

ผลของสารสังเคราะห์ ซียู 18-07, ซียู 18-08, ซียู 18-09, ซียู 18-10, ซียู 18-11, ซียู 18-12 และ ซียู 18-13
ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารที่แยกจากหนูถีบจักร



นางสาว ธนพันธ์ สุขสะอาด

สถาบันวิทยบริการ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเภสัชวิทยา ภาควิชาเภสัชวิทยา

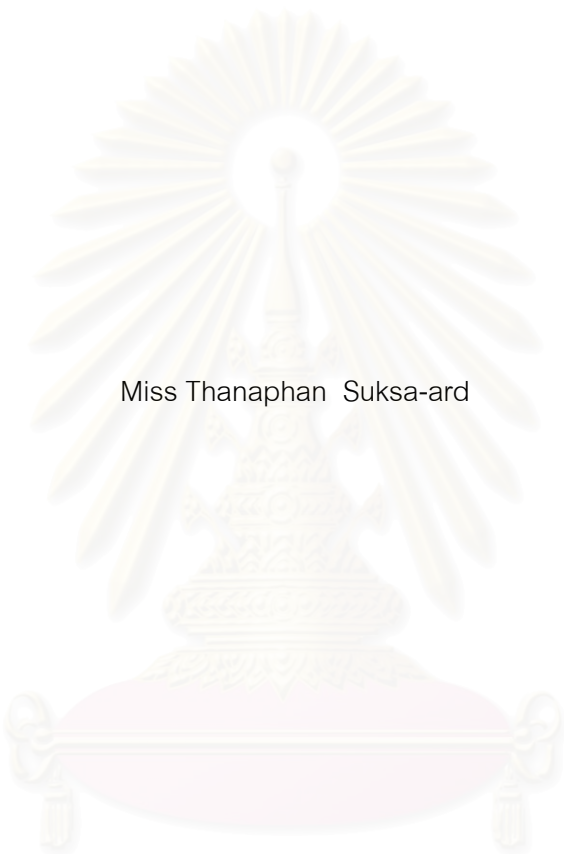
คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2545

ISBN 974-172-919-7

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EFFECTS OF CU18-07, CU18-08, CU18-09, CU18-10, CU18-11, CU18-12 AND CU18-13
ON THE SMOOTH MUSCLE CONTRACTION OF ISOLATED MOUSE STOMACH



Miss Thanaphan Suksa-ard

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Pharmacy in Pharmacology

Department of Pharmacology
Faculty of Pharmaceutical Sciences

Chulalongkorn University

Academic Year 2002

ISBN 974-172-919-7

ธนพันธ์ สุขสอาด: ผลของสารสังเคราะห์ ซียู 18-07, ซียู 18-08, ซียู 18-09, ซียู 18-10, ซียู 18-11, ซียู 18-12 และ ซียู 18-13 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารที่แยกจากหนูถีบจักร (EFFECTS OF CU18-07, CU18-08, CU18-09, CU18-10, CU18-11, CU18-12 AND CU18-13 ON THE SMOOTH MUSCLE CONTRACTION OF ISOLATED MOUSE STOMACH)
 อ. ที่ปรึกษา: อ.ดร.สุรียะ เจียรณมิ่งมงคล, อ.ที่ปรึกษาร่วม: รศ.ดร.ประสาน ธรรมอุปกรณ์, 120 หน้า.
 ISBN 974-172-919-7.

สารสังเคราะห์ CU18-07, CU18-08, CU18-09, CU18-10 และ CU18-13 เป็นอนุพันธ์ของ acyl aniline และ CU18-11 และ CU18-12 เป็นอนุพันธ์ของ acyl aminopyridine จากการศึกษาเบื้องต้นที่ผ่านมาพบว่าสารสังเคราะห์กลุ่มนี้ยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อหลอดเลือดแดงใหญ่ และท่อนาสุจิที่แยกจากหนูขาว ดังนั้นในการศึกษานี้จึงมุ่งหมายที่จะทำการศึกษผลของสารสังเคราะห์ในกลุ่มนี้ และความสัมพันธ์ของสูตรโครงสร้างที่มีหมู่แทนที่และตำแหน่งในการแทนที่ต่างกัน ต่อความแรงในการยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของกระเพาะอาหารหนูถีบจักร สายพันธุ์ Swiss albino เพศผู้ น้ำหนัก 25-35 กรัม ที่แขวนใน organ bath ที่บรรจุ physiological solution 15 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 37 ± 0.5 °C และมีก๊าซ carbogen ไหลผ่านตลอด . จากการศึกษาพบว่าสารสังเคราะห์สามารถลดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหาร ที่ถูกกระตุ้นด้วย barium chloride (1 mM) acetylcholine (1 μ M) และ potassium chloride (40 mM) ได้ด้วยความแรงที่แตกต่างกัน โดยการกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบด้วย barium chloride และ potassium chloride พบว่า CU18-09 และ CU18-10 ที่มี nitro group เป็นหมู่แทนที่ มีความแรงในการยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารมากที่สุด โดยการแทนที่ในตำแหน่ง para และ meta มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วน CU18-07 และ CU18-08 ที่มี methoxy group เป็นหมู่แทนที่ พบว่าความแรงในการออกฤทธิ์ขึ้นกับตำแหน่งในการแทนที่ โดยการแทนที่ในตำแหน่ง meta จะมีความแรงในการออกฤทธิ์ดีกว่าการแทนที่ในตำแหน่ง para ในขณะที่ CU18-11 และ CU18-12 พบว่าการมี nitrogen อยู่ที่ตำแหน่ง meta จะให้ความแรงในการออกฤทธิ์น้อยกว่าการแทนที่ในตำแหน่ง para ส่วนการกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบด้วย acetylcholine กลับพบว่าการแทนที่ในตำแหน่ง para จะให้การออกฤทธิ์ดีกว่าการแทนที่ในตำแหน่ง meta ในทุกหมู่แทนที่ โดย nitro group เป็นหมู่แทนที่ที่มีการออกฤทธิ์แรงที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่าสารสังเคราะห์ทุกตัวในกลุ่มนี้สามารถยับยั้งการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} จากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ได้ โดยสามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่ ถูกกระตุ้นด้วย $CaCl_2$ แบบสะสม ในสารละลาย Ca^{2+} -free depolarizing solution จากผลการศึกษาจากกล่าวได้ว่าสารสังเคราะห์ในกลุ่มนี้สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะโดยยับยั้งการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} จากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ ผ่านทาง Ca^{2+} channels โดยความแรงในการออกฤทธิ์จะมีความสัมพันธ์กับสูตรโครงสร้าง

ภาควิชา	เภสัชวิทยา	ลายมือชื่อนิสิต.....
สาขาวิชา	เภสัชวิทยา	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....
ปีการศึกษา	2545	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4476578533 MAJOR : PHARMACOLOGY

KEY WORD: STOMACH/ CU18-07/ CU18-08/ CU18-09/ CU18-10/ CU18-11/ CU18-12/ CU18-13

THANAPHAN SUKSA-ARD; EFFECTS OF CU18-07, CU18-08, CU18-09, CU18-10, CU18-11, CU18-12 AND CU18-13 ON THE SMOOTH MUSCLE CONTRACTION OF ISOLATED MOUSE STOMACH. THESIS ADVISOR; SUREE JIANMONGKOL, Ph.D., THESIS CO-ADVISOR; ASSOC.PROF.PRASAN DHUMMA-UPAKORN, Ph.D. 120 pp. ISBN 974-172-919-7.

The synthetic compounds CU18-07, CU18-08, CU18-09, CU18-10 and CU18-13 are acyl aniline derivatives while CU18-11 and CU18-12 are acyl aminopyridine derivatives. All of these compounds have been reported to reduce only the contraction of isolated rat aorta and vas deferens. Therefore, the purpose of this study was to investigate the effects of these compounds on the contraction of the whole isolated mouse stomach with respect to their structure activity relationship (SAR). The whole isolated stomach from male Swiss albino mice with the body weight of 25-35 g was suspended in an organ bath filled with 15 ml physiological solution at 37 ± 0.5 °C saturated with carbogen gas. These synthetic compounds inhibited the contraction of stomach, which were induced by barium chloride (1 mM), acetylcholine (1 μ M), and potassium chloride (40 mM) with different potency. CU18-09 and CU18-10 which consisted of a nitro group at meta and para position were the most potent inhibitors against the contraction induced by barium chloride and potassium chloride. In addition, the different position of nitro group on the benzene ring (at meta or para position) had no significant effect on the inhibitory action of CU compounds. In contrast, the potency of CU18-07 and CU18-08 which were composed of a methoxy group substituent at para or meta position were significantly different. CU18-08 was more potent than CU18-07, indicating that the potencies of these compounds were influenced by the position of substitution. Furthermore, the nitrogen at the meta position caused CU18-12 to be more potent than CU18-11. When using ACh to induce the contraction, the substitution at the para position for each functional group caused the CU compound to be more potent than those with the substituent at the meta position, and the nitro group was the most potent functional groups. All compounds also reduced the influx of extracellular Ca^{2+} as showed by the suppression of cumulative dose response curve of CaCl_2 in the present of each CU compound. The results suggested that all of these synthetic compounds reduced the influx of extracellular Ca^{2+} via Ca^{2+} channels and also revealed some conditions of SAR.

Department	Pharmacology	Student's signature.....
Field of study	Pharmacology	Advisor's signature.....
Academic year	2002	Co-advisor's signature.....

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ อาจารย์ ดร.สุรีย์ เจียรนงมงคล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และรองศาสตราจารย์ ดร.ประสาน ธรรมอุปกกรณ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำ ตลอดจนความช่วยเหลือทำให้วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.มยุรี ตันตีสิริระ หัวหน้าภาควิชาเกษตรศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่กรุณาอำนวยความสะดวกเกี่ยวกับสถานที่ เครื่องมือและอุปกรณ์ต่าง ๆ ที่ใช้ในการวิจัย และกรุณาเป็นประธานการสอบวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชำนาญ ภัทรพานิช ที่กรุณาให้สารสังเคราะห์ CU18-07, CU18-08, CU18-09, CU18-10, CU18-11, CU18-12 และ CU18-13 รวมทั้งคำปรึกษา และคำแนะนำในการทำวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธงชัย สุขเสวต ที่กรุณาให้ยืม pressure transducer ที่ใช้ในการทำวิจัย รวมทั้งคำปรึกษา และคำแนะนำในการทำวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทพ.ชาญชัย ให้สงวน ที่กรุณาให้คำปรึกษา และคำแนะนำในการวิเคราะห์ผลทางสถิติในการทำวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ คณาจารย์ทุกท่านทั้งในภาคและนอกภาควิชาเกษตรศาสตร์ ที่ได้ให้ความรู้ตลอดการศึกษาในระดับมหาบัณฑิต ตลอดจนบัณฑิตวิทยาลัยที่กรุณาให้ทุนอุดหนุนการวิจัยครั้งนี้

และท้ายที่สุด ขอกราบขอบพระคุณบิดาและมารดาของข้าพเจ้าที่ท่านได้ให้การสนับสนุนในด้านการศึกษาและให้กำลังใจและสิ่งที่ดีแก่ผู้วิจัยเสมอมา และขอขอบคุณเพื่อน ๆ ร่วมห้องวิจัย รวมทั้งบุคคลอื่น ๆ ที่มีส่วนเกี่ยวข้องในความสำเร็จของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฅ
สารบัญภาพหรือสารบัญแผนภูมิ.....	ญ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ.....	ฒ
บทที่1. บทนำ.....	1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	4
ขอบเขตของการวิจัย.....	4
สมมุติฐาน.....	4
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	4
บทที่2. เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
โครงสร้างและสรีระวิทยาของกระเพาะอาหาร.....	5
การเปลี่ยนแปลงศักย์ไฟฟ้าและการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบทางเดินอาหาร.....	6
กลไกการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....	11
บทที่3. อุปกรณ์และวิธีวิจัย.....	14
วัสดุและอุปกรณ์.....	14
วิธีการวิจัย.....	16
การวิเคราะห์ข้อมูล.....	21

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
บทที่ 4. ผลการทดลอง.....	22
1. ผลของสารสังเคราะห์ และpapaverine ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักรเมื่อถูกกระตุ้นด้วยสารต่าง ๆ ใน Tyrode's solution.....	22
2. ผลของสารสังเคราะห์ และpapaverine ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักรในสภาวะที่ถูกตีโพลาร์ไรซ์ต่อ cumulative dose response curve ของ CaCl_2	78
3. ผลของ CU18-09 และ CU18-12 ต่อกลิ้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหนูถีบจักรเมื่อถูกกระตุ้นการหดตัวด้วย BaCl_2 ในสารละลาย Calcium free – Krebs buffer.....	88
บทที่ 5. สรุปผลการวิจัยและอภิปรายผล.....	93
1. อภิปรายผลการวิจัย.....	93
2. สรุปผลการวิจัย.....	101
3. ข้อเสนอแนะ.....	102
รายการอ้างอิง.....	104
ภาคผนวก.....	109
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	111

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
1. ผลการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะจากการกระตุ้นด้วย $BaCl_2$	38
2. ผลการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะจากการกระตุ้นด้วย ACh.....	57
3. ผลการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะจากการกระตุ้นด้วย KCl.....	75
4. ส่วนประกอบของ physiological solutions.....	110



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญภาพ

ภาพประกอบ	หน้า
1. สูตรโครงสร้างของอนุพันธ์ในกลุ่ม acyl aniline และ acyl aminopyridine.....	2
2. การเปลี่ยนแปลง membrane potentials ของกล้ามเนื้อเรียบ ทางเดินอาหาร.....	7
3. การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะ ที่ถูกกระตุ้นด้วย BaCl ₂	9
4. การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารที่ถูกกระตุ้นด้วย ACh.....	10
5. กลไกการเพิ่มปริมาณ Ca ²⁺ ภายในเซลล์ของกล้ามเนื้อเรียบ.....	10
6. การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารที่ถูกกระตุ้นด้วย KCl.....	11
7. กลไกการหดตัว และคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....	12
8. ชุดเครื่องมือที่ใช้ศึกษาการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบต่าง ๆ ที่แยกจากกาย (Isolated organ).....	15
9. การเตรียมเนื้อเยื่อกระเพาะอาหารแบบ strip.....	17
10. รูปแบบการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะ เมื่อถูกกระตุ้นด้วย BaCl ₂ 1 mM.....	28
11. ผลของ DMSO 0.06 % (V/V) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหาร ทั้งกระเพาะ เมื่อถูกกระตุ้นด้วย BaCl ₂	29
12. ผลของ CU18-07 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะ ที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย BaCl ₂ 1 mM.....	30
13. ผลของ CU18-08 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะ ที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย BaCl ₂ 1 mM.....	31
14. ผลของ CU18-09 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะ ที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย BaCl ₂ 1 mM.....	32
15. ผลของ CU18-10 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะ ที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย BaCl ₂ 1 mM.....	33
16. ผลของ CU18-11 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะ ที่แยกจากหนูถีบจักรเมื่อถูกกระตุ้นด้วย BaCl ₂ 1 mM.....	34
17. ผลของ CU18-12 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะ ที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย BaCl ₂ 1 mM.....	35

สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพประกอบ	หน้า
18. ผลของ CU18-13 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย BaCl_2 1 mM.....	36
19. ผลของ papaverine ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย BaCl_2 1 mM.....	37
20. กราฟระหว่างผลของสารสังเคราะห์ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM ต่อ %การหดตัวสูงสุดของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย BaCl_2 1 mM	39
21. กราฟระหว่างผลของสารสังเคราะห์ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM ต่อ %ความกว้างในส่วน rhythmic contraction ของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย BaCl_2 1 mM	40
22. กราฟระหว่างผลของสารสังเคราะห์ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM ต่อ %การเปลี่ยนแปลงของ base line ของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักร ในสภาวะที่ปราศจากสารกระตุ้น	41
23. รูปแบบการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะเมื่อถูกกระตุ้นด้วย ACh 1 μM	47
24. ผลของ DMSO 0.06 % (V/V) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะ เมื่อถูกกระตุ้นด้วย ACh 1 μM	48
25. ผลของ CU18-07 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย ACh 1 μM	49
26. ผลของ CU18-08 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย ACh 1 μM	50
27. ผลของ CU18-09 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย ACh 1 μM	51
28. ผลของ CU18-10 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย ACh 1 μM	52
29. ผลของ CU18-11 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย ACh 1 μM	53

สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพประกอบ	หน้า
30. ผลของ CU18-12 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะ ที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย ACh 1 μ M.....	54
31. ผลของ CU18-13 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะ ที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย ACh 1 μ M.....	55
32. ผลของ papaverine ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะ ที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย ACh 1 μ M.....	56
33. กราฟระหว่างผลของสารสังเคราะห์ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM ต่อการหดตัวของ กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักร ในส่วน Phasic Contraction เมื่อถูกกระตุ้นด้วย ACh 1 μ M	58
34. กราฟระหว่างผลของสารสังเคราะห์ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM ต่อการหดตัวของ กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักร ในส่วน Tonic Contraction เมื่อถูกกระตุ้นด้วย ACh 1 μ M.....	59
35. รูปแบบการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะ เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM.....	65
36. ผลของ DMSO 0.06 % (V/V) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหาร ทั้งกระเพาะเมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM	66
37. ผลของ CU18-07 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะ ที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM.....	67
38. ผลของ CU18-08 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะ ที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM.....	68
39. ผลของ CU18-09 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะ ที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM.....	69
40. ผลของ CU18-10 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะ ที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM.....	70
41. ผลของ CU18-11 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะ ที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM.....	71
42. ผลของ CU18-12 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะ ที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM.....	72

สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพประกอบ	หน้า
43. ผลของ CU18-13 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะ ที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM.....	73
44. ผลของ papaverine ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะ ที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM.....	74
45. กราฟระหว่างผลของสารสังเคราะห์ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM ต่อการหดตัวในส่วนของ Phasic Contraction ของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะ ที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM.....	76
46. กราฟระหว่างผลของสารสังเคราะห์ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM ต่อการหดตัวในส่วนของ Tonic Contraction ของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะ ที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM	77
47. ผลของ CU18-07 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะ ที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ Cumulative dose response curve ในสารละลาย Ca^{2+} -depolarizing solution.....	79
48. ผลของ CU18-08 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะ ที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ Cumulative dose response curve ในสารละลาย Ca^{2+} -depolarizing solution.....	80
49. ผลของ CU18-09 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะ ที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ Cumulative dose response curve ในสารละลาย Ca^{2+} -depolarizing solution.....	81
50. ผลของ CU18-10 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะ ที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ Cumulative dose response curve ในสารละลาย Ca^{2+} -depolarizing solution.....	82
51. ผลของ CU18-11 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะ ที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ Cumulative dose response curve ในสารละลาย Ca^{2+} -depolarizing solution.....	83
52. ผลของ CU18-12 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะ ที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ Cumulative dose response curve ในสารละลาย Ca^{2+} -depolarizing solution.....	84

สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพประกอบ	หน้า
53. ผลของ CU18-13 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะ ที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ Cumulative dose response curve ในสารละลาย Ca^{2+} -depolarizing solution.....	85
54. ผลของ papaverine ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะ ที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ Cumulative dose response curve ในสารละลาย Ca^{2+} -depolarizing solution.....	86
55. กราฟระหว่างผลของ CU18-07, CU18-08, CU18-09, CU18-10, CU18-12, CU18-13 0.1 mM และ papaverine 0.01 mM ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหาร ทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ Cumulative dose response curve ในสารละลาย Ca^{2+} -free depolarizing solution	87
56. ผลของ DMSO 0.06 % v/v ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหาร แบบ strip ที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย BaCl_2 1 mM	89
57. ผลของ CU18-09 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหาร แบบ strip ที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย BaCl_2 1 mM.....	90
58. ผลของ CU18-12 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหาร แบบ strip ที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย BaCl_2 1 mM	91
59. กราฟระหว่างผลของ CU18-09 และ CU18-12 0.1 mM ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ กระเพาะอาหารแบบ strip ที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย BaCl_2 1 mM	92
60. กราฟความสัมพันธ์ระหว่าง หมู่แทนที่ และตำแหน่งในการแทนที่ ของสารสังเคราะห์ เมื่อถูกกระตุ้นด้วย BaCl_2 1 mM.....	95
61. กราฟความสัมพันธ์ระหว่าง หมู่แทนที่ และตำแหน่งในการแทนที่ ของสารสังเคราะห์ เมื่อถูกกระตุ้นด้วย ACh 1 μM	96
62. กราฟความสัมพันธ์ระหว่าง หมู่แทนที่ และตำแหน่งในการแทนที่ ของสารสังเคราะห์ เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM.....	98

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

%	percent
μM	micromolar
AC	adenylate cyclase
ACh	acetylcholine
AP	action potential
ATP	adenosine 5'-triphosphate
Ba^{2+}	barium ion
BaCl_2	barium chloride
BER	basic electrical rhythm potential
Ca^{2+}	calcium ion
CaCl_2	calcium chloride
CaM	calmodulin
cAMP	cyclic adenosine 3', 5'-monophosphate
cGMP	cyclic guanosine 3', 5'-monophosphate
DAG	diacylglycerol
DMSO	dimethylsulfoxide
ENS	enteric nervous system
GTP	guanosine 5'-triphosphate
IP_3	inositol 1, 4, 5-trisphosphate
K^+	potassium ion
KCl	potassium chloride
M	molar
MgCl_2	magnesium chloride
MLC	myosin light chain
MLCK	myosin light chain kinase
mM	millimolar
mmH ₂ O	millimeter of water
mV	millivolt
MW	molecular weight

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ (ต่อ)

NaCl	sodium chloride
PDE	phosphodiesterase
PIP ₂	inositol bisphosphate
PKC	protein kinase C
PLC	phospholipase C
ROC	receptor-operated Ca ²⁺ channel
S.E.M.	standard error of mean
SAR	structure activity relationship
SR	sarcoplasmic reticulum
V/V	volume by volume
VOC	voltage-operated Ca ²⁺ channel
.	มิลลิเมตร
มล.	มิลลิลิตร



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

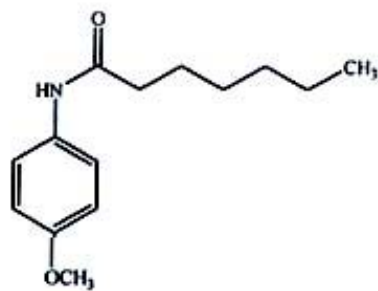
บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันเป็นที่ทราบกันดีว่าสูตรโครงสร้างทางเคมี มีความสำคัญต่อการออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารเคมี การเปลี่ยนแปลงสูตรโครงสร้าง เช่น การเติมหมู่แทนที่หรือการเปลี่ยนตำแหน่งแทนที่ล้วนมีส่วนทำให้ intrinsic activity และ affinity ในการจับกับ receptor ของสารเคมีเปลี่ยนแปลง ดังนั้นจึงมีผลต่อการออกฤทธิ์ของสารเคมี (Henry, 2001) การพัฒนาสารเคมีนอกจากกลไกการออกฤทธิ์ คุณสมบัติทางเคมีกายภาพ (Physicochemical property) ของสารเคมีก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีส่วนสำคัญเช่นกัน เพราะมีอิทธิพลต่อคุณสมบัติความเป็นกรด/ด่าง การละลายน้ำ และ stereo-chemical ซึ่งคุณสมบัติเหล่านี้จะมีผลต่อการดูดซึม การกระจายตัว การ metabolism และการขจัดสาร ดังนั้นการออกแบบเพื่อพัฒนาและวิจัยให้ได้สารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา จะต้องทราบถึงความสัมพันธ์ของแต่ละหมู่ฟังก์ชัน (structure activity relationship, SAR) เนื่องจากมีอิทธิพลต่อความแรงในการออกฤทธิ์ และคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของสารเคมี (Knittel and Zavocli, 2002)

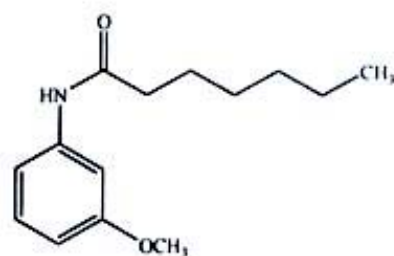
สารสังเคราะห์ CU18-07, CU18-08, CU18-09, CU18-10 และ CU18-13 เป็นอนุพันธ์ของ acyl aniline ส่วนสารสังเคราะห์ CU18-11 และ CU18-12 เป็นอนุพันธ์ของ acyl aminopyridine ที่มีการพัฒนาเริ่มต้นมาจากการพัฒนายาต้านชักใน พ.ศ. 2539 โดยรวมสูตรโครงสร้างของ 2-propylpentanal acetal ซึ่งเป็น prodrug ของ valproic acid กับ pyridoxine (vitamin B₆) ได้เป็นสารต้นแบบ คือ CU763-10-01 (เฉลิมเกียรติ, 2539) พบว่ามีประสิทธิภาพในการต้านชักสูงกว่า valproic acid แต่ความเป็นพิษสูงขึ้นด้วย (มยุรี และทิพย์สุชน, 2538 อ้างถึงใน คณิตา ยิ้มศรีใส, 2542) นอกจากนี้ได้มีการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ ในสัตว์ทดลองชนิดต่าง ๆ พบว่ามีผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้ส่วน duodenum หลอดเลือดแดงใหญ่กระต่าย และท่อносяสุจิหนูขาว (อุรารัตน์, 2539) แต่พบผลยับยั้งการหายใจของไมโตรคอนเดรีย และการส่งผ่านอิเล็กตรอนในลูกโซ่การหายใจ Site I (สุธาทิพ, 2539) จึงได้มีการพัฒนาสูตรโครงสร้างทางเคมี เพื่อลดความเป็นพิษต่อชีวะพลังงานของไมโตรคอนเดรีย ในขณะเดียวกันยังคงประสิทธิภาพในการคลายกล้ามเนื้อเรียบได้

ในปี พ.ศ. 2541 ได้มีการสังเคราะห์สาร CU763-15-13 (CU18-13) (รูปที่ 1) โดยเปลี่ยนอนุพันธ์ของ valproic acid ให้มีสูตรโครงสร้างเป็น acyl anilline พบว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งการหดตัวของลำไส้กระต่าย หลอดเลือดแดงใหญ่ และท่อносяสุจิหนูขาว (กุลยา, 2541)



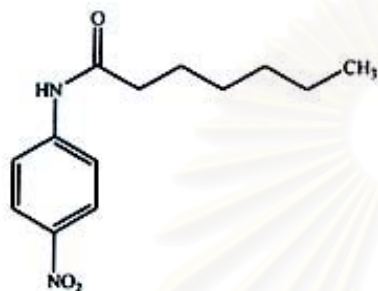
CU-18-07

N-heptanoyl-4-methoxyaniline; MW = 235



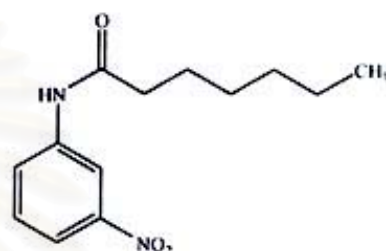
CU-18-08

N-heptanoyl-3-methoxyaniline; MW = 235



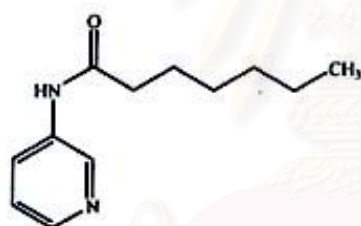
CU-18-09

N-heptanoyl-4-nitroaniline; MW = 250



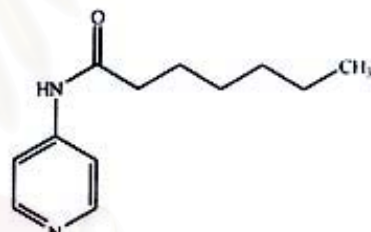
CU-18-10

N-heptanoyl-3-nitroaniline; MW = 250



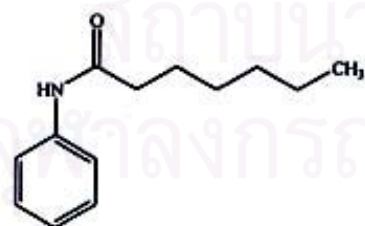
CU-18-11

N-heptanoyl-3-aminopyridine; MW = 206



CU-18-12

N-heptanoyl-4-aminopyridine; MW = 206

CU-18-13
(CU763-15-13)

N-heptanoyl-aniline; MW = 205

รูปที่ 1 สูตรโครงสร้างอนุพันธ์ของ acyl aniline (CU18-07, CU18-08, CU18-09, CU18-10 และ CU18-13) และ acyl aminopyridine (CU18-11 และ CU18-12) (วิฑูรย์ และชัยพร, 2543)

และยับยั้งการขนส่งอิเล็กตรอนในลูกโซ่การหายใจ ที่ Site I นอกจากนี้ยังกระตุ้นการเกิด lipid peroxidation ใน submitochondrial particles (อุ๋นเรื่อน, 2541) จากนั้นจึงพัฒนาสารสังเคราะห์ สารในกลุ่มอนุพันธ์ของ acyl aminopyridine โดยทำการเปลี่ยนแปลงที่หมู่ alkyl chain ได้สาร ประกอบ CU763-16-04 (CU18-12) ซึ่งพบว่าสามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอด เลือดแดงใหญ่กระต่าย กระเพาะอาหาร หลอดเลือดแดงใหญ่ และท่อนำสุจิหนูขาว แต่ในสาร ละลาย high K^+ depolarizing พบว่าการหดตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่กระต่ายเพิ่มขึ้น (คณิตา, 2542) อย่างไรก็ตาม CU763-16-04 ยังคงมีผลกระทบการส่งผ่านอิเล็กตรอนในลูกโซ่การหายใจที่ Site I (อัฏฐิษฐฐฐฐ, 2543)

จากแนวทางการสังเคราะห์สารข้างต้น ชำนาญ ภัทรพานิช, วิฑูรย์ แซ่ตั้ง และ ชัยพร บุญวรรณ ได้พัฒนาสารที่มีสูตรโครงสร้างเป็นอนุพันธ์ของ acyl aminopyridine ที่มีความ แตกต่างของการแทนที่ในตำแหน่ง meta และ para ได้เป็น CU18-11 และ CU18-12 ตามลำดับ และสารที่เป็นอนุพันธ์ของ acyl aniline ได้แก่ CU18-07, CU18-08, CU18-09 และ CU18-10 ดังแสดงในรูปที่ 1 โดยเปลี่ยนแปลงหมู่แทนที่และตำแหน่งในการแทนที่ (วิฑูรย์ และชัยพร, 2543) แต่พบว่าสารทุกตัวยังคงมีผลยับยั้งการหายใจที่ site I ของลูกโซ่การหายใจ (หทัยรัตน์, 2545)

การศึกษาเบื้องต้นของสารสังเคราะห์กลุ่มนี้ พบว่าสามารถลดการหดตัวของกล้ามเนื้อ เรียบที่เกิดขึ้นเองได้ (spontaneous contraction) ในลำไส้เล็กส่วน duodenum ของกระต่าย (วิฑูรย์ และชัยพร, 2543) นอกจากนี้สารสังเคราะห์ที่มีการแทนที่ของหมู่แทนที่ในตำแหน่ง meta พบว่า CU18-08 และ CU18-10 มีฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาวที่ไม่มี endothelium โดยออกฤทธิ์รบกวนการนำ Ca^{2+} เข้าเซลล์ผ่าน voltage-operated Ca^{2+} channel (VOC) ในขณะที่ CU18-11 เพิ่มการนำ Ca^{2+} เข้าของเซลล์ผ่านทาง VOC หรือ α - adrenoceptor (ปทุมมาศ, 2544)

การศึกษาวิจัยครั้งนี้มีจุดมุ่งหมายที่จะศึกษาฤทธิ์เบื้องต้นทางเภสัชวิทยาของ CU18-07, CU18-08, CU18-09, CU18-10, CU18-11, CU18-12 และ CU18-13 ในการออกฤทธิ์เป็น anti-spasmodic ต่อกกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหนูที่แยกจากกิบจักร และเปรียบเทียบความ สัมพันธ์ของสูตรโครงสร้างกับความแรงในการออกฤทธิ์ ซึ่งคาดว่าข้อมูลที่ได้จะใช้เป็นแนวทางใน การศึกษาและพัฒนาสารสังเคราะห์ต่อไป นอกจากนี้การศึกษากล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้ง กระเพาะ ซึ่งรูปแบบในการตอบสนองต่อสารกระตุ้นการหดตัวชนิดต่าง ๆ จะเป็นผลการตอบ สอนงโดยรวมของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะ เนื่องจากกล้ามเนื้อเรียบในแต่ละ ส่วนของกระเพาะอาหารมีลักษณะในการตอบสนอง และจำนวน receptor แตกต่างกันไป ซึ่งใน การศึกษานี้จะทำการวัดผล โดยวัดการเปลี่ยนแปลงความดันที่เกิดขึ้นภายในกระเพาะอาหารทั้ง กระเพาะเมื่อมีการบีบหรือคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสังเคราะห์ ที่มีสูตรโครงสร้างเป็นอนุพันธ์ของ acyl aniline (CU18-07, CU18-08, CU18-09, CU18-10 และ CU18-13) และอนุพันธ์ของ acyl aminopyridine (CU18-11 และ CU18-12) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารที่แยกจากหนูถีบจักร
2. เพื่อศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของสารสังเคราะห์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารที่แยกจากหนูถีบจักร

ขอบเขตของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสังเคราะห์ที่มีสูตรโครงสร้างเป็นอนุพันธ์ของ acyl aniline (CU18-07, CU18-08, CU18-09, CU18-10 และ CU18-13) และอนุพันธ์ของ acyl aminopyridine (CU18-11 และ CU18-12) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารที่แยกจากหนูถีบจักร
2. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างหมู่แทนที่ และตำแหน่งในการแทนที่ต่อการออกฤทธิ์ของสารสังเคราะห์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารที่แยกจากหนูถีบจักร
3. เพื่อศึกษากลไกการออกฤทธิ์เบื้องต้นของสารสังเคราะห์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารที่แยกจากหนูถีบจักร

สมมุติฐาน

อนุพันธ์ของ acyl aminopyridine และ acyl aniline มีผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารที่แยกจากหนูถีบจักร โดยชนิดของหมู่แทนที่ และตำแหน่งในการแทนที่บนสูตรโครงสร้างของสารสังเคราะห์มีผลต่อการออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทำให้ทราบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสังเคราะห์ ในกลุ่มอนุพันธ์ของ acyl aniline และ acyl aminopyridine และความสัมพันธ์ของ SAR ต่อการยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารที่แยกจากหนูถีบจักร
2. ทำให้ทราบกลไกการออกฤทธิ์ของสารสังเคราะห์ในกลุ่มอนุพันธ์ของ acyl aniline และ acyl aminopyridine ในกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารที่แยกจากหนูถีบจักร
3. เป็นข้อมูลพื้นฐานที่จะเป็นประโยชน์ในการพัฒนายาใหม่ เพื่อบรรเทาอาการปวดเกร็งในช่องท้อง (anti - spasmodic)

