

อุปกรณ์ และ วิธีทำการวิจัย

2.1 วัสดุ, สัตว์ทดลอง และ เครื่องมือ

2.1.1 พืชผักสวนครัว

- 2.1.1.1 ใบกะเพราอบแห้ง (Ocimum sanctum, L.H.)
- 2.1.1.2 ใบแมงลักอบแห้ง (Ocimum citratum L.)
- 2.1.1.3 ใบโหระพาอบแห้ง (Ocimum basilicum L.)
- 2.1.1.4 ใบสะระแหน่อบแห้ง (Mentha arvensis L.)
- 2.1.1.5 ต้นผักชีอบแห้ง (Coriandrum sativum L.)
- 2.1.1.6 ต้นผักชีฝรั่งอบแห้ง (Eryngium foetidum L.)
- 2.1.1.7 ต้นต้นนายอบแห้ง (Apium graveolens L.)

2.1.2 สัตว์ทดลอง

- 2.1.2.1 สุนัข
- 2.1.2.2 หนูตะเภา

2.1.3 เครื่องมือ

- 2.1.3.1 Four-channel recorder (Devices Co., MX 4 type)
- 2.1.3.2 Physiological Pressure Transducers (Bell & Howell Limited)
- 2.1.3.3 Gas Pressure Transducers (Pye Eter LTD)
- 2.1.3.4 Clinical Flame Photometer (Corning-eel model 150)
- 2.1.3.5 Harvard apparatus recorder 350
- 2.1.3.6 Harvard apparatus isometric Force Transducer
- 2.1.3.7 Harvard apparatus isotonic Force transducer
- 2.1.3.8 Isolated Organ-tissue Bath (Phipps & Bird, Inc)



2.2 วิธีทำการวิจัย

2.2.1 หาปริมาณโปแตสเซียมที่อยู่ในยาต้ม (decoction) นั้น ๆ เตรียมยาต้ม (decoction) ของพืชผักสวนครัวให้มีความเข้มข้น 50% โดยเอาพืชผักสวนครัวที่อบแห้งแต่ละชนิด มาชั่งให้ร่วนน้ำหนักที่แน่นอน นำไปต้มกับน้ำจนเดือดประมาณ 5 นาที แล้วนำไปกรอง และทำให้เข้มข้นจนได้ 50% นำไปแช่ตู้เย็นทิ้งไว้ 1 วัน แล้วนำมา Centrifuge เพื่อกำจัดสารที่แขวนตะกอนอยู่ในยาต้มนั้น จะได้ยาต้มที่มีลักษณะใสสีน้ำตาล นำไปหาปริมาณของโปแตสเซียม โดยใช้ Clinical Flame Photometer (Corning - eel model 150)

2.2.2 ศึกษาผลของการฉีดเข้าเส้นเลือดดำ (Intravenous injection) ของยาต้ม (decoction) ของพืชผักสวนครัว 7 ชนิดดังกล่าวต่อความดันโลหิต (Systemic Blood Pressure) รวมทั้งลักษณะทางเภสัชวิทยาในแง่ของ dose - response characteristics ของตัวอย่างพืชผักสวนครัวนั้น

2.2.2.1 ใช้พืชผักสวนครัวที่เตรียมได้ (50% สารละลาย) และรู้ปริมาณของโปแตสเซียม

2.2.2.2 ใช้ 0.25, 0.50, 0.75, 1.0, 1.5 และ 2.0 ml ตามลำดับเป็นขนาดที่ฉีดเข้าเส้นเลือดดำในสุนัข

2.2.2.3 ใช้สุนัขเป็นสัตว์ทดลอง โดยการเลือกขนาดของสุนัขที่มีน้ำหนักใกล้เคียงกัน

Anesthesia ทำให้สุนัขหมดความรู้สึกโดยใช้ Nembutal Sodium (Sodium Pentobarbital injection USP) ฉีดเข้าช่องท้องโดยให้ในขนาด 30 มิลลิกรัม ต่อ 1 กิโลกรัมของน้ำหนักสุนัข (13)

Trachial Cannulation เนื่องจากการให้ยาสลบ (Nembutal Sodium) จะทำให้เกิดมีสิ่งขับแยก (Secretion) ออกมามากในหลอดลม จึงจำเป็นต้องสอดหลอดลม 3 ทาง (ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากับเส้นผ่าศูนย์กลางของหลอดลม) เข้าไปในหลอดลม เพื่อให้สุนัขหายใจได้สะดวกโดยไม่มีกรอุดตัน (obstruction) ของสิ่งขับแยก (secretion)

