



ผลของ morelloflavone และ camboginol จากผลมะพุดต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงธอราลิก
และคอร์ปัสคาเวอร์โนซัมของหนูแร้ที่แยกจากตัว

**Effects of Morelloflavone and Camboginol from *Garcinia dulcis* on Contraction
of Isolated Rat Thoracic Aorta and Corpus Cavernosum**

จารุเนตร ละม้าย

Jarunet Lamai

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสรีรวิทยา

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of

Master of Science in Physiology

Prince of Songkla University

2557

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์	ผลของ morelloflavone และ camboginol จากผลมะพุดต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงทอราสิกและคอร์ปัสคาเวอ์โนซัมของหนูแร้ที่แยกจากตัว
ผู้เขียน	นางสาวจารุเนตร ละม้าย
สาขาวิชา	สรีรวิทยา

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	คณะกรรมการสอบ
.....	ประธานกรรมการ (รองศาสตราจารย์ ดร.ศิริพันธุ์ หิรัญญาชาติธาดา) (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เอกสิทธิ์ กุมารสิทธิ์)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วมกรรมการ (รองศาสตราจารย์ ดร.ศิริพันธุ์ หิรัญญาชาติธาดา)
.....กรรมการ (รองศาสตราจารย์ ดร.วิลาวัลย์ มหาบุษราคัม) (รองศาสตราจารย์ ดร.วิลาวัลย์ มหาบุษราคัม)
กรรมการ (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เพชรรัตน์ ตรงต่อศักดิ์)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสรีรวิทยา

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.ธีระพล ศรีชนะ)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้มาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และได้แสดงความขอบคุณบุคคลที่มีส่วนช่วยเหลือแล้ว

ลงชื่อ.....

(รศ.ดร.ศิริพันธุ์ หิรัญญะชาติธาดา)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ลงชื่อ.....

(นางสาวจรรุเนตร ละม้าย)

นักศึกษา

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และ
ไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ.....

(นางสาวจรรยาเนตร ละม้าย)

นักศึกษา

ชื่อวิทยานิพนธ์	ผลของ morelloflavone และ camboginol จากผลมะพุดต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงชอราสิกและคอร์ปัสคาเวอรัโนซัมของหนูแร้ที่แยกจากตัว
ผู้เขียน	นางสาวจารุเนตร ละม้าย
สาขาวิชา	สรีรวิทยา
ปีการศึกษา	2556

บทคัดย่อ

มะพุด (*Garcinia dulcis* Kurz วงศ์ Guttiferae) เป็นพืชที่พบทั่วไปในประเทศแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ผลมีสรรพคุณ แก้เจ็บคอ เลือดคอกตามไรฟัน และแก้ไอ camboginol และ morelloflavone เป็นสารหลักที่แยกได้จากผลมะพุด มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ การอักเสบ และยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย งานวิจัยนี้ศึกษาฤทธิ์และกลไกการออกฤทธิ์ของ morelloflavone และ camboginol ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงชอราสิกและ corpus cavernosum ที่แยกจากตัวของหนูแร้ เพื่อนำมาใช้เป็นสารลดความดันเลือดและเพิ่มสมรรถภาพทางเพศ แบ่งการทดลองในหลอดเลือดหรือ corpus cavernosum ออกเป็น 3 กลุ่มหลัก คือ 1) กลุ่ม vehicle 2) กลุ่ม morelloflavone หรือ camboginol และ 3) กลุ่ม blocker และ morelloflavone หรือ camboginol โดย blocker ในการทดลองของหลอดเลือด คือ N^G -nitro-L-arginine, indomethacin, glibenclamide และ tetraethylammonium chloride และ blocker ใน corpus cavernosum คือ N^G -nitro-L-arginine และ sildenafil citrate การทดลองทำโดยการชักนำให้เนื้อเยื่อหดตัวก่อนด้วย norepinephrine หรือ phenylephrine จากนั้นให้ morelloflavone 6 ขนาดหรือ camboginol 8 ขนาดแบบสะสม ผลการทดลองพบว่า morelloflavone ขนาด 10^{-9} - 10^{-5} M และ 10^{-8} - 10^{-5} M ทำให้หลอดเลือดแดงชอราสิกและ corpus cavernosum คลายตัวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยมีค่า $E_{max} = 77.49 \pm 5.38\%$ และ $55.92 \pm 2.92\%$ ตามลำดับ กลไกการออกฤทธิ์ของ morelloflavone อาศัยการทำงานของ endothelium, การหลั่ง nitric oxide (NO), การเปิดของ K_{ATP}^+ channel หรือ K_{Ca}^+ channel กลไกการออกฤทธิ์ที่ทำให้ corpus cavernosum คลายตัวอาศัยการหลั่ง NO camboginol ขนาด 10^{-9} - 10^{-3} M และ 10^{-6} - 10^{-5} M ทำให้หลอดเลือดและ corpus cavernosum คลายตัวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยมีค่า $E_{max} = 56.74 \pm 6.05\%$ และ $32.24 \pm 4.30\%$ ตามลำดับ กลไกการออกฤทธิ์ที่ทำให้หลอดเลือดคลายตัว อาศัยการทำงานของ endothelium, การหลั่ง NO ส่วนกลไกการออกฤทธิ์ที่ทำให้ corpus cavernosum คลายตัวอาศัยการหลั่ง NO และยับยั้งการทำงานของ phosphodiesterase type 5

Thesis Title Effects of morelloflavone and camboginol from *Garcinia dulcis* on contraction of isolated rat thoracic aorta and corpus cavernosum

Author Miss Jarunet Lamai

Major Program Physiology

Academic Year 2013

Abstract

Garcinia dulcis Kurz, a family Guttiferae is widely distributed in Southeast Asian countries. The fruits have been used to treat a sore throat, scurvy and cough. Camboginol and morelloflavone are major constituents purified from *G. dulcis*. They possess anti-oxidant, anti-inflammatory and anti-bacterial properties. This work aimed to investigate the actions and mechanism(s) of morelloflavone and camboginol on relaxation of isolated thoracic aortic ring and corpus cavernosum in order to develop these two compounds as anti-hypertensive and anti-erectile dysfunction substances. Experiments for either thoracic aorta or corpus cavernosum were divided into 3 main groups; 1) vehicle group 2) morelloflavone or camboginol group and 3) blocker plus either morelloflavone or camboginol group. The blockers for thoracic aorta experiment included either of N^G -nitro-L-arginine, indomethacin, glibenclamide and tetraethylammonium chloride whereas for corpus cavernosum experiments were N^G -nitro-L-arginine and sildenafil citrate. Precontraction of either thoracic aorta or corpus cavernosum was performed using norepinephrine or phenylephrine respectively. Morelloflavone or camboginol was then added cumulatively. It is found that morelloflavone at the dose 10^{-9} - 10^{-5} M and 10^{-8} - 10^{-5} M significantly ($P<0.05$) relax aortic ring and corpus cavernosum with the E_{max} of $77.49 \pm 5.38\%$ and $55.92 \pm 2.92\%$, respectively. Its vasorelaxant mechanism of action are endothelium-dependent, the releasing of nitric oxide (NO), the opening of either K_{ATP}^+ channel or K_{Ca}^+ channel whereas in corpus cavernosum are endothelium-dependent and the releasing of NO. Camboginol at the dose 10^{-9} - 10^{-3} M and 10^{-6} - 10^{-5} M significantly ($P<0.05$) relax the aortic ring and corpus cavernosum with the E_{max} of $56.74 \pm 6.05\%$ and $32.24 \pm 4.30\%$, respectively. Its vasorelaxant mechanisms of actions are endothelium-dependent and the releasing of NO, whereas in corpus cavernosum are endothelium-dependent, the releasing of NO and the inhibition of phosphodiesterase type 5

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอขอบคุณรองศาสตราจารย์ ดร.ศิริพันธุ์ หิรัญญูชาติธาดา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำแนะนำในการทำวิจัย สอนเทคนิคการผ่าตัดสัตว์ทดลอง ให้กำลังใจในการทำวิจัยจนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ตลอดจนแนะนำการเขียนและแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ และขอขอบคุณรองศาสตราจารย์ ดร.วิลาวัลย์ มหามุขราคม อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม สำหรับความอนุเคราะห์ให้สารทดสอบ ที่ใช้ในการทำวิจัยในครั้งนี้ และให้คำแนะนำ คำ ตลอดจนให้กำลังใจในการทำวิจัยจนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ขอขอบคุณคณะกรรมการสอบและคณาจารย์ภาควิชาสัตววิทยาทุกท่านที่มอบความรู้ คำแนะนำ ชี้แนะข้อบกพร่องต่าง ๆ

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ที่มอบทุนวิจัย ขอขอบคุณ คุณแพทย หิรัญพันธุ์ สำหรับสอนเทคนิคการผ่าตัดสัตว์ทดลอง ขอขอบคุณ คุณสุภาพ นวลพลับ คุณวางคณา ราชชารอง และเจ้าหน้าที่ภาควิชาสัตววิทยาทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือทั้งในเรื่องการทำวิจัยและการจัดทำเอกสารต่าง ๆ ขอขอบคุณพี่ ๆ น้อง ๆ นักศึกษาสัตววิทยาทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือทั้งทางด้านการเรียนและให้กำลังใจตลอดมา ขอขอบคุณ คุณไมตรี นวลพลับและบุคลากรเรือนเลี้ยงสัตว์ทดลองทุกท่าน สุดท้ายขอขอบพระคุณพ่อแม่และญาติพี่น้อง ที่คอยเป็นกำลังใจและให้การสนับสนุนการศึกษาตลอดมา

จารุเนตร ละม้าย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(5)
Abstract	(6)
กิตติกรรมประกาศ	(7)
สารบัญ	(8)
รายการตาราง	(9)
รายการรูป	(12)
สัญลักษณ์และตัวย่อ	(16)
1. บทนำ	1
บทนำต้นเรื่อง	1
การตรวจเอกสาร	3
วัตถุประสงค์	30
2. วิธีดำเนินการทดลอง	31
วัสดุและอุปกรณ์	31
วิธีดำเนินการ	34
การออกแบบการทดลอง	39
3. ผลการทดลอง	48
4. สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	90
5. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	104
เอกสารอ้างอิง	105
ภาคผนวก	112
ประวัติผู้เขียน	135

รายการตาราง

ตารางที่	หน้า
1. แสดงผลของ norepinephrine (NE) ต่อความแรงในการหดตัวของ aortic ring และเปอร์เซ็นต์การเพิ่มค่าความแรงในการหดตัวจากค่า resting tension	112
2. แสดงผลของ ACh ต่อการคลายตัวของ aortic ring ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE ในกลุ่ม intact endothelium และกลุ่ม denude	113
3.1 แสดงค่า maximal relaxation, E_{max} (%) ในกลุ่ม intact endothelium, denuded endothelium, L-NOARG (10^{-6} M), indomethacin (10^{-5} M), glibenclamide (10^{-5} M) และ TEA (10^{-3} M) ที่ตอบสนองต่อ morelloflavone	66
3.2 แสดงค่า 50% effective concentration (EC_{50}) ของ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ aortic ring ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE ในกลุ่ม intact endothelium, denude และกลุ่มที่ให้ blockers 4 ชนิด ได้แก่ N^G -nitro-L-arginine (L-NOARG 10^{-6} M), indomethacin (10^{-5} M), glibenclamide (10^{-5} M) และ tetraethylammonium chloride (TEA 10^{-3} M)	66
3.3 แสดงค่า maximal relaxation, E_{max} (%) ในกลุ่ม intact endothelium, denuded endothelium, L-NOARG (10^{-6} M), indomethacin (10^{-5} M), glibenclamide (10^{-5} M) และ TEA (10^{-3} M) ที่ตอบสนองต่อ camboginol	75
3.4 แสดงค่า 50% effective concentration (EC_{50}) ของ camboginol ต่อการคลายตัวของ aortic ring ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE ในกลุ่ม intact endothelium, denude และกลุ่มที่ให้ blockers 4 ชนิด ได้แก่ N^G -nitro-L-arginine (L-NOARG 10^{-6} M), indomethacin (10^{-5} M), glibenclamide (10^{-5} M) และ tetraethylammonium chloride (TEA 10^{-3} M)	75
3.5 แสดงค่า maximal relaxation, E_{max} (%) ในกลุ่ม morelloflavone, L-NOARG (10^{-6} M) และ sildenafil citrate (10^{-5} M) ที่ตอบสนองต่อ morelloflavone	84
3.6 แสดงค่า 50% effective concentration (EC_{50}) ของ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-5} M PE ในกลุ่ม morelloflavone และกลุ่มที่ให้ blockers 2 ชนิด ได้แก่ N^G -nitro-L-arginine (L-NOARG 10^{-6} M) และ sildenafil citrate (10^{-5} M)	84
3.7 แสดงค่า maximal relaxation, E_{max} (%) ในกลุ่ม camboginol, L-NOARG (10^{-6} M) และ sildenafil citrate (10^{-5} M) ที่ตอบสนองต่อ camboginol	88

รายการตาราง

ตารางที่	หน้า
3.8 แสดงค่า 50% effective concentration (EC_{50}) ของ camboginol ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-5} M PE ในกลุ่ม camboginol และกลุ่มที่ให้ blockers 2 ชนิด ได้แก่ N^G -nitro-L-arginine (L-NOARG 10^{-6} M) และ sildenafil citrate (10^{-5} M)	89
3. (ก) แสดงผลของ vehicle, morelloflavone และ camboginol ต่อการคลายตัวของ aortic ring ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE ในกลุ่ม intact endothelium	114
(ข) แสดงผลของ vehicle, morelloflavone และ camboginol ต่อการคลายตัวของ aortic ring ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE ในกลุ่ม denude endothelium	115
4. แสดงผลของ norepinephrine (NE) ต่อความแรงในการหดตัวของ aortic ring ในกลุ่ม control และกลุ่มที่ให้ L-NOARG (10^{-6} M) ใน intact endothelium	116
5. แสดงผลของ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้ L-NOARG (10^{-6} M) ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE	117
6. แสดงผลของ camboginol ต่อการคลายตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้ L-NOARG (10^{-6} M) ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE	118
7. แสดงผลของ norepinephrine (NE) ต่อความแรงในการหดตัวของ aortic ring ในกลุ่ม control และกลุ่มที่ให้ indomethacin (10^{-5} M) ใน intact endothelium	119
8. แสดงผลของ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้ indomethacin (10^{-5} M) ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE	120
9. แสดงผลของ camboginol ต่อการคลายตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้ indomethacin (10^{-5} M) ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE	121
10. แสดงผลของ norepinephrine (NE) ต่อความแรงในการหดตัวของ aortic ring ในกลุ่ม control และกลุ่มที่ให้ glibenclamide (10^{-5} M) ใน intact endothelium	122
11. แสดงผลของ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้ glibenclamide (10^{-5} M) ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE	123
12. แสดงผลของ camboginol ต่อการคลายตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้ glibenclamide (10^{-5} M) ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE	124

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
13. แสดงผลของ norepinephrine (NE) ต่อความแรงในการหดตัวของ aortic ring ในกลุ่ม control และกลุ่มที่ให้ TEA (10^{-3} M) ใน intact endothelium	125
14. แสดงผลของ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้ TEA (10^{-3} M) ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE	126
15. แสดงผลของ camboginol ต่อการคลายตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้ TEA (10^{-3} M) ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE	127
16. แสดงผลของ pheynylephrine (PE) ต่อความแรงในการหดตัวของ corpus cavernosum และเปอร์เซ็นต์การเพิ่มความแรงในการหดตัวจากค่า tension หลังหยด 124 mM KCl	128
17. แสดงผลของ norepinephrine (NE) ต่อความแรงในการหดตัวของ corpus cavernosum และเปอร์เซ็นต์การเพิ่มความแรงในการหดตัวจากค่า tension หลังหยด 124 mM KCl	128
18. แสดงผลของ acetylcholine (ACh) ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-5} M PE	129
19. แสดงผลของ sildenafil citrate ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-5} M PE	129
20. แสดงผลของ vehicle, morelloflavone และ camboginol ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-5} M PE	130
21. แสดงผลของ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ในขณะที่ให้ L-NOARG (10^{-6} M) ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-5} M PE	131
22. แสดงผลของ camboginol ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ในขณะที่ให้ L-NOARG (10^{-6} M) ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-5} M PE	132
23. แสดงผลของ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ในขณะที่ให้ sildenafil citrate (10^{-5} M) ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-5} M PE	133
24. แสดงผลของ camboginol ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ในขณะที่ให้ sildenafil citrate (10^{-5} M) ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-5} M PE	134

รายการรูป

รูปที่	หน้า
1.1 แสดงลักษณะ โครงสร้างของผนังหลอดเลือด	4
1.2 แสดงกลไกการหดตัวของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด	7
1.3 แสดงกลไกการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดที่ตอบสนองต่อ noradrenaline (NAd)	9
1.4 แสดงกลไกการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดที่ตอบสนองต่อการกระตุ้น ของ agonist เช่น thrombin, bradykinin, substance P และ acetylcholine	13
1.5 แสดงขั้นตอนการสร้าง PGI ₂ ใน endothelial cell และกลไกการทำงานของ PGI ₂ ต่อ smooth muscle cell	14
1.6 แสดง pathway ของ endothelium-dependent vasorelaxation	16
1.7 แสดงภาพตัดขวางของ penis ของหนูแร้ท	19
1.8 แสดง corpus cavernosum ในคน	19
1.9 แสดงกลไกการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ corpus cavernosum	22
1.10 แสดงลักษณะของผลดิบ ผลสุก และใบของมะพูด	26
1.11 แสดงโครงสร้างของ morelloflavone	28
1.12 แสดงโครงสร้างของ camboginol	29
2.1 การแขวนชิ้นหลอดเลือดแดง thoracic ใน organ bath 20 mL	36
2.2 แผนการศึกษาการออกฤทธิ์ของ morelloflavone และ camboginol ในหลอดเลือดแดง thoracic	40
2.3 แผนการศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของ morelloflavone และ camboginol ในหลอดเลือดแดง thoracic	41
2.4 การแขวน corpus cavernosum ใน organ bath 20 mL	42
2.5 แผนการศึกษาการออกฤทธิ์ของ morelloflavone และ camboginol ใน corpus cavernosum	45
2.6 แผนการศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของ morelloflavone และ camboginol ใน corpus cavernosum	46

รายการรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
3.1 แสดงผลของ norepinephrine (NE) ความเข้มข้นระหว่าง 10^{-10} - 10^{-3} M ต่อการหดตัวของ aortic ring ที่แสดงโดยค่า % increase from resting tension	49
3.2 แสดงผลของ acetylcholine (ACh) ต่อการคลายตัวของ aortic ring ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE ที่แสดงโดยค่า % relaxation from 10^{-7} M NE precontraction	50
3.3 แสดงผลของ vehicle และ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ aortic ring ที่มี endothelium ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE แสดงโดยค่า % relaxation from 10^{-7} M NE precontraction	52
3.4 แสดงผลของ vehicle และ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ aortic ring ที่ไม่มี endothelium (denude) ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE แสดงโดยค่า % relaxation from 10^{-7} M NE precontraction	53
3.5 แสดงผลของ NE (10^{-10} - 10^{-3} M) ต่อการหดตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้และไม่ให้ L-NOARG (10^{-6} M) แสดงโดยค่า % increase from resting tension	54
3.6 แสดงผลของ vehicle, morelloflavone และ L-NOARG + morelloflavone ต่อการคลายตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้ L-NOARG (10^{-6} M) และทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE แสดงโดยค่า % relaxation from 10^{-7} M NE precontraction	56
3.7 แสดงผลของ NE (10^{-10} - 10^{-3} M) ต่อการหดตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้และไม่ให้ indomethacin (10^{-5} M) แสดงโดยค่า % increase from resting tension	57
3.8 แสดงผลของ vehicle, morelloflavone และ indomethacin + morelloflavone ต่อการคลายตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้ indomethacin (10^{-5} M) และทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE แสดงโดยค่า % relaxation from 10^{-7} M NE precontraction	59
3.9 แสดงผลของ NE (10^{-10} - 10^{-3} M) ต่อการหดตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้และไม่ให้ glibenclamide (10^{-5} M) แสดงโดยค่า % increase from resting tension	60
3.10 แสดงผลของ vehicle, morelloflavone และ glibenclamide + morelloflavone ต่อการคลายตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้ glibenclamide (10^{-5} M) และทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE แสดงโดยค่า % relaxation from 10^{-7} M NE precontraction	62

รายการรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
3.11 แสดงผลของ NE (10^{-10} - 10^{-3} M) ต่อการหดตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้และไม่ให้ TEA (10^{-3} M) แสดงโดยค่า % increase from resting tension	63
3.12 แสดงผลของ vehicle, morelloflavone และ TEA + morelloflavone ต่อการคลายตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้ TEA (10^{-3} M) และทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE แสดงโดยค่า % relaxation from 10^{-7} M NE precontraction	65
3.13 แสดงผลของ vehicle และ camboginol ต่อการคลายตัวของ aortic ring ที่มี endothelium ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE แสดงโดยค่า % relaxation from 10^{-7} M NE precontraction	67
3.14 แสดงผลของ vehicle และ camboginol ต่อการคลายตัวของ aortic ring ที่ไม่มี endothelium (denude) ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE แสดงโดยค่า % relaxation from 10^{-7} M NE precontraction	69
3.15 แสดงผลของ vehicle, camboginol และ L-NOARG + camboginol ต่อการคลายตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้ L-NOARG (10^{-6} M) และทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE แสดงโดยค่า % relaxation from 10^{-7} M NE precontraction	70
3.16 แสดงผลของ vehicle, camboginol และ indomethacin + camboginol ต่อการคลายตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้ indomethacin (10^{-5} M) และทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE แสดงโดยค่า % relaxation from 10^{-7} M NE precontraction	71
3.17 แสดงผลของ vehicle, camboginol และ glibenclamide + camboginol ต่อการคลายตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้ glibenclamide (10^{-5} M) และทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE แสดงโดยค่า % relaxation from 10^{-7} M NE precontraction	73
3.18 แสดงผลของ vehicle, camboginol และ TEA + camboginol ต่อการคลายตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้ TEA (10^{-3} M) และทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE แสดงโดยค่า % relaxation from 10^{-7} M NE precontraction	74
3.19 แสดงผลของ phenylephrine (PE) ต่อการหดตัวของ corpus cavernosum แสดงโดยค่า % relaxation from 10^{-5} M PE precontraction	77

รายการรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
3.20 แสดงผลของ ACh ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-5} M PE แสดงโดยค่า % relaxation from 10^{-5} M PE precontraction	78
3.21 แสดงผลของ sildenafil citrate ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-5} M PE แสดงโดยค่า % relaxation from 10^{-5} M PE precontraction	79
3.22 แสดงผลของ vehicle และ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-5} M PE แสดงโดยค่า % relaxation from 10^{-5} M PE precontraction	81
3.23 แสดงผลของ vehicle, morelloflavone และ L-NOARG + morelloflavone ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ในขณะที่ให้ L-NOARG (10^{-6} M) และทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-5} M PE แสดงโดยค่า % relaxation from 10^{-5} M PE precontraction	82
3.24 แสดงผลของ vehicle, morelloflavone และ sildenafil citrate + morelloflavone ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ในขณะที่ให้ sildenafil citrate (10^{-5} M) และทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-5} M PE แสดงโดยค่า % relaxation from 10^{-5} M PE precontraction	83
3.25 แสดงผลของ vehicle และ camboginol ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-5} M PE แสดงโดยค่า % relaxation from 10^{-5} M PE precontraction	85
3.26 แสดงผลของ vehicle, camboginol และ L-NOARG + camboginol ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ในขณะที่ให้ L-NOARG (10^{-6} M) และทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-5} M PE แสดงโดยค่า % relaxation from 10^{-5} M PE precontraction	86
3.27 แสดงผลของ vehicle, camboginol และ sildenafil citrate + camboginol ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ในขณะที่ให้ sildenafil citrate (10^{-5} M) และทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-5} M PE แสดงโดยค่า % relaxation from 10^{-5} M PE precontraction	88

สัญลักษณ์และตัวย่อ

α	=	alpha
α_1	=	alpha 1
β	=	beta
β_1	=	beta 1
β_2	=	beta 2
AC	=	adenylate cyclase
ACh	=	acetylcholine
ADH	=	antidiuretic hormone
ADP	=	adenosine diphosphate
AI	=	angiotensin I
AII	=	angiotensin II
AMP	=	adenosine monophosphate
ANP	=	atrial natriuretic peptide
ATP	=	adenosine triphosphate
AT receptor	=	angiotensin receptor
BKCa	=	large conductance calcium-activated potassium channel
CaM	=	calmodulin
cAMP	=	cyclic adenosine monophosphate
cGMP	=	cyclic guanosine monophosphate
5'GMP	=	5' guanosine monophosphate
cNOS	=	constitutive nitric oxide synthase
COX I	=	constitutive cyclooxygenase
COX II	=	inducible cyclooxygenase
DAG	=	diacylglycerol
DG	=	diacylglycerol
EP	=	epinephrine
EC	=	effective concentration

สัญลักษณ์และตัวย่อ (ต่อ)

ECF	=	extracellular fluid
EDCF	=	endothelium-derived contracting factor
EDHF	=	endothelium-derived hyperpolarizing factor
EDRF	=	endothelium-derived relaxing factor
eNOS	=	endothelium nitric oxide synthase
ET	=	endothelin
ET _A	=	endothelin ชนิด A
ET _B	=	endothelin ชนิด B
ET-1	=	endothelin-I
GABA	=	γ -aminobutyric acid
GC	=	guanylate cyclase
GTP	=	guanosine triphosphate
HCl	=	hydrochloric acid
iNOS	=	inducible nitric oxide synthase
IKCa	=	intermediate conductance calcium-activated potassium channel
IP ₃	=	inositol triphosphate
IP ₃ -R	=	inositol triphosphate receptor
ISF	=	interstitial fluid
K _{ATP}	=	ATP sensitive K ⁺ channel
K _{Ca}	=	calcium-dependent K ⁺ channel
K _{IR}	=	inward rectifier K ⁺ channel
K _V	=	delayed rectifier K ⁺ channel หรือ voltage-dependent K ⁺ channel
LDL	=	low density lipoprotein
L-NOARG	=	N ^G -nitro-L-arginine
MDA	=	malondialdehyde
MLCK	=	myosin light chain kinase
MR	=	muscarinic receptor
MW	=	molecular weight

สัญลักษณ์และตัวย่อ (ต่อ)

$\text{Na}^+ / \text{Ca}^{2+}$ exchanger	=	sodium-calcium exchanger
NAd	=	noradrenaline
NANC	=	ปลายประสาท nonadrenergic-noncholinergic
NE	=	norepinephrine
nNOS	=	neuronal nitric oxide synthase
NO	=	nitric oxide
NOS	=	nitric oxide synthase
PDGF	=	platelet derived growth factor
PE	=	phenylephrine
PED	=	phosphodiesterase
PED5	=	phosphodiesterase type 5
PGE_1	=	prostaglandin E_1
PGG_2	=	prostaglandin G_2
PGH_2	=	prostaglandin H_2
PGI_2	=	prostacyclin
PGIS	=	prostacyclin synthase
PIP_2	=	phosphatidyl inositol bisphosphate
PKC	=	protein kinase C
PKG	=	protein kinase G
PLC	=	phospholipase C
ROC	=	receptor-operated nonselective cation channel
SAC	=	stretch-activated cation channel
SKCa	=	small conductance calcium-activated potassium channel
SNP	=	sodium nitroprusside
SR	=	sarcoplasmic reticulum
T_c	=	tension ของ resting tension (1 g)
TEA	=	tetraethylammonium chloride
$T_{\text{NE, PE}}$	=	tension ที่เกิดจากการหยด NE หรือ PE

สัญลักษณ์และตัวย่อ (ต่อ)

TXA ₂	=	thromboxane A ₂
V ₁	=	vasoactive intestinal polypeptide receptor ชนิดที่ 1
V ₂	=	vasoactive intestinal polypeptide receptor ชนิดที่ 2
VIP	=	vasoactive intestinal polypeptide
VSM	=	vascular smooth muscle
μl	=	microliter
μm	=	micrometer

บทที่ 1

บทนำ

1.1 บทนำตั้งเรื่อง

ปัจจุบันคนทั่วโลกป่วยเป็นโรคความดันเลือดสูงประมาณ 1.5 พันล้านคน และเสียชีวิตจากภาวะโรคความดันเลือดสูงประมาณ 7 ล้านคนต่อปี ส่วนในประเทศไทย จากการสำรวจโดยสำนักนโยบายและยุทธศาสตร์ กระทรวงสาธารณสุข พบว่าผู้ป่วยโรคความดันเลือดสูงนอนรักษาตัวที่สถานบริการสาธารณสุขเพิ่มขึ้น ซึ่งข้อมูลจากปี 2552 พบว่า ประชากร 1 แสนคน มีผู้ป่วยโรคความดันเลือดสูงและนอนรักษาตัวที่สถานบริการสาธารณสุขถึง 981 คน (นิตยา, 2554) โรคความดันเลือดสูงพบเกิดขึ้นในอัตราร้อยละ 20-25 ของประชากรที่เป็นผู้ใหญ่ พบว่าประมาณร้อยละ 90-95 ของประชากรมีความดันเลือดสูงเป็นชนิดไม่ทราบสาเหตุในการเกิดซึ่งเรียกว่า essential hypertension และประมาณร้อยละ 1-5 ของประชากรที่มีความดันเลือดสูง จัดอยู่ในกลุ่มของ secondary hypertension (Malhotra et al., 2003) ภาวะความดันเลือดสูงถือว่าเป็นอันตรายเป็นอย่างมาก เนื่องจากเป็นปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดภาวะแทรกซ้อนอื่น ๆ ตามมา เช่น โรคหัวใจวาย (heart failure) กล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด (myocardial ischemia) กล้ามเนื้อหัวใจตาย (myocardial infarction) หลอดเลือดสมองแตก (stroke) ไตวาย (renal failure) โรคเสื่อมสมรรถภาพทางเพศ (erectile dysfunction) เป็นต้น (Rhoades and Bell., 2009)

โรคเสื่อมสมรรถภาพทางเพศเป็นภาวะที่อวัยวะเพศไม่สามารถแข็งตัวได้อย่างเพียงพอที่จะมีเพศสัมพันธ์ บางคนอาจจะไม่แข็งตัว บางคนอาจจะหลังเร็ว บางคนอาจจะมีอาการปวดเวลาหลัง (Rhoades and Bell., 2009) ซึ่งปัจจัยเสี่ยงในการเกิดโรคนี้นี้ ได้แก่ โรคหัวใจและหลอดเลือด โรคเบาหวาน ไขมันในเลือดสูง โรคอ้วน การสูบบุหรี่ เป็นต้น (Aytac et al., 1999; Johannes et al., 2000) ซึ่งพบมากในผู้ป่วยโรคหัวใจและหลอดเลือด เช่น โรคความดันเลือดสูง การลดลงของ penile artery circulation และการลดลงของ peripheral circulation จึงทำให้เลือดไปเลี้ยงที่อวัยวะเพศไม่พอ นอกจากนี้ยาที่ใช้รักษาโรคความดันเลือดสูงหรือยารักษาโรคหัวใจและหลอดเลือด อื่น ๆ อาจจะมีผลข้างเคียงทำให้เกิดโรคเสื่อมสมรรถภาพทางเพศได้ (Jensen et al., 1999; Khaja et al., 2003; Kushiro et al., 2005; Siroky and Azadzo., 2003) ถึงแม้ว่า ภาวะความดันเลือดสูงอาจรักษาได้ด้วยการใช้ยาแพทย์แผนปัจจุบันหรือโดยการผ่าตัดหลอดเลือดที่ผิดปกติ แต่ยังมีอีกทางเลือกหนึ่ง ที่ปัจจุบันคนจำนวนมากได้ให้ความสนใจคือการใช้สารสกัดจากธรรมชาติในการดูแลสุขภาพ ทำให้พืชสมุนไพรได้เข้ามามีบทบาทและมีความสำคัญในชีวิตประจำวันมากขึ้น ด้วยเหตุนี้จึงทำให้

สมุนไพรไทยที่มีมากมายหลายชนิดและแต่ละชนิดก็มีสรรพคุณที่โดดเด่นอยู่ในตัวเอง ได้กลับมาสู่สถานะกระแสนิยม รวมทั้งภาครัฐได้ให้การสนับสนุนการค้นคว้าและวิจัย เพื่อยืนยันสรรพคุณของสมุนไพรไทย อย่างไรก็ตามการค้นคว้าทดลองในรูปแบบของงานวิจัยทางวิทยาศาสตร์ยังมีน้อย และไม่ครอบคลุมสมุนไพรไทยทั่วถึงทุกชนิด ทำให้ไม่ทราบองค์ประกอบสำคัญในสมุนไพรแต่ละประเภทและกลไกการออกฤทธิ์ของสารที่เป็นองค์ประกอบในสมุนไพรนั้น ๆ จึงเป็นเหตุให้สมุนไพรยังไม่เป็นที่นิยมและยอมรับอย่างจริงจังทั้ง ๆ ที่ประเทศไทยมีทรัพยากรธรรมชาติที่ทรงคุณค่าประโยชน์และมีคุณค่ามาก แต่ยังไม่สามารถนำมาใช้ได้อย่างเต็มที่

มะปูด (*Garcinia dulcis* Kurz. วงศ์ Guttiferae) เป็นพืชที่พบกระจายในแถบประเทศเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น ประเทศไทย ฟิลิปปินส์ อินโดนีเซีย มาเลเซีย มะปูดเป็นพืชพื้นเมืองของไทย ที่ถูกนำมาใช้เป็นยาพื้นบ้าน (Pang et al., 2009) พบกระจายทั่วไปในบริเวณป่าดิบชื้น ป่าดิบแล้ง และตามชายห้วยในป่าเบญจพรรณ มะปูดเป็นไม้ยืนต้นขนาดกลาง สูงประมาณ 5-20 เมตร ใบมีขนาดใหญ่ หนา มั่น เป็นรูปไข่ยาวรีคล้ายใบมังคุด แต่ปลายใบจะแหลมกว่า ดอกสีเหลืองอมเขียว ผลใหญ่ขนาดส้มเขียวหวาน ผลดิบสีเขียว ผลสุกมีสีเหลือง มีเมล็ด 2-5 เมล็ด เนื้อผลสีเหลืองจางๆ รสเปรี้ยวอมหวาน รับประทานได้ ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด สรรพคุณของมะปูด เช่น น้ำคั้นจากลูกมีรสเปรี้ยวอมหวาน ซึ่งสามารถแก้ไอ ขับเสมหะ แก้เจ็บคอ แก้เลือดออกตามไรฟัน ส่วนราก มีรสจืด ใช้เป็นยาลดไข้ แก้ร้อนใน ส่วนเปลือก มีรสฝาด ใช้ชำระบาดแผล (Deachathai et al., 2005; Kasahara and Henmi., 1986) ซึ่งจากสรรพคุณต่าง ๆ ของมะปูดยังมีงานวิจัยทางวิทยาศาสตร์ไม่มากนัก ทำให้ไม่สามารถนำมาใช้ประโยชน์อย่างเต็มที่ เนื่องจากขาดการพิสูจน์การออกฤทธิ์และกลไกการออกฤทธิ์ เป็นเหตุให้ผู้บริโภคขาดความมั่นใจในการใช้พืชสมุนไพร

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบฤทธิ์และกลไกการออกฤทธิ์ในการขยายหลอดเลือดหรือทำให้กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงธอราลิกและคอร์ปัสคาเวอรั โนซัมที่แยกจากตัวหนูแร้ทคล้ายตัว ของสาร morelloflavone และ camboginol สกัดจากผลมะปูด ซึ่งเมื่อกลิ้มเนื้อเรียบหลอดเลือดคล้ายตัว จะส่งผลให้ความดันเลือดลดลง และเมื่อกลิ้มเนื้อเรียบที่อวัยวะเพศชายคล้ายตัวจะสามารถลดภาวะ erectile dysfunction ได้

1.2 การตรวจเอกสาร (Review of Literature)

กลไกหนึ่งของการเกิดความดันเลือดสูง คือ การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของหลอดเลือด เช่น การเกิด endothelial dysfunction จากภาวะ oxidative stress ส่งผลให้เกิดพยาธิสภาพต่าง ๆ เช่น เกิด inflammation ทำให้มีการสร้าง atherosclerotic plaque นำไปสู่การตีบของหลอดเลือด นอกจากนี้ การเกิด endothelial dysfunction ส่งผลให้การสร้างและหลั่งสาร vasodilator ลดลง ส่งผลให้การขยายตัวของหลอดเลือดลดลง ซึ่งการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของหลอดเลือดนำไปสู่การเกิดความดันเลือดสูงตามมา (Ferroni et al., 2006)

1. ลักษณะโครงสร้างของผนังหลอดเลือดปกติ

ภายในร่างกายมีหลอดเลือดหลายชนิด แต่ละชนิดมีหน้าที่แตกต่างกัน ในบางอวัยวะอาจมีหลอดเลือดซึ่งมีลักษณะพิเศษ เช่น ในตับและไต แต่โดยทั่วไปหลอดเลือดซึ่งไปเลี้ยงอวัยวะต่าง ๆ จะประกอบด้วยหลอดเลือดแดง (artery) หลอดเลือดแดงเล็ก (arteriole) หลอดเลือดฝอย (capillary) หลอดเลือดดำเล็ก (venule) และหลอดเลือดดำ (vein)

ลักษณะของผนังหลอดเลือด

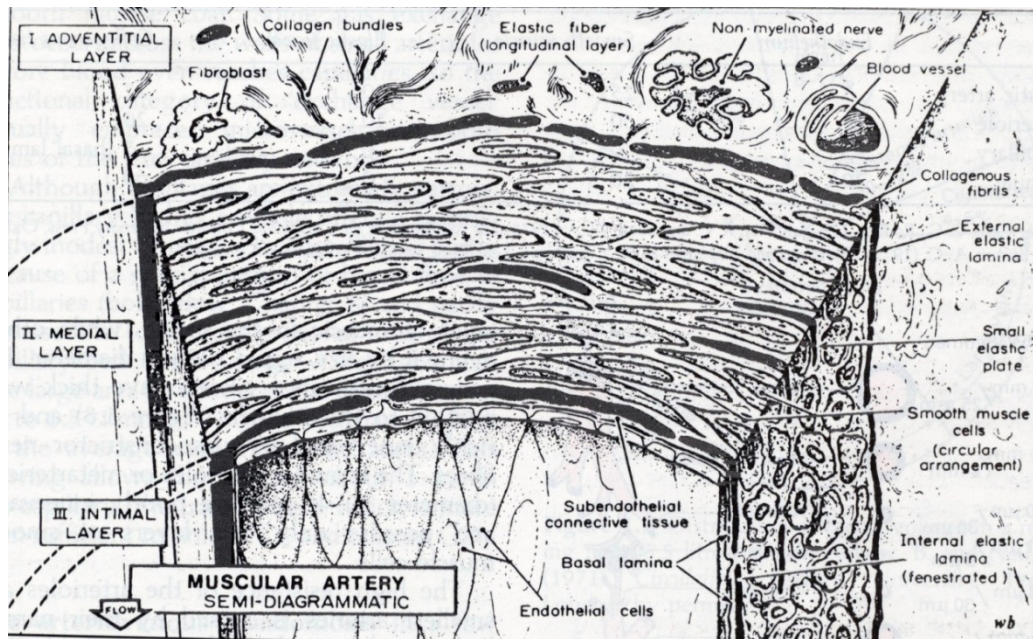
Levick (2000) กล่าวถึง โครงสร้างของหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำ โดยทั่วไปจะมีลักษณะ โครงสร้างของผนังเหมือนกัน หลอดเลือดประกอบด้วยผนัง 3 ชั้น (ดังแสดงในรูปที่ 1.1) ได้แก่

1. ผนังชั้นใน (tunica intima) ประกอบด้วยชั้นเดี่ยว ๆ ของ endothelial cell ติดกับชั้นบาง ๆ ของ elastic fiber อยู่ทางด้านนอกของชั้น intima เรียกว่า internal elastic lamina

2. ผนังชั้นกลาง (tunica media) ประกอบด้วย smooth muscle แทรกอยู่ในส่วนของ connective tissue มี collagen และ elastic fiber ยึดชั้น media ให้ติดกับผนังชั้นนอกและผนังชั้นในระหว่างชั้น media และ adventitia มี elastic fiber แผ่นบาง ๆ กั้น เรียกว่า external elastic lamina กล้ามเนื้อเรียบในชั้นนี้จะเรียงตัวเป็นวงล้อมรอบชั้น intima ไว้ เมื่อกล้ามเนื้อเรียบหดตัวจะทำให้หลอดเลือดบีบตัว ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเล็กลง เรียกว่า vasoconstriction เมื่อกล้ามเนื้อเรียบคลายตัวจะทำให้หลอดเลือดขยายตัว เรียกว่า vasodilation หลอดเลือดแดงขนาดใหญ่มีกล้ามเนื้อเรียบซึ่งเรียงตัวตามยาวอยู่ในชั้น media ด้วย ชั้นนี้จะมีผลต่อขนาดของหลอดเลือดเนื่องจากมี smooth muscle cell เป็นส่วนใหญ่

3. ผนังชั้นนอก (tunica adventitia) เป็นชั้นของ connective tissue ล้อมรอบหลอดเลือด ในหลอดเลือดแดงชั้นนี้ประกอบด้วย elastic fiber กระจายอยู่ในกลุ่มของ collagen fiber ส่วน

ในหลอดเลือดดำผนังชั้นนี้จะหนากว่าชั้น media มี elastic fiber ปนอยู่กับกล้ามเนื้อเรียบ ผนังชั้นนี้จะเชื่อมติดต่อกับเนื้อเยื่ออื่น ๆ ที่อยู่ล้อมรอบช่วยยึดหลอดเลือดให้อยู่กับที่และชั้นนี้จะเกี่ยวข้องกับ ความแข็งแรง มีเส้นประสาทมาเลี้ยงตรงรอยต่อกับชั้น media



รูปที่ 1.1 แสดงลักษณะ โครงสร้างของผนังหลอดเลือด (Levick., 2000)

2. ชนิดและหน้าที่ของหลอดเลือด

Levick (2000) กล่าวถึงชนิดและหน้าที่ของหลอดเลือด ซึ่งประกอบด้วย หลอดเลือดแดง (artery) หลอดเลือดแดงเล็ก (arteriole) หลอดเลือดฝอย (capillary) และหลอดเลือดดำ (vein) และ venule

2.1 หลอดเลือดแดง (artery) หลอดเลือดแดงมีหน้าที่ในการนำเลือดแดง (oxygenated blood) ไปเลี้ยงอวัยวะต่าง ๆ ผนังหลอดเลือดแดงมีลักษณะหนามีกล้ามเนื้อเรียบในผนังมาก สามารถขยายตัวได้ดี หลอดเลือดแดงมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางต่าง ๆ กัน ตั้งแต่ aorta ซึ่งมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2.5 cm แล้วหลอดเลือดแดงจะแตกแขนงมีขนาดเล็กลง จนมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 mm หลอดเลือดแดง แบ่งเป็นสองกลุ่ม คือ elastic artery และ muscular artery elastic artery มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1-2 cm ในคน ได้แก่ pulmonary artery, aorta มีผนังที่ขยายตัวได้ดี เนื่องจากมี elastin อยู่ในชั้น tunica media มาก ทำให้หลอดเลือดใหญ่ ๆ

เหล่านี้ขยายตัวได้มาก เพื่อรองรับ stroke volume ในขณะที่ ventricle บีบตัว แล้วเกิดการหดตัวกลับ (elastic recoil) ในช่วง diastole ช่วยทำให้เกิดการไหลอย่างต่อเนื่องของเลือดในหลอดเลือดที่อยู่ส่วนปลายตลอดระยะบีบตัวและคลายตัวของหัวใจ

muscular artery มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.1-1 cm เป็นกลุ่มหลอดเลือดแดงขนาดกลางถึงขนาดเล็ก เช่น radial, cerebral หรือ coronary artery เป็นต้น หลอดเลือดกลุ่มนี้มีผนังชั้นกลางหนา มีส่วนประกอบหลักเป็นกล้ามเนื้อเรียบ หลอดเลือดกลุ่มนี้มีความต้านทานต่ำ ดังนั้น แม้ว่าจะมีเส้นประสาทมาเลี้ยงหนาแน่น ก็ไม่มีบทบาทสำคัญมากต่อการควบคุมการไหลของเลือด ผนังที่หนาของหลอดเลือดกลุ่มนี้จะช่วยป้องกันการกดทับทำให้ไม่ตีบแฟบ เช่น หลอดเลือดแดงที่เข้าจะไม่ตีบแฟบเมื่อมีการงอพับขา

2.2 หลอดเลือดแดงเล็ก (arteriole) เป็นแขนงเล็กที่สุดของหลอดเลือดแดง มีเส้นผ่าศูนย์กลาง ประมาณ 30 μm ผนังหนา และมีกล้ามเนื้อเรียบอยู่จำนวนมาก ทำหน้าที่ควบคุมความต้านทานต่อการไหลของเลือดเข้าสู่อวัยวะต่าง ๆ ดังนั้นจึงมีหน้าที่ควบคุมการกระจายเลือดและอัตราการไหลของเลือดในเนื้อเยื่อต่าง ๆ ของร่างกาย อาจเรียก arteriole ว่าเป็น resistance vessel เนื่องจากเป็นตำแหน่งของหลอดเลือดที่มีความต้านทานต่อการไหลของเลือดสูงที่สุดใน systemic circulation การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในผนัง arteriole จะถูกควบคุมโดยปัจจัยหลายอย่าง ได้แก่ สัญญาณประสาทที่ส่งมาในใยประสาท (vasoconstrictor nerve fiber) ที่ไปเลี้ยงที่ผนัง arteriole รวมทั้งฮอร์โมนและ metabolites ต่าง ๆ ในกระแสเลือด

2.3 หลอดเลือดฝอย (capillary) เป็นหลอดเลือดขนาดเล็กที่สุดแตกแขนงจากส่วนปลายของ arteriole มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 4-8 μm มีความยาวเพียง 250-270 μm และมีจำนวนมากมายภายในเนื้อเยื่อต่าง ๆ หลอดเลือดฝอยมีผนังบางประกอบด้วยชั้นของ endothelial cell เพียงชั้นเดียว มีชั้น basal lamina หุ้มภายนอก การที่มีความหนาของผนังเพียง 0.5 μm ทำให้เป็นบริเวณเดียวของหลอดเลือดที่ยอมให้สารผ่านเข้า-ออกได้ (exchange vessels) และแลกเปลี่ยนสารต่าง ๆ หรือน้ำระหว่างเลือดกับเนื้อเยื่อ หลอดเลือดฝอยมีอยู่จำนวนมาก ทำให้มีพื้นที่หน้าตัดรวมมาก ส่งผลให้เลือดไหลผ่านช้าเหมาะต่อการแลกเปลี่ยนสารชนิดต่าง ๆ ผ่านผนังหลอดเลือดฝอย

2.4 หลอดเลือดดำ (vein) และ venule หลอดเลือดดำขนาดกลาง มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2-9 mm ส่วน venule มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 20-30 μm ส่วน vein และ venule มีโครงสร้างผนังคล้ายกัน แตกต่างกันที่จำนวนและขนาดเท่านั้น vein และ venule มีผนังบาง

ประกอบด้วยชั้น 3 ชั้น ภายในมีชั้นของกล้ามเนื้อเรียบแทรกอยู่ จึงสามารถเกิดการหดตัวและคลายตัวได้ และมีเส้นประสาทจากระบบประสาทอัตโนมัติมาเลี้ยงเช่นเดียวกับ arteriole หลอดเลือดดำที่แขนและขา มีลิ้น (semilunar valve) เรียงตัวเป็นคู่ ๆ อยู่เป็นระยะ เพื่อช่วยป้องกันไม่ให้เลือดไหลย้อนลงด้านล่างตามแรงโน้มถ่วง แต่หลอดเลือดดำที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางน้อยกว่า 1 mm และที่อยู่บริเวณส่วนกลางของลำตัว และศีรษะ ไม่มีลิ้นดังกล่าว การที่หลอดเลือดดำมีผนังบางทำให้สามารถยืดขนาดและยุบตัวได้ง่าย จึงสามารถเปลี่ยนแปลงปริมาตรในการสะสมเลือดได้มาก และมีความต้านทานต่อการไหลของเลือดต่ำ ความดันที่เกิดใน vein และ venule เพียง 10-15 mmHg ก็เพียงพอที่จะผลักดันปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ จาก venule ให้ไหลกลับสู่ vena cava และหัวใจได้

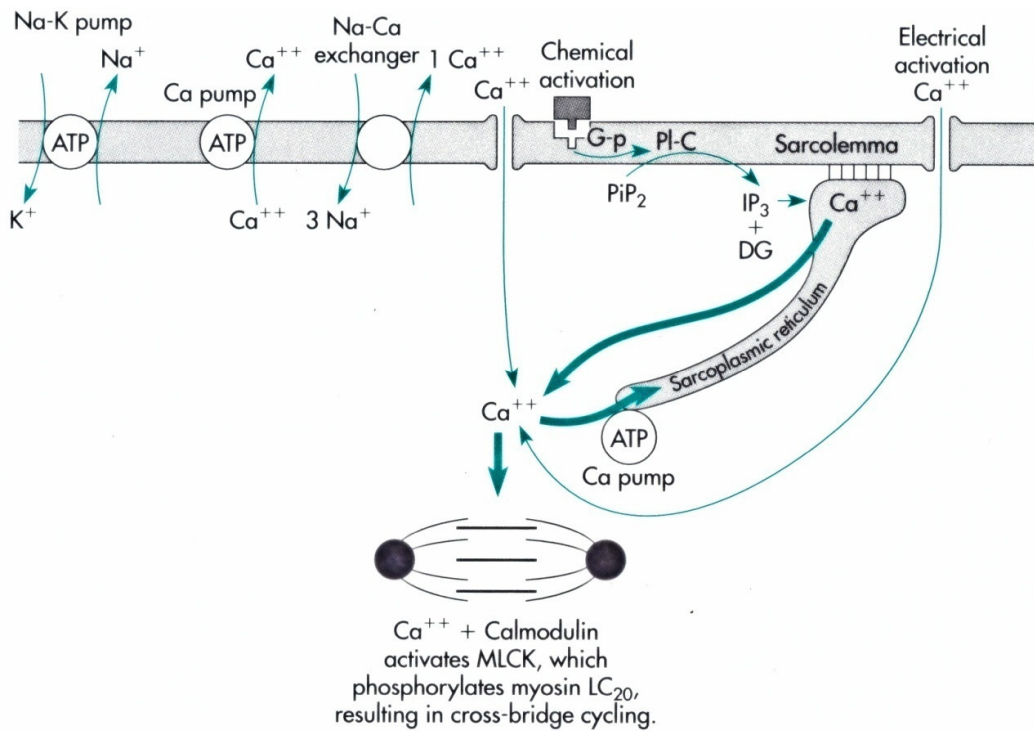
3. กลไกการหดตัวของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด

Berne และคณะ (2004) ได้กล่าวว่าการเกิด crossbridge ระหว่าง actin และ myosin filaments ถูกควบคุมด้วยปริมาณ Ca^{2+} ใน cytoplasm เช่นเดียวกับที่เกิดขึ้นในกล้ามเนื้อลายและกล้ามเนื้อหัวใจ รูปที่ 1.2 แสดงกลไกการเกิด excitation-contraction coupling โดย Ca^{2+} เข้าสู่ cytoplasm ได้ 2 ทาง คือ ผ่าน calcium channel ที่เชื่อมหุ้มเซลล์และหลังจาก sarcoplasmic reticulum (SR) เมื่อ Ca^{2+} เพิ่มจำนวนมากขึ้นจะกระตุ้นให้เกิดการสร้าง crossbridge ระหว่าง actin และ myosin filaments ซึ่งเกิดขึ้นได้โดย Ca^{2+} ใน cytoplasm เข้าจับกับ calmodulin เกิด Ca^{2+} -calmodulin complex ซึ่งจะทำหน้าที่กระตุ้นเอนไซม์ myosin light-chain kinase (MLCK) ทำให้เกิด phosphorylation ของ myosin light chains จากนั้น actin กับ myosin จึงจะสร้าง crossbridge ได้ แล้วเกิดการเคลื่อนที่ของ actin filament เข้าหากัน