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

โครงสร้างและสรีระวิทยาของกระเพาะอาหาร

กระเพาะอาหารมีรูปร่างเป็นตัวเจ (J) ที่ยื่นต้อออก โดยมีส่วนโค้งด้านสั้นกว่าอยู่ด้านในและส่วนโค้งด้านยาวกว่าอยู่ด้านนอก ซึ่งต่อจากหลอดอาหารส่วนล่างและลำไส้เล็กส่วน duodenum ผนังของกระเพาะอาหารประกอบด้วยกล้ามเนื้อเรียบ 2 ชั้น คือชั้น longitudinal smooth muscle ซึ่งจะเป็นชั้นบาง ๆ อยู่ด้านนอกมีการเรียงตัวตามความยาวของกระเพาะและชั้น circular smooth muscle ซึ่งมีความหนาแน่นมากกว่า อยู่ด้านในมีการเรียงตัวตั้งฉากกับ longitudinal smooth muscle (Olsson and Holmgren, 2001) นอกจากนี้กระเพาะอาหารสามารถแบ่งได้ 3 ส่วน คือ ส่วน fundus ส่วน corpus(body) และส่วน antrum โดยส่วน fundus จะมีความหนาของกล้ามเนื้อและความแรงในการหดตัวน้อยกว่าส่วน antrum (Wang, 1990) และมีการศึกษาพบว่าส่วน antrum มีผลต่อการหดตัวของกระเพาะอาหารแบบ phasic contraction เป็นหลัก ส่วน fundus มีผลต่อการหดตัวของกระเพาะอาหารแบบ tonic contraction เป็นหลัก ในขณะที่ corpus จะมีผลต่อการหดตัวของกระเพาะอาหารทั้งแบบ phasic และ tonic contraction (Petkov and Boev, 1996)

กล้ามเนื้อเรียบระบบทางเดินอาหารจะอยู่ในสภาวะที่มีการเคลื่อนไหวอยู่ตลอดเวลา ซึ่งถูกควบคุมโดย คุณสมบัติของกล้ามเนื้อเรียบ ระบบประสาทควบคุมจากภายในระบบทางเดินอาหาร (enteric nervous system) และระบบควบคุมจากประสาทส่วนกลาง (autonomic และ somatic) (Pasricha, 2001) การเคลื่อนไหวของกระเพาะอาหารมีวัตถุประสงค์หลัก 2 ประการ คือ เพื่อทำการเคลื่อนย้ายอาหารจากปากไปตลอดทางเดินอาหารจนถึงทวารหนัก และเพื่อให้เกิดการบดย่อย และคลุกเคล้าอาหารกับน้ำย่อยภายในทางเดินอาหารให้เกิดการดูดซึมสารอาหารต่าง ๆ (Merieb, 1995) จากข้างต้นสามารถแบ่งเส้นประสาทที่ควบคุมการทำงานของทางเดินอาหารได้ 2 ประเภท ตามลักษณะที่มา คือ

1. ระบบประสาทควบคุมจากภายนอกระบบทางเดินอาหาร (extrinsic innervation) กระเพาะอาหารจะถูกควบคุมด้วยระบบ autonomic nervous system (ANS) ซึ่งประกอบด้วยระบบ sympathetic nervous system และระบบ parasympathetic nervous system โดยระบบ sympathetic nervous system จะควบคุมผ่าน celiac plexus เพื่อยับยั้งการเคลื่อนไหวของกระเพาะอาหาร ส่วนระบบ parasympathetic nervous system จะควบคุมผ่าน vagus nerve เพื่อกระตุ้นการเคลื่อนไหวของกระเพาะอาหาร

2. ระบบประสาทควบคุมจากภายในระบบทางเดินอาหาร (intrinsic innervation) คือ

2.1 myenteric (Auerbach's) plexus อยู่ระหว่าง circular smooth muscle และ longitudinal smooth muscle

2.2 submucosal (Meissner's) plexus อยู่ระหว่าง circular smooth muscle และ mucosa บน luminal surface ของกระเพาะอาหาร (Wang, 1990)

ระบบประสาทประเภทนี้ จะมีการทำงานของกลุ่มเซลล์ประสาทร่วมกันเพื่อควบคุมการทำงานของระบบทางเดินอาหารเรียกว่า enteric nervous system (ENS) ทำให้สามารถรับรู้ถึงสภาวะต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นในทางเดินอาหาร เกิดการส่งสัญญาณ และแปลผลกลับไปควบคุมการทำงานของระบบทางเดินอาหาร ซึ่งการตอบสนองเหล่านี้จะเกิดขึ้นเอง โดยไม่เกี่ยวข้องกับระบบ autonomic nervous system

เซลล์กล้ามเนื้อเรียบของทางเดินอาหาร เป็นรูปร่างเซลล์ผอมยาว และมี nucleus ขนาดใหญ่อยู่ตรงกลาง มีทางเชื่อมติดต่อกันแต่ละเซลล์เรียกว่า gap junction (nexus) ซึ่งเป็นบริเวณที่มีความต้านไฟฟ้าต่ำเกิดการแพร่ผ่านของ action potential ได้เร็ว ทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อหลายส่วนพร้อมกันคล้ายเป็นเซลล์ ๆ เดียว (Olsson and Holmgren, 2001) เรียกว่า syncytium (Marieb, 1995) การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบจะเป็นแบบ all or none ในการตอบสนองการกระตุ้นซึ่งสามารถทำให้เกิดการตอบสนองทั้งแบบ single spike, series of spikes, plateau หรือเกิดหลายแบบร่วมกัน (Kuriyama, Kitamura and Inoue, 1998) โดยการหดตัวจะเกิดขึ้นได้ก็ต่อเมื่อมีความต่างศักย์ระหว่างผนังเซลล์มากจนถึงระดับ threshold ในทางตรงกันข้ามถ้าเกิดภาวะ hyperpolarization จะทำให้เกิดการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ

การเปลี่ยนแปลงศักย์ไฟฟ้าและการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบทางเดินอาหาร

เซลล์กล้ามเนื้อเรียบของทางเดินอาหารส่วนใหญ่จะมีการเปลี่ยนแปลงกระแสไฟฟ้า ทำให้เกิดความต่างศักย์ระหว่างภายในเซลล์ และภายนอกเซลล์อยู่ 2 ชนิดคือ

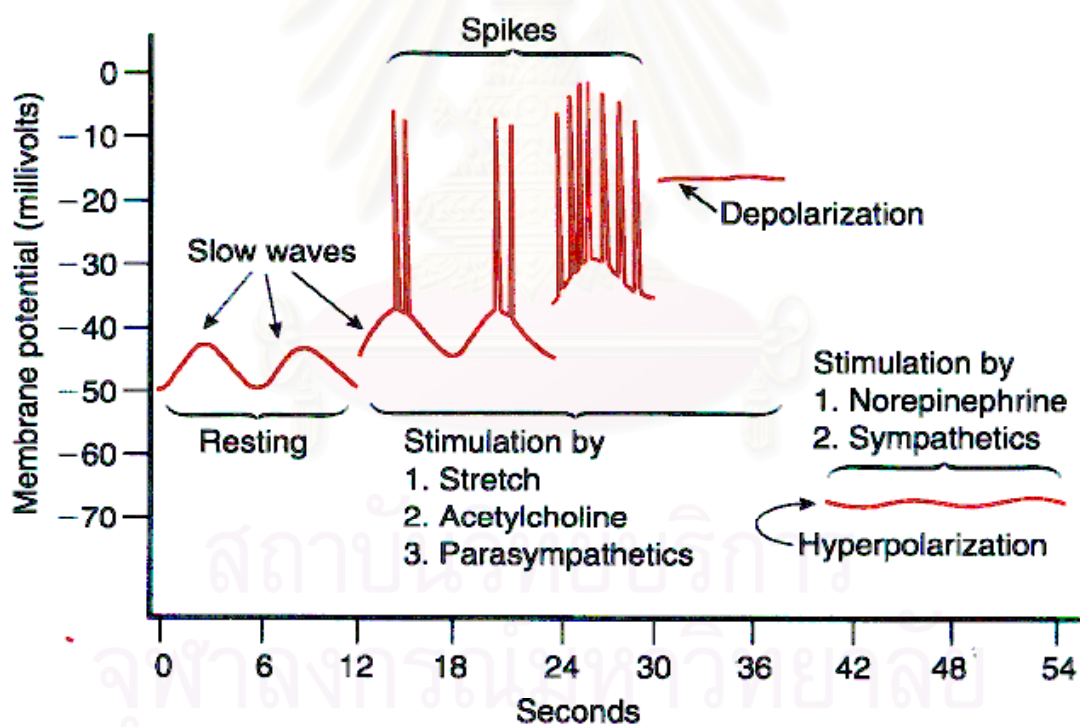
1. Slow wave potential (basic electrical rhythm potential, BER)

เป็นความต่างศักย์ที่เกิดขึ้นเป็นจังหวะ และเกิดขึ้นเอง (spontaneous contraction) โดยพบว่า จะมีการเปลี่ยนแปลงความต่างศักย์ของผนังเซลล์กล้ามเนื้อเรียบขณะพักตลอดเวลา (resting membrane potential) เนื่องจากเซลล์บางกลุ่มของกล้ามเนื้อเรียบชนิดนี้มีการพัฒนาเป็นพิเศษกลายเป็นเซลล์ต้นกำเนิด (pacemaker cell) ทำให้เกิดความต่างศักย์ของผนังเซลล์เกิดดีโพลาไรเซชัน และตามด้วยรีโพลาไรเซชัน ดังแสดงในรูปที่ 2 โดยการดีโพลาไรเซชันของ slow wave potential ทุกครั้งไม่จำเป็นต้องเกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบเสมอไป สำหรับกลไกการเกิด slow wave potential เชื่อว่าเกิดจากการที่เซลล์ยอมให้ Ca^{2+} ผ่านเข้าทาง Ca^{2+} channels ทำ

ให้เกิดดีโพลาไรเซชัน เมื่อปริมาณ Ca^{2+} ภายในเซลล์เพิ่มมากขึ้นจะมีผลยับยั้งการเข้าของ Ca^{2+} และกระตุ้น K^+ channels (Ca^{2+} -activated K^+ channels) ทำให้ K^+ ออกนอกเซลล์มากขึ้นเกิดการรีโพลาไรซ์ตามมา

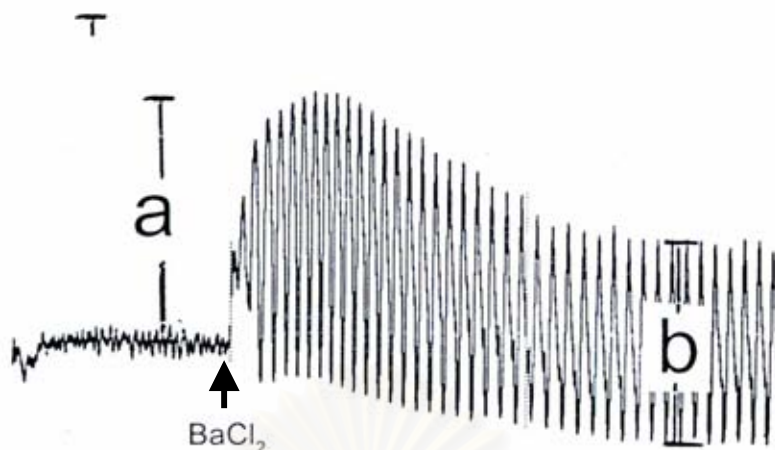
2. Spike potential

เป็นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่แท้จริง โดยจะเกิดในช่วงดีโพลาไรเซชัน ของ slow wave กลไกการเกิดความต่างศักย์ แบบ spike นี้เกิดจากการที่มี Ca^{2+} ภายในเซลล์เพิ่มขึ้น โดยการกระตุ้นกล้ามเนื้อเรียบในขณะที่เกิดดีโพลาไรเซชันของ slow wave จะมีผลกระตุ้นให้ chloride channel เปิด ทำให้คลอไรด์ออกนอกเซลล์ หรือมีการเปิดของช่องประจุบวก (nonselective anion) เกิดการดีโพลาไรเซชันบน slow wave มีผลทำให้ VOC เปิดออก เกิดการ influx ของ Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์เพิ่มมากขึ้น ทำให้กล้ามเนื้อเรียบเกิดการหดตัว



รูปที่ 2 การเปลี่ยนแปลง membrane potentials ของกล้ามเนื้อเรียบทางเดินอาหาร
(Guyton and Hall, 2002)

การศึกษานี้ใช้ตัวกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่มีกลไกในการออกฤทธิ์แตกต่างกัน คือ $BaCl_2$, ACh และ KCl โดย Ba^{2+} ซึ่งมีคุณสมบัติเป็น non-selective blocking ต่อ K^+ channels (Wellman and Beven, 1995) การออกฤทธิ์กระตุ้นกล้ามเนื้อเรียบให้หดตัวด้วย Ba^{2+} จะไม่เกี่ยวข้องกับการหลั่ง ACh (Antonio, Silva and Yashuda, 1973) นอกจากนี้พบว่า Ba^{2+} ที่ความเข้มข้นสูงจะมีผลต่อ Ca^{2+} -sensitive K^+ channels (Rudy, 1988) ในขณะที่ความเข้มข้นต่ำระดับ sub-millimolar จะมีผลต่อ ATP-sensitive K^+ channels (Standen et al, 1989) การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย $BaCl_2$ จะแตกต่างจากการกระตุ้นด้วย receptor ชนิดอื่น ๆ ที่ต้องอาศัยความสัมพันธ์ระหว่างระดับ Ca^{2+} จากภายนอกและภายในเซลล์ (Weiss, 1977) นอกจากนี้ Ba^{2+} อาจมีกลไกที่เกี่ยวข้องกับภายในเซลล์ โดยสามารถผ่านเข้าไปในเซลล์กล้ามเนื้อเรียบและทำหน้าที่แทน Ca^{2+} ในการกระตุ้น contractile protein ให้เกิดการหดตัวได้ (Uvelius et al, 1974) จากการศึกษาในหลอดเลือดดำ portal vein ของหนูขาว พบว่า $BaCl_2$ กระตุ้นให้มีการหลั่ง Ca^{2+} จากแหล่งสะสมภายในเซลล์ได้ (Uvelius and Sigurdssen, 1981) และพบว่า Ba^{2+} มี affinity ต่อ Ca^{2+} channels ดีกว่า Ca^{2+} (Spending and Paoletti, 1992) ซึ่งในสภาวะที่มี Ca^{2+} อยู่ในสารละลาย $BaCl_2$ สามารถกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้โดย Ba^{2+} จะปิด K^+ channels ทำให้เกิดการดีโพลาไรเซชันของเยื่อหุ้มเซลล์ และเกิดการเปิดของ VOC ทำให้ Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์ เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ ส่วนในสภาวะที่ปราศจาก Ca^{2+} ในสารละลายภายนอก Ba^{2+} จะสามารถเข้าภายในเซลล์ผ่าน VOC และทำให้เกิดการหดตัวโดยไม่เกี่ยวข้องกับการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} ที่สะสมอยู่ (Karaki et al, 1986) นอกจากนี้การให้ $BaCl_2$ จากภายนอกเซลล์แบบสะสมขนาดความเข้มข้น (cumulative dose) ต่อกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหนูขาว พบว่าการหดตัวที่เกิดขึ้นจะเพิ่มขึ้นตามขนาดความเข้มข้นที่ให้ (dose-dependent) โดยมีการออกฤทธิ์ผ่าน VOC โดยออกฤทธิ์เหมือน Ca^{2+} ในการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหนูขาว (Hotta and Tsuzuki, 1968; Yu and Bose, 1991; Murillo et al, 1997; Uchida et al, 1998) รูปแบบการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหาร ทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อกระตุ้นด้วย $BaCl_2$ มีรูปแบบการหดตัวเป็น phasic contraction และตามด้วย rhythmic contraction ซึ่งซ้อนทับอยู่บน phasic contraction ดังแสดงในรูปที่ 3 โดยการหดตัวส่วน phasic contraction จะเกี่ยวข้องกับการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} ภายในเซลล์และการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์ ในขณะที่การหดตัวส่วน rhythmic contraction จะเกี่ยวข้องกับการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} จากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์เท่านั้น (Mishra et al, 1988)



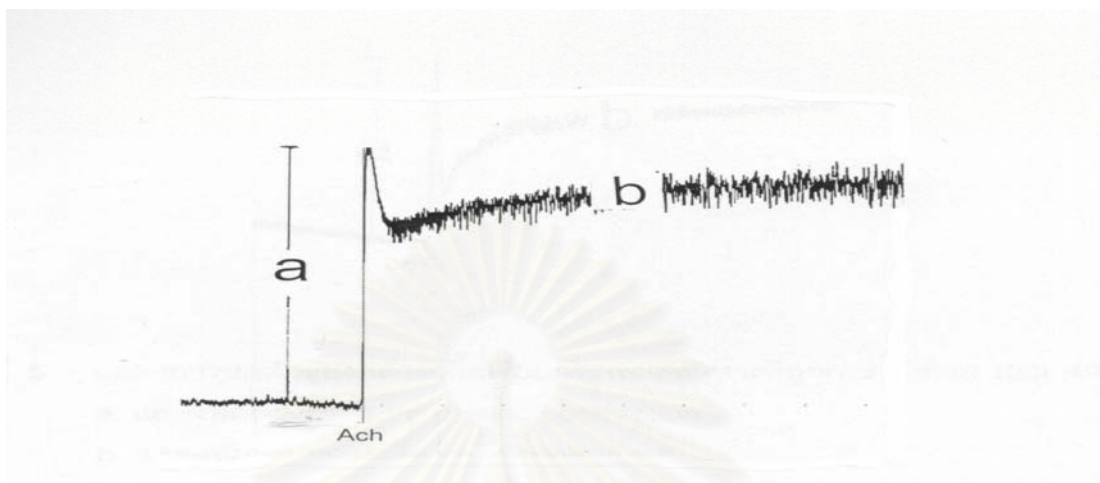
รูปที่ 3 รูปแบบการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะ เมื่อกระตุ้นด้วย

BaCl_2 1 mM

- a. phasic contraction
- b. rhythmic contraction

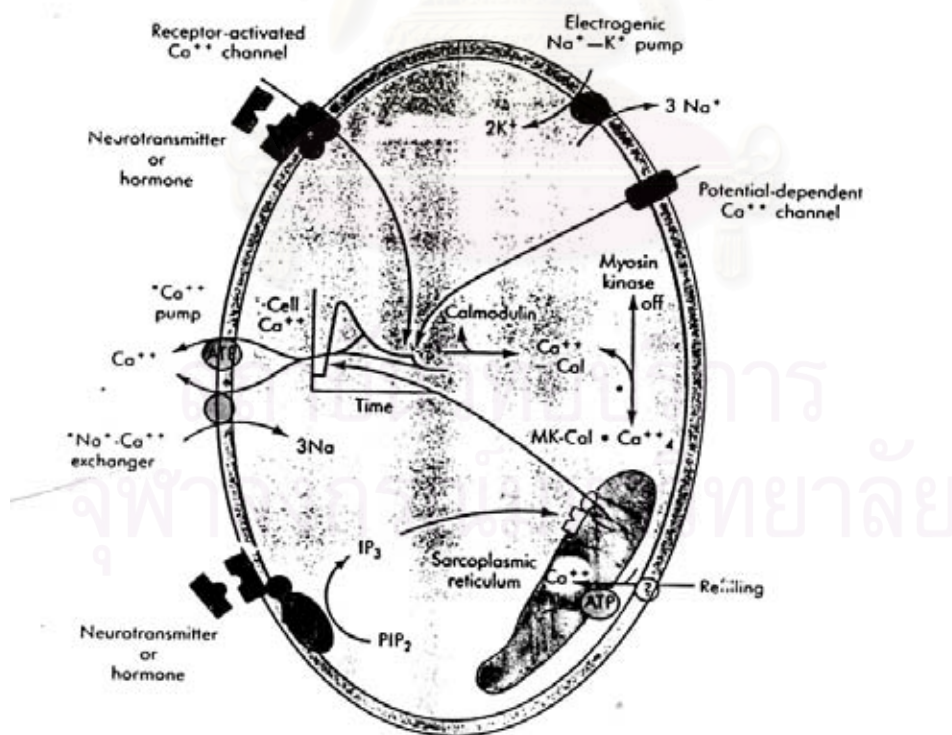
Acetylcholine (ACh) สามารถออกฤทธิ์ในการกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้ทั้งทางตรงโดยจับกับ muscarinic receptors และทางอ้อมโดยกระตุ้น intramural nerve plexus ให้หลั่ง ACh (Day and Vane, 1963) muscarinic receptor ที่พบบริเวณกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารจะเป็น subtype M_2 และ M_3 (Ehlert et al, 1997) ซึ่งพบว่าชนิดที่ทำให้มีผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบโดยตรง คือ subtype M_3 เมื่อ ACh จับกับ muscarinic receptor subtype M_3 ซึ่ง coupled อยู่กับ G protein จะทำให้เกิดการกระตุ้น phospholipase C (PLC) แล้วเกิดการ hydrolysis ของ phosphatidyl inositol biphosphate (PIP_2) เกิดเป็น inositol trisphosphate (IP_3) และ Diacylglycerol (DAG) (Olsson and Holmgren, 2001) ซึ่ง IP_3 ที่เกิดขึ้นจะกระตุ้นการหลั่งของ Ca^{2+} จาก intracellular storage ในขณะที่ DAG จะกระตุ้น protein kinase C (PKC) ส่วนกรณีที่ ACh จับกับ muscarinic receptors subtype M_2 จะมี pathway หลักในการยับยั้ง enzyme adenylate cyclase และทำให้ระดับของ cAMP ภายในเซลล์ลดลง ซึ่งการกระตุ้น M_2 receptor จะมีผลในการหักล้างฤทธิ์ของสาร relaxing transmitter ที่มักจะกระตุ้น adenylate cyclase ทำให้ cAMP เพิ่มขึ้นมากกว่าที่จะมีผลโดยตรงต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ (Olsson and Holmgren, 2001) รูปแบบการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อกระตุ้นด้วย ACh มีรูปแบบการหดตัวเป็น phasic contraction แล้วตามด้วย tonic contraction ดังแสดงในรูปที่ 4 โดยการหดตัวส่วน phasic contraction จะเกี่ยวข้องกับการ

เคลื่อนที่ของ Ca^{2+} ภายในเซลล์ ในขณะที่ tonic contraction เป็นผลมาจากการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} จากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ ดังแสดงในรูปที่ 5



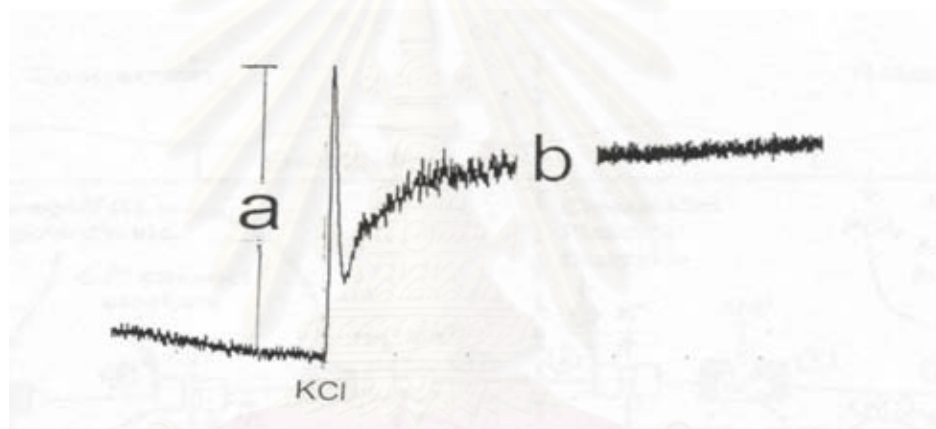
รูปที่ 4 รูปแบบการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะ เมื่อกระตุ้นด้วย ACh 1 μ M

- a. phasic contraction
- b. tonic contraction



รูปที่ 5 กลไกการเพิ่มปริมาณ Ca^{2+} ภายในเซลล์ของกล้ามเนื้อเรียบ

KCl สามารถกระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบหดตัว โดยอาศัยกลไกของการเกิดความต่างศักย์ระหว่างเยื่อหุ้มเซลล์เมมเบรน ทำให้เกิดการดีโพลาไรซ์ของเยื่อหุ้มเซลล์เมมเบรน เกิด action potential แบบเฉียบพลัน เยื่อหุ้มเซลล์เมมเบรนจึงยอมให้ Ca^{2+} ผ่านเข้าไปในเซลล์ได้ง่ายขึ้นทำให้เกิดการหดตัวแบบ phasic contraction หลังจากนั้นเยื่อหุ้มเซลล์เมมเบรนยังคงเกิดการดีโพลาไรซ์อย่างต่อเนื่อง ทำให้เกิดการหดตัวแบบ tonic contraction ตามมา ดังแสดงในรูปที่ 6 (Shimodan and Sunano, 1981) โดยการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบจากการกระตุ้นด้วย K^+ จะเป็นผลของ Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์ (Noguera and D'Ocon, 1993) ซึ่งการหดตัวที่เกิดขึ้นสามารถยับยั้งได้ด้วยสภาวะ Ca^{2+} -free ของ physiological solution และ Ca^{2+} -channels inhibitors (Swany et al, 1976; Triggle et al, 1979; Shimodan and Sunano, 1981)



รูปที่ 6 รูปแบบการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะ เมื่อกระตุ้นด้วย KCl 40 mM

- a. phasic contraction
- b. tonic contraction

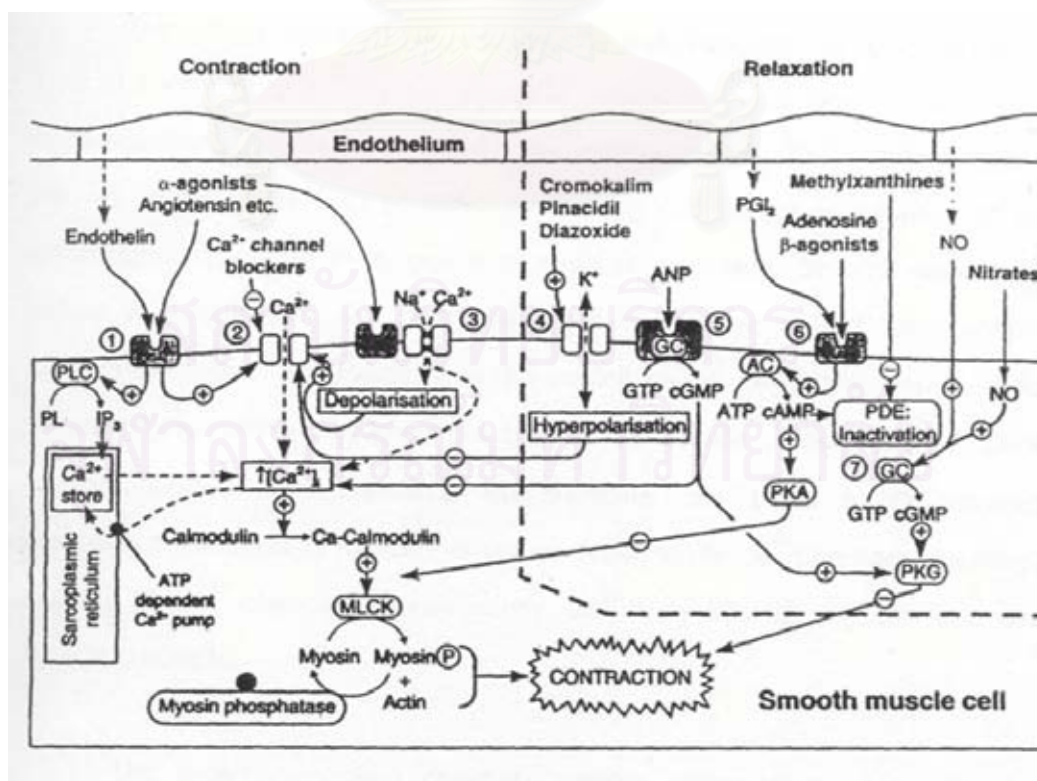
กลไกการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ

การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบจะขึ้นกับระดับ Ca^{2+} อิสระภายในเซลล์ และความไวของ contractile element ต่อ Ca^{2+} ในการตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมรอบเซลล์ (Karaki et al, 1997) การควบคุมแรงดึงตัวของกล้ามเนื้อเรียบของกระเพาะอาหารส่วนใหญ่จะขึ้นกับระดับความเข้มข้นของ Ca^{2+} ภายในเซลล์โดยทั่วไปการกระตุ้นให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบมี 2 ชนิด โดยมีพื้นฐานของกลไกการตอบสนองต่อความเข้มข้นของ Ca^{2+} ดังแสดงในรูปที่ 7 (Rang, Dale and Ritter, 1999)

1. Electromechanical coupling หรือ VOC จะเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงของ membrane potential ซึ่งจะทำให้เกิด action potential หรือ slow wave จากนั้นเกิดการดีโพลาไรซ์ของเยื่อหุ้มเซลล์เมมเบรน กระตุ้น VOC เปิดออกทำให้ Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์ (Kuriyama et al,1995) สารที่มีกลไกกระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบหดตัวโดยกลไกนี้ได้แก่ KCl ในทางกลับกันการเกิด hyperpolarization ของเยื่อหุ้มเซลล์ จะมีความสัมพันธ์กับการคลายตัวของกล้ามเนื้อ โดยไปยับยั้ง action potential หรือปิด VOC

2. Pharmacomechanical coupling หรือ Receptor-operated Ca^{2+} -channels (ROC)

ซึ่งมีการกระตุ้นที่ specific receptors และทำให้แรงดึงตัวของกล้ามเนื้อเปลี่ยนแปลงโดยไม่มีผลต่อ membrane potential (Goodman and Gilman, 2001) โดยพบว่า receptor ชนิดนี้มักจะ couple กับ G protein ทำให้เกิดการกระตุ้น PLC ได้เป็น IP_3 และ DAG โดย IP_3 จะมีบทบาทต่อ specific receptor ที่อยู่บน sarcoplasmic reticulum (SR) ให้มีการหลั่ง Ca^{2+} จาก SR ทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบอย่างรวดเร็วในส่วนของ phasic contraction ดังแสดงในรูปที่ 7 ในขณะที่ DAG จะไปกระตุ้น PKC ที่เซลล์เมมเบรน และทำให้เกิดการเปิด VOC ตามมา (Olsson and Holmgren, 2001)



รูปที่ 7 กลไกการหดตัว และคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ (Rang และคณะ, 1999)

เมื่อระดับแคลเซียมอิสระภายในเซลล์สูงขึ้น Ca^{2+} จะจับกับ calmodulin (CaM) เป็น calcium-calmodulin complex และใช้พลังงานเพื่อกระตุ้นเอนไซม์ myosin light chain kinase (MLCK) เกิด phosphorylation ของ myosin ได้เป็น phosphorelated myosin ซึ่งในสภาวะนี้ myosin จะสามารถเกิด cross bridge กับ actin ทำให้กล้ามเนื้อเรียบหดตัว หลังจากนั้นปริมาณ Ca^{2+} ที่มีมากเกินไปจะถูกนำออกนอกเซลล์ โดยการทำงานของ Na^+/Ca^{2+} ATPase และ Na^+/Ca^{2+} exchanger (Rang et al, 1999) เมื่อระดับแคลเซียมอิสระภายในเซลล์ลดลง จะทำให้ CaM แยกตัวหลุดจาก calcium-calmodulin complex และ phosphorylated myosin light chain จะถูก dephosphorylate โดยเอนไซม์ myosin light chain phosphatase ทำให้ myosin ไม่สามารถทำปฏิกิริยากับกับ actin ได้ เกิดการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ

การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบนอกจากจะถูกควบคุมโดยระดับ Ca^{2+} อิสระภายในเซลล์แล้ว ความไวของ contractile element ก็มีผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบเช่นกัน ดังจะเห็นว่า ปริมาณของ phosphorylated myosin light chain ขึ้นอยู่กับความสัมพันธ์ระหว่าง myosin light chain kinase และ myosin light chain phosphatase ซึ่งมีผลต่อความไวในการเกิด myosin light chain phosphorylation ส่งผลต่อแรงหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ แม้ระดับ Ca^{2+} ภายในเซลล์ไม่มีการเปลี่ยนแปลง

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย

วัสดุและอุปกรณ์

1. **สัตว์ทดลอง** หนูถีบจักร เพศผู้ สายพันธุ์ Swiss albino น้ำหนักตัวระหว่าง 25-35 กรัม จากสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล ศาลายา จังหวัดนครปฐม และเลี้ยงเพื่อปรับสภาพที่ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยอย่างน้อย 2 สัปดาห์ ก่อนทำการทดลอง

2. สารเคมี

2.1 สารที่ใช้กระตุ้นกล้ามเนื้อกระเพาะให้หดเกร็ง ได้แก่

2.1.1 Acetylcholine hydrochloride (ACh)

2.1.2 Barium chloride (BaCl_2)

2.1.3 Potassium chloride (KCl)

2.1.4 Calcium chloride (CaCl_2)

(สารเคมีทุกตัวซื้อจาก Sigma St. Louis MO, U.S.A.)

2.2 สารที่ใช้ยับยั้งฤทธิ์ของสารกระตุ้นกระเพาะให้หดเกร็ง ได้แก่

2.2.1 Papaverine hydrochloride non-specific smooth muscle relaxant

ซื้อจาก Sigma St. Louis MO, U.S.A.

2.3 สารสังเคราะห์ที่ใช้ทดสอบฤทธิ์

2.3.1 CU18-07, CU18-08 MW = 235

2.3.2 CU18-09, CU18-10 MW = 250

2.3.3 CU18-11, CU18-12 MW = 206

2.3.4 CU18-13 MW = 205

สารทุกตัวถูกสังเคราะห์ขึ้นโดย ชำนาญ ภัทรพานิช และคณะ ที่ ภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.4 สารเคมีอื่น ๆ

2.4.1 สารเคมีที่ใช้เตรียม physiological solution ที่ใช้ในการศึกษา ; Tyrode's solution, Krebs bicarbonate solution, Ca^{2+} -free Krebs Henseleit และ Ca^{2+} depolarizing solution) ได้แก่ NaCl, KCl, CaCl_2 , MgCl_2 , KH_2PO_4 , NaHCO_3 , NaH_2PO_4 , D-Glucose และ EDTA

2.4.2 สารเคมีที่ใช้เป็นตัวทำละลาย ได้แก่ Dimethyl sulfoxide (DMSO)

(สารเคมีทุกตัวซื้อจาก Sigma St. Louis MO, U.S.A.)

3. เครื่องมือ

3.1 Organ bath แบบ double walled Harvard type ประกอบด้วยหลอดแก้ว 2 ชั้น โดยชั้นในบรรจุ physiological solution ที่มีความจุ 20 มล. และมีช่องเปิดให้ก๊าซ carbogen (ประกอบด้วย O_2 95% และ CO_2 5%) ผ่านเข้าได้ ชั้นนอกมีน้ำอุ่นไหลเวียนจาก water bath โดยมี thermo regulating water pump ทำหน้าที่ควบคุมอุณหภูมิของหลอดแก้วชั้นในให้คงที่ประมาณ 37 ± 0.5 °C ตลอดเวลาทำการทดลอง (รูปที่ 8)

3.2 Water Bath ชนิด thermo bath model SCBI โดยมี thermo regulating water pump model 2E-NY ของบริษัท Little Giant pump

3.3 เครื่องวัดการหดตัวของเนื้อเยื่อ pressure transducer (UFI serving science with experience model 1050 BP)

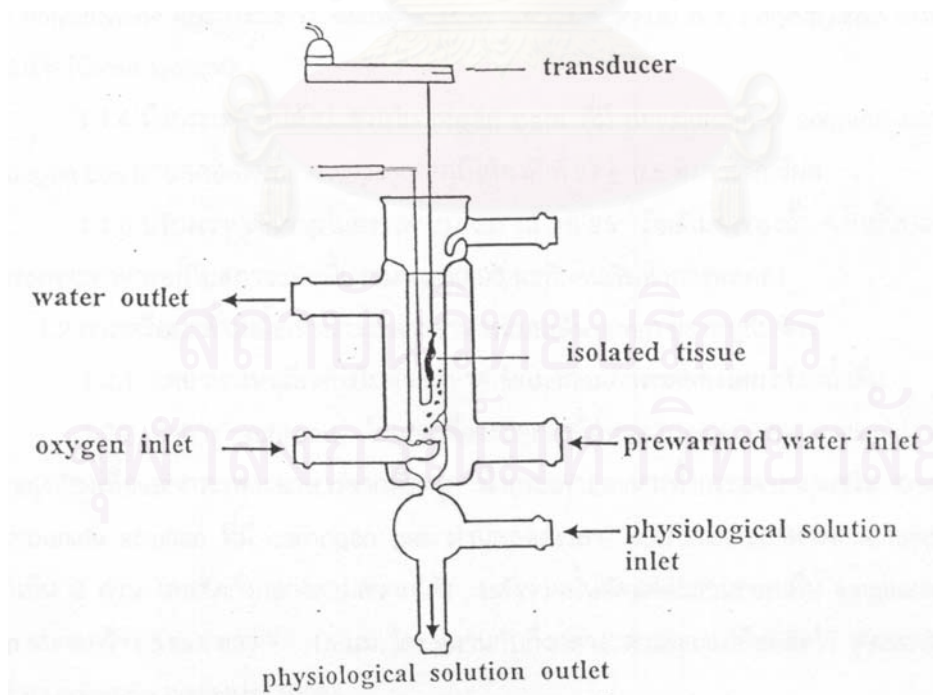
3.4 เครื่องวัดการหดตัวของเนื้อเยื่อ Isometric (Force) transducer

3.5 Analog digital instrument (MacLab/4e™, AD instrument, Australia)

3.6 เครื่องปรับแต่งสัญญาณ MacLab™ Bridge Amp

3.7 เครื่องบันทึกสัญญาณและแสดงผลไมโครคอมพิวเตอร์ (Macintosh® รุ่น LC 475, Apple Computer, Inc., U.S.A.) และ Chart™ V 3.3.7 program for data recording system.