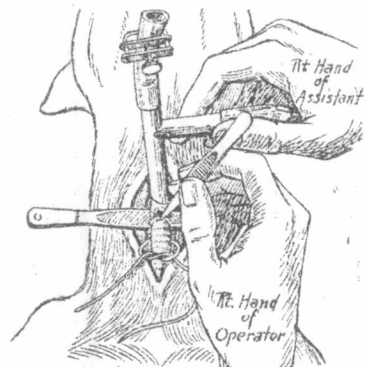
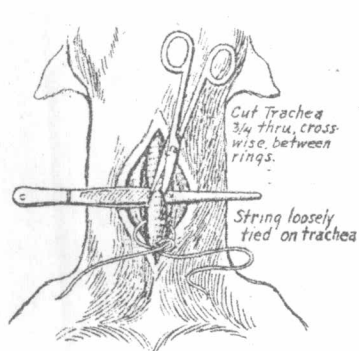
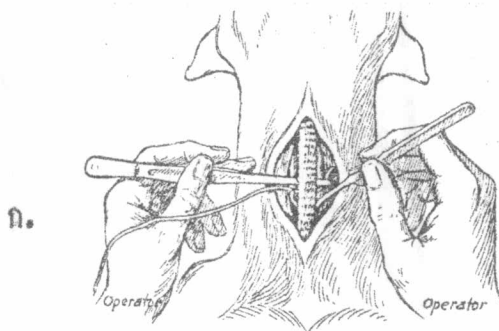
ทำได้โดยการให้สุนัขนอนหงาย และยึดคอกให้ยาวที่สุดผาตรงบริเวณคอ ผ่านผิวหนังและเนื้อเยื่อต่าง ๆ ลงไปจนกระทั่งถึงหลอดลม ซึ่งเป็นกระดูกอ่อน เจาะหลอดลม แล้วสอดหลอดลม 3 ทางเข้าไป ดังรูปที่ 1 ก. (12)

Femoral Vein Cannulation การสอด Polyethylene tube เข้าไปในเส้นเลือดดำ บริเวณโคนขาหน้า (Femoral Vein) เพื่อฉีดยาต้ม (decoction) ของพืชผักสวนครัวนั้น ๆ เข้าไป

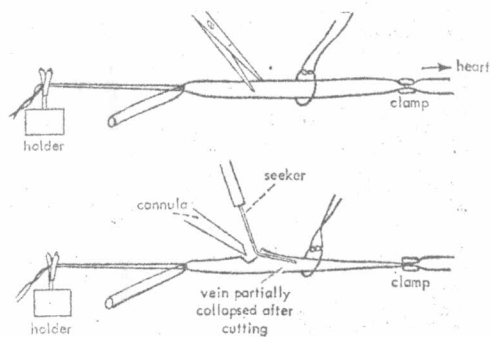
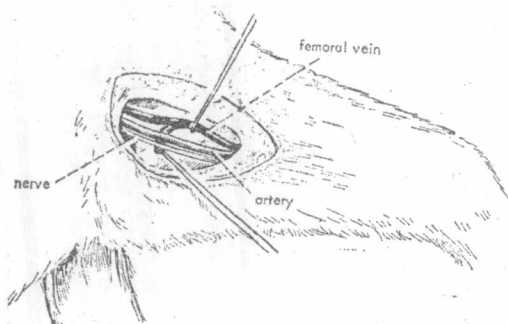
ทำได้โดยการผ่าลงไปตรงบริเวณโคนขาหน้า ซึ่งเป็นบริเวณที่อยู่ของเส้นเลือดดำ Femoral แล้วใช้ Polyethylene tube ซึ่งมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.066 นิ้ว ซึ่งปลายด้านที่สอดเข้าเส้นเลือดของท่อให้เฉียงและเรียบ เพื่อป้องกันการอุดตันโดยไปแตะผนังของเส้นเลือด ส่วนปลายอีกข้างหนึ่งท่อเข้ากับ Three-way stopcock และ Syringe บรรจุควยสารละลาย isotonic ซึ่งมีความเข้มข้น 0.9 % Sodium chloride ดังรูปที่ 1 ข. (15)

บันทึกความดันโลหิต (Recording of Systemic Blood Pressure)

ทำได้โดยการ Cannulate เส้นโลหิตแดง Femoral ด้วย Polyethylene tube ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.062 นิ้ว โดยวิธีเดียวกับ Cannulate เส้นโลหิตดำ Femoral แตกต่างกันโดยที่ปลายอีกข้างของ Polyethylene tube ท่อเข้ากับ Pressure transducer สัญญาณไฟฟ้าจาก Transducer นี้จะผ่านเข้าไปในเครื่องขยาย (Amplifier) และบันทึกออกมาในกระดาษดังรูปที่ 2 (10)

