

## 1.4 การทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสกัดเมธานอลจากต้นกระชายหลังง

สารสกัดเมธานอลของต้นกระชายหลังง ถูกนำไปทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยากับเนื้อเยื่อของหนูตะเภา เนื้อเยื่อของหนูตะเภาที่นำมาใช้ในการทดลองคือ หัวใจส่วนเอเตรียคู (ทั้งข้างซ้ายและข้างขวา) และหลอดลม เพื่อทดสอบว่าสารสกัดดังกล่าวจะมีฤทธิ์กระตุ้นหรือยับยั้งการทำงานของเนื้อเยื่อทั้งสองหรือไม่

### 1.4.1 ยา สารเคมี และสารสกัด

ยาและสารเคมีที่ใช้ในการทดสอบได้แก่ คาร์บาโคล, NaCl,  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , KCl,  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  และ กลูโคส

สารสกัดเมธานอลของต้นกระชายหลังง มีลักษณะคล้ายของแข็งสีน้ำตาล นำมาชั่งน้ำหนัก เติมน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เขย่าอย่างแรงด้วยเครื่องเขย่า นำไปปั่นในเครื่องปั่นด้วยความเร็ว 2500 รอบ/นาที นำสารละลายส่วนที่ใสไปใช้ในการทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

#### 1.4.2 การเตรียมเนื้อเยื่อของหนูตะเภา

วิธีการทั่วไป หนูตะเภาที่ใช้เป็นเพศผู้หรือเพศเมียก็ได้ น้ำหนักระหว่าง 400-570 กรัม หนูตะเภาถูกฆ่าโดยวิธีจับก้านคอสะบัดอย่างแรง เพื่อให้กระดูกก้านคอหักและหลุด หนูตะเภาจะอยู่ในสภาพอัมพาต ใช้กรรไกรตัดเส้นเลือดแดงคอมมอนคาร์โรติด จากนั้นเปิดช่องอกเพื่อแยกเอาหัวใจออกมา เลาะหนังและกล้ามเนื้อบริเวณลำคอเพื่อแยกเอาหลอดลม เนื้อเยื่อทั้งสองจะถูกนำไปตัดแต่งจนกระทั่งได้เนื้อเยื่อที่เหมาะสม จากนั้นนำไปแช่ในหลอดทดลองสำหรับแช่เนื้อเยื่อ เนื้อเยื่อจะถูกแช่อยู่ในสารละลาย Krebs-Hanseleit ซึ่งมีส่วนประกอบดังนี้ (3-10 มิลลิกรัม) NaCl, 118.0 ; NaHCO<sub>3</sub>, 24.9 ; KCl, 4.7 ; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 1.2 ; CaCl<sub>2</sub>, 1.9 ; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1.2 และ glucose, 11.1 สารละลายจะถูกพ่นด้วยฟองอากาศ ซึ่งประกอบด้วยออกซิเจน และคาร์บอนไดออกไซด์ในสัดส่วน 95 : 5 อุณหภูมิของสารละลายจะถูกรักษาไว้ที่ 37 °C ก่อนจะทำการศึกษาทดสอบใด ๆ เนื้อเยื่อจะถูกแช่อยู่ในสารละลายนานประมาณ 30 นาที เพื่อให้เนื้อเยื่อปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมใหม่ ในช่วงเวลาดังกล่าว จะมีการเปลี่ยนสารละลาย Krebs - Hanseleit ทุก ๆ 5-10 นาที