พบว่าเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดสามารถหดตัวได้นาน โดยใช้พลังงานน้อย เนื่องจาก crossbridge ที่เกิดขึ้นจะค้างอยู่ได้นาน เรียกว่า latch bridge ทำให้ยังคงรักษาแรงดึงตัวของเซลล์ไว้โดยใช้ ATP น้อย ต่างกับการหดตัวของเซลล์กล้ามเนื้อลายซึ่งจะต้องมีการสร้าง และสลาย crossbridge เกิดขึ้นตลอดเวลาเพื่อรักษาแรงดึงตัวให้คงที่ ดังนั้นการหดตัวของกล้ามเนื้อลายจึงต้องใช้ ATP จำนวนมาก

calcium channel ที่เชื่อมหุ้มเซลล์ของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบในผนังหลอดเลือดมีอยู่ 2 ชนิด คือ receptor-activated calcium channel (รูปที่ 1.2) ซึ่งจะเปิดได้จากการกระตุ้นด้วยตัวกระตุ้นเคมี โดยที่ไม่ต้องเกิด electrical excitation ขึ้นมาก่อน พบว่าการทำงานของ receptor-activated calcium channel เป็นกลไกหลักในการเกิดการหดตัวของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ สารที่สามารถกระตุ้น (agonists) channel นี้ ได้แก่ catecholamines, serotonin, angiotensin II, vasopressin, endothelin, histamine, neuropeptide Y และ prostanoids เมื่อมี agonists มาจับที่

receptor ทำให้ calcium channel เปิดและ Ca^{2+} ใน extracellular fluid (ECF) เคลื่อนที่เข้าสู่เซลล์ แหล่งของ Ca^{2+} ที่ใช้ในการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด นอกจากจะมาจาก ECF แล้ว ยังได้จากการหลั่ง Ca^{2+} จาก SR ซึ่งเกิดขึ้นเมื่อเอนไซม์ phospholipase C (PLC) ที่เยื่อหุ้มเซลล์กล้ามเนื้อเรียบถูกกระตุ้น แล้วเกิดสลาย phosphatidyl inositol 4, 5 bisphosphate (PIP_2) ได้เป็น diacylglycerol (DAG) และ inositol triphosphate (IP_3) จากนั้น IP_3 กระตุ้นให้ SR ปล่อยให้ Ca^{2+} เข้าสู่ cytoplasm การคลายตัวของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด เกิดขึ้นเมื่อการทำงานของ MLCK ถูกยับยั้ง ในขณะที่ Ca^{2+} ใน cytoplasm ลดลงจากการที่ Ca^{2+} ถูกปั๊มกลับสู่ SR และ Ca^{2+} ส่วนหนึ่งถูกส่งออกนอกเซลล์ผ่านทาง Ca^{2+} -pump และ Na^+ - Ca^{2+} exchanger ที่เยื่อหุ้มเซลล์



รูปที่ 1.2 แสดงกลไกการหดตัวของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด ซึ่ง Ca^{2+} สามารถเข้ามาภายในเซลล์ได้ โดยกระตุ้นการทำงานของ electrically channel (electromechanical coupling) หรือ receptor-operated channel (chemical activation, termed pharmacomechanical coupling) นอกจากนี้ Ca^{2+} ยังหลั่งมาจาก sarcoplasmic reticulum ที่ตอบสนองต่อตัวกระตุ้นคือ IP_3 จะทำให้ระดับ Ca^{2+} ภายในเซลล์เพิ่มขึ้น จึงทำให้เกิดการหดตัวของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด ส่วนการลดระดับ Ca^{2+} ภายในเซลล์ อาศัยการทำงานของ calcium pump ซึ่งเก็บกลับ Ca^{2+} เข้าไปยัง sarcoplasmic reticulum นอกจากนี้ยังอาศัย calcium pump และ Na-Ca exchanger : IP_3 = inositol triphosphate; G-p = guanine nucleotide binding protein; PLC = phospholipase C; PiP_2 = phosphatidylinositol bisphosphate; DG = diacylglycerol; MLCK = myosin light chain kinase; LC = light chain kinase (Berne et al., 2004)

4. ปัจจัยควบคุมการทำงานของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบผนังหลอดเลือด

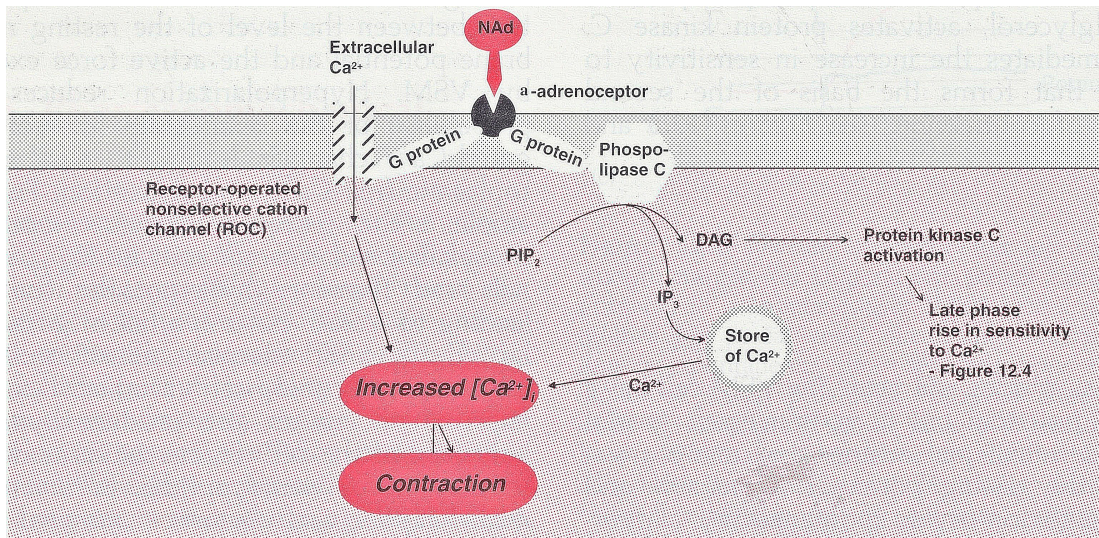
4.1 การควบคุมการทำงานของหลอดเลือดแดงโดยระบบประสาทอัตโนมัติ

Levick (2000) ได้กล่าวถึง การควบคุมการทำงานของหลอดเลือดแดงโดยระบบประสาทอัตโนมัติ ซึ่งโดยทั่วไปหลอดเลือดแดงมี autonomic vasomotor nerve ซึ่งแบ่งได้เป็น 3 กลุ่มได้แก่ sympathetic vasoconstrictor nerve, sympathetic vasodilator nerve และ parasympathetic vasodilator nerve

ก. sympathetic vasoconstrictor fiber ไปเลี้ยงกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดในทุก ๆ ส่วนของระบบไหลเวียนเลือด ปลายชนิดนี้หลั่งสารสื่อประสาท noradrenaline หรือ norepinephrine (NE) ทำให้หลอดเลือดแดงของอวัยวะต่าง ๆ หดตัว กลไกการออกฤทธิ์ แสดงในรูปที่ 1.3 คือ เมื่อสารจับกับ α_1 -adrenergic receptor ที่กล้ามเนื้อเรียบของผนังหลอดเลือดจะทำให้มีการเปิด Ca^{2+} channel ที่ผนังเซลล์กล้ามเนื้อเรียบและ Ca^{2+} เข้าสู่ภายในเซลล์ทำให้ Ca^{2+} ภายในเซลล์เพิ่มขึ้นและอีกทางหนึ่งพบว่า NE สามารถกระตุ้น PLC ผ่าน G protein ทำให้เปลี่ยน PIP_2 ให้เป็น IP_3 และ DAG จากนั้น IP_3 กระตุ้นให้มีการหลั่ง Ca^{2+} จาก SR ทำให้มีการหดตัวของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด ในแต่ละอวัยวะจะมีขนาดความหนาแน่นของเส้นประสาทที่หลอดเลือดแตกต่างกันไป โดยมีความหนาแน่นของเส้นประสาทสูงที่ artery และ arteriole ที่บริเวณผิวหนัง อวัยวะในช่องท้อง และกล้ามเนื้อลาย แต่มีเส้นประสาทจำนวนน้อยในหลอดเลือดที่สมองและหัวใจ ดังนั้นการไหลของเลือดเข้าสู่อวัยวะที่ไม่มีการทำงานมาก เช่น ผิวหนัง และทางเดินอาหาร จึงสามารถถูกจำกัดได้เพื่อให้เลือดไหลไปยังอวัยวะที่สำคัญในกรณีที่มีความจำเป็น

ข. sympathetic vasodilator fiber

ในกล้ามเนื้อลายมีเส้นประสาทที่มาเลี้ยงหลอดเลือดอีกชนิดหนึ่ง เรียกว่า sympathetic vasodilator fiber เป็นส่วนของระบบประสาท sympathetic มีต้นกำเนิดจาก motor cortex และ hypothalamus ปลายประสาท postganglionic หลั่ง acetylcholine (ACh) เมื่อจับกับ muscarinic receptor ที่ endothelial cell ทำให้มีการหลั่ง nitric oxide (NO) ซึ่งมีผลให้หลอดเลือดคลายตัว และในบางเนื้อเยื่อ พบว่ามี vasoactive intestinal peptide (VIP) ในปลายประสาทชนิดนี้ด้วย เช่น บริเวณผิวหนังที่มีต่อมเหงื่อ ซึ่งในภาวะพักจะไม่มีการทำงานของเส้นประสาทนี้ สัญญาณประสาทจะเกิดขึ้นภาวะคับขัน (stress) เช่น ขณะตื่นกลัว โกรธ ภาวะของการเตรียมสู้หรือหนี (defense reaction) และในขณะที่เริ่มต้นเตรียมจะออกกำลังกาย



รูปที่ 1.3 แสดงกลไกการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดที่ตอบสนองต่อ noradrenaline (NAd): ROC = receptor-operated nonselective cation channel; PIP_2 = phosphatidylinositol bisphosphate; DAG = diacylglycerol; IP_3 = inositol triphosphate (Levick., 2000)

ก. parasympathetic vasodilator fiber หลอดเลือดส่วนใหญ่ของร่างกายเกิดการคลายตัวได้จากการลด sympathetic activity แต่ในบริเวณ exocrine pancreas, เส้นเลือดบางส่วนในสมอง, ต่อมน้ำลาย รวมทั้ง gastric, genital erectile และ colonic mucosa หลอดเลือดมีการคลายตัวได้จากการกระตุ้น parasympathetic nerve ซึ่งเป็น parasympathetic vasodilator fiber ที่ปลายประสาทหลัง ACh และ VIP ในภาวะปกติเส้นประสาทกลุ่มนี้จะไม่ทำงาน จะส่งสัญญาณประสาทเมื่อมีการทำงานของอวัยวะเพิ่มขึ้นและต้องการเลือดมาเลี้ยงมากขึ้น ซึ่งกลไกการออกฤทธิ์ของ ACh เป็นเช่นเดียวกับ sympathetic vasodilator fiber ที่หลัง ACh ส่วน VIP กลไกการออกฤทธิ์ที่กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดโดยตรง โดย VIP กระตุ้นการสร้าง NO และ PGI_2 ซึ่งทั้ง 2 กลไก มีผลทำให้กล้ามเนื้อเรียบคลายตัว

4.2 การควบคุมการทำงานของหลอดเลือดแดงโดย circulating hormone

Levick (2000) ได้กล่าวถึงการควบคุมการทำงานของหลอดเลือดแดงโดย circulating hormone ได้แก่ catecholamine, vasopressin, angiotensin II และ atrial natriuretic peptide

ก. catecholamine (epinephrine, EP) และ norepinephrine, NE) นอกจากจะสร้างจากปลายประสาท sympathetic ดังที่กล่าวไว้ใน 4.1 (ก) ยังพบว่าต่อมหมวกไตชั้นใน (adrenal medulla) ยังสร้าง catecholamine ได้อีกด้วย โดยหลอดเลือดส่วนใหญ่ของร่างกายถูกควบคุมด้วย

sympathetic adrenergic fiber ซึ่งทำงานตลอดเวลาและหลัง NE ส่วนที่ adrenal medulla จะหลั่ง EP และ NE ในสัดส่วนประมาณร้อยละ 80:20 เมื่อ preganglionic sympathetic nerve บริเวณเนื้อเยื่อถูกกระตุ้นโดยเฉพาะในภาวะ physiological stress เช่น ขณะออกกำลังกาย สูญเสียเลือด และ mental stress จะ ส่งผลให้มีการหลั่ง EP และ NE จำนวนมากสู่กระแสเลือด

epinephrine มีฤทธิ์ต่อระบบไหลเวียนเลือดหลายอย่างการออกฤทธิ์อยู่กับการกระจายและ affinity ของ adrenergic receptor ในแต่ละเนื้อเยื่อ epinephrine สามารถจับกับ β และ α -adrenergic receptor แต่ affinity ของ epinephrine ต่อ β -adrenoreceptor จะมีมากกว่า α -adrenoreceptor โดยที่ epinephrine ใน plasma ที่ระดับต่ำถึงปานกลางจะส่งผลต่อ heart rate (chronotropy), การบีบตัวของหัวใจ (inotropy) และการนำกระแสไฟฟ้าในหัวใจ (dromotropy) โดยกลไกกระตุ้น β_1 -adrenoreceptor ส่วน epinephrine ใน plasma ระดับต่ำ ทำให้เกิด vasodilation ที่ skeletal muscle, myocardium และ liver โดยกระตุ้น β_2 -adrenoreceptor แต่ถึระดับของ epinephrine ใน plasma สูงขึ้น epinephrine จะกระตุ้น α_1 -adrenoreceptor ทำให้เกิด vasoconstriction ในทางกลับกันถึ NE ใน plasma ระดับสูงจะกระตุ้น β_2 -adrenoreceptor ทำให้เกิด vasodilation ที่ skeletal muscle, bronchiole smooth muscle เป็นต้น

ข. vasopressin หรือ antidiuretic hormone (ADH) เป็น peptide ฮอร์โมน สร้างโดย magnocellular neuron ใน supraoptic และ paraventricular nuclei ของ hypothalamus มีฤทธิ์ทำให้เกิด vasoconstriction ปริมาณ vasopressin ที่หลั่งออกมาในภาวะปกติไม่มากพอที่จะทำให้เกิด vasoconstriction แต่ถึระดับของ vasopressin ใน plasma สูงขึ้น เช่น ภาวะ haemorrhagic hypotension vasopressin ทำให้เกิด vasoconstriction ซึ่งโดยทั่วไป vasopressin จะออกฤทธิ์ที่ distal tubule และ collecting duct ของไต โดยทำให้เพิ่มการดูดกลับน้ำเข้าสู่กระแสเลือดได้มากขึ้น

ค. angiotensin II (AII) ซึ่ง AII เป็นสารที่ทำให้หลอดเลือดแดงขนาดเล็ ก ๆ บีบตัวอย่างรุนแรง จึงเชื่อว่ากระบวนการนี้เป็นอีกกลไกหนึ่งที่ช่วยควบคุมขนาดของหลอดเลือด โดย AII จับกับ AT_1 receptor ที่ผนังเซลล์ของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด ทำให้ Ca^{2+} ภายในเซลล์เพิ่มขึ้น โดยทำให้ Ca^{2+} channel ที่ผนังเซลล์กล้ามเนื้อเรียบเปิดและกระตุ้นเอนไซม์ PLC ผ่าน Gq-protein ซึ่งจะเปลี่ยน PIP_2 เป็น IP_3 และ DAG จากนั้น IP_3 กระตุ้นให้ SR ปล่อย Ca^{2+} ออกมาใน cytoplasm มากขึ้น Ca^{2+} จะจับกับ calmodulin กระตุ้นเอนไซม์ MLCK ทำให้เกิด phosphorylation ของ myosin ทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด

ง. atrial natriuretic peptide (ANP) มีชื่อเรียกอีกชื่อว่า atrial natriuretic factor ซึ่ง จะหลั่งออกมาเมื่อ atrium มีการยืด เช่น ในกรณี volume overload หรือหัวใจข้างซ้ายล้มเหลว โดย

ANP จะออกฤทธิ์ต่อกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด เพื่อเสริมการคลายตัวของหลอดเลือดผ่านระบบ cGMP นอกจากนี้ ANP มีฤทธิ์ขับปัสสาวะ โดยออกฤทธิ์โดยตรงที่ไต ซึ่งเพิ่ม glomerular filtration rate ส่งผลให้การกรองและการขับทิ้งของโซเดียมเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ ANP ยังออกฤทธิ์ยับยั้งการดูดกลับโซเดียมที่หลอดเลือดฝอยโดยตรงอีกด้วย

4.3 การควบคุมการทำงานของหลอดเลือดแดงโดย autacoids

Levick (2000) กล่าวถึง การควบคุมการทำงานของหลอดเลือดแดงโดย autacoids ซึ่งผนังหลอดเลือดมีรูปแบบเป็น selective barrier เพื่อขนส่ง molecules ต่าง ๆ ระหว่างเลือดและเนื้อเยื่อ ซึ่งบริเวณชั้น tunica intima ประกอบด้วย endothelial cell, elastic fiber และ collagen ชั้น tunica intima จะทำงานประสานกับกล้ามเนื้อเรียบ โดย endothelium เป็นโครงสร้างที่กั้นระหว่างเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดกับเลือดมีส่วนช่วยควบคุม tone ของหลอดเลือด โดยจะสร้างสารที่เป็น vasoconstrictor ซึ่งประกอบด้วย endothelium-derived contracting factors (EDCF) ได้แก่ endothelin (ET), platelet derived growth factor (PDGF) และ arachidonic acid บางชนิด ได้แก่ thromboxane A₂ (TXA₂) และ prostaglandin H₂ (PGH₂) และสร้างสารที่เป็น vasodilator หรือ endothelium-derived relaxing factors (EDRF) ได้แก่ nitric oxide (NO), prostacyclin (PGI₂) และ endothelium-derived hyperpolarizing factor (EDHF)

ซึ่ง vasodilator substance มีบทบาททำให้กล้ามเนื้อเรียบคลายตัว ตัวอย่างกลไกการทำงานของสารเหล่านี้ได้แก่

ก. nitric oxide (NO)

Levick (2000) ได้กล่าวว่า NO เป็น messenger molecule มีขนาดเล็กและมีประจุเป็นกลางสามารถผ่านเข้าออกจากเซลล์ต่าง ๆ ได้อย่างอิสระ NO ถูกสร้างจาก L-arginine, oxygen และ NADPH โดยอาศัยเอนไซม์ endothelial nitric oxide synthase (eNOS) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา oxidation ของ guanidino nitrogen ได้สารตัวกลางคือ N^G-hydroxy-L-arginine จากนั้นจึงเปลี่ยนเป็น NO และ L-citrulline โดย NO มีความสำคัญต่อ cardiovascular action ได้แก่ เกิด vasodilation, ยับยั้ง platelet aggregation, ยับยั้ง nuclear transcription ของ leucocyte-binding adhesion molecules, ยับยั้ง vascular smooth muscle proliferation ถ้าหากการทำงานของ NO ลดลงจะทำให้เกิดโรคต่าง ๆ ตามมา

nitric oxide synthase (NOS) ประกอบด้วย 3 isoform แบ่งตามลักษณะของเซลล์ที่สร้าง คือ 1) neuronal NOS (nNOS) ซึ่งถูกพบครั้งแรกในเซลล์ประสาทและพบในเซลล์หรือเนื้อเยื่อ

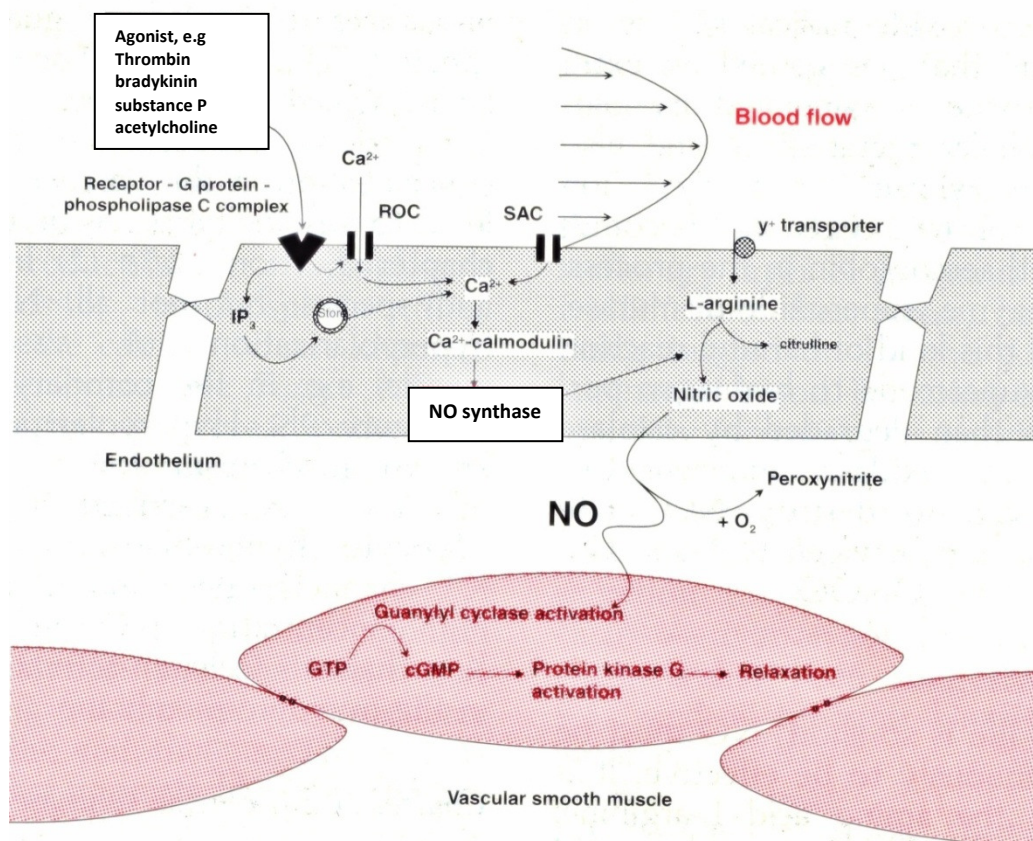
อื่น ๆ อีก 2) inducible NOS (iNOS) พบใน macrophages มีบทบาทในการขยายตัวของหลอดเลือดในภาวะติดเชื้อ และ 3) endothelial NOS (eNOS) ส่วนใหญ่พบใน endothelial cell

นอกจากนี้ eNOS แบ่งตามลักษณะการสังเคราะห์ NO ได้ 2 isoform คือ 1) constitutive NOS (cNOS) ในภาวะปกติ NO ในกระแสเลือดจะถูกสร้างโดย cNOS ซึ่งการทำงานของ cNOS ขึ้นอยู่กับ calcium และ calmodulin ซึ่งมี 2 pathway ที่ไปกระตุ้นการทำงานของ cNOS ซึ่งทั้ง 2 pathway จะเกี่ยวกับการหลั่ง Ca^{2+} จาก subsarcolemmal storage โดย pathway แรกถูกกระตุ้นโดย blood flow หรือ shear stress ทำให้มีการหลั่ง Ca^{2+} และไปกระตุ้นการทำงานของ cNOS จึงทำให้มีการสร้าง NO มากขึ้น (flow-dependent NO formation) pathway ที่สองจะมี endothelial receptor ซึ่งจะถูกระตุ้นโดย acetylcholine, bradykinin, substance-P, adenosine หรือ vasoactive substance อื่น ๆ ซึ่งเมื่อ endothelial receptor ถูกกระตุ้นทำให้มี Ca^{2+} ภายในเซลล์เพิ่มขึ้นจากการกระตุ้นการเปิดของ Ca^{2+} channel และกระตุ้นการหลั่ง Ca^{2+} จาก subsarcolemmal storage ไปกระตุ้นการทำงานของ cNOS จึงทำให้มีการสร้าง NO มากขึ้น (receptor-stimulated NO formation) 2) inducible NOS (iNOS) ซึ่งสร้างโดย nuclear transcription จะใช้เวลาหลายชั่วโมงในการสร้าง iNOS การทำงานจะมีความแตกต่างจาก cNOS ซึ่งจะไม่ขึ้นอยู่กับ calcium (calcium independent) โดยในภาวะปกติ iNOS จะมีระดับต่ำ ซึ่งระดับ iNOS จะเพิ่มมากขึ้นในภาวะ inflammation จากการกระตุ้นของ inflammatory cytokine เช่น interleukin-1 และ tumor necrosis factor กระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ iNOS ทำให้มีการสร้างและหลั่ง NO เพิ่มขึ้น ซึ่งทำให้บริเวณที่มีการอักเสบมีอาการร้อนและแดง

NO มีผลทำให้เกิดการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ เมื่อมีการกระตุ้น endothelial cell โดยปัจจัยทางกายภาพ เช่น shear stress หรือปัจจัยทางเคมี เช่น ACh, thrombin, substance P และ bradykinin โดยกระตุ้นผ่าน muscarinic M_3 receptor ดังแสดงในรูปที่ 1.4 จากนั้นกระตุ้น phospholipase C (PLC) ทำให้เปลี่ยน PIP_2 ให้เป็น IP_3 และ DAG ซึ่งทำให้ Ca^{2+} จากนอกเซลล์เข้ามาภายในเซลล์มากขึ้น จากการกระตุ้นการเปิดของ receptor-operated non-selective cation channel (ROC) และ stretch-activated cation channel (SAC) นอกจากนี้ IP_3 ซึ่งเป็น cytosolic messenger กระตุ้นให้มีการหลั่ง Ca^{2+} จาก SR ทำให้ระดับ Ca^{2+} ภายในเซลล์เพิ่มขึ้น จากนั้น Ca^{2+} จับกับ calmodulin แล้วไปกระตุ้น NOS ทำให้มีการสร้าง NO จาก L-arginine จากนั้น NO แพร่เข้าสู่เซลล์กล้ามเนื้อเรียบ NO เข้าร่วมกันกับ heme group ของเอนไซม์ guanylyl cyclase (GC) และกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ GC ให้อยู่ในสภาพ active ซึ่งทำให้สร้าง cyclic guanosine monophosphate (cGMP) จาก guanosine triphosphate (GTP) จากนั้น cGMP กระตุ้นการทำงานของ protein kinase G นำไปสู่กระบวนการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ

การเพิ่มขึ้นของ cGMP ชักนำให้เกิดการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบโดยผ่านหลายกลไก

1. การเพิ่มของ cGMP ในเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ ทำให้ไปยับยั้ง Ca^{2+} เข้ามาในเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ ทำให้ความเข้มข้นของ Ca^{2+} ภายในเซลล์ลดลง
2. การเพิ่มของ cGMP ในเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ ไปกระตุ้นการทำงานของ K^+ channel นำไปสู่การเกิด hyperpolarization และเกิดการคลายตัวของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ
3. กระตุ้นการทำงานของ cGMP-dependent protein kinase ซึ่งจะไปกระตุ้น myosin light chain phosphatase โดยเอนไซม์นี้จะทำให้เกิด dephosphorylates myosin light chains นำไปสู่ การคลายตัวของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ

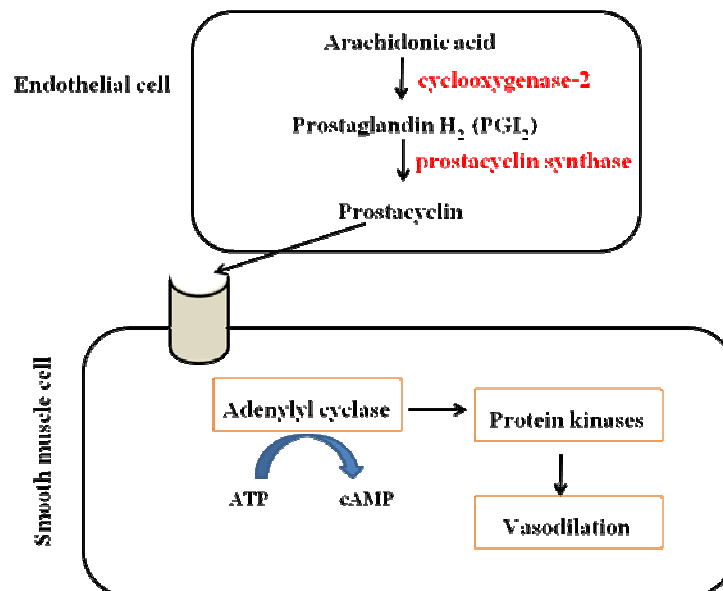


รูปที่ 1.4 แสดงกลไกการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดที่ตอบสนองต่อการกระตุ้นของ agonist เช่น thrombin, bradykinin, substance P และ acetylcholine: ROC = receptor-operated nonselective cation channel; IP_3 = inositol triphosphate; SAC = stretch-activated cation channel; NO = nitric oxide; O_2 = oxygen; GTP = guanosine triphosphate; cGMP = cyclic guanosine monophosphate (Levick., 2000)

ข. prostacyclin (PGI₂)

Levick (2000) กล่าวถึง PGI₂ ซึ่งจัดเป็นสารกลุ่ม prostanoid มีบทบาทไม่แตกต่างจาก NO คือ ทำให้เกิด vasodilation และยับยั้ง platelet aggregation ซึ่ง PGI₂ สร้างจากการเปลี่ยน arachidonic acid จาก vascular endothelial cell ไปเป็น prostaglandin H₂ (PGH₂) โดยอาศัยเอนไซม์ cyclooxygenase-2 (COX II) หลังจากนั้น PGI₂ จะเปลี่ยนไปเป็น prostacyclin โดยอาศัยเอนไซม์ prostacyclin synthase (PGIS) โดยทั่วไป PGI₂ ทำงานตรงข้ามกับ thromboxane (TXA₂) ซึ่ง TXA₂ สร้างมาจาก arachidonic acid โดยอาศัยเอนไซม์ cyclooxygenase-1 (COX I) ได้เป็น prostaglandin G₂ (PGG₂) และ prostaglandin H₂ (PGH₂) ตามลำดับ จากนั้นจะเปลี่ยน PGH₂ ไปเป็น TXA₂ โดยอาศัยเอนไซม์ thromboxane synthase ใน platelets บทบาทของ TXA₂ ทำให้กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดหดตัว โดยทำให้เกิด platelet aggregation

PGI₂ เมื่อถูกสร้างและหลั่งจาก endothelial cell มีผลทำให้กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดคลายตัว โดยมีกลไกคือ PGI₂ แพร่เข้าสู่กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด จากนั้นจับกับ IP receptors ที่กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด และกระตุ้นเอนไซม์ adenylyl cyclase เปลี่ยน ATP เป็น cAMP จากนั้น cAMP ที่เพิ่มขึ้นไปกระตุ้นให้เกิด phosphorylation และทำให้เกิด activation ของ K⁺ channel และเกิดการคลายตัวของ เซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด ดังแสดงในรูปที่ 1.5



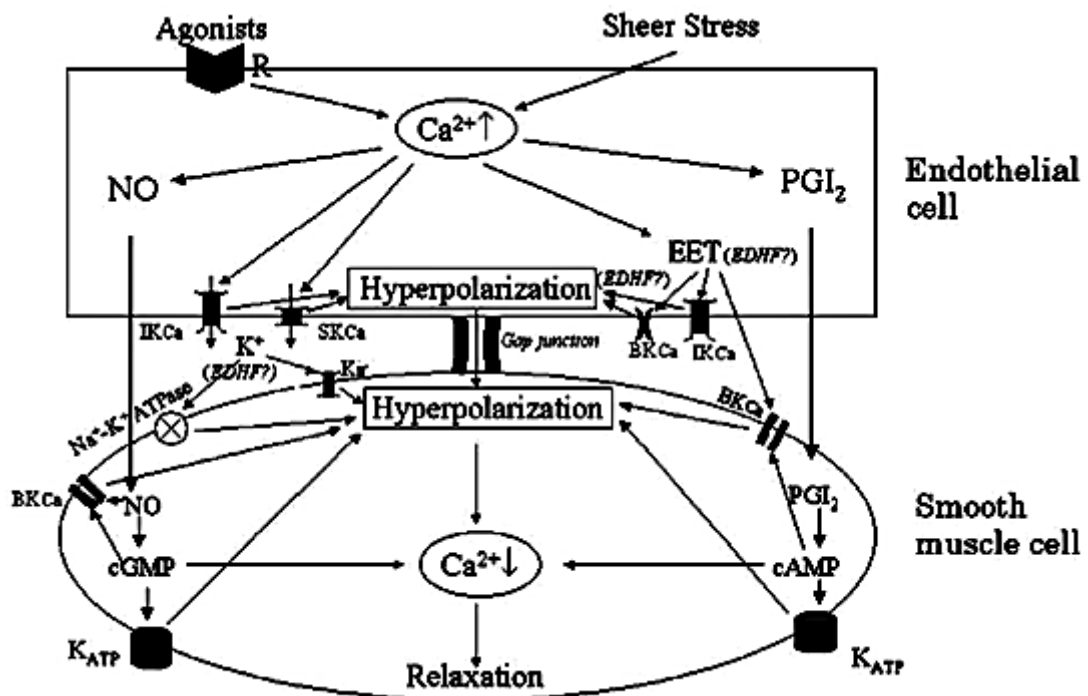
รูปที่ 1.5 แสดงขั้นตอนการสร้าง PGI₂ ใน endothelial cell และกลไกการทำงานของ PGI₂ ต่อ smooth muscle cell
: ATP = adenosine triphosphate; cAMP = cyclic adenosine monophosphate (ดัดแปลงจาก: Levick., 2000)

ก. endothelium-derived hyperpolarizing factor (EDHF)

Yang และคณะ (2005) รายงานว่า EDHF เป็นอีกปัจจัยที่ทำให้เกิดการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด ดังแสดงในรูปที่ 1.6 EDHF ตอบสนองต่อตัวกระตุ้นที่เป็นแบบ chemical เช่น ACh, thrombin, bradykinin หรือแบบ physical เช่น sheer stress เป็นต้น ซึ่งเมื่อ ACh จับกับ muscarinic receptor ที่ endothelial cell นำไปสู่การเพิ่มขึ้นของ Ca^{2+} ภายในเซลล์ ทำให้มีการสร้างและหลั่ง EDHF จาก endothelium cell โดย EDHF ไปกระตุ้นให้เปิด K_{Ca} โดยตรง ทำให้เกิด hyperpolarization ซึ่งการออกฤทธิ์ของ EDHF จะออกฤทธิ์ทั้งที่ endothelial cell และกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด การออกฤทธิ์ของ EDHF ที่ endothelium cell เมื่อเกิด depolarization ที่ membrane ทำให้มีการเพิ่มขึ้นของ Ca^{2+} ภายในเซลล์และกระตุ้นการเปิด intermediate conductance calcium-activated potassium channel (IKCa), small conductance calcium-activated potassium channel (SKCa) และ large conductance calcium-activated potassium channel (BKCa) ทำให้ K^+ ออกจากเซลล์ เกิด hyperpolarization และการออกฤทธิ์ของ EDHF ที่กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด พบว่า เมื่อเกิด hyperpolarization ที่ endothelium cell ทำให้มีการหลั่ง EDHF ไปกระตุ้นการเปิด BKCa, K_{ATP} และ Kir channel ทำให้เกิด hyperpolarization ส่งผลให้เกิด relaxation

Levick (2000) ได้กล่าวถึง K^+ channel ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการเปลี่ยนแปลง membrane potential ของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด ซึ่งสามารถควบคุมการทำงานของหลอดเลือด K^+ channel ที่มีบทบาทในการควบคุมการทำงานของหลอดเลือด ปัจจุบันแบ่ง K^+ channel ที่พบบริเวณกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดเป็น 4 ประเภท ได้แก่ 1) ATP-sensitive K^+ channel (K_{ATP}) ซึ่งสามารถกระตุ้นให้เปิดด้วย ADP และ cromakalim และถูกยับยั้งการทำงานโดย glibenclamide 2) delayed rectifier K^+ channel หรือ voltage-dependent K^+ channel (K_V) โดยทั่วไป membrane potential ของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบมีอิทธิพลต่อการเปิดออกของ K_V channel ซึ่งเมื่อเซลล์เกิด depolarization จะไปกระตุ้น K_V channel เปิดออก การทำงานของ K_V channel ถูกยับยั้งโดย 4-aminopyridine 3) Ca^{2+} activated K^+ channel (K_{Ca}) สามารถถูกกระตุ้นให้เปิดออกโดยการเกิด depolarization ของ membrane potential โดย Ca^{2+} จากนอกเซลล์เข้าสู่เซลล์ จากนั้น Ca^{2+} จะกระตุ้น K_{Ca} channel ให้เปิดมีผลให้ K^+ ภายในเซลล์ออกนอกเซลล์ ทำให้เซลล์เกิด hyperpolarization และการเปิดของ K_{Ca} channel ถูกยับยั้งโดย tetraethylammonium chloride (TEA) และ 4) inward rectifier K^+ channel (K_{IR}) สามารถถูกกระตุ้นให้เปิดออกโดย membrane potential ของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบแต่การเปิดปิดจะตรงข้ามกับ K_V และ K_{Ca} channel โดย K_{IR} channel จะเปิดเมื่อ membrane potential ของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบเกิด hyperpolarization สารยับยั้งการเปิด K_{IR} channel คือ barium

โดยการทดลองครั้งนี้ สนใจศึกษา K^+ channel 2 ชนิด คือ K_{ATP} channel และ K_{Ca} channel ซึ่งทั้ง 2 channel นี้จะพบมากใน vascular smooth muscle และมีบทบาทในการควบคุม vascular tone (Nelson and Quayle., 1995)



รูปที่ 1.6 แสดง pathway ของ endothelium-dependent vasorelaxation ซึ่งตอบสนองต่อตัวกระตุ้น เช่น shear stress หรือ agonists ซึ่งระดับ Ca^{2+} ที่เพิ่มขึ้นใน endothelial cell ทำให้มีการหลั่ง prostacyclin (PGI_2), nitric oxide (NO), and endothelium-derived hyperpolarizing factor (EDHF) โดย endothelium-derived relaxing factors ทำให้ระดับ Ca^{2+} ในเซลล์กล้ามเนื้อเรียบลดลง นำไปสู่การคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด : ($BKCa$ = large conductance calcium-activated potassium channel; $IKCa$ = intermediate conductance calcium-activated potassium channel; K_{ATP} = ATP-sensitive potassium channel; K_{ir} = inward rectifier potassium channel; $SKCa$ = small conductance calcium-activated potassium channel) (Yang et al., 2005)

4.4 การควบคุมการทำงานของหลอดเลือดแดง แบบควบคุมเฉพาะที่ (local control)

Levick (2000) กล่าวถึง การควบคุมการทำงานของหลอดเลือดแดงโดยการควบคุมเฉพาะที่ คือ การควบคุมขนาดของหลอดเลือดการเปลี่ยนแปลงภาวะแวดล้อมของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด

1. การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ พบว่าขณะที่มีอุณหภูมิสูงขึ้นจะทำให้หลอดเลือดเกิดการคลายตัวและที่อุณหภูมิ 10-15 °C ทำให้หลอดเลือดเกิดการหดตัว
2. การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารบางชนิดใน interstitial fluid (ISF) เมื่อเนื้อเยื่อที่ถูก supply ในหลอดเลือดมีการทำงานมากขึ้น จะทำให้หลอดเลือดบริเวณนั้นขยายตัว เช่น การไหลของเลือดที่กล้ามเนื้อลายขณะกำลังทำงานถูกควบคุมโดยปัจจัยเฉพาะที่เป็นหลักโดยเฉพาะกลไกของ metabolic autoregulation ทำให้มีความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการไหลของเลือดกับขนาดการทำงานของกล้ามเนื้อลายอย่างมาก ขณะมี metabolism เพิ่มขึ้น ทำให้เกิดสาร metabolite ทำให้หลอดเลือดขยายตัว ที่สำคัญได้แก่ K^+ , H^+ และ adenosine รวมทั้งภาวะออกซิเจนต่ำและการเพิ่ม osmolarity ของ ISF

โรคความดันเลือดสูง (Hypertension)

ความดันเลือดสูงคือภาวะที่มีความดันเลือดแดงสูงกว่าระดับความดันปกติเป็นเวลานานหรือตลอดเวลา โดยทั่วไปความดันเลือดของคนปกติขณะพักประมาณ 120/80 มิลลิเมตรปรอท หากวัดเกิน 120/80 มิลลิเมตรปรอท แต่ต่ำกว่า 140/90 มิลลิเมตรปรอท ถือว่าเข้าข่ายความดันเลือดเริ่มสูง (prehypertension) และหากความดันเลือดมากกว่าหรือเท่ากับ 140/90 มิลลิเมตรปรอท ถือว่าเป็นโรคความดันเลือดสูง ซึ่งผู้ป่วยควรควบคุมความดันเลือดไม่ให้เกิน 140/90 มิลลิเมตรปรอท แต่ถ้าผู้ป่วยมีโรคประจำตัวอื่น ๆ ร่วมด้วย เช่น โรคเบาหวาน โรคไต ควรควบคุมระดับความดันเลือดไม่ให้เกิน 130/80 มิลลิเมตรปรอท (Malhotra et al., 2003)

โรคความดันเลือดสูง แบ่งได้เป็น 2 ประเภท คือ

1. essential hypertension เป็นความดันเลือดสูงชนิดที่ไม่ทราบสาเหตุของการเกิดโรค พบได้ประมาณ 90-95% ของผู้ป่วยความดันเลือดสูง สาเหตุการเกิดนั้นมีปัจจัยหลายอย่าง que เพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดความดันเลือดสูงทั้งอายุที่สูงขึ้น ทำให้หลอดเลือดแดงใหญ่แข็งตัวตามวัยที่เพิ่มขึ้น ความต้านทานต่อการไหลเวียนเลือดเพิ่มขึ้นส่งผลให้ความดันเลือดเพิ่มขึ้น พันธุกรรม เพศ ความอ้วน ขาดการออกกำลังกาย ความเครียด การสูบบุหรี่ การดื่มเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ (Malhotra et al., 2003)

ผู้ป่วยบางรายที่มีความดันเลือดสูงอาจเป็นผลจากการทำงานของระบบประสาทอัตโนมัติมากเกินไปเป็นระยะเวลานาน ซึ่งแนวคิดนี้คือ "ความดันเลือดสูงสาเหตุจากระบบประสาท" (neurogenic hypertension) ซึ่งมักพบในผู้ป่วยความดันเลือดสูงชนิด essential hypertension (Anderson et al., 1988) โดยพบว่าจะมีการทำงานของระบบประสาท sympathetic เพิ่มขึ้นและลดการทำงานของระบบประสาท parasympathetic ซึ่งจากการวัดระดับ norepinephrine ใน plasma ของผู้ป่วยความดันเลือดสูงชนิด essential hypertension พบว่า มีระดับ norepinephrine ใน plasma สูงกว่าในกลุ่มที่มีความดันเลือดปกติ (Grassi et al., 2007; Goldstein., 1983) ซึ่งการเพิ่มการทำงานของระบบประสาท sympathetic อาจจะเป็นกลไกหนึ่งที่ทำให้เกิดความดันเลือดสูงตามมา

2. secondary hypertension เป็นความดันเลือดสูงชนิดที่ทราบสาเหตุของการเกิดโรค พบประมาณ 5-10% ของผู้ป่วยความดันเลือดสูง สาเหตุที่ทำให้เกิดความดันเลือดสูงชนิดนี้ได้แก่ โรคไต ผู้ป่วยที่มีหลอดเลือดแดงไปเลี้ยงที่ไตตีบ (renal artery stenosis) เนื่องจากที่ต่อมหมวกไตทำให้มีการสร้างฮอร์โมน aldosterone หรือฮอร์โมน catecholamines มากเกินไป ความผิดปกติของหัวใจแต่กำเนิด หลอดเลือดแดงใหญ่ตีบ (coarctation of the aorta) การได้รับยาบางชนิดมากเกินไป เช่น ยาคูมก้านิด ภาวะครรภ์เป็นพิษ เป็นต้น (Malhotra et al., 2003)

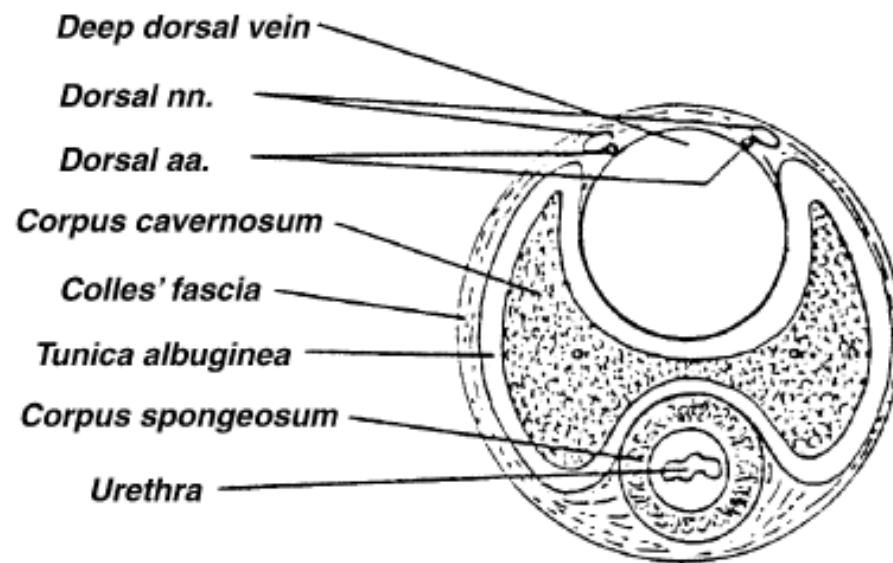
5. ลักษณะและการทำงานของ corpus cavernosum

5.1 โครงสร้างของ corpus cavernosum ในหนูแร้ท

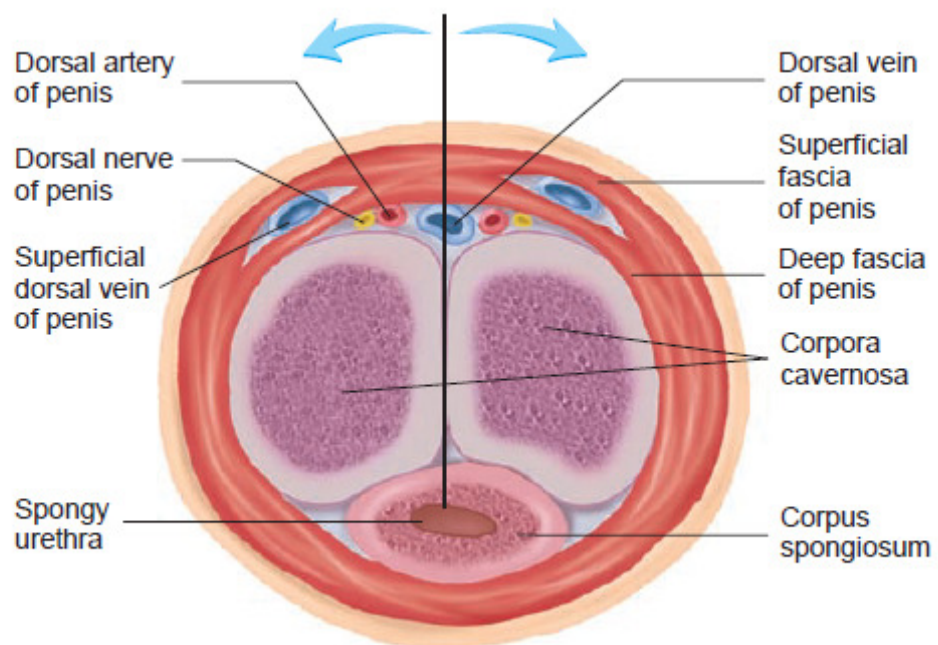
Gumus และคณะ (2003) ได้รายงานการศึกษาโครงสร้างของ corpus cavernosum ของหนูแร้ทพบว่า เนื้อเยื่อ penis ประกอบด้วยโครงสร้างหลายชนิด ดังแสดงในรูปที่ 1.7 แสดง corpus cavernosum ซึ่งประกอบด้วย corpus cavernosum, corpus spongiosum, dorsal nerve, dorsal artery, dorsal vein, urethra, colles fascia และ tunica albuginea เนื้อเยื่อหลักของ penis คือ กล้ามเนื้อเรียบ corpus cavernosum

5.2 โครงสร้างของ corpus cavernosum ในคน

จากตำราสรีรวิทยา โดย Tate และคณะ (2012) ได้กล่าวถึงลักษณะโครงสร้างเนื้อเยื่อ penis ในคน ซึ่งประกอบด้วยโครงสร้างหลายชนิด ดังแสดงในรูปที่ 1.8 แสดง corpus cavernosum ซึ่งประกอบด้วย corpus cavernosum, dorsal artery, dorsal vein, dorsal nerve, superficial dorsal vein, spongy urethra, corpus spongiosum, deep fascia และ superficial fascial เนื้อเยื่อหลักของ penis คือ กล้ามเนื้อเรียบ corpus cavernosum



รูปที่ 1.7 แสดงภาพตัดขวางของ penis ของหนูแร้ประกอบด้วย corpus cavernosum และ corpus spongiosum ซึ่งล้อมรอบ urethra (Gumus et al., 2003)



รูปที่ 1.8 แสดงภาพตัดขวางของ penis ในคน (Tate., 2012)

6. การควบคุมการทำงานของ corpus cavernosum

Andersson และคณะ 2001 ได้กล่าวถึงการควบคุมการทำงานของ corpus cavernosum โดยระบบประสาท ซึ่งประกอบด้วย ระบบประสาทส่วนกลางและระบบประสาทส่วนปลาย

6.1 การควบคุมการทำงานของ corpus cavernosum โดยระบบประสาทส่วนกลาง

ระบบประสาทส่วนกลางควบคุมให้เกิดกระบวนการ erection ในคน ซึ่งมีการทำงานร่วมกันระหว่าง spinal และ supraspinal pathway โดยการกระตุ้นจาก visual, tactile, olfactory, auditory และ mental ทำให้มีการหลั่ง central mediator ที่เกี่ยวข้องกับ penile erection เช่น 5-hydroxytryptamine มีบทบาทในการเพิ่ม sexual behavior, dopamine ช่วยในการหลั่งอสุจิ ส่วน noradrenaline มีบทบาทเกี่ยวกับการยับยั้ง sexual behavior, excitatory amino acid มีบทบาทในการเพิ่ม NO, γ -aminobutyric acid (GABA) มีบทบาทในการลด sexual behavior, oxytocin มีบทบาทในการ copulation, adrenocorticotropin and related peptide มีบทบาทในการเพิ่ม sexual behavior, opioid peptide มีบทบาทในการยับยั้ง oxytocin, acetylcholine มีบทบาทในการควบคุมการเกิด erection

6.2 การควบคุมการทำงานของ corpus cavernosum โดยระบบประสาทส่วนปลาย

ระบบประสาทส่วนปลายควบคุมสมดุลระหว่างการหดตัวและการคลายตัวของ corpus cavernosum ในคน โดยใช้ relaxation-mediating transmitter/ modulator ได้แก่ ACh, NO, VIP และ prostanoid และใช้ contraction- mediating transmitter/ modulator ได้แก่ noradrenaline, endothelin, phenylephrine และ angiotensin

7. กลไกการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ corpus cavernosum

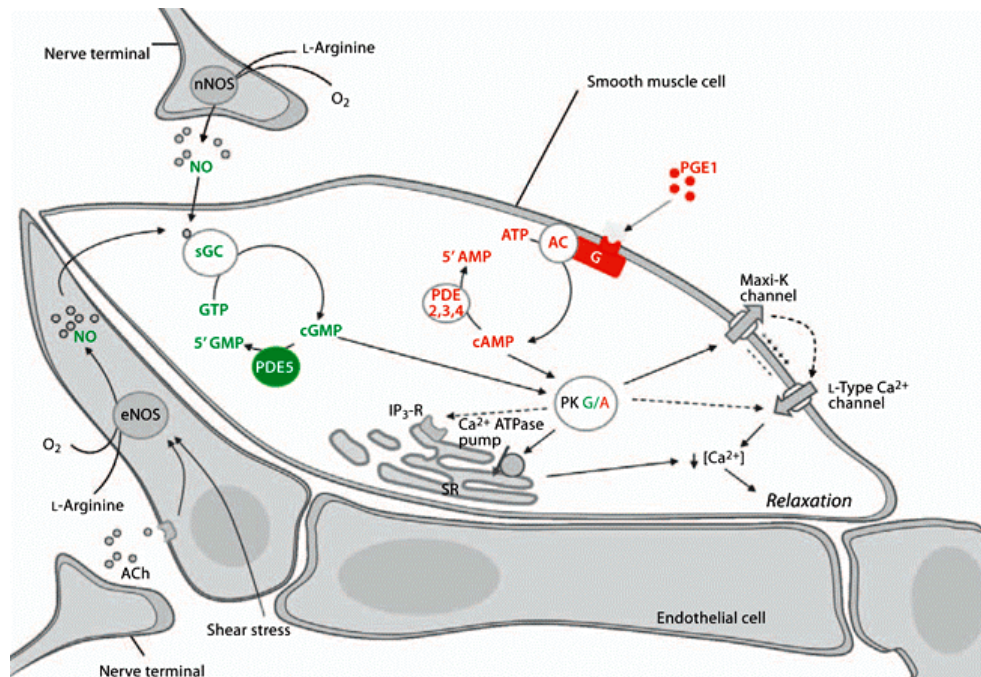
จากการศึกษากลไกการคลายตัวของ isolated corpus cavernosum พบว่าทั้งในคนและสัตว์ กลไกการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ corpus cavernosum เกี่ยวข้องกับการสร้างและการหลั่ง NO ซึ่ง NO สร้างและหลั่งจาก nonadrenergic-noncholinergic (NANC) และ endothelial cell จากนั้นทำให้ระดับ cGMP เพิ่มขึ้น นำไปสู่การคลายตัวของ corpus cavernosum (Kim et al., 1991)