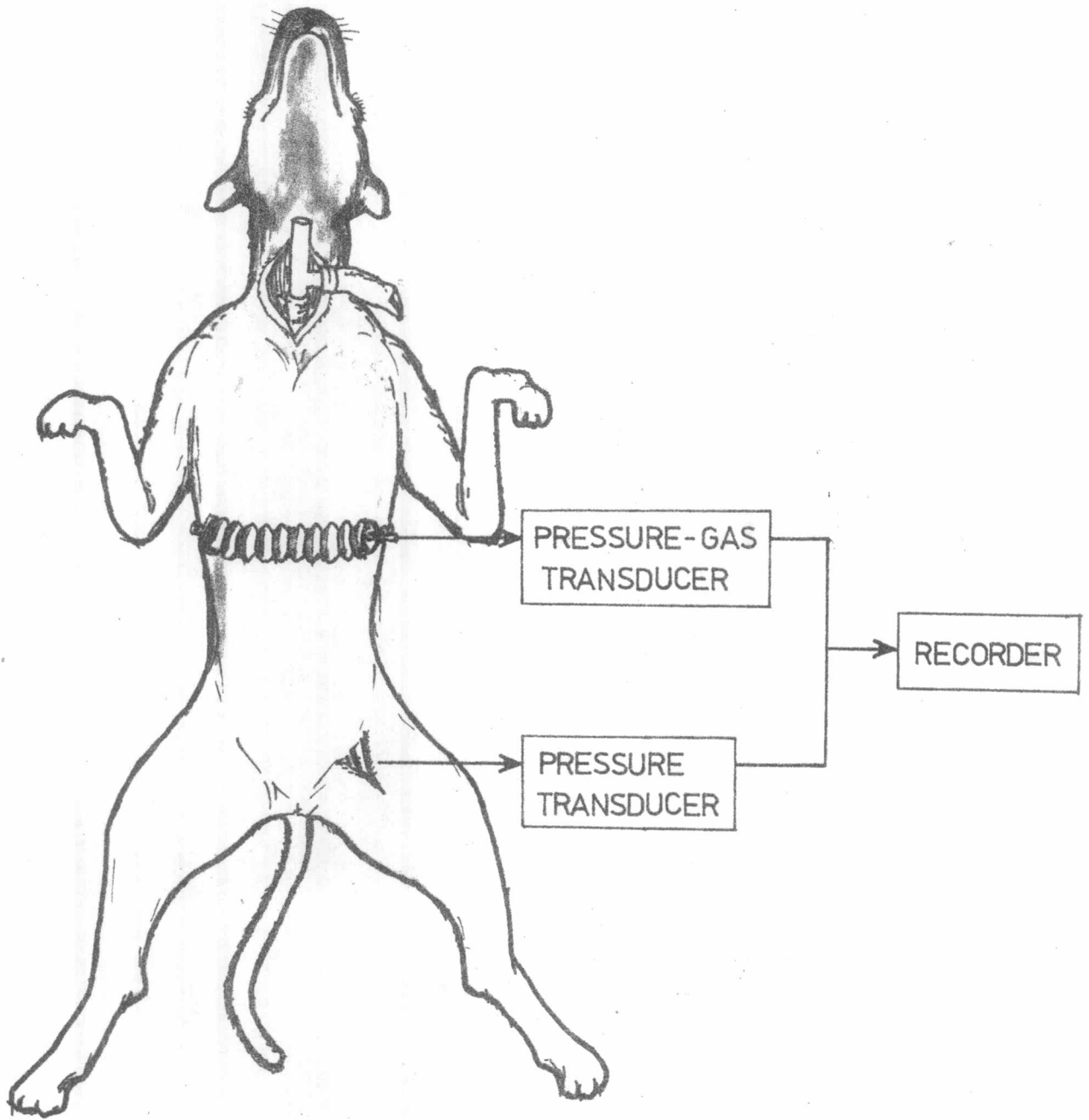


ข.



รูปที่ 1

- ก. แสดงการ Cannulate Trachea ในสุนัข
- ข. แสดงการ Cannulate Femoral artery และ Femoral Vein ในสุนัข



รูปที่ 2

แสดงการประกอบเครื่องมือ พร้อมสัตว์ทดลอง (สุนัข)
 ในการบันทึกความดันโลหิตและการหายใจ.