การเตรียมหัวใจส่วนเอเตรียคู หัวใจทั้งอันที่ถูกแยกออกมาจากหนูตะเภา จะถูกแช่อยู่ในสารละลาย Krebs - Hanseleit ที่อุณหภูมิห้อง สารละลายจะถูกพ่นด้วยฟองอากาศซึ่งประกอบด้วยออกซิเจน และคาร์บอนไดออกไซด์ในสัดส่วน 95 : 5 ใช้กรรไกรตัดหัวใจส่วนอื่น ๆ และเลาะเนื้อเยื่อเกี่ยวพันทั้งหลายที่ติดอยู่กับหัวใจส่วนเอเตรียคูออกให้หมด จนกระทั่งได้หัวใจส่วนเอเตรียคูที่สะอาดหมดจด หัวใจส่วนเอเตรียคูนี้อาจเต้นได้เองตลอดเวลา เนื่องจากมีเซลล์บริเวณ เกส เอ โหนด เป็นตัวสร้างสัญญาณไฟฟ้า เซลล์ดังกล่าวอยู่บนเอเตรียข้างขวา ซึ่งจะสังเกตได้จากรูปร่างที่เรียวยาวแหลมกว่าเอเตรียข้างซ้าย ผูกด้ายให้เป็นห่วงสำหรับไว้คล้องกับตะขอแก้ว ให้เข็มร้อยด้ายแทงหัวใจเอเตรียข้างขวา ผูกให้แน่นปล่อยปลายไว้ให้ยาวพอประมาณ เพื่อที่จะนำไปผูกกับ Grass Force Displacement Transducer (Model FT 03 C) จากนั้นนำเอเตรียคูไปแช่ในหลอดทดลองสำหรับแช่เนื้อเยื่อขนาดความจุ 20 มิลลิลิตร (ภาพประกอบ 34) ปรับแรงดึงบนเอเตรียคูประมาณ 2 กรัมความแรงในการบีบตัวของเอเตรียคู จะถูกถ่ายทอดจาก Force Displacement Transducer ผ่านไปยัง Grass Polygraph Recorder อัตราเร็วในการบีบตัวของเอเตรียคู จะถูกบันทึกโดยผ่านทาง Grass Tachograph โดยอาศัยสัญญาณกระตุ้นที่มาจาก Grass Preamplifier (Model 7P1)

การเตรียมเนื้อเยื่อหลอดลม หลอดลมที่ถูกตัดออกจากหนูตะเภา จะถูกนำมาแช่ในสารละลาย Krebs - Hanseleit ที่อุณหภูมิห้อง สารละลายจะถูกพ่นด้วยฟองอากาศซึ่งประกอบด้วยออกซิเจน และคาร์บอนไดออกไซด์ในสัดส่วน 95 : 5 ใช้กรรไกรตัดหัวใจส่วนอื่น ๆ และเลาะเนื้อเยื่อเกี่ยวพันทั้งหลายที่ติดอยู่กับหัวใจส่วนเอเตรียคูออกให้หมด จนเห็นหลอดลมเป็นท่อ

สีขาว จากนั้นจึงใช้กรรไกรตัดตามยาวของหลอดลม โดยตัดกระดูกอ่อนในแนวตรงข้ามกับแนวกล้ามเนื้อเรียบของหลอดลม และหลอดลมออกเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า จากนั้นตัดหลอดลมเป็นแนวขวาง (แนวระหว่างกระดูกอ่อน) สลับกับด้านซ้ายและขวา ความกว้างของระยะที่ตัดประมาณ 3 ช่วง ของแนวกระดูกอ่อน ใช้ด้ายผูกเนื้อเยื่อหลอดลมด้านหนึ่งแล้วผูกเป็นห่วงสำหรับคล้องกับตะขอแก้ว ผูกอีกด้านหนึ่งของเนื้อเยื่อด้วยด้ายให้แน่น ปล่อยปลายเชือกให้ยาวพอประมาณเพื่อนำไปผูกกับ Grass Force Displacement Transducer (Model FTO3C) จากนั้นนำเนื้อเยื่อหลอดลมไปแช่ในหลอดทดลองสำหรับแช่เนื้อเยื่อขนาดความจุ 20 มิลลิลิตร ปรับความตึงของเนื้อเยื่อหลอดลมประมาณ 2 กรัม การหดตัวหรือคลายตัวของเนื้อเยื่อหลอดลมจะถูกถ่ายทอดผ่าน Force Displacement Transducer และบันทึกผลลงบน Grass Polygraph Recorder