NO สร้างมาจาก 1) ปลายประสาท nonadrenergic-noncholinergic (NANC) ซึ่งอาศัย neuronal NO synthase (nNOS) 2) endothelial cell โดยอาศัย endothelial NO synthase (eNOS) และ 3) กระตุ้นการหลั่ง ACh จาก cholinergic nerve โดย nNOS และ eNOS ถูกกระตุ้นโดยระบบประสาทส่วนกลาง เช่น กระตุ้นจาก visual, tactile, olfactory, auditory และ mental ทำให้มีการหลั่ง central mediator ที่เกี่ยวข้องกับ penile erection หรือกระตุ้นจากระบบประสาทส่วนปลาย เช่น การหลั่ง ACh, bradykinin, substance P หรือจากการกระตุ้นของ mechanical force ได้แก่ shear

stress ทำให้เกิดการเพิ่ม Ca^{2+} ภายในเซลล์ประสาท NANC และ endothelial cell ทำให้มีการสร้าง NO เพิ่มขึ้น จากนั้น NO กระตุ้นการทำงานของ GC เพื่อเพิ่มการสร้าง cGMP ภายใน smooth muscle cell เมื่อ cGMP เพิ่มขึ้นจะทำให้ระดับ Ca^{2+} ภายในเซลล์ลดลง โดย 1) Ca^{2+} จะถูกส่งกลับเข้าสู่ SR ทำให้ระดับ Ca^{2+} ภายในเซลล์ลดลง 2) กระตุ้น myosin light chain phosphatase ทำให้เกิด dephosphorylate myosin light chain ทำให้เกิดการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ corpus cavernosum (Andersson et al., 2001)

นอกจากนี้ Albersen และคณะ (2011) รายงานว่า ยังมีการกลไกการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ corpus cavernosum ที่กระตุ้นการทำงานโดย PGE1 โดยกระตุ้น G-protein-coupled receptor นำไปสู่ การกระตุ้น adenylyl cyclase (AC) ซึ่งจะเปลี่ยน ATP ไปเป็น cAMP จากนั้น cAMP ไปกระตุ้น protein kinase A ตามลำดับ เช่น กระตุ้นการเปิดของ K^+ channel ยับยั้งการ influx ของ Ca^{2+} ทาง L-type Ca^{2+} channel และกระตุ้นการเก็บกลับ Ca^{2+} เข้าสู่ SR โดยอาศัย Ca^{2+} ATPase pump ที่ SR ซึ่งสิ่งเหล่านี้จะนำไปสู่การลดลงของ Ca^{2+} ภายในเซลล์ จึงนำไปสู่การคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ corpus cavernosum ดังแสดงในรูปที่ 1.9

นอกจากนี้เพื่อรักษาสมดุลของการหดตัวและคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ corpus cavernosum จะมีเอนไซม์ phosphodiesterase (PDE) ที่สามารถสลาย cGMP เป็น 5'GMP ทำให้ระดับ cGMP ภายในเซลล์กล้ามเนื้อเรียบลดลง ทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ corpus cavernosum โดยพบว่าในกล้ามเนื้อเรียบ corpus cavernosum มี PDE อยู่หลายชนิด เช่น 2, 3, 4, 5 และ 11 แต่ PDE5 เป็น predominant enzyme (Ballard et al., 1998; Wallis et al., 1999; Fawcett et al., 2000) สารที่ยับยั้งการทำงานของ PDE5 ได้แก่ sildenafil citrate, tadalafil และ vardenafil ไก่กลการทำงานประกอบด้วย 2 pathway คือ 1) NO-cGMP dependent pathway โดย PDE5 inhibitor จะเพิ่มระดับ cGMP และ 2) NO-cGMP independent pathway โดย PDE5 inhibitor ยับยั้ง Ca^{2+} -influx ผ่านทาง receptor-operated และ voltage-dependent Ca^{2+} channel สารยับยั้งการทำงานของ PDE5 นิยมใช้ในผู้ป่วยที่เป็นโรคเสื่อมสภาพทางเพศ (Lau and Adaikan., 2006) นอกจากนี้ยังมีสารชนิดอื่นที่มีผลต่อการหดตัวและคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ เช่น



รูปที่ 1.9 แสดงกลไกการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ corpus cavernosum: nNOS = neuronal nitric oxide synthase; O_2 = oxygen; NO = nitric oxide; sGC = soluble guanylate cyclase; GTP = guanosine triphosphate ; cGMP = cyclic guanosine monophosphate; PDE5 = phosphodiesterase type 5; 5'GMP = 5' guanosine monophosphate; PKG/A = protein kinase G/A; IP_3 -R = inositol triphosphate receptor; SR = sarcoplasmic reticulum; PGE1 = prostaglandin E_1 ; G = G-protein-coupled receptor; AC = adenylate cyclase; ATP = adenosine triphosphate; cAMP = cyclic adenosine monophosphate; PDE2, 3, 4 = phosphodiesterase type 2, 3, 4 (Albersen et al., 2011)

ก. acetylcholine

Way และคณะ (1999) รายงานว่า ACh หลังจกปลายประสาท cholinergic มีบทบาทควบคุม penile erection โดย 1) ยับยั้งการกระตุ้นที่เกิดจาก noradrenergic neurotransmission 2) กระตุ้น muscarinic receptor ทำให้มีการหลั่ง NO และ 3) กระตุ้น nicotinic receptor ทำให้มีการหลั่งสาร relaxant จาก NANC ทำให้เกิดการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ corpus cavernosum

ข. vasoactive intestinal polypeptide (VIP)

VIP มีผลต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ corpus cavernosum พบว่า penile nerve จะหลั่ง VIP ไปจับกับ VIP receptor เมื่อมีการกระตุ้น VIP receptor V_1 หรือ V_2 ที่จับกับ G-protein กระตุ้น adenylate cyclase ทำให้ระดับ cAMP เพิ่มขึ้น จากนั้น cAMP ที่เพิ่มขึ้นจะไปกระตุ้น protein kinase A ตามลำดับ เช่น กระตุ้นการเปิดของ K^+ channel ยับยั้งการ influx ของ Ca^{2+} ทาง L-type Ca^{2+} channel และกระตุ้นการเก็บกลับ Ca^{2+} เข้าสู่ SR โดยอาศัย Ca^{2+} ATPase pump ที่ SR ซึ่งสิ่งเหล่านี้จะนำไปสู่การลดลงของ Ca^{2+} ภายในเซลล์ จึงนำไปสู่การคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ corpus cavernosum (Albersen et al., 2011; Miller et al., 1995)

ค. prostanoid

Bivalacqua และคณะ (2003) รายงานว่า สารกลุ่ม prostanoid พบว่า มีบทบาทต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ corpus cavernosum จากการศึกษาพบว่า PGE_2 ซึ่งสร้างจาก endothelium ของ corpus cavernosum ไปออกฤทธิ์ที่เซลล์กล้ามเนื้อเรียบ corpus cavernosum โดยกระตุ้น adenylate cyclase ทำให้มีการเพิ่มขึ้นของระดับ cAMP และทำให้เกิดการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ corpus cavernosum

8. สารสกัดจากพืชสมุนไพร

จากการที่มีรายงานว่า สารประกอบ polyphenolic โดยเฉพาะสารกลุ่ม flavonoids ซึ่งพบในพืชพรรณธรรมชาตินานาชนิด มีคุณสมบัติทางด้านสรีรวิทยาที่หลากหลาย เช่น antioxidant, antihyperglycemic และ antihypertensive ซึ่งคุณสมบัติที่ได้รับความสนใจอย่างมากในปัจจุบันของสารกลุ่ม flavonoids คือ antihypertensive โดยได้นำสารสกัดกลุ่ม flavonoid มาทดสอบการออกฤทธิ์และกลไกการออกฤทธิ์ต่อการทำงานของหลอดเลือด เพื่อพัฒนาไปเป็นยารักษาโรคความดันเลือดสูงต่อไป เช่น

จากการศึกษาของ Lemos และคณะ (1999) สาร dioclein สกัดมาจาก *Dioclea grandiflora* (Leguminosae) ชักนำให้หลอดเลือดแดง thoracic aorta ในหนูแร้ทคลายตัว โดยอาศัยกลไกเพิ่มการสร้าง NO และ endothelium-dependent vasorelaxant ซึ่งทำให้ระดับ cGMP เพิ่มขึ้น ทำให้เกิดการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ

จากการศึกษาของ Morello และคณะ (2006) สาร galangin ซึ่งพบมากในน้ำผึ้งและ *Alpinia officinarum* ซึ่งใช้เป็นพืชสมุนไพรพื้นบ้านในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ซึ่งจากการศึกษาพบว่า ทำให้แรงในการหดตัวของหลอดเลือดแดง thoracic aorta ในหนูแร้ทลดลง มีกลไก

การออกฤทธิ์แบบ endothelium-dependent หรือการสร้าง NO เพิ่มขึ้น และกลไกอาจเกิดจาก กระบวนการ endothelium-independent mechanism ร่วมด้วย โดยจะไปยับยั้งการเพิ่มขึ้นของ Ca^{2+} ภายในเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ โดยกระตุ้นการปิดของ calcium channel ที่ cell membrane

ส่วนสารอีกชนิดหนึ่งคือ quercetin ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่ม flavonoid เช่นกันสามารถ กระตุ้นการเกิด phosphorylation ของ eNOS ทำให้มีการสร้าง NO ใน endothelial cell เพิ่มขึ้น ซึ่ง NO มีบทบาทสำคัญต่อการทำงานของหลอดเลือด (Khoo et al., 2010)

การทดลองโดยใช้สารสกัดหยาบจาก *Achyrocline satureioides* พบว่าที่ความ เข้มข้น 25 mg/ml มีผลทำให้ corpus cavernosum ที่แยกออกจากตัวหนู quinea pig คลายตัวอย่างมี นัยสำคัญ และเมื่อมีการแยกสารสกัดบริสุทธิ์จาก *Achyrocline satureioides* พบว่ามีสารกลุ่ม flavonoid ที่มีผลต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum คือ quercetin และ quercetin 3-methyl ether ที่ความเข้มข้น 0.075 mg/ml (Hnatyszyn et al., 2004)

นอกจากนี้พบว่า สารกลุ่ม flavonoid ยังมีคุณสมบัติ antioxidant ซึ่งจากการศึกษา ของ Rice-Evans และคณะ (1997) พบว่า สารประกอบ polyphenolic โดยเฉพาะสารกลุ่ม flavonoid สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ดี ทั้งในหลอดทดลอง (*in vitro*) และในสัตว์ทดลอง (*in vivo*) การ ทำงานของสาร antioxidant จะไปจับกับอนุมูลอิสระแล้วเกิดอนุมูลอิสระตัวใหม่ที่เสถียรกว่า ส่งผล ให้หยุดวงจรการเกิดอนุมูลอิสระตัวใหม่ ๆ ขึ้นมาอีกเพราะการรวมตัวกันจะกลายเป็นโมเลกุลที่ เสถียร สารอนุมูลอิสระในร่างกายหากมีมากเกินไปจะก่อให้เกิดผลเสียต่อเซลล์และการทำลายเซลล์ เกิดพยาธิสภาพในร่างกาย เช่น aging, reperfusion injury, dementia และ atherosclerosis ที่จะ นำไปสู่การเกิดโรคร้ายต่าง ๆ ได้

จากการศึกษาก่อนหน้านี้ของ Deachathai และคณะ (2005) นำผลมะพูดทั้งผลดิบ และผลสุกมาสกัดด้วย acetone และได้แยกสารสกัดบริสุทธิ์ออกมาได้ 42 สาร เช่น dulcisisoflavone, dulcisxanthone A, camboginol, xanthone, morelloflavone เป็นต้น หลังจากนั้น ได้มีการทดสอบคุณสมบัติเป็น antioxidant ของสารทั้ง 42 ชนิด ซึ่งพบว่าสารที่มีคุณสมบัติเป็น antioxidant มีหลายสารและสารที่มีคุณสมบัติโดดเด่น ได้แก่ dulcisflavan, camboginol, morelloflavone, cambogin, epicatechin ซึ่งสามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยา oxidation ของ DPPH radical ได้ 87, 74, 51, 69 และ 82 % ตามลำดับ สารสกัดจากผลมะพูดพบว่ามีสาร camboginol ประมาณ 11.51 g และ morelloflavone มีประมาณ 85.80 mg จากผลมะพูด 12 kg ซึ่งสูงกว่าสาร ชนิดอื่น ๆ และประกอบกับสารทั้งสองมีคุณสมบัติที่โดดเด่นทางด้านเป็นสาร antioxidant จึงสนใจ ที่จะนำสาร morelloflavone และ camboginol มาศึกษาฤทธิ์และกลไกการออกฤทธิ์ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดง thoracic และกล้ามเนื้อเรียบ corpus cavernosum

9. มะพุด (*Garcinia dulcis* Kurz.)

9.1 ลักษณะ ลำต้น ใบ ดอก

มะพุดมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Garcinia dulcis* Kurz. เป็นพืชที่พบกระจายในแถบประเทศเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น ประเทศไทย ฟิลิปปินส์ อินโดนีเซีย มาเลเซีย มะพุดเป็นพืชพื้นเมืองของไทย ที่ถูกนำมาใช้เป็นยาพื้นบ้าน (Pang et al., 2009) พบกระจายทั่วไปในบริเวณป่าดิบชื้น ป่าดิบแล้ง และตามชายห้วยในป่าเบญจพรรณ ลักษณะทั่วไป เป็นไม้ยืนต้นขนาดกลาง สูงประมาณ 5-20 เมตร ลำต้นตรง มีร่องรอยแผลเป็นปุ่มปมตะปุ่มตะป่ำ ที่เกิดขึ้นจากกิ่งก้านหลุดร่วงอยู่ทั่วไป กิ่งก้านจะแตกออกจากลำต้นค่อนข้างถี่ เปลือก สีน้ำตาลปนเขียว เรียบ แตกเป็นร่องตื้น ๆ ตามความยาวของลำต้น มีน้ำยางสีขาวไหลออกมาแล้วเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ใบลักษณะเป็นใบเดี่ยว ขนาดใหญ่ หนา มั่น คล้ายแผ่นหนังสีเขียวเข้ม หลังใบเกลี้ยงเป็นมัน แผ่นใบมักจะบิดเป็นเกลียว คลื่นเล็กน้อย ขอบใบเรียบ ก้านใบย่นจรูระยาวประมาณ 1.5-2 เซนติเมตร มีขนบาง ๆ ปกคลุมใบ กว้างประมาณ 6-9 เซนติเมตร ยาวประมาณ 25-30 เซนติเมตร ใบเป็นรูปไข่ยาวรีคล้ายใบมังคุด แต่ปลายใบจะแหลมกว่า ดอกสีเหลืองอมเขียว ดอกแยกเพศแต่อยู่ในต้นเดียวกัน ออกเป็นช่อแบบช่อกระจุก ตามซอกใบและกิ่งก้าน ดอกบานเป็นรูปถ้วยหรือโถ ผลมีลักษณะกลมหรือรูปไข่ ผลขนาดใหญ่ เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 5-6 เซนติเมตร ผิวเรียบ ผลดิบสีเขียว ผลแก่มีสีเหลือง เนื้อผลสีเหลืองจ้ำปา รสเปรี้ยวอมหวาน รับประทานได้ เมล็ดมีลักษณะรูปรีแข็งสีน้ำตาล 2-5 เมล็ด ใน 1 ผล ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด (นริศ และคณะ 2553)

สรรพคุณทางแพทย์แผนโบราณ

สรรพคุณของมะพุดที่เป็นความเชื่อที่เล่าต่อ ๆ กันมา เช่น น้ำคั้นจากลูกมีรสเปรี้ยวอมหวาน ซึ่งสามารถแก้ไอ ขับเสมหะ แก้เจ็บคอ แก้เลือดออกตามไรฟัน ส่วนของราก มีรสจืด ใช้เป็นยาลดไข้ แก้อ่อนใน ส่วนเปลือก มีรสฝาด ใช้ชำระบาดแผล (Deachathai et al., 2005; Kasahara and Henmi., 1986)



รูปที่ 1.10 แสดงลักษณะของผลดิบ ผลสุก และ ใบของมะพูด (นริศ และคณะ 2553)

รายงานทางวิทยาศาสตร์

ปัจจุบันพบว่าได้มีรายงานการศึกษาผลของสาร morelloflavone และ camboginol มาแล้วดังต่อไปนี้

1. morelloflavone

morelloflavone เป็นสารที่สกัดจากผลมะพูด มีโครงสร้างดังแสดงใน รูปที่ 1.11 พบสารนี้ใน ผลดิบ ผลสุก ดอก และ ใบของมะพูด morelloflavone มีน้ำหนักโมเลกุล 556 เป็นสารในกลุ่ม flavonoid (Deachathai et al., 2005-2006; Pelter et al., 1970) ซึ่งจากการศึกษาฤทธิ์ของสาร morelloflavone พบว่า จากการศึกษาก่อนหน้านี้ของ Deachathai และคณะ (2005) พบว่า สาร morelloflavone มีคุณสมบัติเป็น antioxidant ซึ่งสามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยา oxidation ของ DPPH radical ได้ 51 %

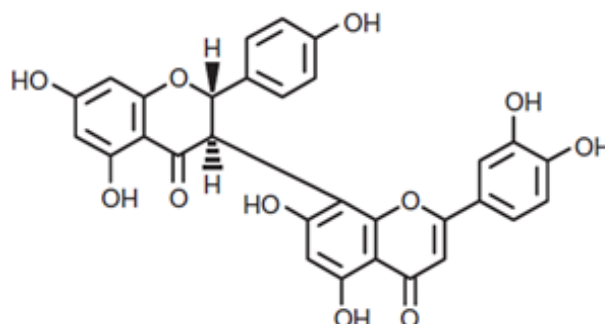
จากการศึกษาของ Gail และคณะ (1997) พบว่า morelloflavone สามารถลดการอักเสบบริเวณหูของหนู mice ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบ โดย 12-O- tetradecanoylphorbol 13-acetate พบว่าสามารถลดการอักเสบและลดระดับ myeloperoxidase ใน ear homogenates โดยการยับยั้งการหลั่ง phospholipase A₂ ในกลุ่ม II และกลุ่ม III ในทางตรงกันข้าม morelloflavone ไม่สามารถยับยั้งการอักเสบที่ถูกเหนี่ยวนำโดย arachidonic acid จึงไม่มีผลต่อกระบวนการ metabolism ของ arachidonic acid โดยการทำงานของ cyclooxygenase หรือ 5-lipoxygenase จึงไม่ส่งผลต่อการสร้าง eicosanoids ซึ่งกระบวนการต้านอักเสบอาจจะเกิดจากกลไกอื่น ๆ เช่น การกำจัด reactive oxygen species เป็นต้น

จากการศึกษาของ Hutadilok-Towatana และคณะ (2007) พบว่า morelloflavone ซึ่งเป็นสารกลุ่ม flavonoids ที่สกัดมาจากผลของ *G. dulcis* มีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยสามารถยับยั้ง oxidation ของ low density lipoprotein (LDL) ที่แยกจาก human plasma โดยวัดระดับ malondialdehyde (MDA) ทั้งในภาวะที่มีและไม่มี Fe^{2+} ซึ่งพบว่าทั้ง morelloflavone ทำให้ระดับ MDA ลดลง ตามความเข้มข้นของ morelloflavone ที่สูงขึ้น

นอกจากนี้พบว่า morelloflavone มีฤทธิ์ต้านการเจริญเติบโตของเซลล์จากการศึกษาของ Pang และคณะ (2009) ได้ศึกษาผลของ morelloflavone ที่สกัดมาจาก *Garcinia dulcis* Kurz. พบว่า morelloflavone สามารถยับยั้ง vascular endothelial growth factor ที่เหนี่ยวนำให้เกิด cell proliferation, migration, invasion และการสร้างหลอดเลือดฝอยจากการทดลองเพาะเลี้ยง vascular endothelial cells ในหลอดเลือดสายสะดือของมนุษย์ ซึ่งกลไกการยับยั้งการสร้างหลอดเลือดฝอยนี้ขึ้นกับปริมาณของ morelloflavone (dose-dependent manner) นอกจากนี้พบว่า morelloflavone มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง tumor growth และ tumor angiogenesis ของ prostate cancer cells ใน xenograft mouse tumor model แสดงให้เห็นว่า morelloflavone มีผลยับยั้ง tumor angiogenesis โดยกลไกลดการทำงานของ RhoA, Rac1 GTPase, Cdc42 GTPase และ Raf/mitogen-activated protein kinase/extracellular signal regulated kinase (ERK) ซึ่งมีหน้าที่เกี่ยวกับ cell actin cytoskeleton, cell polarity, migration และ proliferation

การศึกษาผลทางชีวภาพของ morelloflavone ต่อ vascular smooth muscle cell ใน *in vitro* tissue culture และใน *in vivo* injury mouse arteries โดย Pinkaew และคณะ (2009) พบว่า morelloflavone ที่ความเข้มข้น 0-10 μ M ไม่มีผลต่อ cell cycle progression หรือ cell survival ในขณะที่ความเข้มข้น 100 μ M ยับยั้ง vascular smooth muscle cell migration

นอกจากจะพบ morelloflavone ในมะปูด (*Garcinia dulcis* Kurz.) แล้ว ยังพบ morelloflavone ในพืชชนิดอื่นอีก เช่น *Garcinia Livingstonii* (Pelter et al., 1970), *Garcinia garderina* (Castardo et al., 2008), *Garcinia brasiliensis* (Gontijo et al., 2012), *Garcinia multiflora* (Lin et al., 1997) และ *Garcinia spicata* (Sanz et al., 1994)



รูปที่ 1.11 แสดงโครงสร้างของ morelloflavone (Pelter et al., 1970)

2. camboginol

camboginol มีน้ำหนักโมเลกุล 602 เป็นสารสกัดที่พบได้จาก ผลแก่ ผลสุกของ มะพุด และมีโครงสร้าง ดังแสดงในรูปที่ 1.12 ซึ่ง camboginol จัดเป็นสารกลุ่ม prenylated benzophenone (Deachathai et al., 2005; Rama et al., 1980) ซึ่งจากการศึกษาฤทธิ์ของสาร camboginol พบว่า

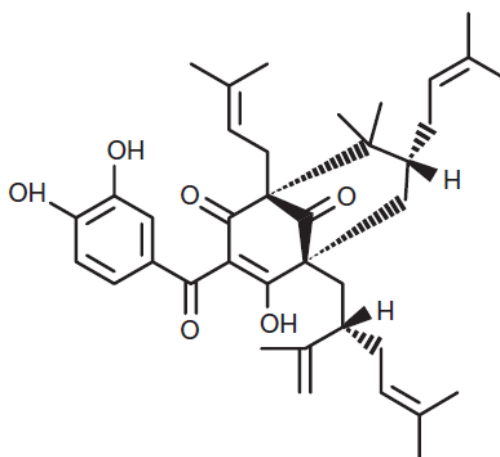
จากการศึกษาก่อนหน้านี้ของ Deachathai และคณะ (2005) พบว่า สาร camboginol มีคุณสมบัติเป็น antioxidant ซึ่งสามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยา oxidation ของ DPPH radical ได้ 87 % และพบว่าสาร camboginol มีคุณสมบัติเป็น anti-bacterial ซึ่งสามารถยับยั้งการ เจริญเติบโตของ *Staphylococcus aureus* ทั้งสายพันธุ์ penicillin-sensitive strain ATCC25923 และ methicillin-resistant strain MRSA SK1 โดย camboginol, cowaxanthone, lupalbigenin และ mangostin ให้ค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้ง (minimum inhibition concentration) อยู่ในช่วง 4-16 $\mu\text{g/mL}$

จากการศึกษาของ Hutadilok-Towatana และคณะ (2007) พบว่า camboginol ซึ่งเป็นสารกลุ่ม prenylated benzophenones ที่สกัดมาจากผลของ *G. dulcis* มีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยสามารถยับยั้ง oxidation ของ LDL ที่แยกจาก human plasma โดยวัดระดับ MDA ทั้งใน ภาวะที่มีและไม่มี Fe^{2+} ซึ่งพบว่า camboginol ทำให้ระดับ MDA ลดลง ตามความเข้มข้นของ camboginol ที่สูงขึ้น

นอกจากจะพบ camboginol ในมะพุด (*Garcinia dulcis* Kurz.) แล้ว ยังพบ สารนี้ ในพืชชนิดอื่นอีก เช่น *Garcinia cambogia* (Krishnamorthy et al., 1981; Rama et al., 1980; Roux et al., 2000)

จากการศึกษาสารกลุ่ม prenylated benzophenone เช่น 7-epiclusianone สกัดจาก *Rheedia gardneriana* พบว่าสารนี้สามารถทำให้หลอดเลือดแดง thoracic คลายตัวได้ที่ความเข้มข้นต่ำ (10^{-8} - 10^{-5} M) โดยกระตุ้นการทำงานของ endothelium สร้าง NO เพิ่มขึ้น แต่ที่ความเข้มข้นสูง (10^{-4} M) มีผลทำให้หลอดเลือดแดง thoracic หดตัว โดยกลไกกระตุ้นการทำงานของ cyclooxygenase-derived contractile factor(s) (Cruz et al., 2006)

การศึกษาสารกลุ่ม prenylated benzophenone ต่อการทำงานของกล้ามเนื้อเรียบ corpus cavernosum ยังไม่มีการรายงานมาก่อน การศึกษาครั้งนี้จึงเป็นการศึกษาผลของ camboginol และ morelloflavone ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ โดยเฉพาะกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดและ corpus cavernosum ซึ่งจะมีประโยชน์สำหรับเป็นข้อมูลพื้นฐานต่อการศึกษากลไกการออกฤทธิ์ในระดับเซลล์และโมเลกุลต่อไปในอนาคต และสร้างความมั่นใจให้กับผู้บริโภคผลมะพุดเนื่องจากการศึกษาทางวิทยาศาสตร์เป็นตัวยืนยันสรรพคุณ



รูปที่ 1.12 แสดงโครงสร้างของ camboginol (Rama et al., 1980)

ดังนั้น การศึกษาการออกฤทธิ์ของสารสกัดทั้งสองชนิดต่อการทำงานของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดและ corpus cavernosum จะนำมาซึ่งผลการใช้สารทั้งสองชนิดในการเป็นทางเลือกสำหรับการลดความดันเลือดและช่วยเพิ่มสมรรถภาพทางเพศได้

1.3 วัตถุประสงค์ (Objectives)

การศึกษานี้ เพื่อศึกษาฤทธิ์และกลไกการออกฤทธิ์ของ morelloflavone และ camboginol จากผลมะพุด ต่อการคลายตัวของ

1) isolated rat thoracic aortic ring โดยใช้ norepinephrine (NE) ชักนำให้เกิดแรงดึงตัวของกล้ามเนื้อหลอดเลือดแทนการทำงานของระบบประสาท sympathetic

2) isolated rat corpus cavernosum โดยใช้ phenylephrine (PE) ชักนำให้เกิดแรงดึงตัวของกล้ามเนื้อเรียบ corpus cavernosum แทนการทำงานของระบบประสาท sympathetic

1.4 สมมติฐานงานวิจัย

1. สารสกัดบริสุทธิ์จากผลมะพุด (*Garcinia dulcis* Kurz) คือ morelloflavone และ camboginol ทำให้กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดง thoracic คลายตัว

2. กลไกการออกฤทธิ์ของ morelloflavone และ camboginol ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดง thoracic อาศัย

2.1 การเพิ่มปริมาณ NO จาก endothelium

2.2 การเพิ่มปริมาณ PGI₂ จาก endothelium

2.3 การกระตุ้นการเปิด K⁺_{ATP} channel ที่กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด

2.4 การกระตุ้นการเปิด K⁺_{Ca} channel ที่กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด

3. morelloflavone และ camboginol ทำให้กล้ามเนื้อเรียบ corpus cavernosum คลายตัว

4. กลไกการออกฤทธิ์ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ corpus cavernosum อาศัยการสร้างและหลั่ง NO จาก endothelium

บทที่ 2

วิธีดำเนินการทดลอง

วัสดุและอุปกรณ์

2.1 สัตว์ทดลอง

การวิจัยครั้งนี้ทำการทดลองในหนูแร้ทเพศผู้สายพันธุ์ Wistar น้ำหนักระหว่าง 250-300 g จำนวนทั้งสิ้น 188 ตัว จากสถานสัตว์ทดลองภาคใต้ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สัตว์ทดลองทั้งหมดถูกเลี้ยงในห้องปรับอากาศที่มีอุณหภูมิ 23-24°C ความชื้นสัมพัทธ์ 50-55% โดยควบคุมให้มีปริมาณแสงให้มีสัดส่วนความมืดและความสว่าง 12:12 h เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูป (S.W.T., Thailand) และดื่มน้ำประปาสะอาดไม่จำกัดปริมาณ การทดลองได้ผ่านการพิจารณาเห็นชอบจาก คณะกรรมการจรรยาบรรณการใช้ สัตว์ทดลอง มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ เลขที่ ศธ 0521.11/051 (MOE 0521.11/052)

2.2 การเตรียมสารสกัด morelloflavone และ camboginol จากผลมะพุด

ในการทดลองครั้งนี้ ได้รับความอนุเคราะห์สารบริสุทธิ์ morelloflavone และ camboginol จากห้องวิจัย รศ. ดร. วิลาวัลย์ มหาบุษราคัม ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ โดยมีวิธีการสกัดดังนี้

ผลมะพุดในการทดลองเก็บจากอำเภอเมือง จังหวัดสงขลา ประเทศไทยและได้เก็บ ตัวอย่างพืชไว้ใน herbarium (No. 02, No. 0012652) ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

นำผลมะพุดผลดิบ 8 kg หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ แช่ใน acetone เป็นเวลา 5 วัน หลังจากนั้นเก็บสารละลายหรือสารสกัดที่ได้จาก acetone ไว้ จากนั้นแช่มะพุดใน methanol อีกเป็นเวลา 3 วัน แล้วเก็บสารละลายหรือสารสกัดที่ได้จาก methanol ไว้ นำสารละลายหรือสารสกัดที่ได้จาก acetone และ methanol ไประเหย (evaporation) สารสกัดหยาบที่ได้จาก acetone ประมาณ 165.80 g ซึ่งแยกออกเป็น 2 ชั้น คือ 1) ชั้นบน (upper layer) เมื่อทำให้แห้งโดยวิธีลดความดัน พบว่าสารสกัด

หยาบมีลักษณะเหนียวหนืด (fraction A, 84.85 g) 2 ชั้นล่าง (lower layer) สกัดต่อด้วย butanol ตามด้วย dichloromethane และ ethyl acetate ได้เป็น dichloromethane soluble (fraction B1, 7.50 g)

ซึ่งใน ethyl acetate soluble (fraction B2, 37.53 g) พบสาร morelloflavone ได้จาก fraction B2I ประมาณ 20.60 mg มี MW 556 โดยการนำ fraction B2 ไปแยกสารสกัดด้วยวิธี column chromatography ได้เป็น fraction B2A-B2K ซึ่ง fraction B2I นำไปแยกสารสกัดโดยใช้ตัวทำละลาย dichloromethane – acetone ด้วยวิธี column chromatography ได้เป็นสาร morelloflavone ส่วนใน fraction A (85.85 g) ที่ได้จากการสกัดด้วย acetone นำมาแยกสารสกัดโดยวิธี quick column chromatography โดยใช้ตัวทำละลายเหล่านี้ ตามลำดับ dichloromethane, dichloromethane - acetone, acetone - methanol และ methanol จากนั้นสารสกัดต่อด้วยวิธี thin-layer chromatography ได้เป็น A1-A6 ซึ่งสาร camboginol จะพบจาก fraction A1 ประมาณ 11.43 g มี MW 602 โดยการนำ fraction A1 ไปแยกสารสกัดด้วยตัวทำละลาย dichloromethane ได้เป็นสาร camboginol

การสกัดสารจากผลสุกของมะพูด โดยนำผลมะพูดสุก 3 kg หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ แช่ใน acetone เป็นเวลา 5 วัน จากนั้นระเหย acetone ด้วย acetone ได้เป็น liquid extract นำสารสกัดหยาบที่ได้ไปแยกด้วยตัวทำละลาย (solvent partitioning) โดยใส่ hexane ตามด้วย ethyl acetate ซึ่งจะได้สารสกัดหยาบที่เป็นของแข็งทั้งใน hexane (fraction D, 7.86 g) และ ethyl acetate (25.39 g) โดยสารสกัดหยาบที่เป็นของแข็งใน ethyl acetate แบ่งออกเป็น soluble fraction (fraction E, 21.20 g) และ insoluble fraction F, 40.90 g

สารสกัดหยาบที่เป็นของแข็งใน hexane (fraction D, 7.86 g) นำไปแยกสารสกัดด้วยตัวทำละลาย dichloromethane และ methanol ด้วยวิธี column chromatography จากนั้นนำไปแยกสารสกัดต่อด้วยวิธี thin-layer chromatography และระเหย ได้เป็น D1–D11 ซึ่งสาร camboginol จะพบใน fraction D4, D5 และ D7 รวมกันประมาณ 80.2 mg โดยการนำ fraction D4, D5 และ D7 แยกสารสกัดโดยใช้ตัวทำละลาย dichloromethane และ dichloromethane – acetone ด้วยวิธี column chromatography ได้เป็นสาร camboginol

สารสกัดหยาบที่เป็นของแข็งใน ethyl acetate soluble fraction (fraction E, 21.20 g) นำไปแยกสารสกัดด้วยวิธี quick column chromatography ได้เป็น E1-E6 ซึ่งสาร morelloflavon จะพบใน fraction E3 ประมาณ 35.2 mg โดยการนำ fraction E3 ไปแยกสารสกัดโดยใช้ตัวทำละลาย dichloromethane – methanol ด้วยวิธี column chromatography ได้เป็นสาร morelloflavon (Deachathai et al., 2005) จากการสกัดสารในครั้งนี้ได้ปริมาณสารที่สนใจ คือ ในผลดิบได้สาร

campoginol ประมาณ 11.43 g และสาร morelloflavone ประมาณ 20.60 mg ส่วนในผลสุก ได้สาร
campoginol ประมาณ 80.2 mg และสาร morelloflavone ประมาณ 35.2 mg

2.3 ยาและสารเคมี

1. Acetylcholine ($C_7H_{16}O_2$), Sigma, St. Louis, MO, USA
2. Calcium chloride – dihydrate ($CaCl_2 \cdot HCl$), Merck, Darmstadt, Germany
3. D(+)-glucose monohydrate ($C_6H_{12}O_6 \cdot H_2O$), Riedel-de Haën, Seelze, Germany
4. Dimethylsulfoxide (DMSO) (C_2H_6OS) Sigma, St. Louis, MO, USA
5. Glybenclamide ($C_{23}H_{28}ClN_3O_5S$), Sigma, St. Louis, MO, USA
6. Indomethacin ($C_{19}H_{16}NClO_4$), Fluka, Buchs, Germany
7. Magnesium sulphate ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$), May & Baker, Dagenham, England
8. N^G -nitro-L-arginine ($C_6H_{13}N_5O_4$), Sigma, St. Louis, MO, USA
9. Norepinephrine ($C_8H_{11}NO_3$), Sigma, St. Louis, MO, USA
10. Potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4), Riedel-de Haën, Seelze, Germany
11. Potassium chloride (KCl), Riedel-de Haën, Seelze, Germany
12. Phenylephrine hydrochloride ($C_9H_{13}NO_2 \cdot HCl$), Sigma, St. Louis, MO, USA
13. Sildenafil citrate ($C_{22}H_{30}N_6O_4S$), GPO, Bangkok, Thailand
14. Sodium chloride (NaCl), Ajax Finechem, Seven Hills, Australia
15. Sodium hydrogen carbonate ($NaHCO_3$), Asia Pacific Specialty, Seven Hills, Australia
16. Sodium nitroprusside ($C_5FeN_6Na_2O \cdot 2H_2O$), Sigma, St. Louis, MO, USA
17. Tetraethylammonium chloride ($C_8H_{20}HCl$), Sigma, St. Louis, MO, USA

2.4 อุปกรณ์

1. ชุดเครื่องมือผ่าตัดสัตว์ทดลอง
2. ชุด isolated organ bath ขนาด 20 ml
3. เครื่องควบคุมอุณหภูมิน้ำ (thermostat-heater-circulator) Model DIN12879 KLASSE I W, HAAKE, Karlsruhe, Germany
4. เครื่องบันทึก MacLab, Model 4/20 ADInstruments พร้อมอุปกรณ์ประกอบด้วย force transducer, Model 1030, bridge Amplifier, Model 110, และโปรแกรม chart version 7 สำหรับบันทึกการทดลอง, ADInstruments Pty Ltd, New South Wales, Australia
5. เครื่องชั่งละเอียด, Model AE200, CH-8606, Greifensee, Switzerland
6. ไปเปตต์อัตโนมัติ (automatic pipettes), Eppendorf, Geritebau, Hamburg, Germany
7. เครื่องแปลงสัญญาณความดัน (pressure transducer), Model 21060 P23AC, Statham, Hato Rey, Puerto Rico
8. เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter), Model UB-5, Denver Instruments, Denver, USA
9. ถังก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (95%O₂ + 5% CO₂) พร้อมตัวปรับก๊าซ (gas regulator)
10. เครื่องเหวี่ยงตะกอนความเร็วสูง (centrifuge), Model 4232, A. L. C., Milan, Italy
11. Mixer, Model VTX-3000L, Tokyo, Japan

2.5 วิธีดำเนินการทดลอง

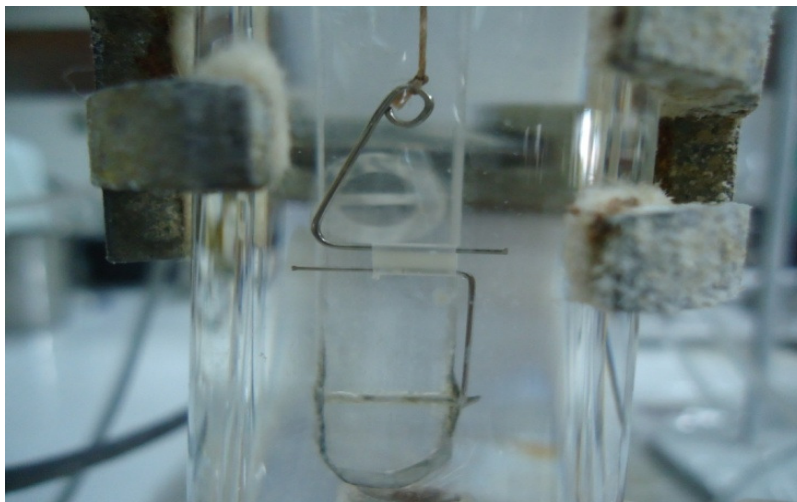
2.5.1 การทดลองในหลอดเลือดแดง thoracic aorta

1. การเตรียม thoracic aortic ring

ในวันทำการทดลองนำหนูมาชั่งน้ำหนัก จากนั้นฉีดยาสลบ Nembutal (pentobarbital sodium) ขนาด 60 mg/kg น้ำหนักตัวหนู เข้าทางช่องท้อง รอให้หนูสลบลึก ในการทดสอบระดับการสลบ อาการสลบลึกหนูจะหลับตา ร่างกายอ่อนปวกเปียกเนื่องจากกล้ามเนื้อแข็งแรง ดึงตัวลดลง หายใจสม่ำเสมอ สำหรับการทดสอบว่าสลบลึกหรือไม่นั้น การสลบลึก หนูควรสลบอยู่ใน stage 3 phase 2 ซึ่งระดับการสลบจะมี 4 stage โดย stage 3 จะมี 2 phase ซึ่งจะพบว่า corneal reflex จะหายไป การทดสอบว่ายังเจ็บปวดหรือไม่ ใช้วิธีหยิกหรือกดที่บริเวณนิ้วเท้าหรือฝ่าเท้า หากหนูยังเจ็บจะดึงเท้าหนี จากนั้นทำให้หนูเสียชีวิตด้วยวิธีการตัดคอโดยเครื่อง guillotine ทำการ

ผ่าตัดเปิดหน้าอกตัดแยกหลอดเลือดแดง thoracic ขาวประมาณ 2.5-3 cm ออกแช่ใน Krebs Henseleit solution ที่อุณหภูมิ 4°C นำหลอดเลือดมาแยก connective tissue และไขมันรอบ ๆ ออกบน petri dish ที่มี Krebs Henseleit solution และ carbogen gas (95% O₂/5% CO₂) ผ่านตลอดเวลา และตัดหลอดเลือดให้ได้ขนาด 2-3 mm ต่อชิ้น จำนวน 4-5 ชิ้น สำหรับการเตรียม denuded aortic rings ทำโดยวิธี mechanical disruption โดยการสอด stainless steel ขนาด เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.6 mm เข้าไปในหลอดเลือดแล้วฉูดด้านในหลอดเลือดเบา ๆ ประมาณ 30 วินาที ซึ่งการทดสอบว่า endothelium ถูกทำลายโดยสมบูรณ์หรือไม่นั้นจะใช้การตอบสนองต่อ acetylcholine (ACh) ซึ่งหากหลอดเลือดไม่ตอบสนองต่อ ACh แสดงว่า endothelium ถูกทำลายโดยสมบูรณ์แล้ว (Furchgott and Zawadzki, 1980)

จากนั้นนำหลอดเลือดไปแขวนใน organ bath ที่มี Krebs Henseleit solution ที่ 37°C โดยให้ carbogen gas ผ่านตลอดเวลา โดยหลอดเลือดที่แขวนจะเกี่ยวกับตะขอรูปตัว L สองอัน โดยตะขออันล่างจะยึดติดกับฐานของ organ bath ส่วนตะขออันบนต่อกับ force transducer ที่ต่อกับ bridge Amplifier บันทึกผลการทดลองโดยใช้เครื่อง MacLab โปรแกรม chart version 7 ก่อนการทดลองต้องทำการ calibrate force transducer ทุกครั้ง วิธีการ calibrate force transducer ต้องทำให้โปรแกรม chart โดยนำตะขอที่แขวนค้ำน้ำหนักแขวนไว้กับ force transducer เพื่อปรับ baseline ไว้ที่ 0 ซึ่งค่าที่ได้จะมีหน่วยเป็น mV จากนั้นนำค้ำน้ำหนัก 1 g แขวนที่ตะขอ เมื่อค้ำน้ำหนักหยุดแกว่งแล้วบันทึกค่า ซึ่งค่าที่ได้จะมีหน่วยเป็น mV เช่นเดียวกัน จากนั้นในโปรแกรม chart จะสามารถเปลี่ยนหน่วยจาก mV ไปเป็น g เป็นอันเสร็จสิ้นการ calibrate force transducer ซึ่งวิธีการ calibrate force transducer อย่างละเอียดสามารถศึกษาเพิ่มเติมได้ในคู่มือปฏิบัติการสรีรวิทยา สำหรับการบันทึกการหดตัวของกล้ามเนื้อ เริ่มการทดลองโดยปรับให้หลอดเลือดมีความตึงขณะพักที่ 1 g และ equilibrate หลอดเลือด 45 นาที โดยเปลี่ยนสารละลาย Krebs Henseleit ใน organ bath ทุก ๆ 15 นาที การทดลองจะเริ่มเมื่อหลอดเลือดทั้งหมดที่มีแรงตึงคงที่ประมาณ 0.9-1.09 g



รูปที่ 2.1 การแขวนชิ้นหลอดเลือดแดง thoracic ใน organ bath 20 mL

2. การเตรียม stock solution ของ morelloflavone และ camboginol

ซึ่ง morelloflavone และ camboginol ซึ่งมีลักษณะเป็นผงโดยคำนวณค่าความเข้มข้นที่ต้องการเป็น Molar (mole/L) จากสูตร $(M) = \frac{\text{น้ำหนักสาร (g)}}{\text{น้ำหนักของมวลโมเลกุล (MW)}}$ แล้วละลายด้วย dimethyl sulfoxide (DMSO) จนได้ความเข้มข้นของ stock solution 6 ขนาด ระหว่าง 10^{-7} - 10^{-2} M แต่ละขนาดต่างกัน 10 เท่า ดังนี้ 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} และ 10^{-2} M

ซึ่ง camboginol ซึ่งมีลักษณะเป็นผงโดยคำนวณค่าความเข้มข้นที่ต้องการเป็น Molar (mole/L) จากสูตร $(M) = \frac{\text{น้ำหนักสาร (g)}}{\text{น้ำหนักของมวลโมเลกุล (MW)}}$ แล้วละลายด้วย DMSO จนได้ความเข้มข้นของ stock solution 8 ขนาด ระหว่าง 10^{-7} -1 M แต่ละขนาดต่างกัน 10 เท่า ดังนี้ 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2} , 10^{-1} M และ 1 M

3. การเตรียมสารละลาย Krebs Henseleit

การเตรียมสารละลาย Krebs Henseleit ในการทดลองเพื่อศึกษาการหดตัวและคลายตัวของ thoracic aortic ring ซึ่งสารละลาย Krebs Henseleit ประกอบด้วยสาร ต่าง ๆ ที่ความเข้มข้นในหน่วย mM/L ดังนี้ KCl 4.6, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.12, KH_2PO_4 1.18, NaHCO_3 25.0, CaCl_2 1.9, D-glucose 11.66, NaCl 118.41 โดยนำสารที่ต้องการเตรียมมาชั่งน้ำหนักโดยคำนวณค่าความเข้มข้นที่ต้องการเป็น Molar (mole/L) จากสูตร $(M) = \frac{\text{น้ำหนักสาร (g)}}{\text{น้ำหนักของมวลโมเลกุล (MW)}}$ และละลายสารในน้ำกลั่น แล้วปรับ pH ให้เท่ากับ 7.4 ด้วย hydrochloric acid ที่ความเข้มข้น

2 N

4. การเตรียม stock solution

norepinephrine (NE), acetylcholine (ACh), phenylephrine (PE), N^G -nitro-L-arginine (L-NOARG), indomethacin, glibenclamide, tetraethylammonium chloride (TEA), sildenafil citrate และ sodium nitroprusside (SNP)

นำสารที่ต้องการเตรียมมาชั่งน้ำหนักโดยคำนวณค่าความเข้มข้นที่ต้องการเป็น Molar (mole/L) จากสูตร $(M) = \frac{\text{น้ำหนักสาร (g)}}{\text{น้ำหนักของมวลโมเลกุล (MW)}}$ จากนั้นนำมาละลายด้วยน้ำกลั่น ยกเว้น indomethacin นำมาละลายด้วย 0.1% sodium bicarbonate ให้ได้ความเข้มข้นของ stock solution ดังนี้ คือ NE 8 ขนาด ระหว่าง 10^{-7} - 10^{-1} M แต่ละขนาดต่างกัน 10 เท่า; PE 6 ขนาด ระหว่าง 10^{-5} - 10^{-1} M; ACh 9 ขนาด ระหว่าง 10^{-10} - 10^{-2} M; SNP 10^{-2} M; L-NOARG 10^{-3} M; indomethacin 10^{-2} M; glibenclamide 10^{-2} M; TEA 1 M

ส่วนการเตรียม sildenafil citrate เตรียมจากเม็ดยาขนาดบรรจุ 100 mg และเปลือกหุ้มยาออก แล้วบดให้ละเอียดเพื่อจะใช้ในการทดลองต่อไป การคำนวณน้ำหนักยาทำโดยเทียบหาปริมาณ sildenafil citrate เช่น ชั่งเม็ดยาได้ 500 mg จะมีปริมาณ sildenafil citrate อยู่ 100 mg ถ้าต้องการเตรียม sildenafil citrate ที่ความเข้มข้น 0.1 M จะต้องใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย 1,500 μ l จากนั้นนำไปผสมให้เข้ากันด้วย mixer นำไป centrifuge 10 minute แล้วคัดเฉพาะส่วนที่ใสมาใช้ในการทดลอง จากนั้นเตรียม stock solution มีความเข้มข้น 7 ขนาด แต่ละขนาดต่างกัน 10 เท่าระหว่าง 10^{-7} - 10^{-1} M

5. แผนการทดลองใน isolated thoracic aortic ring

5.1 การศึกษาขนาดของ NE เพื่อชักนำให้เกิดการหดตัวของ aortic ring

(precontraction)

หลังจากที่เตรียม aortic ring ใน organ bath ให้มีแรงดึงตัวคงที่ (resting tension) การทดลองเริ่มด้วยการหยด stock solution NE จำนวน 8 ขนาด ระหว่าง 10^{-7} - 10^{-1} M ตามลำดับ แต่ละขนาดหยดครั้งละ 20 μ l ซึ่งทำให้ได้ความเข้มข้นใน organ bath เท่ากับ 10^{-10} - 10^{-3} M ตามลำดับ ซึ่งความเข้มข้นของ NE ที่เลือกใช้ในการชักนำให้เกิด precontraction ก่อนการทดลองต่อไป คือ ความเข้มข้นที่ทำให้ aortic ring หดตัวประมาณ 70% ของค่า maximal tension

5.2 การศึกษาขนาดของ ACh ต่อการคลายตัวของ aortic ring

หลังจากที่เตรียม aortic ring ใน organ bath ให้มีแรงดึงตัวคงที่แล้ว เลือกหยด NE NE ความเข้มข้นที่ได้จากข้อ 5.1 จากนั้น หยด stock solution ของ ACh จำนวน 9 ขนาด ระหว่าง 10^{-10} - 10^{-2} M ตามลำดับ แต่ละขนาดหยดครั้งละ 20 μ l ซึ่งทำให้ได้ความเข้มข้นใน organ bath เท่ากับ 10^{-13} - 10^{-5} M ตามลำดับ การทดลองแบ่งเป็น 2 กลุ่ม ๆ ได้แก่ กลุ่มที่มี endothelium (intact

endothelium) และกลุ่มที่มีการทำลาย endothelium (denude) การทดสอบ endothelium ว่าถูกทำลาย โดยสมบูรณ์หรือไม่ ทำโดยการหยด ACh ขนาดที่ทำให้หลอดเลือดคลายตัวได้ประมาณ 80% ของค่า precontraction ซึ่งหากหลอดเลือดไม่ตอบสนองต่อ ACh แสดงว่า endothelium ถูกทำลายโดยสมบูรณ์แล้ว

ความเข้มข้นของ ACh ที่เลือกใช้ในการทดลองต่อไป คือ ความเข้มข้นที่ทำให้หลอดเลือดที่มี endothelium คลายตัวได้ประมาณ 80% ของค่า precontraction และขนาดของ ACh ที่เลือกใช้นำมาทดสอบหลอดเลือดแบบ intact endothelium หากหลอดเลือดที่ทดลองมีการคลายตัวน้อยกว่า 80% จะไม่นำผลการทดลองมาใช้