3.8 Carbogen gas ($95\%O_2 + 5\%CO_2$) (T.I.G., Thailand)



รูปที่ 8 ชุดเครื่องมือที่ใช้ศึกษาการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่แยกจากร่างกาย (Isolated organ)

วิธีการวิจัย

1. การเตรียมกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหนูถีบจักร

1.1 การเตรียมกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะหนูถีบจักร

1.1.1 อุดอาหารหนูถีบจักรไม่ต่ำกว่า 18 ชั่วโมงก่อนการทดลองโดยให้แต่น้ำดื่ม

1.1.2 เตรียม pressure transducer สำหรับวัดแรงดันภายในกระเพาะอาหารโดยบรรจุ physiological solution ชนิดเดียวกับที่บรรจุในกระเพาะอาหาร

1.1.3 ทำการ sacrificed หนูถีบจักรโดยการดึงกระดูกคอให้หลุด (cervical dislocation) ผ่าตัดเปิดช่องท้องเพื่อแยกกระเพาะอาหารจากตัวหนู ล้างกากอาหารภายในกระเพาะอาหารให้สะอาด แล้วผูกปิดปลายที่ต่อกับหลอดอาหารให้ติดกับกระเพาะอาหารมากที่สุดด้วยด้าย จากนั้นสอดสาย polyethylene ที่มีสารละลาย physiological solution เดิมเข้าไปในกระเพาะอาหารทางส่วนต่อลำไส้เล็ก ส่วนปลายอีกด้านของสาย polyethylene ต่อกับ three-way stopcock ซึ่งต่อกับ pressure transducer สำหรับวัดแรงดันที่เปลี่ยนแปลงภายในกระเพาะอาหาร จากนั้นเติมสารละลาย physiological solution ผ่านทาง three way เพื่อบรรจุสารละลายไปในกระเพาะ แล้วใช้มือไล่น้ำและฟองอากาศให้ผ่านออกมาทางส่วนต่อลำไส้เล็ก 2-3 ครั้ง เพื่อไล่น้ำฟองอากาศทั้งในสาย polyethylene และในกระเพาะแล้ว จึงผูกปลายด้านลำไส้เล็กที่ติดกับสาย polyethylene ให้เป็นระบบปิด

1.1.4 นำกระเพาะอาหารที่ได้ไปแช่ใน organ bath ที่มี physiological solution และมี carbogen gas ผ่านตลอดเวลา ควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ที่ $37 \pm 0.5 \text{ }^{\circ}\text{C}$

1.1.5 ปรับความดันภายในกระเพาะอาหารให้มีความดันประมาณ 15-25 mmH₂O จากนั้นปล่อยให้กระเพาะอาหารอยู่ในสภาวะพักนี้ประมาณ 60-90 นาทีก่อนเริ่มทำการทดลอง

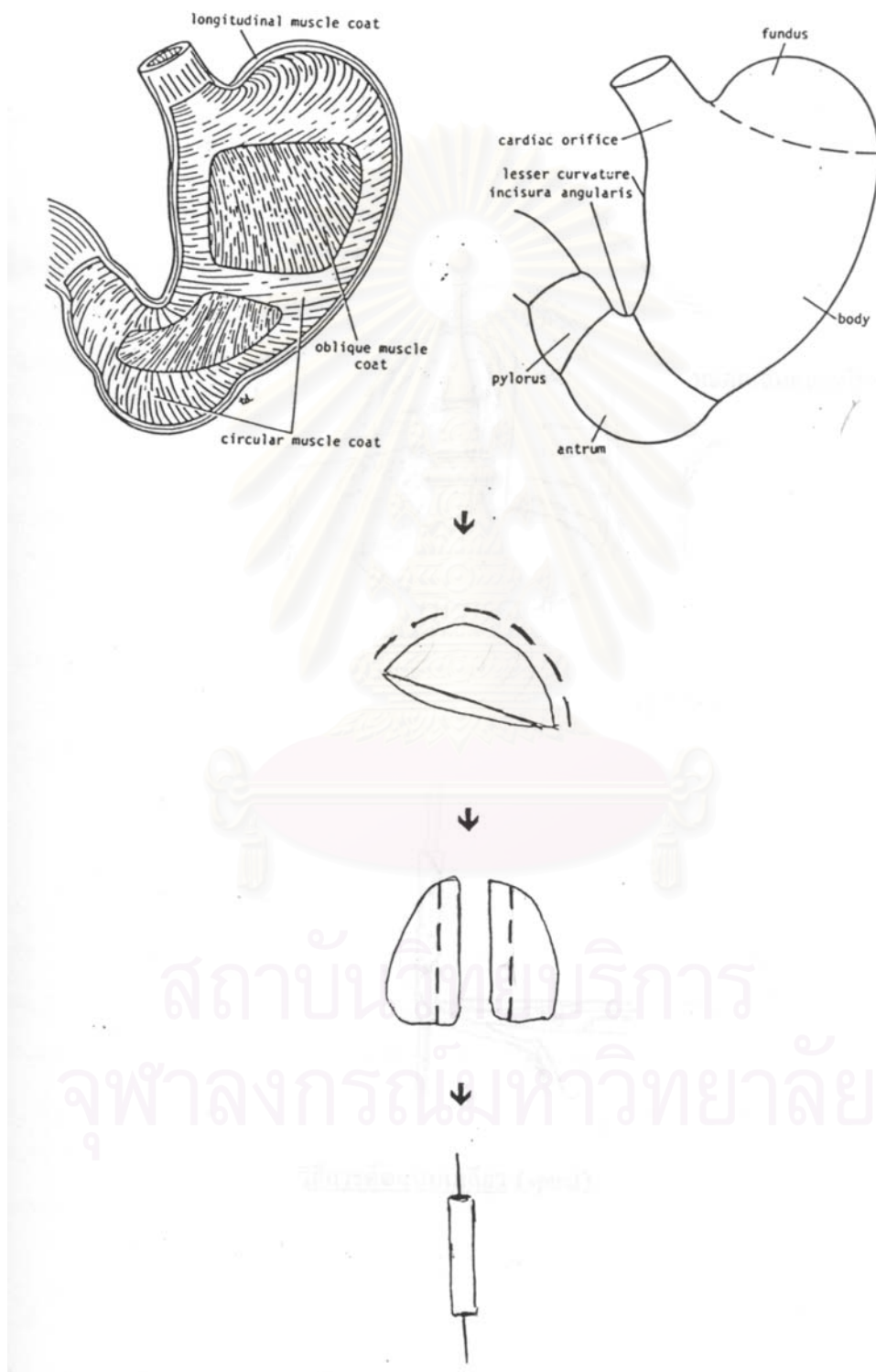
1.2 การเตรียมกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารแบบเส้น (strip) ของหนูถีบจักร

1.2.1 อุดอาหารหนูถีบจักรไม่ต่ำกว่า 18 ชั่วโมงก่อนการทดลองโดยให้แต่น้ำดื่ม

1.2.2 ทำการ sacrificed โดยการดึงกระดูกคอให้หลุด (cervical dislocation) ผ่าตัดเปิดช่องท้องเพื่อแยกกระเพาะอาหารจากตัวหนู จากนั้นนำกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะมาแช่ใน Krebs bicarbonate solution ที่มี carbogen gas ผ่านตลอดเวลา ตัดกระเพาะอาหารส่วน fundus ออกเป็น 2 ส่วน โดยตัดกึ่งกลางตามความโค้ง จากนั้นตัดแต่ละส่วนออกเป็น longitudinal strip ขนาดกว้าง 3 มม. ยาว 15 มม. โดยขนานกับกึ่งกลางความโค้งที่ตัดไว้ ดังแสดงในรูปที่ 9 (Amemiya et al, 1996)

1.2.3 นำเนื้อเยื่อกระเพาะอาหารที่ได้มาผูกหัวและท้ายนำไปแช่ใน organ bath ที่มี physiological solution และมี carbogen gas ผ่านตลอดเวลา ควบคุมอุณหภูมิที่ $37 \pm 0.5 \text{ }^{\circ}\text{C}$

1.2.4 ปรับความตึงตัวของกล้ามเนื้อกระเพาะอาหารให้มีความตึงตัวขณะพัก (resting tension) ประมาณ 0.50 กรัม จากนั้นปล่อยให้กระเพาะอาหารอยู่ในสภาวะนี้ประมาณ 60 นาที ก่อนเริ่มทำการทดลอง



รูปที่ 9 การเตรียมเนื้อเยื่อกระเพาะอาหารแบบ Strip

2. การ calibrate ความดันของเครื่อง pressure transducer

เพื่อเปลี่ยนค่าการเปลี่ยนแปลงทางศักย์ไฟฟ้า (mV) ของ pressure transducer เป็นการเปลี่ยนแปลงความดัน (mmH_2O) ที่เกิดขึ้นในกระเพาะอาหาร

2.1 ต่อ pressure transducer ที่บรรจุ physiological solution ชนิดเดียวกับที่บรรจุในกระเพาะอาหาร โดยมีปลายต่อกับ three-way stopcock ที่ต่อกับสาย polyethylene ที่เชื่อมกับ flask โดยภายใน flask บรรจุ physiological solution ชนิดเดียวกับที่บรรจุใน pressure transducer ปิด flask ด้วยจุกยาง 2 ท่อ โดยปลายท่อหนึ่งต่อกับสาย polyethylene และปลายอีกข้างต่อกับ U-tube ที่บรรจุน้ำ สำหรับปลายอีกข้างของ U-tube เป็นลูกยางแดงที่ใช้บีบให้น้ำมีการเคลื่อนที่ $10 \text{ mmH}_2\text{O}$ โดยเป็นระบบปิดทั้งระบบ

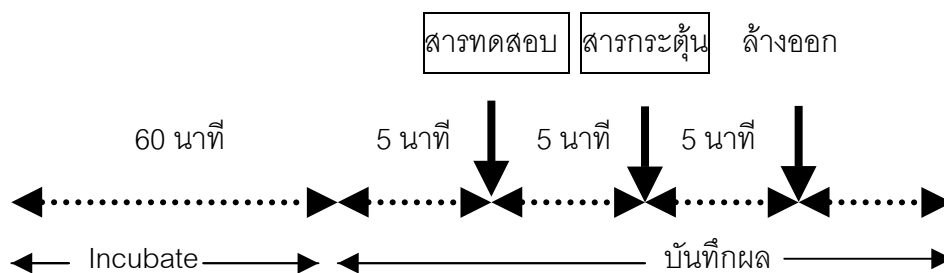
2.2 เมื่อต่อระบบปิดเสร็จ ทำการตั้งค่าความดันของกระเพาะในเครื่อง MacLab™ โดยการบีบลูกยางแดงให้น้ำใน U-tube มีการเคลื่อนที่ 10 มม. บันทึกการเปลี่ยนแปลง จากนั้นเข้าโปรแกรม Unitsv จะปรากฏการทำ Unit Conversion แล้วจึงเริ่มทำการ calibrate ตามวิธีการใช้เครื่อง MacLab™

3. วิธีการทดลอง

3.1 ศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสังเคราะห์ (CU18-07, CU18-08, CU18-09, CU18-10, CU18-11, CU18-12 และ CU18-13) ที่ความเข้มข้น 0.1 mM และ papaverine ที่ความเข้มข้น 0.01 mM ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อกระตุ้นด้วยสารกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ (BaCl_2 1 mM, ACh 1 μM และ KCl 40 mM) ใน Tyrode's solution

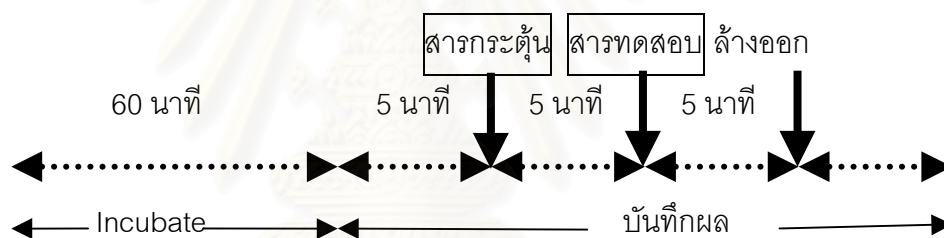
3.1.1 ศึกษาผลของสารสังเคราะห์ และ papaverine ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะ เมื่อได้รับสารสังเคราะห์ก่อนสารกระตุ้น

incubate กระเพาะอาหารหนูถีบจักร ประมาณ 60 นาที โดยเปลี่ยนสารละลายทุก 15 นาทีในช่วงระยะเวลาของการ incubate จนกระเพาะอาหารมีการทำงานคงที่แล้ว เริ่มบันทึก base line เป็นเวลา 5 นาที แล้วจึงให้สารกระตุ้นเป็นเวลา 5 นาที เพื่อวัดผลการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะก่อนได้รับสารกระตุ้น จากนั้นล้างออกด้วย Tyrode's solution แล้ว incubate อีกครั้งเป็นเวลา 60 นาที โดยเปลี่ยนสารละลายทุก 15 นาทีในช่วงระยะเวลาของการ incubate เพื่อให้กล้ามเนื้อเรียบพักตัวเต็มที่ จึงเริ่มทำการทดลองต่อไป โดยเริ่มบันทึก base line เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นให้สารสังเคราะห์ หรือ papaverine บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นเป็นเวลา 5 นาที แล้วจึงให้สารกระตุ้นเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นทำการล้างออกด้วย Tyrode's solution



3.1.2 ศึกษาผลของสารสังเคราะห์ และ papaverine ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ กระเพาะอาหารทั้งกระเพาะ เมื่อได้รับสารกระตุ้นก่อนสารสังเคราะห์

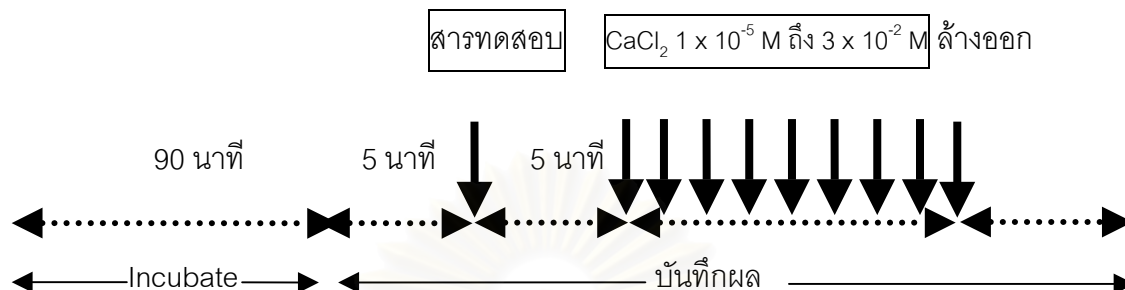
incubate กระเพาะอาหารหนูถีบจักร ประมาณ 60 นาทีโดยเปลี่ยนสารละลาย ทุก 15 นาทีในช่วงระยะเวลาของการ incubate จนกระเพาะอาหารมีการทำงานคงที่แล้ว เริ่มบันทึก base line เป็นเวลา 5 นาที แล้วจึงให้สารกระตุ้นเป็นเวลา 5 นาที เพื่อวัดผลหลังการได้รับสาร กระตุ้นจากนั้นให้สารสังเคราะห์ หรือ papaverine บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นเป็นเวลา 5 นาที แล้วล้างออกด้วย Tyrode's solution



3.2 ศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสังเคราะห์ (CU18-07, CU18-08, CU18-09, CU18-10, CU18-11, CU18-12 และ CU18-13) ที่ความเข้มข้น 0.1 mM และ papaverine ที่ความเข้มข้น 0.01 mM ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักร ในสภาพที่ถูกดีโพลาไรซ์ เมื่อได้รับสารกระตุ้นการหดตัว (CaCl_2) แบบสะสม (Cumulative dose-response curve)

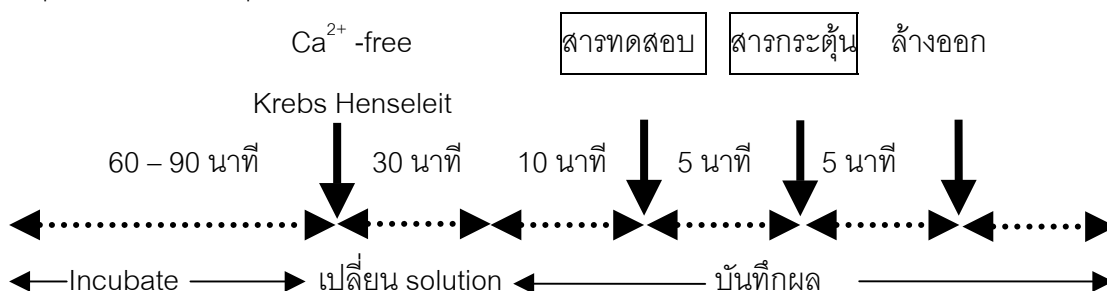
หลังจาก incubate กระเพาะอาหารหนูถีบจักรด้วย Ca^{2+} -free depolarizing solution ประมาณ 90 นาทีโดยเปลี่ยนสารละลายทุก 15 นาทีในช่วงระยะเวลาของการ incubate จนกระเพาะอาหารมีการทำงานคงที่แล้ว บันทึกผล 5 นาทีเพื่อเป็น base line แล้วจึงให้ DMSO 0.06% v/v เพื่อเป็นกลุ่มควบคุม จากนั้นบันทึกผลเป็นเวลา 10 นาที แล้วจึงให้ CaCl_2 แบบสะสมที่ขนาดความเข้มข้น 1×10^{-5} , 3×10^{-5} , 1×10^{-4} , 3×10^{-4} , 1×10^{-3} , 3×10^{-3} , 1×10^{-2} และ 3×10^{-2} M ทุก ๆ 3 นาที ตามลำดับ เพื่อศึกษา dose response curve ของการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหนูถีบจักร หลังจากนั้นล้างออกด้วยสารละลาย Ca^{2+} -free depolarizing solution

หลาย ๆ ครั้ง จากนั้น incubate กล้ามเนื้อกระเพาะอาหารนาน 90 นาที โดยเปลี่ยนสารละลาย ทุก ๆ 15 นาที เพื่อให้กล้ามเนื้อพักตัวเต็มที่จึงเริ่มทำการศึกษาต่อไป โดยให้สารสังเคราะห์ หรือ papaverine เป็นเวลา 10 นาที ก่อนให้ CaCl_2 แบบสะสมเหมือนกลุ่มควบคุม เปรียบเทียบผลการทดลองระหว่างกลุ่มควบคุมกับกลุ่มทดลองแต่ละกลุ่ม



3.3 ศึกษาผลของ CU18-09 และ CU18-12 ที่ความเข้มข้น 0.1 mM ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อกระตุ้นด้วยสารกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารแบบ strip ที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อกระตุ้นการหดตัวด้วยสารละลาย BaCl_2 1 mM ในสารละลาย Ca^{2+} - free Krebs Henseleit

หลังจาก incubate กระเพาะอาหารหนูถีบจักร ประมาณ 60 นาที ในสารละลาย Krebs bicarbonate buffer โดยเปลี่ยนสารละลายทุก 15 นาที จากนั้นเปลี่ยนเป็น incubate ด้วยสารละลาย Ca^{2+} - free Krebs Henseleit ต่ออีก 30 นาที โดยเปลี่ยนสารละลายทุก ๆ 15 นาที จนกระเพาะอาหารมีการทำงานคงที่ เริ่มบันทึกผลเป็นเวลา 5 นาทีเพื่อเป็น base line จากนั้นให้ DMSO 0.06% v/v เพื่อเป็นกลุ่มควบคุมก่อนเป็นเวลา 10 นาที แล้วจึงให้ BaCl_2 1 mM เป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นล้างออกด้วยสารละลาย Krebs bicarbonate buffer หลาย ๆ ครั้ง แล้ว incubate กล้ามเนื้อกระเพาะอาหารนาน 60 นาที โดยเปลี่ยนสารละลายทุก ๆ 15 นาที จากนั้นเปลี่ยนจากสารละลาย Krebs bicarbonate buffer เป็นสารละลาย Ca^{2+} - free Krebs Henseleit แล้ว incubate ต่ออีก 30 นาที โดยเปลี่ยนสารละลายทุก ๆ 15 นาที จนกระเพาะอาหารมีการทำงานคงที่ จากนั้นจึงทำการศึกษาต่อไป โดยให้ CU18-09 หรือ CU18-12 0.1 mM เป็นเวลา 10 นาที ก่อนให้ BaCl_2 เหมือนกลุ่มควบคุมเปรียบเทียบผลการทดลองระหว่างกลุ่มควบคุมกับกลุ่มทดลองแต่ละกลุ่ม



การวิเคราะห์ข้อมูล

การหาค่าของกล้ามเนื้อเรียบในการทดลองจะแสดงผล ในรูปของความดันมีหน่วยเป็น mmH₂O และเปรียบเทียบความดันของกล้ามเนื้อในเรียบจากสภาวะที่ถูกกระตุ้นโดยปราศจากสารทดสอบเป็น 100% กับความดันที่เปลี่ยนแปลงของกล้ามเนื้อในเรียบจากสภาวะที่ถูกกระตุ้นโดยได้รับสารทดสอบ

ข้อมูลที่ได้แสดงในรูป ค่าเฉลี่ย + ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± S.E.M.)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยการเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มควบคุมกับกลุ่มทดลองใช้ Student's paired *t* - test และ Two-way ANOVA เพื่อเปรียบเทียบผลของหมู่แทนที่และตำแหน่งในการแทนที่ของสารสังเคราะห์ ส่วนการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้อมูล 2 ชุดใช้ Student's unpaired *t* - test โดยพิจารณาค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)

การคำนวณค่า drug parameter ทำโดยใช้วิธีของ Van Rossum, และคณะ (1963) ดังนี้

1. ค่า logarithm ของ affinity ของ competitive antagonist แสดงในรูป pA_2 ซึ่งคือค่า Negative logarithm ของ affinity ของ competitive antagonist ในหน่วยโมลาร์ ที่ทำให้ต้องเพิ่มความเข้มข้นของตัวกระตุ้น (agonist) เป็น 2 เท่า จึงจะได้การตอบสนองเท่าเดิม คำนวณได้จากสมการต่อไปนี้

$$pA_2 = -\log[B] + \log \left(\frac{[A_B]}{[A_0]} - 1 \right)$$

[B] : ความเข้มข้นของ competitive antagonist ในหน่วยโมลาร์

[A_B] : ความเข้มข้นของ Agonist ในหน่วยโมลาร์ ที่ทำให้เกิดการกระตุ้น 50% เมื่อมี antagonist (B) อยู่ด้วย

[A₀] : ความเข้มข้นของ Agonist ในหน่วยโมลาร์ ที่ทำให้เกิดการกระตุ้น 50% เมื่อไม่มี antagonist อยู่

2. ค่า logarithm ของ affinity ของ non-competitive antagonist แสดงในรูป pD_2' ซึ่งคือค่า Negative logarithm ของ affinity ของ non-competitive antagonist ในหน่วยโมลาร์ ซึ่งทำให้ maximum response ที่เกิดจากตัวกระตุ้นลดลง 50% คำนวณได้จากสมการต่อไปนี้

$$pD_2' = -\log[B'] + \log \left(\frac{E_{AM}}{E_{AMB}'} - 1 \right)$$

[B'] : ความเข้มข้นของ Non-competitive antagonist ในหน่วย โมลาร์

E_{AM} : maximum contraction ที่เกิดจากตัวกระตุ้น เมื่อไม่มี Non-competitive antagonist

E_{AMB}' : maximum contraction ที่เกิดจากตัวกระตุ้น เมื่อมี Non-competitive antagonist

บทที่ 4

ผลการทดลอง

1. ผลของ สารสังเคราะห์ (CU18-07, CU18-08, CU18-09, CU18-10, CU18-11, CU18-12, และ CU18-13) และ papaverine ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักรเมื่อถูกกระตุ้นด้วยสารต่าง ๆ ใน Tyrode's solution

1.1 ผลของ สารสังเคราะห์ 0.1 mM และ papaverine 0.01 mM ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะเมื่อถูกกระตุ้นด้วย BaCl_2 1 mM

BaCl_2 กระตุ้นการหดและคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักร ในสภาวะที่ปราศจากสารสังเคราะห์ พบว่ากล้ามเนื้อเรียบเกิดการหดตัวอย่างรวดเร็วแบบ phasic contraction และตามด้วย rhythmic contraction ซึ่งซ้อนทับอยู่บน phasic contraction เมื่อเวลาผ่านไปประมาณ 3 นาที tone ของ rhythmic contraction จะเริ่มคงที่ และคงที่อยู่ตลอดระยะเวลา 20 นาที ที่ทำการบันทึกผลการทดลอง rhythmic contraction ที่เกิดขึ้นจะมีจังหวะในการหดและคลายตัวที่กว้างเห็นเป็นช่วงในการหดและคลายตัวชัดเจน ดังแสดงในรูปที่ 10 ซึ่งพบว่าแรงหดตัวสูงสุด (maximum contraction) มีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $39.54 \pm 2.64 \text{ mmH}_2\text{O}$ ($n=6$) การวัดผลการทดลองในสภาวะที่ได้รับสารสังเคราะห์ก่อนสารกระตุ้น จะทำการวัดผลในส่วนของ %maximum contraction %การเปลี่ยนแปลงของ base line และ %ความกว้างในส่วน rhythmic contraction โดย %maximum contraction จะทำการเปรียบเทียบแรงหดตัวส่วน maximum contraction ระหว่างก่อนได้รับสารสังเคราะห์ กับแรงหดตัวส่วน maximum contraction ที่เหลืออยู่หลังได้รับสารสังเคราะห์ ใช้วิธีการคิดคำนวณให้แรงหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบส่วน maximum contraction ในขณะที่ยังไม่ได้รับสารสังเคราะห์เป็น 100% ซึ่งจะนำไปใช้เปรียบเทียบกับแรงหดตัวส่วน maximum contraction ที่เกิดขึ้นหลังได้รับสารสังเคราะห์ และ %การเปลี่ยนแปลงของ base line จะวัดผลของสารสังเคราะห์ต่อกล้ามเนื้อในสภาวะที่ปราศจากสารกระตุ้น เปรียบเทียบแรงหดตัวส่วน maximum contraction ระหว่างก่อนได้รับสารสังเคราะห์ กับแรงหดหรือคลายตัวที่เกิดขึ้นหลังได้รับสารสังเคราะห์ ใช้วิธีการคิดคำนวณให้แรงหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบส่วน maximum contraction ในขณะที่ยังไม่ได้รับสารสังเคราะห์มี maximum contraction เป็น 100% ซึ่งจะนำไปใช้เปรียบเทียบกับแรงหดตัวหรือคลายตัวที่เกิดขึ้นหลังได้รับสารสังเคราะห์ นอกจากนี้จะวัด %ความกว้างในส่วน rhythmic contraction โดยเปรียบเทียบความกว้างของส่วน rhythmic contraction ระหว่างก่อนได้รับสารสังเคราะห์กับความกว้างของส่วน rhythmic contraction ที่เหลืออยู่หลังได้รับสารสังเคราะห์ ใช้วิธีการคิดคำนวณให้ความกว้างในส่วน rhythmic contraction ในขณะที่ยังไม่ได้รับสารสังเคราะห์มีความกว้างสูงสุดเป็น

100% ซึ่งจะนำไปใช้เปรียบเทียบกับความกว้างในส่วน rhythmic contraction ที่เกิดขึ้นหลังได้รับสารสังเคราะห์ ส่วนในสภาวะที่ได้รับสารกระตุ้นก่อนสารสังเคราะห์จะวัดผล %relaxation โดยเปรียบเทียบแรงหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบระหว่างก่อนได้รับสารสังเคราะห์กับการคลายตัวที่เกิดขึ้นหลังได้รับสารสังเคราะห์ โดยใช้วิธีการคิดคำนวณให้แรงหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารส่วน maximum contraction ในขณะที่ยังไม่ได้รับสารสังเคราะห์เป็น 100% ซึ่งจะนำไปใช้เปรียบเทียบกับการคลายตัวที่เกิดขึ้นหลังได้รับสารสังเคราะห์เป็นเวลา 5 นาที

รูปที่ 11a แสดงถึงผลของ DMSO 0.06% v/v ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหนูถีบจักรเมื่อถูกกระตุ้นด้วย $BaCl_2$ พบว่ากล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารยังคงเกิดการหดตัวแบบ phasic และ rhythmic contraction ที่มีลักษณะไม่แตกต่างจากก่อนได้รับ DMSO และเมื่อให้ DMSO อย่างต่อเนื่องกันทุก 5 นาที หลังการกระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารมีการหดตัวด้วย $BaCl_2$ พบว่ากล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารยังมีลักษณะการหดตัวไม่แตกต่างจากก่อนได้รับ DMSO ดังแสดงในรูปที่ 11b

ผลของ CU18-07 ในสภาวะที่ได้รับสารสังเคราะห์ก่อนได้รับสารกระตุ้น พบว่าสารสังเคราะห์สามารถลดความตึงตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหาร (basal tone) ทำให้ baseline เลื่อนลงจากระดับเริ่มต้น โดยทำให้กล้ามเนื้อเรียบคลายตัวเฉลี่ย $14.35 \pm 1.21\%$ ($n=6$) จากนั้นเมื่อกระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหดตัวด้วย $BaCl_2$ พบว่าสารสังเคราะห์มีผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งในส่วน phasic และ rhythmic contraction โดยสามารถลดทั้ง tone และแรงในการบีบและคลายตัว ทำให้ความกว้างในส่วน rhythmic contraction ลดลง เมื่อเทียบกับสภาวะที่ไม่มีสารสังเคราะห์ ดังแสดงในรูปที่ 12a maximum contraction ที่เกิดขึ้นมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $72.5 \pm 5.49\%$ ($n=6$) และความกว้างในส่วน rhythmic contraction เฉลี่ยเท่ากับ $62.71 \pm 8.77\%$ ($n=6$) เมื่อเทียบกับก่อนได้รับสารสังเคราะห์ ดังแสดงในกราฟรูปที่ 20 และ 21 ตามลำดับ ซึ่งทั้ง maximum contraction และความกว้างในส่วน rhythmic contraction ลดลงจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนในสภาวะที่กระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหดตัวด้วย $BaCl_2$ ก่อนให้สารสังเคราะห์ พบว่าสารสังเคราะห์สามารถลดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารได้ทันที ดังแสดงในรูปที่ 12b โดยมีการคลายตัวเฉลี่ยเท่ากับ $31.41 \pm 4.27\%$ ($n=4$) ซึ่งแตกต่างจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ผลของ CU18-08 ในสภาวะที่ได้รับสารสังเคราะห์ก่อนได้รับสารกระตุ้น พบว่าสารสังเคราะห์สามารถลดความตึงตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหาร โดยกล้ามเนื้อเรียบคลายตัว

ได้ $20.48 \pm 1.31\%$ (n=6) ทำให้ base line ของการบันทึกลดต่ำลง จากนั้นเมื่อกระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหดตัวด้วย BaCl_2 พบว่าสารสังเคราะห์มีผลทำให้แรงหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งในส่วน phasic และ rhythmic contraction ลดลงอย่างชัดเจน ดังที่แสดงในรูปที่ 13a โดย maximum contraction ที่เกิดขึ้นมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $52.52 \pm 5.90\%$ (n=6) และความกว้างในส่วน rhythmic contraction ที่เกิดขึ้นมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $49.51 \pm 10.33\%$ (n=6) เมื่อเทียบกับก่อนได้รับสารสังเคราะห์ ดังแสดงในกราฟรูปที่ 20 และ 21 ตามลำดับ ซึ่งทั้ง maximum contraction และความกว้างในส่วน rhythmic contraction ลดลงจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนในสภาวะที่กระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหดตัวด้วย BaCl_2 ก่อนให้สารสังเคราะห์ พบว่าสารสังเคราะห์สามารถลดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารได้ทันที ดังแสดงในรูปที่ 13b โดยมีการคลายตัวเฉลี่ยเท่ากับ $68.84 \pm 0.11\%$ (n=4) ซึ่งแตกต่างจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ผลของ CU18-09 ในสภาวะที่ได้รับสารสังเคราะห์ก่อนได้รับสารกระตุ้น พบว่าสารสังเคราะห์มีผลทำให้กล้ามเนื้อเรียบคลายตัวได้มาก โดยทำให้ base line ลดลงจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์มาก โดยพบว่าทำให้กล้ามเนื้อเรียบคลายตัวได้ $31.15 \pm 2.93\%$ (n=6) จากนั้นเมื่อกระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหดตัวด้วย BaCl_2 พบว่าสารสังเคราะห์มีผลลดการหดตัวในส่วน phasic contraction โดยการหดตัวสูงสุดที่เกิดขึ้นยังอยู่ในระดับที่ต่ำกว่า base line ในตอนเริ่มต้นก่อนได้รับสารสังเคราะห์ และส่วน rhythmic contraction ลดลงจากเดิมมากเหลือเพียง tone ในการหดตัวเท่านั้น ดังแสดงในรูปที่ 14a maximum contraction ที่เกิดขึ้นมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $19.57 \pm 2.99\%$ (n=6) และความกว้างในส่วน rhythmic contraction ที่เกิดขึ้นมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $5.56 \pm 0.73\%$ (n=6) เมื่อเทียบกับก่อนได้รับสารสังเคราะห์ ดังกราฟรูปที่ 20 และ 21 ตามลำดับ ซึ่ง maximum contraction ที่เกิดขึ้น และความกว้างของการหดตัวในส่วน rhythmic contraction ลดลงจากก่อนได้รับสารอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนในสภาวะที่กระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบหดตัวด้วย BaCl_2 ก่อนให้สารสังเคราะห์ พบว่าสารสังเคราะห์สามารถลดการหดตัวกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารที่เกิดขึ้นได้อย่างชัดเจน ดังแสดงในรูปที่ 14b โดยมีการคลายตัวเฉลี่ยเท่ากับ $91.96 \pm 2.61\%$ (n=4) ซึ่งแตกต่างจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ผลของ CU18-10 ในสภาวะที่ได้รับสารสังเคราะห์ก่อนได้รับสารกระตุ้น พบว่าสารสังเคราะห์สามารถคลายกล้ามเนื้อเรียบได้ทันทีทำให้ base line เลื่อนลงจากสภาวะเริ่มต้นได้ โดยทำให้กล้ามเนื้อเรียบคลายตัวได้เฉลี่ย $41.56 \pm 3.01\%$ (n=6) จากนั้นเมื่อกระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบ

กระเพาะอาหารหดตัวด้วย BaCl_2 พบว่าสารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการหดตัวทั้งในส่วน phasic และ rhythmic contraction เช่นเดียวกับ CU18-09 ดังแสดงในรูปที่ 15a โดย maximum contraction ที่เกิดขึ้นมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $20.52 \pm 2.36\%$ ($n=6$) และความกว้างในส่วน rhythmic contraction ที่เกิดขึ้นมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $4.26 \pm 0.97\%$ ($n=6$) เมื่อเทียบกับก่อนได้รับสารสังเคราะห์ ดังแสดงในกราฟรูปที่ 20 และ 21 ตามลำดับ ซึ่งทั้ง maximum contraction และความกว้างของช่วงการหดตัวลดลงจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนในสภาวะที่กระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารเกิดการหดตัวด้วย BaCl_2 ก่อนให้สารสังเคราะห์ พบว่าสารสังเคราะห์สามารถลดการหดตัว และความแรงในช่วงของการบีบและคลายตัวได้อย่างชัดเจน ดังแสดงในรูปที่ 15b โดยมีการคลายตัวเฉลี่ยเท่ากับ $96.05 \pm 3.49\%$ ($n=4$) ซึ่งแตกต่างจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ผลของ CU18-11 ในสภาวะที่ได้รับสารสังเคราะห์ก่อนได้รับสารกระตุ้น พบว่าสารสังเคราะห์สามารถคลายกล้ามเนื้อเรียบได้ทันที ทำให้ base line เลื่อนลงจากสภาวะเริ่มต้น โดยการคลายตัวที่เกิดขึ้นเฉลี่ยเท่ากับ $20.27 \pm 1.17\%$ ($n=6$) จากนั้นเมื่อกระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหดตัวด้วย BaCl_2 พบว่าสารสังเคราะห์มีผลลดการหดตัวทั้งในส่วน phasic และ rhythmic contraction เล็กน้อย ซึ่งในส่วน rhythmic contraction ยังพบว่าความถี่ในการบีบและคลายตัวเพิ่มขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 16a โดย maximum contraction ที่เกิดขึ้นมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $83.99 \pm 5.40\%$ ($n=6$) และความกว้างในส่วน rhythmic contraction ที่เกิดขึ้นมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $98.96 \pm 6.95\%$ ($n=6$) เมื่อเทียบกับก่อนได้รับสารสังเคราะห์ ดังแสดงในกราฟรูปที่ 20 และ 21 ตามลำดับ ซึ่ง %maximum contraction เท่านั้นที่แตกต่างจากสภาวะก่อนได้รับสารสังเคราะห์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนในสภาวะที่กระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารเกิดการหดตัวด้วย BaCl_2 ก่อนให้สารสังเคราะห์ พบว่าสารสังเคราะห์สามารถลด %maximum contraction ที่เกิดขึ้นได้เล็กน้อย และไม่มีผลต่อความกว้างในส่วน rhythmic contraction ดังแสดงในรูปที่ 16b โดยมีการคลายตัวเฉลี่ยเท่ากับ $37.15 \pm 5.57\%$ ($n=4$) ซึ่งแตกต่างจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ผลของ CU18-12 ในสภาวะที่ได้รับสารสังเคราะห์ก่อนได้รับสารกระตุ้น พบว่าสารสังเคราะห์สามารถคลายกล้ามเนื้อเรียบได้ทันทีเช่นเดียวกับ CU18-09 และ CU18-10 ทำให้ base line เลื่อนลงจากสภาวะเริ่มต้น โดยการคลายตัวที่เกิดขึ้นมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $34.36 \pm 5.17\%$ ($n=6$) จากนั้นเมื่อกระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหดตัวด้วย BaCl_2 พบว่าสามารถลดความแรงของการหดตัวทั้งในส่วน phasic และ rhythmic contraction นอกจากนี้พบว่าในส่วน rhythmic contraction กลับมีความถี่ในการหดตัวและคลายตัวมากขึ้น และความกว้างของ

ช่วงการหดและคลายตัวลดลง ดังแสดงในรูปที่ 17a โดยมี maximum contraction ที่เกิดขึ้นมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $46.43 \pm 2.91\%$ ($n=6$) และความกว้างในส่วน rhythmic contraction ที่เกิดขึ้นมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $38.00 \pm 3.20\%$ ($n=6$) ดังกราฟรูปที่ 20 และ 21 ตามลำดับ ซึ่ง maximum contraction และความกว้างของการหดตัวแบบ rhythmic contraction ลดลงจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนในสภาวะที่กระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารเกิดการหดตัวด้วย $BaCl_2$ ก่อนให้สารสังเคราะห์ พบว่าสารสังเคราะห์สามารถยับยั้งการหดตัวที่เกิดขึ้นได้ทันที โดยลดทั้งความแรงและความถี่ของการหดตัว ดังแสดงในรูปที่ 17b โดยมีการคลายตัวเฉลี่ย $82.47 \pm 0.74\%$ ($n=4$) แตกต่างจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

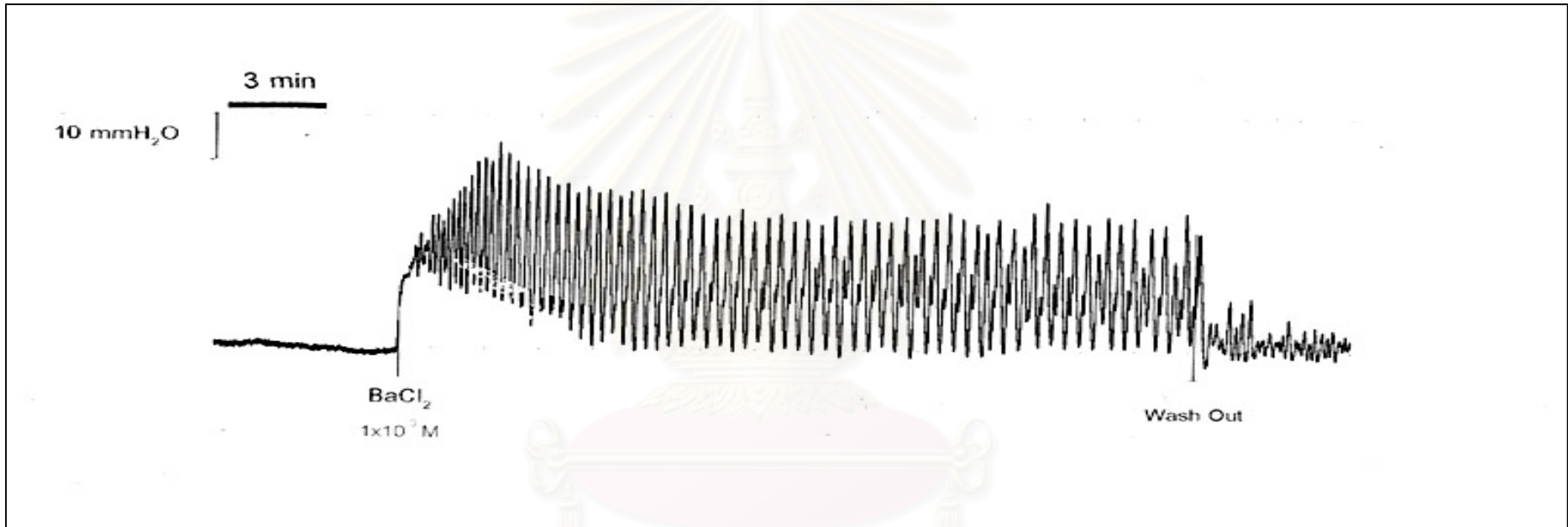
ผลของ CU18-13 ในสภาวะที่ได้รับสารสังเคราะห์ก่อนได้รับสารกระตุ้น พบว่าสารสังเคราะห์สามารถคลายกล้ามเนื้อเรียบได้ทันที โดยทำให้ base line เลื่อนลงจากสภาวะเริ่มต้น โดยการคลายตัวที่เกิดขึ้นมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $16.05 \pm 2.52\%$ ($n=6$) จากนั้นเมื่อกระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหดตัวด้วย $BaCl_2$ พบว่าสารสังเคราะห์สามารถลดความแรงของการหดตัวในส่วนของ phasic contraction เล็กน้อย ในขณะที่ส่วน rhythmic contraction มีความถี่ในการหดตัวและคลายตัวมากขึ้น แต่ช่วงความกว้างในการบีบและคลายตัวลดลงจากเดิมเล็กน้อย ดังแสดงในรูปที่ 18a โดย maximum contraction มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $72.30 \pm 3.01\%$ ($n=6$) ความกว้างในส่วน rhythmic contraction มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $78.68 \pm 10.75\%$ ($n=6$) ดังแสดงในกราฟรูปที่ 20 และ 21 ตามลำดับ ซึ่งพบว่า maximum contraction ของกล้ามเนื้อเรียบเท่านั้นที่การหดตัวลดลงจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนในสภาวะที่กระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารเกิดการหดตัวด้วย $BaCl_2$ ก่อนให้สารสังเคราะห์ พบว่าสามารถยับยั้งการหดตัวที่เกิดขึ้นได้เล็กน้อย โดยลดทั้งความแรงและช่วงของความกว้างในการหดและคลายตัว ดังแสดงในรูปที่ 18b โดยมีการคลายตัวเฉลี่ยเท่ากับ $38.25 \pm 5.41\%$ ($n=4$) ซึ่งแตกต่างจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ผลของ papaverine ในสภาวะที่ได้รับสารสังเคราะห์ก่อนได้รับสารกระตุ้น พบว่าสารสังเคราะห์สามารถลดความตึงตัวของกระเพาะอาหารได้เท่ากับ $62.37 \pm 8.97\%$ ($n=6$) จากนั้นเมื่อกระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหดตัวด้วย $BaCl_2$ พบว่าสารสังเคราะห์สามารถลดแรงหดตัวทั้งในส่วนของ phasic และ rhythmic contraction อย่างชัดเจน ดังแสดงในรูปที่ 19a โดยมี maximum contraction ที่เกิดขึ้นมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $11.63 \pm 4.22\%$ ($n=6$) และความกว้างในส่วน rhythmic contraction มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $6.66 \pm 2.22\%$ ($n=6$) เมื่อเทียบกับก่อนได้รับสารสังเคราะห์ ดังแสดงในกราฟรูปที่ 20 และ 21 ตามลำดับ ซึ่งทั้ง maximum contraction และความ

กว้างในส่วน rhythmic contraction ลดลงจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนในสภาวะที่กระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารเกิดการหดตัวด้วย BaCl_2 ก่อนให้สารสังเคราะห์ พบว่าสามารถยับยั้งการหดตัวที่เกิดขึ้นของกล้ามเนื้อเรียบได้ทันทีและลดความกว้างในการบีบและคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบอย่างมาก ดังแสดงในรูปที่ 19b โดยมีการคลายตัวเฉลี่ย $112.41 \pm 10.48\%$ ($n=4$) ซึ่งแตกต่างจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

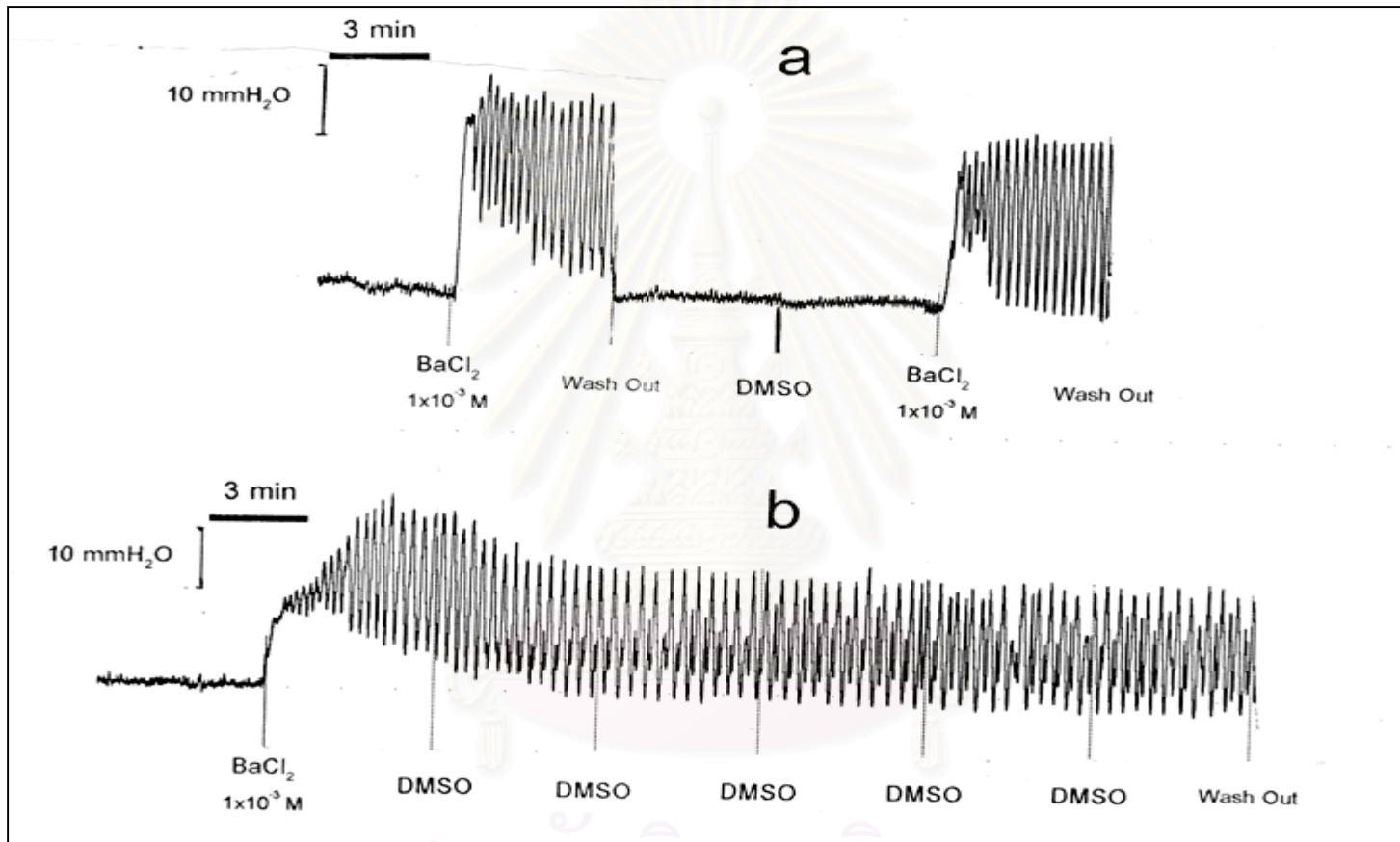
จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า DMSO ซึ่งเป็นตัวทำละลายของสารสังเคราะห์ที่ใช้ในการศึกษานี้ ไม่มีผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารที่แยกจากหนูถีบจักรที่ถูกกระตุ้นด้วย BaCl_2 1 mM เมื่อทำการเปรียบเทียบผลของสารสังเคราะห์ทั้ง 7 ตัว ในสภาวะที่ได้รับสารสังเคราะห์ก่อนได้รับสารกระตุ้น พบว่าสารสังเคราะห์ทุกตัวสามารถลดความตึงตัวของกระเพาะอาหารในสภาวะปกติที่ปราศจากสารกระตุ้นได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังแสดงในกราฟรูปที่ 22 และสามารถยับยั้งการหดตัวสูงสุดของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารได้ทั้งในสภาวะที่ได้รับสารสังเคราะห์ก่อนและหลังสารกระตุ้นได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังแสดงกราฟในรูปที่ 20 นอกจากนี้พบว่าสารสังเคราะห์ส่วนใหญ่ยังสามารถลดความกว้างในส่วน rhythmic contraction ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ยกเว้น CU18-11 และ CU18-13 ดังแสดงในกราฟรูปที่ 21 จากตารางที่ 1 สามารถลำดับความสามารถในการยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบตามความแรงในการยับยั้ง %maximum contraction ในสภาวะที่ได้รับสารสังเคราะห์ก่อนสารกระตุ้นได้ดังนี้ papaverine > CU18-09 > CU18-10 > CU18-12 > CU18-08 > CU18-13 > CU18-07 > CU18-11

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 10 รูปแบบการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะ เมื่อถูกกระตุ้นด้วย BaCl₂ 1 mM

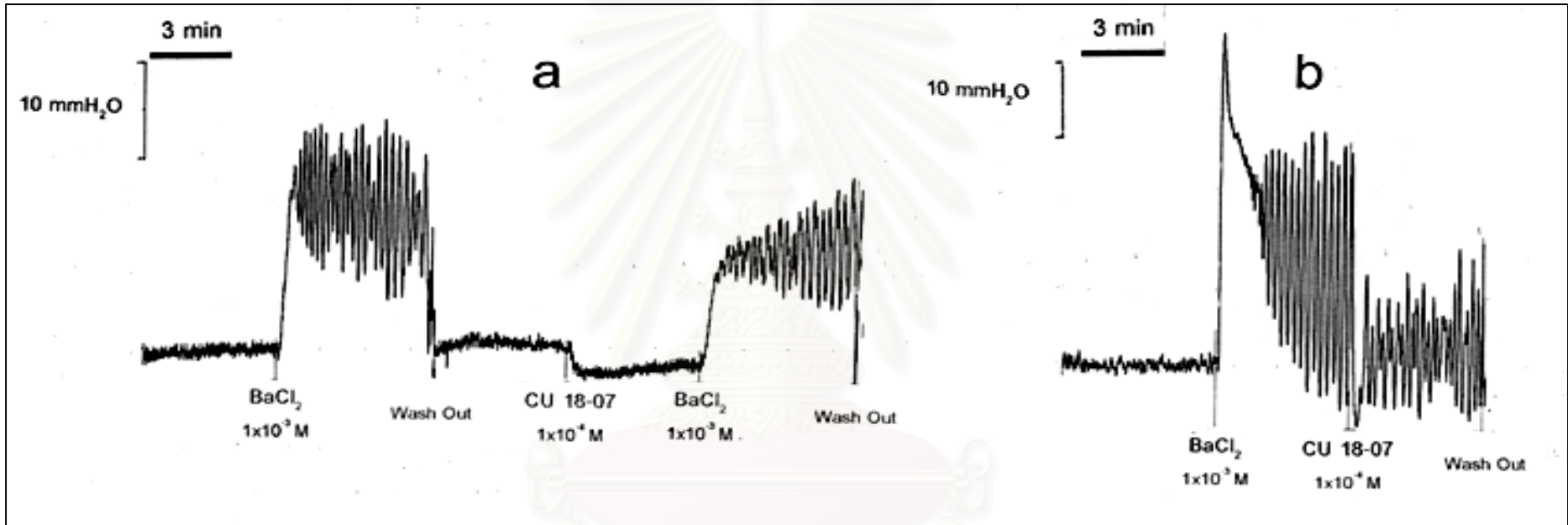
สถาบันวิจัยชีวการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 11 ผลของ DMSO 0.06 % (V/V) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะเมื่อถูกกระตุ้นด้วย BaCl₂ 1 mM

a. ได้รับ DMSO ก่อนกระตุ้นให้เกิดการหดตัว

b. ได้รับ DMSO อย่างต่อเนื่องทุก 5 นาทีหลังกระตุ้นให้เกิดการหดตัว

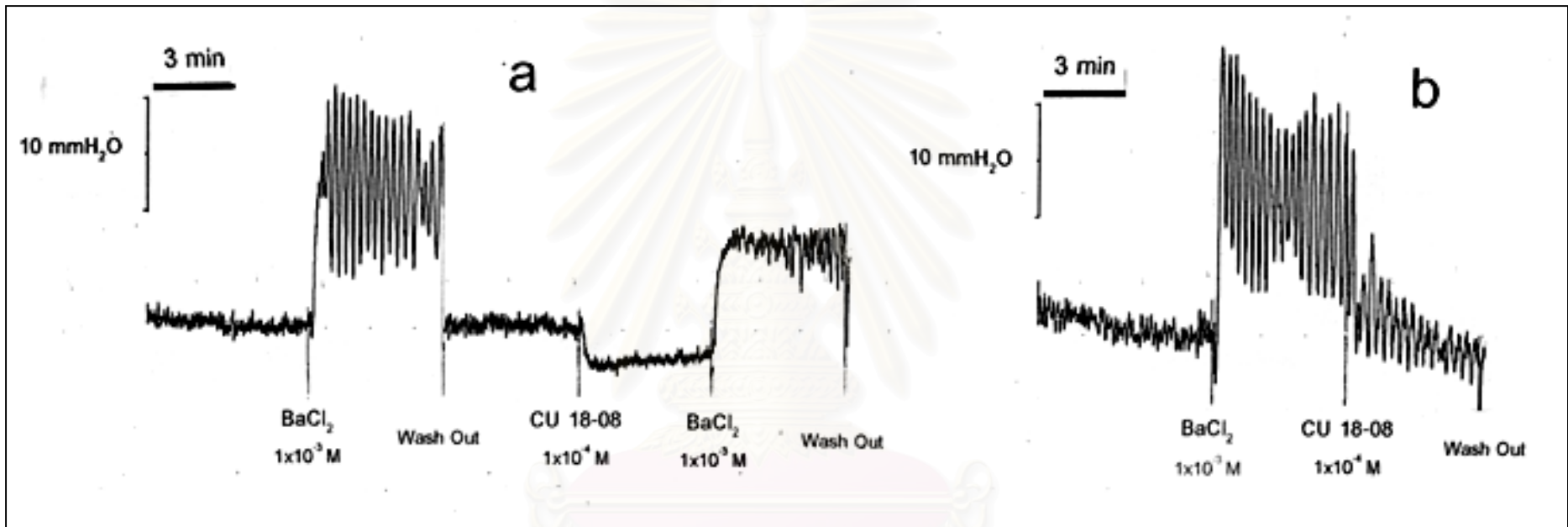


รูปที่ 12 ผลของ CU18-07 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูกีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย BaCl₂ 1 mM

a. ผลของ CU18-07 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM เมื่อให้ก่อนการกระตุ้นเป็นเวลา 5 นาที

b. ผลของ CU18-07 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM เมื่อให้หลังการกระตุ้นเป็นเวลา 5 นาที

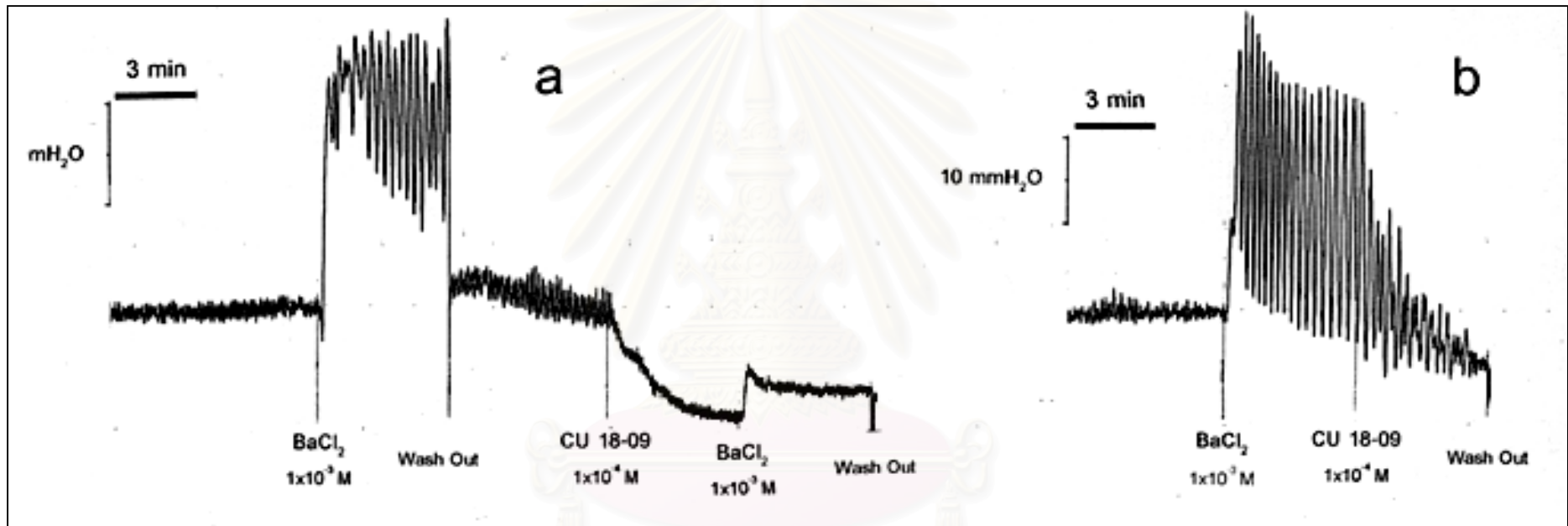
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 13 ผลของ CU18-08 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย BaCl_2 1 mM

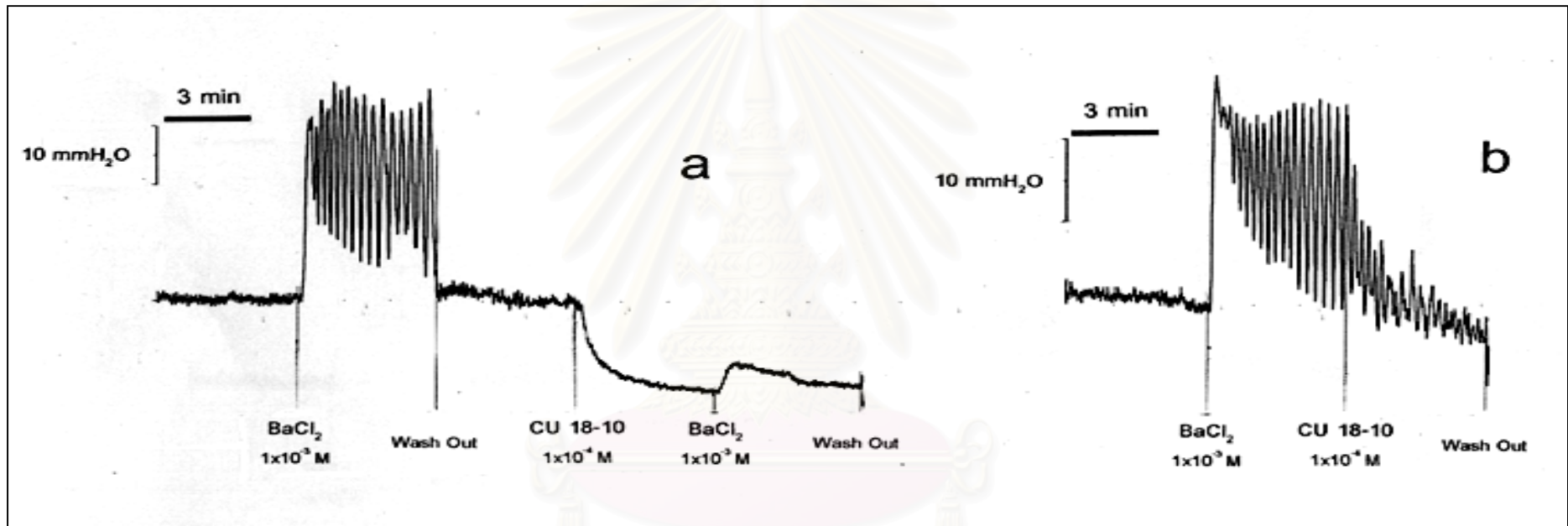
a. ผลของ CU18-08 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM เมื่อให้ก่อนการกระตุ้นเป็นเวลา 5 นาที

b. ผลของ CU18-08 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM เมื่อให้หลังการกระตุ้นเป็นเวลา 5 นาที



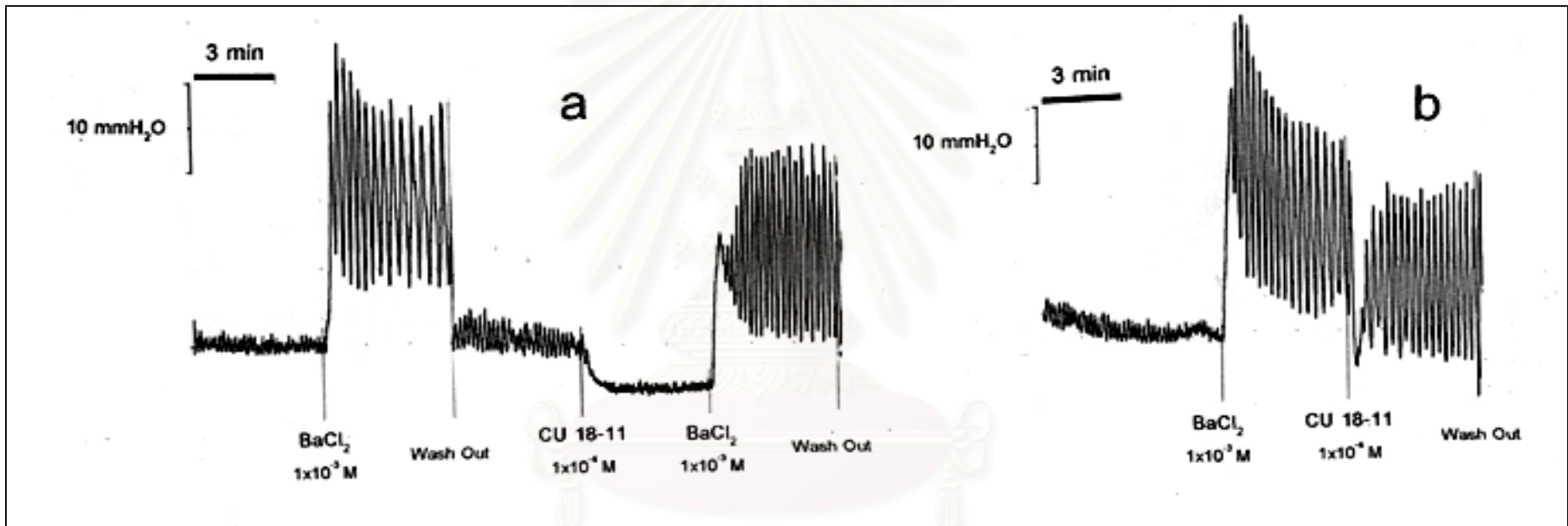
รูปที่ 14 ผลของ CU18-09 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย BaCl_2 1 mM

- ผลของ CU18-09 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM เมื่อให้ก่อนการกระตุ้นเป็นเวลา 5 นาที
- ผลของ CU18-09 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM เมื่อให้หลังการกระตุ้นเป็นเวลา 5 นาที



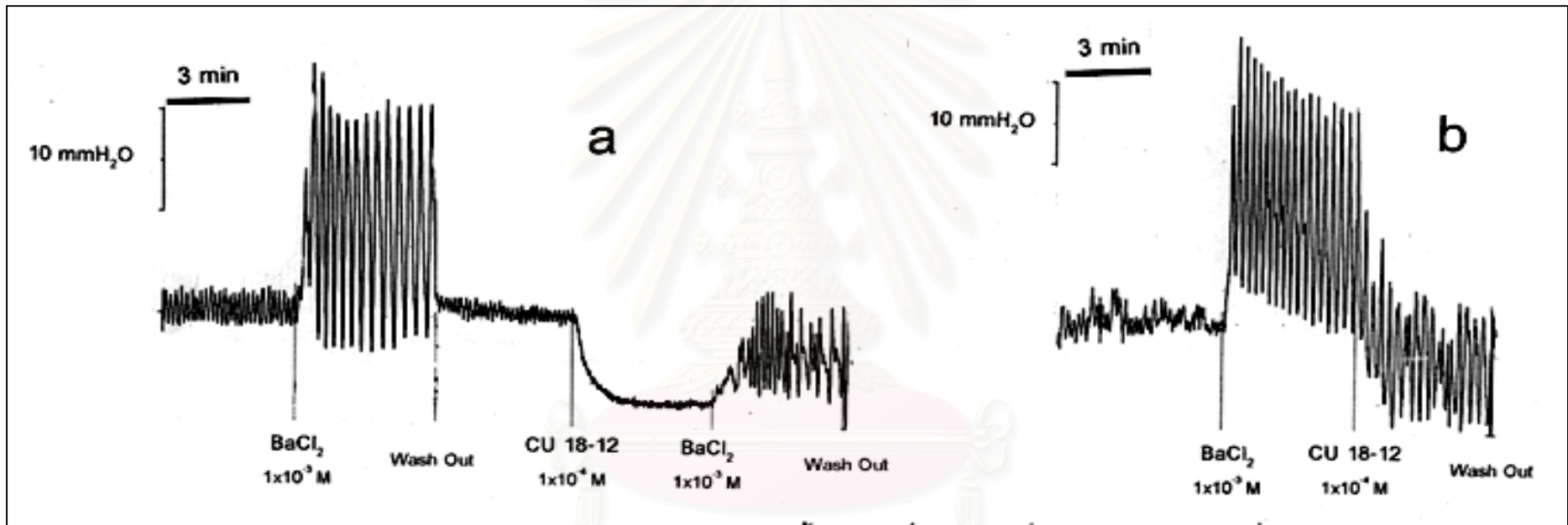
รูปที่ 15 ผลของ CU18-10 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย BaCl₂ 1 mM

- ผลของ CU18-10 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM เมื่อให้ก่อนการกระตุ้นเป็นเวลา 5 นาที
- ผลของ CU18-10 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM เมื่อให้หลังการกระตุ้นเป็นเวลา 5 นาที



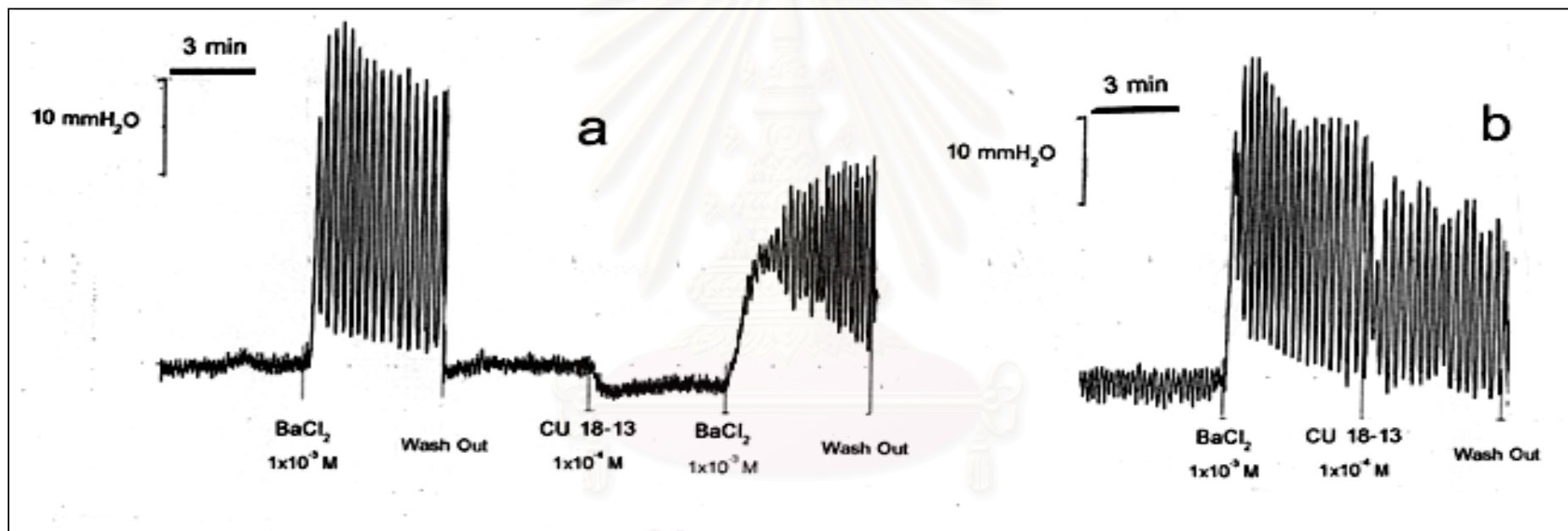
รูปที่ 16 ผลของ CU18-11 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย BaCl₂ 1 mM