การทดสอบฤทธิ์ต่อหัวใจของสารสกัดเมธานอลของต้นกระชายหลังง หลังจากให้เอเตรียคู์แช่อยู่ในหลอดทดลองสำหรับแช่เนื้อเยื่อซึ่งบรรจุสารละลาย Krebs - Hanseleit เป็นระยะเวลาประมาณ 30 นาที การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดเมธานอลของต้นกระชายหลังง กระทำโดยการเติมสารสกัดลงไปในหลอดสำหรับแช่เนื้อเยื่อ การเติมสารสกัดลงไปในหลอดทดลองจะเป็นแบบสะสมปริมาณของสารสกัดที่เติมลงไปในหลอดทดลองครั้งที่ 1 คือ 0.1 มิลลิกรัม รอสังเกตผลที่เกิดกับเอเตรียคู์ เมื่อเกิดการตอบสนองสูงสุด หรือไม่เกิดการตอบสนองใด ๆ ในเวลาอันสมควร (1-3 นาที) จึงเติมสารสกัดเพิ่มลงไปอีก 0.2 มิลลิกรัม รอสังเกตผลเหมือนที่กล่าวมาแล้วข้างต้น จากนั้นจึงเติมสารสกัดลงไปอีก 0.7 มิลลิกรัม รอสังเกตผล ในการทดลองครั้งนี้มีการเติมสารสกัดเมธานอลลงไปในหลอดทดลอง 3 ครั้ง ดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้น รวมปริมาณของสารสกัดเมธานอลที่เติมลงไปในหลอดทดลองเท่ากับ 1 มิลลิกรัม

การทดสอบฤทธิ์ต่อหลอดลมของสารสกัดเมธานอลของต้นกระชายหลังง หลังจากให้เนื้อเยื่อหลอดลมแช่อยู่ในหลอดทดลองสำหรับแช่เนื้อเยื่อ ซึ่งบรรจุสารละลาย Krebs-Hanseleit เป็นเวลาประมาณ 30 นาทีแล้ว การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดเมธานอลของต้นกระชายหลังง ต่อเนื้อเยื่อหลอดลม เนื้อเยื่อหลอดลมจะถูกทำให้หดตัวก่อน โดยใช้ยาคาร์บาโคลในขนาดความเข้มข้น  $5.4 \times 10^{-6}$  โมลาร์ เมื่อเติมยา ลงไปในหลอดทดลองสำหรับแช่เนื้อเยื่อ เนื้อเยื่อหลอดลมจะค่อย ๆ หดตัว จะต้องใช้เวลาประมาณ 15 - 20 นาที หลังจากเติมน้ำยา ลงไปเนื้อเยื่อหลอดลมจึงจะอยู่ในสภาพหดตัวสูงสุด และจะคงสภาพการหดตัวดังกล่าวเรื่อยไป จนถึงเวลาที่ต้องการจะทดสอบฤทธิ์ของยาใด ๆ จากนั้นจึงเติมสารสกัดเมธานอลของต้นกระชายหลังงลงไปในหลอดทดลอง และสังเกตผลที่เกิดกับเนื้อเยื่อหลอดลมว่าหลอดลมจะคลายตัวหรือไม่ ในการทดลองครั้งนี้สารสกัดถูกเติมลงไปในหลอดทดลองเพียงครั้งเดียว คือ 1 มิลลิกรัม

### 1.4.3 ผลการทดลอง

ผลของสารสกัดเมธานอลของต้นหลังงต่อเอตรียคู่ ผลของสารสกัดเมธานอลของต้นกระชายหลังงต่อเอตรียคู่แสดงไว้ใน (ภาพประกอบ 1) สารสกัดในปริมาณต่ำ ๆ (ปริมาณของสารสกัดที่เติมลงไปในหลอดทดลองเท่ากับ 0.1 มิลลิกรัม) ทำให้ความแรงในการบีบตัวและอัตราเร็วในการบีบตัวของเอตรียคู่เพิ่มขึ้น 36.4 และ 19.2 % ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม เมื่อเพิ่มปริมาณของสารสกัดในหลอดทดลอง (ปริมาณสะสมที่เติมลงในหลอดทดลองเท่ากับ 0.3 มิลลิกรัม) กลับพบว่าสารสกัดทำให้ความแรงในการบีบตัว และอัตราเร็วในการบีบตัวของเอตรียคู่ลดลง จากระดับการตอบสนองสูงสุดที่เกิดจากสารสกัดในปริมาณต่ำ (0.1 มิลลิกรัม) และ เมื่อเพิ่มปริมาณของสารสกัดให้สูงขึ้นไปอีก (ปริมาณสะสมที่เติมลงไปในหลอดทดลองเท่ากับ 1.0 มิลลิกรัม) ความแรงในการบีบตัวของเอตรียคู่ก็ลดลงไปอีก เช่นเดียวกันกับอัตราเร็วในการบีบตัวของเอตรียคู่ลดลง ในส่วนของอัตราเร็วในการบีบตัวนี้มีความไม่สม่ำเสมอในการตอบสนองบ้างคือ บางช่วงหัวใจเต้นเร็วบางช่วงหัวใจเต้นช้าแต่ภาพแนวโน้มของการตอบสนองจะเป็นไปในทิศทางลดลง