5.3 การศึกษาฤทธิ์ของ morelloflavone และ camboginol ในหลอดเลือดแดง

thoracic

การศึกษากฤทธิ์ของ morelloflavone และ camboginol หลังจากแขวนหลอดเลือดและปรับให้มีความตึงขณะพักที่ 1 g จากนั้นทดสอบการหดตัวของหลอดเลือดโดยใช้ NE ความเข้มข้นที่ได้จากข้อ 5.1 และทดสอบการคลายตัวของหลอดเลือดโดยใช้ ACh ความเข้มข้นที่ได้จากข้อ 5.2 หลังจากเสร็จการทดสอบการคลายตัวของหลอดเลือดเฉพาะหลอดเลือดที่ตอบสนองต่อ NE และ ACh ตามค่าที่กำหนดไว้ จะนำมาล้างออกด้วย Krebs Henseleit solution รอให้หลอดเลือดมีการหดตัวคงที่ จากนั้นบันทึกค่า control tension เป็นเวลา 5 นาที แล้วจึงหยด NE ความเข้มข้นที่ได้จากข้อ 5.1 บันทึกผลการทดลอง แล้วจึงเริ่มหยด stock solution ของ morelloflavone จำนวน 6 ขนาด ให้ได้ความเข้มข้นใน organ bath เท่ากับ 10^{-10} - 10^{-5} M และ camboginol จำนวน 8 ขนาด ให้ได้ความเข้มข้นใน organ bath เท่ากับ 10^{-10} - 10^{-3} M ตามลำดับ เป็นการให้สารแบบ cumulative บันทึก tension ตลอดเวลาการทดลองและอ่านค่าทุก ๆ 5 นาที จากนั้นล้างออกด้วย Krebs Henseleit solution รอให้เส้นบันทึกคงที่ จากนั้นบันทึกค่า resting tension และทำการทดสอบการหดตัวและการคลายตัวของหลอดเลือดอีกครั้งหนึ่ง ด้วย NE และ ACh จากนั้นทดสอบการคลายตัวของหลอดเลือดโดยใช้ SNP ความเข้มข้นใน organ bath เท่ากับ 10^{-5} M เพื่อทดสอบการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดตรวจสอบในกรณีที่ endothelium ถูกทำลายหรือเสียหายระหว่างการทดลอง

5.4 การศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของ morelloflavone และ camboginol ในหลอดเลือดแดง thoracic

thoracic

การศึกษากการตอบสนองของ aortic ring ต่อ NE (10^{-10} - 10^{-3} M) ในขณะที่ให้ specific blocker ชนิดต่าง ๆ เช่น 1) L-NOARG ซึ่งเป็นตัวยับยั้งการทำงานของ nitric oxide synthase (NOS) ที่ endothelium 2) indomethacin ซึ่งเป็นตัวยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ cyclooxygenase ที่ endothelium 3) glibenclamide ซึ่งเป็นตัวยับยั้งการเปิดของ K^+ _{ATP} channel ที่

กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดและ 4) TEA ซึ่งเป็นตัวยับยั้งการเปิดของ K^+_{Ca} channel ที่กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด โดยทำการ incubate หลอดเลือดด้วย blocker ต่าง ๆ แต่ละขนาดประมาณ 20-30 นาที (30 นาที สารละลาย L-NOARG, 20 นาที สารละลาย indomethacin, glibenclamide และ TEA) ก่อนทำการทดลองผลของ NE (10^{-10} - 10^{-3} M) บันทึกและอ่านผลแรงดึงตัวของหลอดเลือดเช่นเดียวกับข้อ 5.3

การศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของ morelloflavone และ camboginol โดยใช้ specific blocker ชนิดต่าง ๆ เช่นเดียวกับการศึกษาการตอบสนองของ aortic ring ต่อ NE โดยทำการ incubate หลอดเลือดด้วย blocker ต่าง ๆ แต่ละขนาดประมาณ 20-30 นาที ก่อนทำการทดลองผลของ morelloflavone และ camboginol บันทึกและอ่านผลแรงดึงตัวของหลอดเลือดเช่นเดียวกับข้อ 5.3

6. การออกแบบการทดลองใน thoracic aortic ring

การทดลองแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มหลัก แต่ละกลุ่มใช้สัตว์ทดลองกลุ่มละ 6 ตัว

6.1 กลุ่มควบคุม (vehicle) เป็นกลุ่มที่ได้รับ DMSO ซึ่งเป็นตัวทำละลายของ morelloflavone และ camboginol หยดครั้งละ 20 μ l จำนวน 8 ครั้ง เป็นการให้สารแบบ cumulative

6.2 การศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของ morelloflavone และ camboginol โดยให้ความเข้มข้นใน organ bath เท่ากับ 10^{-10} - 10^{-5} M และ 10^{-10} - 10^{-3} M ตามลำดับ เป็นการให้สารแบบ cumulative

6.3 การศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของ morelloflavone และ camboginol ต่อการทำงานของ thoracic aorta แบ่งออกเป็น 5 กลุ่มย่อย แต่ละกลุ่มใช้สัตว์ทดลองกลุ่มละ 6 ตัว

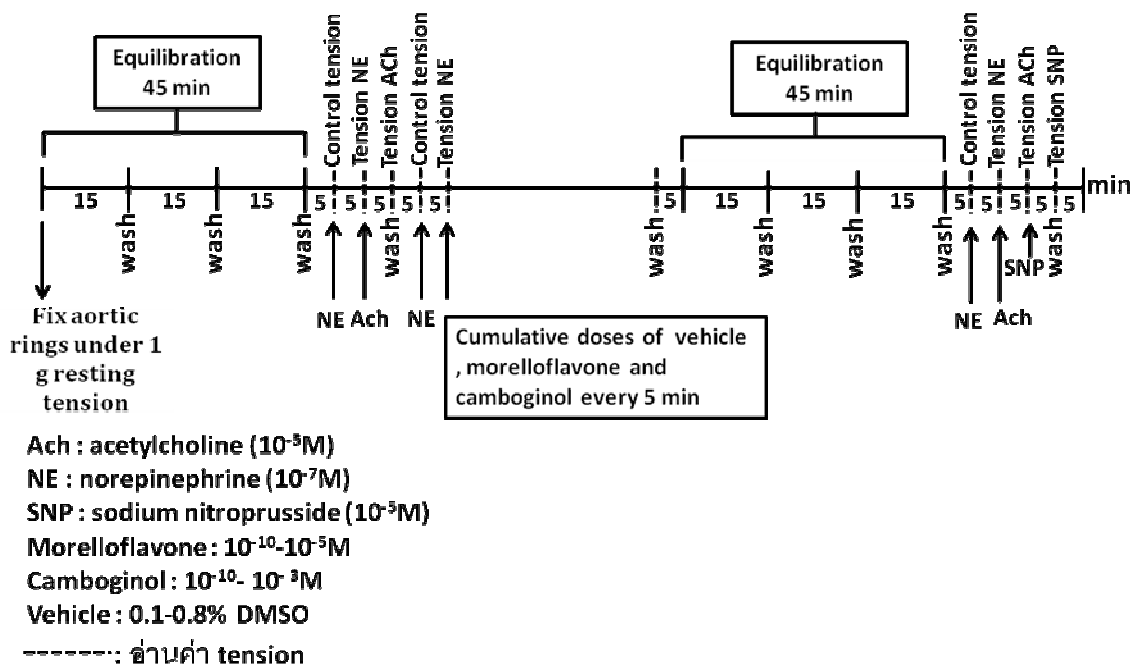
1. การศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของ morelloflavone และ camboginol อาศัยการทำงานของ endothelium หรือไม่ กลุ่มนี้ใช้ denuded aortic ring

2. การศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของ morelloflavone และ camboginol อาศัยการทำงานของ NO โดยให้ L-NOARG (10^{-6} M) ซึ่งเป็นตัวยับยั้งการทำงานของ nitric oxide synthase (NOS) ก่อนหยด morelloflavone และ camboginol

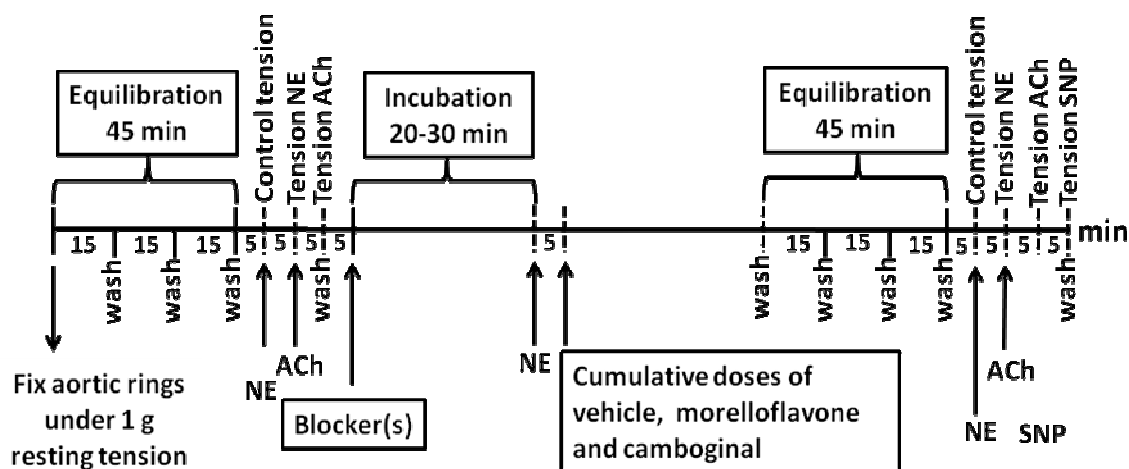
3. การศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของ morelloflavone และ camboginol อาศัยการสร้าง PGI_2 โดยให้ indomethacin (10^{-5} M) ซึ่งเป็นตัวยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ cyclooxygenase ก่อนหยด morelloflavone และ camboginol

4. การศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของ morelloflavone และ camboginol อาศัยการเปิดของ K^+_{ATP} channel ที่กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด โดยให้ glibenclamide (10^{-5} M) ซึ่งเป็นตัวยับยั้งการเปิดของ K^+_{ATP} channel ก่อนหยด morelloflavone และ camboginol

5. การศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของ morelloflavone และ camboginol อาศัยการเปิดของ K^+_{Ca} channel ที่กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด โดยให้ TEA ($10^{-3}M$) ซึ่งเป็นตัวขยับยั้งการเปิดของ K^+_{Ca} channel ก่อนหยด morelloflavone และ camboginol



รูปที่ 2.2 แผนการศึกษาการออกฤทธิ์ของ morelloflavone และ camboginol ในหลอดเลือดแดง thoracic



Blockers

- N^G -nitro-L-arginine (L-NOARG, $10^{-6}M$)
- Indomethacin ($10^{-5}M$)
- Glibenclamide ($10^{-5}M$)
- Tetraethylammonium chloride (TEA, $10^{-3} M$)
- ----- : อ่านค่า tension

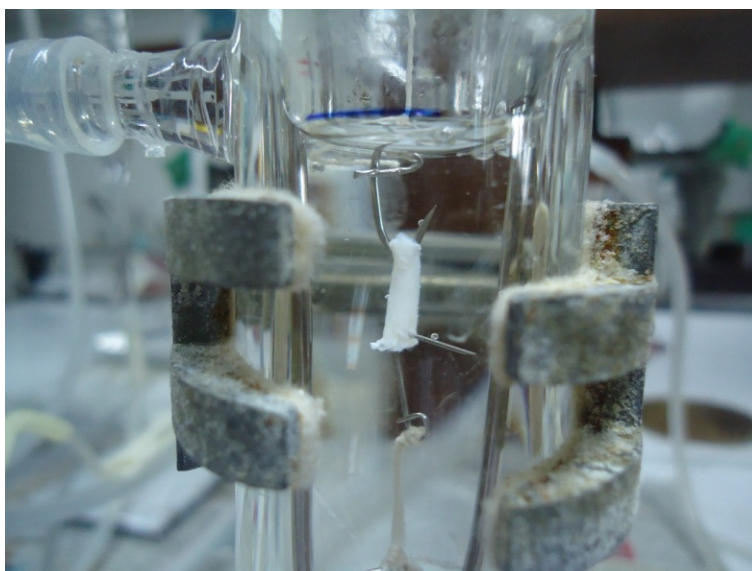
รูปที่ 2.3 แผนการศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของ morelloflavone และ camboginol ในหลอดเลือดแดง thoracic

2.5.2 การศึกษาใน corpus cavernosum

1. การเตรียม corpus cavernosum

นำหนูมาทำให้สลบและเสียชีวิตด้วยวิธีเดียวกับข้อ 1 ในการเตรียมหลอดเลือดแดง thoracic จากนั้นผ่าท้องช่วงล่าง ทำการตัดแยก penis ที่มี corpus cavernosum ออกมาแช่ใน Krebs Henseleit solution ที่อุณหภูมิ $4^{\circ}C$ ใน petri dish ที่มี Krebs Henseleit solution และ carbogen gas ($95\% O_2/5\% CO_2$) ผ่านตลอดเวลา จากนั้นแยกท่อปัสสาวะ หลอดเลือดดำและเนื้อเยื่อเกี่ยวพันออกจาก corpus cavernosum ตัด corpus cavernosum ให้ได้ขนาดประมาณ $2 \times 2 \times 15$ mm จำนวน 2 ชิ้น แล้วนำไปแขวนตามความยาวของชิ้นเนื้อเยื่อใน organ bath ที่มีสารละลาย Krebs Henseleit ที่ $37^{\circ}C$ โดยให้ carbogen gas ($95\% O_2/5\% CO_2$) ผ่านตลอดเวลา corpus cavernosum ที่แขวนจะเกี่ยวกับตะขอยึดไว้กับแท่งเหล็กรูปตัว L โดยตะขออันล่างจะยึดติดกับ organ bath ส่วนตะขออันบนต่อกับ force transducer ที่ต่อกับ bridge Amplifier บันทึกผลการทดลองโดยใช้โปรแกรม chart version 7 บน MacLab ปรับให้ corpus cavernosum มีความตึงขณะพักที่ 1 g และ equilibrate เนื้อเยื่อประมาณ 45 นาที โดยมีการเปลี่ยนสารละลาย Krebs Henseleit ใน organ bath ทุก ๆ 15 นาที รอจนแรงดึงตัว

คงที่ จึงหยด KCl ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายใน organ bath 124 mM (Paskaloglu et al., 2004) เพื่อช่วยกระตุ้นให้เกิดการหดตัว จากนั้นจึงเริ่มการทดลอง



รูปที่ 2.4 การแขวน corpus cavernosum ใน organ bath 20 mL

2. การเตรียมสารละลาย Krebs Henseleit

การเตรียมสารละลาย Krebs Henseleit ในการทดลองเพื่อศึกษาการหดและคลายตัวของ corpus cavernosum ประกอบด้วยสารต่าง ๆ โดยมีความเข้มข้นเป็น mM/L ดังนี้ KCl 4.7, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 1.2, KH_2PO_4 1.2, $NaHCO_3$ 25.0, $CaCl_2$ 2.5, D-glucose 11.1, NaCl 118.14 โดยนำสารที่ต้องการเตรียมมาชั่งน้ำหนักโดยคำนวณค่าความเข้มข้นที่ต้องการเป็น Molar (mole/L) จากสูตร $(M) = \frac{\text{น้ำหนักสาร (g)}}{\text{น้ำหนักของมวลโมเลกุล (MW)}}$ และละลายสารในน้ำกลั่น แล้วปรับ pH ให้เท่ากับ 7.4 ด้วย hydrochloric acid ที่ความเข้มข้น 2 N

3. แผนการทดลองใน isolated corpus cavernosum

3.1 การศึกษาขนาดของ PE เพื่อชักนำให้เกิดการหดตัวของ corpus cavernosum (precontraction)

หลังจากที่เตรียม corpus cavernosum ใน organ bath ให้มีแรงดึงตัวคงที่ จากนั้นหยด stock solution ของ PE จำนวน 6 ขนาด ระหว่าง 10^{-5} -1 M ที่ขนาดตามลำดับ แต่ละขนาดหยดครั้งละ 20 μ l ซึ่งทำให้ได้ความเข้มข้นใน organ bath เท่ากับ 10^{-8} - 10^{-3} M ตามลำดับ ความเข้มข้น

ของ PE ที่เลือกใช้ในการทดสอบต่อไป คือความเข้มข้นที่ทำให้ corpus cavernosum หดตัวได้ประมาณ 80% ของค่า maximal tension

3.2 การศึกษาขนาดของ ACh ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum

หลังจากที่เตรียม corpus cavernosum ใน organ bath ให้มีแรงดึงตัวคงที่ ทำให้ corpus cavernosum หดตัวก่อนด้วย PE ที่ความเข้มข้นที่ได้จากข้อ 3.1 จากนั้นหยด stock solution ของ ACh จำนวน 6 ขนาด ระหว่าง 10^{-5} - 1 M ตามลำดับ แต่ละขนาดหยดครั้งละ 20 μ l ซึ่งทำให้ได้ความเข้มข้นใน organ bath เท่ากับ 10^{-8} - 10^{-3} M ตามลำดับ ความเข้มข้นของ ACh ที่เลือกใช้ในการทดสอบการคลายตัวของ corpus cavernosum คือ ความเข้มข้นที่ต่ำสุด ที่ทำให้ corpus cavernosum คลายตัวได้มากที่สุด

3.3 การศึกษาขนาดของ sildenafil citrate ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum

หลังจากที่เตรียม corpus cavernosum ใน organ bath ให้มีแรงดึงตัวคงที่ ทำให้ corpus cavernosum หดตัวก่อนด้วย PE ที่ความเข้มข้นที่ได้จากข้อ 3.1 จากนั้นหยด stock solution ของ sildenafil citrate จำนวน 7 ขนาด ระหว่าง 10^{-7} - 1 M ตามลำดับ แต่ละขนาดหยดครั้งละ 20 μ l ซึ่งทำให้ได้ความเข้มข้นใน organ bath เท่ากับ 10^{-10} - 10^{-3} M ตามลำดับ ความเข้มข้นของ sildenafil citrate ที่เลือกใช้ในการทดสอบการคลายตัวของ corpus cavernosum คือ ความเข้มข้นที่ต่ำสุด ที่ทำให้ corpus cavernosum คลายตัวได้มากที่สุด เพื่อใช้เป็นค่าเปรียบเทียบการออกฤทธิ์ของ morelloflavone และ camboginol

3.4 การศึกษาฤทธิ์ของ morelloflavone และ camboginol ใน corpus cavernosum

การศึกษาฤทธิ์ของ morelloflavone และ camboginol หลังจากแขวนเนื้อเยื่อและปรับให้มีความตึงขณะพักที่ 1 g จากนั้นรอให้เส้นบันทึกคั่งที่และบันทึกค่า control tension เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นหยด PE ความเข้มข้นที่ได้จากข้อ 3.1 บันทึก 5 นาที จากนั้นหยด stock solution ของ morelloflavone และ camboginol จำนวน 6 ขนาด ให้ได้ความเข้มข้นใน organ bath เท่ากับ 10^{-10} - 10^{-5} M ตามลำดับ เป็นการให้สารแบบ cumulative บันทึก tension ตลอดเวลาการทดลองและอ่านค่าทุก ๆ 5 นาที จากนั้นล้างออกด้วย Krebs Henseleit solution รอให้เส้นบันทึกคั่งที่ จากนั้นบันทึกค่า control tension อีกครั้ง

3.5 การศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของ morelloflavone และ camboginol

ใน corpus cavernosum

การศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของ morelloflavone และ camboginol โดยใช้ L-NOARG ซึ่งเป็นตัวยับยั้งการทำงานของ nitric oxide synthase (NOS) และ sildenafil citrate ซึ่งเป็นตัวยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ phosphodiesterase type 5 (PDE5) โดย incubate กล้ามเนื้อเรียบ corpus cavernosum ด้วย blocker แต่ละชนิดประมาณ 30 นาที จากนั้นหยด morelloflavone และ camboginol บันทึก tension ตลอดเวลาการทดลองและอ่านค่าทุก ๆ 5 นาที

4. การออกแบบการทดลองใน corpus cavernosum

การทดลองแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มหลัก แต่ละกลุ่มใช้สัตว์ทดลองกลุ่มละ 6 ตัว

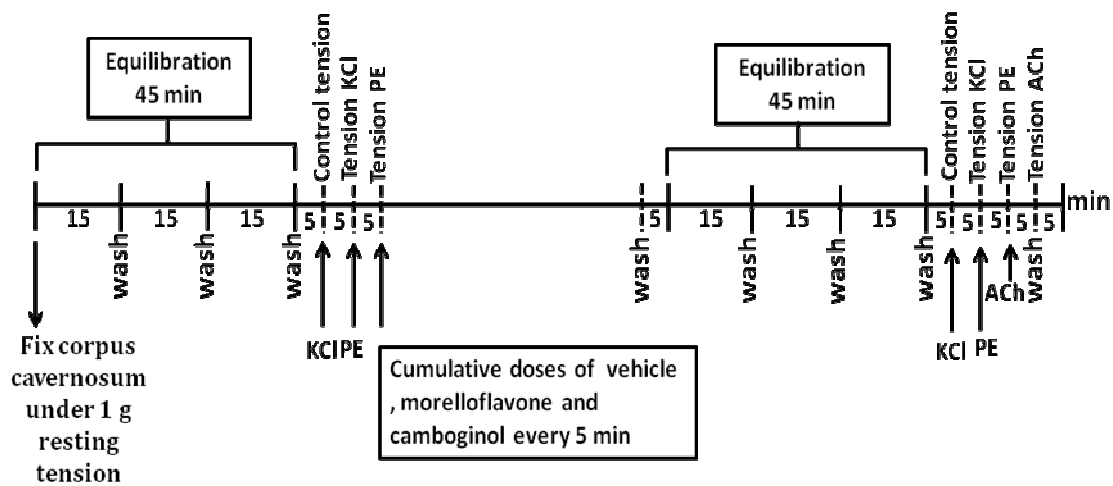
4.1 กลุ่มควบคุม (vehicle) เป็นกลุ่มที่ได้รับ DMSO ซึ่งเป็นตัวทำละลายของ morelloflavone และ camboginol หยดครั้งละ 20 μ l จำนวน 6 ครั้ง การให้สารแบบ cumulative

4.2 การศึกษาการออกฤทธิ์ของ morelloflavone และ camboginol โดยให้ความเข้มข้นใน organ bath เท่ากับ 10^{-10} - 10^{-5} M ตามลำดับ การให้สารแบบ cumulative

4.3 การศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของ morelloflavone และ camboginol ต่อการทำงานของ corpus cavernosum แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มย่อย แต่ละกลุ่มใช้สัตว์ทดลองกลุ่มละ 6 ตัว

1. การศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของ morelloflavone และ camboginol ผ่านการทำงานของ NO โดยให้ L-NOARG (10^{-6} M) ซึ่งเป็นตัวยับยั้งการทำงานของ nitric oxide synthase (NOS) ก่อนหยด morelloflavone และ camboginol

2. การศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของ morelloflavone และ camboginol ผ่านการทำงานของ PDE5 โดยให้ sildenafil citrate (10^{-5} M) ซึ่งยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ PDE5 ก่อนหยด morelloflavone และ camboginol



ACh : acetylcholine ($10^{-3}M$)

KCl : 124 mM

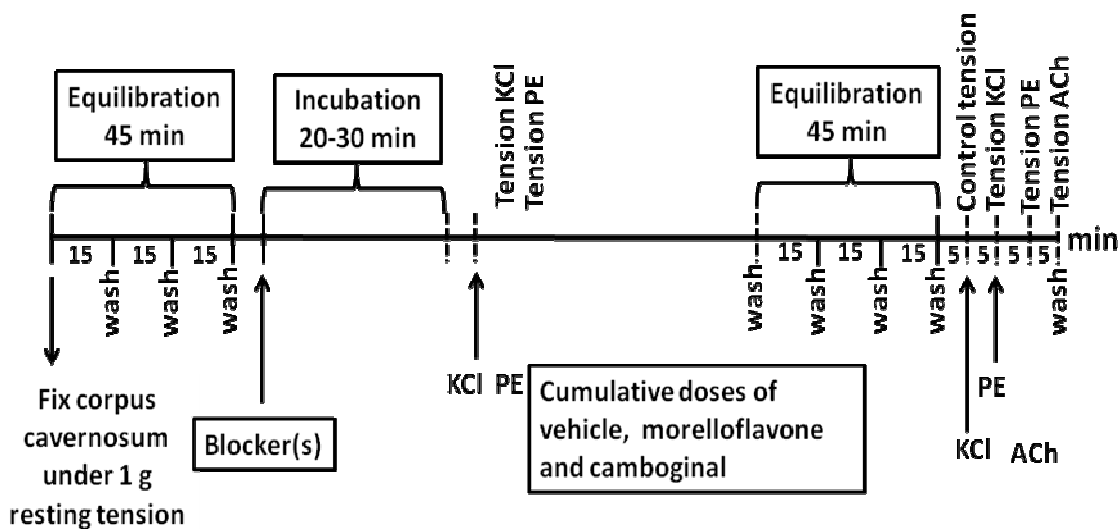
PE : phenylephrine ($10^{-5}M$)

Morelloflavone and camboginol : 10^{-10} - $10^{-5}M$

Vehicle : 0.1-0.8%DMSO

----- : อ่านค่า tension

รูปที่ 2.5 แผนการศึกษาการออกฤทธิ์ของ morelloflavone และ camboginol ใน corpus cavernosum



Blockers

- *N*^G-nitro-L-arginine (L-NOARG, 10⁻⁶M) ; a nitric oxide synthase inhibitor
- Sildenafil citrate (10⁻⁵ M) ; a phosphodiesterase type 5 inhibitor
- ----- ; ค่า resting tension

รูปที่ 2.6 แผนการศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของ morelloflavone และ camboginol ใน corpus cavernosum

2.6 การคำนวณ

2.6.1 วิธีการคำนวณค่า % increase from control tension และ % relaxation from precontraction ที่ได้จากการทดลองในหลอดเลือดแดง thoracic และ corpus cavernosum โดยใช้สูตร

$$\% \text{ increase from control tension} = \frac{T_{NE, PE} - T_C}{T_C} \times 100$$

$$\% \text{ relaxation from precontraction} = 100 - (\% \text{ of maximum contraction to NE})$$

โดย $T_{NE, PE}$ คือค่า tension ที่เกิดจากการหยด 10⁻⁷M NE หรือ 10⁻⁵ M PE

$T_{M, C}$ คือค่า tension ที่เกิดจากการหยด morelloflavone และ camboginol

T_C คือค่าของ control tension (resting tension)

2.6.2 วิธีการหาค่า 50% effective concentration (EC_{50})

นำค่าความเข้มข้นของ morelloflavone หรือ camboginol และค่าเปอร์เซ็นต์การคลายตัวจากการทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE หรือ 10^{-5} M PE ของหนูแต่ละตัวมาสร้างกราฟความสัมพันธ์โดยกำหนดให้แกน X เป็นความเข้มข้นของ morelloflavone หรือ camboginol แกน Y เป็นค่าเปอร์เซ็นต์การคลายตัวของ thoracic aortic ring หรือ corpus cavernosum จากค่าที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย NE หรือ PE ตามลำดับ plot ค่าเปอร์เซ็นต์การคลายตัวของ thoracic aortic ring หรือ corpus cavernosum ของหนูแต่ละตัว หาค่า EC_{50} จากกราฟนี้ โดยลากเส้นขนานกับแกน X ตรงจุดที่แกน Y มีค่าเปอร์เซ็นต์การคลายตัวของ thoracic aortic ring หรือ corpus cavernosum เท่ากับ 50% จากจุดตัดลากเส้นตั้งฉากลงมาตัดแกน X ก็จะได้ค่า EC_{50} ของหนูแต่ละตัว จากนั้นนำมาหาค่าเฉลี่ยของ EC_{50} ของหนูแต่ละกลุ่ม ข้อมูลที่แสดงนำเสนอเป็นค่าเฉลี่ยของ EC_{50} ของหนูแต่ละกลุ่ม ข้อมูลที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ยและค่าผิดพลาดเฉลี่ยมาตรฐาน ($\text{mean} \pm \text{S.E.M}$)

2.7 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลจากการทดลองในแต่ละกลุ่มจะเป็นค่าเฉลี่ยของจำนวนหนูแต่ละกลุ่ม ซึ่งหนูแต่ละตัวในกลุ่มจะมีผลการทดลองเป็นค่าเฉลี่ยจากผลการทดลองใน aortic ring 4 ชิ้น หรือ corpus cavernosum 2 ชิ้น จะนำเสนอเป็นค่าเฉลี่ยและค่าผิดพลาดเฉลี่ยมาตรฐาน ($\text{mean} \pm \text{S.E.M}$) วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มโดย t-test และ one-way analysis of variance (ANOVA) ตามด้วย Student-Newman Keul post hoc test วิเคราะห์แตกต่างของตัวแปรในกลุ่มเดียวกันใช้ one-way repeated measure ANOVA และ Student-Newman Keul post hoc test โดยยอมรับความแตกต่างที่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อ P value < 0.05

บทที่ 3 ผลการทดลอง

3.1 การศึกษาผลของ norepinephrine (NE) และ acetylcholine (ACh) ต่อการหดตัวและการคลายตัวของ thoracic aortic ring

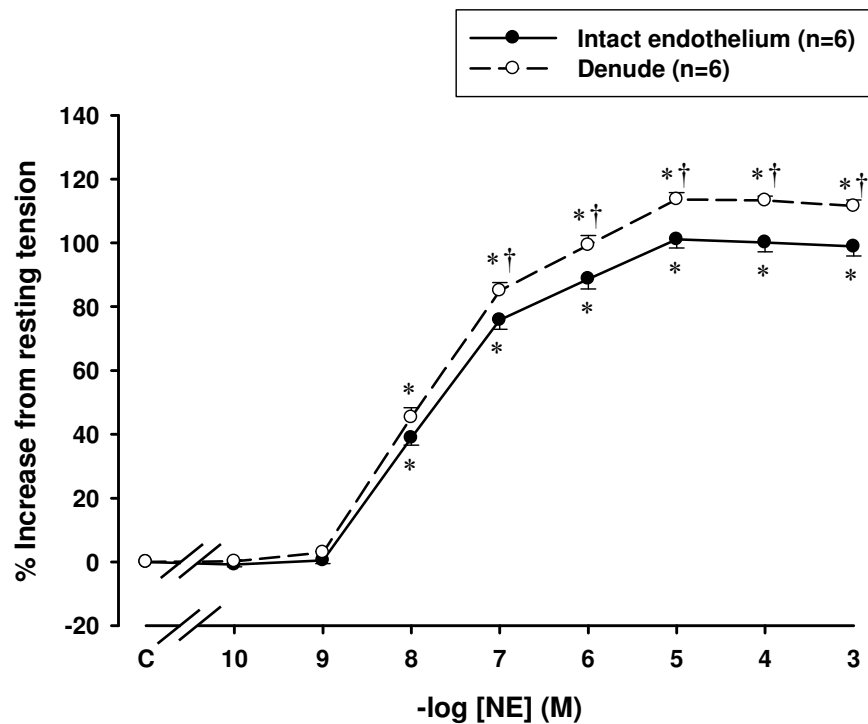
1. การตอบสนองของ NE ต่อ aortic ring

ผลของ NE ขนาดต่าง ๆ ต่อการหดตัวของ aortic ring แสดงในรูปที่ 3.1 และ ตารางที่ 1 ในภาคผนวก จากการทดลองเมื่อให้ NE จำนวน 8 ขนาด ที่ทำให้ความเข้มข้น ใน organ bath แต่ละขนาดมีความเข้มข้นแตกต่างกัน 10 เท่า ระหว่าง 10^{-10} - 10^{-3} M พบว่า aortic ring มีการหดตัวเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับค่า control อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ตั้งแต่ความเข้มข้น 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} และ 10^{-3} M ดังนี้ 38.86 ± 2.91 , 75.82 ± 2.18 , $88.71 \pm 3.15\%$, $101.08 \pm 2.68\%$, $100.16 \pm 2.98\%$ และ $98.88 \pm 2.99\%$ ตามลำดับ

ผลของ NE ขนาดต่าง ๆ ต่อการหดตัวของ denude ring แสดงในรูปที่ 3.1 และ ตารางที่ 1 ในภาคผนวก จากการทดลองเมื่อให้ NE จำนวน 8 ขนาด ที่ทำให้ความเข้มข้น ใน organ bath แต่ละขนาดมีความเข้มข้นแตกต่างกัน 10 เท่า ระหว่าง 10^{-10} - 10^{-3} M พบว่า aortic ring มีการหดตัวเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับค่า control อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ตั้งแต่ความเข้มข้น 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} และ 10^{-3} M ดังนี้ 45.26 ± 3.10 , $85.03 \pm 2.53\%$, $99.28 \pm 2.14\%$, $113.67 \pm 2.38\%$, $113.29 \pm 1.34\%$ และ $111.51 \pm 1.91\%$ ตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบการหดตัวของ aortic ring ที่ได้รับ NE ที่ความเข้มข้นเดียวกัน ระหว่างกลุ่ม intact endothelium และกลุ่ม denude พบว่า aortic ring กลุ่ม denude มีการหดตัวมากกว่ากลุ่ม intact endothelium อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ตั้งแต่ความเข้มข้น 10^{-7} - 10^{-3} M

ดังนั้น การศึกษาผลของ morelloflavone และ camboginol ต่อการคลายตัวของ thoracic aortic ring เลือกใช้ NE ที่ความเข้มข้น 10^{-7} M ซึ่งทำให้ aortic ring หดตัวประมาณ 70% ของค่า maximal tension (Gonzales et al., 2000)



รูปที่ 3.1 แสดงผลของ norepinephrine (NE) ความเข้มข้นระหว่าง 10^{-10} - 10^{-3} M ต่อการหดตัวของ aortic ring ที่แสดงโดยค่า % increase from resting tension

ค่าที่แสดงคือ mean \pm S.E.M. (n=6)

* $P < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับค่า control ของกลุ่มเดียวกัน (one way repeated ANOVA)

† $P < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม intact endothelium (unpaired t-test)

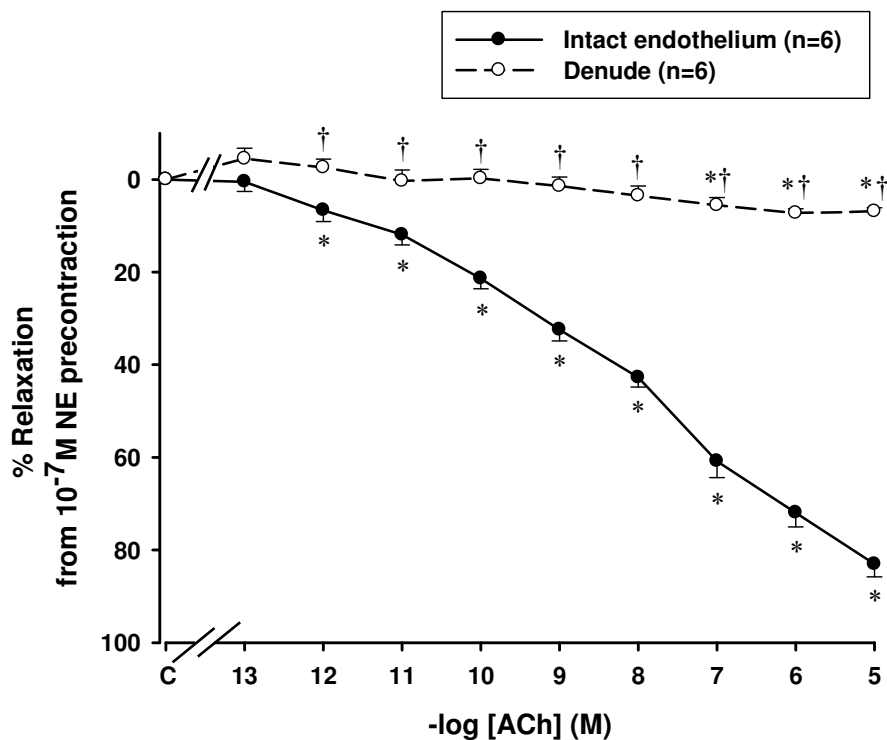
2. การตอบสนองของ ACh ต่อ aortic ring ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE

ผลของ ACh ขนาดต่าง ๆ ต่อการคลายตัวของ aortic ring ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE ในกลุ่ม intact endothelium แสดงในรูปที่ 3.2 และตารางที่ 2 ในภาคผนวก จากการทดลองเมื่อให้ aortic ring ได้รับ ACh จำนวน 9 ขนาด ที่ทำให้ความเข้มข้น ใน organ bath แต่ละขนาดมีความเข้มข้นแตกต่างกัน 10 เท่า ระหว่าง 10^{-13} - 10^{-5} M พบว่า aortic ring กลุ่ม intact endothelium มีการคลายตัวอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับค่า control ตั้งแต่ความเข้มข้น 10^{-12} , 10^{-11} , 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} และ 10^{-5} M ดังนี้ $6.65 \pm 2.47\%$, $11.94 \pm 2.18\%$, $21.38 \pm 2.21\%$, $32.41 \pm 2.45\%$, $42.74 \pm 2.05\%$, $60.79 \pm 3.55\%$, $71.91 \pm 3.12\%$ และ $83.03 \pm 2.69\%$ ตามลำดับ

ผลของ ACh ต่อการคลายตัวของ aortic ring ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE ในกลุ่ม denude แสดงในรูปที่ 3.2 และตารางที่ 2 ในภาคผนวก จากการทดลองเมื่อ aortic ring ได้รับ ACh จำนวน 9 ขนาด ที่ทำให้ความเข้มข้น ใน organ bath แต่ละขนาดมีความเข้มข้นแตกต่างกัน 10 เท่า ระหว่าง 10^{-13} - 10^{-5} M พบว่า aortic ring กลุ่ม denude มีการคลายตัวอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับค่า control ตั้งแต่ความเข้มข้น 10^{-7} , 10^{-6} และ 10^{-5} M ดังนี้ $5.58 \pm 1.68\%$, $7.26 \pm 0.94\%$ และ $6.91 \pm 0.79\%$ ตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบการคลายตัวของ aortic ring ที่ได้รับ ACh ที่ความเข้มข้นเดียวกัน ระหว่างกลุ่ม intact endothelium และกลุ่ม denude พบว่า aortic ring กลุ่ม denude มีการคลายตัวน้อยกว่ากลุ่ม intact endothelium อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ตั้งแต่ความเข้มข้น 10^{-12} - 10^{-5} M

จากการทดลอง จึงเลือกใช้ ACh ที่ความเข้มข้น 10^{-5} M ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ทำให้ aortic ring คลายตัวประมาณ 80% จากค่า control ซึ่ง ACh จะนำไปทดสอบการคลายตัวของ aortic ring ก่อนและหลังการทดลอง



รูปที่ 3.2 แสดงผลของ acetylcholine (ACh) ต่อการคลายตัวของ aortic ring ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE ที่แสดงโดยค่า % relaxation from 10^{-7} M NE precontraction

ค่าที่แสดงคือ mean \pm S.E.M. (n=6)

* $P < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับค่า control ของกลุ่มเดียวกัน (one way repeated ANOVA)

† $P < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม intact endothelium (unpaired t-test)

3.2 ผลของ vehicle ต่อการคลายตัวของ aortic ring ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE

ผลของ vehicle ต่อการคลายตัวของ aortic ring ที่มี endothelium ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE แสดงในรูปที่ 3.3 และตารางที่ 3 (ก) ในภาคผนวก ผลการทดลองแสดงในค่า % relaxation เมื่อให้ vehicle ขนาดเดียวกับข้อ 6.1 (6) ในการออกแบบการทดลองใน thoracic aortic ring พบว่า aortic ring ที่ได้รับ vehicle ขนาด 0.4, 0.5, 0.6, 0.7 และ 0.8% ตามลำดับ มีการคลายตัว ดังนี้ $1.36 \pm 0.69\%$, $2.89 \pm 1.36\%$, $3.68 \pm 1.49\%$, $6.75 \pm 1.19\%$ และ $7.74 \pm 3.00\%$ ตามลำดับ แต่เมื่อเปรียบเทียบกับค่า control พบว่าทุกความเข้มข้นไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

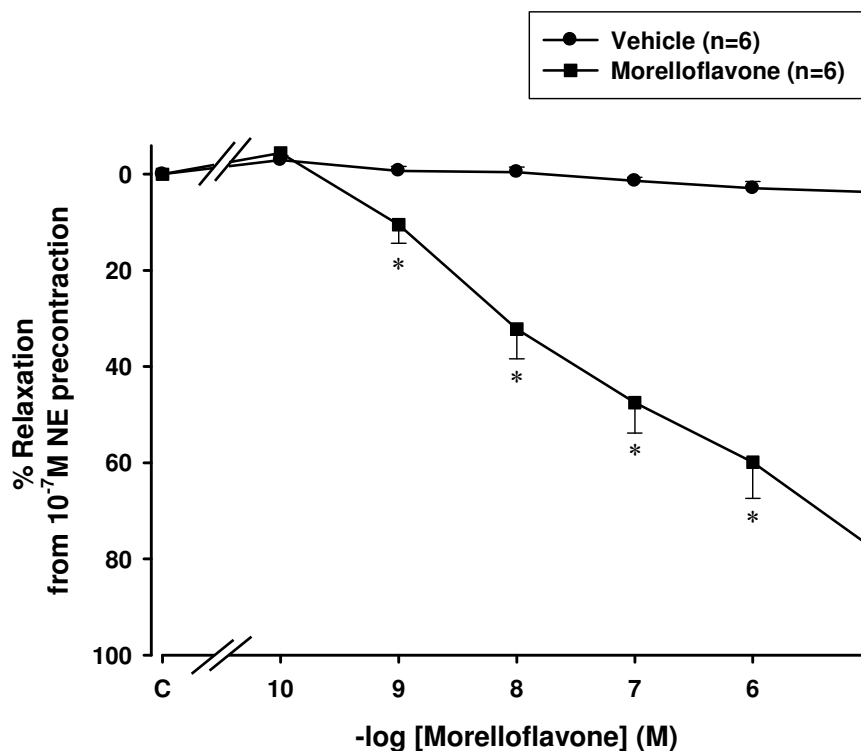
ผลของ vehicle ต่อการคลายตัวของ aortic ring ที่ไม่มี endothelium ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE แสดงในรูปที่ 3.4 และตารางที่ 3 (ข) ในภาคผนวก ผลการทดลองแสดงในค่า % relaxation เมื่อให้ vehicle ขนาดเดียวกับข้อ 6.1 (6) ในวิธีการทดลอง พบว่า aortic ring ที่ได้รับ vehicle ขนาด 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7 และ 0.8% มีการคลายตัว ดังนี้ $0.82 \pm 1.74\%$, $3.01 \pm 1.96\%$, $6.74 \pm 2.61\%$, $6.89 \pm 2.28\%$, $6.30 \pm 2.36\%$, $6.59 \pm 1.87\%$ และ $6.60 \pm 2.26\%$ ตามลำดับ แต่เมื่อเปรียบเทียบกับค่า control พบว่า ทุกขนาดไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

3.3 การศึกษาฤทธิ์ของ morelloflavone ต่อคลายตัวของ aortic ring ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE

1. ผลของ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ aortic ring ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE

ผลของ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ aortic ring ที่มี endothelium ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE แสดงในรูปที่ 3.3 และตารางที่ 3 (ก) ในภาคผนวก ผลการทดลองแสดงในค่า % relaxation เมื่อให้ morelloflavone จำนวน 6 ขนาด ที่ทำให้ความเข้มข้น ใน organ bath แต่ละขนาดมีความเข้มข้นแตกต่างกัน 10 เท่า ระหว่าง 10^{-10} - 10^{-5} M พบว่า aortic ring ที่ได้รับ morelloflavone ตั้งแต่ความเข้มข้น 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} และ 10^{-5} M aortic ring มีการคลายตัวเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม vehicle อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ดังนี้ $10.47 \pm 3.86\%$, $32.19 \pm 6.20\%$, $47.50 \pm 6.33\%$, $59.90 \pm 7.48\%$ และ $77.49 \pm 5.38\%$ ตามลำดับ โดยมีค่า maximal relaxation, E_{max} (%) เท่ากับ $77.49 \pm 5.38\%$

จากการหาค่า 50% effective concentration (EC_{50}) ของ morelloflavone พบว่าเท่ากับ $0.25 \pm 0.17 \mu\text{M}$ ดังแสดงในตารางที่ 3.2



รูปที่ 3.3 แสดงผลของ vehicle และ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ aortic ring ที่มี endothelium ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE แสดงโดยค่า % relaxation from 10^{-7} M NE precontraction

ค่าที่แสดงคือ mean \pm S.E.M. (n=6)

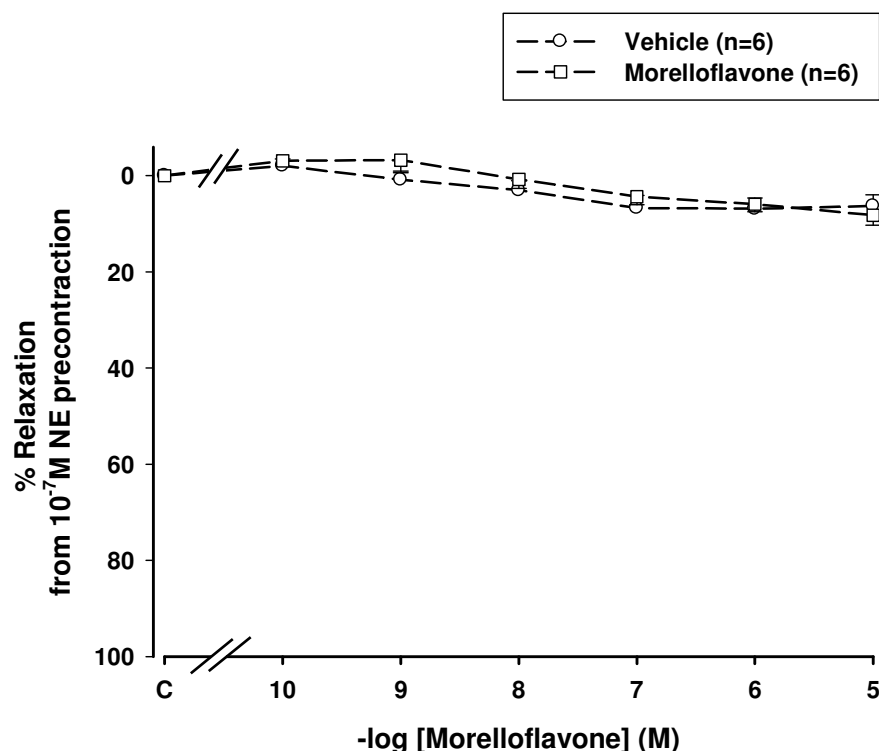
*P < 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม vehicle (unpaired t-test)

3.4 การศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ aortic ring ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE

1. การศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ aortic ring ที่ไม่มี endothelium (denude) ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE

ผลของ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ aortic ring ที่ทำลาย endothelium ซึ่งทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE แสดงในรูปที่ 3.4 และตารางที่ 3 (ข) ในภาคผนวก ผลการทดลองแสดงในค่า % relaxation เมื่อให้ morelloflavone จำนวน 6 ขนาด ที่ทำให้ความเข้มข้นใน organ bath แต่ละขนาดมีความเข้มข้นแตกต่างกัน 10 เท่า ระหว่าง 10^{-10} - 10^{-5} M พบว่า aortic ring ที่ได้รับ morelloflavone ตั้งแต่ความเข้มข้น 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} และ 10^{-5} M มีการคลายตัวไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม vehicle ดังนี้ $0.77 \pm 1.89\%$, $4.37 \pm 1.64\%$, $5.92 \pm 1.60\%$ และ $8.23 \pm 2.03\%$ ตามลำดับ โดยมีค่า E_{max} เท่ากับ $8.23 \pm 2.03\%$

เมื่อเปรียบเทียบกับค่า E_{\max} ในกลุ่ม intact endothelium ($E_{\max} = 77.49 \pm 5.38\%$) พบว่าค่า E_{\max} ในกลุ่ม denuded ($E_{\max} = 8.23 \pm 2.03\%$) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 3.1



รูปที่ 3.4 แสดงผลของ vehicle และ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ aortic ring ที่ไม่มี endothelium (denude) ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE แสดงโดยค่า % relaxation from 10^{-7} M NE precontraction ค่าที่แสดงคือ mean \pm S.E.M. (n=6)

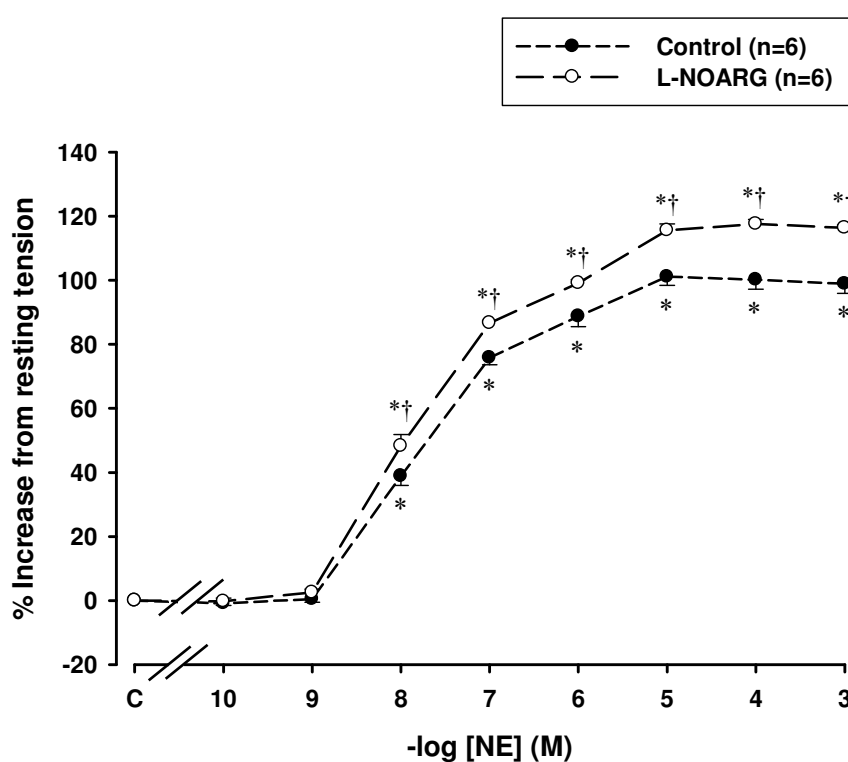
2. การศึกษาผลของการออกฤทธิ์ของ morelloflavone ในขณะที่ให้ N^G -nitro-L-arginine (L-NOARG 10^{-6} M) ต่อการคลายตัวของ aortic ring ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE

2.1 การศึกษาการตอบสนองของ aortic ring ต่อ NE (10^{-10} - 10^{-3} M) ในขณะที่ให้ L-NOARG (10^{-6} M)

ผลของ NE (10^{-10} - 10^{-3} M) ขนาดต่าง ๆ ต่อการหดตัวของ aortic ring ในกลุ่ม control แสดงในรูปที่ 3.5 และตารางที่ 4 ในภาคผนวก จากการทดลองเมื่อให้ NE จำนวน 8 ขนาด ที่ทำให้ความเข้มข้น ใน organ bath แต่ละขนาดมีความเข้มข้นแตกต่างกัน 10 เท่า ระหว่าง 10^{-10} - 10^{-3} M พบว่า aortic ring มีการหดตัวเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับค่า control อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ตั้งแต่ความเข้มข้น 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} และ 10^{-3} M ดังนี้ $38.86 \pm 2.91\%$, $75.82 \pm 2.18\%$,

88.71 ± 3.15%, 101.08 ± 2.68%, 100.16 ± 2.98% และ 98.88 ± 2.99% ตามลำดับ

ผลของ NE (10^{-10} - 10^{-3} M) ขนาดต่าง ๆ ต่อการหดตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้ L-NOARG (10^{-6} M) แสดงในรูปที่ 3.5 และตารางที่ 4 ในภาคผนวก จากการทดลองเมื่อให้ NE จำนวน 8 ขนาด ที่ทำให้ความเข้มข้น ใน organ bath แต่ละขนาดมีความเข้มข้นแตกต่างกัน 10 เท่า ระหว่าง 10^{-10} - 10^{-3} M พบว่า aortic ring มีการหดตัวเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม control อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ตั้งแต่ความเข้มข้น 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} และ 10^{-3} M ดังนี้ 48.24 ± 3.63%, 86.63 ± 0.88%, 99.09 ± 1.16%, 115.55 ± 2.06%, 117.57 ± 1.44% และ 116.38 ± 0.90% ตามลำดับ



รูปที่ 3.5 แสดงผลของ NE (10^{-10} - 10^{-3} M) ต่อการหดตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้และไม่ให้ L-NOARG

(10^{-6} M) แสดงโดยค่า % increase from resting tension

ค่าที่ แสดงคือ mean ± S.E.M. (n=6)

* $P < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับค่า control ของกลุ่มเดียวกัน (one way repeated ANOVA)