บันทึกอัตราการหายใจ (Recording of Respiration Movements)

ทำได้โดยการใช้อุปกรณ์ Pneumograph คาคที่บริเวณหน้าอกของสุนัข ซึ่งนอน
 หงายอยู่และมีท่อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร ต่อเชื่อมอยู่ระหว่าง
 Gas Pressure Transducer เมื่อสุนัขหายใจจะเกิดการเคลื่อนไหวที่บริเวณ
 หน้าอก Pneumograph ซึ่งมีลักษณะยืดหดได้ ตามการเคลื่อนไหวของหน้าอก
 Transducer จะรับการเคลื่อนไหวนั้น แล้วแปลเป็นสัญญาณทางไฟฟ้าเข้าไปใน
 เครื่องขยาย (amplifier) และบันทึกออกมาบนกระดาษ ดังรูปที่ 2 (10)

2.2.2.4 นำค่าความดันโลหิตที่ลดลงมาแสดง โดยเขียนเป็นกราฟเพื่อแสดง
 dose - response characteristics

2.2.3 ศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ในการลดความดันโลหิตของยาต้ม (decoction)
 ของพืชผักสวนครัวนั้น ๆ กับจำนวนโปแตสเซียมที่เท่ากันที่มีอยู่ในยาต้มนั้น ๆ

2.2.3.1 เตรียมสัตว์ทดลอง (สุนัข) เหมือนในข้อ 2.2.2.3

2.2.3.2 ใช้ 1.0 ml ของ 50% ยาต้มของพืชผักสวนครัวนั้น ๆ เทียบ
 กับจำนวนสารละลายโปแตสเซียม 1.0 ml ที่มีปริมาณเท่ากับโปแตสเซียม
 ในยาต้มของพืชผักสวนครัวนั้น ๆ

2.2.3.3 เปรียบเทียบผลของความดันโลหิต (Systemic Blood
 Pressure) และอัตราการหายใจ (Respiration rate) ในสัตว์ทดลอง
 (สุนัข) ระหว่างยาต้มของพืชผักสวนครัวนั้น ๆ กับสารละลายโปแตสเซียมที่เท่ากัน

2.2.4 ศึกษาผลของยาต้ม (decoction) ของพืชผักสวนครัวนั้น ๆ อันเนื่องมาจาก
 การหลั่งของฮิสตามีน (Histamine)

2.2.4.1 เตรียมสัตว์ทดลอง (สุนัข) เหมือนในข้อ 2.2.2.3

2.2.4.2 ให้ฮีสตามีนฟอสเฟต (Histamine Phosphate) ทางเส้นโลหิตดำในขนาด $5 \mu\text{g}/\text{Kg}$ (10) บันทึกความดันโลหิตที่ลดลง

2.2.4.3 ให้แอนตี้ฮีสตามีน (Antihistamine) คือ Diphenhydramine hydrochloride ทางเส้นโลหิตดำในขนาด $0.5 \text{ mg}/\text{Kg}$ (18)

รอประมาณ 3 นาที ตามด้วยฮีสตามีนฟอสเฟต (Histamine Phosphate) ในขนาด $5 \mu\text{g}/\text{Kg}$ (10) บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงของความดันโลหิต

2.2.4.4 ให้แอนตี้ฮีสตามีน (Antihistamine) Diphenhydramine hydrochloride ทางเส้นโลหิตดำในขนาด $0.5 \text{ mg}/\text{Kg}$ (18)

รอประมาณ 3 นาที ตามด้วย 50% ของยาต้มของพืชผักสวนครัวทั้ง 7 ชนิด ในขนาด 1.0 ml บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงของความดันโลหิต

2.2.5 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของผลอันเนื่องมาจากยาต้มของพืชผักสวนครัวนั้น ๆ เมื่อสัตว์ทดลอง (สุนัข) ถูกกระทำก่อนหน้าการให้ยาต้ม ด้วย Anticholinergic (Atropine), β - adrenergic blocking agent (propranolol) และ α - adrenergic blocking agent (Phentolamine)

2.2.5.1 เตรียมสัตว์ทดลอง (สุนัข) เหมือนในข้อ 2.2.2.3

2.2.5.2 การทดลองหาฤทธิ์ในการเป็น anticholinergic ของยาต้ม

ให้ Acetylcholine ในขนาด $5 \mu\text{g}/\text{Kg}$ (10) ทางเส้นโลหิตดำ บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงของความดันโลหิต ให้ Atropine sulfate

ในขนาด $1 \text{ mg}/\text{Kg}$ (10) ทางเส้นโลหิตดำ รอประมาณ 3 นาที ให้

acetylcholine ในขนาด $5 \mu\text{g}/\text{Kg}$ (10) บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงของความดันโลหิต

ให้ Atropine sulfate ในขนาด $1 \text{ mg}/\text{Kg}$ (10) ทางเส้นโลหิตดำ รอประมาณ 3 นาที ให้ 1.0 ml ของ 50% ยาต้มของพืชผักสวนครัว แต่ละชนิด ทั้ง 7 ชนิด บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงของความดันโลหิต

