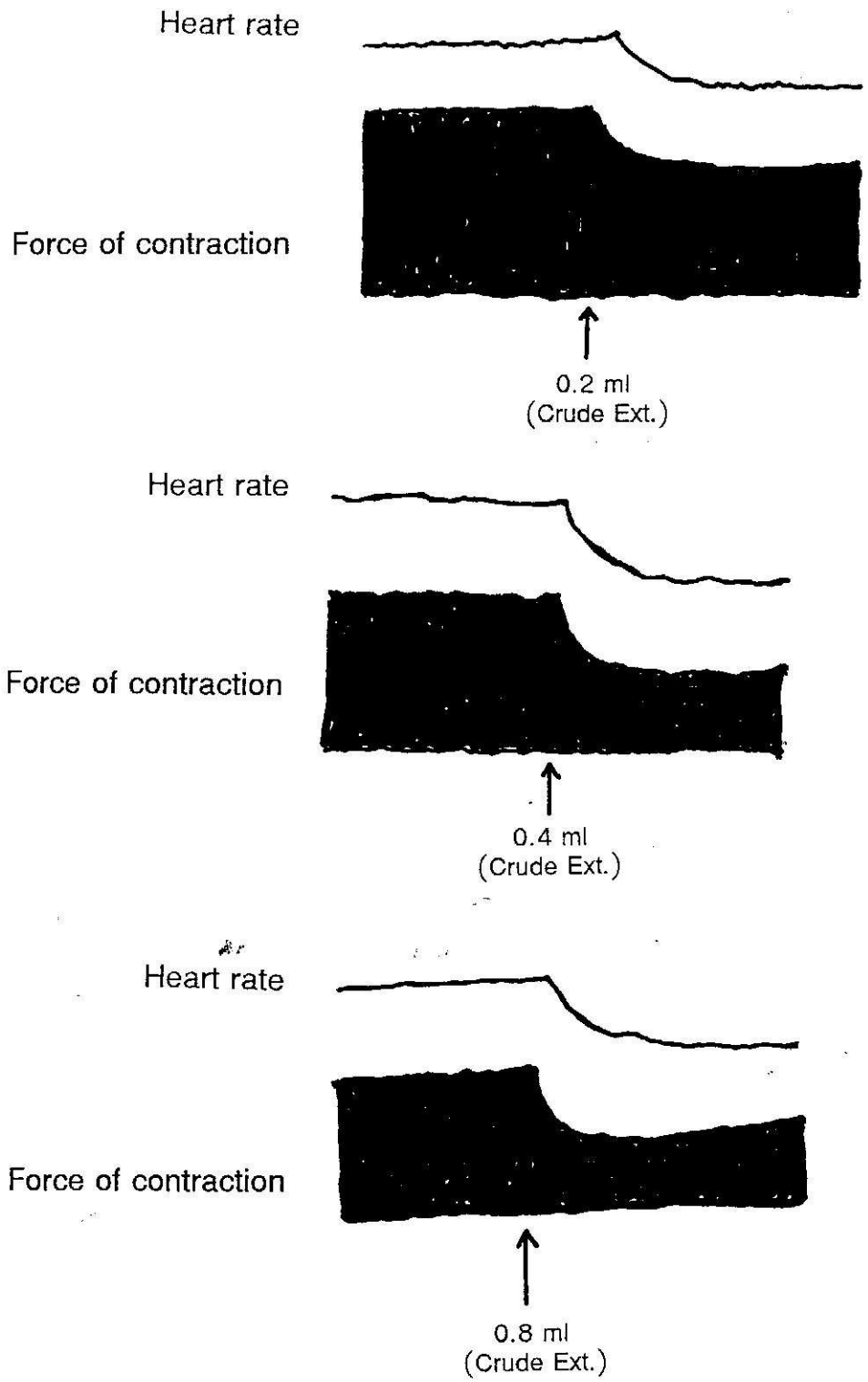
เนื่องจากการทดลองในครั้งนี้ต้องการทดสอบเบื้องต้นเพื่อใช้เป็นข้อมูลในการทำการทดลองต่อไป ซึ่งไม่มีข้อมูลที่ออกมาเป็นตัวเลขที่ชัดเจน