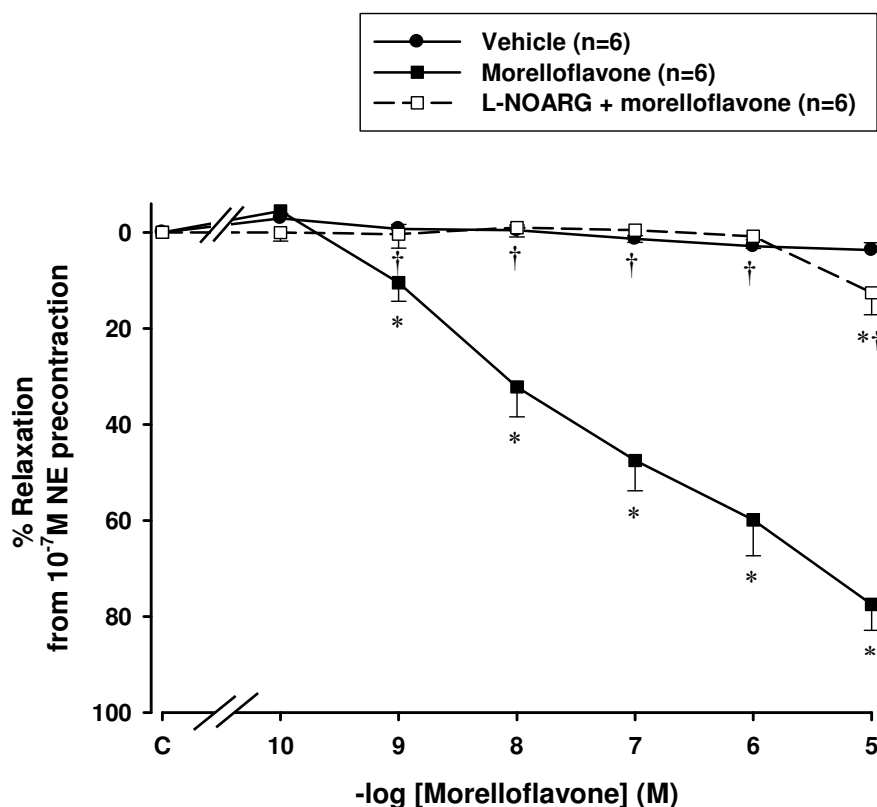
† $P < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม control (unpaired t-test)

2.2 ผลของ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้ L-NOARG (10^{-6} M) ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE

ผลของ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้ L-NOARG (10^{-6} M) แสดงในรูปที่ 3.6 และตารางที่ 5 ในภาคผนวก ผลการทดลองแสดงในค่า % relaxation เมื่อให้ morelloflavone จำนวน 6 ขนาด ที่ทำให้ความเข้มข้น ใน organ bath แต่ละขนาดมีความเข้มข้นแตกต่างกัน 10 เท่า ระหว่าง 10^{-10} - 10^{-5} M พบว่า aortic ring ที่ได้รับ L-NOARG มีการคลายตัวลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ morelloflavone เพียงอย่างเดียว อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ดังนี้ ที่ความเข้มข้น 10^{-9} M, 10^{-8} M, 10^{-7} M, 10^{-6} M และ 10^{-5} M คลายตัวเท่ากับ $0.37 \pm 2.93\%$, $-0.98 \pm 1.92\%$, $-0.46 \pm 2.55\%$, $0.82 \pm 2.53\%$ และ $12.58 \pm 4.55\%$

เมื่อเปรียบเทียบค่า E_{max} ในกลุ่มที่ได้รับ morelloflavone เพียงอย่างเดียว ($E_{max} = 77.49 \pm 5.38\%$) กับกลุ่ม L-NOARG พบว่าค่า E_{max} ในกลุ่ม L-NOARG ($E_{max} = 12.58 \pm 4.55\%$) คลายตัวลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 3.1

จากการทดลอง aortic ring ในกลุ่มที่ได้รับ L-NOARG มีการคลายตัวน้อยจึงไม่สามารถหาค่า EC_{50} ได้



รูปที่ 3.6 แสดงผลของ vehicle, morelloflavone และ L-NOARG + morelloflavone ต่อการคลายตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้ L-NOARG (10^{-6} M) และทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE แสดงโดยค่า % relaxation from 10^{-7} M NE precontraction

ค่าที่ แสดงคือ mean \pm S.E.M. (n=6)

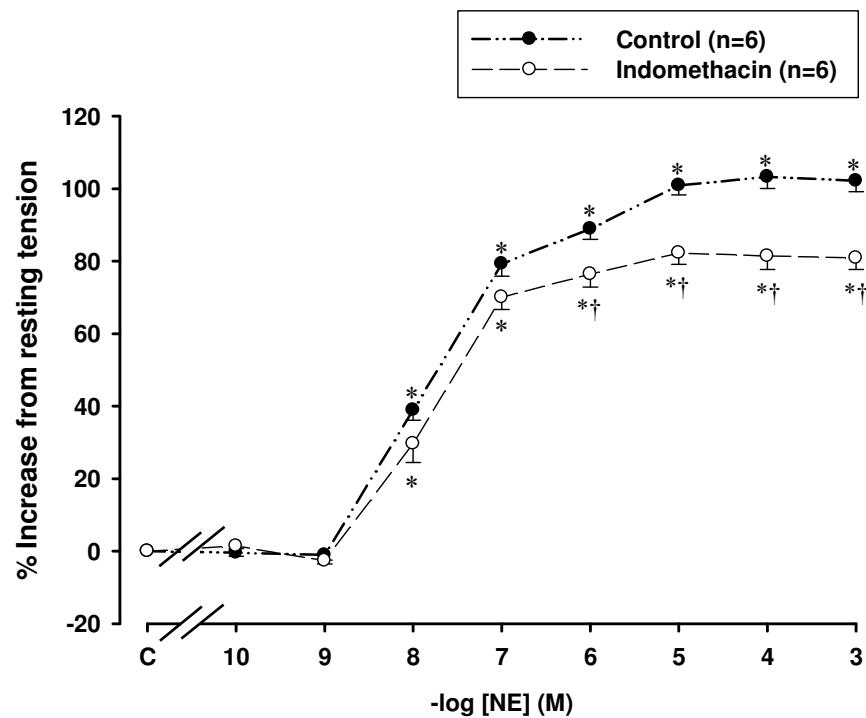
*, †P < 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม vehicle และกลุ่ม morelloflavone ตามลำดับ (one way ANOVA)

3. การศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของ morelloflavone ในขณะที่ให้ indomethacin (10^{-5} M) ต่อการคลายตัวของ aortic ring ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE

3.1 การศึกษาการตอบสนองของ aortic ring ต่อ NE (10^{-10} - 10^{-3} M) ในขณะที่ให้ indomethacin (10^{-5} M)

ผลของ NE (10^{-10} - 10^{-3} M) ขนาดต่าง ๆ ต่อการหดตัวของ aortic ring ในกลุ่ม control แสดงในรูปที่ 3.7 และตารางที่ 7 ในภาคผนวก จากการทดลองเมื่อให้ NE จำนวน 8 ขนาด ที่ทำให้ความเข้มข้น ใน organ bath แต่ละขนาดมีความเข้มข้นแตกต่างกัน 10 เท่า ระหว่าง 10^{-10} - 10^{-3} M พบว่า aortic ring มีการหดตัวเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับค่า control อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ตั้งแต่ความเข้มข้น 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} และ 10^{-3} M ดังนี้ $38.95 \pm 2.82\%$, $79.26 \pm 3.41\%$, $88.94 \pm 2.90\%$, $100.85 \pm 2.60\%$, $103.24 \pm 3.23\%$ และ $102.14 \pm 3.03\%$ ตามลำดับ

ผลของ NE (10^{-10} - 10^{-3} M) ขนาดต่าง ๆ ต่อการหดตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้ indomethacin (10^{-5} M) แสดงในรูปที่ 3.7 และตารางที่ 7 ในภาคผนวก จากการทดลองเมื่อให้ NE จำนวน 8 ขนาด ที่ทำให้ความเข้มข้น ใน organ bath แต่ละขนาดมีความเข้มข้นแตกต่างกัน 10 เท่า ระหว่าง 10^{-10} - 10^{-3} M พบว่า aortic ring มีการหดตัวลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม control อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ตั้งแต่ความเข้มข้น 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} และ 10^{-3} M ดังนี้ $76.38 \pm 3.50\%$, $82.26 \pm 3.17\%$, $81.40 \pm 3.68\%$ และ $80.87 \pm 3.18\%$ ตามลำดับ



รูปที่ 3.7 แสดงผลของ NE (10^{-10} - 10^{-3} M) ต่อการหดตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้และไม่ให้ indomethacin (10^{-5} M) แสดงโดยค่า % increase from resting tension

ค่าที่ แสดงคือ mean \pm S.E.M. (n=6)

* $P < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับค่า control ของกลุ่มเดียวกัน (one way repeated ANOVA)

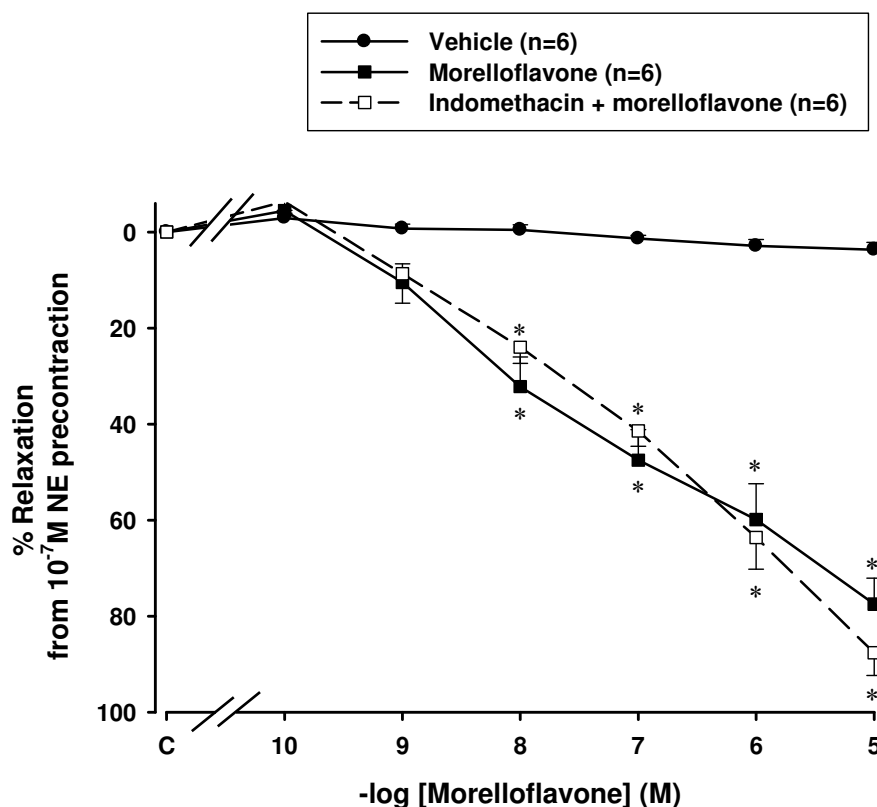
† $P < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม control (unpaired t-test)

3.2 ผลของ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้ indomethacin (10^{-5} M) ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE

ผลของ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้ indomethacin (10^{-5} M) ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE แสดงในรูปที่ 3.8 และตารางที่ 8 ในภาคผนวก ผลการทดลองแสดงในค่า % relaxation เมื่อให้ morelloflavone จำนวน 6 ขนาด ที่ทำให้ความเข้มข้นใน organ bath แต่ละขนาดมีความเข้มข้นแตกต่างกัน 10 เท่า ระหว่าง 10^{-10} - 10^{-5} M พบว่า aortic ring ที่ได้รับ indomethacin มีการคลายตัวไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ morelloflavone เพียงอย่างเดียว

เมื่อเปรียบเทียบค่า E_{max} ในกลุ่มที่ได้รับ morelloflavone เพียงอย่างเดียว ($E_{max} = 77.49 \pm 5.38\%$) กับกลุ่ม indomethacin ($E_{max} = 87.64 \pm 4.71\%$) พบว่าค่า E_{max} ทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในตารางที่ 3.1

จากการหาค่า EC_{50} ของกลุ่ม indomethacin พบว่าเท่ากับ $0.51 \pm 0.20 \mu\text{M}$ และเมื่อเปรียบเทียบค่า EC_{50} ระหว่างกลุ่มที่ได้รับ indomethacin กับกลุ่ม morelloflavone เพียงอย่างเดียว พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในตารางที่ 3.2



รูปที่ 3.8 แสดงผลของ vehicle, morelloflavone และ indomethacin + morelloflavone ต่อการคลายตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้ indomethacin ($10^{-5}M$) และทำให้หดตัวก่อนด้วย $10^{-7}M$ NE แสดงโดยค่า % relaxation from $10^{-7}M$ NE precontraction

ค่าที่ แสดงคือ mean \pm S.E.M. (n=6)

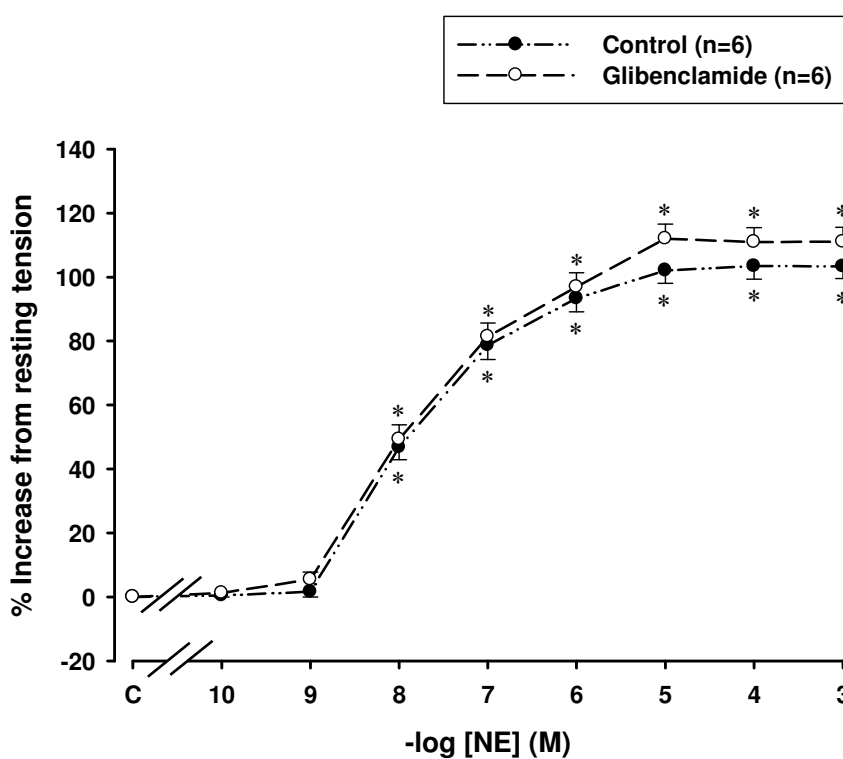
* $P < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม vehicle (one way ANOVA)

4. การศึกษาผลต่อการออกฤทธิ์ของ morelloflavone ในขณะที่ให้ glibenclamide ($10^{-5}M$) ต่อการคลายตัวของ aortic ring ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย $10^{-7}M$ NE

4.1 การศึกษาการตอบสนองของ aortic ring ต่อ NE (10^{-10} - $10^{-3}M$) ในขณะที่ให้ glibenclamide ($10^{-5}M$)

ผลของ NE (10^{-10} - $10^{-3}M$) ขนาดต่าง ๆ ต่อการหดตัวของ aortic ring ในกลุ่ม control แสดงในรูปที่ 3.9 และ ตารางที่ 10 ในภาคผนวก จากการทดลองเมื่อให้ NE จำนวน 10 ขนาด ที่ทำให้ความเข้มข้น ใน organ bath แต่ละขนาดมีความเข้มข้นแตกต่างกัน 10 เท่า ระหว่าง 10^{-10} - $10^{-3}M$ พบว่า aortic ring มีการหดตัวเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับค่า control อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ตั้งแต่ความเข้มข้น 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} และ $10^{-3}M$ ดังนี้ $46.77 \pm 3.87\%$, $78.68 \pm 4.43\%$, $93.40 \pm 4.21\%$, $102.08 \pm 4.00\%$, $103.46 \pm 4.12\%$ และ $103.36 \pm 3.75\%$ ตามลำดับ

ผลของ NE (10^{-10} - 10^{-3} M) ขนาดต่าง ๆ ต่อการหดตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้ glibenclamide (10^{-5} M) แสดงในรูปที่ 3.9 และ ตารางที่ 10 ในภาคผนวก จากการทดลองเมื่อให้ NE จำนวน 8 ขนาด ที่ทำให้ความเข้มข้น ใน organ bath แต่ละขนาดมีความเข้มข้นแตกต่างกัน 10 เท่า ระหว่าง 10^{-10} - 10^{-3} M พบว่า aortic ring มีการหดตัวเพิ่มขึ้น ดังนี้ $1.19 \pm 0.40\%$, $5.38 \pm 2.39\%$, $49.28 \pm 4.56\%$, $81.41 \pm 4.28\%$, $96.92 \pm 4.49\%$, $112.01 \pm 4.60\%$, $110.99 \pm 4.51\%$ และ $111.07 \pm 4.46\%$ ตามลำดับ แต่เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม control พบว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ



รูปที่ 3.9 แสดงผลของ NE (10^{-10} - 10^{-3} M) ต่อการหดตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้และไม่ให้ glibenclamide (10^{-5} M) แสดงโดยค่า % increase from resting tension

ค่าที่ แสดงคือ mean \pm S.E.M. (n=6)

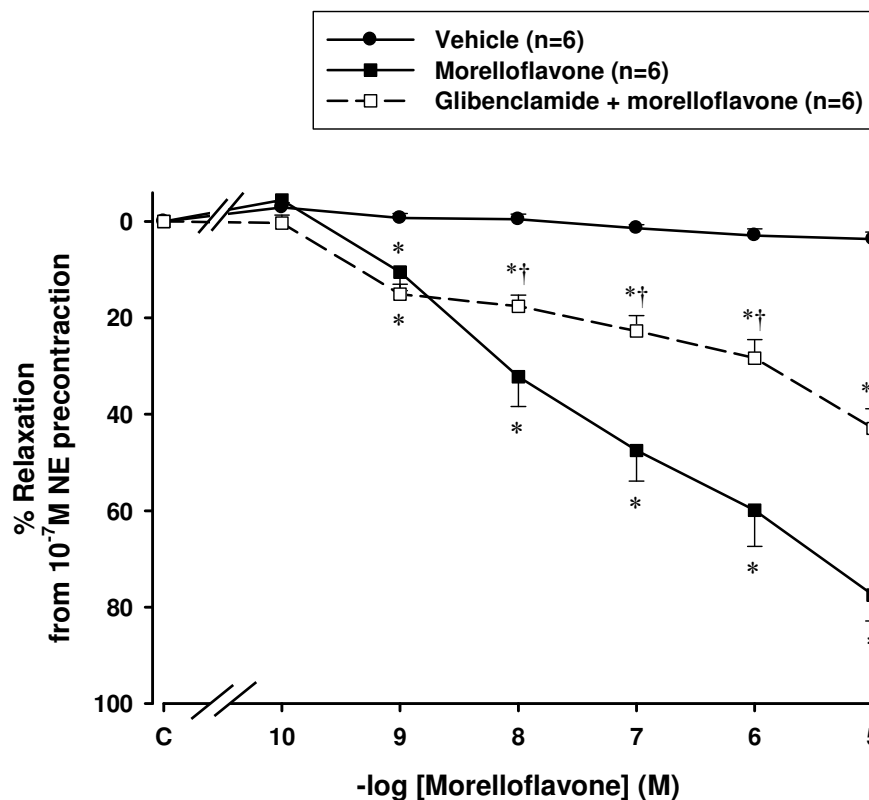
*P < 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับค่า control ของกลุ่มเดียวกัน (one way repeated ANOVA)

4.2 ผลของ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้ glibenclamide (10^{-5} M) ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE

ผลของ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้ glibenclamide (10^{-5} M) ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE แสดงในรูปที่ 3.10 และตารางที่ 11 ในภาคผนวก ผลการทดลองแสดงในค่า % relaxation เมื่อให้ morelloflavone จำนวน 6 ขนาด ที่ทำให้ความเข้มข้น ใน organ bath แต่ละขนาดมีความเข้มข้นแตกต่างกัน 10 เท่า ระหว่าง 10^{-10} - 10^{-5} M พบว่า aortic ring ที่ได้รับ glibenclamide ที่ความเข้มข้น 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} และ 10^{-5} M มีการคลายตัวลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ morelloflavone เพียงอย่างเดียว อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ดังนี้ $17.58 \pm 2.30\%$, $22.73 \pm 3.20\%$, $28.36 \pm 3.87\%$ และ $42.92 \pm 4.09\%$ ตามลำดับ โดยมีค่า E_{max} เท่ากับ $42.92 \pm 4.09\%$

เมื่อเปรียบเทียบค่า E_{max} ในกลุ่มที่ได้รับ morelloflavone เพียงอย่างเดียว ($E_{max} = 77.49 \pm 5.38\%$) กับกลุ่ม glibenclamide พบว่าค่า E_{max} ในกลุ่ม glibenclamide ($E_{max} = 42.92 \pm 4.09\%$) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 3.1

จากการหาค่า EC_{50} ของกลุ่มที่ได้รับ glibenclamide พบว่าเท่ากับ $9.5 \pm 0.71 \mu\text{M}$ และเมื่อเปรียบเทียบค่า EC_{50} ระหว่างกลุ่มที่ได้รับ glibenclamide กับกลุ่ม morelloflavone เพียงอย่างเดียว พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 3.2



รูปที่ 3.10 แสดงผลของ vehicle, morelloflavone และ glibenclamide + morelloflavone ต่อการคลายตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้ glibenclamide (10^{-5} M) และทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE แสดงโดยค่า % relaxation from 10^{-7} M NE precontraction

ค่าที่ แสดงคือ mean \pm S.E.M. (n=6)

*, $\dagger P < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม vehicle และกลุ่ม morelloflavone ตามลำดับ (one way ANOVA)

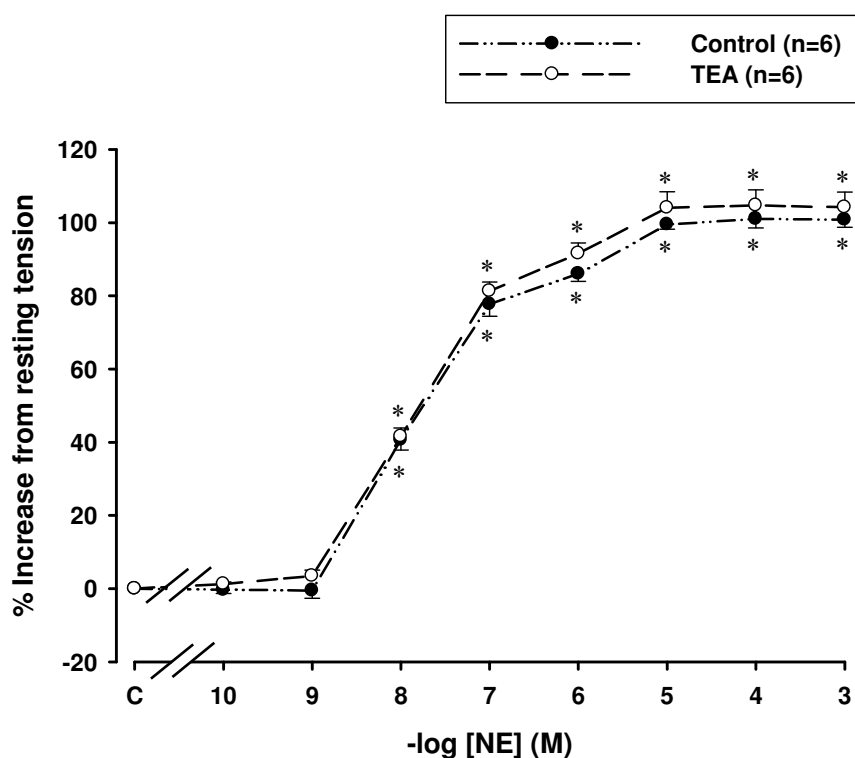
5. การศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของ morelloflavone ในขณะที่ให้

tetraethylammonium chloride (TEA 10^{-3} M) ต่อการคลายตัวของ aortic ring ที่ทำให้หดตัวก่อน ด้วย 10^{-7} M NE

5.1 การศึกษาการตอบสนองของ aortic ring ต่อ NE (10^{-10} - 10^{-3} M) ในขณะที่ให้ TEA (10^{-3} M)

ผลของ NE (10^{-10} - 10^{-3} M) ขนาดต่าง ๆ ต่อการหดตัวของ aortic ring ในกลุ่ม control แสดงในรูปที่ 3.11 และ ตารางที่ 13 ในภาคผนวก จากการทดลองเมื่อให้ NE จำนวน 8 ขนาด ที่ทำให้ความเข้มข้น ใน organ bath แต่ละขนาดมีความเข้มข้นแตกต่างกัน 10 เท่า ระหว่าง 10^{-10} - 10^{-3} M พบว่า aortic ring มีการหดตัวเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับค่า control อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ตั้งแต่ความเข้มข้น 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} และ 10^{-3} M ดังนี้ $40.68 \pm 2.82\%$,

77.75 ± 3.28%, 86.04 ± 2.05%, 99.46 ± 1.30%, 101.03 ± 2.41% และ 100.76 ± 1.99% ตามลำดับ ผลของ NE (10^{-10} - 10^{-3} M) ขนาดต่าง ๆ ต่อการหดตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้ TEA (10^{-3} M) แสดงในรูปที่ 3.11 และตารางที่ 13 ในภาคผนวก จากการทดลองเมื่อให้ NE จำนวน 8 ขนาด ที่ทำให้ความเข้มข้น ใน organ bath แต่ละขนาดมีความเข้มข้นแตกต่างกัน 10 เท่า ระหว่าง 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} และ 10^{-3} M พบว่า aortic ring มีการหดตัวเพิ่มขึ้น ดังนี้ 1.27 ± 0.57%, 3.49 ± 1.58%, 41.57 ± 2.33%, 81.29 ± 2.51%, 91.56 ± 2.84%, 104.07 ± 4.33%, 104.68 ± 4.30% และ 104.17 ± 4.18% ตามลำดับ แต่เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม control พบว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ



รูปที่ 3.11 แสดงผลของ NE (10^{-10} - 10^{-3} M) ต่อการหดตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้และไม่ให้ TEA (10^{-3} M)

แสดงโดยค่า % increase from resting tension

ค่าที่แสดงคือ mean ± S.E.M. (n=6)

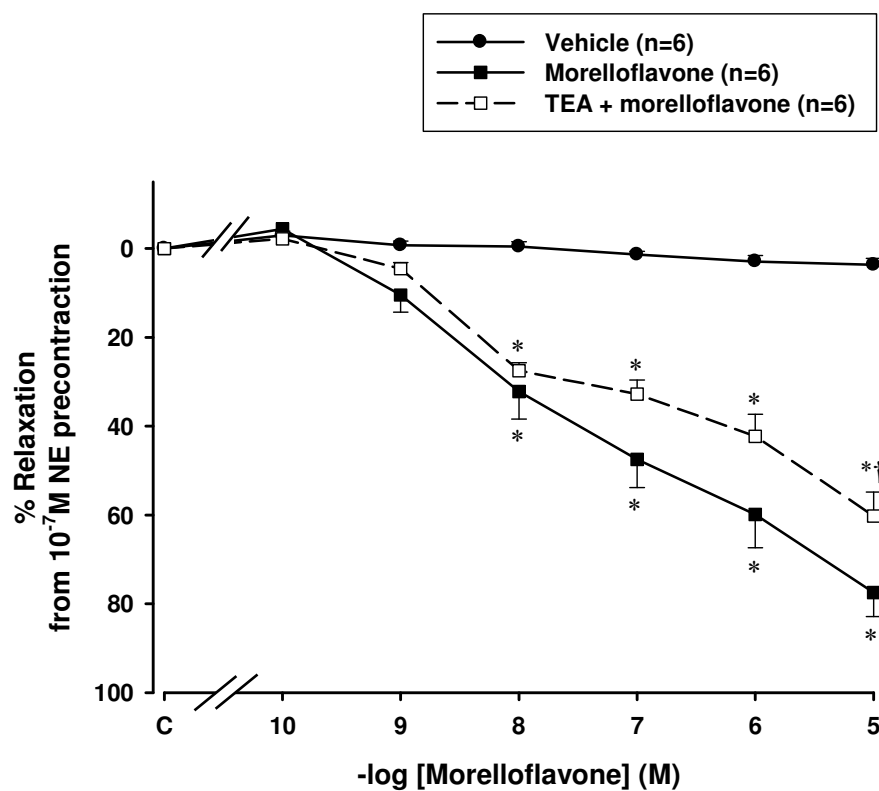
*P < 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับค่า control ของกลุ่มเดียวกัน (one way repeated ANOVA)

5.3 ผลของ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้ TEA (10^{-3} M) ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE

ผลของ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้ TEA (10^{-3} M) ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE แสดงในรูปที่ 3.12 และตารางที่ 14 ในภาคผนวก ผลการทดลอง แสดงในค่า % relaxation เมื่อให้ morelloflavone จำนวน 6 ขนาด ที่ทำให้ความเข้มข้น ใน organ bath แต่ละขนาดมีความเข้มข้นแตกต่างกัน 10 เท่า ระหว่าง 10^{-10} - 10^{-5} M พบว่า aortic ring ที่ได้รับ TEA ที่ความเข้มข้น 10^{-5} M มีการคลายตัวลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ morelloflavone เพียงอย่างเดียว อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ดังนี้ $60.26 \pm 5.42\%$ ตามลำดับ โดยมีค่า E_{\max} เท่ากับ $60.26 \pm 5.42\%$

เมื่อเปรียบเทียบค่า E_{\max} ในกลุ่มที่ได้รับ morelloflavone เพียงอย่างเดียว ($E_{\max} = 77.49 \pm 5.38\%$) กับกลุ่ม TEA พบว่าค่า E_{\max} ในกลุ่ม TEA ($E_{\max} = 60.26 \pm 5.42\%$) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 3.1

จากการหาค่า EC_{50} ของกลุ่มที่ได้รับ TEA พบว่าเท่ากับ $2.96 \pm 1.76 \mu\text{M}$ และเมื่อเปรียบเทียบค่า EC_{50} ระหว่างกลุ่มที่ได้รับ TEA กับกลุ่ม morelloflavone เพียงอย่างเดียว พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 3.2



รูปที่ 3.12 แสดงผลของ vehicle, morelloflavone และ TEA + morelloflavone ต่อการคลายตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้ TEA (10^{-3} M) และทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE แสดงโดยค่า % relaxation from 10^{-7} M NE precontraction

ค่าที่ แสดงคือ mean \pm S.E.M. (n=6)

*, †P < 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม vehicle และกลุ่ม morelloflavone ตามลำดับ (one way ANOVA)

ตารางที่ 3.1 แสดงค่า maximal relaxation, E_{max} (%) ในกลุ่ม intact endothelium, denuded endothelium, L-NOARG (10^{-6} M), indomethacin (10^{-5} M), glibenclamide (10^{-5} M) และ TEA (10^{-3} M) ที่ตอบสนองต่อ morelloflavone

* $P < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม intact endothelium (unpaired t-test)

Group	Maximal relaxation, E_{max} (%)
Morelloflavone (in intact endothelium)	77.49 ± 5.38
Morelloflavone (in denuded endothelium)	$8.23 \pm 2.03^*$
Morelloflavone + L-NOARG	$12.58 \pm 4.55^*$
Morelloflavone + Indomethacin	87.64 ± 4.71
Morelloflavone + Glibenclamide	$42.92 \pm 4.09^*$
Morelloflavone + TEA	$60.26 \pm 5.42^*$

ตารางที่ 3.2 แสดงค่า 50% effective concentration (EC_{50}) ของ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ aortic ring ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE ในกลุ่ม intact endothelium, denude และกลุ่มที่ให้ blockers 4 ชนิด ได้แก่ N^G -nitro-L-arginine (L-NOARG 10^{-6} M), indomethacin (10^{-5} M), glibenclamide (10^{-5} M) และ tetraethylammonium chloride (TEA 10^{-3} M)

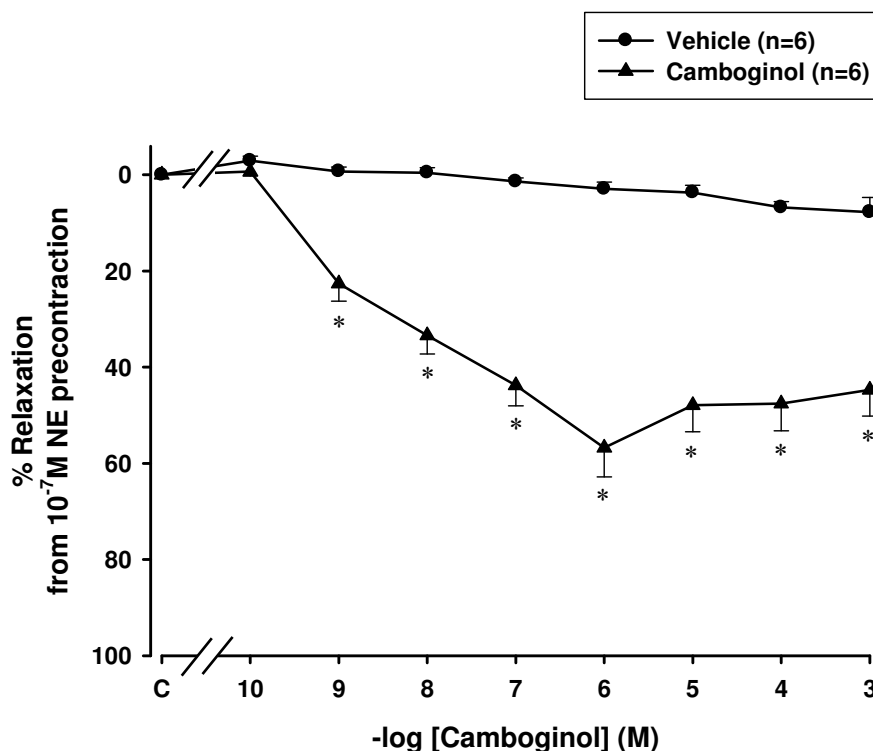
ค่าที่แสดงคือ mean \pm S.E.M.

* $P < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม intact endothelium (unpaired t-test)

50% effective concentration (EC_{50}) (μ M)	
Treatment	Morelloflavone
Intact endothelium	0.25 ± 0.17 (n=6)
Indomethacin	0.51 ± 0.20 (n=6)
Glibenclamide	9.5 ± 0.71 (n=2) *
TEA	2.96 ± 1.76 (n=5) *
Denude	-
L-NOARG	-

3.5 การศึกษาฤทธิ์ของ camboginol ต่อคลายตัวของ aortic ring ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE

ผลของ camboginol ต่อการคลายตัวของ aortic ring ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE แสดงในรูปที่ 3.13 และตารางที่ 3 (ก) ในภาคผนวก ผลการทดลองแสดงในค่า % relaxation เมื่อให้ camboginol จำนวน 8 ขนาด ที่ทำให้ความเข้มข้น ใน organ bath แต่ละขนาดมีความเข้มข้นแตกต่างกัน 10 เท่า ระหว่าง 10^{-10} - 10^{-3} M พบว่า aortic ring ที่ได้รับ camboginol ตั้งแต่ความเข้มข้น 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} และ 10^{-3} M มีการคลายตัวเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม vehicle อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ดังนี้ $22.60 \pm 3.67\%$, $33.42 \pm 3.80\%$, $43.80 \pm 4.25\%$, $56.74 \pm 6.05\%$, $47.89 \pm 6.05\%$, $47.56 \pm 5.64\%$ และ $44.68 \pm 5.50\%$ ตามลำดับ โดยมีค่า E_{max} เท่ากับ $56.74 \pm 6.05\%$ จากการหาค่า EC_{50} ของ camboginol พบว่าเท่ากับ $0.25 \pm 0.10 \mu\text{M}$ ดังแสดงในตารางที่ 3.4



รูปที่ 3.13 แสดงผลของ vehicle และ camboginol ต่อการคลายตัวของ aortic ring ที่มี endothelium ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE แสดงโดยค่า % relaxation from 10^{-7} M NE precontraction

ค่าที่แสดงคือ mean \pm S.E.M. (n=6)

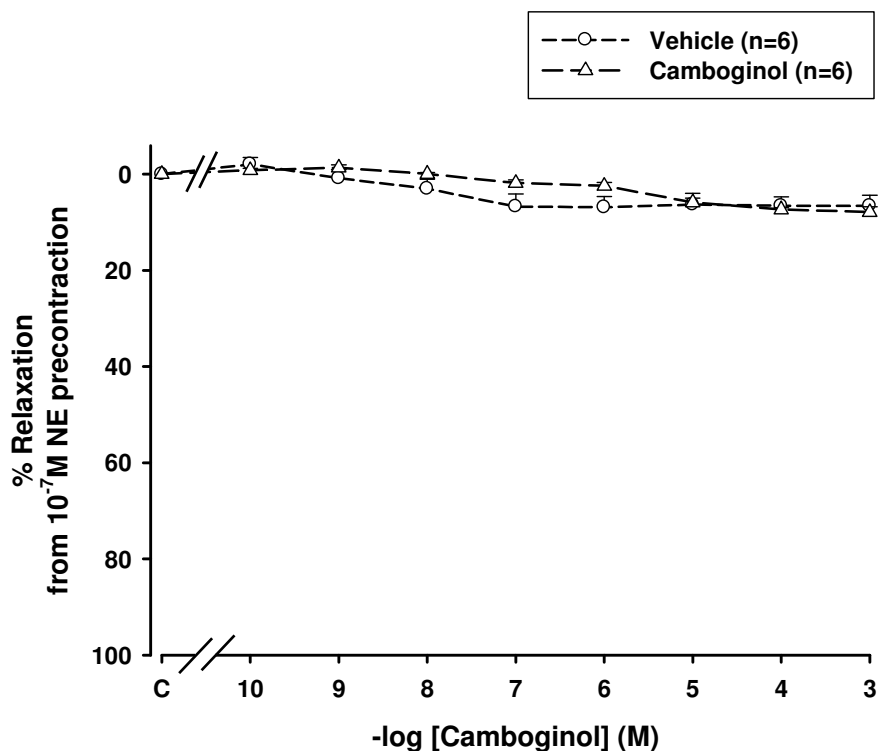
* $P < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม vehicle (unpaired t-test)

3.6 การศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของ camboginol ต่อการคลายตัวของ aortic ring ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE

1. การศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของ camboginol ต่อการคลายตัวของ aortic ring ที่ไม่มี endothelium (denude) ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE

ผลของ camboginol ต่อการคลายตัวของ aortic ring ที่ทำลาย endothelium ซึ่งทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE แสดงในรูปที่ 3.14 และตารางที่ 3 (ข) ในภาคผนวก ผลการทดลองแสดงในค่า % relaxation เมื่อให้ camboginol จำนวน 8 ขนาด ที่ทำให้ความเข้มข้น ใน organ bath แต่ละขนาดมีความเข้มข้นแตกต่างกัน 10 เท่า ระหว่าง 10^{-10} - 10^{-3} M พบว่า aortic ring ที่ได้รับ camboginol ตั้งแต่ความเข้มข้น 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} และ 10^{-3} M มีการคลายตัว ดังนี้ $1.83 \pm 0.65\%$, $2.43 \pm 0.70\%$, $5.87 \pm 0.92\%$, $7.33 \pm 0.40\%$ และ $7.87 \pm 1.15\%$ ตามลำดับ แต่เมื่อเทียบกับกลุ่ม vehicle พบว่า ที่ความเข้มข้นเดียวกันทุกความเข้มข้นไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีค่า E_{\max} เท่ากับ $7.87 \pm 1.15\%$

เมื่อเปรียบเทียบค่า E_{\max} ในกลุ่ม intact endothelium ($E_{\max} = 56.74 \pm 6.05\%$) กับกลุ่ม denuded พบว่าค่า E_{\max} ในกลุ่ม denuded ($E_{\max} = 9.57 \pm 2.84\%$) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 3.3

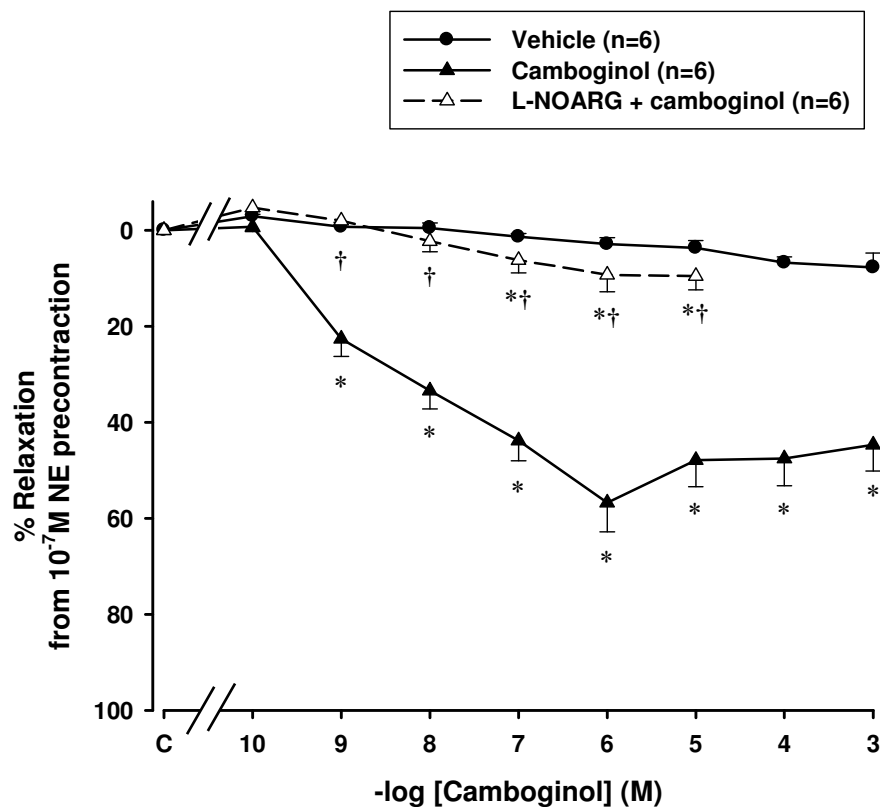


รูปที่ 3.14 แสดงผลของ vehicle และ camboginol ต่อการคลายตัวของ aortic ring ที่ไม่มี endothelium (denude) ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE แสดงโดยค่า % relaxation from 10^{-7} M NE precontraction ค่าที่แสดงคือ mean \pm S.E.M. (n=6)

2. ผลของ camboginol ต่อการคลายตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้ L-NOARG (10^{-6} M) ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE

ผลของ camboginol ต่อการคลายตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้ L-NOARG (10^{-6} M) แสดงในรูปที่ 3.15 และตารางที่ 6 ในภาคผนวก ผลการทดลองแสดงในค่า % relaxation เมื่อให้ camboginol จำนวน 6 ขนาด ที่ทำให้ความเข้มข้น ใน organ bath แต่ละขนาดมีความเข้มข้นแตกต่างกัน 10 เท่า ระหว่าง 10^{-10} - 10^{-5} M พบว่า aortic ring ที่ได้รับ L-NOARG ที่ความเข้มข้น 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} และ 10^{-5} M มีการคลายตัวลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ camboginol เพียงอย่างเดียว อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ดังนี้ $-1.96 \pm 1.17\%$, $2.32 \pm 2.13\%$, $6.22 \pm 2.67\%$, $9.30 \pm 3.50\%$ และ $9.57 \pm 2.84\%$ ตามลำดับ โดยมีค่า E_{max} เท่ากับ $9.57 \pm 2.84\%$ เมื่อเปรียบเทียบค่า E_{max} ในกลุ่มที่ได้รับ camboginol เพียงอย่างเดียว ($E_{max} = 56.74 \pm 6.05\%$) กับกลุ่ม L-NOARG พบว่าค่า E_{max} ในกลุ่ม L-NOARG ($E_{max} = 9.57 \pm 2.84\%$) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 3.3

จากการทดลอง aortic ring ในกลุ่มที่ได้รับ L-NOARG มีการคลายตัวน้อยจึงไม่สามารถหาค่า EC_{50} ได้



รูปที่ 3.15 แสดงผลของ vehicle, camboginol และ L-NOARG + camboginol ต่อการคลายตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้ L-NOARG (10^{-6} M) และทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE แสดงโดยค่า

% relaxation from 10^{-7} M NE precontraction

ค่าที่ แสดงคือ mean \pm S.E.M. (n=6)

*, †P < 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม vehicle และกลุ่ม camboginol ตามลำดับ (one way ANOVA)

3. ผลของ camboginol ต่อการคลายตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้ indomethacin (10^{-5} M) ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE

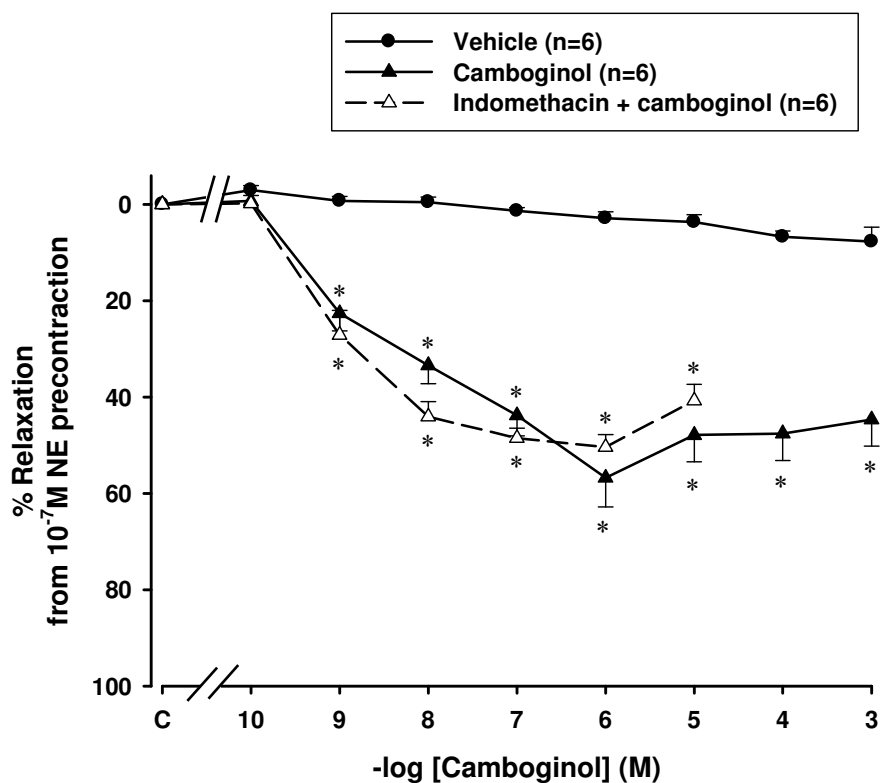
ผลของ camboginol ต่อการคลายตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้ indomethacin (10^{-5} M) ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE แสดงในรูปที่ 3.16 และตารางที่ 9 ในภาคผนวก ผลการทดลองแสดงในค่า % relaxation เมื่อให้ camboginol จำนวน 6 ขนาด ที่ทำให้ความเข้มข้น ใน organ bath แต่ละขนาดมีความเข้มข้นแตกต่างกัน 10 เท่า ระหว่าง 10^{-10} - 10^{-5} M

พบว่า aortic ring ที่ได้รับ indomethacin มีการคลายตัวไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ camboginol เพียงอย่างเดียว โดยมีค่า E_{max} เท่ากับ $50.40 \pm 2.61\%$

เมื่อเปรียบเทียบกับค่า E_{max} ในกลุ่มที่ได้รับ camboginol เพียงอย่างเดียว

($E_{max} = 56.74 \pm 6.05\%$) กับกลุ่ม indomethacin ($E_{max} = 50.40 \pm 2.61\%$) พบว่าค่า E_{max} ทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในตารางที่ 3.3

จากการหาค่า EC_{50} ของกลุ่มที่ได้รับ indomethacin พบว่าเท่ากับ $0.33 \pm 0.27 \mu M$ และเมื่อเปรียบเทียบค่า EC_{50} ระหว่างกลุ่มที่ได้รับ indomethacin กับกลุ่ม camboginol เพียงอย่างเดียว พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในตารางที่ 3.4



รูปที่ 3.16 แสดงผลของ vehicle, camboginol และ indomethacin + camboginol ต่อการคลายตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้ indomethacin ($10^{-5} M$) และทำให้หดตัวก่อนด้วย $10^{-7} M$ NE

แสดงโดยค่า % relaxation from $10^{-7} M$ NE precontraction

ค่าที่แสดงคือ mean \pm S.E.M. (n=6)

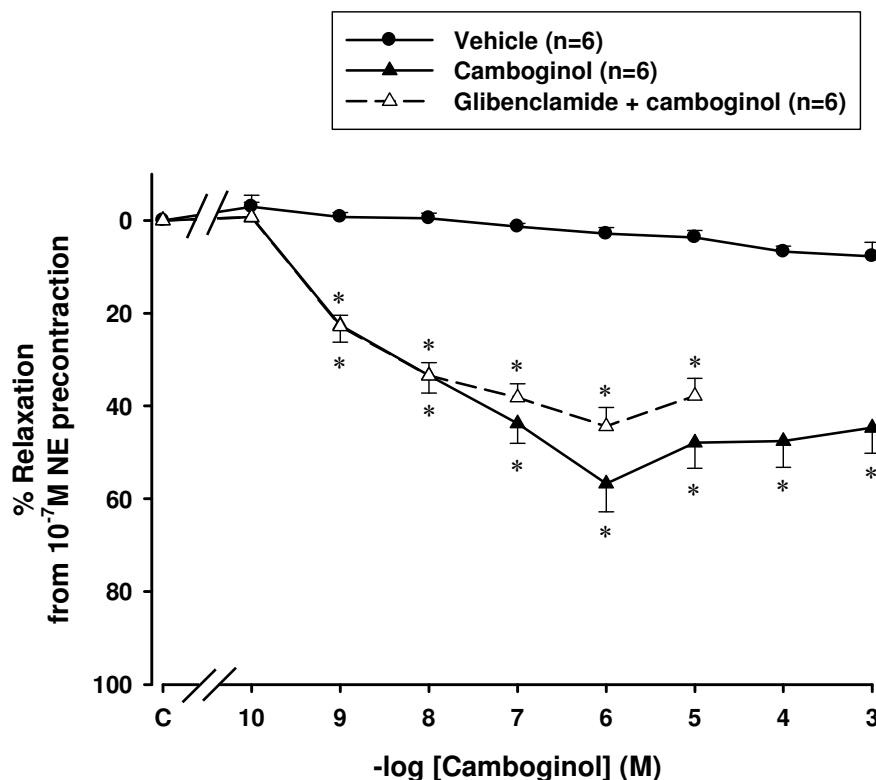
*, †P < 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม vehicle และกลุ่ม camboginol ตามลำดับ (one way ANOVA)

4. ผลของ camboginol ต่อการคลายตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้ glibenclamide (10^{-5} M) ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE

ผลของ camboginol ต่อการคลายตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้ glibenclamide (10^{-5} M) ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE แสดงในรูปที่ 3.17 และตารางที่ 12 ในภาคผนวก ผลการทดลองแสดงในค่า % relaxation เมื่อให้ camboginol จำนวน 6 ขนาด ที่ทำให้ความเข้มข้นใน organ bath แต่ละขนาดมีความเข้มข้นแตกต่างกัน 10 เท่า ระหว่าง 10^{-10} - 10^{-5} M พบว่า aortic ring ที่ได้รับ glibenclamide มีการคลายตัวไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ camboginol เพียงอย่างเดียว โดยมีค่า E_{max} เท่ากับ $44.36 \pm 4.09\%$

เมื่อเปรียบเทียบค่า E_{max} ในกลุ่มที่ได้รับ camboginol เพียงอย่างเดียว ($E_{max} = 56.74 \pm 6.05\%$) กับกลุ่ม glibenclamide ($E_{max} = 44.36 \pm 4.09\%$) พบว่าค่า E_{max} ทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในตารางที่ 3.3

จากการหาค่า EC_{50} ของกลุ่มที่ได้รับ glibenclamide พบว่าเท่ากับ $0.1 \pm 0.00 \mu\text{M}$ และเมื่อเปรียบเทียบค่า EC_{50} ระหว่างกลุ่มที่ได้รับ glibenclamide กับกลุ่มที่ได้รับ camboginol เพียงอย่างเดียว พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในตารางที่ 3.4 ในภาคผนวก



รูปที่ 3.17 แสดงผลของ vehicle, camboginol และ glibenclamide + camboginol ต่อการคลายตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้ glibenclamide (10^{-5} M) และทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE

แสดงโดยค่า % relaxation from 10^{-7} M NE precontraction

ค่าที่แสดงคือ mean \pm S.E.M. (n=6)

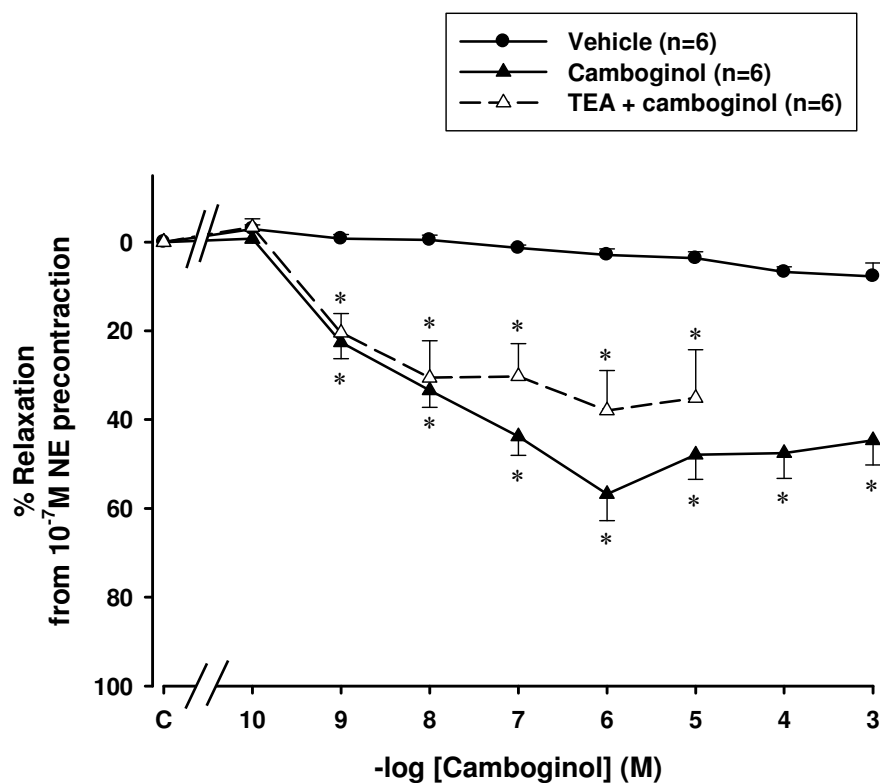
*P < 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับ vehicle (one way ANOVA)

5. ผลของ camboginol ต่อการคลายตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้ TEA (10^{-3} M) ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE

ผลของ camboginol ต่อการคลายตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้ 10^{-3} M TEA ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE แสดงในรูปที่ 3.18 และตารางที่ 15 ในภาคผนวก ผลการทดลองแสดงในค่า % relaxation เมื่อให้ camboginol จำนวน 6 ขนาด ที่ทำให้ความเข้มข้น ใน organ bath แต่ละขนาดมีความเข้มข้นแตกต่างกัน 10 เท่า ระหว่าง 10^{-10} - 10^{-5} M พบว่า aortic ring ที่ได้รับ TEA มีการคลายตัวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ camboginol เพียงอย่างเดียว เมื่อเปรียบเทียบกับ camboginol อย่างมีนัยสำคัญ โดยมีค่า E_{max} เท่ากับ $38.00 \pm 9.06\%$

เมื่อเปรียบเทียบกับค่า E_{max} ในกลุ่มที่ได้รับ camboginol เพียงอย่างเดียว ($E_{max} = 56.74 \pm 6.05\%$) กับกลุ่ม TEA ($E_{max} = 38.00 \pm 9.06\%$) พบว่าค่า E_{max} ทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในตารางที่ 3.3

จากการหาค่า EC_{50} ของกลุ่มที่ได้รับ TEA พบว่าเท่ากับ $0.027 \pm 0.03 \mu\text{M}$ และเมื่อเปรียบเทียบค่า EC_{50} ระหว่างกลุ่มที่ได้รับ TEA กับกลุ่ม camboginol เพียงอย่างเดียว พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในตารางที่ 3.4



รูปที่ 3.18 แสดงผลของ vehicle, camboginol และ TEA + camboginol ต่อการคลายตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้ TEA (10^{-3} M) และทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE แสดงโดยค่า % relaxation from 10^{-7} M NE precontraction ค่าที่แสดงคือ mean \pm S.E.M. (n=6)

* $P < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม vehicle (one way ANOVA)

ตารางที่ 3.3 แสดงค่า maximal relaxation, E_{max} (%) ในกลุ่ม intact endothelium, denuded endothelium, L-NOARG (10^{-6} M), indomethacin (10^{-5} M), glibenclamide (10^{-5} M) และ TEA (10^{-3} M) ที่ตอบสนองต่อ camboginol

* $P < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม intact endothelium (unpaired t-test)

Group	Maximal relaxation, E_{max} (%)
Camboginol + intact endothelium	56.74 ± 6.05
Camboginol + denuded endothelium	$7.87 \pm 1.15^*$
Camboginol + L-NOARG	$9.57 \pm 2.84^*$
Camboginol + indomethacin	50.40 ± 2.61
Camboginol + glibenclamide	44.36 ± 4.09
Camboginol + TEA	38.00 ± 9.06

ตารางที่ 3.4 แสดงค่า 50% effective concentration (EC_{50}) ของ camboginol ต่อการคลายตัวของ aortic ring ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE ในกลุ่ม intact endothelium, denude และกลุ่มที่ให้ blockers 4 ชนิดได้แก่ N^G -nitro-L-arginine (L-NOARG 10^{-6} M), indomethacin (10^{-5} M), glibenclamide (10^{-5} M) และ tetraethylammonium chloride (TEA 10^{-3} M) ค่าที่แสดงคือ mean \pm S.E.M.