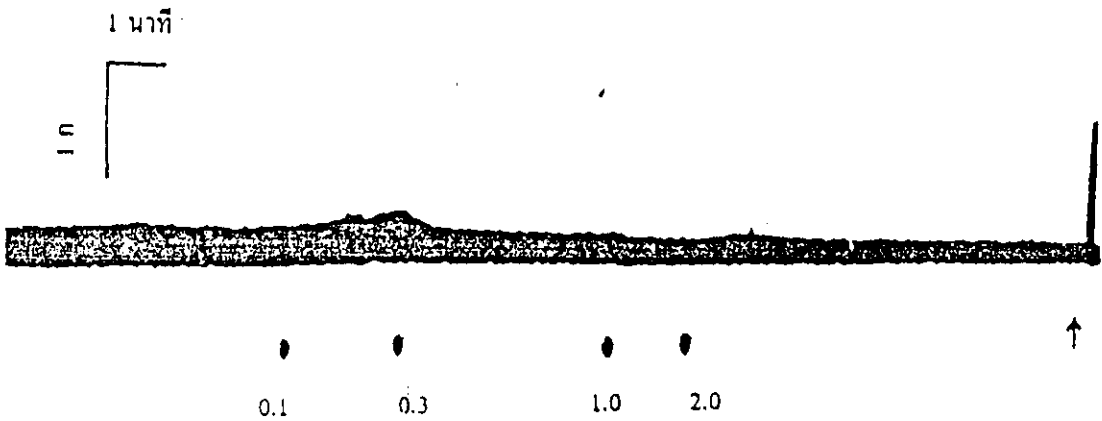
ผลของสารสกัดเมธานอลของต้นกระชายหลังงต่อเนื้อเยื่อหลอดลม แสดงไว้ใน (ภาพประกอบ 2) สารสกัดเมธานอลในปริมาณ 1 มิลลิกรัม สามารถทำให้กล้ามเนื้อเรียบของเนื้อเยื่อหลอดลมคลายตัวลงได้ประมาณ 15% ของความสามารถในการคลายตัวสูงสุดของเนื้อเยื่อหลอดลม