ผลของ Isoproterenol และ Atropine ต่อฤทธิ์ของสารสกัดหยาบที่มีต่อหัวใจส่วนเอเตรียของหนูตะเภา

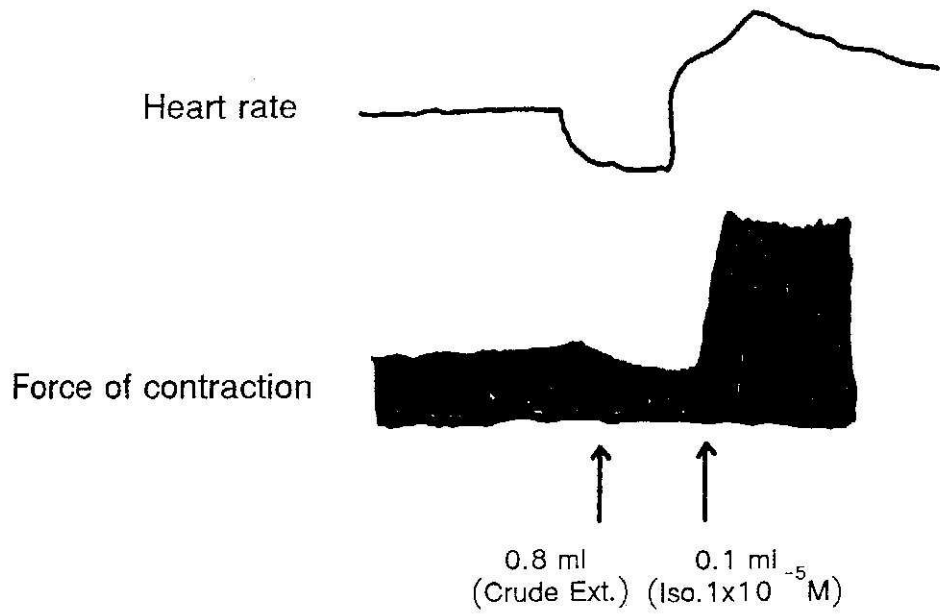
ผลการทดลองดังปรากฏในรูปที่ 10 และ 11

ในรูปที่ 10 จะเห็นว่า Isoproterenol สามารถต้านฤทธิ์การลดแรงบีบตัวของเอเตรียโดยสารสกัดหยาบได้อย่างทันทีทันใด กล่าวคือแรงบีบตัวของเอเตรียหลังได้รับ Isoproterenol จะมากขึ้นกว่าภาวะปกติ (Control) ก่อนได้รับการสารสกัดเสียอีก การเปลี่ยนแปลงอัตราการเต้นของเอเตรีย จะเปลี่ยนไปในทางที่สอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงแรงบีบตัวของเอเตรีย

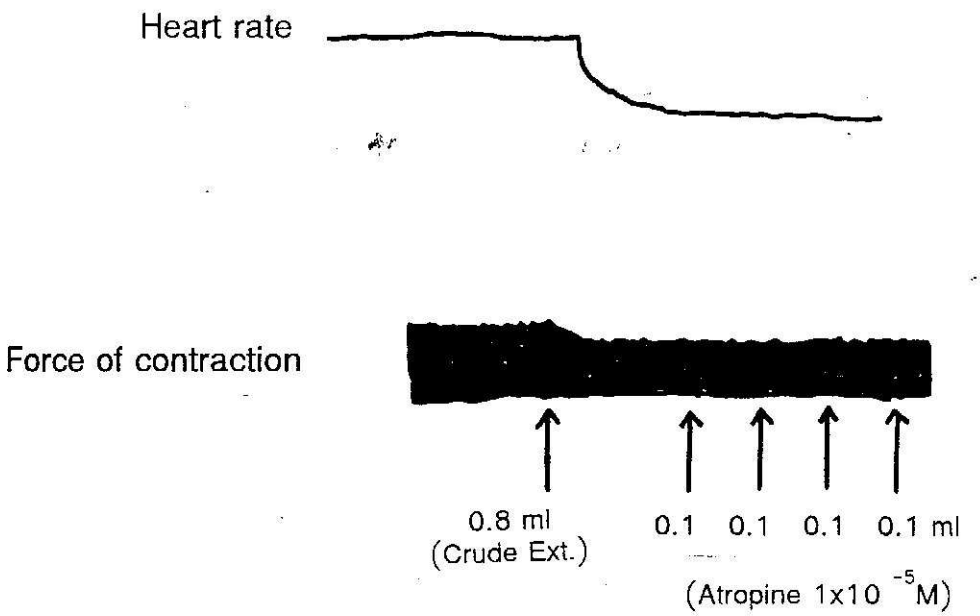
ในรูปที่ 11 ไม่ว่าจะให้ Atropine เพียงครั้งเดียว (0.1 มิลลิลิตร) หรือในเข้าไปจนมีขนาดสะสมทั้งหมด 0.3 มิลลิลิตร ก็ไม่สามารถต้านฤทธิ์ของสารสกัดหยาบที่ทำให้เกิดการลดแรงบีบตัวของเอเตรีย และอัตราการเต้นของเอเตรียแต่อย่างใด



รูปที่ 9 ภาพแสดงผลของสารสกัดหยาบต่อหัวใจส่วนเอเตรีย



รูปที่ 10 ภาพแสดงการต้านฤทธิ์ของ Isoproterenol ต่อการออกฤทธิ์ของสารสกัดหยาบ



รูปที่ 11 ภาพแสดงการต้านฤทธิ์ของ Atropine ต่อการออกฤทธิ์ของสารสกัดหยาบ

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

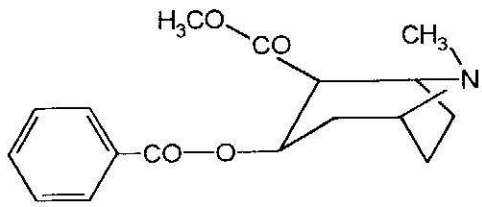
เครื่องมือวัดกิจกรรมการเคลื่อนที่ที่สร้างขึ้นในภาควิชาเภสัชวิทยานี้ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Dews (1953) โดยหลักการคล้ายคลังกัน คือใช้หลักการที่ว่า ถ้าหนูเคลื่อนที่ผ่านลำแสง (Beam of light) เครื่องก็จะนับหนึ่งครั้ง แต่ในเครื่องที่สร้างขึ้นในภาควิชาเภสัชวิทยานี้ ติดตั้งลำแสงไว้ 2 ลำ เพื่อช่วยเพิ่มโอกาสในการนับการเคลื่อนที่ให้มากขึ้น

อย่างไรก็ตาม ในเครื่องมือที่สร้างขึ้นเองนี้ ก็ยังมีจุดอ่อนหลายอย่าง เช่น ในกรณีที่สัตว์ทดลองเคลื่อนที่อยู่ตามบริเวณมุม หรือขอบด้านกว้างด้านใดด้านหนึ่ง เครื่องก็ไม่สามารถนับได้ ซึ่งเป็นปัญหาเดียวกับที่ Dews (1953) ได้รายงานไว้เช่นกัน จุดอ่อนอีกประการหนึ่งการนับของเครื่องนี้มีการกระโดด (Jumping counts) ในบางครั้ง แต่ก็สามารถตัดข้อผิดพลาดอันนี้ได้ เพราะว่าใช้เครื่องเพียงเครื่องเดียวตลอดการทดลอง และการวิเคราะห์ข้อมูลก็ใช้เป็นการเปรียบเทียบค่าที่ได้จากการทดลองแต่ละชุด และอาจจะเป็นจุดอ่อนประการนี้ในเครื่องนั่นเอง ทำให้ไม่สามารถหาค่าการนับที่มีลักษณะเป็น Dose-dependent ได้