50% effective concentration (EC_{50}) (μ M)	
Treatment	Camboginol
Intact endothelium	0.25 ± 0.10 (n=4)
Indomethacin	0.33 ± 0.27 (n=4)
Glibenclamide	0.1 ± 0.00 (n=1)
TEA	0.027 ± 0.03 (n=2)
Denude	-
L-NOARG (10^{-6} M)	-

3.7 การศึกษาผลของ phenylephrine (PE), ACh และ sildenafil citrate ต่อการหดตัวและการคลายตัวของ corpus cavernosum

1. การตอบสนองของ PE ต่อการหดตัวของ corpus cavernosum

ผลของ PE ขนาดต่าง ๆ ต่อการหดตัวของ corpus cavernosum แสดงในรูปที่ 3.19 และตารางที่ 16 ในภาคผนวก จากการทดลอง เมื่อให้ PE จำนวน 6 ขนาด ที่ทำให้ความเข้มข้น ใน organ bath แต่ละขนาดมีความเข้มข้นแตกต่างกัน 10 เท่า ระหว่าง 10^{-8} - 10^{-3} M พบว่า corpus cavernosum มีการหดตัวเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับค่า control อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ที่ความเข้มข้น 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} และ 10^{-3} M ดังนี้ $2.50 \pm 0.48\%$, $10.87 \pm 1.66\%$, $14.13 \pm 0.75\%$, $18.34 \pm 0.89\%$, $22.89 \pm 0.60\%$, และ $22.61 \pm 0.75\%$ ตามลำดับ

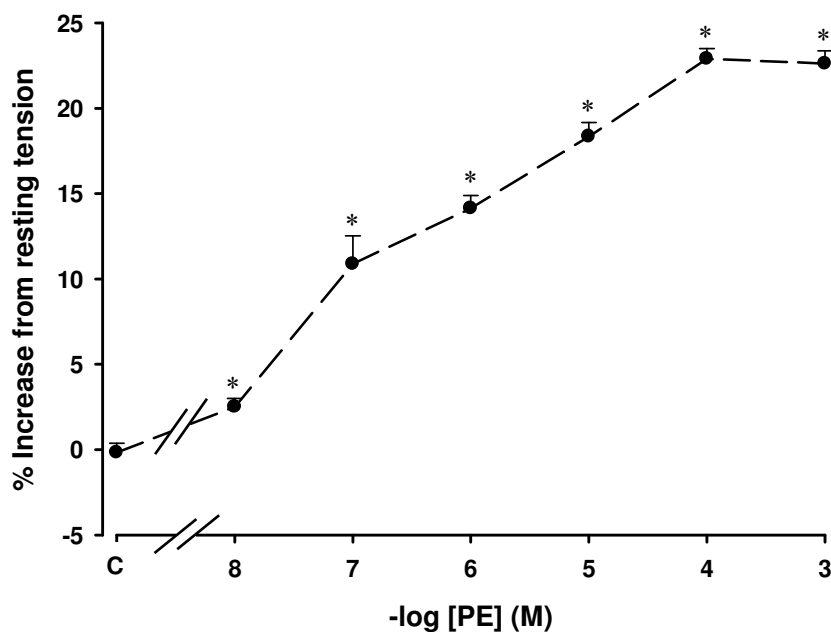
นอกจากนี้การทดสอบผลของ PE ที่ความเข้มข้น 10^{-4} M และ 10^{-3} M เพื่อหาค่า maximal tension พบว่า ทั้ง 2 ความเข้มข้นไม่ได้ทำให้การหดตัวของ corpus cavernosum มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้น ความเข้มข้นที่ทำให้ corpus cavernosum มีการตอบสนองสูงสุด คือ 10^{-4} M

ดังนั้น ความเข้มข้นของ PE ที่เลือกใช้ในการทดลองต่อไปคือ ความเข้มข้น 10^{-5} M ซึ่งสามารถทำให้ corpus cavernosum หดตัวประมาณ 80% ของค่า maximal tension

2. การตอบสนองของ ACh ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum

ผลของ ACh ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-5} M PE แสดงในรูปที่ 3.20 และตารางที่ 18 ในภาคผนวก จากการทดลอง เมื่อให้ ACh จำนวน 6 ขนาด ที่ทำให้ความเข้มข้น ใน organ bath แต่ละขนาดมีความเข้มข้นแตกต่างกัน 10 เท่า ระหว่าง 10^{-8} - 10^{-3} M พบว่า corpus cavernosum มีการคลายตัวเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับค่า control อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ตั้งแต่ความเข้มข้น 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} และ 10^{-3} M ดังนี้ $22.14 \pm 1.93\%$, $34.84 \pm 3.24\%$, $52.78 \pm 5.11\%$ และ $62.59 \pm 5.61\%$ ตามลำดับ

ดังนั้น การศึกษาผลของ morelloflavone และ camboginol ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum เลือกใช้ ACh ที่ความเข้มข้น 10^{-3} M ใช้ในการทดสอบการคลายตัวของ corpus cavernosum



รูปที่ 3.19 แสดงผลของ phenylephrine (PE) ต่อการหดตัวของ corpus cavernosum แสดงโดยค่า % increase from resting tension

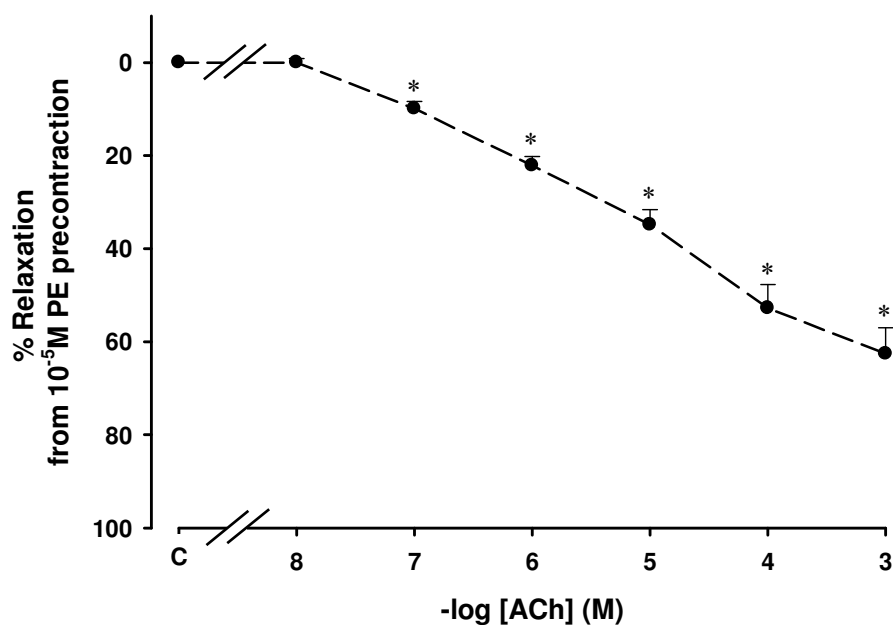
ค่าที่แสดงคือ mean \pm S.E.M. (n=6)

*P < 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับค่า control (one way repeated ANOVA)

2. ผลของ sildenafil citrate ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum

ผลของ sildenafil citrate ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-5} M PE แสดงในรูปที่ 3.21 และตารางที่ 19 ในภาคผนวก จากการทดลอง เมื่อให้ sildenafil citrate จำนวน 7 ขนาด ที่ทำให้ความเข้มข้น ใน organ bath แต่ละขนาดมีความเข้มข้นแตกต่างกัน 10 เท่า ระหว่าง 10^{-10} - 10^{-4} M พบว่า corpus cavernosum มีการคลายตัวเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับค่า control อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ตั้งแต่ความเข้มข้น 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} และ 10^{-4} M ดังนี้ $12.69 \pm 6.69\%$, $20.91 \pm 3.16\%$, $45.93 \pm 2.46\%$, $60.58 \pm 2.55\%$ และ $63.17 \pm 1.26\%$ ตามลำดับ

ดังนั้น การศึกษาผลของ morelloflavone และ camboginol ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum เลือกใช้ sildenafil citrate ที่ความเข้มข้น 10^{-5} M ในการยับยั้งการทำงานของ PDE5



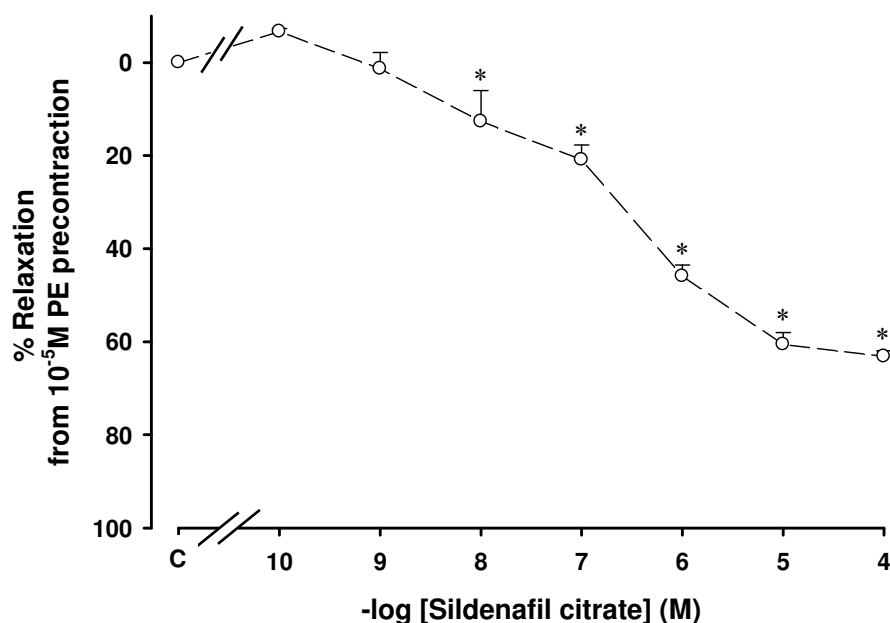
รูปที่ 3.20 แสดงผลของ ACh ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-5} M PE แสดงโดยค่า % relaxation from 10^{-5} M PE precontraction

ค่าที่แสดงคือ mean \pm S.E.M. (n=6)

* $P < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับค่า control ของกลุ่มเดียวกัน (one way repeated ANOVA)

3.8 ผลของ vehicle ต่อคลายตัวของ corpus cavernosum ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-5} M PE

ผลของ vehicle ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-5} M PE แสดงในรูปที่ 3.22 และตารางที่ 20 ในภาคผนวก ผลการทดลองแสดงค่า % relaxation เมื่อให้ vehicle ขนาดเดียวกับข้อ 4.1 (4) ในการออกแบบการทดลองใน corpus cavernosum พบว่า corpus cavernosum ที่ได้รับ vehicle ขนาด 0.3, 0.4, 0.5 และ 0.6% ตามลำดับ มีการคลายตัวเมื่อเปรียบเทียบกับค่า control อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ดังนี้ $3.09 \pm 0.83\%$, $5.50 \pm 0.75\%$, $9.55 \pm 1.12\%$ และ $13.45 \pm 1.00\%$ ตามลำดับ



รูปที่ 3.21 แสดงผลของ sildenafil citrate ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย

10^{-5} M PE แสดงโดยค่า % relaxation from 10^{-5} M PE precontraction

ค่าที่แสดงคือ mean \pm S.E.M. (n=6)

* $P < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับค่า control ของกลุ่มเดียวกัน (one way repeated ANOVA)

3.9 การศึกษาฤทธิ์ของ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-5} M PE

1. ผลของ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-5} M PE

ผลของ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-5} M PE แสดงในรูปที่ 3.22 และตารางที่ 20 ในภาคผนวก ผลการทดลองแสดงในค่า % relaxation เมื่อให้ morelloflavone จำนวน 6 ขนาด ที่ทำให้ความเข้มข้น ใน organ bath แต่ละขนาดมีความเข้มข้นแตกต่างกัน 10 เท่า ระหว่าง 10^{-10} - 10^{-5} M พบว่า corpus cavernosum ที่ได้รับ morelloflavone ตั้งแต่ความเข้มข้น 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} และ 10^{-5} M มีการคลายตัว เมื่อเปรียบเทียบกับ vehicle อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ดังนี้ $11.94 \pm 2.55\%$, $23.45 \pm 3.04\%$, $36.08 \pm 2.55\%$ และ $55.92 \pm 2.92\%$ ตามลำดับ โดยมีค่า E_{max} เท่ากับ $55.92 \pm 2.92\%$

จากการหาค่า EC_{50} ของ morelloflavone พบว่าเท่ากับ $5.12 \pm 1.36 \mu\text{M}$ ดังแสดงในตารางที่ 3.6

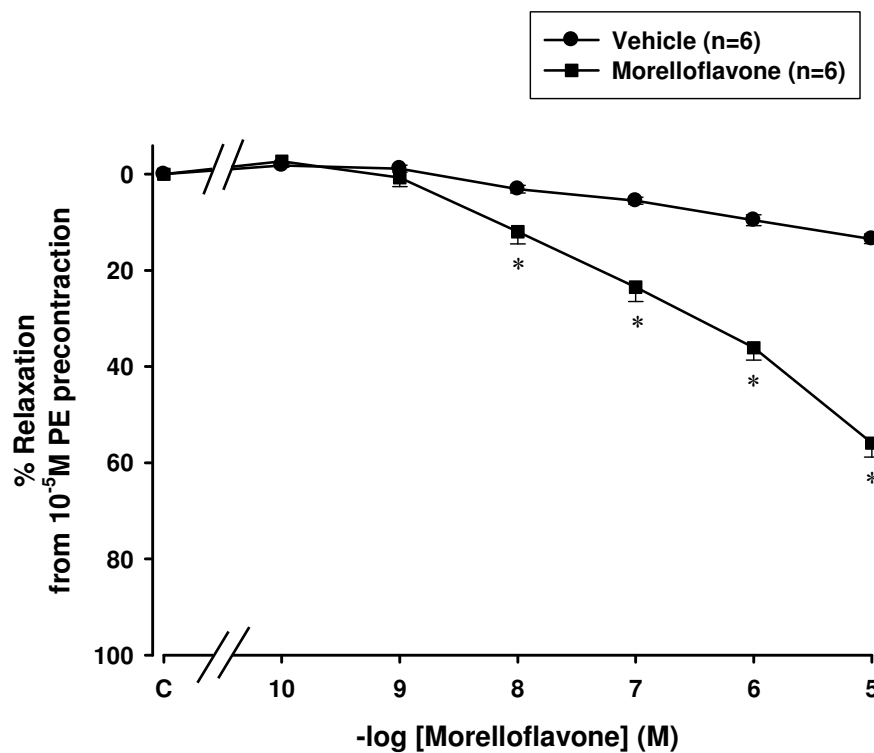
3.10 การศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-5}M PE

1. ผลของ morelloflavone ต่อคลายตัวของ corpus cavernosum ในขณะที่ให้ L-NOARG (10^{-6}M) ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-5}M PE

ผลของ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ในขณะที่ให้ L-NOARG (10^{-6}M) แสดงในรูปที่ 3.23 และตารางที่ 21 ในภาคผนวก ผลการทดลองแสดงในค่า % relaxation เมื่อให้ morelloflavone จำนวน 6 ขนาด ที่ทำให้ความเข้มข้น ใน organ bath แต่ละขนาดมีความเข้มข้นแตกต่างกัน 10 เท่า ระหว่าง 10^{-10} - 10^{-5}M พบว่า corpus cavernosum ที่ได้รับ L-NOARG ตั้งแต่ความเข้มข้น 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} และ 10^{-5}M มีการคลายตัวลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับ morelloflavone อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ดังนี้ $0.95 \pm 1.88\%$, $15.18 \pm 0.48\%$, $28.63 \pm 1.76\%$ และ $37.36 \pm 1.28\%$ ตามลำดับ โดยมีค่า E_{max} เท่ากับ $37.36 \pm 1.28\%$

เมื่อเปรียบเทียบค่า E_{max} ในกลุ่มที่ได้รับ morelloflavone เพียงอย่างเดียว ($E_{\text{max}} = 55.92 \pm 2.92\%$) กับกลุ่ม L-NOARG พบว่าค่า E_{max} ในกลุ่ม L-NOARG (E_{max} เท่ากับ $37.36 \pm 1.28\%$) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 3.5

จากการทดลอง corpus cavernosum ในกลุ่มที่ได้รับ L-NOARG มีการคลายตัวน้อยจึงไม่สามารถหาค่า EC_{50} ได้

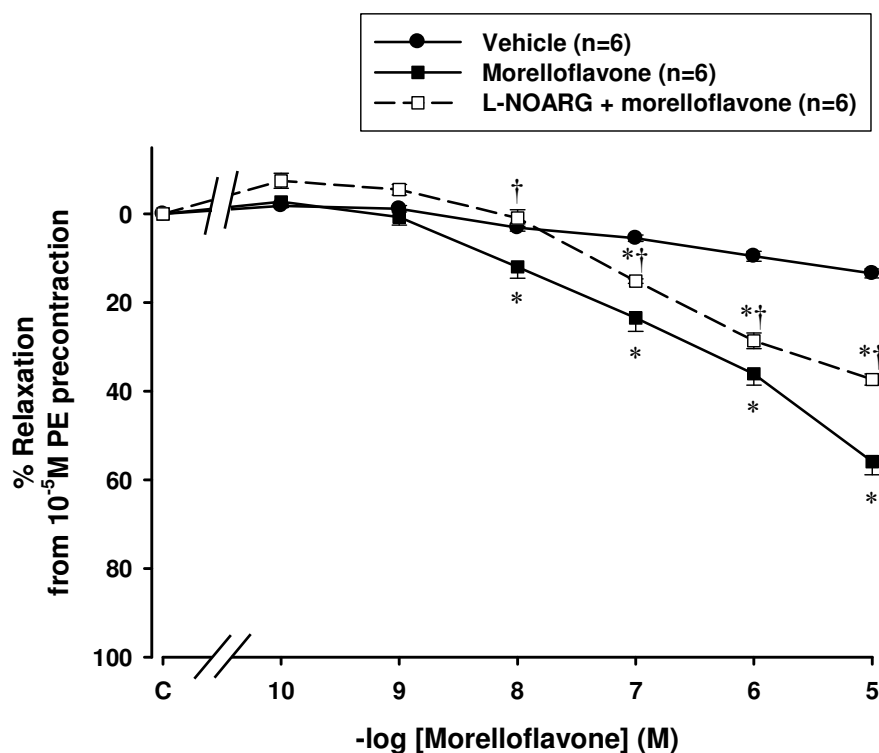


รูปที่ 3.22 แสดงผลของ vehicle และ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-5} M PE

แสดงโดยค่า % relaxation from 10^{-5} M PE precontraction

ค่าที่แสดงคือ mean \pm S.E.M. (n=6)

*P < 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม vehicle (unpaired t-test)



รูปที่ 3.23 แสดงผลของ vehicle, morelloflavone และ L-NOARG + morelloflavone ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ในขณะที่ให้ L-NOARG (10^{-6} M) และทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-5} M PE แสดงโดยค่า % relaxation from 10^{-5} M PE precontraction

ค่าที่แสดงคือ mean \pm S.E.M. (n=6)

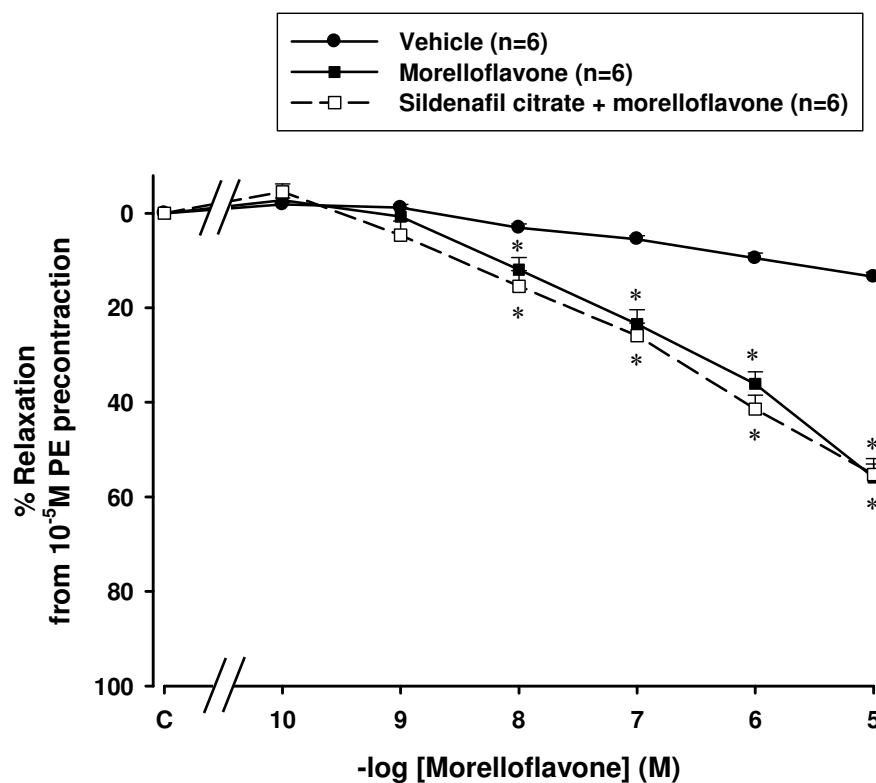
*, †P < 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม vehicle และกลุ่ม morelloflavone ตามลำดับ (one way ANOVA)

2. ผลของ morelloflavone ต่อคลายตัวของ corpus cavernosum ในขณะที่ให้ sildenafil citrate (10^{-5} M) ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-5} M PE

ผลของ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ในขณะที่ให้ sildenafil citrate (10^{-5} M) แสดงในรูปที่ 3.24 และตารางที่ 23 ในภาคผนวก ผลการทดลองแสดงในค่า % relaxation เมื่อให้ morelloflavone จำนวน 6 ขนาด ที่ทำให้ความเข้มข้น ใน organ bath แต่ละขนาดมีความเข้มข้นแตกต่างกัน 10 เท่า ระหว่าง 10^{-10} - 10^{-5} M พบว่า corpus cavernosum ที่ได้รับ sildenafil citrate มีการคลายตัวไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ morelloflavone เพียงอย่างเดียว โดยมีค่า E_{max} เท่ากับ $55.27 \pm 3.70\%$

เมื่อเปรียบเทียบค่า E_{max} ในกลุ่มที่ได้รับ morelloflavone เพียงอย่างเดียว ($E_{max} = 55.92 \pm 2.92\%$) กับกลุ่ม sildenafil citrate ($E_{max} = 55.27 \pm 3.70\%$) พบว่าค่า E_{max} ทั้งสองกลุ่ม ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในตารางที่ 3.5

จากการหาค่า EC_{50} ของกลุ่มที่ได้รับ sildenafil citrate พบว่าเท่ากับ 2.48 ± 1.64 μM และเมื่อเปรียบเทียบค่า EC_{50} ระหว่างกลุ่มที่ได้รับ sildenafil citrate กับกลุ่มที่ได้รับ morelloflavone เพียงอย่างเดียวพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในตารางที่ 3.6



รูปที่ 3.24 แสดงผลของ vehicle, morelloflavone และ sildenafil citrate + morelloflavone ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ในขณะที่ให้ sildenafil citrate (10^{-5}M) และทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-5}M PE

แสดงโดยค่า % relaxation from 10^{-5}M PE precontraction

ค่าที่แสดงคือ mean \pm S.E.M. (n=6)

* $P < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม vehicle (one way ANOVA)

ตารางที่ 3.5 แสดงค่า maximal relaxation, E_{\max} (%) ในกลุ่ม morelloflavone, L-NOARG (10^{-6} M) และ sildenafil citrate (10^{-5} M) ที่ตอบสนองต่อ morelloflavone

* $P < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบเทียบกับกลุ่ม morelloflavone (unpaired t-test)

Group	Maximal relaxation, E_{\max} (%)
Morelloflavone	55.92 ± 2.92
Morelloflavone + L-NOARG	$37.36 \pm 1.28^*$
Morelloflavone + sildenafil citrate	55.27 ± 3.70

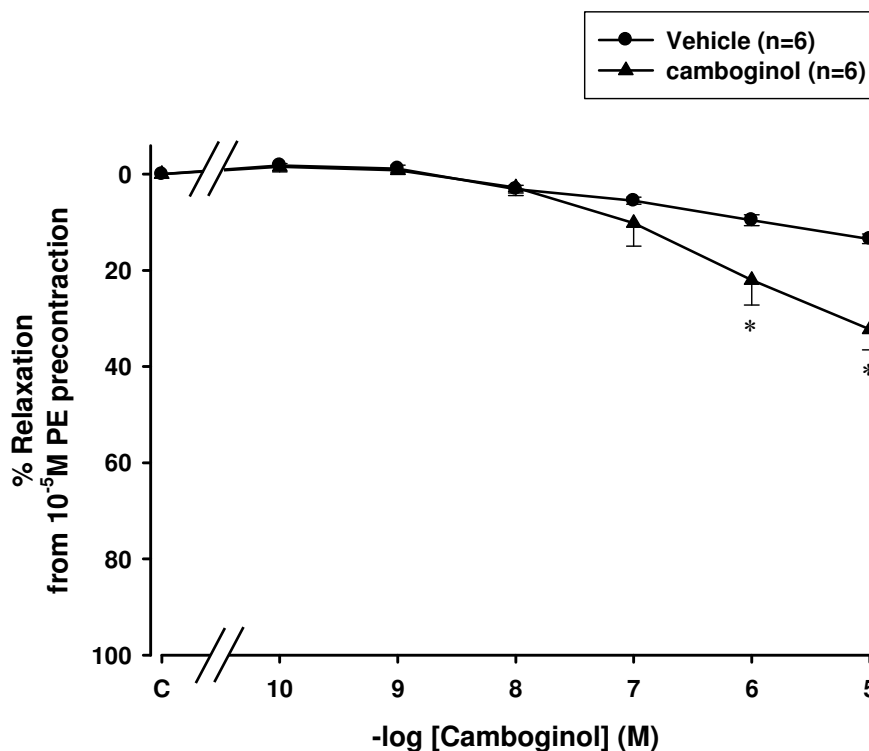
ตารางที่ 3.6 แสดงค่า 50% effective concentration (EC_{50}) ของ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-5} M PE ในกลุ่ม morelloflavone และกลุ่มที่ให้ blockers 2 ชนิด ได้แก่ N^G -nitro-L-arginine (L-NOARG 10^{-6} M) และ sildenafil citrate (10^{-5} M) ค่าที่แสดงคือ mean \pm S.E.M.

50% effective concentration (EC_{50}) (μ M)	
Treatment	Morelloflavone
	5.12 ± 1.36 (n=5)
Sildenafil citrate (10^{-5} M)	2.48 ± 1.64 (n=4)
L-NOARG (10^{-6} M)	-

3.12 การศึกษาฤทธิ์ของ camboginol ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-5} M PE

1. ผลของ camboginol ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-5} M PE

ผลของ camboginol ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-5} M PE แสดงในรูปที่ 3.25 และตารางที่ 20 ในภาคผนวก ผลการทดลองแสดงในค่า % relaxation เมื่อให้ camboginol จำนวน 6 ขนาด ที่ทำให้ความเข้มข้น ใน organ bath แต่ละขนาดมีความเข้มข้นแตกต่างกัน 10 เท่า ระหว่าง 10^{-10} - 10^{-5} M พบว่า corpus cavernosum ที่ได้รับ camboginol ตั้งแต่ความเข้มข้น 10^{-6} และ 10^{-5} M มีการคลายตัว เมื่อเปรียบเทียบกับ vehicle อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ดังนี้ $22.01 \pm 5.14\%$ และ $32.24 \pm 4.30\%$ ตามลำดับ โดยมีค่า E_{\max} เท่ากับ $32.24 \pm 4.30\%$



รูปที่ 3.25 แสดงผลของ vehicle และ camboginol ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-5} M PE แสดงโดยค่า % relaxation from 10^{-5} M PE precontraction

ค่าที่แสดงคือ mean \pm S.E.M. (n=6)

* $P < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม vehicle (unpaired t-test)

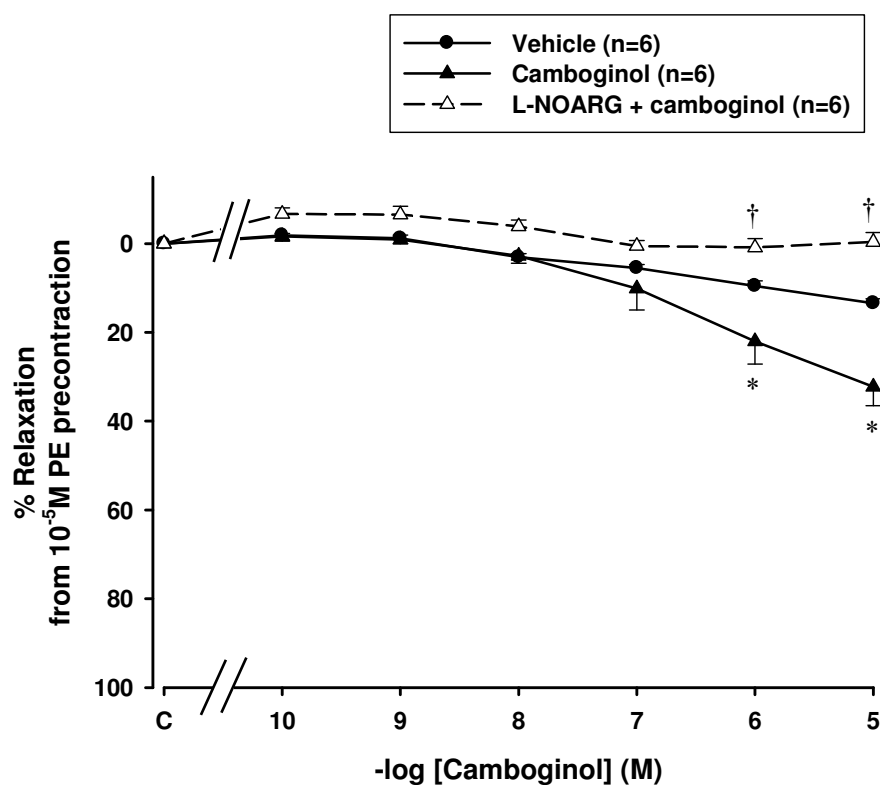
3.13 การศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของ camboginol ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-5} M PE

1.ผลของ camboginol ต่อคลายตัวของ corpus cavernosum ในขณะที่ให้ L-NOARG (10^{-6} M) ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-5} M PE

ผลของ camboginol ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ในขณะที่ให้ L-NOARG (10^{-6} M) แสดงในรูปที่ 3.26 และตารางที่ 22 ในภาคผนวก ผลการทดลองแสดงในค่า % relaxation เมื่อให้ camboginol จำนวน 6 ขนาด ที่ทำให้ความเข้มข้น ใน organ bath แต่ละขนาดมีความเข้มข้นแตกต่างกัน 10 เท่า ระหว่าง 10^{-10} - 10^{-5} M พบว่า corpus cavernosum ที่ได้รับ L-NOARG ตั้งแต่ความเข้มข้น 10^{-6} M และ 10^{-5} M คลายตัวลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ camboginol เพียงอย่างเดียว อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ดังนี้ $0.90 \pm 2.02\%$ และ -0.35 ± 2.11 โดยมีค่า E_{max} เท่ากับ $0.90 \pm 2.02\%$

เมื่อเปรียบเทียบค่า E_{\max} ในกลุ่มที่ได้รับ camboginol เพียงอย่างเดียว ($E_{\max} = 32.24 \pm 4.30\%$) กับกลุ่ม L-NOARG พบว่าค่า E_{\max} ในกลุ่ม L-NOARG ($E_{\max} = 0.90 \pm 2.02\%$) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 3.7

จากการทดลอง corpus cavernosum ในกลุ่มที่ได้รับ L-NOARG มีการคลายตัวน้อยจึงไม่สามารถหาค่า EC_{50} ได้



รูปที่ 3.26 แสดงผลของ vehicle, camboginol และ L-NOARG + camboginol ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ในขณะที่ให้ L-NOARG (10^{-6} M) และทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-5} M PE

แสดงโดยค่า % relaxation from 10^{-5} M PE precontraction

ค่าที่แสดงคือ mean \pm S.E.M. (n=6)

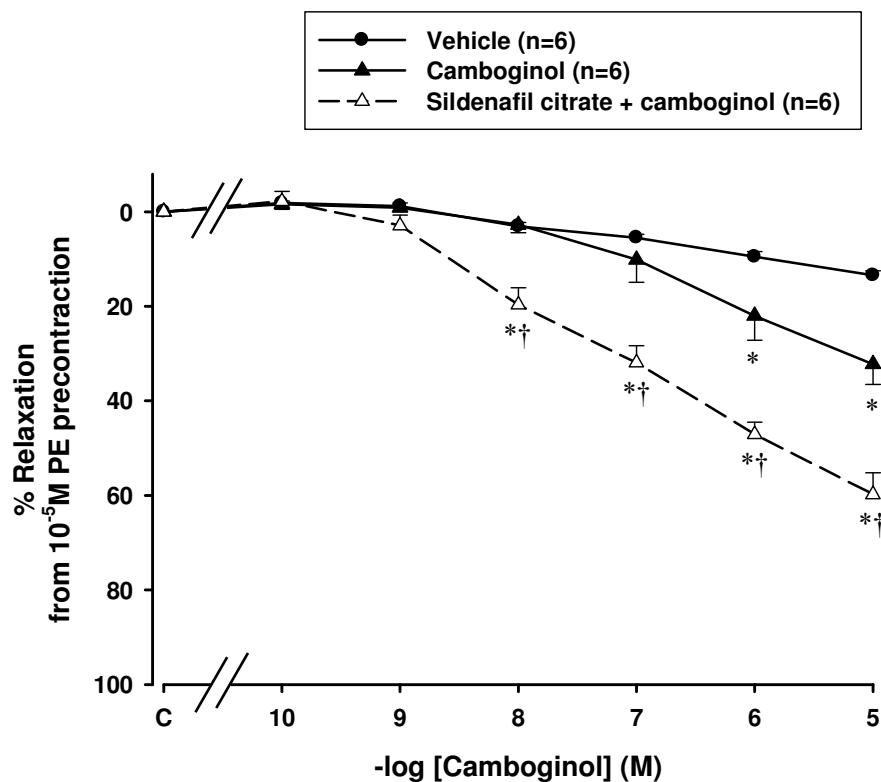
*, †P < 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกลุ่ม vehicle และกลุ่ม camboginol ตามลำดับ (one way ANOVA)

2. ผลของ camboginol ต่อคลายตัวของ corpus cavernosum ในขณะที่ให้ sildenafil citrate (10^{-5} M) ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย

ผลของ camboginol ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ในขณะที่ให้ sildenafil citrate (10^{-5} M) แสดงในรูปที่ 3.27 และตารางที่ 24 ในภาคผนวก ผลการทดลองแสดงในค่า % relaxation เมื่อให้ camboginol จำนวน 6 ขนาด ที่ทำให้ความเข้มข้น ใน organ bath แต่ละขนาดมีความเข้มข้นแตกต่างกัน 10 เท่า ระหว่าง 10^{-10} - 10^{-5} M พบว่า corpus cavernosum ที่ได้รับ sildenafil citrate ตั้งแต่ความเข้มข้น 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} และ 10^{-5} M ตามลำดับ มีการคลายตัวเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ camboginol เพียงอย่างเดียว อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ดังนี้ $19.68 \pm 3.58\%$, $31.96 \pm 3.61\%$, $47.06 \pm 2.52\%$ และ $59.77 \pm 4.55\%$ ตามลำดับ โดยมีค่า E_{max} เท่ากับ $59.77 \pm 4.55\%$

เมื่อเปรียบเทียบค่า E_{max} ในกลุ่มที่ได้รับ camboginol เพียงอย่างเดียว ($E_{max} = 32.24 \pm 4.30\%$) กับกลุ่ม sildenafil citrate พบว่าค่า E_{max} ในกลุ่ม sildenafil citrate ($E_{max} = 59.77 \pm 4.55\%$) เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 3.7

จากการหาค่า EC_{50} ของกลุ่มที่ได้รับ sildenafil citrate พบว่าเท่ากับ 1.64 ± 0.51 μ M ดังแสดงในตารางที่ 3.8



รูปที่ 3.27 แสดงผลของ vehicle, camboginol และ sildenafil citrate + camboginol ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ในขณะที่ให้ sildenafil citrate (10^{-5} M) และทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-5} M PE

แสดงโดยค่า % relaxation from 10^{-5} M PE precontraction

ค่าที่แสดงคือ mean \pm S.E.M. (n=6)

*, †P < 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม vehicle และกลุ่ม camboginol ตามลำดับ (one way ANOVA)

ตารางที่ 3.7 แสดงค่า maximal relaxation, E_{max} (%) ในกลุ่ม camboginol, L-NOARG (10^{-6} M) และ sildenafil citrate (10^{-5} M) ที่ตอบสนองต่อ camboginol

*P < 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม camboginol (unpaired t-test)

Group	Maximal relaxation, E_{max} (%)
Camboginol	32.24 \pm 4.30
Camboginol + L-NOARG	0.90 \pm 2.02*
Camboginol + sildenafil citrate	59.77 \pm 4.55*

ตารางที่ 3.8 แสดงค่า 50% effective concentration (EC_{50}) ของ camboginol ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-5} M PE ในกลุ่ม camboginol และกลุ่มที่ให้ blockers 2 ชนิด ได้แก่ *N*^G-nitro-L-arginine (L-NOARG 10^{-6} M) และ sildenafil citrate (10^{-5} M) ค่าที่แสดงคือ mean \pm S.E.M.

50% effective concentration (EC_{50}) (μ M)	
Treatment	Camboginol
	-
Sildenafil citrate (10^{-5} M)	1.80 ± 0.51 (n=5)
L-NOARG (10^{-6} M)	-

บทที่ 4

บทวิจารณ์

4.1 การศึกษาผลของ norepinephrine (NE) และ acetylcholine (ACh) ต่อการหดตัวและการคลายตัวของ thoracic aortic ring

การศึกษานี้เป็นแบบ *in vitro* experiment ซึ่งไม่มีใยประสาทจากระบบประสาทอัตโนมัติและฮอร์โมนในระบบไหลเวียนเลือดมาควบคุมการทำงานของหลอดเลือดที่ใช้ในการทดลอง โดยทั่วไปในภาวะปกติหลอดเลือดในร่างกายถูกควบคุมโดยระบบประสาทอัตโนมัติคือ sympathetic และ parasympathetic ซึ่งระบบประสาท sympathetic มีใยประสาทไปเลี้ยงหลอดเลือด 2 ชนิด คือ sympathetic adrenergic fiber ปลายประสาทหลัง NE ทำให้หลอดเลือดหดตัวและ sympathetic cholinergic fiber ปลายประสาทหลัง ACh ทำให้หลอดเลือดคลายตัว

1. การตอบสนองของ NE ต่อการหดตัวของ aortic ring

ในการทดลองนี้ทำ precontraction หรือทำให้หลอดเลือดหดตัวก่อนด้วย NE ที่ความเข้มข้น 10^{-7} M ซึ่งทำ aortic ring หดตัวได้ประมาณ 70% ของค่า maximal tension ซึ่งเป็นการออกแบบให้หลอดเลือดมีความตึงตัว เนื่องจากระบบประสาทอัตโนมัติถูกตัดขาด เช่นเดียวกับการศึกษาของ Ajagbonna และคณะ (2001) Aguirre และคณะ (2006) และการศึกษาของ Figard และคณะ (2008)

จากการทดลอง การตอบสนองของ NE ต่อการหดตัวของ aortic ring ในกลุ่ม intact endothelium และกลุ่ม denude พบว่า กลุ่ม denude มีการหดตัวมากกว่าในกลุ่ม intact endothelium อย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในรูปที่ 3.1 ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Karimi และคณะ (2002) และ Pagan และคณะ (2012) โดย Karimi และคณะ (2002) ได้อธิบายว่า ในหลอดเลือดที่มีการทำลาย endothelium การสร้างและหลั่งสาร vasodilator จาก endothelial cell ถูกยับยั้ง ซึ่งในสภาวะปกติจะมีการสร้างและหลั่งสาร vasodilator และ vasoconstrictor ออกมาเพื่อควบคุมสมดุลการหดตัวและคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด เมื่อหลอดเลือดที่มีการทำลาย endothelium การสร้างและหลั่งสาร vasodilator ถูกยับยั้ง ทำให้การตอบสนองต่อตัวกระตุ้น เช่น PE และ NE เพิ่มขึ้น

2. การตอบสนองของ ACh ต่อการคลายตัวของ aortic ring

จากการทดลอง การตอบสนองของ ACh ต่อการคลายตัวของ aortic ring ในกลุ่ม intact endothelium และ denude พบว่า กลุ่ม denude มีการคลายตัวน้อยกว่ากลุ่ม intact endothelium อย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในรูปที่ 3.2 โดยการออกฤทธิ์และกลไกการออกฤทธิ์ของ ACh จะจับกับ muscarinic receptor ที่ endothelial cell มีผลทำให้เกิดการคลายตัวของหลอดเลือดผ่านการสร้างและการหลั่ง endothelium-derived relaxing factors (EDRF) ได้แก่ NO, PGI₂ และ EDHF จาก endothelial cell ซึ่งหลอดเลือดที่มีการทำลาย endothelium ทำให้การสร้างและหลั่ง EDRF ลดลง จึงส่งผลให้หลอดเลือด ในกลุ่ม denude มีการคลายตัวน้อยกว่ากลุ่ม intact endothelium

ในการทดสอบการคลายตัวของหลอดเลือดโดยการควบคุมจาก endothelium จะเลือกใช้ ACh ที่ความเข้มข้น 10^{-5} M ซึ่งทำให้เกิดการคลายตัวประมาณ 80%

4.2 การศึกษาฤทธิ์ของ morelloflavone ต่อคลายตัวของ aortic ring ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE

1. ผลของ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ aortic ring

การศึกษากฤทธิ์ของสาร morelloflavone ในหลอดเลือดแดง thoracic พบว่า morelloflavone ตั้งแต่ความเข้มข้น 10^{-9} - 10^{-5} M ทำให้หลอดเลือดมีการคลายตัวแบบ dose-dependent อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม vehicle ดังแสดงในรูปที่ 3.3 morelloflavone เป็นสารในกลุ่ม flavonoid เช่นเดียวกับ chrysin, diadzein, epigallocatechin gallate, fisetin, flavone, naringenin, quercetin, dioclein และ galangin ที่มีรายงานว่า ทำให้หลอดเลือดแดง thoracic ที่ชักนำให้หดตัวก่อนด้วย phenylephrine คลายตัวแบบ dose-dependent (Lemos et al., 1999; Ajay et al., 2003; Morello et al., 2006)

4.3 การศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ aortic ring ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE

1. กลไกการออกฤทธิ์ของ morelloflavone ผ่านการทำงานของ endothelium (endothelium-dependent)

กลไกการออกฤทธิ์ผ่านการทำงานของ endothelium (endothelium-dependent) ได้ทำการทดลองในหลอดเลือดที่มีการทำลาย endothelium โดยวิธี mechanical disruption ผลการทดลองพบว่า morelloflavone ไม่มีผลต่อการคลายตัวของ aortic ring ที่มีการทำลาย endothelium ดังแสดงในรูปที่ 3.4 และเมื่อเปรียบเทียบค่า E_{max} ของกลุ่ม denude กับกลุ่ม intact endothelium

พบว่า กลุ่ม denude มีค่า E_{max} ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในตารางที่ 3.1 ดังนั้นกลไกการออกฤทธิ์ของ morelloflavone จึงเป็นแบบ endothelium-dependent โดยอาศัยสาร vasodilator(s) จาก endothelium มีการทดลองที่สนับสนุนกลไกดังกล่าว เช่น การใช้ dioclein ซึ่งเป็นสารกลุ่ม flavonoid สกัดจาก *Dioclea grandiflora* (Leguminosae) จากการทดลองพบว่า dioclein ที่ความเข้มข้น 0.01-30 μM ไม่มีผลทำให้เกิดการคลายตัวของ aortic ring ที่มีการทำลาย endothelium การทดลองครั้งนี้สรุปว่า กลไกการออกฤทธิ์ของ dioclein ที่ทำให้เกิดการคลายตัวของ aortic ring ผ่าน endothelium-dependent (Lemos et al., 1999)

2. กลไกการออกฤทธิ์ของ morelloflavone ผ่านการทำงานของ nitric oxide

การศึกษาการตอบสนองของ aortic ring ต่อ NE (10^{-10} - 10^{-3} M) ที่มีการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ NOS ซึ่งทำให้การสร้างหรือหลั่ง NO ลดลง โดยการ incubate หลอดเลือดด้วย L-NOARG ที่ความเข้มข้น 10^{-6} M เป็นเวลา 30 นาที ก่อนให้ NE (10^{-10} - 10^{-3} M) ใน intact endothelium พบว่า กลุ่ม intact endothelium มีการหดตัวเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม control อย่างมีนัยสำคัญ ตั้งแต่ความเข้มข้น 10^{-8} - 10^{-3} M ดังแสดงในรูปที่ 3.5 แสดงว่าหลอดเลือดที่แขวนให้ดึงตัว 1 g จะมีกลไกการออกฤทธิ์ที่เกิดจาก NO เนื่องจากผลของการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ NOS ทำให้หลอดเลือดตอบสนองต่อ NE เพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Pagan และคณะ (2012) เมื่อ incubate หลอดเลือดด้วย L-NOARG ทำให้หลอดเลือดมีการตอบสนองต่อ NE เพิ่มขึ้นกว่ากลุ่ม control เนื่องจาก มีการยับยั้งการสร้าง NO ซึ่งในสภาวะปกติจะมีการสร้าง NO มาเพื่อรักษาสมดุลของการหดและคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด (Kun et al., 2003) จึงทำให้การตอบสนองต่อ NE ในกลุ่มที่ incubate ด้วย L-NOARG เพิ่มขึ้น มากกว่ากลุ่ม control ซึ่งจากผลการทดลองนี้ทำให้ L-NOARG ความเข้มข้น 10^{-6} M สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ NOS ได้ โดยจากการทดลองที่มีการตอบสนองต่อ NE เพิ่มขึ้น