### 1.4.4 อภิปรายผลการทดลอง

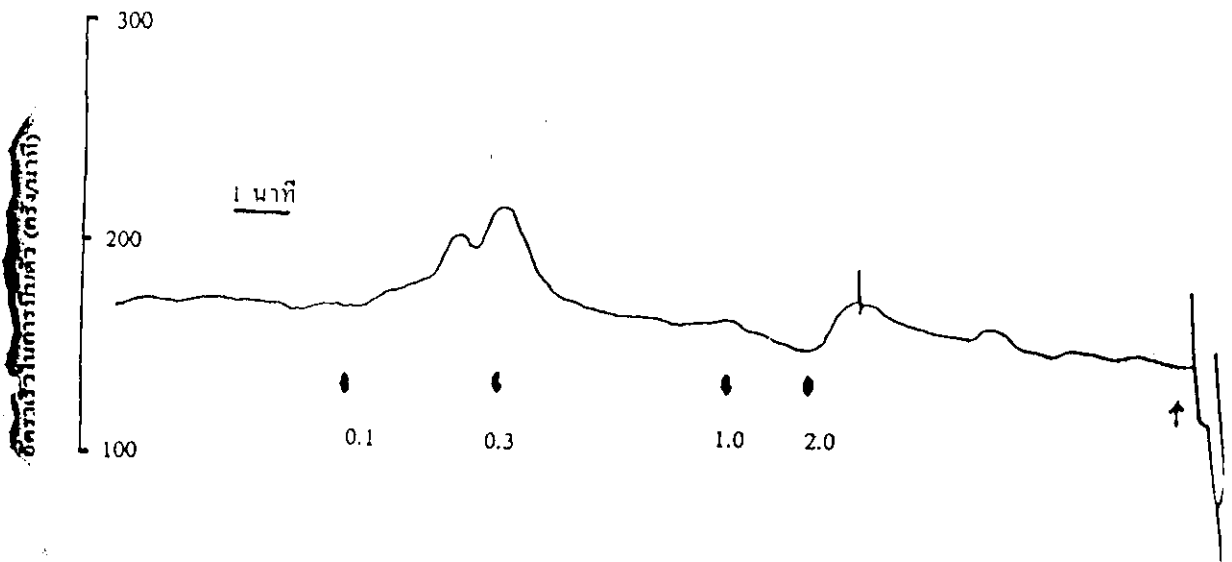
ผลที่ได้จากการทดลองครั้งนี้แสดงว่าสารสกัดเมธานอลของต้นหลังง มีฤทธิ์ในการทำให้กล้ามเนื้อเรียบของเนื้อเยื่อหลอดลมคลายตัวได้ และในเวลาเดียวกันสารสกัดเมธานอลในขนาดต่ำๆ ก็สามารถกระตุ้นหัวใจให้บีบตัวได้แรงขึ้น และเพิ่มอัตราเร็วในการบีบตัวของหัวใจ การทำให้เกิดการตอบสนองต่อเนื้อเยื่อทั้งสองในรูปแบบนี้ กล่าวคือทำให้หลอดลมคลายตัวและกระตุ้นหัวใจ จะมีลักษณะคล้ายกับการออกฤทธิ์ของยาอะดรีเนอร์จิก (adrenergic drugs) บางตัว เช่น อีพิเนฟริน (epinephrine) และ ไอโซโปรเทอรินอล (isoproterenol) ซึ่งยาทั้งสองตัวนี้สามารถใช้ในการบำบัดอาการหดเกร็งของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดลมได้ อย่างไรก็ตามยาทั้งสองมีฤทธิ์กระตุ้นหัวใจในเวลาเดียวกัน ฤทธิ์อันหลังนี้อาจเป็นอันตรายต่อผู้ป่วยได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีที่ผู้ป่วยมีความผิดปกติเกี่ยวกับหัวใจร่วมอยู่ด้วย กลไกในการออกฤทธิ์กระตุ้นกล้ามเนื้อเรียบของหลอดลมให้คลายตัว และฤทธิ์กระตุ้นหัวใจของยาทั้งสองนี้ คือการกระตุ้น

รีเซฟเตอร์ เบต้า -1 ที่หัวใจ และ เบต้า -2 บนกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด ยาทั้งสองกระตุ้นรีเซฟเตอร์ทั้งสองได้แรงพอ ๆ กัน ซึ่งทำให้ยาดังกล่าวไม่ค่อยปลอดภัยในการรักษาผู้ป่วยโรคหอบหืดที่มีโรคหัวใจแทรกซ้อนอยู่ด้วย

การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดเมธานอลของต้นหลังงในครั้งนี้นี้ พบว่าสารสกัดสามารถทำให้กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดคลายตัวได้ ส่วนผลต่อหัวใจจะเป็นไปในการกระตุ้นหรือยับยั้งยังไม่สามารถตอบได้แน่ชัดเพราะสารสกัดทำให้อุณหภูมิของน้ำไม่สม่ำเสมอ และเช่นเดียวกันในการทดสอบครั้งนี้ไม่ได้ทำการศึกษากลไกในการออกฤทธิ์ของสารสกัด ว่าสามารถทำให้กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดคลายตัวได้อย่างไร หรือผลของสารสกัดต่ออวัยวะเกิดจากกระตุ้นรีเซฟเตอร์ เบต้า -1 หรือไม่ ทั้งนี้เป็นเพราะปริมาณของสารสกัดเมธานอลมีปริมาณค่อนข้างน้อย จึงทำให้ทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาดังกล่าวข้างต้นได้เพียงครั้งเดียว อย่างไรก็ตามผลที่ได้จากการทดสอบครั้งนี้ มีแนวโน้มที่แสดงให้เห็นว่าในต้นหลังง มีสารเคมีที่มีฤทธิ์ต่อกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดและหัวใจ สมควรที่จะทำการศึกษาลงละเอียดยิ่งขึ้นต่อไป

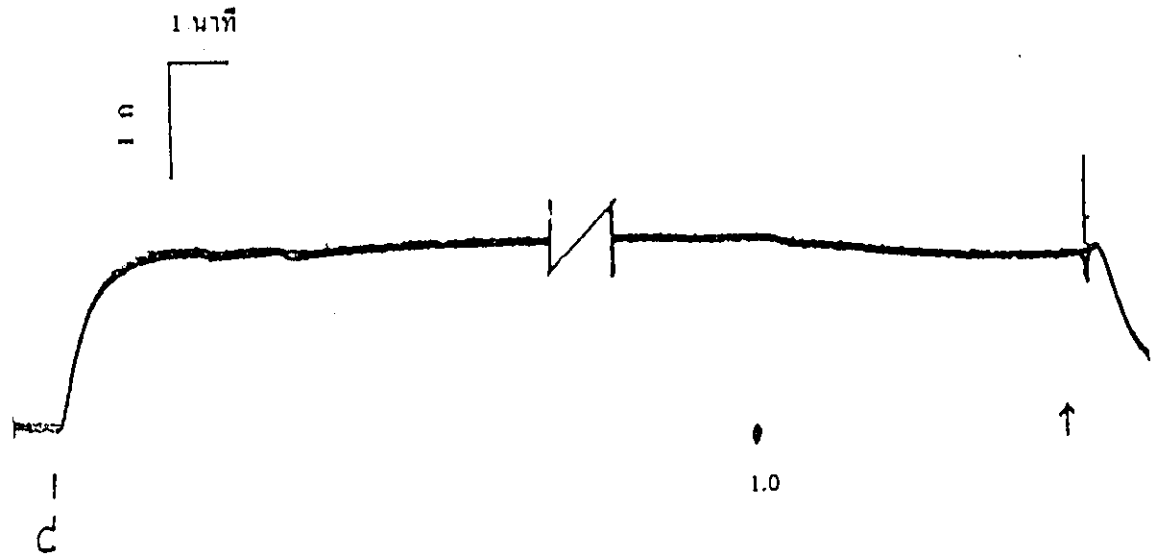


ปริมาณสะสมของสารสกัดเมธานอล (มิลลิกรัม)



ปริมาณสะสมของสารสกัดเมธานอล (มิลลิกรัม)

แผนภาพ 1 กราฟแสดงผลของสารสกัดเมธานอลของต้นกระชายหลังงดต่อ (•) ความแรงในการบีบตัว (กราฟเส้นบน) และอัตราเร็วในการบีบตัวของเอตรียคู่ (กราฟเส้นล่าง) ของหนูตะเภา ลูกศร (↑) แสดงถึงการล้างสารสกัดเมธานอลออกจากหลอดทดลองสำหรับแช่เนื้อเยื่อ



ปริมาณของสารสกัดเมธานอล (มิลลิกรัม)

แผนภาพ 2 กราฟแสดงผลของสารสกัดเมธานอลของต้นกระชายหลังง (•) ต่อก้ามเนื้อเรียบของหลอดลม ซึ่งถูกทำให้หดตัวก่อนด้วย คาร์บาคอล (C) ในขนาดความเข้มข้น  $5.4 \times 10^{-6}$  โมลาร์ ถูกศร (↑) แสดงถึงการล้างสารสกัดเมธานอล ออกจากหลอดทดลองสำหรับแช่เนื้อเยื่อ