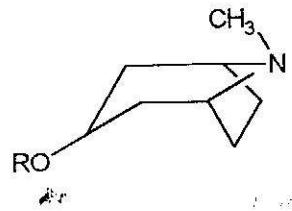
ได้มีการทดลองเป็นจำนวนมากที่ใช้ผลของ Amphetamine ที่มีการเพิ่มกิจกรรมการเคลื่อนที่เป็นเครื่องชี้ในการศึกษาในสัตว์ทดลองต่างๆ เช่น ในหนูถีบจักร (Bushnell, PJ and Gordon, CJ, 1987, Riffee, WH *et al*, 1987, Kohda, H *et al*, 1986, Valdman, AV and Poshivalov, VP, 1986, Bushnell, PJ, 1986, Snoddy, AM; Tessel, RE, 1985, Stavchansky, S *et al*. 1985, and Grebb, JA, 1986), หนูแรท (rat) (Sanbery, PR *et al*, 1987, Vale, AL and Ratcliffe, F, 1987, Gately, PE *et al*, 1987 Sharp, T *et al*, 1987, และในเกอร์บิลส์ (Gerbils) (Costa, AJL *et al*,1986)

ในการทดลองครั้งนี้ พบว่า Amphetamine ในขนาดที่ใช้ (2.5, 5, 10, และ 20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) เพิ่มกิจกรรมการเคลื่อนที่อย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่สารสกัดหยาบไม่ว่าจะขนาด 300, 500, 1000 หรือ 2000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ไม่มีผลต่อกิจกรรมการเคลื่อนที่ของหนูถีบจักรแต่อย่างใด ทั้งนี้ อาจเป็นไปได้ว่า ในสารสกัดหยาบมีปริมาณของสารที่มีฤทธิ์กระตุ้นระบบประสาทส่วนกลางต่ำมาก จนไม่เห็นผลอะไรออกมา หรืออาจเป็นไปได้ว่าในสารสกัดหยาบที่ใช้ในการศึกษานั้นได้จากพืช *E. cuneatum* ซึ่งอาจไม่มีสารอัลคาลอยด์ที่มีฤทธิ์กระตุ้นประสาทส่วนกลางเหมือนกับโคเคนที่พบในใบของ E. coca

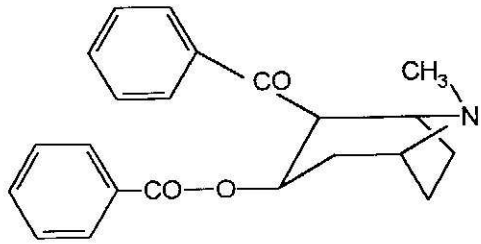
El-Imam และคณะ (1988) ได้แยกสารอัลคาลอยด์ออกจากใบของ *E. cuneatum* และพบว่าสารอัลคาลอยด์ที่เป็นหลัก (Principle alkaloid) ในใบของพืชชนิดนี้ คือ (±)-3,6,3-Dibenzoxyloxytropane และเอสเตอร์ (Esters) อีก 4 ตัวของ Benzoyl- และ Tigloyl esters นอกจากนี้ยังมีนิโคติน (Nicotin) อีกด้วย



Cocaine
(Methylbenzoylecgonine)



N-Methyl-8-azabicyclo (3,2,1)octane



Dibenzoyloxytropane

รูปที่ 12 ภาพแสดงการเปรียบเทียบโครงสร้างทางเคมีของ Cocaine กับ Dibenzoyloxytropane ซึ่งมีโครงสร้างพื้นฐานคือ N-methyl-8-azabicyclo [3,2,1]-octane เหมือนกัน