ปัจจุบันพบว่า การศึกษาเกี่ยวกับกลไกการออกฤทธิ์ของสารต่าง ๆ โดยอาศัยการสร้างหรือหลั่ง NO จาก endothelial cell นอกจากจะใช้ L-NOARG เป็นตัวยับยั้งการทำงานของ eNOS แล้ว ยังนิยมใช้สารตัวอื่นอีก เช่น N^{O} -nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) (Lemos et al., 1999) ซึ่งความเข้มข้นที่ใช้จะอยู่ในช่วง 1-300 μM (Ajay et al., 2003; Cruz et al., 2006; Lemos et al., 1999) จากการศึกษาก่อนหน้านี้ของ Martinez และคณะ (2005) ได้ศึกษาการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ ACh ในขณะที่ให้ L-NOARG และ L-NAME พบว่าการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ ACh ในกลุ่มที่ให้ L-NOARG และ L-NAME ไม่มีความแตกต่างกัน ซึ่งการเลือกใช้ nitric oxide blocker อาจจะเลือกใช้ตัวใดตัวหนึ่งได้ เนื่องจาก blocker ในกลุ่มนี้เป็นตัวยับยั้งการทำงานของ NOS ทั้งหมด

กลไกการออกฤทธิ์ของ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ aortic ring ผ่านการทำงานของ NO โดย incubate หลอดเลือดด้วย L-NOARG (10^{-6} M) เป็นเวลา 30 นาที ก่อนให้ morelloflavone จากผลการทดลอง พบว่า เมื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ NOS หลอดเลือดมีการคลายตัวลดลงอย่างนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ morelloflavone เพียงอย่างเดียว ดังแสดงในรูปที่ 3.6 และเมื่อเปรียบเทียบค่า E_{max} ในกลุ่มที่ได้รับ morelloflavone เพียงอย่างเดียวกับกลุ่มที่ได้รับ L-NOARG (10^{-6} M) พบว่าค่า E_{max} ในกลุ่ม L-NOARG (10^{-6} M) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในตารางที่ 3.1 ดังนั้นกลไกการออกฤทธิ์ของ morelloflavone อาศัยการสร้างหรือหลั่ง NO จาก endothelial cell ซึ่งจากการศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของสารในกลุ่ม flavonoid อื่น ๆ ที่สอดคล้องกัน เช่น การศึกษาของ Ajay และคณะ (2003) ที่ชักนำให้เกิดการคลายตัวของ aortic ring โดยใช้ diadzein, fisetin, naringenin และ quercetin ที่ความเข้มข้น 0.1-0.3 mM และเมื่อ incubate หลอดเลือดด้วย L-NAME (100 μ M) ทำให้การคลายตัวของ aortic ring ลดลง และการศึกษาของ Lemos และคณะ (1999) ชักนำให้เกิดการคลายตัวของ aortic ring โดยใช้ dioclein ที่ความเข้มข้น 0.01-30 μ M และเมื่อ incubate หลอดเลือด ด้วยใช้ L-NAME (300 μ M) ทำให้การคลายตัวของ aortic ring ลดลง

3. กลไกการออกฤทธิ์ของ morelloflavone ผ่านการทำงานของ prostacyclin (PGI_2)

การศึกษากการตอบสนองของ aortic ring ต่อ NE (10^{-10} - 10^{-3} M) ที่มีการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ cyclooxygenase ที่ endothelium ด้วย indomethacin (10^{-5} M) โดย incubate หลอดเลือดด้วย indomethacin เป็นเวลา 20 นาที ก่อนให้ NE (10^{-10} - 10^{-3} M) ใน intact endothelium พบว่า intact endothelium มีการหดตัวน้อยลง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม control อย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในรูปที่ 3.7 ในการทดสอบกลไกการคลายตัวของหลอดเลือดแดงโดยอาศัยการทำงานของ PGI_2 นิยมใช้ indomethacin ซึ่ง indomethacin เป็นสารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ cyclooxygenase ทั้งใน COX 1 และ COX 2 มีผลทำให้การสร้างและการหลั่ง vasoconstrictor cyclooxygenase และ vasodilator cyclooxygenase ที่ endothelium ลดลง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Karimi และคณะ (2002) ได้ศึกษาการตอบสนองของ aortic ring ต่อ phenylephrine (10^{-10} - 10^{-5} M) เมื่อ incubate ด้วย indomethacin (20 μ M) พบว่า aortic ring มีการหดตัวน้อยลง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับ indomethacin อย่างมีนัยสำคัญและจากการศึกษาของ Aloysius และคณะ (2012) โดยศึกษาการตอบสนองของ aortic ring ต่อ phenylephrine (10^{-11} - 10^{-5} M) เมื่อ incubate ด้วย indomethacin (10^{-5} M) พบว่า aortic ring มีการหดตัวน้อยลง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม control อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งอาจเนื่องมาจาก indomethacin เป็น nonselective cyclooxygenase inhibitor

(Weigert et al., 2008) อาจจะทำให้เกิดการยับยั้งการสร้างทั้ง vasoconstrictor cyclooxygenase และ vasodilator cyclooxygenase ที่ endothelium (Aloysius et al., 2012) หรืออาจเกิดจากการกระตุ้น β_2 -adrenoreceptor ซึ่งเกิดจากความเข้มข้นของ NE ที่เพิ่มขึ้น ก็อาจจะนำไปสู่การคลายตัวของ aortic ring จึงทำให้ aortic ring มีการตอบสนองต่อ PE และ NE ลดลง

ดังนั้น indomethacin ที่ความเข้มข้น 10^{-5} M สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ cyclooxygenase ได้ โดยจากผลการทดลองที่มีการตอบสนองต่อ NE ลดลง ซึ่งในปัจจุบันพบว่าการศึกษาเกี่ยวกับกลไกการออกฤทธิ์ของสารต่าง ๆ โดยอาศัยการสร้างหรือหลัง PGI_2 จาก endothelial cell ความเข้มข้นที่ใช้ส่วนใหญ่จะอยู่ในช่วง 10-20 μ M (Aloysius et al., 2012; Karimi et al., 2002; Lemos et al., 1999; Morello et al., 2006)

กลไกการออกฤทธิ์ของ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ aortic ring ผ่านการทำงานของ PGI_2 โดย incubate หลอดเลือดด้วย indomethacin (10^{-5} M) เพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ cyclooxygenase ที่ endothelium เพื่อยับยั้งการสร้าง PGI_2 จากการทดลองพบว่า aortic ring มีการคลายตัวไม่มีความแตกต่าง อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ morelloflavone เพียงอย่างเดียว ดังแสดงในรูปที่ 3.8 และเมื่อเปรียบเทียบค่า E_{max} ในกลุ่มที่ได้รับ morelloflavone เพียงอย่างเดียวกับกลุ่มที่ได้รับ indomethacin พบว่าค่า E_{max} ในกลุ่มที่ได้รับ indomethacin ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในตารางที่ 3.1 และเมื่อเปรียบเทียบค่า EC_{50} ระหว่างกลุ่มที่ได้รับ morelloflavone เพียงอย่างเดียว กับกลุ่มที่ได้รับ indomethacin พบว่าค่า EC_{50} ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในตารางที่ 3.2 ดังนั้น กลไกการออกฤทธิ์ของ morelloflavone อาศัยการยับยั้ง vasoconstrictor cyclooxygenase และไม่อาศัยการสร้างหรือหลัง PGI_2 ซึ่งจัดเป็น vasodilator cyclooxygenase ที่ endothelial cell โดยมีรายงานก่อนหน้านี้พบว่า เมื่อชักนำให้ aortic ring คลายตัวด้วย dioclein ที่ความเข้มข้น 0.01-30 μ M และ galangin ที่ความเข้มข้น 0.1-100 μ M ซึ่งเป็นสารกลุ่ม flavonoids และเมื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ cyclooxygenase โดยใช้ indomethacin (10 μ M) พบว่า aortic ring สามารถคลายตัวได้ไม่แตกต่างจากเมื่อให้ dioclein และ galangin เพียงอย่างเดียว (Lemos et al., 1999, Morello et al., 2006)

4. กลไกการออกฤทธิ์ของ morelloflavone ผ่านการเปิด ATP-sensitive K^+ channel (K^+_{ATP})

การศึกษากการตอบสนองของ aortic ring ต่อ NE (10^{-10} - 10^{-3} M) ที่มีการยับยั้งการทำงานของ K^+_{ATP} channel ที่ endothelium ด้วย glibenclamide ที่ความเข้มข้น 10^{-5} M โดย incubate หลอดเลือดด้วย glibenclamide เป็นเวลา 20 นาที ก่อนให้ NE (10^{-10} - 10^{-3} M) ใน intact endothelium พบว่า กลุ่ม intact endothelium มีการหดตัวไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับ

กลุ่ม control ดังแสดงในรูปที่ 3.9 ในปัจจุบันพบว่า การศึกษาเกี่ยวกับกลไกการออกฤทธิ์ของสารต่าง ๆ โดยอาศัยการเปิดของ K^+_{ATP} ที่กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด ความเข้มข้นที่ใช้ส่วนใหญ่จะอยู่ในช่วง 1-100 μM (Huang et al., 1997; Moroe and Honda., 2006; Pagan et al., 2012; Senejoux et al., 2010) ในการทดลองครั้งนี้ใช้ glibenclamide (10^{-5}M) ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ใช้ทั่วไป ดังนั้น จากการทดลองครั้งนี้ glibenclamide ที่ความเข้มข้น 10^{-5}M ไม่สามารถยับยั้งการทำงานของ K^+_{ATP}

กลไกการออกฤทธิ์ของ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ aortic ring ผ่านการทำงานของ K^+_{ATP} channel โดย incubate หลอดเลือดด้วย glibenclamide (10^{-5}M) เพื่อยับยั้งการเปิดของ K^+_{ATP} channel จากการทดลองพบว่า aortic ring ที่ได้รับ glibenclamide มีการคลายตัวลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ morelloflavone เพียงอย่างเดียว ดังแสดงในรูปที่ 3.10 และเมื่อเปรียบเทียบค่า E_{max} ในกลุ่มที่ได้รับ morelloflavone เพียงอย่างเดียวกับกลุ่ม glibenclamide พบว่าค่า E_{max} ในกลุ่มที่ได้รับ glibenclamide ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในตารางที่ 3.1 และเมื่อเปรียบเทียบค่า EC_{50} ระหว่างกลุ่มที่ได้รับ morelloflavone เพียงอย่างเดียวกับกลุ่ม glibenclamide พบว่า ในกลุ่ม glibenclamide มีค่า EC_{50} เพิ่มขึ้น อย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในตารางที่ 3.2 ดังนั้น กลไกการออกฤทธิ์ของ morelloflavone อาศัยการเปิดของ K^+_{ATP} channel ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ของ Senejoux และคณะ (2010) ได้ชักนำให้เกิดการคลายตัวของ aortic ring ด้วย สารสกัดหยาบจาก *Ziziphora clinopodioides* Lam. ซึ่งมีสารประกอบสำคัญจัดอยู่ในกลุ่ม flavonoid เมื่อ incubate ด้วย glibenclamide (10^{-4}M) ทำให้ aortic ring คลายตัวลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับ การให้สารสกัดเพียงอย่างเดียว

5. กลไกการออกฤทธิ์ของ morelloflavone ผ่านการเปิด Ca^{2+} -activated

K^+ channel

การศึกษากการตอบสนองของ aortic ring ต่อ NE (10^{-10} - 10^{-3}M) ที่มีการยับยั้งการทำงานของ K^+_{Ca} channel ที่ endothelium ด้วย TEA ที่ความเข้มข้น 10^{-3}M โดย incubate หลอดเลือดด้วย TEA เป็นเวลา 20 นาที ก่อนให้ NE (10^{-10} - 10^{-3}M) ใน intact endothelium พบว่า กลุ่ม intact endothelium มีการหดตัวไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม control ดังแสดงในรูปที่ 3.11 ในปัจจุบันพบว่า การศึกษาเกี่ยวกับกลไกการออกฤทธิ์ของสารต่าง ๆ โดยอาศัยการเปิดของ K^+_{Ca} channel ที่กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด ความเข้มข้นที่ใช้ส่วนใหญ่จะอยู่ในช่วง 0.3-10 mM (Niu et al., 2008; Pagan et al., 2012) ในการทดลองครั้งนี้ใช้ TEA (10^{-3}M) ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ใช้ทั่วไป ดังนั้น TEA ที่ความเข้มข้น 10^{-3}M ไม่สามารถยับยั้งการทำงานของ K^+_{Ca} channel

กลไกการออกฤทธิ์ของ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ aortic ring ผ่านการทำงานของ K^+_{Ca} channel โดย incubate หลอดเลือดด้วย TEA (10^{-3} M) ซึ่งเป็นตัวยับยั้งการเปิดของ K^+_{Ca} channel จากการทดลองพบว่า aortic ring ที่ได้รับ TEA มีการคลายตัวลดลง อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ morelloflavone เพียงอย่างเดียว ดังแสดงในรูปที่ 3.12 และเมื่อเปรียบเทียบค่า E_{max} ในกลุ่มที่ได้รับ morelloflavone เพียงอย่างเดียวกับกลุ่มที่ได้รับ TEA พบว่าค่า E_{max} ในกลุ่ม TEA ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในตารางที่ 3.1 และเมื่อเปรียบเทียบค่า EC_{50} ระหว่างกลุ่มที่ได้รับ morelloflavone เพียงอย่างเดียวกับกลุ่มที่ได้รับ TEA พบว่า ในกลุ่ม TEA มีค่า EC_{50} เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในตารางที่ 3.2 ดังนั้น กลไกการออกฤทธิ์ของ morelloflavone อาศัยการเปิดของ K^+_{Ca} channel ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ของ Niu และคณะ (2008) ได้ชักนำให้เกิดการคลายตัวของ aortic ring ด้วย taurine ที่ความเข้มข้น 20-80 mM และเมื่อ incubate หลอดเลือดด้วย TEA (10 mM) พบว่า aortic ring มีการคลายตัวลดลง เมื่อเทียบกับการให้ taurine เพียงอย่างเดียว อย่างมีนัยสำคัญ และจากการศึกษาของ Rattmann และคณะ (2006) ได้ชักนำให้เกิดการคลายตัวของ aortic ring ด้วย สารสกัดหยาบจาก *Maytenus ilicifolia* และเมื่อ incubate หลอดเลือดด้วย TEA (0.3 mM) พบว่า aortic ring มีการคลายตัวลดลง เมื่อเทียบกับการให้ *Maytenus ilicifolia* เพียงอย่างเดียว อย่างมีนัยสำคัญ

จากการทดลองครั้งนี้สรุปได้ว่า morelloflavone ที่สกัดจากผลมะพูด มีฤทธิ์ทำให้ aortic ring คลายตัว โดยมีกลไกการออกฤทธิ์ คือ 1) endothelium-dependent อาศัยการสร้างหรือหลั่ง NO จาก endothelium 2) กระตุ้นการเปิดของ K^+_{ATP} channel และ 3) กระตุ้นการเปิดของ K^+_{Ca} channel

4.4 การศึกษาฤทธิ์ของ camboginol ต่อคลายตัวของ aortic ring ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE

1. ผลของ camboginol ต่อการคลายตัวของ aortic ring

การศึกษากฤทธิ์ของสาร camboginol ในหลอดเลือดแดง thoracic พบว่า กลุ่มที่ได้รับ camboginol ตั้งแต่ความเข้มข้น 10^{-9} - 10^{-3} M หลอดเลือดมีการคลายตัว เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม vehicle อย่างมีนัยสำคัญ แม้ว่าที่ความเข้มข้น 10^{-5} - 10^{-3} M หลอดเลือดจะมีการคลายตัวน้อยกว่าความเข้มข้น 10^{-6} M ซึ่งเมื่อทดสอบทางสถิติพบว่าที่ความเข้มข้น 10^{-6} M และ 10^{-5} - 10^{-3} M พบว่าค่าเปอร์เซ็นต์การคลายตัว ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในรูปที่ 3.13 ซึ่ง camboginol เป็นสารในกลุ่ม benzophenone ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Cruz และคณะ (2006) พบว่า 7-epiclusianone สกัดจาก *Rheedia gardneriana* ซึ่งเป็นสารกลุ่ม benzophenone สามารถทำ

ให้หลอดเลือดแดง thoracic คลายตัวได้ที่มีความเข้มข้นต่ำ (10^{-8} - 10^{-5} M) โดย อาศัยการสร้างและหลั่ง NO จาก endothelium เพิ่มขึ้น แต่ที่ความเข้มข้นสูง (10^{-4} M) มีผลทำให้หลอดเลือดแดง thoracic หดตัว โดยอาศัยการทำงานของ cyclooxygenase-derived contractile factor(s)

4.5 การศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของ camboginol ต่อการคลายตัวของ aortic ring ที่ทำให้หดตัว ก่อนด้วย 10^{-7} M NE

1. กลไกการออกฤทธิ์ของ camboginol ผ่านการทำงานของ endothelium

(endothelium-dependent)

ผลการทดลองพบว่า camboginol ไม่มีผลต่อการคลายตัวของ aortic ring ที่มีการทำลาย endothelium ดังแสดงในรูปที่ 3.14 และเมื่อเปรียบเทียบค่า E_{max} ของกลุ่ม denude กับกลุ่ม intact endothelium พบว่า กลุ่ม denude มีค่า E_{max} ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในตารางที่ 3.3 ดังนั้น กลไกการออกฤทธิ์ของ camboginol เป็นแบบ endothelium-dependent โดยอาศัยสาร vasodilator(s) จาก endothelium ซึ่งการทดลองก่อนหน้านี้ พบว่า สารในกลุ่ม benzophenone คือ 7-epiclusianone สกัดจาก *Rheedia gardneriana* พบว่าที่ความเข้มข้น 10^{-8} - 10^{-4} M ไม่มีผลทำให้ aortic ring ที่มีการทำลาย endothelium คลายตัว การทดลองครั้งนี้สรุปว่ากลไกการออกฤทธิ์ของ 7-epiclusianone ผ่านการทำงานของ endothelium และการสร้าง NO เพิ่มขึ้น (Cruz et al., 2006)

2. กลไกการออกฤทธิ์ของ camboginol ผ่านการทำงานของ nitric oxide

กลไกการออกฤทธิ์ของ camboginol ต่อการคลายตัวของ aortic ring ผ่านการทำงานของ NO โดย incubate หลอดเลือดด้วย L-NOARG ที่ความเข้มข้น 10^{-6} M เป็นเวลา 30 นาที ก่อนให้ camboginol จากผลการทดลอง พบว่า เมื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ NOS หลอดเลือดมีการคลายตัวลดลง อย่างนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ camboginol เพียงอย่างเดียว ดังแสดงในรูปที่ 3.15 และเมื่อเปรียบเทียบค่า E_{max} ในกลุ่มที่ได้รับ camboginol เพียงอย่างเดียวกับกลุ่ม L-NOARG พบว่าค่า E_{max} ในกลุ่ม L-NOARG ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในตารางที่ 3.3 ดังนั้น กลไกการออกฤทธิ์ของ camboginol อาศัยการสร้างหรือหลั่ง NO จาก endothelial cell จากการศึกษา กลไกการออกฤทธิ์ของสารในกลุ่ม benzophenone อื่น ๆ ที่สอดคล้องกัน พบว่า จากการศึกษาของ Cruz และคณะ (2006) ชักนำให้เกิดการคลายตัวของ aortic ring โดยใช้ 7-epiclusianone ที่ความเข้มข้น 10^{-8} - 10^{-4} M และเมื่อ incubate หลอดเลือด ด้วย L-NAME (100 μ M) พบว่า ทำให้การคลายตัวของ aortic ring ลดลง

3. กลไกการออกฤทธิ์ของ camboginol ผ่านการทำงานของ prostacyclin

กลไกการออกฤทธิ์ของ camboginol ต่อการคลายตัวของ aortic ring ผ่านการทำงานของ PGI_2 จากการทดลองพบว่า aortic ring มีการคลายตัวไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ camboginol เพียงอย่างเดียว ดังแสดงในรูปที่ 3.16 และเมื่อเปรียบเทียบกับค่า E_{\max} ในกลุ่มที่ได้รับ camboginol เพียงอย่างเดียวกับกลุ่ม indomethacin พบว่าค่า E_{\max} ในกลุ่ม indomethacin ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในตารางที่ 3.3 และเมื่อเปรียบเทียบกับค่า EC_{50} ระหว่างกลุ่มที่ได้รับ camboginol เพียงอย่างเดียว กับกลุ่มที่ได้รับ indomethacin พบว่าค่า EC_{50} ของทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในตารางที่ 3.4 ดังนั้น กลไกการออกฤทธิ์ของ camboginol อาจจะไปยับยั้ง vasoconstrictor cyclooxygenase และไม่อาศัยการสร้างหรือหลัง PGI_2 ซึ่งจัดเป็น vasodilator cyclooxygenase ที่ endothelial cell โดยมีรายงานก่อนหน้านี้พบว่า เมื่อชักนำให้ aortic ring คลายตัวด้วย 7-epiclusianone ที่ความเข้มข้น 10^{-8} - 10^{-4} M ซึ่งเป็นสารกลุ่ม benzophenone และเมื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ cyclooxygenase โดยใช้ indomethacin ($10 \mu\text{M}$) พบว่า aortic ring สามารถคลายตัวได้ไม่แตกต่างจากเมื่อให้ 7-epiclusianone เพียงอย่างเดียว (Cruz et al., 2006)

4. กลไกการออกฤทธิ์ของ camboginol ผ่านการเปิดของ K^+_{ATP} channel

กลไกการออกฤทธิ์ของ camboginol ต่อการคลายตัวของ aortic ring ผ่านการเปิดของ K^+_{ATP} channel โดยการ incubate หลอดเลือดด้วย glibenclamide (10^{-5} M) จากการทดลองพบว่า aortic ring กลุ่มที่ได้รับ glibenclamide มีการคลายตัวไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ camboginol เพียงอย่างเดียว ดังแสดงในรูปที่ 3.17 และเมื่อเปรียบเทียบกับค่า E_{\max} ในกลุ่มที่ได้รับ camboginol เพียงอย่างเดียว กับกลุ่ม glibenclamide พบว่าค่า E_{\max} ในกลุ่ม glibenclamide ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในตารางที่ 3.3 และเมื่อเปรียบเทียบกับค่า EC_{50} ระหว่างกลุ่มที่ได้รับ camboginol เพียงอย่างเดียว กับกลุ่มที่ได้รับ glibenclamide พบว่าค่า EC_{50} ของทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในตารางที่ 3.4 ดังนั้น กลไกการออกฤทธิ์ของ camboginol ไม่อาศัยการเปิดของ K^+_{ATP} channel

5. กลไกการออกฤทธิ์ของ camboginol ผ่านการเปิดของ K^+_{Ca} channel

กลไกการออกฤทธิ์ของ camboginol ต่อการคลายตัวของ aortic ring ผ่านการเปิดของ K^+_{Ca} channel โดยการ incubate หลอดเลือดด้วย TEA (10^{-3} M) จากการทดลองพบว่า aortic ring กลุ่มที่ได้รับ TEA มีการคลายตัวไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ camboginol เพียงอย่างเดียวดังแสดงในรูปที่ 3.18 และเมื่อเปรียบเทียบกับค่า E_{\max} ในกลุ่มที่ได้รับ camboginol เพียงอย่างเดียวกับกลุ่ม TEA พบว่าค่า E_{\max} ในกลุ่ม TEA ไม่มีความแตกต่างอย่างมี

นัยสำคัญ ดังแสดงในตารางที่ 3.3 และเมื่อเปรียบเทียบค่า EC_{50} ระหว่างกลุ่มที่ได้รับ camboginol เพียงอย่างเดียว กับกลุ่มที่ได้รับ TEA พบว่าค่า EC_{50} ของทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในตารางที่ 3.4 ดังนั้น กลไกการออกฤทธิ์ของ camboginol ไม่อาศัยการเปิดของ K^+_{Ca} channel

จากการทดลองครั้งนี้สรุปได้ว่า camboginol ที่สกัดจากผลมะพูค มีฤทธิ์ทำให้ aortic ring คลายตัว โดยมีกลไกการออกฤทธิ์ คือ endothelium-dependent อาศัยการสร้างหรือหลั่ง NO จาก endothelium

4.6 การศึกษาการตอบสนองของ phenylephrine (PE), ACh และ sildenafil citrate ต่อการหดตัวและการคลายตัวของ corpus cavernosum

1. การตอบสนองของ PE ต่อการหดตัวของ corpus cavernosum

การทดลองในส่วน corpus cavernosum เป็นการศึกษาแบบ *in vitro* experiment เช่นเดียวกับใน aortic ring ซึ่งศึกษาฤทธิ์และกลไกการออกฤทธิ์ของ morelloflavone และ camboginol ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ซึ่งในการทดลองครั้งนี้มีการชักนำให้เนื้อเยื่อหดตัวก่อนให้ morelloflavone และ camboginol การทดลองครั้งนี้ใช้ phenylephrine (PE) ทำให้ corpus cavernosum หดตัวก่อน เพราะจากการทดลองก่อนหน้านี้ได้ทดลองการตอบสนองต่อ NE ใน corpus cavernosum พบว่ามีการหดตัวของ corpus cavernosum น้อย ดังแสดงในตารางที่ 17 ภาคผนวก อาจเป็นเพราะกลไกการทำงานของ NE ซึ่งสามารถจับกับ α_1 -adrenergic receptor และ β_2 -adrenergic receptor ที่กล้ามเนื้อเรียบ เมื่อความเข้มข้นของ NE เพิ่มสูงขึ้นจะทำให้ NE จับกับ β_2 -adrenergic receptor มีผลทำให้กล้ามเนื้อเรียบคลายตัว จึงทำให้ corpus cavernosum มีการตอบสนองต่อ NE น้อย ส่วนกลไกการทำงานของ PE คือ PE จับกับ α_1 -adrenergic receptor เท่านั้น ซึ่งทำให้เกิดการกระตุ้น receptor-operated Ca^{2+} channel และกระตุ้นการหลั่ง Ca^{2+} จาก SR ทำให้ Ca^{2+} ภายในเซลล์เพิ่มขึ้นและเกิดการหดตัวของ corpus cavernosum (Andersson et al., 2001) ในการทดลองครั้งนี้ใช้ PE ที่ความเข้มข้น 10^{-5} M ชักนำให้ corpus cavernosum หดตัวก่อนการศึกษาผลของ morelloflavone และ camboginol ซึ่งทำให้ corpus cavernosum หดตัวได้ประมาณ 80% ของค่า maximal tension ดังแสดงในรูปที่ 3.19 ซึ่ง PE ที่ขนาดเดียวกันนี้ได้มีรายงานก่อนหน้านี้ มาแล้ว เช่น Aydin และคณะ (2001) และ Hnatyszyn และคณะ (2003-2004)

2. การตอบสนองของ ACh ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum

จากการทดลอง การตอบสนองของ ACh ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum พบว่า corpus cavernosum มีการคลายตัวเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับค่า control อย่างมีนัยสำคัญ ตั้งแต่ความเข้มข้น 10^{-6} - 10^{-3} M ดังแสดงในรูปที่ 3.20 โดยการออกฤทธิ์และกลไกการออกฤทธิ์ของ ACh จะจับกับ muscarinic receptor ที่ endothelial cell มีผลทำให้เกิดการคลายตัวของ corpus cavernosum ผ่านการสร้างและการหลั่ง NO จาก endothelial cell

ดังนั้น การศึกษาผลของ morelloflavone และ camboginol ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum เลือกใช้ ACh ที่ความเข้มข้น 10^{-3} M ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ต่ำที่สุด ที่สามารถทำให้ corpus cavernosum คลายตัวได้มากที่สุด

3. การตอบสนองของ sildenafil citrate ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum

จากการทดลอง ขนาดและการตอบสนองของ sildenafil citrate ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum พบว่า corpus cavernosum มีการคลายตัวเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับค่า control อย่างมีนัยสำคัญ ตั้งแต่ความเข้มข้น 10^{-8} - 10^{-4} M ดังแสดงในรูปที่ 3.21 ซึ่งการออกฤทธิ์และกลไกการออกฤทธิ์ของ sildenafil citrate จะยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ PDE5 ซึ่งเอนไซม์ PDE5 ทำงานโดยการสลาย cGMP ให้กลายเป็น GMP ทำให้ระดับ cGMP ภายในเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ corpus cavernosum ลดลง มีผลทำให้กล้ามเนื้อเรียบ corpus cavernosum คลายตัวได้ลดลง แต่เมื่อมีการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ PDE5 โดย sildenafil citrate มีผลทำให้ระดับ cGMP ภายในเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ corpus cavernosum เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ทำให้เกิดการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ corpus cavernosum เพิ่มขึ้น ดังนั้น การศึกษาผลของ morelloflavone และ camboginol ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum เลือกใช้ sildenafil citrate ที่ความเข้มข้น 10^{-5} M ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดและทำให้ corpus cavernosum คลายตัวได้มากที่สุด

4.7 การศึกษาฤทธิ์ของ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-5} M PE

1. ผลของ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum

การศึกษากฤทธิ์ของสาร morelloflavone ใน corpus cavernosum ผลการทดลองพบว่า morelloflavone ที่ความเข้มข้น 10^{-8} - 10^{-5} M ทำให้ corpus cavernosum คลายตัวเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม vehicle อย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในรูปที่ 3.22 ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่า สารสกัดหยาบจาก *Achyrocline satureioides* ซึ่งพบว่ามีสารประกอบสำคัญจัดอยู่ในกลุ่ม flavonoid มีผลต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ที่แยกออกจากตัวหนู

quinea pig อย่างมีนัยสำคัญที่ความเข้มข้น 25 mg/ml และเมื่อมีการแยกสารสกัดบริสุทธิ์จาก *Achyrocline satureioides* พบว่ามีสารกลุ่ม flavonoid ที่มีผลต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum คือ quercetin และ quercetin 3-methyl ether ที่ความเข้มข้น 0.075 mg/ml (Hnatyszyn et al., 2004)

4.8 การศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE

1. กลไกการออกฤทธิ์ของ morelloflavone ผ่านการทำงานของ nitric oxide

กลไกการออกฤทธิ์ของ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum โดย incubate ด้วย L-NOARG ที่ความเข้มข้น 10^{-6} M เป็นเวลา 30 นาที ก่อนให้ morelloflavone จากผลการทดลอง พบว่า เมื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ NOS หลอดเลือดมีการคลายตัวลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ morelloflavone เพียงอย่างเดียว ดังแสดงในรูปที่ 3.23 และเมื่อเปรียบเทียบค่า E_{max} ในกลุ่มที่ได้รับ morelloflavone เพียงอย่างเดียว กับกลุ่ม L-NOARG พบว่าค่า E_{max} ในกลุ่ม L-NOARG ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในตารางที่ 3.5 ดังนั้น กลไกการออกฤทธิ์ของ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum อาศัยการทำงานของ NO

2. กลไกการออกฤทธิ์ของ morelloflavone ผ่านการยับยั้งการทำงานของ PDE5

กลไกการออกฤทธิ์ของ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum โดย incubate ด้วย sildenafil citrate จากการทดลองพบว่า corpus cavernosum ที่ได้รับ sildenafil citrate คลายตัวไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ morelloflavone เพียงอย่างเดียว ดังแสดงในรูปที่ 3.24 และเมื่อเปรียบเทียบค่า E_{max} ในกลุ่มที่ได้รับ morelloflavone เพียงอย่างเดียวกับกลุ่ม sildenafil citrate พบว่าค่า E_{max} ในกลุ่ม sildenafil citrate คลายตัวไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในตารางที่ 3.5 และเมื่อเปรียบเทียบค่า EC_{50} ระหว่างกลุ่มที่ได้รับ morelloflavone เพียงอย่างเดียว กับกลุ่มที่ได้รับ sildenafil citrate พบว่าค่า EC_{50} ของทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในตารางที่ 3.6 ดังนั้นสรุปได้ว่าการคลายตัวของ corpus cavernosum ที่เกิดจาก morelloflavone มีค่าการคลายตัวสูงสุดแล้ว

จากการทดลองนี้สรุปได้ว่า morelloflavone ที่สกัดจากผลมะพูด มีฤทธิ์ทำให้ corpus cavernosum คลายตัว โดยกลไกการออกฤทธิ์ คือ อาศัยการสร้างหรือหลั่ง NO จาก endothelial cell

4.9 การศึกษาฤทธิ์ของ camboginol ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-5} M PE

1. ผลของ camboginol ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum

การศึกษาฤทธิ์ของสาร camboginol ใน corpus cavernosum ผลการทดลองพบว่า camboginol ที่ความเข้มข้น 10^{-6} - 10^{-5} M ทำให้ corpus cavernosum คลายตัวเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม vehicle อย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในรูปที่ 3.25 การศึกษาการคลายตัวของ corpus cavernosum ใน camboginol ซึ่งเป็นสารกลุ่ม benzophenone พบว่ายังไม่มีการรายงานมาก่อนหน้านี้ ซึ่งนับว่าการศึกษานี้เป็นการศึกษาครั้งแรก

4.10 การศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของ camboginol ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-5} M PE

1. กลไกการออกฤทธิ์ของ camboginol ผ่านการทำงานของ nitric oxide

กลไกการออกฤทธิ์ของ camboginol ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ผ่านการทำงานของ NO โดยการ incubate หลอดเลือดด้วย L-NOARG (10^{-6} M) จากการทดลองพบว่า corpus cavernosum ที่มีการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ NOS มีการคลายตัวลดลง อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ camboginol เพียงอย่างเดียว ดังแสดงในรูปที่ 3.26 และเมื่อเปรียบเทียบค่า E_{max} ในกลุ่มที่ได้รับ camboginol เพียงอย่างเดียว กับกลุ่ม L-NOARG พบว่าค่า E_{max} ในกลุ่ม L-NOARG ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในตารางที่ 3.7 ดังนั้น กลไกการออกฤทธิ์ของ camboginol ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum อาศัยการทำงานของ NO

2. กลไกการออกฤทธิ์ของ camboginol ผ่านการยับยั้งการทำงานของ PDE5

กลไกการออกฤทธิ์ของ camboginol ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ผ่านการยับยั้งการทำงานของ PDE5 โดย incubate ด้วย sildenafil citrate จากการทดลองพบว่า corpus cavernosum ที่ได้รับ sildenafil citrate คลายตัวเพิ่มขึ้น อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ camboginol เพียงอย่างเดียว ดังแสดงในรูปที่ 3.27 และเมื่อเปรียบเทียบค่า E_{max} ในกลุ่มที่ได้รับ camboginol เพียงอย่างเดียวกับกลุ่ม sildenafil citrate พบว่าค่า E_{max} ในกลุ่ม sildenafil citrate เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในตารางที่ 3.7 ดังนั้นสรุปได้ว่าการออกฤทธิ์ของ camboginol ต้องอาศัยกระบวนการยับยั้ง PDE5 ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่า sildenafil citrate ทำให้เกิดการเพิ่มระดับ cGMP ในกล้ามเนื้อเรียบ ทำให้ corpus cavernosum คลายตัว ซึ่งมีการศึกษาก่อนหน้านี้เกี่ยวกับการทำงานของ sildenafil citrate ร่วมกับสารที่ทำให้เกิดการคลายตัวของ corpus cavernosum ของกระต่าย คือ ACh และ SNP โดยทำให้ corpus cavernosum หดตัวก่อนด้วย 10^{-5} M PE พบว่า กลุ่มที่ได้รับ ACh (3×10^{-9})

$3 \times 10^{-5} \text{M}$) และกลุ่มที่ได้รับ SNP (3×10^{-9} - $3 \times 10^{-5} \text{M}$) มีการคลายตัวลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ sildenafil citrate ร่วมด้วย (Aydin et al., 2001)

จากการทดลองนี้สรุปได้ว่า camboginol ที่สกัดจากผลมะพูค มีฤทธิ์ทำให้ corpus cavernosum คลายตัว โดยกลไกการออกฤทธิ์ คือ 1) อาศัยการสร้างหรือหลั่ง NO จาก endothelial cell 2) ใน camboginol อาจจะทำให้อาชีพการเพิ่มระดับ cGMP จากการยับยั้ง PDE5 ด้วย sildenafil citrate ทำให้มีการคลายตัวของ corpus cavernosum เพิ่มขึ้น

บทที่ 5

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

1. สาร morelloflavone ความเข้มข้น ระหว่าง 10^{-10} - 10^{-5} M ทำให้ isolated thoracic aortic ring คลายตัว โดยมีค่า E_{max} เท่ากับ $77.49 \pm 5.38\%$ และ EC_{50} เท่ากับ $0.25 \pm 0.17 \mu\text{M}$ ส่วนสาร camboginol ความเข้มข้น ระหว่าง 10^{-10} - 10^{-6} M ทำให้ isolated thoracic aortic ring คลายตัว โดยมีค่า E_{max} เท่ากับ $56.74 \pm 6.05\%$ และ EC_{50} เท่ากับ $0.25 \pm 0.10 \mu\text{M}$
2. กลไกการออกฤทธิ์ของสาร morelloflavone ในการทำให้ isolated thoracic aortic ring คลายตัว คือ 1) อาศัยการทำงานของ endothelium โดยการสร้างหรือการหลั่ง NO 2) อาศัยการเปิดของ K^+_{ATP} channel ที่กล้ามเนื้อเรียบ และ 3) อาศัยการเปิดของ K^+_{Ca} channel ที่กล้ามเนื้อเรียบ
3. กลไกการออกฤทธิ์ของสาร camboginol ในการทำให้ isolated thoracic aortic ring คลายตัว คือ 1) อาศัยการทำงานของ endothelium โดยการสร้างหรือการหลั่ง NO
4. สาร morelloflavone ความเข้มข้น ระหว่าง 10^{-10} - 10^{-5} M ทำให้ corpus cavernosum คลายตัว โดยมีค่า E_{max} เท่ากับ $55.92 \pm 2.92\%$ และ EC_{50} เท่ากับ $5.12 \pm 1.36 \mu\text{M}$ ส่วนสาร camboginol ความเข้มข้น ระหว่าง 10^{-10} - 10^{-5} M ทำให้ corpus cavernosum คลายตัว โดยมีค่า E_{max} เท่ากับ $32.24 \pm 4.30\%$
5. กลไกการออกฤทธิ์ของสาร morelloflavone ในการทำให้ corpus cavernosum คลายตัว คือ อาศัยการสร้างหรือหลั่ง NO
6. กลไกการออกฤทธิ์ของสาร camboginol ในการทำให้ corpus cavernosum คลายตัว คือ 1) อาศัยการสร้างหรือหลั่ง NO 2) อาจอาศัยการเพิ่มระดับ cGMP จากการยับยั้ง PDE5 ด้วย sildenafil citrate ทำให้มีการคลายตัวของ corpus cavernosum เพิ่มขึ้น
7. การศึกษาครั้งนี้ เป็นการทดสอบฤทธิ์และกลไกการออกฤทธิ์เบื้องต้นของ morelloflavone และ camboginol ซึ่งจากผลการทดลองที่ได้ควรจะนำไปศึกษาต่อเพิ่มเติม เพื่อยืนยันฤทธิ์ของสารสกัดทั้งสองชนิดนี้ เช่น อาจจะไปศึกษาต่อแบบ *in vivo* คือ โดยการทดสอบในสัตว์ทดลองที่ถูกชักนำให้เป็นความดันเลือดสูง เพื่อยืนยันฤทธิ์ของสารสกัดและศึกษา กลไกระดับเซลล์และควรมีการทดสอบ toxicity ก่อนเพื่อพัฒนาไปเป็นยารักษาโรคความดันเลือดสูงหรือยารักษาโรคเสื่อมสมรรถภาพทางเพศในคนต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- นิตยา พันธุ์เวช และ ชิดารัตน์ อภิญา. 2554. ประเด็นสารธรรมชาติวันความดันโลหิตสูงโลก 2554
 สำนักโรคไม่ติดต่อ กรมควบคุมโรค. เข้าถึงได้จาก:
<http://opdc.ddc.moph.go.th/pakard/showimg4.php?id=573> (วันที่สืบค้น 18 สิงหาคม 2555)
- นริศ อางชัยกรณ์ ธนดล อาสน์สุวรรณ รุ่งอรุณ กล้าเสื่อ ประภัสสร คำไวย และประภัสสร คำไวย.
 2553. ศึกษาชนิดพันธุ์ไม้ “ มะพูด ”
- Aquirre-Crespo, F., Vergara-galicia, J., Villalobos-Molina, R., Lopez-Guerrero, J. J., Navarrete-Vazquez, G., Estrada-Soto, S. 2006. Ursolic acid mediates the vasorelaxant activity of *Lepechinia caulescens* via NO release in isolated rat thoracic aorta. *Life Sciences* 79, 1062-1068.
- Ajagbonna, O. P., Mojiminiyi, F. B. O., Sofola, O.A. 2001. Relaxant effects of aqueous leaf extract of *cassia occidentalis* on rat aortic rings. *African Journal Biomedical Research* 4, 127-129.
- Ajay, M., Gilani, A. U. H., Mustafa, R. M. 2003. Effects of flavonoids on vascular smooth muscle of the isolated rat thoracic aorta. *Life Sciences* 74, 603–612.
- Aloysius, U. I., Achike, F. I., Mustafa, M. R. 2012. Mechanisms underlining gender differences in Phenylephrine contraction of normoglycaemic and short-term Streptozotocin-induced diabetic WKY rat aorta. *Vascular Pharmacology* 57, 81–90.
- Albersen, M., Orabi, H., Lue, T. F. 2011. Evaluation and Treatment of Erectile Dysfunction in the Aging Male: A Mini-Review. *Gerontology* 58, 3–14.
- Anderson, E. A., Sinkey, C. A., Lawton, W. J., Mark, A. L. 1988. Elevated sympathetic nerve activity in borderline hypertensive humans: evidence from direct intraneural recordings. *Hypertension* 14, 1277–1283.
- Andersson, K. E. 2001. Pharmacology of Penile Erection. *The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics* 53, 417–450.
- Aydin, S., Ozbek, H., Yilmaz, Y., Atilla, M. K., Bayrakli, H., Cetin, H. 2001. Effects of sildenafil citrate, acetylcholine, and sodium nitroprusside on the relaxation of rabbit cavernosal tissue invitro. *Basic Science* 58, 119-124.

- Ayta, I. A., Mckinlay, J. B., Krane, R. J. 1999. The likely worldwide increase in erectile dysfunction between 1995 and 2025 and some possible policy consequences. *BJU International* 84, 50–56.
- Ballard, S. A., Gingell, C. J., Tang, K., Turner, L. A., Price, M. E., Naylor, A. M. 1998. Effects of sildenafil on the relaxation of human corpus cavernosum tissue in vitro and on the activities of cyclic nucleotide phosphodiesterase isozymes. *J. Urol.* 159, 2164–2171.
- Berne, R. M., Levy, M. N., Koeppen, B. M., Stanton, B. A. 2004. *Physiology*. 5th Ed. Mosby, Inc.
- Bivalacqua, T. J., Usta, M. F., Champion, H. C., Kadowitz, P. J., Hellstrom, W. J. G. 2003. Endothelial dysfunction in erectile dysfunction: Role of the endothelium in erectile physiology and disease. *Journal of Andrology* 24, S17-S37.
- Castardo, J. C., Prudente, A. S., Ferreira, J., Guimaraes, C. L., Monache, F. D., Filho, V. C., Otuki, M. F., Cabrini, D. A. 2008. Anti-inflammatory effects of hydroalcoholic extract and two biflavonoids from *Garcinia gardneriana* leaves in mouse paw oedema. *Journal of Ethnopharmacology* 118, 405–411.
- Cruz, A. J., Lemos, V.S., S, M.H., Nagem, T. J., Cortes, S. F. 2006. Vascular effects of 7-epiclusianone, a prenylated benzophenone from *Rheedia gardneriana*, on the rat aorta. *Phytomedicine* 13, 442–445.
- Deachathai, S., Mahabusarakam, W., Phongpaichit, S., Taylor, W.C. 2005. Phenolic compounds from the fruit of *Garcinia dulcis*. *Phytochemistry* 66, 2368–2375.
- Deachathai, S., Mahabusarakam, W., Phongpaichit, S., Taylor, W.C., Zhang, Y-J., Yang, C-R. 2006. Phenolic compounds from the flowers of *Garcinia dulcis*. *Phytochemistry* 67, 464–469.
- Fawcett, L., Baxendale, R., Stacey, P., McGrouther, C., Harrow, I., Soderling, S., Hetman, J., Beavo, J.A., Phillips, S.C. 2000. Molecular cloning and characterization of a distinct human phosphodiesterase gene family: PDE11A. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 97, 3702–3707.
- Ferroni, P., Basili, S., Paoletti, V., Davi, G. 2006. Endothelial dysfunction and oxidative stress in arterial hypertension. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 16, 222-233.

- Figard, H., Girard, C., Mougin, F., Demougeot, C., Berthelot, A. 2008. Effects of aqueous hop (*Humulus Lupulus L.*) extract on vascular reactivity in rats: Mechanism and influence of gender and hormonal status. *Phytomedicine* 15, 185-193.
- Furchgott, R.F., Zawadzki, J. V. 1980. The obligatory role of endothelial cells relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 288, 373-376.
- Gail, B., Sanz, M. J., Terencio, M. C., Gunusegaran, R., Paya, M., Alcaraz, M. J. 1997. Morelloflavone, a Novel Biflavonoid Inhibitor of Human Secretory Phospholipase A, With Anti-Inflammatory Activity. *Biochemical Pharmacology* 53, 733-740.
- Grassi, G., Seravalle, G., Trevano, F. Q., Dell'oro, R., Bolla, G., Cuspidi, C., Arenare, F., Mancia, G. 2007. Neurogenic abnormalities in masked hypertension. *Hypertension* 50, 537-542.
- Goldstein, D. S. 1983. Plasma catecholamines and essential hypertension. An analytical review. *Hypertension* 5, 86-99.
- Gontijo, V. S., Souza, T. C. S., Rosa, I. A., Soares, M. G., Silva, M. A., Vilegas, W., Junior, C. V., Santos, M. H. 2012. Isolation and evaluation of the antioxidant activity of phenolic constituents of the *Garcinia brasiliensis* epicarp. *Food Chemistry* 132, 1230-1235.
- Gonzales, R. J., Carter, W., Kanagy, N. L. 2000. Laboratory demonstration of vascular smooth muscle function using rat aortic ring segments. *Advances in Physiology Education* 24, 13-21.
- Gumus, B., Vatansever, S. H., Muezzinoglu, S., Kaymaz, F., Buyuksu, C. 2003. Histopathological effects of sildenafil citrate on rat corpus cavernosum. *Acta histochemical* 106, 37-45.
- Hnatyszyn, O., Moscatelli, V., Rondina, R., Costa, M., Arranz, C., Balaszczuk, A., Coussio, J., Ferraro, G. 2004. Flavonoids from *Achyrocline satureioides* with relaxant effects on the smooth muscle of quinea pig corpus cavernosum. *Phytomedicine* 11, 366-369.
- Huang, Y., Lau, C. W., Ho, I. H. M. 1997. Involvement of ATP-sensitive K_v channels in the inhibitory effect of calcitonin gene-related peptide on neurotransmission in rat vas deferens. *European Journal of Pharmacology* 327, 209-214.

- Hutadilok-Towatana, N., Kongkachuay, S., Mahabusarakam, W. 2007. Inhibition of human lipoprotein oxidation by morelloflavone and camboginol from *Garcinia dulcis*. *Natural Product Research* 21, 655–662.
- Jensen, J., Lendorf, A., Stimpel, H., Frost, J., Ibsen, H., Rosenkilde, P. 1999. The prevalence and etiology of impotence in 101 male hypertensive outpatients. *American Journal of Hypertension* 12, 271–275.
- Johannes, C. B., Araujo, A. B., Feldman, H. A., Derby, C. A., Kleinman, K. P., McKinlay, J. B. 2000. Incidence of erectile dysfunction in men 40 to 69 years old: Longitudinal results from the Massachusetts male aging study. *Adult urology* 163, 460–463.
- Karimi, G., Khoshbaten, A., Abdollahi, M., Sharifzadeh, M., Namiranian, K., Dehpour, A. R. 2002. Effects of subacute lead acetate administration on nitric oxide and cyclooxygenase pathways in rat isolated aortic ring. *Pharmacological Research* 46, 31–37.
- Kasahara, S., Henmi, S. 1986. *Medicine herb index in Indonesia*, Jakarta, Eisai Indonesia, p. 92.
- Khaja, K. A., Sequeira, R. P., al Damanhori, A. H., Mathur, V. S. 2003. Antihypertensive drug-associated sexual dysfunction: a prescription analysis based study. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 12, 203–212.
- Khoo, N. K. H., White, C. R., Pozzo-Miller, L., Zhou, F., Constance, C., Inoue, T., Patel, R. P., Parks, D. A. 2010. Dietary flavonoid quercetin stimulates vasorelaxation in aortic vessels. *Free Radical Biology & Medicine* 49, 339–347.
- Krishnamurthy, N., Lewis, Y. S., Ravindranath, B. 1981. On the structure of garcinol, isogarcinol and camboginol. *Tetrahedron Letters* 22, 793–796.
- Kun, A., Martinez, A. C., Tanko, L.B., Pataricza, J., Papp, J., Simonsen, U. 2003. Ca^{2+} -activated K^+ channels in the endothelial cell layer involved in modulation of neurogenic contractions in rat penile arteries. *European Journal of Pharmacology* 474, 103–115.
- Kim, N., Azadzi, K. M., Goldstein, I., Saenz, D. E., Tejada, I., 1991. A nitric oxide-like factor mediates nonadrenergic-noncholinergic neurogenic relaxation of penile corpus cavernosum smooth muscle. *J. Clin. Invest.* 88, 112–118.

- Kushiro, T., Takahashi, A., Saito, F., Otsuka, Y., Soma, M., Kurihara, T., Satomura, A., Saito, T., Kanmatsuse, K. 2005. Erectile Dysfunction and its Influence on Quality of Life in Patients With Essential Hypertension. *The American Journal of Hypertension* 18, 427-430.
- Lau, L-C., Adaikan, P. G. 2006. Mechanisms of direct relaxant effect of sildenafil, tadalafil and vardenafil on corpus cavernosum. *European Journal of Pharmacology* 541, 184–190.
- Lemos, V. S., Freitas, M. R., Muller, B., Lino, Y. D., Queiroga, C. E. G., Cortes, S. F. 1999. Dioclein, a new nitric oxide- and endothelium-dependent vasodilator flavonoid . *European Journal of Pharmacology* 386, 41–46.
- Levick, J. 2000. *An Introduction to Cardiovascular Physiology*, 3th Ed. Arnold, New York.
- Lin, Y-M., Anderson, H., Flavin, M. T., Pai, Y-H. S. 1997. In Vitro Anti-HIV Activity of Biflavonoids Isolated from *Rhus succedanea* and *Garcinia multiflora*. *Journal of Natural Products* 60, 884-888.
- Malhotra, R., Williams, G. H., Lilly, L. S. 2003. *Pathophysiology of heart disease: a Collaborative Project of Medical students and faculty*, 3rd Ed. Harvard Medical School.
- Miller, M. A., Morgan, R. J., Thompson, C. S., Mikhailidis, D. P., Jeremy, J. Y. 1995. Effects of papaverine and vasointestinal polypeptide on penile and vascular cAMP and cGMP in control and diabetic animals: an vitro study. *Int J Impot Res* 7, 91-100.
- Morello, S., Vellecco, V., Alfieri, A., Mascolo, N., Cicala, C. 2006. Vasorelaxant effect of the flavonoid galangin on isolated rat thoracic aorta *Life Sciences* 78, 825–830.
- Moroe, H., Honda, H. 2006. Comparison of endothelial function in the carotid artery between normal and short-term hypercholesterolemic rabbits. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C* 144, 197–203.
- Nelson, M. T., Quayle, J. M. 1995. Physiological roles and properties of potassium channels in arterial smooth muscle. *American Journal Physiology* 268, C799–C822.
- Niu, L-G., Zhang, M-S., Liu, Y., Xue, W-X., Liu, D-B. 2008. Vasorelaxant effect of taurine is diminished by tetraethylammonium in rat isolated arteries. *European Journal of Pharmacology* 580, 169-174.