2.2.5.3 การทดลองหาฤทธิ์ในการเป็น β - adrenergic blocking agent ของยาต้ม

ให้ Adrenaline ในขนาด $5 \mu\text{g}/\text{Kg}$ (10) ทางเส้นโลหิตดำ บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงของความดันโลหิต ให้ Propanolol ในขนาด $0.5 \text{ mg}/\text{Kg}$ (9) ทางเส้นโลหิตดำ รอประมาณ 3 นาที ให้ Adrenaline ในขนาด $5 \mu\text{g}/\text{Kg}$ (10) บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงของความดันโลหิต

ให้ 1.0 ml ของ 50% ยาต้มของพืชผักสวนครัวแต่ละชนิดทางเส้นโลหิตดำ รอประมาณ 3 นาที ให้ adrenaline ในขนาด $5 \mu\text{g}/\text{Kg}$ (10) ทางเส้นโลหิตดำ บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงความดันโลหิต

ให้ Isoproterenol ในขนาด $5 \mu\text{g}/\text{Kg}$ (10) ทางเส้นโลหิตดำ บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงของความดันโลหิต ให้ Propanolol ในขนาด $0.5 \text{ mg}/\text{Kg}$ (9) ทางเส้นโลหิตดำ รอประมาณ 3 นาที ให้ Isoproterenol ในขนาด $5 \mu\text{g}/\text{Kg}$ (10) บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงของความดันโลหิต

ให้ 1.0 ml ของ 50% ยาต้มของพืชผักสวนครัวแต่ละชนิด ทางเส้นโลหิตดำ รอประมาณ 3 นาที ให้ Isoproterenol ในขนาด $5 \mu\text{g}/\text{Kg}$ (10) ทางเส้นโลหิตดำ บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงของความดันโลหิต

2.2.5.4 การทดลองหาฤทธิ์ในการเป็น α - adrenergic blocking agent ของยาต้ม

ให้ Noradrenaline ในขนาด $5 \mu\text{g}/\text{Kg}$ (10) ทางเส้นโลหิตดำ บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงของความดันโลหิต ให้ Phentolamine ในขนาด $3 \text{ mg}/\text{Kg}$ (13) ทางเส้นโลหิตดำ รอประมาณ 3 นาที ให้ Noradrenaline ในขนาด $5 \mu\text{g}/\text{Kg}$ (10) บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงของความดันโลหิต

ให้ 1.0 ml ของ 50% ยาต้มของพืชผักสวนครัวแต่ละชนิด ทางเส้นโลหิตดำ
รอบประมาณ 3 นาที ให้ Noradrenaline ในขนาด 5 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ (10) ทางเส้นโลหิตดำ
บันทึกการเปลี่ยนแปลงของความดันโลหิต

2.2.6 ศึกษาผลของยาต้ม (decoction) ของพืชผักสวนครัวนั้น ๆ ต่อกล้ามเนื้อหัวใจ
(Isolated heart)

2.2.6.1 50% ยาต้มของพืชผักสวนครัวนั้น ซึ่งทราบปริมาณโปแตสเซียมแล้ว

2.2.6.2 0.2, 0.4 และ 0.8 ml เป็นขนาดที่ใช้

2.2.6.3 เตรียมหัวใจของบงทั้ง 2 หองของหนูตะเภา ดังวิธีการต่อไปนี้

ทำให้หนูตะเภาหมดความรู้สึก โดยการตีบริเวณรอยต่อระหว่างสมองกับไขสัน
หลัง (Sharp blowed) แล้วทำการผ่าตัดคลงไปบริเวณหน้าอกของหนูตะเภา
เพื่อนำเอาหัวใจออกมาจากตัว แยกส่วนที่เป็นหัวใจห้องล่าง (Ventricle)
ออก เหลือแต่หัวใจห้องบน (auricle) ทั้ง 2 หอง นำไปแขวนใน Chamber
ของเครื่องมือ Isolated Organ-tissue bath ซึ่งควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 30-32
องศาเซลเซียส ใน chamber จะมีสารละลาย Ringer Locke ซึ่งมีส่วนประกอบ
ดังตารางที่ 1 (16) ซึ่งเป็น Physiological Solution
ที่เหมาะสมสำหรับหัวใจ นอกจากนี้ยังให้ออกซิเจนอีกด้วย เพื่อให้หัวใจได้ทำงานอยู่
ในสภาพที่ใกล้เคียงที่สุดของร่างกาย ปลายข้างหนึ่งของหัวใจห้องบนผูกติดกับขอแก้ว
ใน Chamber ส่วนปลายอีกข้างหนึ่งผูกเข้ากับ Harvard Apparatus isometric
Force Transducer จากนั้นต่อเข้ากับ Harvard apparatus recorder
เพื่อบันทึกการทำงานของหัวใจ ดังรูปที่ 3 (16)