- ผลของ CU18-11 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM เมื่อให้ก่อนการกระตุ้นเป็นเวลา 5 นาที
- ผลของ CU18-11 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM เมื่อให้หลังการกระตุ้นเป็นเวลา 5 นาที



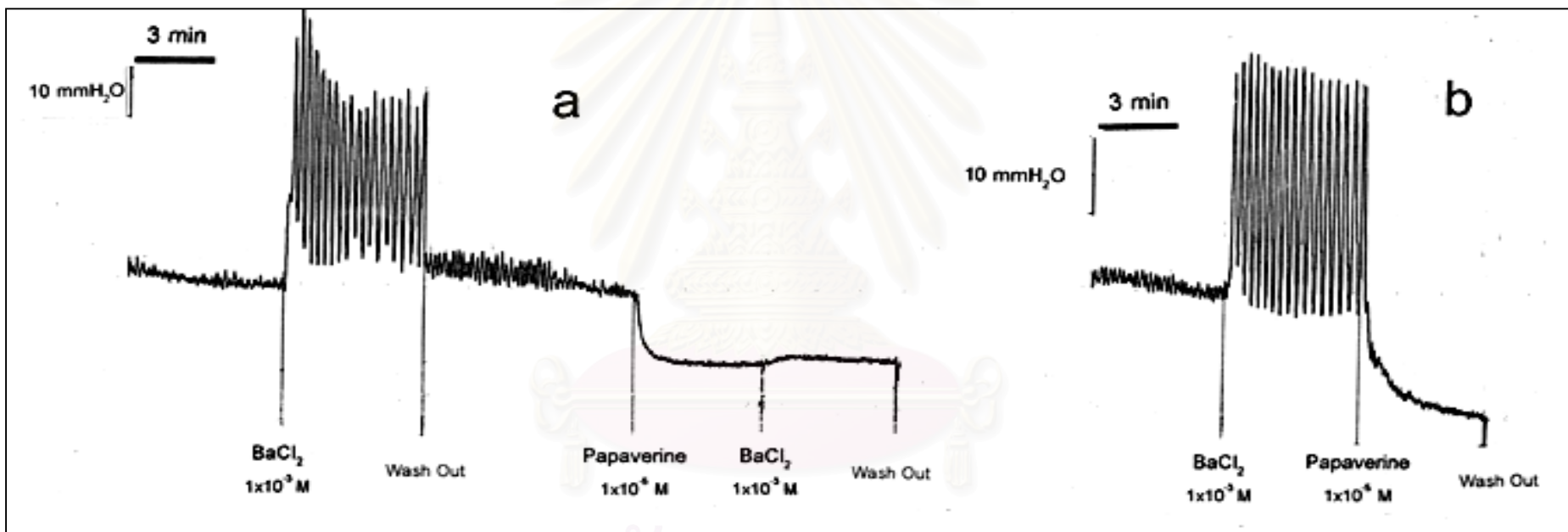
รูปที่ 17 ผลของ CU18-12 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย BaCl₂ 1 mM

- a. ผลของ CU18-12 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM เมื่อให้ก่อนการกระตุ้นเป็นเวลา 5 นาที
- b. ผลของ CU18-12 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM เมื่อให้หลังการกระตุ้นเป็นเวลา 5 นาที



รูปที่ 18 ผลของ CU18-13 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย BaCl₂ 1 mM

- a. ผลของ CU18-13 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM เมื่อให้ก่อนการกระตุ้นเป็นเวลา 5 นาที
- b. ผลของ CU18-13 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM เมื่อให้หลังการกระตุ้นเป็นเวลา 5 นาที



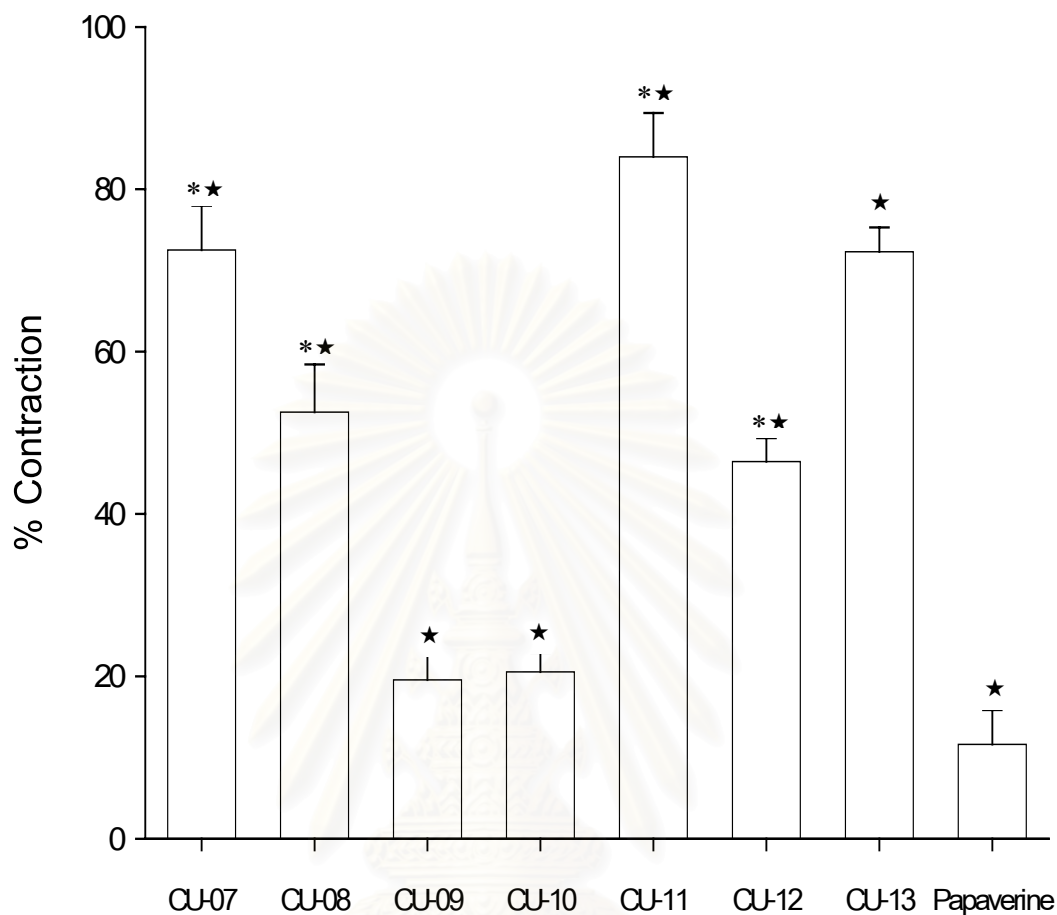
รูปที่ 19 ผลของ Papaverine ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย BaCl₂ 1 mM

- a. ผลของ Papaverine ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM เมื่อให้ก่อนการกระตุ้นเป็นเวลา 5 นาที
- b. ผลของ Papaverine ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM เมื่อให้หลังการกระตุ้นเป็นเวลา 5 นาที

สารสังเคราะห์	ผลของสารสังเคราะห์			
	ได้รับสารสังเคราะห์ก่อนสารกระตุ้น		ได้รับสารกระตุ้นก่อนสารสังเคราะห์	
	% Maximum contraction	% ความกว้างในส่วน rhythmic contraction	% การเปลี่ยนแปลงของbase line	% Relaxation
CU18-07	62.71 ± 8.77 ^{★,*}	72.50 ± 5.49 [★]	14.35 ± 1.21 [★]	31.41 ± 4.27 [★]
CU18-08	49.51 ± 10.33 ^{★,*}	52.52 ± 5.90 [★]	20.48 ± 1.13 [★]	68.84 ± 0.11 [★]
CU18-09	5.56 ± 0.73 [★]	19.57 ± 2.99 [★]	31.15 ± 2.93 [★]	91.96 ± 2.61 [★]
CU18-10	4.26 ± 0.97 [★]	20.52 ± 2.36 [★]	41.56 ± 3.01 [★]	96.05 ± 3.49 [★]
CU18-11	98.96 ± 6.95 ^{★,*}	83.99 ± 5.40	20.27 ± 1.17 [★]	37.15 ± 5.57 [★]
CU18-12	38.00 ± 3.20 ^{★,*}	46.43 ± 2.91 [★]	34.36 ± 5.17 [★]	82.47 ± 0.74 [★]
CU18-13	78.68 ± 10.75 [★]	72.30 ± 3.01	16.05 ± 2.52 [★]	38.25 ± 5.41 [★]
Papaverine	6.66 ± 2.22 [★]	11.63 ± 4.22 [★]	62.37 ± 8.97 [★]	112.41 ± 10.48 [★]

ตารางที่ 1 ผลการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะ จากการกระตุ้นด้วย BaCl₂ 1 mM

- ★ แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์ ($p < 0.05$) โดยการทดสอบทางสถิติแบบ paired t-test
- * แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของสารที่มีหมู่แทนที่เหมือนกัน แต่แทนที่ในตำแหน่ง meta และ para ($p < 0.05$) โดยการทดสอบทางสถิติแบบ independent paired t-test



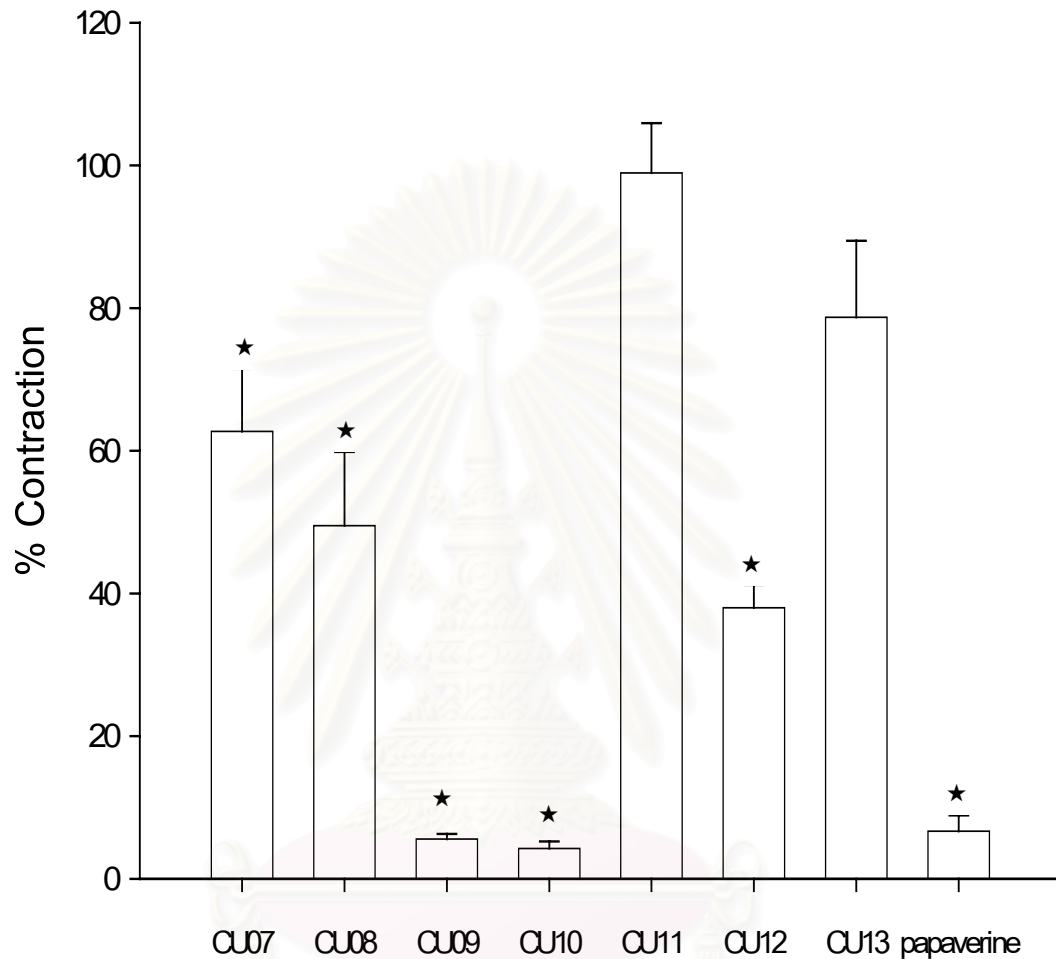
รูปที่ 20 กราฟระหว่างผลของสารสังเคราะห์ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM ต่อ %maximum contraction ของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย BaCl_2 1mM (n=6)

แสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

★ แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์ ($p < 0.05$)

) โดยการทดสอบทางสถิติแบบ paired t -test

* แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของสารที่มีหมู่แทนที่เหมือนกัน แต่แทนที่ในตำแหน่ง meta และ para ($p < 0.05$) โดยการทดสอบทางสถิติแบบ independent paired t -test

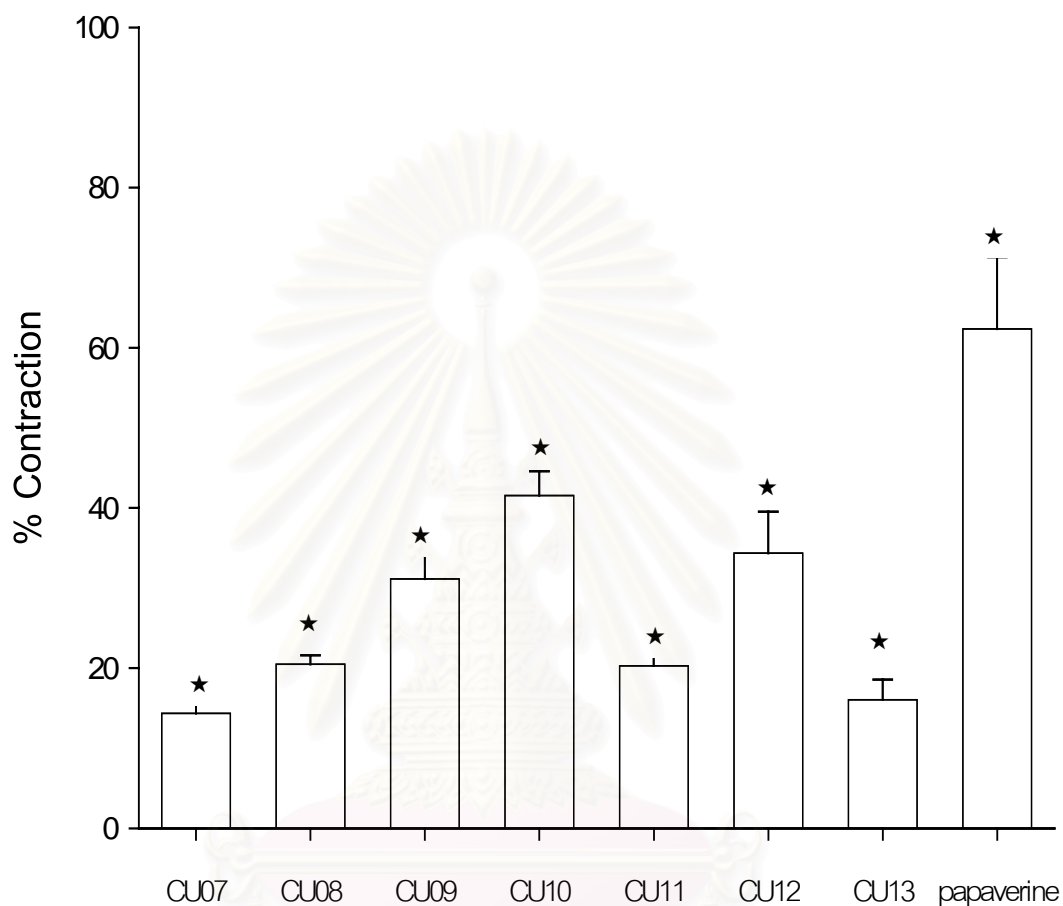


รูปที่ 21 กราฟระหว่างผลของสารสังเคราะห์ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM ต่อ %ความกว้างใน ส่วน rhythmic contraction ของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย BaCl_2 1 mM (n=6)

แสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

★ แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์ ($p < 0.05$)

โดยการทดสอบทางสถิติแบบ paired t -test



รูปที่ 22 กราฟระหว่างผลของสารสังเคราะห์ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM ต่อ % การเปลี่ยนแปลงของ base line ของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักร ในสภาวะที่ปราศจากสารกระตุ้น (n=6)

แสดงค่าเฉลี่ย ± ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

★ แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์ ($p < 0.05$)

โดยการทดสอบทางสถิติแบบ paired *t* - test

1.2 ผลของ สารสังเคราะห์ และ papaverine ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ

กระเพาะอาหารเมื่อถูกกระตุ้นด้วย ACh 1 μ M

ACh กระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักร ในสภาวะที่ปราศจากสารสังเคราะห์ พบว่ากล้ามเนื้อเรียบเกิดการหดตัวอย่างรวดเร็วแบบ phasic contraction หลังจากนั้นแรงหดตัวจะค่อย ๆ ลดลงโดยมีลักษณะเป็น tonic contraction เมื่อเวลาผ่านไปประมาณ 3 นาที tone ของ tonic contraction จะเริ่มคงที่และคงอยู่ตลอดระยะเวลา 15 นาที ที่ทำการบันทึกผลการทดลอง ดังแสดงในรูปที่ 23 พบว่าในส่วน phasic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ 20.25 ± 0.91 mmH₂O และในส่วน tonic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ 14.60 ± 1.13 mmH₂O การวัดผลการทดลองในสภาวะที่ได้รับสารสังเคราะห์ก่อนสารกระตุ้น จะทำการวัดผลในส่วนของ %phasic contraction %tonic contraction และ %การเปลี่ยนแปลงของbase line โดย %phasic contraction และ %tonic contraction จะทำการเปรียบเทียบแรงหดตัวในส่วน phasic และ tonic contraction ระหว่างก่อนได้รับสารสังเคราะห์กับแรงหดตัวในส่วน phasic และ tonic contraction ที่เหลืออยู่หลังได้รับสารสังเคราะห์ ใช้วิธีการคิดคำนวณให้แรงหดตัวของแต่ละส่วนในขณะที่ยังไม่ได้รับสารสังเคราะห์ มี maximum contraction เป็น 100% ซึ่งจะนำไปใช้เปรียบเทียบกับแรงหดตัวที่เกิดขึ้นหลังได้รับสารสังเคราะห์ ส่วน %การเปลี่ยนแปลงของ base line จะทำการวัดผลของสารสังเคราะห์ต่อกล้ามเนื้อเรียบในสภาวะที่ปราศจากสารกระตุ้นเปรียบเทียบกับแรงหดตัวในส่วน phasic contraction ระหว่างก่อนได้รับสารสังเคราะห์กับการเปลี่ยนแปลงของกล้ามเนื้อเรียบที่เกิดขึ้นหลังได้รับสารสังเคราะห์ โดยให้แรงหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในส่วน phasic contraction ขณะที่ยังไม่ได้รับสารสังเคราะห์มี maximum contraction เป็น 100% ซึ่งจะนำไปใช้เปรียบเทียบกับ การเปลี่ยนแปลงของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารที่เกิดขึ้นหลังได้รับสารสังเคราะห์ ในสภาวะที่ได้รับสารกระตุ้นก่อนสารสังเคราะห์ จะวัดผล %relaxation โดยเปรียบเทียบแรงหดตัวในส่วน phasic contraction ระหว่างก่อนได้รับสารสังเคราะห์กับการคลายตัวหลังได้รับสารสังเคราะห์ โดยใช้วิธีการคิดคำนวณให้แรงหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในส่วน phasic contraction ในขณะที่ยังไม่ได้รับสารสังเคราะห์มี maximum contraction เป็น 100% ซึ่งจะนำไปใช้เปรียบเทียบกับ การคลายตัวที่เกิดขึ้นหลังได้รับสารสังเคราะห์เป็นเวลา 5 นาที

เมื่อให้ DMSO 0.06 % v/v ก่อนได้รับ ACh พบว่ากล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารยังคงเกิดการหดตัวแบบ phasic และ tonic contraction โดยมีลักษณะไม่แตกต่างจากก่อนได้รับ DMSO ดังแสดงในรูปที่ 24a และเมื่อกระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารเกิดการหดตัวก่อน จากนั้น

จึงให้ DMSO 0.06 % v/v อย่างต่อเนื่องทุก 5 นาที พบว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารยังคงมีลักษณะเหมือนเดิมไม่แตกต่างจากหลังได้รับ DMSO ดังแสดงในรูปที่ 24b

ผลของ CU18-07 ในสภาวะที่ได้รับสารสังเคราะห์ก่อนได้รับสารกระตุ้น พบว่าในช่วงแรก สารสังเคราะห์สามารถกระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบเกิด spike ขึ้นและลดลงอย่างรวดเร็ว โดย spike ที่เกิดขึ้นจะมีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $32.58 \pm 4.60\%$ (n=6) จากนั้นเมื่อกระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหดตัวด้วย ACh พบว่ากล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารยังคงเกิดการหดตัวแบบ phasic และ tonic contraction โดยพบว่าแรงในการหดตัวทั้ง 2 ส่วนลดลงจากเดิมเล็กน้อย แต่ความถี่ในการหดและคลายตัวกลับเพิ่มขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 25a โดยแรงหดตัวในส่วน phasic contraction ที่เกิดขึ้นมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $86.72 \pm 5.83\%$ (n=6) และในส่วน tonic contraction พบว่าแรงหดตัวมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $97.33 \pm 10.33\%$ (n=6) ดังแสดงในกราฟรูปที่ 33 และ 34 ตามลำดับ ซึ่งแรงในการหดตัวทั้ง 2 ส่วนลดลงจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์หรืออย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนในสภาวะที่กระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหดตัวด้วย ACh ก่อนให้สารสังเคราะห์ พบว่าสารสังเคราะห์สามารถลดการหดตัวที่เกิดขึ้นของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารได้เล็กน้อย ดังแสดงในรูปที่ 25b โดยมีการคลายตัวเฉลี่ยเท่ากับ $9.91 \pm 4.19\%$ (n=4) ซึ่งลดลงจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์หรืออย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลของ CU18-08 ในสภาวะที่ได้รับสารสังเคราะห์ก่อนได้รับสารกระตุ้น พบว่าสารสังเคราะห์สามารถลดความตึงตัวของกระเพาะอาหารอย่างชัดเจน ทำให้ base line เลื่อนลงจากสภาวะเริ่มต้น โดยทำให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารคลายตัวเฉลี่ยเท่ากับ $32.24 \pm 3.28\%$ (n=6) จากนั้นเมื่อกระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหดตัวด้วย ACh พบว่ากล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารมีแรงหดตัวในส่วน phasic contraction ลดลงเล็กน้อย แต่ในส่วนของ tonic contraction กลับพบว่ามีความถี่และความถี่เพิ่มขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 26a โดยแรงหดตัวในส่วน phasic contraction ที่เกิดขึ้นมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $90.89 \pm 5.84\%$ (n=6) และในส่วน tonic contraction มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $139.17 \pm 9.10\%$ (n=6) ดังแสดงในกราฟรูปที่ 33 และ 34 ตามลำดับ ซึ่งแรงในการหดตัวแบบ tonic contraction เท่านั้นที่มีการเปลี่ยนแปลงแตกต่างจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนในสภาวะที่กระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหดตัวด้วย ACh ก่อนให้สารสังเคราะห์ พบว่าสารสังเคราะห์สามารถลดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารที่เกิดขึ้นได้เล็กน้อย ดังแสดงในรูปที่ 26b โดยมีการคลายตัวเฉลี่ยเท่ากับ $21.66 \pm 8.07\%$ (n=4) ซึ่งลดลงจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์หรืออย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลของ CU18-09 ในสภาวะที่ได้รับสารสังเคราะห์ก่อนได้รับสารกระตุ้น พบว่าสารสังเคราะห์สามารถลดความตึงตัวของกระเพาะอาหารทำให้ base line ลดลงจากตอนเริ่มต้นมาก โดยทำให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารคลายตัวเฉลี่ยเท่ากับ $38.160 \pm 4.21\%$ (n=6) จากนั้นเมื่อกระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหดตัวด้วย ACh พบว่ากล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารยังเกิด tone ในการหดตัวได้ แต่การหดตัวที่เกิดขึ้นยังต่ำกว่าระดับ base line ในตอนเริ่มต้นก่อนได้รับสารสังเคราะห์ และในส่วน tonic contraction พบว่าแรงหดตัวและความถี่ลดลงอย่างชัดเจน รวมทั้งความกว้างในส่วนการหดและคลายตัว ดังแสดงในรูปที่ 27a โดยแรงหดตัวในส่วน phasic contraction ที่เกิดขึ้นมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $35.65 \pm 7.93\%$ (n=6) ส่วน tonic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $21.80 \pm 5.21\%$ (n=6) ดังแสดงในกราฟรูปที่ 33 และ 34 ตามลำดับ ซึ่งแรงหดตัวทั้ง 2 ส่วนลดลงจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนในสภาวะที่กระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหดตัวด้วย ACh ก่อนให้สารสังเคราะห์ พบว่าสารสังเคราะห์สามารถลดการหดตัวที่เกิดขึ้นได้อย่างชัดเจน ดังแสดงในรูปที่ 27b โดยมีการคลายตัวเฉลี่ยเท่ากับ $70.22 \pm 9.68\%$ (n=4) ซึ่งแตกต่างจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ผลของ CU18-10 ในสภาวะที่ได้รับสารสังเคราะห์ก่อนได้รับสารกระตุ้น พบว่าสารสังเคราะห์สามารถลดความตึงตัวของกระเพาะอาหารได้แรงและเร็วทำให้ base line ลดลงจากสภาวะเริ่มต้นมากโดยทำให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารคลายตัวเฉลี่ยเท่ากับ $51.63 \pm 6.71\%$ (n=6) จากนั้นเมื่อกระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหดตัวด้วย ACh พบว่าสารสังเคราะห์มีผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งในส่วน phasic และ tonic contraction เช่นเดียวกับ CU18-09 ดังแสดงในรูปที่ 28a โดยแรงหดตัวในส่วน phasic contraction ที่เกิดขึ้นมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $57.44 \pm 9.01\%$ (n=6) และในส่วน tonic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $45.09 \pm 10.24\%$ (n=6) ดังแสดงในกราฟรูปที่ 33 และ 34 ตามลำดับ ซึ่งแรงหดตัวทั้ง 2 ส่วนลดลงจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนในสภาวะที่กระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหดตัวด้วย ACh ก่อนให้สารสังเคราะห์ พบว่าสารสังเคราะห์สามารถลดการหดตัวที่เกิดขึ้นได้อย่างชัดเจน ดังแสดงในรูปที่ 28b โดยมีการคลายตัวเฉลี่ยเท่ากับ $64.06 \pm 13.18\%$ (n=4) ซึ่งแตกต่างจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ผลของ CU18-11 ในสภาวะที่ได้รับสารสังเคราะห์ก่อนได้รับสารกระตุ้น พบว่าสารสังเคราะห์สามารถลดความตึงตัวของกระเพาะอาหารได้อย่างชัดเจนทำให้ base line ลดลงจากสภาวะเริ่มต้น โดยทำให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารคลายตัวเฉลี่ยเท่ากับ $32.83 \pm 5.59\%$

(n=6) จากนั้นเมื่อกระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหดตัวด้วย ACh พบว่าการหดตัวในส่วน phasic contraction ไม่แตกต่างจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์ แต่ในส่วน tonic contraction ที่เกิดขึ้นมี tone สูงขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 29a โดยแรงหดตัวในส่วน phasic contraction ที่เกิดขึ้นมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $97.07 \pm 5.02\%$ (n=6) และในส่วน tonic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $122.2 \pm 6.98\%$ (n=6) ดังแสดงในกราฟรูปที่ 33 และ 34 ตามลำดับ ซึ่งแรงหดตัวในส่วน phasic contraction มีแนวโน้มลดลงเล็กน้อย ในขณะที่ tonic contraction เพิ่มขึ้นจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนในสภาวะที่กระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหดตัวด้วย ACh ก่อนให้สารสังเคราะห์ พบว่าสารสังเคราะห์สามารถลดการหดตัวได้เล็กน้อย ดังแสดงในรูปที่ 29b โดยมีการคลายตัวเฉลี่ยเท่ากับ $17.99 \pm 7.86\%$ (n=4) ซึ่งแตกต่างจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลของ CU18-12 ในสภาวะที่ได้รับสารสังเคราะห์ก่อนได้รับสารกระตุ้น พบว่าสามารถคลายกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารอย่างมาก ทำให้ base line เลื่อนลงจากสภาวะเริ่มต้นโดยทำให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารคลายตัวเฉลี่ยเท่ากับ $59.59 \pm 9.96\%$ (n=6) จากนั้นเมื่อกระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหดตัวด้วย ACh พบว่าสามารถลดความแรงในการหดตัวทั้งในส่วน phasic และ tonic contraction ดังแสดงในรูปที่ 30a โดยแรงหดตัวในส่วน phasic contraction ที่เกิดขึ้นมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $77.13 \pm 5.40\%$ (n=6) และในส่วน tonic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $44.56 \pm 6.98\%$ (n=6) ดังแสดงในกราฟรูปที่ 33 และ 34 ตามลำดับ ซึ่งแรงหดตัวทั้ง 2 ส่วนลดลงจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนในสภาวะที่กระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหดตัวด้วย ACh ก่อนให้สารสังเคราะห์ พบว่าสารสังเคราะห์สามารถลดการหดตัวที่เกิดขึ้นได้อย่างชัดเจน ดังแสดงในรูปที่ 30b โดยมีการคลายตัวเฉลี่ยเท่ากับ $96.49 \pm 9.40\%$ (n=4) ซึ่งแตกต่างจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

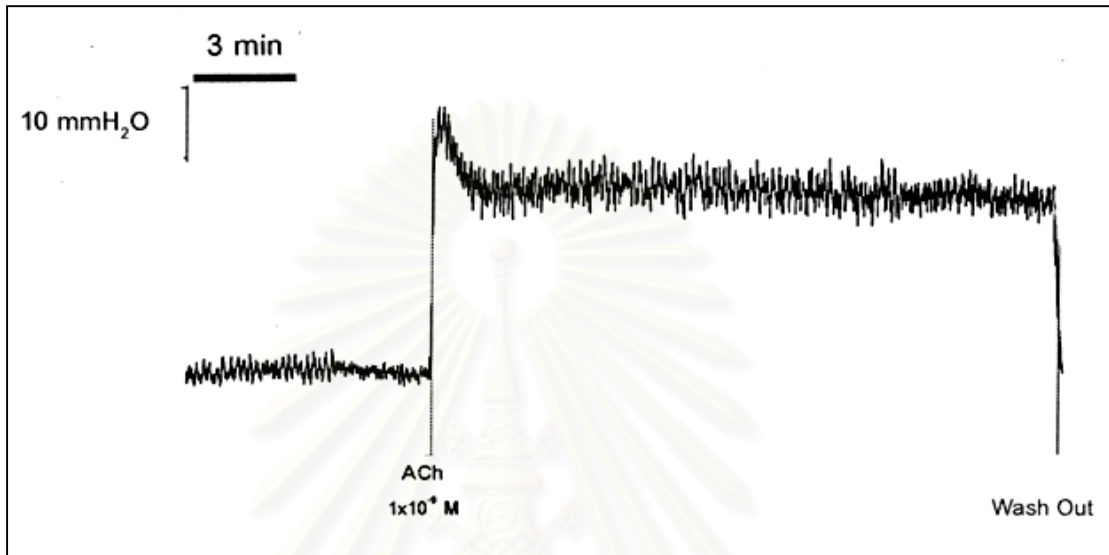
ผลของ CU18-13 ในสภาวะที่ได้รับสารสังเคราะห์ก่อนได้รับสารกระตุ้น พบว่าสามารถคลายกล้ามเนื้อเรียบของกระเพาะอาหารได้ ทำให้ base line เลื่อนลงจากสภาวะเริ่มต้น โดยทำให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารคลายตัวเฉลี่ยเท่ากับ $25.88 \pm 5.22\%$ (n=6) จากนั้นเมื่อกระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหดตัวด้วย ACh พบว่าในส่วน phasic contraction มีแรงหดตัวลดลงเล็กน้อย ในขณะที่ tonic contraction มีความแรงและความถี่ในการหดตัวเพิ่มขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 31a โดยแรงหดตัวในส่วน phasic contraction ที่เกิดขึ้นมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $96.88 \pm 5.21\%$ (n=6) และในส่วน tonic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $115.36 \pm 8.62\%$ (n=6) ดังแสดงในกราฟรูปที่ 33 และ 34 ตามลำดับ ซึ่งแรงหดตัวทั้ง 2 ส่วนมีการเปลี่ยนแปลงจากก่อนได้รับ

สารสังเคราะห์ อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนในสภาวะที่กระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหดตัวด้วย ACh ก่อนให้สารสังเคราะห์ พบว่าสารสังเคราะห์สามารถลดการหดตัวที่เกิดขึ้นได้ ดังแสดงในรูปที่ 31b โดยมีการคลายตัวเฉลี่ยเท่ากับ $24.90 \pm 1.12\%$ ($n=4$) ซึ่งลดลงจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ผลของ papaverine ในสภาวะที่ได้รับสารสังเคราะห์ก่อนได้รับสารกระตุ้น พบว่าสามารถลดความตึงตัวของกระเพาะอาหารได้มาก ทำให้ base line เลื่อนลงจากสภาวะเริ่มต้น โดยทำให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารคลายตัวเฉลี่ยเท่ากับ $71.98 \pm 8.80\%$ ($n=6$) จากนั้นเมื่อกระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหดตัวด้วย ACh พบว่าการหดตัวในส่วน phasic และ tonic contraction มีแรงหดตัวลดลงอย่างชัดเจน ดังแสดงในรูปที่ 32a โดยแรงหดตัวในส่วน phasic contraction ที่เกิดขึ้นมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $18.97 \pm 1.43\%$ ($n=6$) และในส่วน tonic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $11.60 \pm 4.53\%$ ($n=6$) ดังแสดงในกราฟรูปที่ 33 และ 34 ตามลำดับ ซึ่งแรงหดตัวทั้ง 2 ส่วนลดลงจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนในสภาวะที่กระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหดตัวด้วย ACh ก่อนให้สารสังเคราะห์ พบว่าสารสังเคราะห์สามารถลดการหดตัวที่เกิดขึ้นได้อย่างชัดเจน ดังแสดงในรูปที่ 32b โดยมีการคลายตัวเฉลี่ยเท่ากับ $120.58 \pm 15.33\%$ ($n=4$) ซึ่งลดลงจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