โดยที่มีการศึกษามากมายพบว่า Cocaine มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาหลายอย่าง (Ritchie and Greene, 1985) เช่น เป็นยาชา (Local anesthetic) กระตุ้นระบบประสาทส่วนกลาง (CNS stimulant) เสริมฤทธิ์การกระตุ้นระบบประสาทซิมพาเธติก (Sympathomimetic) ออกฤทธิ์ต่อระบบหัวใจและหลอดเลือดได้ เพิ่มกิจกรรมของระบบกล้ามเนื้อโครงสร้างต่างๆ ฯลฯ ซึ่งเป็นที่น่าสนใจในการศึกษาว่า ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของ Dibenzoyloxytropane ต่อระบบต่างๆของร่างกายจะเป็นอย่างไรบ้าง

จากการทดสอบผลเบื้องต้นของสารสกัดหยาบต่อหัวใจส่วนเอเตรีย ที่แยกออกมาจากหนูตะเภา(Isolated guineapig atria) พบว่า สารสกัดหยาบสามารถลดแรงบีบตัว (Force of contraction) และอัตราการเต้นของเอเตรีย (Heart rate) ได้ การลดดังกล่าวสามารถต่อต้านได้โดย Isoproterenol แต่ไม่สามารถต่อต้านได้โดย Atropine อาจมีความเป็นไปได้ ดังนี้

1. การรบกวนต่อแรงบีบตัว (Force of contraction) และอัตราการเต้นของเอเตรีย (Heart rate) อาจเกิดจากผลที่ไม่เจาะจงของสารสกัดหยาบ (Non-specific effect) โดยอาจเข้าไปรบกวนการทำงานของหัวใจส่วนเอเตรียด้วยกลไกที่ไม่ทราบแน่ชัด เพราะจากการทดสอบด้วยน้ำยาอย่างเดียว (ดูส่วนประกอบในข้อ ที่ 1.1.2) ไม่พบการเปลี่ยนแปลงการทำงานของหัวใจส่วนเอเตรียแต่อย่างใด (ผลการทดลองมิได้แสดงไว้)

2. อาจเป็นไปได้ว่าสารเคมีที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบ แม้จะมีเพียงปริมาณน้อย ๆ ก็อาจจะรบกวนการทำหน้าที่ของเอเตรียได้ด้วยกลไกที่น่าจะได้มีการศึกษาต่อไป

3. จากการที่ฤทธิ์การลดแรงบีบตัวและอัตราการเต้นของหัวใจส่วนเอเตรียของสารสกัดหยาบถูกต้านฤทธิ์โดย Isoproterenol และไม่ถูกต้านฤทธิ์โดย Atropine อาจมีความเป็นไปได้ คือ

3.1 การต้านฤทธิ์ระหว่างสารสกัดหยาบกับ Isoproterenol อาจเป็น Physiological antagonism คืออออกฤทธิ์กันคนละตำแหน่งของหัวใจ

3.2 Atropine ไม่สามารถต่อต้านฤทธิ์ของสารสกัดหยาบได้ แสดงว่าการลดแรงบีบตัวของเอเตรียไม่เกี่ยวข้องกับ Muscarinic receptor ในหัวใจ

จากผลการทดลองและข้อสังเกตที่ได้จากการศึกษาในโครงการนี้ เห็นว่า แนวทางการศึกษาในอนาคตน่าจะได้ลองทำการแยกสารบริสุทธิ์ออกจากสารสกัดหยาบ เพื่อยืนยันผลว่าเหมือนกับรายงานของ El-Imam *et al*, (1988) หรือไม่ ในขณะเดียวกันก็ทดสอบผลของสารดังกล่าวต่อกิจกรรมการเคลื่อนที่ของหนูถีบจักรขาว และศึกษารายละเอียดของสารนี้ต่อระบบต่างๆ เช่น ระบบหัวใจและหลอดเลือด (Cardiovascular system) ระบบการหายใจ (Respiratory system) และระบบอื่นๆ โดยทำการทดลองเพื่อศึกษาผลของสารนี้ในอวัยวะที่แยกออกมา (Isolated organs) เช่น หัว