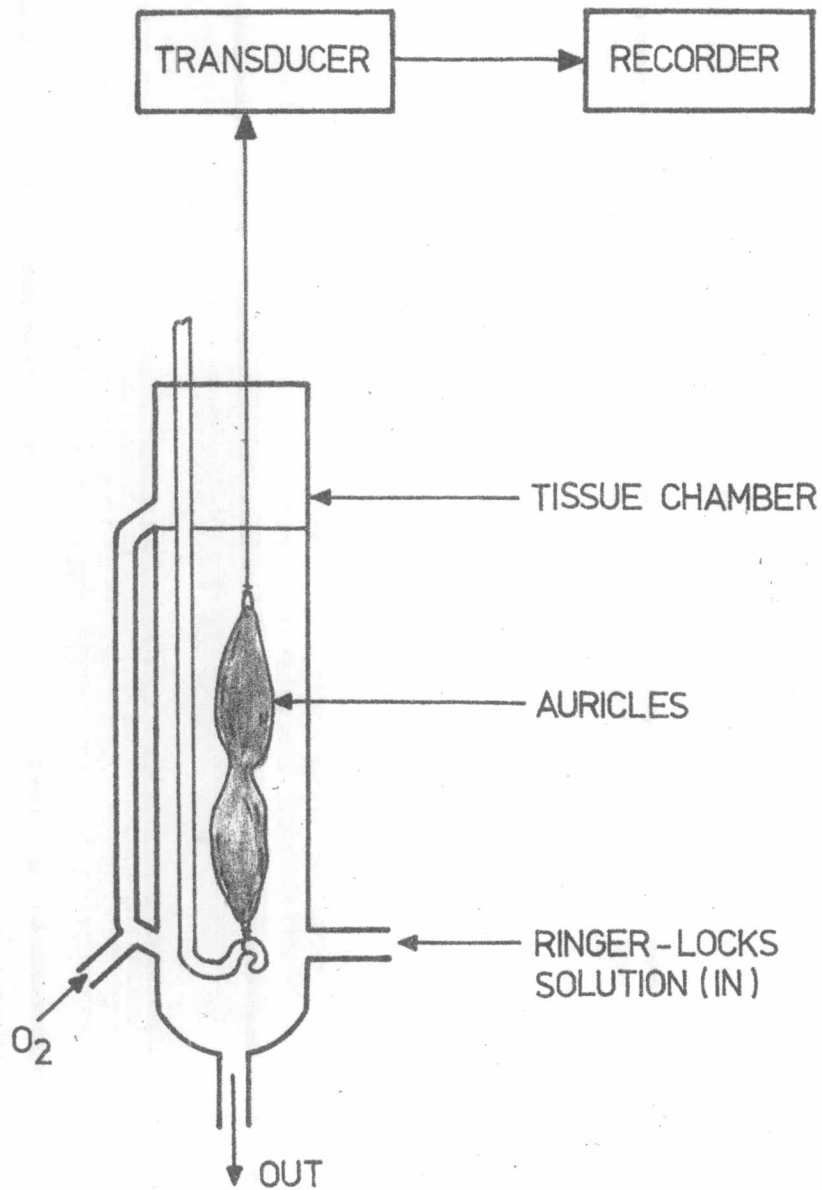
2.2.6.4 วัดการทำงานของหัวใจที่เปลี่ยนแปลงไป ในขณะที่ให้ยาต้ม
(decoction) นั้น ๆ แล้วนำมาแสดงโดยเขียนเป็นกราฟ เพื่อแสดง
dose - response characteristics.

ตารางที่ 1

แสดงส่วนประกอบของ Ringer Locke Solution

	จำนวนGm ต่อ 10 ลิตร
NaCl	90.0
KCL	4.2
Glucose	10.0
NaHCO ₃	5.0
CaCl ₂	1.2

002300



รูปที่ 3

แสดงการทำ Isolated auricles preparation

โดยใช้หัวใจห้องบนของหนูตะเภา

2.2.7 ศึกษาเปรียบเทียบผลของยาต้ม (decoction) ของพืชผักสวนครัวนั้น ๆ ต่อกล้ามเนื้อหัวใจ (Isolated heart) กับปริมาณของโปแตสเซียมที่เท่ากัน

2.2.7.1 ใช้ 50% ของยาต้มแต่ละชนิด และสารละลายโปแตสเซียมจำนวนที่เท่ากัน กับจำนวนโปแตสเซียมที่มีอยู่ใน 50 % ยาต้มของพืชผักสวนครัวนั้น ๆ