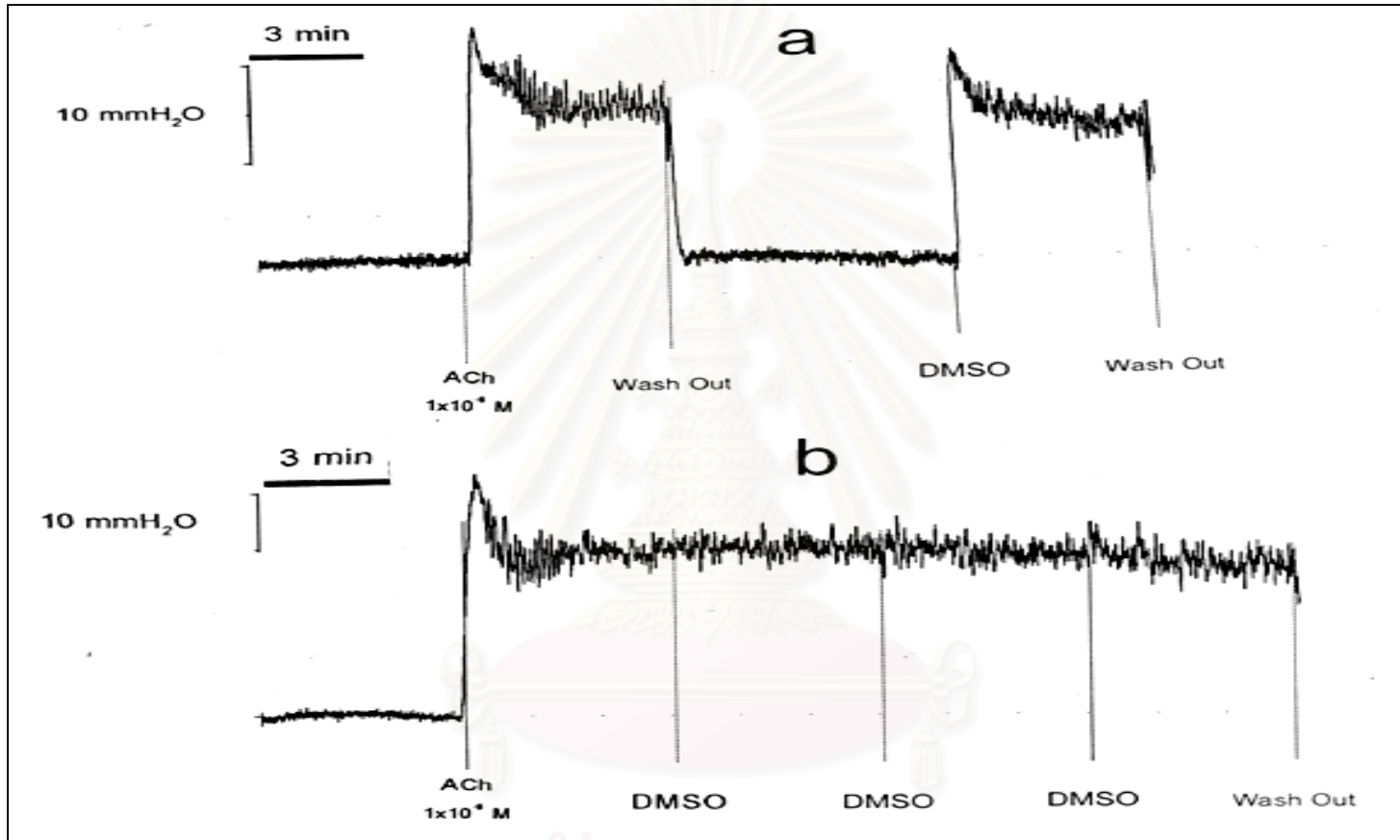
จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า DMSO ซึ่งเป็นตัวทำละลายของสารสังเคราะห์ที่ใช้ในการศึกษานี้ ไม่มีผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารที่แยกจากหนูถีบจักรเมื่อถูกกระตุ้นด้วย ACh $1 \mu\text{M}$ และเมื่อเปรียบเทียบผลของสารสังเคราะห์ทั้ง 7 ตัว ในสภาวะที่ได้รับสารสังเคราะห์ก่อนได้รับสารกระตุ้น พบว่าสารสังเคราะห์ทุกตัว ยกเว้น CU18-07 สามารถลดความตึงตัวของกระเพาะอาหารอย่างชัดเจน ทำให้ base line เลื่อนลงจากสภาวะเริ่มต้น ในขณะที่ CU18-07 กระตุ้นให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ นอกจากนี้ยังพบว่า CU18-09, CU18-10, CU18-12 และ papaverine ยับยั้งการหดตัวในส่วน phasic และ tonic contraction ของกล้ามเนื้อเรียบได้ ทั้งในสภาวะที่ให้สารสังเคราะห์ก่อน และหลังสารกระตุ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และ CU18-07 ไม่มีผลต่อการหดตัวทั้งในส่วน phasic และ tonic contraction ทั้งในสภาวะที่ให้สารสังเคราะห์ก่อน หรือหลังสารกระตุ้น ในขณะที่ CU18-08, CU18-11 และ CU18-13 มีผลเพิ่มการหดตัวในส่วน tonic contraction โดย CU18-08 และ CU18-11 เพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในส่วน tonic contraction อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) จากตารางผลการทดลองที่ 2 สามารถลำดับความแรงในการยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในส่วน phasic

contraction ในสภาวะที่ได้รับสารสังเคราะห์ก่อนการได้รับสารกระตุ้นได้ดังนี้ papaverine > CU18-09 > CU18-10 > CU18-12 > CU18-07 > CU18-08 > CU18-13 > CU18-11



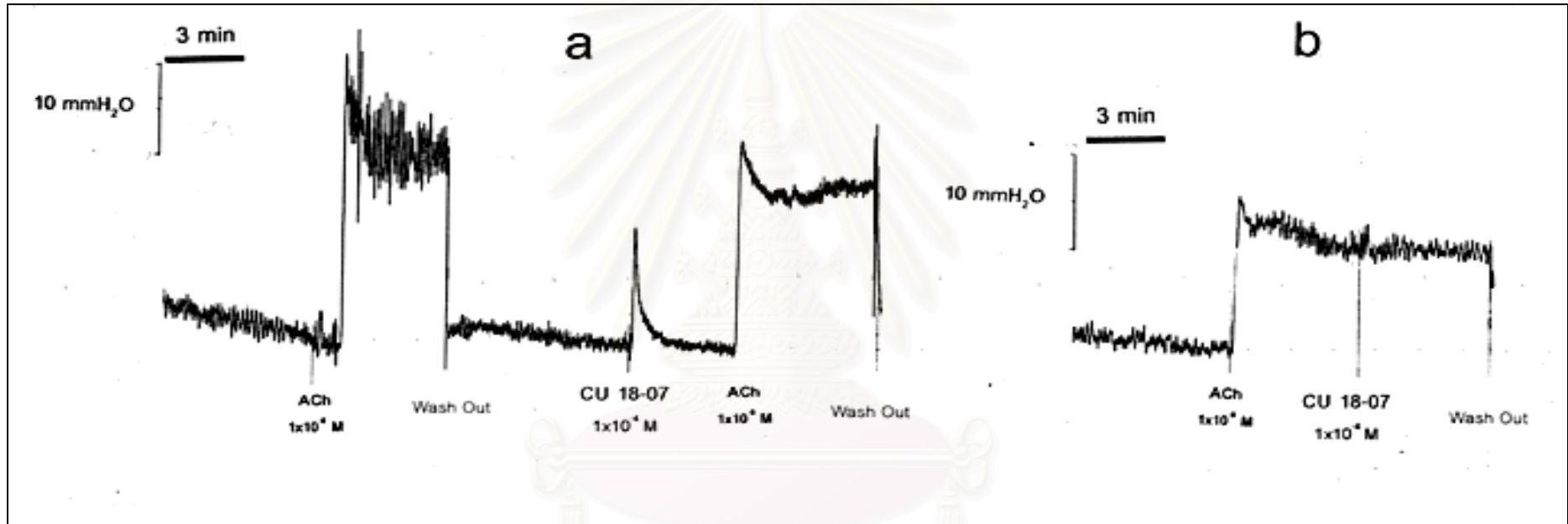
รูปที่ 23 รูปแบบการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะ เมื่อถูกกระตุ้นด้วย ACh $1 \mu\text{M}$

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



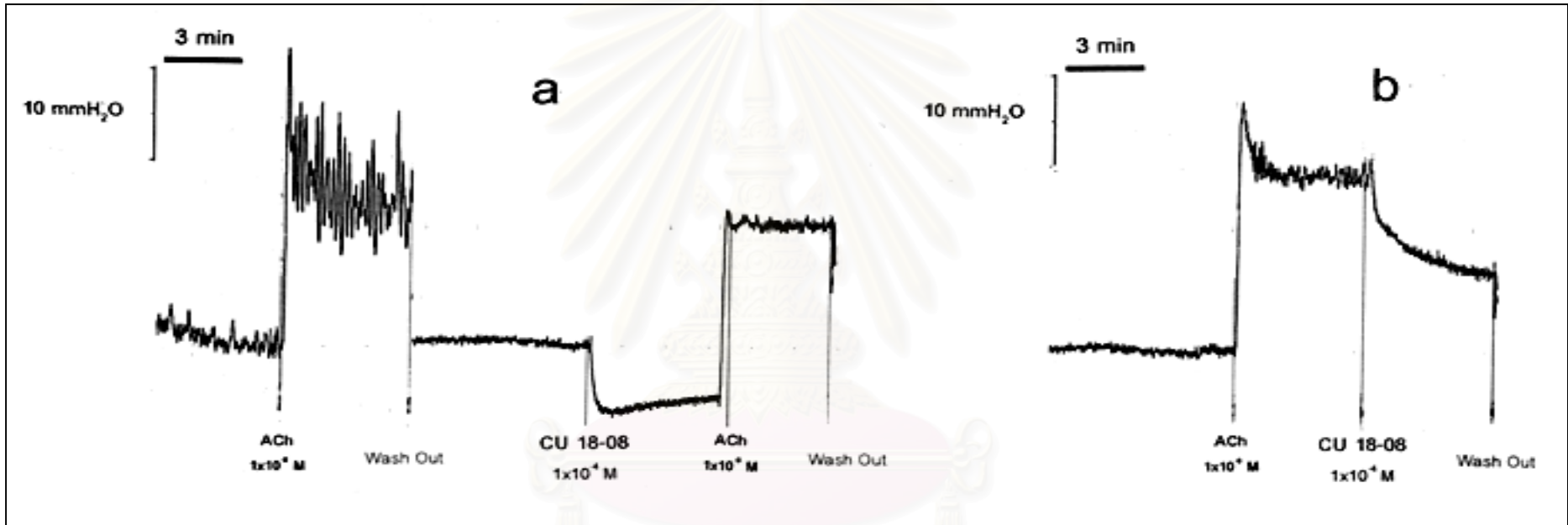
รูปที่ 24 ผลของ DMSO 0.06 % (V/V) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะ เมื่อถูกกระตุ้นด้วย ACh 1 μ M

- ได้รับ DMSO ก่อนกระตุ้นให้เกิดการหดตัว
- ได้รับ DMSO อย่างต่อเนื่องทุก 5 นาทีหลังกระตุ้นให้เกิดการหดตัว



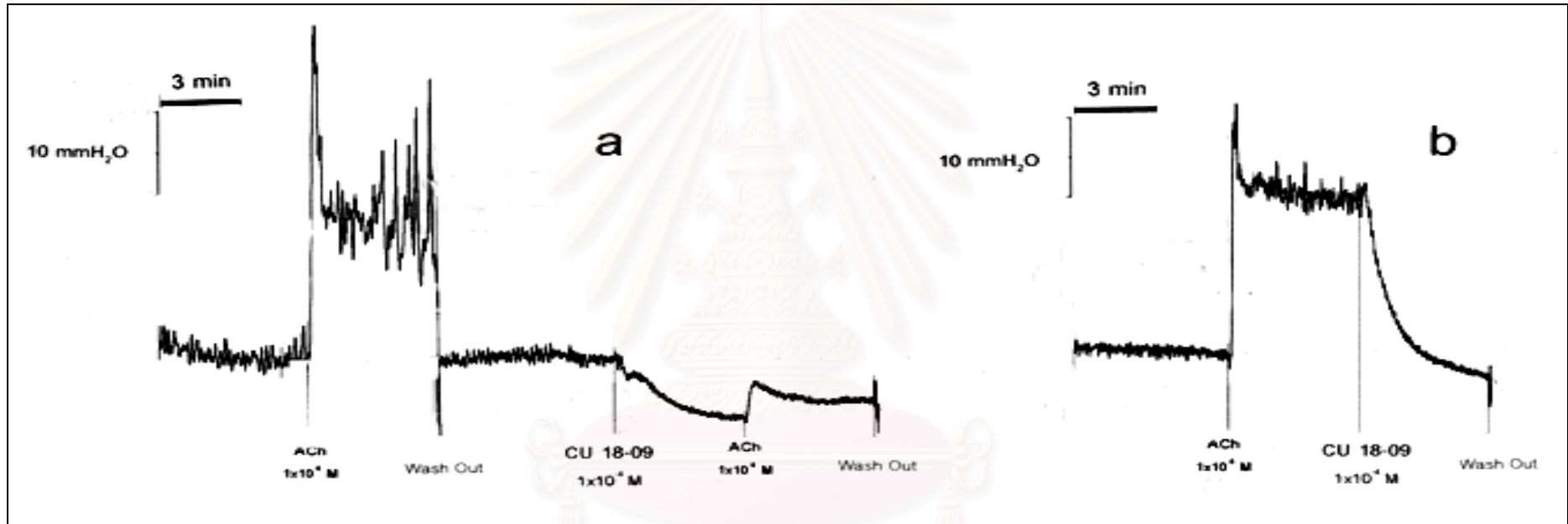
รูปที่ 25 ผลของ CU18-07 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย ACh 1 μ M

- ผลของ CU18-07 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM เมื่อให้ก่อนการกระตุ้นเป็นเวลา 5 นาที
- ผลของ CU18-07 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM เมื่อให้หลังการกระตุ้นเป็นเวลา 5 นาที



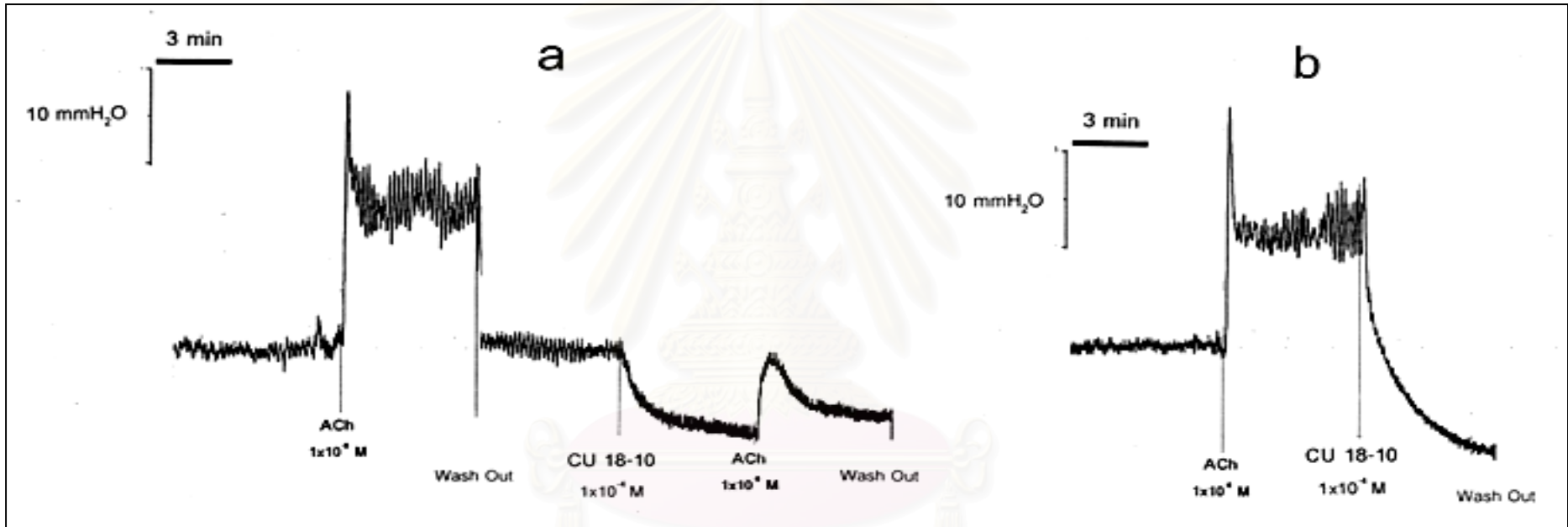
รูปที่ 26 ผลของ CU18-08 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย ACh 1 μ M

- ผลของ CU18-08 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM เมื่อให้ก่อนการกระตุ้นเป็นเวลา 5 นาที
- ผลของ CU18-08 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM เมื่อให้หลังการกระตุ้นเป็นเวลา 5 นาที



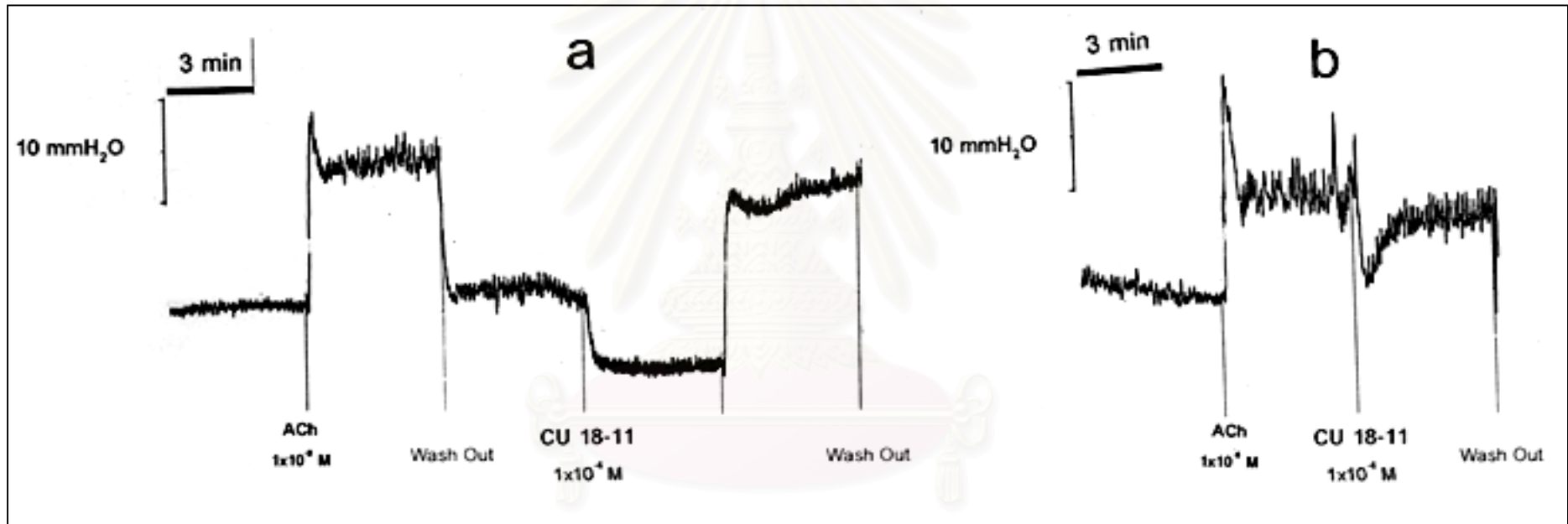
รูปที่ 27 ผลของ CU18-09 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย ACh 1 μ M

- ผลของ CU18-09 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM เมื่อให้ก่อนการกระตุ้นเป็นเวลา 5 นาที
- ผลของ CU18-09 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM เมื่อให้หลังการกระตุ้นเป็นเวลา 5 นาที



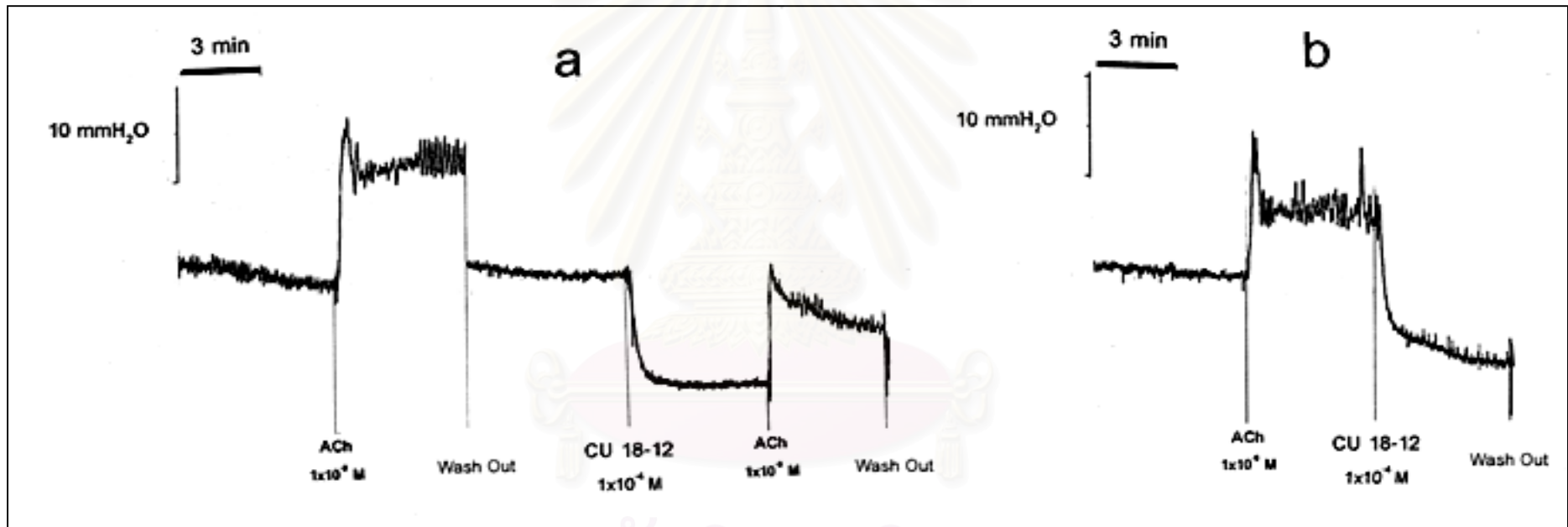
รูปที่ 28 ผลของ CU18-10 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย ACh 1 μ M

- ผลของ CU18-10 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM เมื่อให้ก่อนการกระตุ้นเป็นเวลา 5 นาที
- ผลของ CU18-10 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM เมื่อให้หลังการกระตุ้นเป็นเวลา 5 นาที



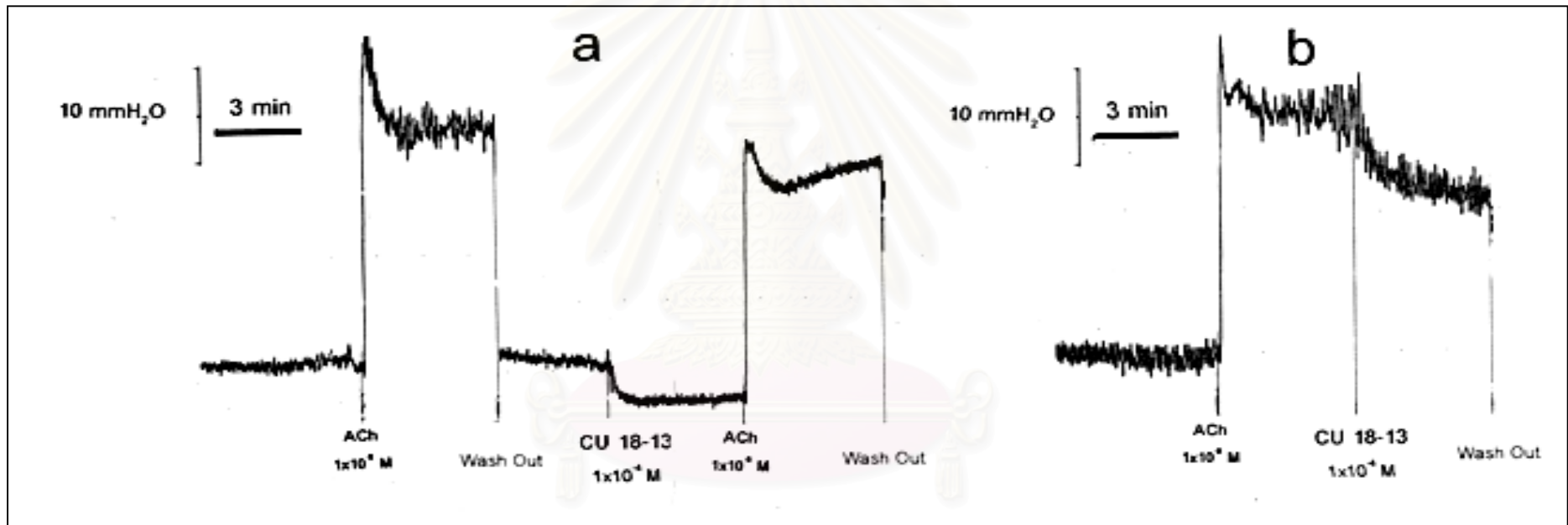
รูปที่ 29 ผลของ CU18-11 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย ACh 1 μ M

- ผลของ CU18-11 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM เมื่อให้ก่อนการกระตุ้นเป็นเวลา 5 นาที
- ผลของ CU18-11 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM เมื่อให้หลังการกระตุ้นเป็นเวลา 5 นาที



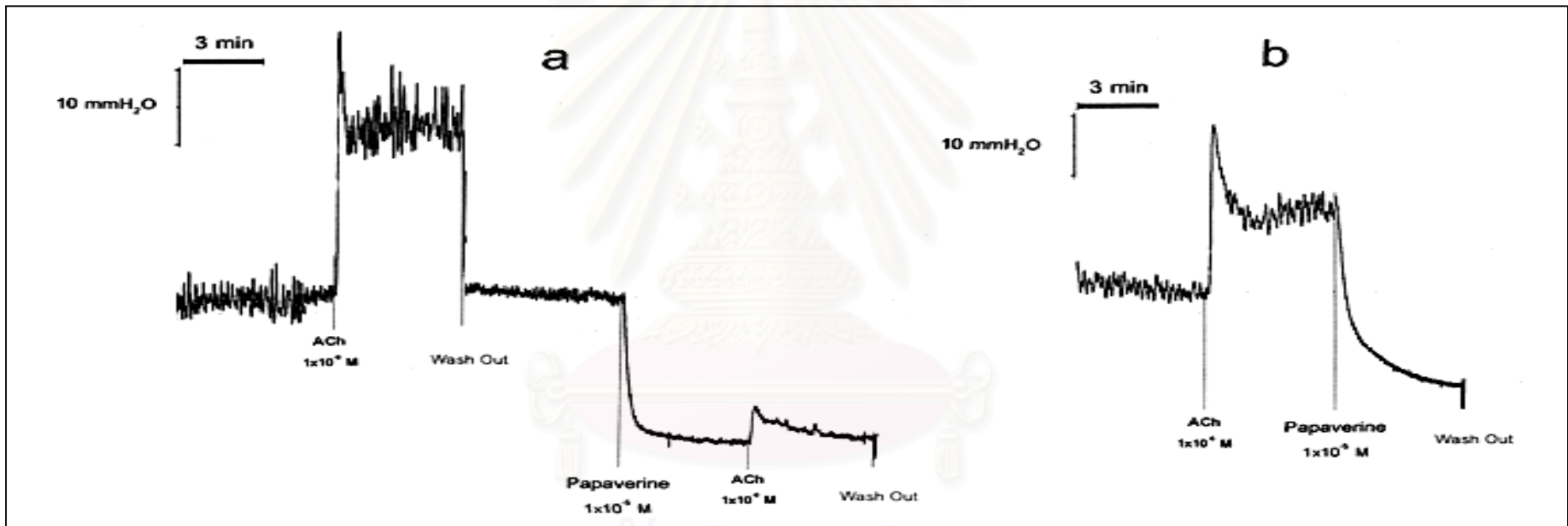
รูปที่ 30 ผลของ CU18-12 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย ACh 1 μ M

- ผลของ CU18-12 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM เมื่อให้ก่อนการกระตุ้นเป็นเวลา 5 นาที
- ผลของ CU18-12 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM เมื่อให้หลังการกระตุ้นเป็นเวลา 5 นาที



รูปที่ 31 ผลของ CU18-13 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย ACh 1 μ M

- ผลของ CU18-13 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM เมื่อให้ก่อนการกระตุ้นเป็นเวลา 5 นาที
- ผลของ CU18-13 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM เมื่อให้หลังการกระตุ้นเป็นเวลา 5 นาที



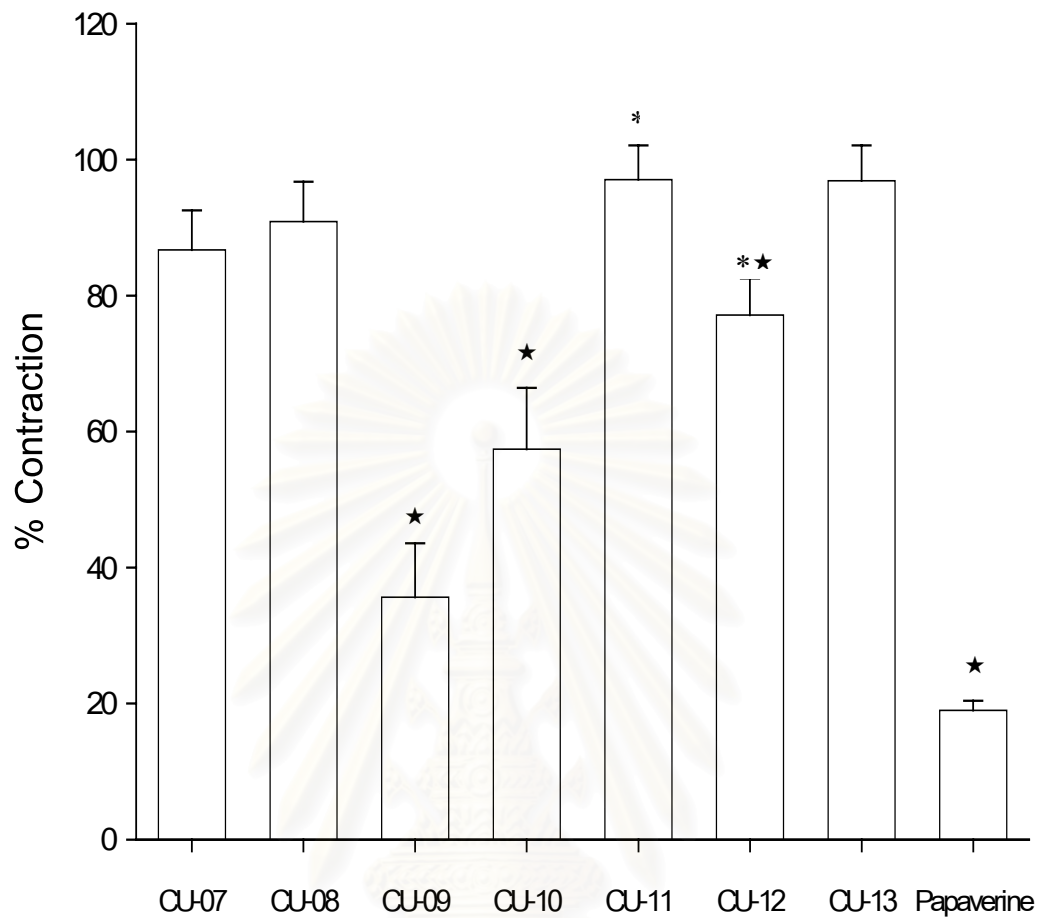
รูปที่ 32 ผลของ Papaverine ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย ACh 1 μ M

- ผลของ Papaverine ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM เมื่อให้ก่อนการกระตุ้นเป็นเวลา 5 นาที
- ผลของ Papaverine ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM เมื่อให้หลังการกระตุ้นเป็นเวลา 5 นาที

สารสังเคราะห์	ผลของสารสังเคราะห์			
	ได้รับสารสังเคราะห์ก่อนสารกระตุ้น			ได้รับสารสังเคราะห์ก่อนสารกระตุ้น
	% Phasic contraction	% Tonic contraction	% การเปลี่ยนแปลง ของ base line	% Relaxation
CU18-07	86.72 ± 5.83 [*]	97.33 ± 10.33	(+)32.58 ± 4.6 [★]	9.91 ± 4.19
CU18-08	90.89 ± 5.84 ^{★*}	139.17 ± 9.10	32.24 ± 3.28 [★]	21.66 ± 8.07
CU18-09	35.65 ± 7.93 [★]	21.80 ± 5.22 [★]	38.16 ± 4.21 [★]	70.22 ± 9.68 [★]
CU18-10	57.44 ± 9.01 [★]	45.09 ± 10.24 [★]	51.63 ± 6.71 [★]	64.06 ± 13.18 [★]
CU18-11	97.07 ± 5.02 ^{★*}	122.20 ± 6.98 [*]	32.83 ± 5.59 [★]	17.99 ± 7.86
CU18-12	77.13 ± 5.40 ^{★*}	44.56 ± 6.98 ^{★*}	59.59 ± 9.96 [★]	96.49 ± 9.40 [★]
CU18-13	96.88 ± 5.21	115.36 ± 8.62	25.88 ± 5.22 [★]	24.90 ± 1.12
Papaverine	18.97 ± 1.43 [★]	11.60 ± 4.53 [★]	71.98 ± 8.80 [★]	120.58 ± 15.33 [★]

ตารางที่ 2 ผลการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะ จากการกระตุ้นด้วย ACh 1 μM

- ★ แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์ ($p < 0.05$) โดยการทดสอบทางสถิติแบบ paired t -test
- * แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของสารที่มีหมู่แทนที่เหมือนกัน แต่แทนที่ในตำแหน่ง meta และ para ($p < 0.05$) โดยการทดสอบทางสถิติแบบ independent paired t -test

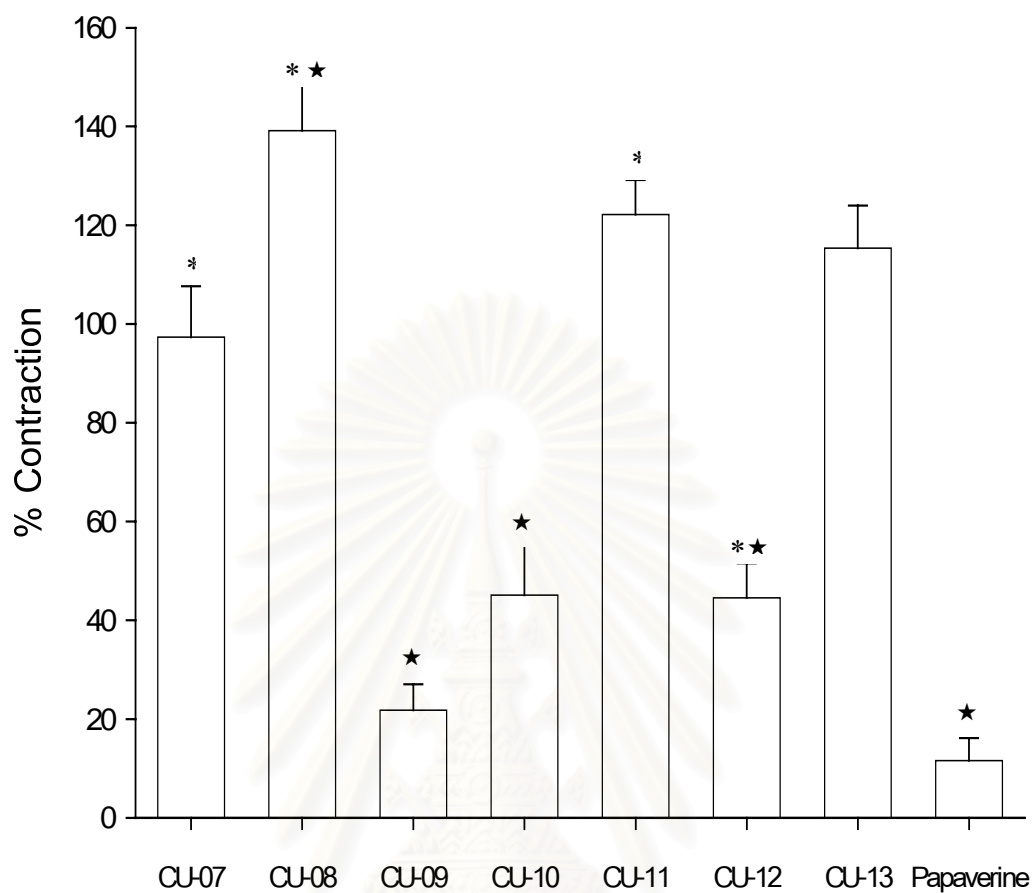


รูปที่ 33 กราฟระหว่างผลของสารสังเคราะห์ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ กระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักรในส่วน Phasic Contraction เมื่อถูกกระตุ้นด้วย ACh 1 μ M (n=6)

แสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

★ แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์ ($p < 0.05$) โดยการทดสอบทางสถิติแบบ paired t - test

* แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของสารที่มีหมู่แทนที่เหมือนกัน แต่แทนที่ในตำแหน่ง meta และ para ($p < 0.05$) โดยการทดสอบทางสถิติแบบ independent paired t - test