ใจส่วนเอเตรีย (Atria) และหลอดลม (Trachea) ของหนูตะเภา ลำไส้ใหญ่ของหนูตะเภา (Guinea pig ileum) ใน Rat phrenic nerve diaphram ตลอดจนการศึกษาผลภายในตัวสัตว์ทดลอง (In *vivo* study) เพื่อดูผลอื่นๆที่มีต่อร่างกายของสัตว์ทดลอง อันจะทำให้ได้ข้อมูลเพื่อหาข้อสรุปเกี่ยวกับสมบัติทางเภสัชวิทยาของสารนี้ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

บุศบรรณ ณ สงขลา (2520): **วงศ์ไม้ไกรทอง สมุนไพรตอนที่ 2** : บุศบรรณ ณ สงขลา (บรรณาธิการ) ห้างหุ้นส่วนจำกัดนิวธรรมดาการพิมพ์ กรุงเทพฯ หน้า 42-44

Bushnell, PJ (1986): Differential effects of amphetamine and related compounds on locomotor activity and metabolic rate in mice. *Pharmacol. Biochem. Behav 25, 161-170.*

Bushnell, PJ and Gordon, CJ (1987): Effects of amphetamine on behavioral and autonomic thermoregulation in mice. *Pharmacol. 27, 431-435.*

Costa, AJL, Torres, JPM and Paumgartten, FJR (1986): Behavioral effect of apomorphine and d-amphetamine in gerbils (*Meriones unguiculatus*). *Cienc. Cult. 38, 1434-1439*

Darling, CM (1982): **Local anesthetic agents.** In: Wilson and Gisvold's Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry. 8thEd., Doerge,RF. (Ed.) J.B. Lippincott, Philadelphia, p571.

Dews, BP (1953):The measurement of the influence of drugs on locomotor activity in mice. *Brit. J. Pharmacol. 8, 46-48*

El-Imam, YMA, Evans, WC and Grout, RJ (1988): Alkaloids of *Erythroxylum cuneatum*, *E. ecarinatum* and *E. australe*. *Phytochemistry 27, 2181-2184.*

Gately, PF, Segal, DS and Geyer, MA (1987): Sequential changes in behavioral induced by continuous infusion of amphetamine in rats. *Psychopharmacology 91, 352-355.*

Grebb, JA (1986): Nipedipine and flunarizine block amphetamine-induced behavioral stimulation in mice. *Life Sci. 38, 2375-2381.*

Kohada, H, Funahashi, I, and Kimura, H (1986): Decrease in d-methamphetamine activity in mice due to ethanol: Apparent inhibitory and stimulatory effects of ethanol on d-amphetamine induced locomotor activity. *Pharmacol. Biochem. Behav. 25, 1035-1039.*

Riffee, WH, Wanek, E and Wilcox, RE (1987): Prevention of amphetamine-induced behavioral hypersensitivity by concomitant treatment with microgram dose of apomorphine. *J. Pharmacol. 135, 255-258.*

Ritchie, JM and Greene, NM (1985): Local Anesthetics. In: Goodman and Gilman's the Pharmacological Basis of Pharmacotherapeutics. 7thEd. AG Gilman, LS Goodman and A Gilman (Eds.), McMillan, New York, p302-303.

Sanberg, PR, Henault, MA, Hagenmeyer-Houser, SH and Russel, KH (1987): The topography of amphetamine and scopolamine-induced hyperactivity: toward an activity print. *Behav. Neurosci. 101, 131-133.*

Sharp, T, Zettertroem, T, Ljungberg, T and Ungerstedt, U. (1987): A direct comparison of amphetamine-induced behavior and regional brain dopamine release in the rat using intracerebral dialysis. *Brain Res. 401, 322-330.*

Snoddy, AM (1985): Prazoin: Effects on psychomotor stimulant cues and locomotor activity in mice. *Eur. J. Pharmacol. 116, 221-228.*

Stavchansky, S, Riffee, W, and Geary, R (1985): Comparison of locomotor activity change produced by phencyclidine and D-amphetamine in CD-1 mice. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol. 48, 189-202.*

Valdman, AV and Poshivalov, VP (1986): Pharmaco-ethological analysis of antidepressant drug effects. *Pharmacol. Biochem. Behav. 25, 515-519.*.