2.2.7.2 0.4 ml 50% ของยาต้มแต่ละชนิดเป็นขนาดที่ใช้เปรียบเทียบ

2.2.7.3 ใช้หัวใจห้องบน (auricle) ทั้ง 2 ห้องของหนูตะเภา ทำการทดลองเหมือนกับข้อ 2.2.6.3

2.2.7.4 เปรียบเทียบผลของการทำงานของหัวใจห้องบนของหนูตะเภา ระหว่าง 50% ของยาต้มนั้น ๆ กับสารละลายโปแตสเซียมที่เท่ากัน

2.2.8 ศึกษาผลของยาต้ม (decoction) ของพืชผักสวนครัวนั้น ต่อกล้ามเนื้อระบบหมุนเวียนของโลหิต (Vascular smooth Muscle)

2.2.8.1 ใช้ 50% ของยาต้มของพืชผักสวนครัวแต่ละชนิด

2.2.8.2 ขนาดที่ใช้ 2.0 ml

2.2.8.3 เตรียมเส้นเลือดแดงใหญ่ คือ Aorta ซึ่งตัดเป็น Spiral ดังวิธีต่อไปนี้

ทำให้หนูตะเภาหมดความรู้สึก โดยการตีบริเวณต่อระหว่างสมองกับไขสันหลัง แล้วทำการผ่าตัดลงไปบริเวณหน้าอกของหนูตะเภา ตัดเอาเส้นเลือดแดง Aorta ออกมายาวประมาณ 1 นิ้ว นำมาตัดให้เป็น Spiral ดังรูปที่ 4 แล้วแขวนไว้ใน

Chamber ของเครื่องมือ Isolated Organ tissue bath

ซึ่งควบคุมอุณหภูมิไว้ 37 องศาเซลเซียส ใน chamber จะมีสารละลาย

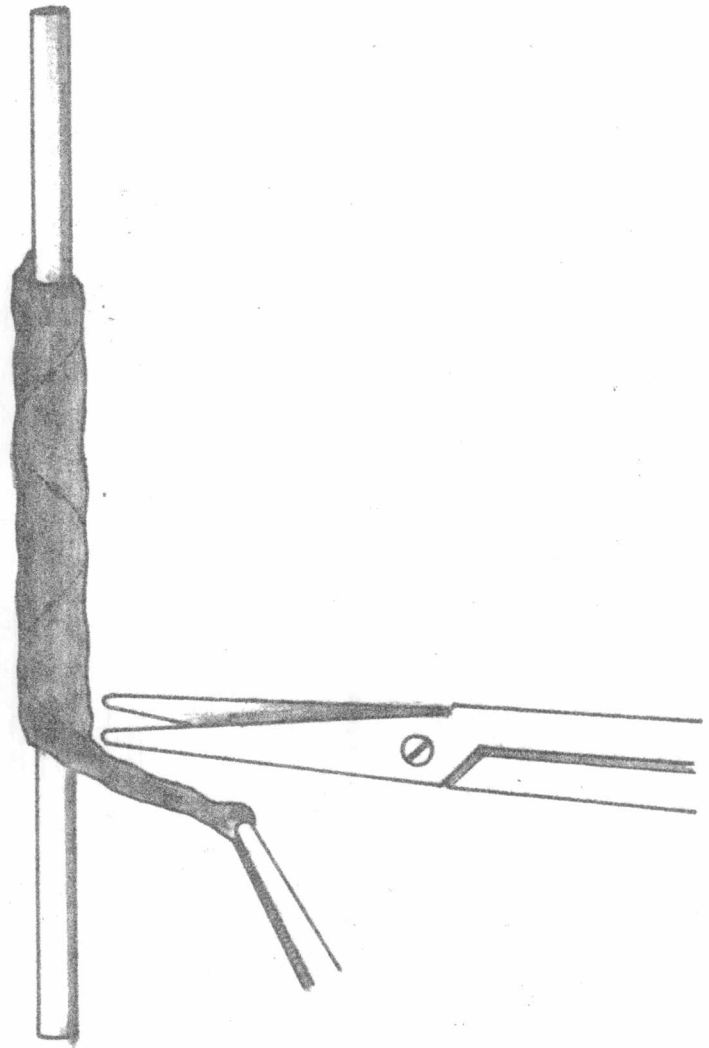
Krebs' solution มีส่วนประกอบดังตารางที่ 2 (16) ซึ่งเป็น Physiological

Solution ที่เหมาะสมที่สุด สำหรับเส้นโลหิต นอกจากนี้ยังต้องให้ออกซิเจน

รวมกับคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์ ทำนองเดียวกับข้อ 2.2.6.3