- Pagan, R. M., Martinez, A. C., Hernandez, M., Martinez, M. P., Garcia-Sacristan, A., Correa, C., Novella, S., Hermenegildo, C., Prieto, D., Benedito, S. 2012. Endothelial and neural factors functionally involved in the modulation of noradrenergic vasoconstriction in healthy pig internal mammary artery. *Biochemical Pharmacology* 83, 882-892.
- Pang, X., Yi, T., Yi, Z., Cho, S. G., Qu, W., Pinkaew, D., Fujise, K., Liu, M. 2009. Morelloflavone, a Biflavonoid, Inhibits Tumor Angiogenesis by Targeting Rho GTPases and Extracellular Signal-Regulated Kinase Signaling Pathways. *Cancer Res* 69, 518-525.
- Paskaloglu, K., Sener, G., Dulger, A. 2004. Melatonin treatment protects against diabetes-induced function and biochemical changes in rat aorta and corpus cavernosum. *European Journal of Pharmacology* 499, 345-354.
- Pelter, A., Warren, R., Chexal, K. K., Handa, K., Rahman. 1970. Biflavonyls from *Guttiferaceae-garcinia livingstonii*. *Tetrahedron* 21, 1625-1634.
- Pinkaew, D., Cho, S., Hui, D. Y., Wiktorowicz, J. E., Hutadilok-Towatana, N., Mahabusarakam, W., Tonganunt M., Stafford, L. J., Phongdara, A., Liu, M., Fujise, K. 2009. Morelloflavone blocks injury-induced neointimal formation by inhibiting vascular smooth muscle cell migration. *Biochimica et Biophysica Acta* 1790, 31-39.
- Rama, R. A.V., Venkatswamy, G., Pendse, A.D., 1980. Camboginol and cambogin. *Tetrahedron Letters* 21, 1975-1978.
- Rattmann, Y. D., Cipriani, T. R., Sasaki, G. L., Iacomini, M., Rieck, L., Marques, M. C. A., da Silva-Santos, J. E. 2006. Nitric oxide-dependent vasorelaxation induced by extractive solutions and fractions of *Maytenus ilicifolia* Mart ex Reissek (Celastraceae) leaves. *Journal of Ethnopharmacology* 104, 328-335.
- Rhoades, R. A., Bell, D. R. 2009. *Medical Physiology: Principles for clinical medical*. 3rd Ed. Lippincott Williams.
- Rice-Evans, C., Miller, N. J., Paganga, G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends Plant Sci.* 2, 152-159.
- Roux, D., Hadi, H. A., Thoret, S., Guenard, D., Thoison, O., Pais, M., Sevenet, T. 2000. Structure-activity relationship of polyisoprenyl benzophenones from *Garcinia pyrifera* on the tubulin/microtubule system. *Journal of Natural Products* 63, 1073-1076.

- Sanz, M. J., Ferrandiz, M. L., Cejudo, M., Terencio, M. C., Gil, B., Bustos, G., Ubeda, A., Gunasegaran, R., Alcaraz, M. J. 1994. Influence of a series of natural flavonoids on free radical generating systems and oxidative stress. *Xenobiotica* 24, 689-699.
- Senejoux, F., Girard, C., Kerram, P., Aisa, H. A., Berthelot, A., Bevalot, F., Demougeot, C. 2010. Mechanisms of vasorelaxation induced by *Ziziphora clinopodioides* Lam. (Lamiaceae) extract in rat thoracic aorta. *Journal of Ethnopharmacology* 132, 268–273.
- Siroky, M. B., Azadzo, K. M. 2003. Vasculogenic erectile dysfunction: newer therapeutic strategies. *Adult urology* 170, S24 –S29.
- Tate, P. 2012. Seeley's principles of anatomy & physiology. 2nd Ed. The McGraw-Hill Inc. New York.
- Wallis, R. M., Corbin, J. D., Francis, S. H., Ellis, P. 1999. Tissue distribution of phosphodiesterase families and the effects of sildenafil on tissue cyclic nucleotides, platelet function and the contractile responses of trabeculae carneae and aortic rings in vitro. *Am. J. Cardiol* 83, 3C–12C.
- Way, K. J., Reid, J. J. 1999. The effects of diabetes on nitric oxide-mediated responses in rat corpus cavernosum. *European Journal of Pharmacology* 376, 73–82.
- Weigert, G., Berisha, F., Resch, H., Karl, K., Schmetterer, L., Garhofer, G. 2008. Effect of Unspecific Inhibition of Cyclooxygenase by Indomethacin on Retinal and Choroidal Blood Flow. *IOVS* 49, 1065-1070.
- Yang, J., Clark, J. W., Bryan, R. M., Robertson, C. S. 2005. Mathematical modeling of the nitric oxide/cGMP pathway in the vascular smooth muscle cell. *the American Physiological Society*. 289, H886–H897.

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 แสดงผลของ norepinephrine (NE) ต่อความแรงในการหดตัวของ aortic ring และเปอร์เซ็นต์การเพิ่มความแรงในการหดตัวจากค่า resting tension

ค่าที่แสดงคือ mean \pm S.E.M. (n=6)

*P < 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับค่า control ของกลุ่มเดียวกัน (one way repeated ANOVA)

†P < 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม intact endothelium (unpaired t-test)

Isolated aortic ring	Concentration	Tension (g)	% Increase of contraction from resting tension
Intact endothelium	Control	0.99 \pm 0.02	0.00 \pm 0.00
	10 ⁻¹⁰ M NE	0.98 \pm 0.01	-0.88 \pm 0.66
	10 ⁻⁹ M NE	1.00 \pm 0.01	0.49 \pm 1.04
	10 ⁻⁸ M NE	1.38 \pm 0.02*	38.86 \pm 2.91*
	10 ⁻⁷ M NE	1.74 \pm 0.02*	75.82 \pm 2.18*
	10 ⁻⁶ M NE	1.87 \pm 0.02*	88.71 \pm 3.15*
	10 ⁻⁵ M NE	2.00 \pm 0.03*	101.08 \pm 2.68*
	10 ⁻⁴ M NE	1.99 \pm 0.03*	100.16 \pm 2.98*
	10 ⁻³ M NE	1.97 \pm 0.04*	98.88 \pm 2.99*
Denude	Control	0.98 \pm 0.01	0.00 \pm 0.00
	10 ⁻¹⁰ M NE	0.98 \pm 0.01	0.18 \pm 0.49
	10 ⁻⁹ M NE	1.01 \pm 0.01	2.90 \pm 0.43
	10 ⁻⁸ M NE	1.42 \pm 0.02*	45.26 \pm 3.10*
	10 ⁻⁷ M NE	1.81 \pm 0.02*†	85.03 \pm 2.53*†
	10 ⁻⁶ M NE	1.95 \pm 0.03*†	99.28 \pm 2.14*†
	10 ⁻⁵ M NE	2.09 \pm 0.02*†	113.67 \pm 2.38*†
	10 ⁻⁴ M NE	2.09 \pm 0.02*†	113.29 \pm 1.34*†
	10 ⁻³ M NE	2.07 \pm 0.02*†	111.51 \pm 1.91*†

ตารางที่ 2 แสดงผลของ ACh ต่อการคลายตัวของ aortic ring ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE ในกลุ่ม

intact endothelium และกลุ่ม denude

ค่าที่แสดงคือ mean \pm S.E.M. (n=6)

*P < 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับค่า control ของกลุ่มเดียวกัน (one way repeated ANOVA)

†P < 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม intact endothelium (unpaired t-test)

Isolated aortic ring	Concentration	Tension (g)	
Intact endothelium	Control	1.00 \pm 0.02	0.00 \pm 0.00
			% Relaxation from 10^{-7} M NE precontraction
	10^{-7} M NE	1.95 \pm 0.05	0.00 \pm 0.00
	10^{-13} M ACh	1.95 \pm 0.05	0.51 \pm 2.10
	10^{-12} M ACh	1.89 \pm 0.05*	6.65 \pm 2.47*
	10^{-11} M ACh	1.84 \pm 0.06*	11.94 \pm 2.18*
	10^{-10} M ACh	1.75 \pm 0.06*	21.38 \pm 2.21*
	10^{-9} M ACh	1.65 \pm 0.06*	32.41 \pm 2.45*
	10^{-8} M ACh	1.55 \pm 0.05*	42.74 \pm 2.05*
	10^{-7} M ACh	1.38 \pm 0.05*	60.79 \pm 3.55*
	10^{-6} M ACh	1.27 \pm 0.05*	71.91 \pm 3.12*
	10^{-5} M ACh	1.16 \pm 0.04*	83.03 \pm 2.69*
Denude	Control	0.98 \pm 0.01	0.00 \pm 0.00
			% Relaxation from 10^{-7} M NE precontraction
	10^{-7} M NE	1.91 \pm 0.09	0.00 \pm 0.00
	10^{-13} M ACh	1.95 \pm 0.10	-4.45 \pm 2.31
	10^{-12} M ACh	1.93 \pm 0.10†	-2.57 \pm 1.82†
	10^{-11} M ACh	1.91 \pm 0.10†	0.35 \pm 2.38†
	10^{-10} M ACh	1.91 \pm 0.09†	-0.20 \pm 1.97†
	10^{-9} M ACh	1.89 \pm 0.09†	1.48 \pm 1.95†
	10^{-8} M ACh	1.87 \pm 0.09†	3.53 \pm 2.11†
	10^{-7} M ACh	1.86 \pm 0.09*†	5.58 \pm 1.68 *†
	10^{-6} M ACh	1.84 \pm 0.09*†	7.26 \pm 0.94 *†
	10^{-5} M ACh	1.84 \pm 0.09*†	6.91 \pm 0.79 *†

ตารางที่ 3 (ก) แสดงผลของ vehicle, morelloflavone และ camboginol ต่อการคลายตัวของ aortic ring ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE ในกลุ่ม intact endothelium

ค่าที่แสดงคือ mean \pm S.E.M. (n=6)

*P < 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม vehicle (one way ANOVA)

	Concentration	Tension (g)	
Vehicle	Control	0.97 \pm 0.01	0.00 \pm 0.00
			% Relaxation from 10^{-7} M NE precontraction
	10^{-7} M NE	1.83 \pm 0.05	0.00 \pm 0.00
	0.1%	1.86 \pm 0.04	-2.93 \pm 0.95
	0.2%	1.84 \pm 0.04	-0.72 \pm 0.94
	0.3%	1.84 \pm 0.04	-0.44 \pm 1.06
	0.4%	1.83 \pm 0.05	1.36 \pm 0.69
	0.5%	1.80 \pm 0.06	2.89 \pm 1.36
	0.6%	1.79 \pm 0.06	3.68 \pm 1.49
	0.7%	1.76 \pm 0.07	6.75 \pm 1.19
	0.8%	1.75 \pm 0.06	7.74 \pm 3.00
	Morelloflavone	Control	0.97 \pm 0.00
			% Relaxation from 10^{-7} M NE precontraction
10^{-7} M NE		1.78 \pm 0.04	0.00 \pm 0.00
10^{-10} M		1.81 \pm 0.04	-4.41 \pm 0.32
10^{-9} M		1.70 \pm 0.06*	10.47 \pm 3.86
10^{-8} M		1.53 \pm 0.07*	32.19 \pm 6.20*
10^{-7} M		1.40 \pm 0.08 *	47.50 \pm 6.33*
10^{-6} M		1.31 \pm 0.08 *	59.90 \pm 7.48*
10^{-5} M	1.16 \pm 0.05 *	77.49 \pm 5.38*	
Camboginol	Control	1.03 \pm 0.01	-
			% Relaxation from 10^{-7} M NE precontraction
	10^{-7} M NE	1.66 \pm 0.08	0.00 \pm 0.00
	10^{-10} M	1.67 \pm 0.08	-0.73 \pm 1.01
	10^{-9} M	1.51 \pm 0.06*	22.61 \pm 3.67*
	10^{-8} M	1.45 \pm 0.05*	33.42 \pm 3.80*
	10^{-7} M	1.40 \pm 0.06*	43.80 \pm 4.25*
	10^{-6} M	1.32 \pm 0.06*	56.74 \pm 6.05*
	10^{-5} M	1.36 \pm 0.06*	47.89 \pm 5.55*
	10^{-4} M	1.37 \pm 0.07*	47.56 \pm 5.64*
10^{-3} M	1.38 \pm 0.06*	44.68 \pm 5.50*	

ตารางที่ 3 (ข) แสดงผลของ vehicle, morelloflavone และ camboginol ต่อการคลายตัวของ aortic ring ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE ในกลุ่ม denude endothelium
ค่าที่แสดงคือ mean \pm S.E.M. (n=6)

	Concentration	Tension (g)	
	Vehicle	Control	0.98 \pm 0.03
			% Relaxation from 10^{-7} M NE precontraction
10^{-7} M NE		1.84 \pm 0.07	0.00 \pm 0.00
0.1%		1.85 \pm 0.07	-2.06 \pm 1.45
0.2%		1.83 \pm 0.06	0.82 \pm 1.74
0.3%		1.81 \pm 0.06	3.01 \pm 1.96
0.4%		1.77 \pm 0.06	6.74 \pm 2.61
0.5%		1.77 \pm 0.06	6.89 \pm 2.28
0.6%		1.78 \pm 0.06	6.30 \pm 2.36
0.7%		1.78 \pm 0.06	6.59 \pm 1.87
0.8%		1.78 \pm 0.06	6.60 \pm 2.26
Morelloflavone		Control	0.99 \pm 0.00
			% Relaxation from 10^{-7} M NE precontraction
	10^{-7} M NE	1.78 \pm 0.10	0.00 \pm 0.00
	10^{-10} M	1.85 \pm 0.00	-3.12 \pm 0.00
	10^{-9} M	1.80 \pm 0.12	-3.23 \pm 2.65
	10^{-8} M	1.77 \pm 0.10	0.77 \pm 1.89
	10^{-7} M	1.75 \pm 0.11	4.37 \pm 1.64
	10^{-6} M	1.74 \pm 0.10	5.92 \pm 1.60
10^{-5} M	1.72 \pm 0.11	8.23 \pm 2.03	
Camboginol	Control	0.94 \pm 0.01	0.00 \pm 0.00
			% Relaxation from 10^{-7} M NE precontraction
	10^{-7} M NE	1.81 \pm 0.08	0.00 \pm 0.00
	10^{-10} M	1.82 \pm 0.08	-0.84 \pm 0.35
	10^{-9} M	1.82 \pm 0.08	-1.34 \pm 0.63
	10^{-8} M	1.81 \pm 0.08	-0.06 \pm 0.31
	10^{-7} M	1.80 \pm 0.08	1.83 \pm 0.65
	10^{-6} M	1.79 \pm 0.08	2.43 \pm 0.70
	10^{-5} M	1.76 \pm 0.08	5.87 \pm 0.92
	10^{-4} M	1.75 \pm 0.07	7.33 \pm 0.40
	10^{-3} M	1.74 \pm 0.07	7.87 \pm 1.16

ตารางที่ 4 แสดงผลของ norepinephrine (NE) ต่อความแรงในการหดตัวของ aortic ring ในกลุ่ม control และกลุ่มที่ให้ L-NOARG (10^{-6} M) ใน intact endothelium

ค่าที่แสดงคือ mean \pm S.E.M. (n=6)

*P < 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับค่า control ของกลุ่มเดียวกัน (one way repeated ANOVA)

†P < 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม control (unpaired t-test)

Isolated aortic ring	Concentration	Tension (g)	% Increase of contraction from resting tension
Intact endothelium	Control	0.99 \pm 0.02	0.00 \pm 0.00
	10^{-10} M NE	0.98 \pm 0.01	-0.88 \pm 0.66
	10^{-9} M NE	1.00 \pm 0.01	0.49 \pm 1.04
	10^{-8} M NE	1.38 \pm 0.02*	38.86 \pm 2.91*
	10^{-7} M NE	1.74 \pm 0.02*	75.82 \pm 2.18*
	10^{-6} M NE	1.87 \pm 0.02*	88.71 \pm 3.15*
	10^{-5} M NE	2.00 \pm 0.03*	101.08 \pm 2.68*
	10^{-4} M NE	1.99 \pm 0.03*	100.16 \pm 2.98*
	10^{-3} M NE	1.97 \pm 0.04*	98.88 \pm 2.99*
Intact endothelium	Control	0.96 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
	10^{-6} M L-NOARG	0.99 \pm 0.01	2.52 \pm 0.27
	10^{-10} M NE	0.98 \pm 0.01	-0.23 \pm 0.98
	10^{-9} M NE	1.01 \pm 0.01	2.56 \pm 0.97
	10^{-8} M NE	1.46 \pm 0.03*†	48.24 \pm 3.63*†
	10^{-7} M NE	1.84 \pm 0.02*†	86.63 \pm 0.88*†
	10^{-6} M NE	1.96 \pm 0.01*†	99.09 \pm 1.16*†
	10^{-5} M NE	2.13 \pm 0.02*†	115.55 \pm 2.06*†
	10^{-4} M NE	2.15 \pm 0.02*†	117.57 \pm 1.44*†
	10^{-3} M NE	2.14 \pm 0.02*†	116.38 \pm 0.90*†

ตารางที่ 5 แสดงผลของ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้ L-NOARG (10^{-6} M) ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE

ค่าที่แสดงคือ mean \pm S.E.M. (n=6)

*P < 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม morelloflavone (unpaired t-test)

Treatment	Concentration	Tension (g)	
Control	Control	0.97 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
			% Relaxation from 10^{-7} M NE precontraction
NE	10^{-7} M NE	1.78 \pm 0.04	0.00 \pm 0.00
Morelloflavone	10^{-10} M	1.81 \pm 0.04	-4.41 \pm 0.32
	10^{-9} M	1.70 \pm 0.06	10.47 \pm 3.86
	10^{-8} M	1.53 \pm 0.07	32.19 \pm 6.20
	10^{-7} M	1.40 \pm 0.08	47.50 \pm 6.33
	10^{-6} M	1.31 \pm 0.08	59.90 \pm 7.48
	10^{-5} M	1.16 \pm 0.05	77.49 \pm 5.38
Control	-	0.95 \pm 0.01	-
	10^{-6} M	0.96 \pm 0.01	-
			% Relaxation from 10^{-7} M NE precontraction
NE	10^{-7} M	1.72 \pm 0.03	0.00 \pm 0.00
Morelloflavone	10^{-10} M	1.72 \pm 0.03	0.05 \pm 1.76
	10^{-9} M	1.71 \pm 0.03	0.37 \pm 2.93*
	10^{-8} M	1.72 \pm 0.02*	-0.98 \pm 1.92*
	10^{-7} M	1.72 \pm 0.03*	-0.46 \pm 2.55*
	10^{-6} M	1.71 \pm 0.02*	0.82 \pm 2.53*
	10^{-5} M	1.62 \pm 0.04*	12.58 \pm 4.55*

ตารางที่ 6 แสดงผลของ camboginol ต่อการคลายตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้ (L-NOARG 10^{-6} M) ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE

ค่าที่แสดงคือ mean \pm S.E.M. (n=6)

*P < 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม camboginol (unpaired t-test)

Treatment	Concentration	Tension (g)	
Control	Control	1.03 \pm 0.01	0.00 \pm 0.00
			% Relaxation from 10^{-7} M NE precontraction
NE	10^{-7} M NE	1.66 \pm 0.08	0.00 \pm 0.00
Camboginol	10^{-10} M	1.67 \pm 0.08	-0.73 \pm 1.01
	10^{-9} M	1.51 \pm 0.06	22.61 \pm 3.67
	10^{-8} M	1.45 \pm 0.05	33.42 \pm 3.80
	10^{-7} M	1.40 \pm 0.06	43.80 \pm 4.25
	10^{-6} M	1.32 \pm 0.06	56.74 \pm 6.05
	10^{-5} M	1.36 \pm 0.06	47.89 \pm 5.55
	10^{-4} M	1.37 \pm 0.07	47.56 \pm 5.64
Control	-	0.98 \pm 0.02	-
	10^{-6} M	1.00 \pm 0.01	-
			% Relaxation from 10^{-7} M NE precontraction
NE	10^{-7} M	1.83 \pm 0.10	0.00 \pm 0.00
Camboginol	10^{-10} M	1.88 \pm 0.12*	-4.70 \pm 1.41
	10^{-9} M	1.85 \pm 0.10*	-1.96 \pm 1.17*
	10^{-8} M	1.81 \pm 0.09*	2.32 \pm 2.13*
	10^{-7} M	1.77 \pm 0.08*	6.22 \pm 2.67*
	10^{-6} M	1.74 \pm 0.07*	9.30 \pm 3.50*
	10^{-5} M	1.74 \pm 0.07*	9.57 \pm 2.84*

ตารางที่ 7 แสดงผลของ norepinephrine (NE) ต่อความแรงในการหดตัวของ aortic ring ในกลุ่ม control และกลุ่มที่ให้ indomethacin (10^{-5} M) ใน intact endothelium

ค่าที่แสดงคือ mean \pm S.E.M. (n=6)

*P < 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับค่า control ของกลุ่มเดียวกัน (one way repeated ANOVA)

†P < 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม control (unpaired t-test)

Isolated aortic ring	Concentration	Tension (g)	% Increase of contraction from resting tension
Intact endothelium	Control	0.99 \pm 0.01	0.00 \pm 0.00
	10^{-10} M NE	0.99 \pm 0.01	-0.41 \pm 0.93
	10^{-9} M NE	0.98 \pm 0.03	-1.04 \pm 1.34
	10^{-8} M NE	1.38 \pm 0.03*	38.95 \pm 2.82*
	10^{-7} M NE	1.78 \pm 0.03*	79.26 \pm 3.41*
	10^{-6} M NE	1.87 \pm 0.02*	88.94 \pm 2.90*
	10^{-5} M NE	1.99 \pm 0.03*	100.85 \pm 2.60*
	10^{-4} M NE	2.01 \pm 0.03*	103.24 \pm 3.23*
	10^{-3} M NE	2.00 \pm 0.03*	102.14 \pm 3.03*
Intact endothelium	Control	0.99 \pm 0.01	0.00 \pm 0.00
	10^{-5} M indomethacin	0.98 \pm 0.01	-0.41 \pm 0.74
	10^{-10} M NE	1.00 \pm 0.01	1.45 \pm 0.68
	10^{-9} M NE	0.96 \pm 0.01	-2.60 \pm 0.92
	10^{-8} M NE	1.28 \pm 0.05*	29.65 \pm 5.15*
	10^{-7} M NE	1.67 \pm 0.03*†	70.08 \pm 3.37*
	10^{-6} M NE	1.74 \pm 0.03*†	76.38 \pm 3.50*†
	10^{-5} M NE	1.79 \pm 0.04*†	82.26 \pm 3.17*†
	10^{-4} M NE	1.79 \pm 0.04*†	81.40 \pm 3.68*†
	10^{-3} M NE	1.78 \pm 0.04*†	80.87 \pm 3.18*†

ตารางที่ 8 แสดงผลของ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้ indomethacin (10^{-5} M) ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE

ค่าที่แสดงคือ mean \pm S.E.M. (n=6)

Treatment	Concentration	Tension (g)	
Control	Control	0.97 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
			% Relaxation from 10^{-7} M NE precontraction
NE	10^{-7} M NE	1.78 \pm 0.04	0.00 \pm 0.00
Morelloflavone	10^{-10} M	1.81 \pm 0.04	-4.41 \pm 0.32
	10^{-9} M	1.70 \pm 0.06	10.47 \pm 3.86
	10^{-8} M	1.53 \pm 0.07	32.19 \pm 6.20
	10^{-7} M	1.40 \pm 0.08	47.50 \pm 6.33
	10^{-6} M	1.31 \pm 0.08	59.90 \pm 7.48
	10^{-5} M	1.16 \pm 0.05	77.49 \pm 5.38
Control	-	0.97 \pm 0.01	-
	Indomethacin	10^{-5} M	0.98 \pm 0.01
			% Relaxation from 10^{-7} M NE precontraction
NE	10^{-7} M	1.81 \pm 0.06	0.00 \pm 0.00
Morelloflavone	10^{-10} M	1.86 \pm 0.05	-6.33 \pm 1.81
	10^{-9} M	1.70 \pm 0.07	8.70 \pm 6.11
	10^{-8} M	1.61 \pm 0.06	23.98 \pm 3.35
	10^{-7} M	1.46 \pm 0.05	41.42 \pm 3.22
	10^{-6} M	1.28 \pm 0.06	63.61 \pm 6.62
	10^{-5} M	1.08 \pm 0.05	87.64 \pm 4.71

ตารางที่ 9 แสดงผลของ camboginol ต่อการคลายตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้ indomethacin (10^{-5} M) ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE

ค่าที่แสดงคือ mean \pm S.E.M. (n=6)

Treatment	Concentration	Tension (g)	
Control	Control	1.03 \pm 0.01	0.00 \pm 0.00
			% Relaxation from 10^{-7} M NE precontraction
NE	10^{-7} M NE	1.66 \pm 0.08	0.00 \pm 0.00
Camboginol	10^{-10} M	1.67 \pm 0.08	-0.73 \pm 1.01
	10^{-9} M	1.51 \pm 0.06	22.61 \pm 3.67
	10^{-8} M	1.45 \pm 0.05	33.42 \pm 3.80
	10^{-7} M	1.40 \pm 0.06	43.80 \pm 4.25
	10^{-6} M	1.32 \pm 0.06	56.74 \pm 6.05
	10^{-5} M	1.36 \pm 0.06	47.89 \pm 5.55
	10^{-4} M	1.37 \pm 0.07	47.56 \pm 5.64
	10^{-3} M	1.38 \pm 0.06	44.68 \pm 5.50
Control	-	0.99 \pm 0.01	-
	Indomethacin	10^{-5} M	1.01 \pm 0.01
			% Relaxation from 10^{-7} M NE precontraction
NE	10^{-7} M	1.70 \pm 0.07	0.00 \pm 0.00
Camboginol	10^{-10} M	1.70 \pm 0.07	-0.15 \pm 1.69
	10^{-9} M	1.50 \pm 0.05	27.09 \pm 5.11
	10^{-8} M	1.38 \pm 0.05	44.09 \pm 3.09
	10^{-7} M	1.35 \pm 0.04	48.54 \pm 2.08
	10^{-6} M	1.34 \pm 0.05	50.40 \pm 2.61
	10^{-5} M	1.41 \pm 0.06	40.75 \pm 3.41

ตารางที่ 10 แสดงผลของ norepinephrine (NE) ต่อความแรงในการหดตัวของ aortic ring ในกลุ่ม control และกลุ่มที่ให้ glibenclamide (10^{-5} M) ใน intact endothelium

ค่าที่แสดงคือ mean \pm S.E.M. (n=6)

*P < 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับค่า control ของกลุ่มเดียวกัน (one way repeated ANOVA)

Isolated aortic ring	Concentration	Tension (g)	% Increase of contraction from resting tension
Intact endothelium	Control	1.00 \pm 0.01	0.00 \pm 0.00
	10^{-10} M NE	1.00 \pm 0.01	0.43 \pm 0.47
	10^{-9} M NE	1.01 \pm 0.02	1.59 \pm 1.61
	10^{-8} M NE	1.47 \pm 0.04*	46.77 \pm 3.87*
	10^{-7} M NE	1.78 \pm 0.04*	78.68 \pm 4.43*
	10^{-6} M NE	1.93 \pm 0.04*	93.40 \pm 4.21*
	10^{-5} M NE	2.02 \pm 0.04*	102.08 \pm 4.00*
	10^{-4} M NE	2.03 \pm 0.04*	103.46 \pm 4.12*
	10^{-3} M NE	2.03 \pm 0.04*	103.36 \pm 3.75*
Intact endothelium	Control	0.97 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
	10^{-5} M glibenclamide	0.98 \pm 0.00	1.04 \pm 0.23
	10^{-10} M NE	0.99 \pm 0.01	1.19 \pm 0.40
	10^{-9} M NE	1.03 \pm 0.02	5.38 \pm 2.39
	10^{-8} M NE	1.46 \pm 0.04*	49.28 \pm 4.56*
	10^{-7} M NE	1.77 \pm 0.04*	81.41 \pm 4.28*
	10^{-6} M NE	1.93 \pm 0.05*	96.92 \pm 4.49*
	10^{-5} M NE	2.07 \pm 0.05*	112.01 \pm 4.60*
	10^{-4} M NE	2.06 \pm 0.05*	110.99 \pm 4.51*
	10^{-3} M NE	2.06 \pm 0.05*	111.07 \pm 4.46*

ตารางที่ 11 แสดงผลของ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้ glibenclamide (10^{-5} M) ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE

ค่าที่แสดงคือ mean \pm S.E.M. (n=6)

*P < 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม morelloflavone (unpaired t-test)

Treatment	Concentration	Tension (g)	
Control	Control	0.97 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
			% Relaxation from 10^{-7} M NE precontraction
NE	10^{-7} M NE	1.78 \pm 0.04	0.00 \pm 0.00
Morelloflavone	10^{-10} M	1.81 \pm 0.04	-4.41 \pm 0.32
	10^{-9} M	1.70 \pm 0.06	10.47 \pm 3.86
	10^{-8} M	1.53 \pm 0.07	32.19 \pm 6.20
	10^{-7} M	1.40 \pm 0.08	47.50 \pm 6.33
	10^{-6} M	1.31 \pm 0.08	59.90 \pm 7.48
	10^{-5} M	1.16 \pm 0.05	77.49 \pm 5.38
Control	-	1.00 \pm 0.02	-
	10^{-5} M	1.02 \pm 0.02	-
			% Relaxation from 10^{-7} M NE precontraction
NE	10^{-7} M	1.78 \pm 0.05	0.00 \pm 0.00
Morelloflavone	10^{-10} M	1.78 \pm 0.05	0.32 \pm 1.63
	10^{-9} M	1.67 \pm 0.06	15.06 \pm 2.08
	10^{-8} M	1.65 \pm 0.06*	17.58 \pm 2.30*
	10^{-7} M	1.61 \pm 0.06*	22.73 \pm 3.20*
	10^{-6} M	1.57 \pm 0.06*	28.36 \pm 3.87*
	10^{-5} M	1.46 \pm 0.06*	42.92 \pm 4.09*

ตารางที่ 12 แสดงผลของ camboginol ต่อการคลายตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้ glibenclamide (10^{-5} M) ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-7} M NE

ค่าที่แสดงคือ mean \pm S.E.M. (n=6)

Treatment	Concentration	Tension (g)	
Control	Control	1.03 \pm 0.01	0.00 \pm 0.00
			% Relaxation from 10^{-7} M NE precontraction
NE	10^{-7} M NE	1.66 \pm 0.08	0.00 \pm 0.00
Camboginol	10^{-10} M	1.67 \pm 0.08	-0.73 \pm 1.01
	10^{-9} M	1.51 \pm 0.06	22.61 \pm 3.67
	10^{-8} M	1.45 \pm 0.05	33.42 \pm 3.80
	10^{-7} M	1.40 \pm 0.06	43.80 \pm 4.25
	10^{-6} M	1.32 \pm 0.06	56.74 \pm 6.05
	10^{-5} M	1.36 \pm 0.06	47.89 \pm 5.55
	10^{-4} M	1.37 \pm 0.07	47.56 \pm 5.64
Control	-	0.99 \pm 0.01	-
	10^{-5} M	1.01 \pm 0.01	-
			% Relaxation from 10^{-7} M NE precontraction
NE	10^{-7} M	1.59 \pm 0.06	0.00 \pm 0.00
Camboginol	10^{-10} M	1.58 \pm 0.04	-0.68 \pm 4.74
	10^{-9} M	1.45 \pm 0.04	22.84 \pm 2.40
	10^{-8} M	1.39 \pm 0.04	33.49 \pm 2.81
	10^{-7} M	1.36 \pm 0.04	38.19 \pm 2.98
	10^{-6} M	1.32 \pm 0.04	44.36 \pm 4.09
	10^{-5} M	1.36 \pm 0.03	37.82 \pm 3.80

ตารางที่ 13 แสดงผลของ norepinephrine (NE) ต่อความแรงในการหดตัวของ aortic ring ในกลุ่ม control และกลุ่มที่ให้ TEA (10^{-3} M) ใน intact endothelium

ค่าที่แสดงคือ mean \pm S.E.M. (n=6)

*P < 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับค่า control ของกลุ่มเดียวกัน (one way repeated ANOVA)

Isolated aortic ring	Concentration	Tension (g)	% Increase of contraction from resting tension
Intact endothelium	Control	1.01 \pm 0.01	0.00 \pm 0.00
	10^{-10} M NE	1.01 \pm 0.01	-0.28 \pm 1.04
	10^{-9} M NE	1.01 \pm 0.02	-0.50 \pm 2.09
	10^{-8} M NE	1.42 \pm 0.03*	40.68 \pm 2.82*
	10^{-7} M NE	1.80 \pm 0.02*	77.75 \pm 3.28*
	10^{-6} M NE	1.88 \pm 0.02*	86.04 \pm 2.05*
	10^{-5} M NE	2.02 \pm 0.02*	99.46 \pm 1.30*
	10^{-4} M NE	2.03 \pm 0.01*	101.03 \pm 2.41*
	10^{-3} M NE	2.03 \pm 0.01*	100.76 \pm 1.99*
Intact endothelium	Control	0.98 \pm 0.01	0.00 \pm 0.00
	10^{-3} M TEA	0.99 \pm 0.01	1.30 \pm 0.97
	10^{-10} M NE	1.00 \pm 0.01	1.27 \pm 0.57
	10^{-9} M NE	1.02 \pm 0.02*	3.49 \pm 1.58*
	10^{-8} M NE	1.40 \pm 0.02*	41.57 \pm 2.33*
	10^{-7} M NE	1.79 \pm 0.02*	81.29 \pm 2.51*
	10^{-6} M NE	1.90 \pm 0.03*	91.56 \pm 2.84*
	10^{-5} M NE	2.02 \pm 0.04*	104.07 \pm 4.33*
	10^{-4} M NE	2.02 \pm 0.04*	104.68 \pm 4.30*
	10^{-3} M NE	2.02 \pm 0.04*	104.17 \pm 4.18*

ตารางที่ 14 แสดงผลของ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้ TEA (10^{-3} M) ที่ทำให้หดตัว ก่อนด้วย 10^{-7} M NE

ค่าที่แสดงคือ mean \pm S.E.M. (n=6)

*P < 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม morelloflavone (unpaired t-test)

Treatment	Concentration	Tension (g)	
Control	Control	0.97 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
			% Relaxation from 10^{-7} M NE precontraction
NE	10^{-7} M NE	1.78 \pm 0.04	0.00 \pm 0.00
Morelloflavone	10^{-10} M	1.81 \pm 0.04	-4.41 \pm 0.32
	10^{-9} M	1.70 \pm 0.06	10.47 \pm 3.86
	10^{-8} M	1.53 \pm 0.07	32.19 \pm 6.20
	10^{-7} M	1.40 \pm 0.08	47.50 \pm 6.33
	10^{-6} M	1.31 \pm 0.08	59.90 \pm 7.48
	10^{-5} M	1.16 \pm 0.05	77.49 \pm 5.38
Control	-	0.99 \pm 0.01	-
	TEA	10^{-3} M	1.01 \pm 0.01
			% Relaxation from 10^{-7} M NE precontraction
NE	10^{-7} M	1.77 \pm 0.05	0.00 \pm 0.00
Morelloflavone	10^{-10} M	1.79 \pm 0.05	-2.20 \pm 0.98
	10^{-9} M	1.73 \pm 0.04	4.56 \pm 1.43
	10^{-8} M	1.56 \pm 0.04	27.54 \pm 1.76
	10^{-7} M	1.52 \pm 0.05	32.80 \pm 3.20
	10^{-6} M	1.45 \pm 0.06	42.28 \pm 4.50
	10^{-5} M	1.31 \pm 0.06*	60.26 \pm 5.42*

ตารางที่ 15 แสดงผลของ camboginol ต่อการคลายตัวของ aortic ring ในขณะที่ให้ TEA (10^{-3} M) ที่ทำให้หดตัว ก่อนด้วย 10^{-7} M NE

ค่าที่แสดงคือ mean \pm S.E.M. (n=6)

Treatment	Concentration	Tension (g)	
Control	Control	1.03 \pm 0.01	0.00 \pm 0.00
			% Relaxation from 10^{-7} M NE precontraction
NE	10^{-7} M NE	1.66 \pm 0.08	0.00 \pm 0.00
Camboginol	10^{-10} M	1.67 \pm 0.08	-0.73 \pm 1.01
	10^{-9} M	1.51 \pm 0.06	22.61 \pm 3.67
	10^{-8} M	1.45 \pm 0.05	33.42 \pm 3.80
	10^{-7} M	1.40 \pm 0.06	43.80 \pm 4.25
	10^{-6} M	1.32 \pm 0.06	56.74 \pm 6.05
	10^{-5} M	1.36 \pm 0.06	47.89 \pm 5.55
	10^{-4} M	1.37 \pm 0.07	47.56 \pm 5.64
	10^{-3} M	1.38 \pm 0.06	44.68 \pm 5.50
Control	-	0.96 \pm 0.01	-
	10^{-3} M	0.97 \pm 0.01	-
			% Relaxation from 10^{-7} M NE precontraction
NE	10^{-7} M	1.65 \pm 0.03	0.00 \pm 0.00
Camboginol	10^{-10} M	1.67 \pm 0.04	-3.36 \pm 1.85
	10^{-9} M	1.51 \pm 0.05	20.44 \pm 4.33
	10^{-8} M	1.45 \pm 0.07	30.58 \pm 8.37
	10^{-7} M	1.45 \pm 0.06	30.25 \pm 7.36
	10^{-6} M	1.40 \pm 0.07	38.00 \pm 9.06
	10^{-5} M	1.42 \pm 0.09	35.14 \pm 10.88

ตารางที่ 16 แสดงผลของ pheynylephrine (PE) ต่อความแรงในการหดตัวของ corpus cavernosum และเปอร์เซ็นต์การเพิ่มค่าความแรงในการหดตัวจากค่า tension หลังหยด 124 mM KCl

ค่าที่แสดงคือ mean \pm S.E.M. (n=6)

*P < 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับค่า control ของกลุ่มเดียวกัน (one way repeated ANOVA)

Treatment	Tension (g)	% Increase of contraction from resting tension
Control	0.93 \pm 0.004	0.00 \pm 0.00
124 mM KCl	0.93 \pm 0.006	-0.18 \pm 0.55
10 ⁻⁸ M PE	0.95 \pm 0.01	2.50 \pm 0.48*
10 ⁻⁷ M PE	1.03 \pm 0.02*	10.87 \pm 1.66*
10 ⁻⁶ M PE	1.06 \pm 0.01*	14.13 \pm 0.75*
10 ⁻⁵ M PE	1.10 \pm 0.01*	18.34 \pm 0.89*
10 ⁻⁴ M PE	1.14 \pm 0.01*	22.89 \pm 0.60*
10 ⁻³ M PE	1.14 \pm 0.01*	22.61 \pm 0.75*

ตารางที่ 17 แสดงผลของ norepinephrine (NE) ต่อความแรงในการหดตัวของ corpus cavernosum และเปอร์เซ็นต์การเพิ่มค่าความแรงในการหดตัวจากค่า tension หลังหยด 124 mM KCl

ค่าที่แสดงคือ mean \pm S.E.M. (n=6)

*P < 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับค่า control ของกลุ่มเดียวกัน (one way repeated ANOVA)

Treatment	Tension (g)	% Increase of contraction from resting tension
Control	0.95 \pm 0.01	0.00 \pm 0.00
124 mM KCl	0.95 \pm 0.01	0.52 \pm 0.34
10 ⁻⁸ M NE	0.97 \pm 0.01	1.90 \pm 1.25
10 ⁻⁷ M NE	0.97 \pm 0.01	1.69 \pm 1.30
10 ⁻⁶ M NE	0.99 \pm 0.01*	3.81 \pm 1.42*
10 ⁻⁵ M NE	1.01 \pm 0.01*	5.66 \pm 1.56*
10 ⁻⁴ M NE	1.01 \pm 0.01*	6.37 \pm 1.30*
10 ⁻³ M NE	1.00 \pm 0.01*	4.88 \pm 1.27*

ตารางที่ 18 แสดงผลของ acetylcholine (ACh) ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-5} M PE

ค่าที่แสดงคือ mean \pm S.E.M. (n=6)

*P < 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับค่า control ของกลุ่มเดียวกัน (one way repeated ANOVA)

Treatment	Tension (g)	
Control	0.98 \pm 0.02	0.00 \pm 0.00
124 mM KCl	0.97 \pm 0.02	0.00 \pm 0.00
		% Relaxation from 10^{-5}M PE precontraction
10^{-5} M PE	1.16 \pm 0.02	0.00 \pm 0.00
10^{-8} M ACh	1.16 \pm 0.02	0.00 \pm 0.90
10^{-7} M ACh	1.15 \pm 0.02	9.92 \pm 1.51
10^{-6} M ACh	1.12 \pm 0.02*	22.14 \pm 1.93*
10^{-5} M ACh	1.10 \pm 0.02*	34.84 \pm 3.24*
10^{-4} M ACh	1.06 \pm 0.02*	52.78 \pm 5.11*
10^{-3} M ACh	1.04 \pm 0.02*	62.59 \pm 5.61*

ตารางที่ 19 แสดงผลของ sildenafil citrate ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-5} M PE

ค่าที่แสดงคือ mean \pm S.E.M. (n=6)

*P < 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับค่า control ของกลุ่มเดียวกัน (one way repeated ANOVA)

Treatment	Tension (g)	
Control	0.97 \pm 0.01	0.00 \pm 0.00
124 mM KCl	0.97 \pm 0.01	0.00 \pm 0.00
		% Relaxation from 10^{-5}M PE precontraction
10^{-5} M PE	1.14 \pm 0.01	0.00 \pm 0.00
10^{-10} M sildenafil citrate	1.15 \pm 0.02	-6.64 \pm 0.70
10^{-9} M sildenafil citrate	1.14 \pm 0.02	1.35 \pm 3.51
10^{-8} M sildenafil citrate	1.12 \pm 0.01*	12.69 \pm 6.69*
10^{-7} M sildenafil citrate	1.10 \pm 0.01*	20.91 \pm 3.16*
10^{-6} M sildenafil citrate	1.05 \pm 0.01*	45.93 \pm 2.46*
10^{-5} M sildenafil citrate	1.03 \pm 0.01*	60.58 \pm 2.55*
10^{-4} M sildenafil citrate	1.02 \pm 0.01*	63.17 \pm 1.26*

ตารางที่ 20 แสดงผลของ vehicle, morelloflavone และ camboginol ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-5} M PE

ค่าที่แสดงคือ mean \pm S.E.M. (n=6)

*P < 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม vehicle (one way ANOVA)

Treatment	Concentration	Tension (g)	
Control	-	0.94 \pm 0.01	0.00 \pm 0.00
	KCl	124 mM	0.93 \pm 0.02
PE			% Relaxation from 10^{-5} M PE precontraction
	10^{-5} M	1.15 \pm 0.03	0.00 \pm 0.00
Vehicle	0.1%	1.15 \pm 0.03	-1.85 \pm 0.39
	0.2%	1.15 \pm 0.03	-1.16 \pm 0.74
	0.3%	1.14 \pm 0.03	3.09 \pm 0.82
	0.4%	1.13 \pm 0.03	5.50 \pm 0.75
	0.5%	1.12 \pm 0.03	9.55 \pm 1.12
	0.6%	1.12 \pm 0.03	13.45 \pm 1.00
Control	-	0.91 \pm 0.02	-
	KCl	124 mM	0.92 \pm 0.02
PE			% Relaxation from 10^{-5} M PE precontraction
	10^{-5} M	1.19 \pm 0.01	0.00 \pm 0.00
Morelloflavone	10^{-10} M	1.20 \pm 0.01	-2.72 \pm 0.50
	10^{-9} M	1.19 \pm 0.01	0.72 \pm 1.81
	10^{-8} M	1.16 \pm 0.02*	11.94 \pm 2.55*
	10^{-7} M	1.13 \pm 0.02*	23.45 \pm 3.04*
	10^{-6} M	1.09 \pm 0.02*	36.08 \pm 2.55*
	10^{-5} M	1.04 \pm 0.02*	55.92 \pm 2.92*
Control	-	1.00 \pm 0.02	-
	KCl	124 mM	0.99 \pm 0.02
PE			% Relaxation from 10^{-5} M PE precontraction
	10^{-5} M	1.14 \pm 0.03	0.00 \pm 0.00
Camboginol	10^{-10} M	1.14 \pm 0.03	-1.60 \pm 1.08
	10^{-9} M	1.14 \pm 0.03	-0.85 \pm 0.85
	10^{-8} M	1.14 \pm 0.03	2.79 \pm 1.63
	10^{-7} M	1.12 \pm 0.02	10.15 \pm 4.79
	10^{-6} M	1.11 \pm 0.02*	22.01 \pm 5.14*
	10^{-5} M	1.09 \pm 0.02*	32.24 \pm 4.30*

ตารางที่ 21 แสดงผลของ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ในขณะที่ให้ L-NOARG (10^{-6} M) ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-5} M PE

ค่าที่แสดงคือ mean \pm S.E.M. (n=6)

*P < 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม morelloflavone (unpaired t-test)

Treatment	Concentration	Tension (g)	
Control	-	0.91 \pm 0.02	-
	KCl	124 mM	0.92 \pm 0.02
			% Relaxation from 10^{-5}M PE precontraction
PE	10^{-5} M	1.19 \pm 0.01	0.00 \pm 0.00
Morelloflavone	10^{-10} M	1.20 \pm 0.01	-2.72 \pm 0.50
	10^{-9} M	1.19 \pm 0.01	0.72 \pm 1.81
	10^{-8} M	1.16 \pm 0.02	11.94 \pm 2.55
	10^{-7} M	1.13 \pm 0.02	23.45 \pm 3.04
	10^{-6} M	1.09 \pm 0.02	36.08 \pm 2.55
	10^{-5} M	1.04 \pm 0.02	55.92 \pm 2.92
Control	-	0.96 \pm 0.01	-
	L-NOARG	10^{-6} M	0.99 \pm 0.01
KCl	124 mM	0.98 \pm 0.01	-
			% Relaxation from 10^{-5}M PE precontraction
PE	10^{-5} M	1.21 \pm 0.04	0.00 \pm 0.00
Morelloflavone	10^{-10} M	1.23 \pm 0.03	-7.46 \pm 1.69
	10^{-9} M	1.23 \pm 0.04	-5.46 \pm 1.20
	10^{-8} M	1.21 \pm 0.03*	0.95 \pm 1.88*
	10^{-7} M	1.18 \pm 0.03*	15.18 \pm 0.48*
	10^{-6} M	1.15 \pm 0.03*	28.63 \pm 1.76*
	10^{-5} M	1.13 \pm 0.02*	37.36 \pm 1.28*

ตารางที่ 22 แสดงผลของ camboginol ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ในขณะที่ให้ L-NOARG (10^{-6} M) ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-5} M PE

ค่าที่แสดงคือ mean \pm S.E.M. (n=6)

*P < 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม camboginol (unpaired t-test)

Treatment	Concentration	Tension (g)	
Control	-	1.00 \pm 0.02	-
	KCl	124 mM	0.99 \pm 0.02
			% Relaxation from 10^{-5}M PE precontraction
PE	10^{-5} M	1.14 \pm 0.03	0.00 \pm 0.00
Camboginol	10^{-10} M	1.14 \pm 0.03	-1.60 \pm 1.08
	10^{-9} M	1.14 \pm 0.03	-0.85 \pm 0.85
	10^{-8} M	1.14 \pm 0.03	2.79 \pm 1.63
	10^{-7} M	1.12 \pm 0.02	10.15 \pm 4.79
	10^{-6} M	1.11 \pm 0.02	22.01 \pm 5.14
	10^{-5} M	1.09 \pm 0.02	32.24 \pm 4.30
Control	-	1.01 \pm 0.01	-
	L-NOARG	10^{-6} M	1.03 \pm 0.01
KCl	124 mM	1.03 \pm 0.01	-
			% Relaxation from 10^{-5}M PE precontraction
PE	10^{-5} M	1.21 \pm 0.01	0.00 \pm 0.00
Camboginol	10^{-10} M	1.23 \pm 0.01	-6.65 \pm 1.36
	10^{-9} M	1.23 \pm 0.02	-6.50 \pm 1.90
	10^{-8} M	1.22 \pm 0.01	-3.86 \pm 1.46
	10^{-7} M	1.21 \pm 0.01	0.56 \pm 1.25
	10^{-6} M	1.21 \pm 0.01*	0.90 \pm 2.02*
	10^{-5} M	1.21 \pm 0.01*	-0.35 \pm 2.11*

ตารางที่ 23 แสดงผลของ morelloflavone ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ในขณะที่ให้ sildenafil citrate (10^{-5} M) ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-5} M PE

ค่าที่แสดงคือ mean \pm S.E.M. (n=6)

Treatment	Concentration	Tension (g)	
Control KCl	-	0.91 \pm 0.02	-
	124 mM	0.92 \pm 0.02	-
			% Relaxation from 10^{-5}M PE precontraction
PE	10^{-5} M	1.19 \pm 0.01	0.00 \pm 0.00
Morelloflavone	10^{-10} M	1.20 \pm 0.01	-2.72 \pm 0.50
	10^{-9} M	1.19 \pm 0.01	0.72 \pm 1.81
	10^{-8} M	1.16 \pm 0.02	11.94 \pm 2.55
	10^{-7} M	1.13 \pm 0.02	23.45 \pm 3.04
	10^{-6} M	1.09 \pm 0.02	36.08 \pm 2.55
	10^{-5} M	1.04 \pm 0.02	55.92 \pm 2.92
Control Sildenafil citrate KCl	-	1.02 \pm 0.03	-
	10^{-6} M	1.00 \pm 0.02	-
	124 mM	1.01 \pm 0.03	-
			% Relaxation from 10^{-5}M PE precontraction
PE	10^{-5} M	1.18 \pm 0.03	0.00 \pm 0.00
Morelloflavone	10^{-10} M	1.19 \pm 0.03	-4.50 \pm 1.73
	10^{-9} M	1.17 \pm 0.03	4.66 \pm 3.02
	10^{-8} M	1.15 \pm 0.03	15.45 \pm 3.30
	10^{-7} M	1.14 \pm 0.02	25.92 \pm 2.70
	10^{-6} M	1.11 \pm 0.02	41.44 \pm 2.98
	10^{-5} M	1.09 \pm 0.02	55.27 \pm 3.70

ตารางที่ 24 แสดงผลของ camboginol ต่อการคลายตัวของ corpus cavernosum ในขณะที่ให้ sildenafil citrate (10^{-5} M) ที่ทำให้หดตัวก่อนด้วย 10^{-5} M PE

ค่าที่แสดงคือ mean \pm S.E.M. (n=6)

*P < 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม camboginol (unpaired t-test)

Treatment	Concentration	Tension (g)	
Control	-	1.00 \pm 0.02	-
	KCl	124 mM	0.99 \pm 0.02
PE			% Relaxation from 10^{-5} M PE precontraction
	10^{-5} M	1.14 \pm 0.03	0.00 \pm 0.00
Camboginol	10^{-10} M	1.14 \pm 0.03	-1.60 \pm 1.08
	10^{-9} M	1.14 \pm 0.03	-0.85 \pm 0.85
	10^{-8} M	1.14 \pm 0.03	2.79 \pm 1.63
	10^{-7} M	1.12 \pm 0.02	10.15 \pm 4.79
	10^{-6} M	1.11 \pm 0.02	22.01 \pm 5.14
	10^{-5} M	1.09 \pm 0.02	32.24 \pm 4.30
Control	-	1.00 \pm 0.02	-
	Sildenafil citrate	10^{-6} M	0.98 \pm 0.02
KCl	124 mM	0.99 \pm 0.02	-
			% Relaxation from 10^{-5} M PE precontraction
PE			
	10^{-5} M	1.15 \pm 0.03	0.00 \pm 0.00
Camboginol	10^{-10} M	1.15 \pm 0.03	-2.20 \pm 2.12
	10^{-9} M	1.14 \pm 0.03	2.94 \pm 2.25
	10^{-8} M	1.12 \pm 0.03*	19.68 \pm 3.58*
	10^{-7} M	1.10 \pm 0.03*	31.96 \pm 3.61*
	10^{-6} M	1.07 \pm 0.02*	47.06 \pm 2.52*
	10^{-5} M	1.05 \pm 0.03*	59.77 \pm 4.55*

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	น.ส.จารุเนตร ละม้าย	
รหัสประจำตัวนักศึกษา	5410220133	
วุฒิการศึกษา		
วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตร์บัณฑิต (สาขาชีววิทยา)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2552

ทุนการศึกษา (ที่ได้รับในระหว่างการศึกษา)

ทุนอุดหนุนผู้ช่วยสอน (Teaching Assistant) ระดับปริญญาโท ปีการศึกษา 2554-2556
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ผลงานที่ได้รับการตีพิมพ์

Lamai, J., Mahabusarakam, W., Ratithammatorn, T., Hiranyachattada, S. (2013). Effects of morelloflavone from *Garcinia dulcis* on vasorelaxation of isolated rat thoracic aorta. *J. Physiol Biomed Sci.* 26(1):13-17.

ผลงานทางวิชาการที่นำเสนอในงานประชุมวิชาการ

Lamai, J., Mahabusarakam, W., Hiranyachattada, S. (2013). Effects of camboginol from *Garcinia dulcis* on vasorelaxation of isolated rat thoracic aorta. *The 8th Joint Seminar on Biomedical Sciences.* Kunmming, China. P: 80.