ปลายข้างหนึ่งของเส้นเลือดที่เตรียมได้ ผูกติดกับขอแก้วใน chamber ส่วนปลายอีกข้างหนึ่งผูกเข้ากับ Harvard apparatus isotonic force transducer จากนั้นต่อเข้ากับ Harvard apparatus recorder เพื่อบันทึกการเปลี่ยนแปลงต่อไป ดังรูปที่ 5 (16)

2.2.8.4 สังเกตผลการเปลี่ยนแปลงเมื่อให้ยาต้ม (decoction) นั้น ๆ



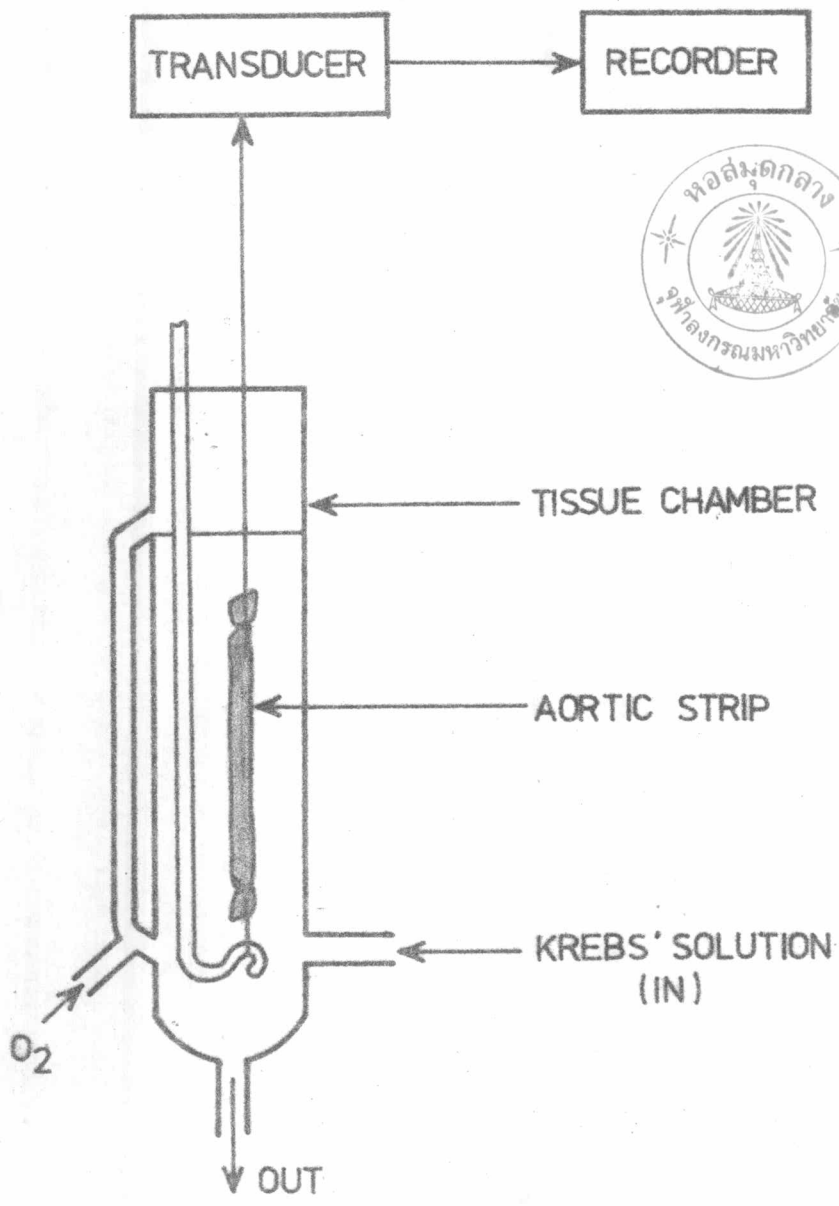
รูปที่ 4

แสดงการตัด Aorta ในหนูตะเภา ออกเป็น Spiral
กว้างประมาณ 4 มม. และยาวประมาณ 4 ซม.

ตารางที่ 2

แสดงส่วนประกอบของ Krebs - Henseleit Solution

	จำนวน Gm. ต่อลิตร
NaCl	6.92
KCl	0.35
MgSO ₄ 7H ₂ O	0.29
CaCl ₂	0.28
KH ₂ PO ₄	0.16
NaHCO ₃	2.1



รูปที่ 5

แสดงการทำ Aortic strip preparation
โดยใช้เส้นเลือดแดง Aorta ของหนูตะเภา