รูปที่ 34 กราฟระหว่างผลของสารสังเคราะห์ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ กระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูกีบจักร ในส่วน Tonic Contraction เมื่อถูกกระตุ้นด้วย ACh 1 μ M (n=6)

แสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

★ แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์ ($p < 0.05$) โดยการทดสอบทางสถิติแบบ paired t - test

‡ แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของสารที่มีหมู่แทนที่เหมือนกัน แต่แทนที่ในตำแหน่ง meta และ para ($p < 0.05$) โดยการทดสอบทางสถิติแบบ independent paired t - test

1.3 ผลของสารสังเคราะห์ และ papaverine ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ กระเพาะอาหารที่แยกจากหนูถีบจักรเมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM

KCl กระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักร ในสภาวะที่ปราศจากสารสังเคราะห์ พบว่ากล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารเกิดการหดตัวอย่างรวดเร็วแบบ phasic contraction หลังจากนั้นแรงหดตัวลดลงอย่างรวดเร็วโดยมีลักษณะเป็น tonic contraction เมื่อเวลาผ่านไปประมาณ 3 นาที tone ของ tonic contraction จะเริ่มคงที่และคงอยู่ตลอดระยะเวลา 15 นาที ที่ทำการบันทึกผลการทดลอง ดังแสดงในรูปที่ 35 โดยในส่วนของ phasic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $21.53 \pm 1.54 \text{ mmHg}$ และในส่วน tonic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $16.03 \pm 1.30 \text{ mmHg}$ การวัดผลการทดลองในสภาวะที่ได้รับสารสังเคราะห์ ก่อนสารกระตุ้น จะทำการวัดผลในส่วนของ %phasic contraction %tonic contraction และ %การเปลี่ยนแปลงของ base line โดย %phasic contraction และ %tonic contraction จะทำการเปรียบเทียบแรงหดตัวในส่วน phasic และ tonic contraction ระหว่างก่อนได้รับสารสังเคราะห์กับแรงหดตัวในส่วน phasic และ tonic contraction ที่เหลืออยู่หลังได้รับสารสังเคราะห์ ใช้วิธีการคิดคำนวณให้แรงหดตัวของแต่ละส่วนในขณะที่ยังไม่ได้รับสารสังเคราะห์ มี maximum contraction เป็น 100% ซึ่งจะนำไปใช้เปรียบเทียบกับแรงหดตัวที่เกิดขึ้นหลังได้รับสารสังเคราะห์ ส่วน %การเปลี่ยนแปลงของ base line จะทำการวัดผลของสารสังเคราะห์ต่อกล้ามเนื้อเรียบในสภาวะที่ปราศจากสารกระตุ้น โดยเปรียบเทียบแรงหดตัวในส่วน phasic contraction ระหว่างก่อนได้รับสารสังเคราะห์กับแรงหดหรือคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่เกิดขึ้นหลังได้รับสารสังเคราะห์ ใช้วิธีการคิดคำนวณให้แรงหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในส่วน phasic contraction ในขณะที่ยังไม่ได้รับสารสังเคราะห์มี maximum contraction เป็น 100% ซึ่งจะนำไปใช้เปรียบเทียบกับแรงหดตัวหรือคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่เกิดขึ้นหลังได้รับสารสังเคราะห์ ส่วนในสภาวะที่ได้รับสารกระตุ้นก่อนสารสังเคราะห์จะวัดผล %relaxation โดยเปรียบเทียบแรงหดตัวในส่วน phasic contraction ระหว่างก่อนได้รับสารสังเคราะห์กับการคลายตัวหลังได้รับสารสังเคราะห์ ใช้วิธีการคิดคำนวณให้แรงหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบส่วน phasic contraction ในขณะที่ยังไม่ได้รับสารสังเคราะห์มี maximum contraction เป็น 100% ซึ่งจะนำไปใช้เปรียบเทียบกับแรงหดตัวที่เกิดขึ้นหลังได้รับสารสังเคราะห์เป็นเวลา 5 นาที

ผลของ DMSO 0.06 % v/v ซึ่งให้ก่อน KCl พบว่ากล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารยังคงเกิดการหดตัวแบบ phasic และ tonic contraction โดยมีลักษณะที่ไม่แตกต่างจากก่อนได้รับ DMSO ดังแสดงในรูปที่ 36a และเมื่อกระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารเกิดการหดตัวก่อน จากนั้น

จึงให้ DMSO พบว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารยังคงมีลักษณะเหมือนเดิมไม่แตกต่างจากหลังได้รับ DMSO ดังแสดงในรูปที่ 36b

ผลของ CU18-07 ในสภาวะที่ได้รับสารสังเคราะห์ก่อนได้รับสารกระตุ้น พบว่าในช่วงแรก สารสังเคราะห์จะกระตุ้นให้เกิดการหดตัวแบบ phasic contraction เกิดขึ้นและลดลงอย่างรวดเร็ว โดยแรงหดตัวที่เกิดขึ้นมีค่าเฉลี่ย $56.64 \pm 8.97\%$ (n=6) จากนั้นเมื่อกระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหดตัวด้วย KCl พบว่ากล้ามเนื้อเรียบยังคงเกิดการหดตัวแบบ phasic contraction โดยมีแรงหดตัวเพิ่มขึ้นจากเดิมเล็กน้อย และในส่วน tonic contraction พบว่า tone ในการหดตัวลดลงจากเดิมเล็กน้อย ดังแสดงในรูปที่ 37a โดยแรงหดตัวส่วน phasic contraction ที่เกิดขึ้นเฉลี่ยเท่ากับ $110.92 \pm 7.262\%$ (n=6) และส่วน tonic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $82.82 \pm 7.53\%$ (n=6) ดังกราฟรูปที่ 45 และ 46 ตามลำดับ ซึ่งแรงทั้ง 2 ส่วน แตกต่างจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อกระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบมีการหดตัวด้วย KCl 40 mM เป็นเวลา 5 นาที ก่อนให้สารสังเคราะห์ พบว่าสามารถลดการหดตัวที่เกิดขึ้นของกล้ามเนื้อเรียบได้เล็กน้อย ดังแสดงในรูปที่ 37b โดยลดความแรงของการหดตัวได้เฉลี่ย $25.16 \pm 4.76\%$ (n=4) ซึ่งลดลงจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ผลของ CU18-08 ในสภาวะที่ได้รับสารสังเคราะห์ก่อนได้รับสารกระตุ้น พบว่าสารสังเคราะห์สามารถลดความตึงตัวของกระเพาะอาหารอย่างชัดเจน ทำให้ base line เลื่อนลงจากสภาวะเริ่มต้น โดยทำให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารคลายตัวเฉลี่ยเท่ากับ $31.30 \pm 4.96\%$ (n=6) จากนั้นเมื่อกระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหดตัวด้วย KCl พบว่าสารสังเคราะห์สามารถลดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งในส่วน phasic contraction และ tonic contraction ได้เล็กน้อยดังแสดงในรูปที่ 38a โดยแรงหดตัวในส่วน phasic contraction ที่เกิดขึ้นมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $82.24 \pm 7.96\%$ (n=6) และ tonic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $89.72 \pm 9.49\%$ (n=6) ดังแสดงในกราฟรูปที่ 45 และ 46 ตามลำดับ ซึ่งแรงในการหดตัวทั้ง 2 ส่วน แตกต่างจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนในสภาวะที่กระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหดตัวด้วย KCl ก่อนให้สารสังเคราะห์ พบว่าสารสังเคราะห์สามารถลดการหดตัวที่เกิดขึ้นของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารได้อย่างชัดเจน ดังแสดงในรูปที่ 38b โดยมีการคลายตัวเฉลี่ยเท่ากับ $52.54 \pm 7.03\%$ (n=4) ซึ่งลดลงจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ผลของ CU18-09 ในสภาวะที่ได้รับสารสังเคราะห์ก่อนได้รับสารกระตุ้น พบว่าสารสังเคราะห์สามารถลดความตึงตัวของกระเพาะอาหารได้มาก ทำให้ base line เลื่อนลงจากตอน

เริ่มต้นมาก โดยทำให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารคลายตัวเฉลี่ยเท่ากับ $33.74 \pm 7.34\%$ (n=6) จากนั้นเมื่อกระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหดตัวด้วย KCl พบว่ากล้ามเนื้อเรียบถูกยับยั้งการหดตัวทั้งในส่วน phasic และ tonic contraction อย่างชัดเจน โดยจะเห็นว่ามี tone ในการหดตัวเพียงเล็กน้อย และระดับสูงสุดในการหดตัวยังต่ำกว่าระดับ base line ในตอนเริ่มต้น ส่วน tonic contraction จะมีความแรงและความถี่ลดลงอย่างชัดเจน และช่วงในการหดและคลายตัวลดลงมาก ดังแสดงในรูปที่ 39a โดยแรงหดตัวในส่วน phasic contraction ที่เกิดขึ้นมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $30.45 \pm 4.62\%$ (n=6) และส่วน tonic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $25.70 \pm 6.91\%$ (n=6) ดังที่แสดงในกราฟรูปที่ 45 และ 46 ตามลำดับ ซึ่งแรงหดตัวทั้ง 2 ส่วนลดลงจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนในสถานะที่กระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหดตัวด้วย KCl ก่อนให้สารสังเคราะห์ พบว่าสารสังเคราะห์สามารถลดการหดตัวที่เกิดขึ้นได้อย่างชัดเจน ดังแสดงในรูปที่ 39b โดยมีการคลายตัวเฉลี่ยเท่ากับ $63.71 \pm 6.50\%$ (n=4) ซึ่งแตกต่างจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ผลของ CU18-10 ในสถานะที่ได้รับสารสังเคราะห์ก่อนได้รับสารกระตุ้น พบว่าสารสังเคราะห์สามารถลดความตึงตัวของกระเพาะอาหารทำให้ base line เลื่อนลงจากตอนก่อนได้รับสารสังเคราะห์ ทำให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารคลายตัวได้เฉลี่ยเท่ากับ $57.69 \pm 9.62\%$ (n=6) จากนั้นเมื่อกระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหดตัวด้วย KCl พบว่าสารสังเคราะห์มีผลต่อกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารเหมือน CU18-09 คือสามารถยับยั้งแรงหดตัวทั้งในส่วน phasic และ tonic contraction อย่างชัดเจนดังแสดงในรูปที่ 40a โดยแรงหดตัวส่วน phasic contraction มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $28.67 \pm 3.26\%$ (n=6) และส่วน tonic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $35.90 \pm 5.99\%$ (n=6) ดังแสดงในกราฟรูปที่ 45 และ 46 ตามลำดับ ซึ่งแรงหดตัวทั้ง 2 ส่วนลดลงจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนในสถานะที่กระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหดตัวด้วย KCl ก่อนให้สารสังเคราะห์ พบว่าสารสังเคราะห์สามารถลดการหดตัวที่เกิดขึ้นได้อย่างชัดเจน ดังแสดงในรูปที่ 40b โดยมีการคลายตัวเฉลี่ยเท่ากับ $71.30 \pm 10.59\%$ (n=4) ซึ่งแตกต่างจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ผลของ CU18-11 ในสถานะที่ได้รับสารสังเคราะห์ก่อนได้รับสารกระตุ้น พบว่าสารสังเคราะห์สามารถลดความตึงตัวของกระเพาะอาหารได้อย่างชัดเจนทำให้ base line เลื่อนลงจากตอนเริ่มต้น โดยทำให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารคลายตัวเฉลี่ยเท่ากับ $41.15 \pm 6.58\%$ (n=6) จากนั้นเมื่อกระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหดตัวด้วย KCl พบว่าการหดตัวในส่วน phasic contraction ยังคงมีลักษณะไม่แตกต่างจากเดิม แต่การหดตัวในส่วน tonic contraction

มีความแรงในการหดตัวเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ดังแสดงในรูปที่ 41a โดยแรงหดตัวในส่วน phasic contraction ที่เกิดขึ้นมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $98.39 \pm 7.37\%$ (n=6) และในส่วน tonic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $112.95 \pm 5.36\%$ (n=6) ดังแสดงในกราฟรูปที่ 45 และ 46 ตามลำดับ ซึ่งแรงหดตัวในส่วน phasic contraction มีแนวโน้มลดลงเล็กน้อย ขณะที่ในส่วน tonic contraction เพิ่มขึ้นจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนในสภาวะที่กระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหดตัวด้วย KCl ก่อนให้สารสังเคราะห์ พบว่าสารสังเคราะห์สามารถลดแรงหดตัวที่เกิดขึ้น แต่เพิ่มความถี่ในการหดและคลายตัว ดังแสดงในรูปที่ 41b โดยมีการคลายตัวเฉลี่ยเท่ากับ $26.68 \pm 3.93\%$ (n=4) ซึ่งแตกต่างจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ผลของ CU18-12 ในสภาวะที่ได้รับสารสังเคราะห์ก่อนได้รับสารกระตุ้น พบว่าสารสังเคราะห์สามารถลดความตึงตัวของกระเพาะอาหารได้อย่างชัดเจนทำให้ base line เลื่อนระดับลงจากตอนเริ่มต้น โดยทำให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะคลายตัวเฉลี่ยเท่ากับ $65.23 \pm 10.44\%$ (n=6) จากนั้นเมื่อกระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหดตัวด้วย KCl พบว่าแรงหดตัวในส่วน phasic และ tonic contraction ลดลง ซึ่งเห็นได้ค่อนข้างชัดเจน ดังแสดงในรูปที่ 42a โดยมีแรงหดตัวในส่วน phasic contraction ที่เกิดขึ้นมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $79.47 \pm 8.63\%$ (n=6) และในส่วน tonic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $42.54 \pm 8.62\%$ (n=6) ดังแสดงในกราฟรูปที่ 45 และ 46 ตามลำดับ ซึ่งมีเพียงแรงหดตัวส่วน tonic contraction เท่านั้นที่ลดลงจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนในสภาวะที่กระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหดตัวด้วย KCl ก่อนให้สารสังเคราะห์ พบว่าสามารถลดความแรงของการหดตัวที่เกิดขึ้นได้ ดังแสดงในรูปที่ 42b โดยมีการคลายตัวเฉลี่ยเท่ากับ $73.48 \pm 13.89\%$ (n=4) ซึ่งแตกต่างจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

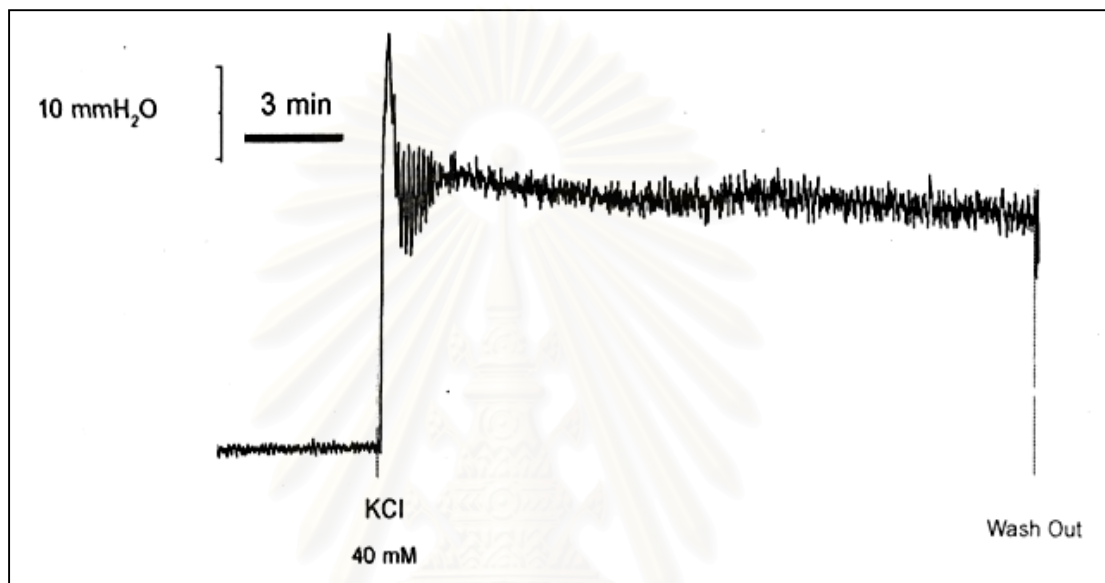
ผลของ CU18-13 ในสภาวะที่ได้รับสารสังเคราะห์ก่อนได้รับสารกระตุ้น พบว่าสารสังเคราะห์สามารถลดความตึงตัวของกระเพาะอาหารได้เล็กน้อย ซึ่งมีผลทำให้ base line เลื่อนลงจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์ โดยมีผลทำให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารคลายตัวเฉลี่ยเท่ากับ $27.44 \pm 3.95\%$ (n=6) จากนั้นเมื่อกระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหดตัวด้วย KCl พบว่าการหดตัวในส่วน phasic contraction เพิ่มขึ้นเล็กน้อย ในขณะที่ tonic contraction แรงในการหดตัวลดลง ดังแสดงในรูปที่ 43a โดยแรงหดตัวในส่วน phasic contraction ที่เกิดขึ้นเฉลี่ยเท่ากับ $113.05 \pm 13.03\%$ (n=6) และ tonic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $82.59 \pm 9.84\%$ ดังแสดงในกราฟรูปที่ 45 และ 46 ตามลำดับ ซึ่งแรงหดตัวในส่วน phasic contraction มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ในขณะที่แรงหดตัวในส่วน tonic contraction ลดลงจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์ โดยแรง

หัตถ์ทั้ง 2 ส่วนมีการเปลี่ยนแปลงแตกต่างจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนในสภาวะที่กระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหดตัวด้วย KCl ก่อนให้สารสังเคราะห์ พบว่าสามารถลดแรงหดตัวที่เกิดขึ้นได้ ดังแสดงในรูปที่ 43b โดยมีการคลายตัวเฉลี่ยเท่ากับ $13.51 \pm 0.83\%$ ($n=4$) ซึ่งแตกต่างจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ผลของ papaverine ในสภาวะที่ได้รับสารสังเคราะห์ก่อนได้รับสารกระตุ้น พบว่าสารสังเคราะห์สามารถลดความตึงตัวของกระเพาะอาหารได้มาก ทำให้ base line เลื่อนลงต่ำจากตอนเริ่มต้นมาก โดยทำให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารคลายตัวเฉลี่ยเท่ากับ $59.02 \pm 9.92\%$ ($n=6$) จากนั้นเมื่อกระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหดตัวด้วย KCl พบว่าการหดตัวในส่วน phasic และ tonic contraction มีแรงหดตัวลดลงจากเดิมอย่างเห็นได้ชัด จนไม่สามารถกระตุ้นให้ถึง base line ในตอนเริ่มต้นได้ ดังแสดงในรูปที่ 44a โดยแรงหดตัวส่วน phasic contraction ที่เกิดขึ้นมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $12.63 \pm 1.27\%$ ($n=6$) และส่วน tonic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $15.55 \pm 2.60\%$ ($n=6$) ดังแสดงในกราฟรูปที่ 45 และ 46 ตามลำดับ ซึ่งแรงหดตัวทั้ง 2 ส่วนลดลงจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนในสภาวะที่กระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหดตัวด้วย KCl ก่อนให้สารสังเคราะห์ พบว่าสามารถลดแรงหดตัวที่เกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็วและชัดเจน ดังแสดงในรูปที่ 44b โดยมีการคลายตัวเฉลี่ยเท่ากับ $142.46 \pm 5.17\%$ ($n=4$) ซึ่งแตกต่างจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

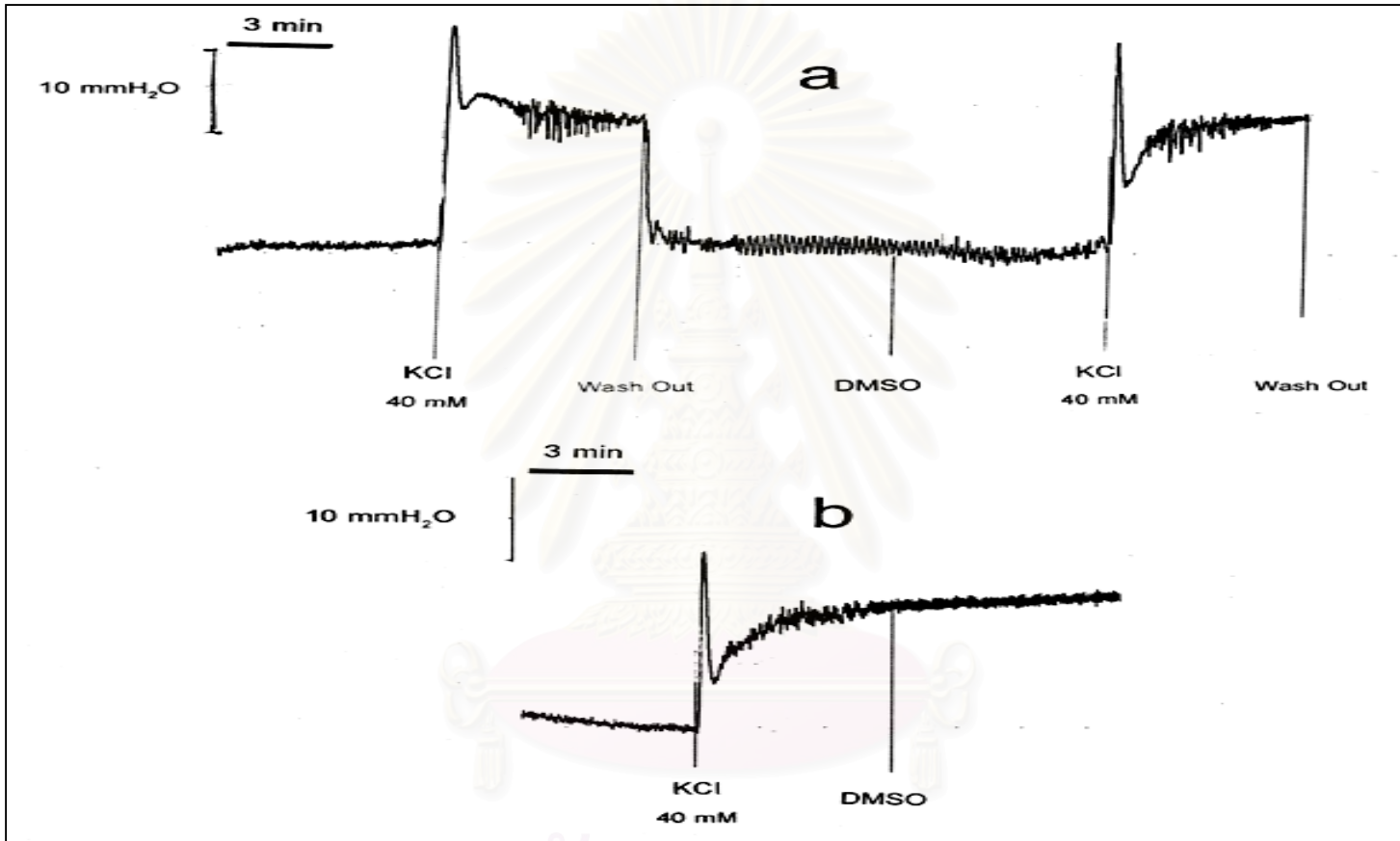
จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า DMSO ซึ่งเป็นตัวทำละลายของสารสังเคราะห์ที่ใช้ในการศึกษานี้ ไม่มีผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารที่แยกจากหนูถีบจักรเมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM และเมื่อเปรียบเทียบผลของสารสังเคราะห์ทั้ง 7 ตัว ในสภาวะที่ได้รับสารสังเคราะห์ก่อนได้รับสารกระตุ้น พบว่า CU18-09, CU18-10 และ papaverine สามารถยับยั้งการหดตัวในส่วน phasic และ tonic contraction ของกล้ามเนื้อเรียบได้ทั้งในสภาวะที่ให้สารสังเคราะห์ก่อนและหลังสารกระตุ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วน CU18-12 สามารถยับยั้งการหดตัวในส่วน tonic contraction ของกล้ามเนื้อเรียบได้ในสภาวะที่ให้สารสังเคราะห์ก่อนสารกระตุ้น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในขณะที่ CU18-07, CU18-08, CU18-11 และ CU18-13 ไม่มีผลต่อการหดตัวทั้งในส่วน phasic และ tonic contraction ของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งในสภาวะที่ให้สารสังเคราะห์ก่อนและหลังสารกระตุ้น ส่วนในสภาวะที่กระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหดตัวด้วย KCl ก่อนให้สารสังเคราะห์ พบว่าสารสังเคราะห์ทุกตัวสามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารที่เกิดขึ้นได้ อย่างมีนัย

สำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังแสดงในกราฟรูปที่ 45 และ 46 ตามลำดับ จากตารางที่ 3 สามารถลำดับความสามารถในการยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารในส่วน phasic contraction ในสถานะที่ได้รับสารสังเคราะห์ก่อนได้รับสารกระตุ้นได้ดังนี้ papaverine > CU18-10 > CU18-09 > CU18-12 > CU18-08 > CU18-11 > CU18-07 > CU18-13



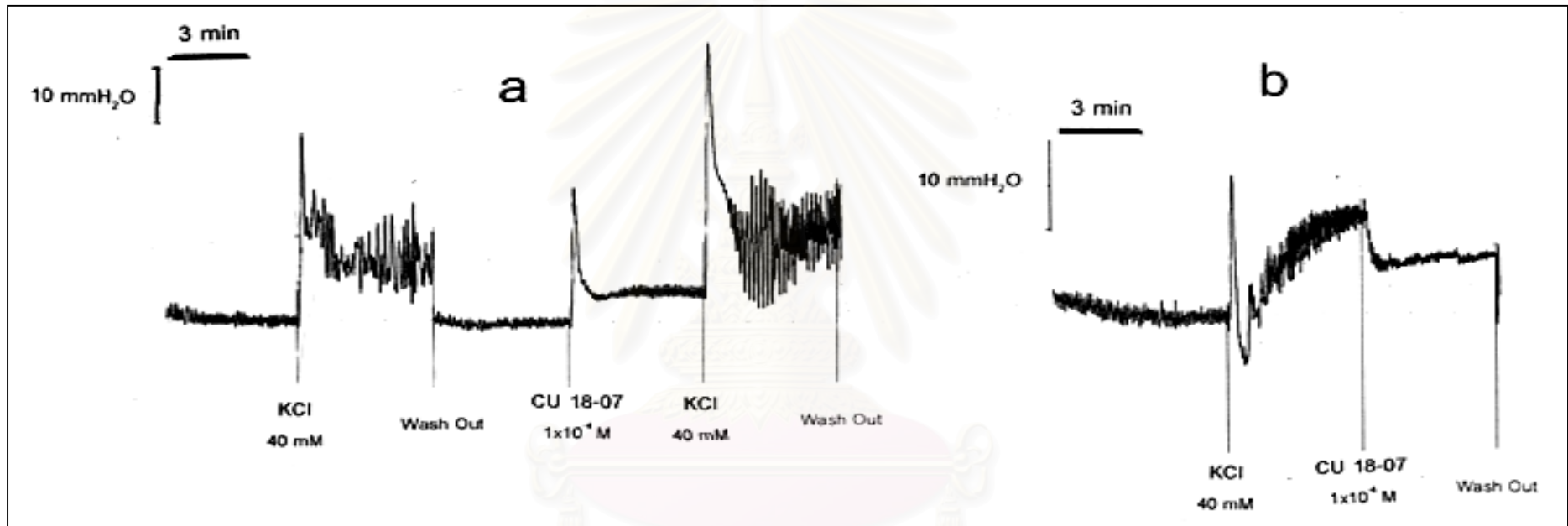
รูปที่ 35 รูปแบบการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะ เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 36 ผลของ DMSO 0.06 % (V/V) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะ เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM

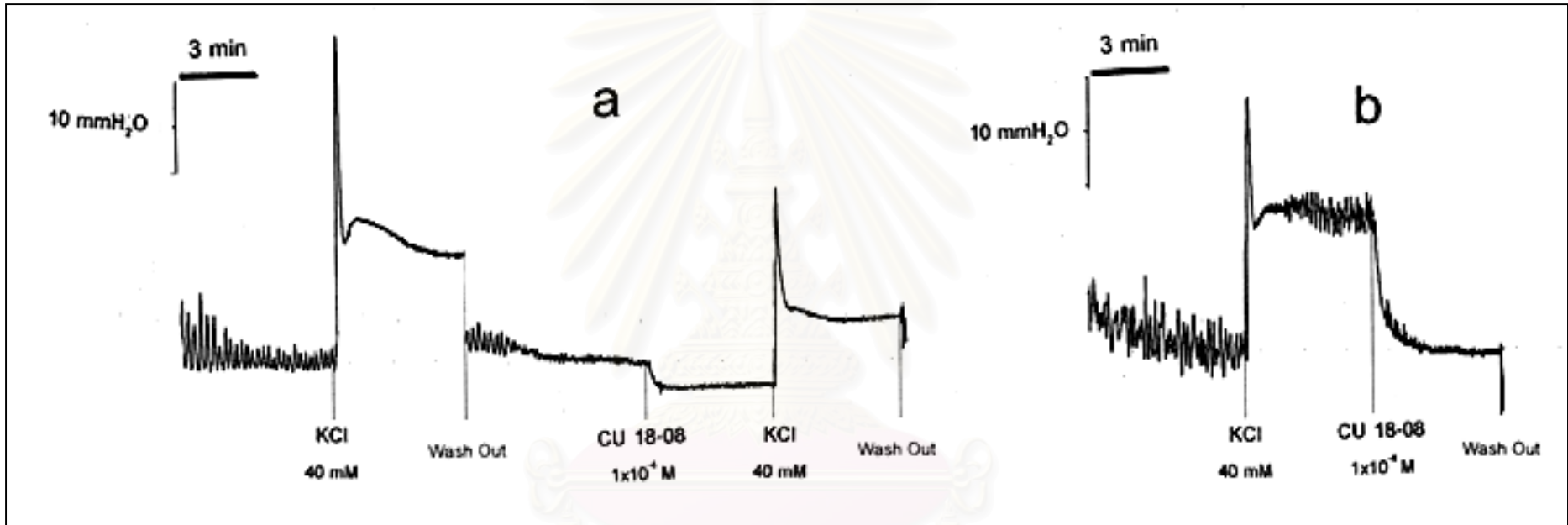
- a. ได้รับ DMSO ก่อนกระตุ้นให้เกิดการหดตัว
- b. ได้รับ DMSO หลังกระตุ้นให้เกิดการหดตัว



รูปที่ 37 ผลของ CU18-07 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM

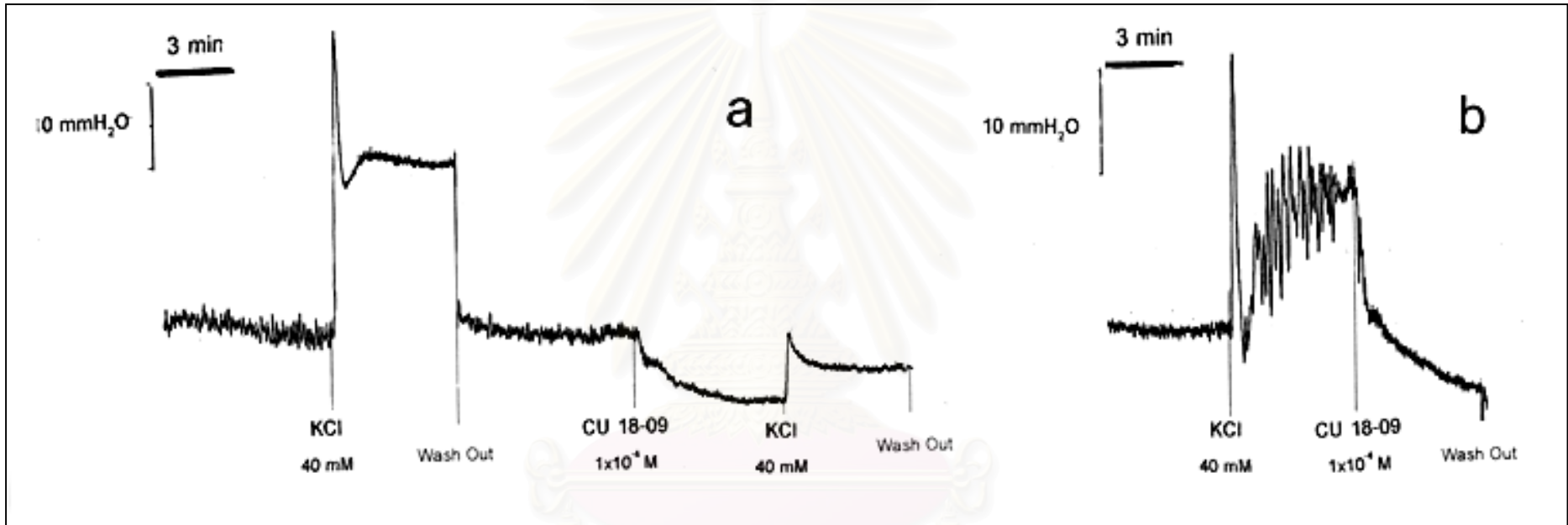
- a. ผลของ CU18-07 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM เมื่อให้ก่อนการกระตุ้นเป็นเวลา 5 นาที
- b. ผลของ CU18-07 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM เมื่อให้หลังการกระตุ้นเป็นเวลา 5 นาที

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



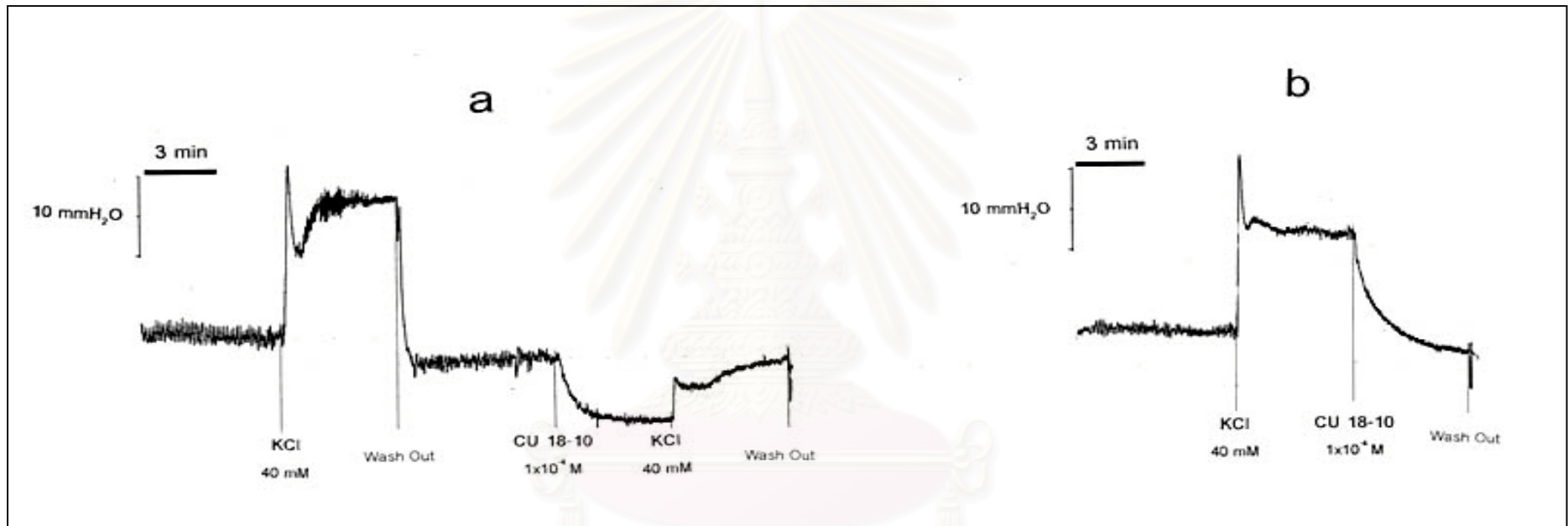
รูปที่ 38 ผลของ CU18-08 ต่อการหดตัวของ กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM

- ผลของ CU18-08 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM เมื่อให้ก่อนการกระตุ้นเป็นเวลา 5 นาที
- ผลของ CU18-08 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM เมื่อให้หลังการกระตุ้นเป็นเวลา 5 นาที



รูปที่ 39 ผลของ CU18-09 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารที่กระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM

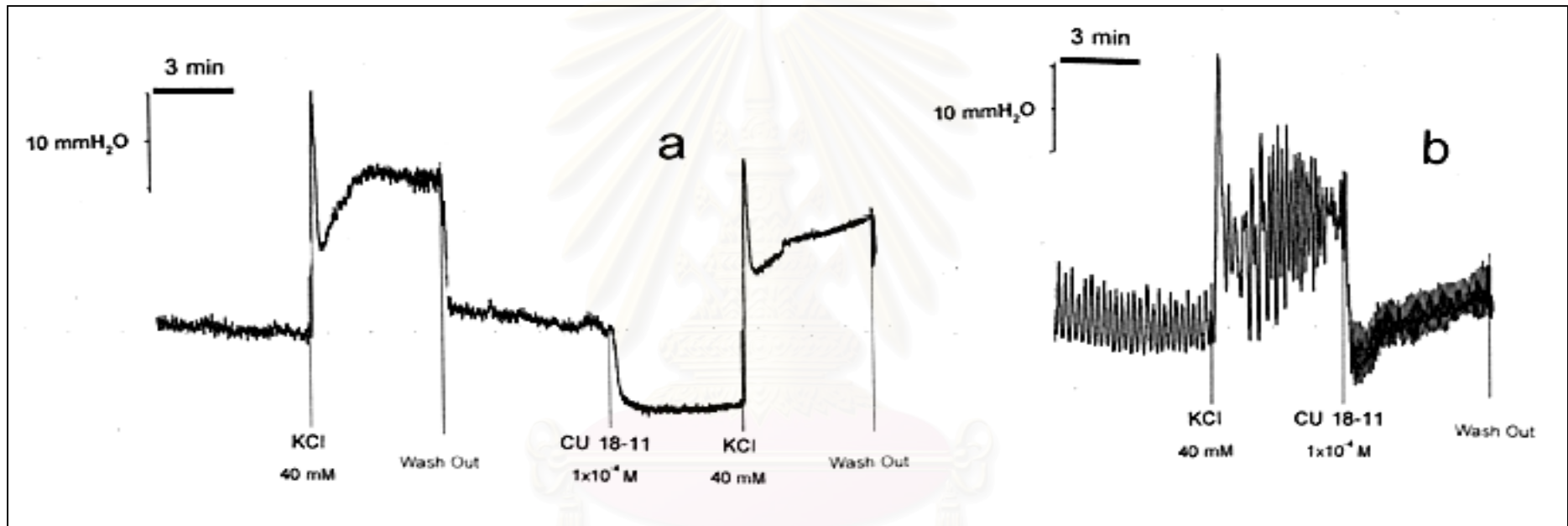
- ผลของ CU18-09 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM เมื่อให้ก่อนการกระตุ้นเป็นเวลา 5 นาที
- ผลของ CU18-09 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM เมื่อให้หลังการกระตุ้นเป็นเวลา 5 นาที



รูปที่ 40 ผลของ CU18-10 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM

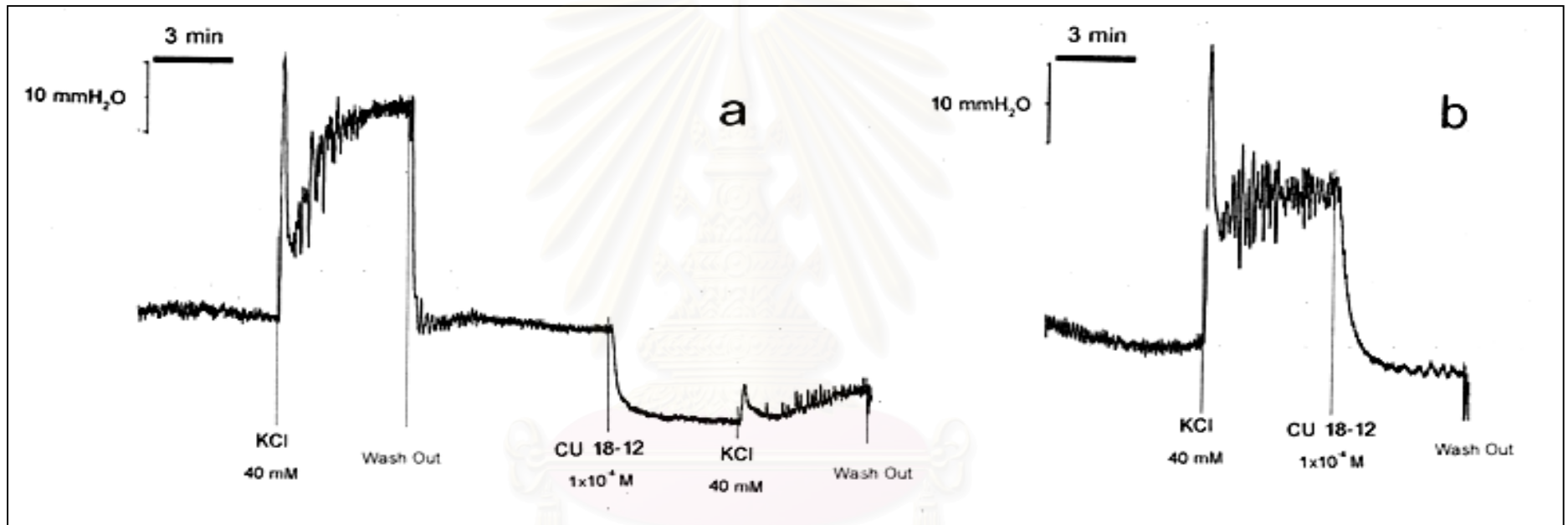
a. ผลของ CU18-10 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM เมื่อให้ก่อนการกระตุ้นเป็นเวลา 5 นาที

b. ผลของ CU18-10 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM เมื่อให้หลังการกระตุ้นเป็นเวลา 5 นาที



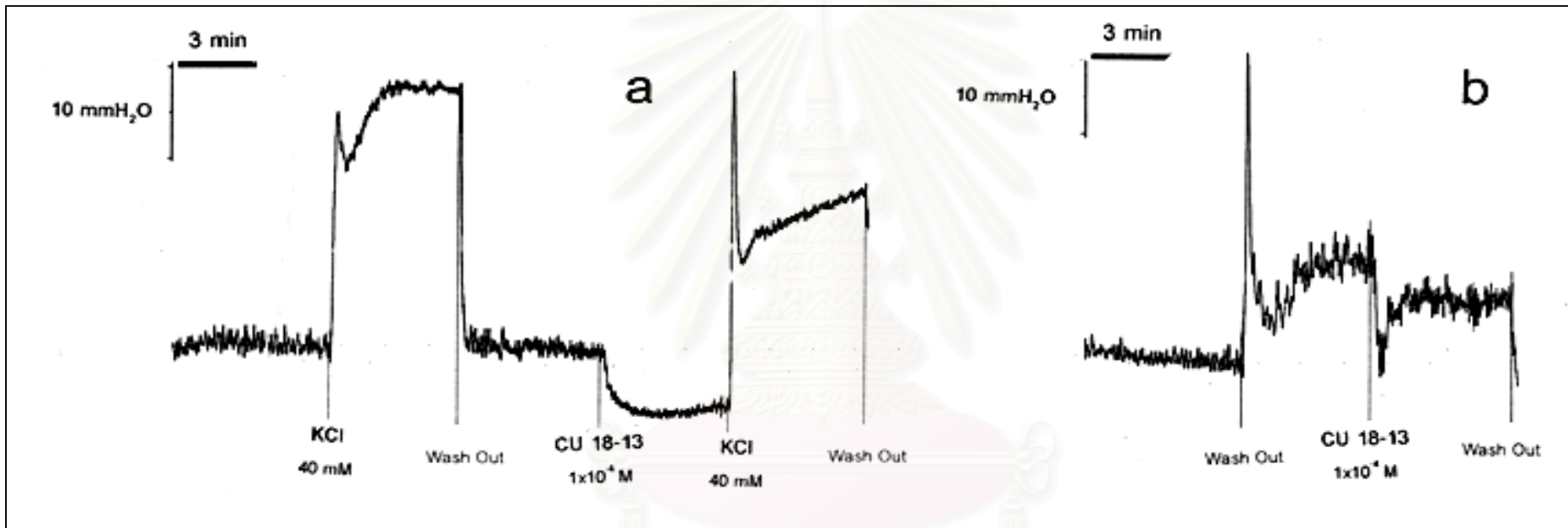
รูปที่ 41 ผลของ CU18-11 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM

- ผลของ CU18-11 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM เมื่อให้ก่อนการกระตุ้นเป็นเวลา 5 นาที
- ผลของ CU18-11 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM เมื่อให้หลังการกระตุ้นเป็นเวลา 5 นาที



รูปที่ 42 ผลของ CU18-12 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM

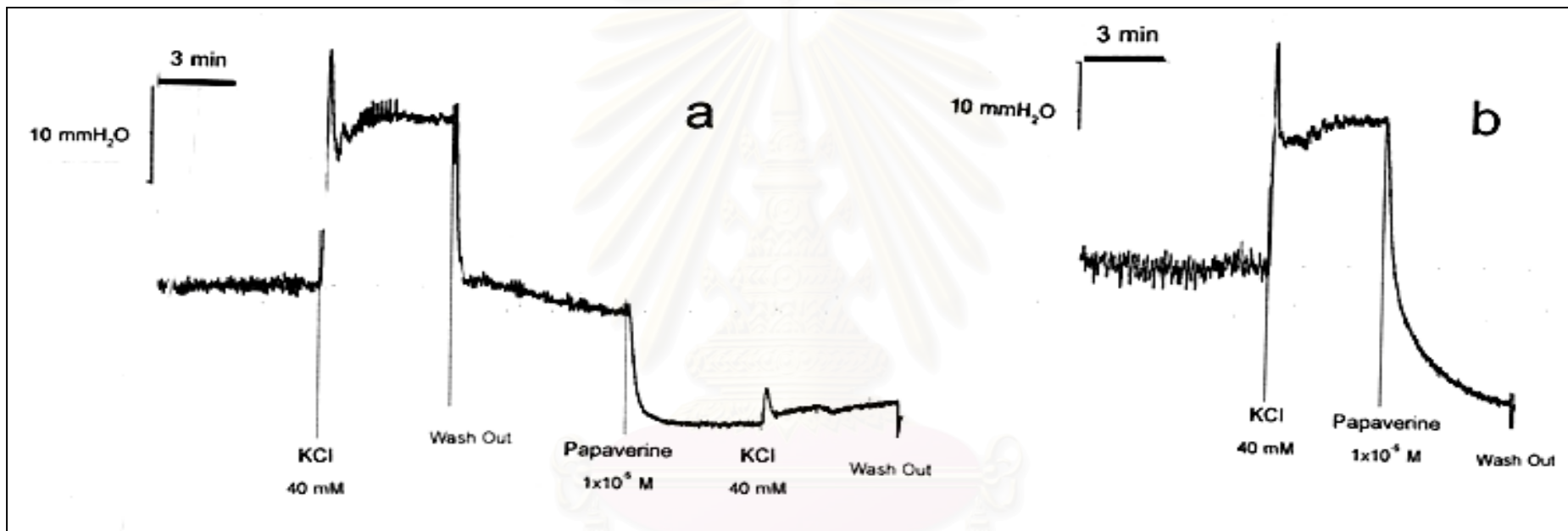
- ผลของ CU18-12 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM เมื่อให้ก่อนการกระตุ้นเป็นเวลา 5 นาที
- ผลของ CU18-12 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM เมื่อให้หลังการกระตุ้นเป็นเวลา 5 นาที



รูปที่ 43 ผลของ CU18-13 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM

a. ผลของ CU18-13 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM เมื่อให้ก่อนการกระตุ้นเป็นเวลา 5 นาที

b. ผลของ CU18-13 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM เมื่อให้หลังการกระตุ้นเป็นเวลา 5 นาที



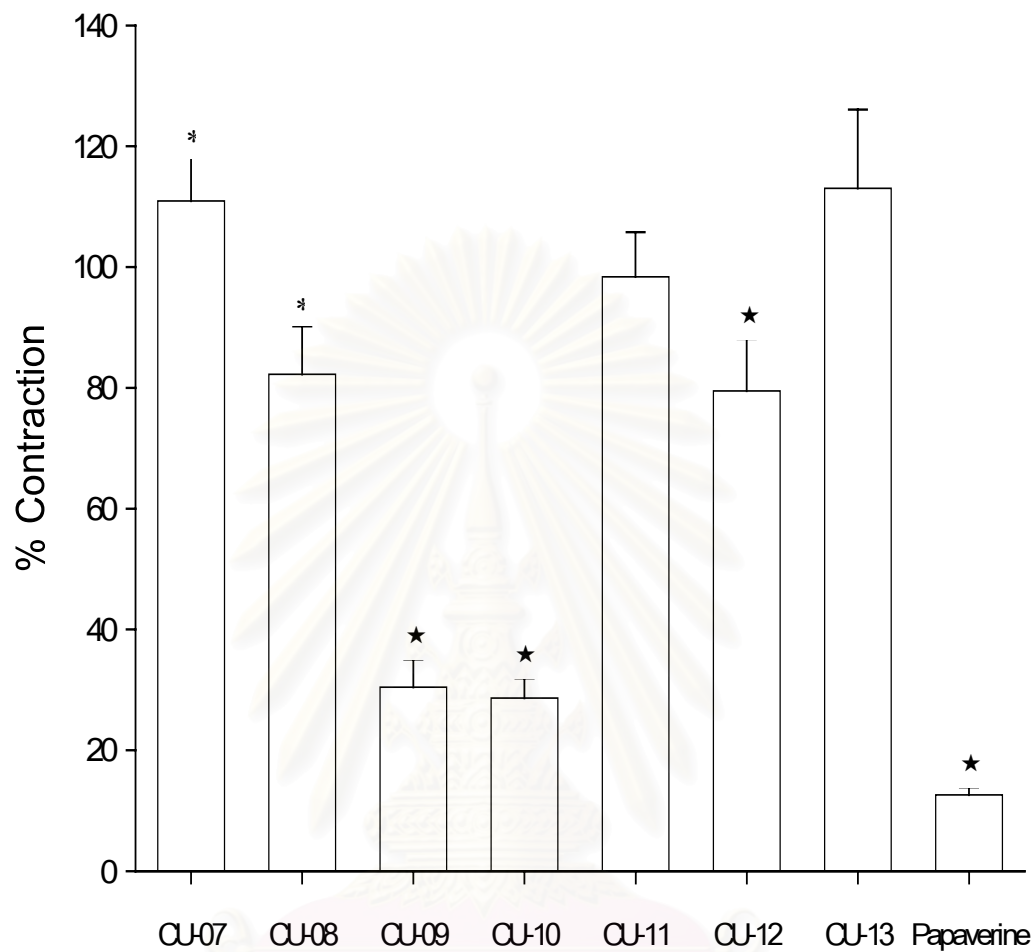
รูปที่ 44 ผลของ Papaverine ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM

- a. ผลของ Papaverine ในขนาดความเข้มข้น 0.01 mM เมื่อให้ก่อนการกระตุ้นเป็นเวลา 5 นาที
- b. ผลของ Papaverine ในขนาดความเข้มข้น 0.01 mM เมื่อให้ตั้งเป็นระยะเวลา 5 นาที

สารสังเคราะห์	ผลของสารสังเคราะห์			
	ได้รับสารสังเคราะห์ก่อนสารกระตุ้น			ได้รับสารสังเคราะห์ก่อนสารกระตุ้น
	% Phasic contraction	% Tonic contraction	% การเปลี่ยนแปลง ของ base line	% Relaxation
CU18-07	110.92 ± 7.26	82.82 ± 7.53 [*]	(-) 56.64 ± 8.97 [★]	25.16 ± 4.76 [★]
CU18-08	82.24 ± 7.96	89.72 ± 9.49 [*]	31.30 ± 4.96 [★]	52.54 ± 7.03 [★]
CU18-09	30.45 ± 4.62 [★]	25.70 ± 6.91 [★]	33.74 ± 7.34 [★]	63.71 ± 6.50 [★]
CU18-10	28.67 ± 3.26 [★]	35.9 ± 5.99 [★]	57.69 ± 9.62 [★]	71.3 ± 10.59 [★]
CU18-11	98.39 ± 7.37	112.95 ± 5.36	41.15 ± 6.58 [★]	26.68 ± 3.93 [★]
CU18-12	79.47 ± 8.63 [★]	42.54 ± 8.62	65.23 ± 10.44 [★]	73.48 ± 13.89 [★]
CU18-13	113.05 ± 13.03	82.59 ± 9.84	27.44 ± 3.95 [★]	13.51 ± 0.83 [★]
Papaverine	12.63 ± 1.27 [★]	15.55 ± 2.60 [★]	59.02 ± 9.92 [★]	142.46 ± 5.17 [★]

ตารางที่ 3 ผลการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะ จากการกระตุ้นด้วย KCl 40 mM

- ★ แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์ ($p < 0.05$) โดยการทดสอบทางสถิติแบบ paired t -test
- * แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของสารที่มีหมู่แทนที่เหมือนกัน แต่แทนที่ในตำแหน่ง meta และ para ($p < 0.05$) โดยการทดสอบทางสถิติแบบ independent paired t -test

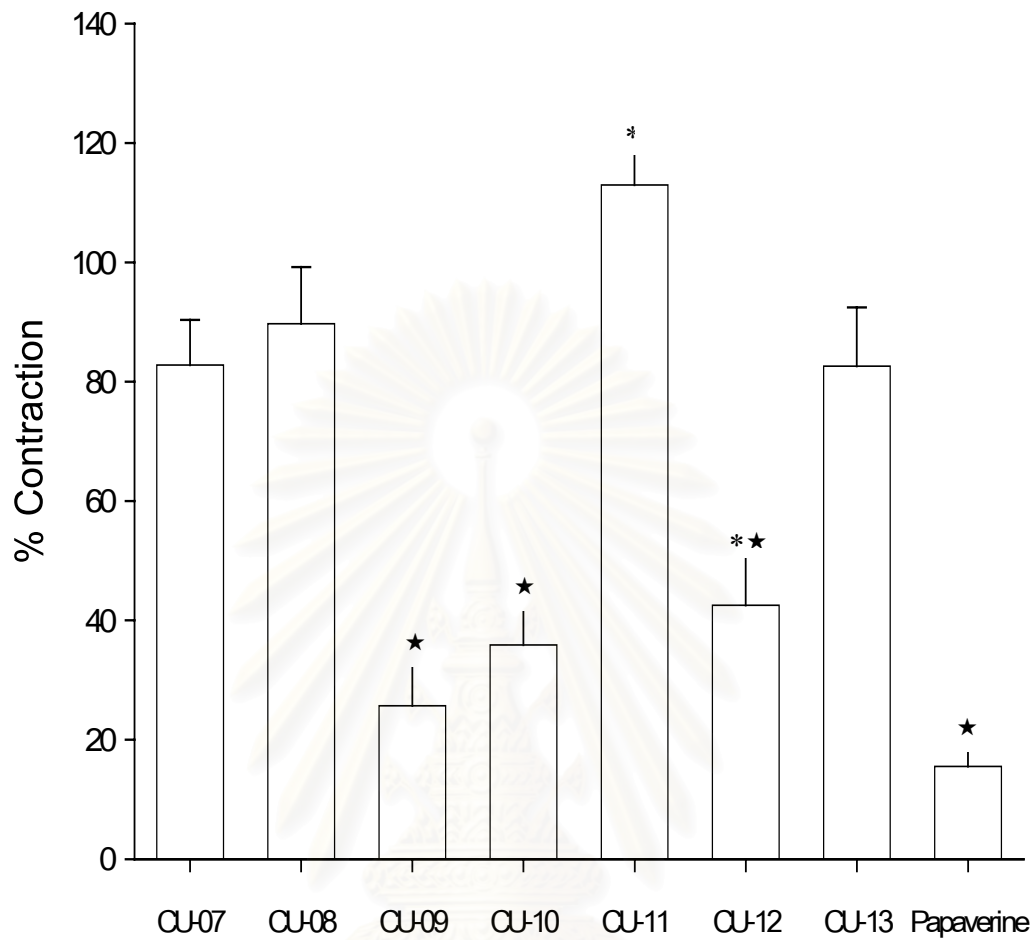


รูปที่ 45 กราฟระหว่างผลของสารสังเคราะห์ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM ต่อการหดตัวในส่วน
ของ Phasic contraction ของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักร
เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 M (n=6)

แสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

★ แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์ ($p < 0.05$)
) โดยการทดสอบทางสถิติแบบ paired t -test

* แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของสารที่มีหมู่แทนที่เหมือนกัน แต่แทนที่
ในตำแหน่ง meta และ para ($p < 0.05$) โดยการทดสอบทางสถิติแบบ independent
paired t -test



รูปที่ 46 กราฟระหว่างผลของสารสังเคราะห์ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM ต่อการหดตัวในส่วน
ของ Tonic contraction ของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบ
จักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM (n=6)

แสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

★ แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์ ($p < 0.05$)

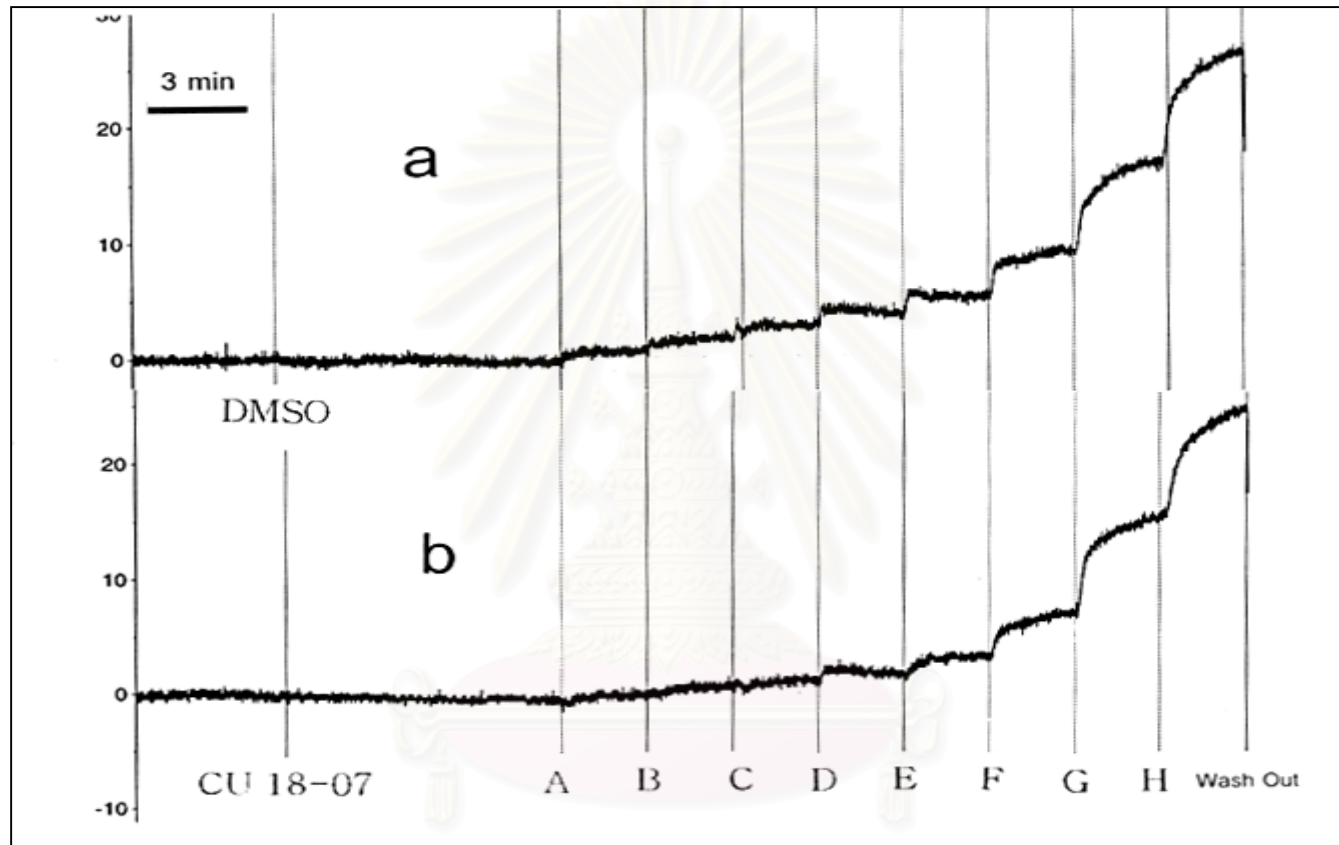
) โดยการทดสอบทางสถิติแบบ paired t -test

* แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของสารที่มีหมู่แทนที่เหมือนกัน แต่แทนที่
ในตำแหน่ง meta และ para ($p < 0.05$) โดยการทดสอบทางสถิติแบบ independent
paired t -test

2. ผลของ สารสังเคราะห์ (CU18-07, CU18-08, CU18-09, CU18-10, CU18-11, CU18-12 และ CU18-13) และ papaverine ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักรในสภาวะที่ถูกดีโพลาไรซ์ต่อ cumulative dose response curve ของ CaCl_2

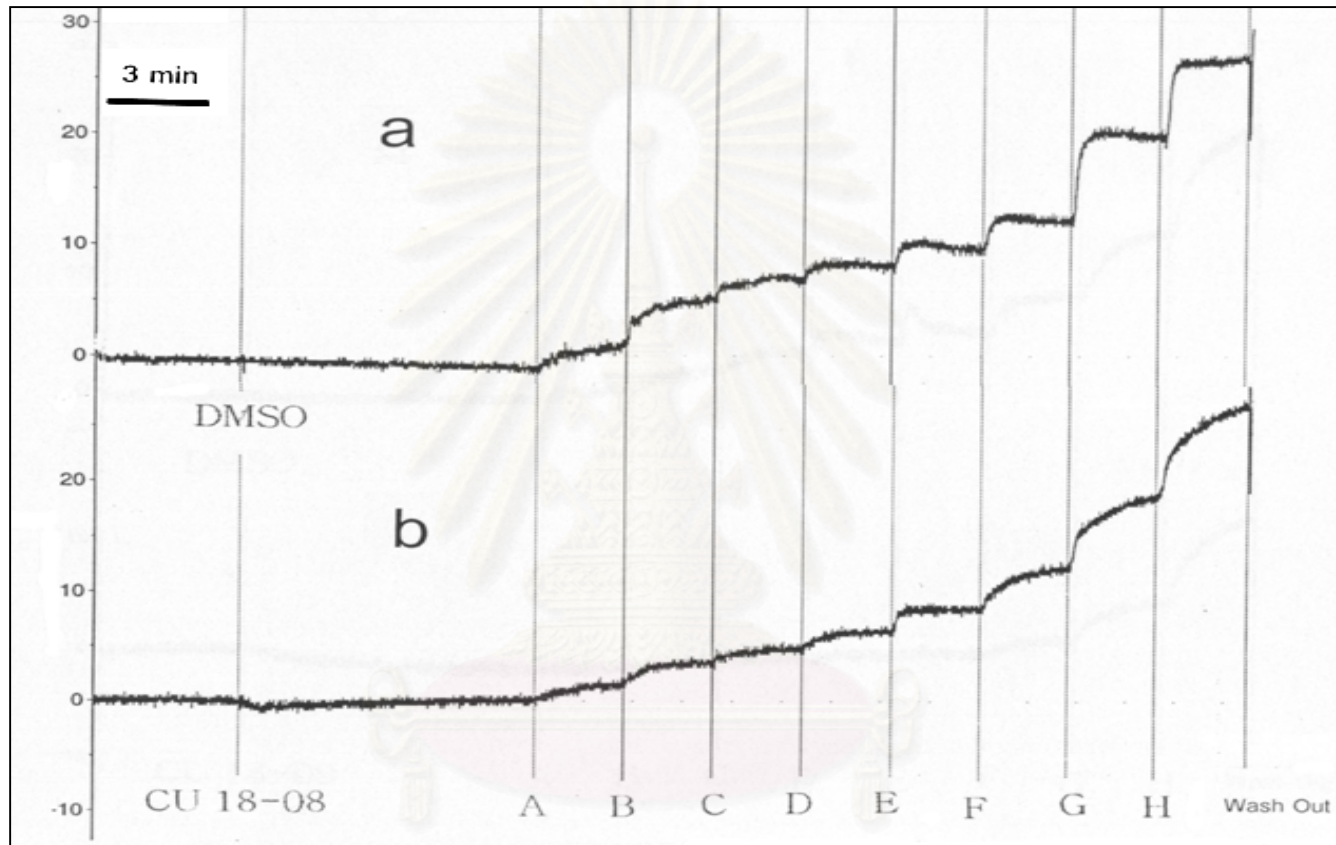
CaCl_2 แบบสะสม ($1 \times 10^{-5} - 3 \times 10^{-2}$ M) กระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักร ใน Ca^{2+} -free depolarizing solution ซึ่งสารละลายนี้จะทำให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารอยู่ในสภาวะถูกดีโพลาไรซ์ แต่ไม่สามารถเกิดการหดตัวได้ เพราะไม่มี Ca^{2+} อยู่ในสารละลายภายนอกเซลล์ จากการทดลองพบว่าเมื่อให้ DMSO เป็นเวลา 10 นาที แล้วจึงให้ CaCl_2 แบบสะสมเพื่อเป็นกลุ่มควบคุมจะเกิดการหดตัวเพิ่มขึ้นตามขนาดความเข้มข้นของ CaCl_2 ที่เพิ่มสูงขึ้น ในการวัดผลการทดลองจะทำการเปรียบเทียบแรงหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารที่เกิดขึ้นเมื่อได้รับ CaCl_2 ในขนาดความแรงสูงสุดในสภาวะปราศจากสารสังเคราะห์ กับสภาวะหลังได้รับสารสังเคราะห์ โดยเทียบกับแรงหดตัวที่เกิดขึ้นในแต่ละช่วงของการได้รับ CaCl_2 ในขนาดความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น ใช้วิธีการคิดคำนวณให้แรงหดตัวในความแรงสูงสุด ขณะที่ยังไม่ได้รับสารสังเคราะห์มีแรงหดตัวสูงสุดเป็น 100% เทียบกับแรงหดตัวในแต่ละช่วงหลังได้รับสารสังเคราะห์ เป็นเวลา 10 นาที ก่อนให้ CaCl_2 แบบสะสม ได้แสดงดังรูปที่ 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53 และ 54

จากผลการทดลองเมื่อนำมา plot กราฟ ระหว่าง ค่า $\log[\text{CaCl}_2]$ M กับ %contraction พบว่าสารสังเคราะห์ทุกตัวที่ความเข้มข้น 0.1 mM และ papaverine 0.01 mM สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบเมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative dose response curve ดังแสดงในกราฟรูปที่ 55 โดยในช่วงแรกที่ CaCl_2 มีความเข้มข้นต่ำ ๆ พบว่าสารทุกตัวสามารถยับยั้งได้อย่างชัดเจน แต่เมื่อระดับความเข้มข้นของ CaCl_2 เพิ่มสูงขึ้นพบว่า CU18-08, CU18-11 และ CU18-13 ไม่สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารได้ และพบว่า CU18-09 สามารถในการยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหาร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative dose-response curve ได้แรงที่สุดในกลุ่ม รองลงมาคือ CU18-10, CU18-12 และ CU18-07 ตามลำดับ แต่เมื่อเปรียบเทียบกับ papaverine พบว่า papaverine สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้แรงกว่าสารสังเคราะห์ทุกตัวที่นำมาศึกษาในครั้งนี้ ซึ่งจากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าสารสังเคราะห์ทุกตัว สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะของหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative dose ในสภาวะของสารละลาย Ca^{2+} -free depolarizing solution



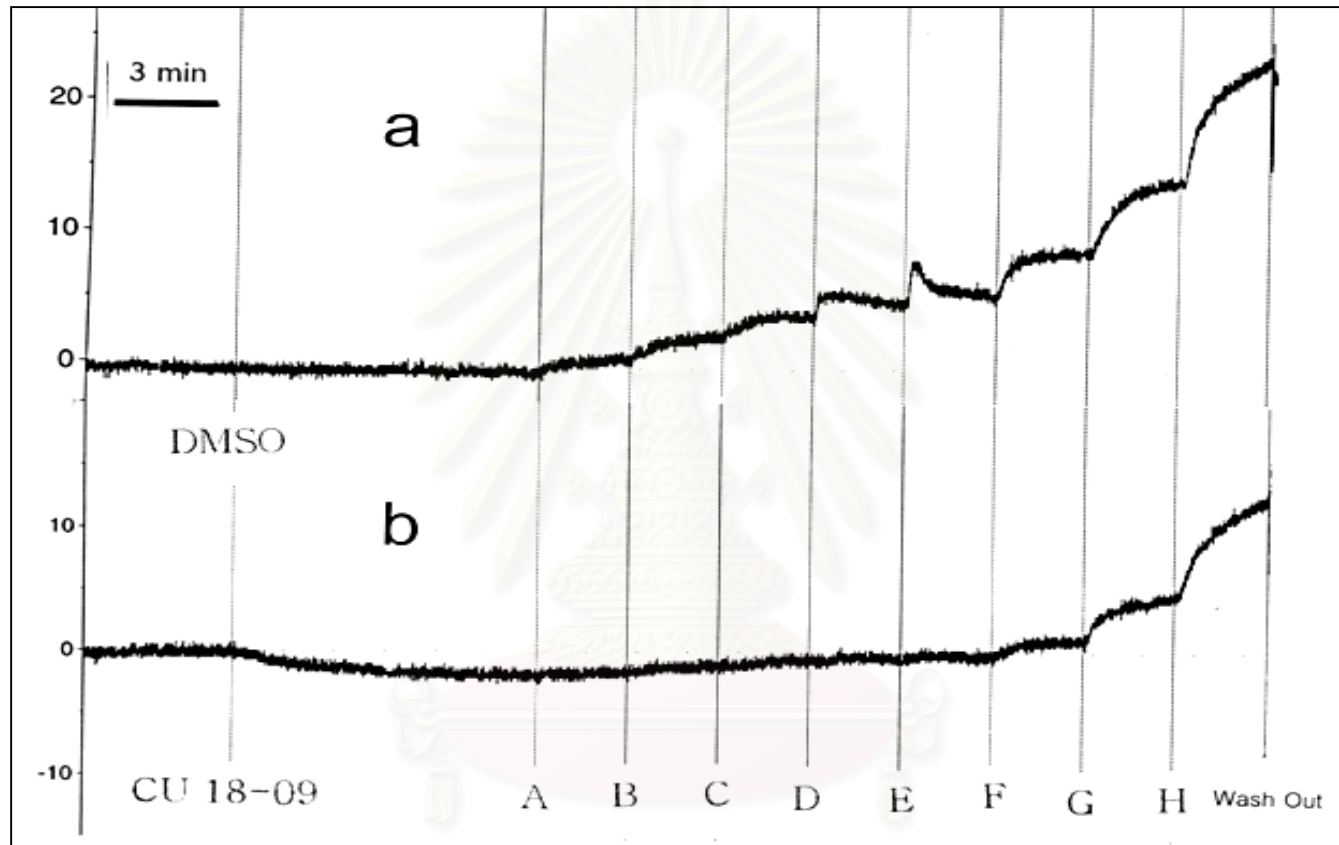
รูปที่ 47 ผลของ CU18-07 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative dose response curve ในสารละลาย Ca^{2+} - free depolarizing solution (n=6)

- a. ได้รับ DMSO ในขนาดความเข้มข้น 0.06% V/V
- b. ได้รับ CU18-07 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM



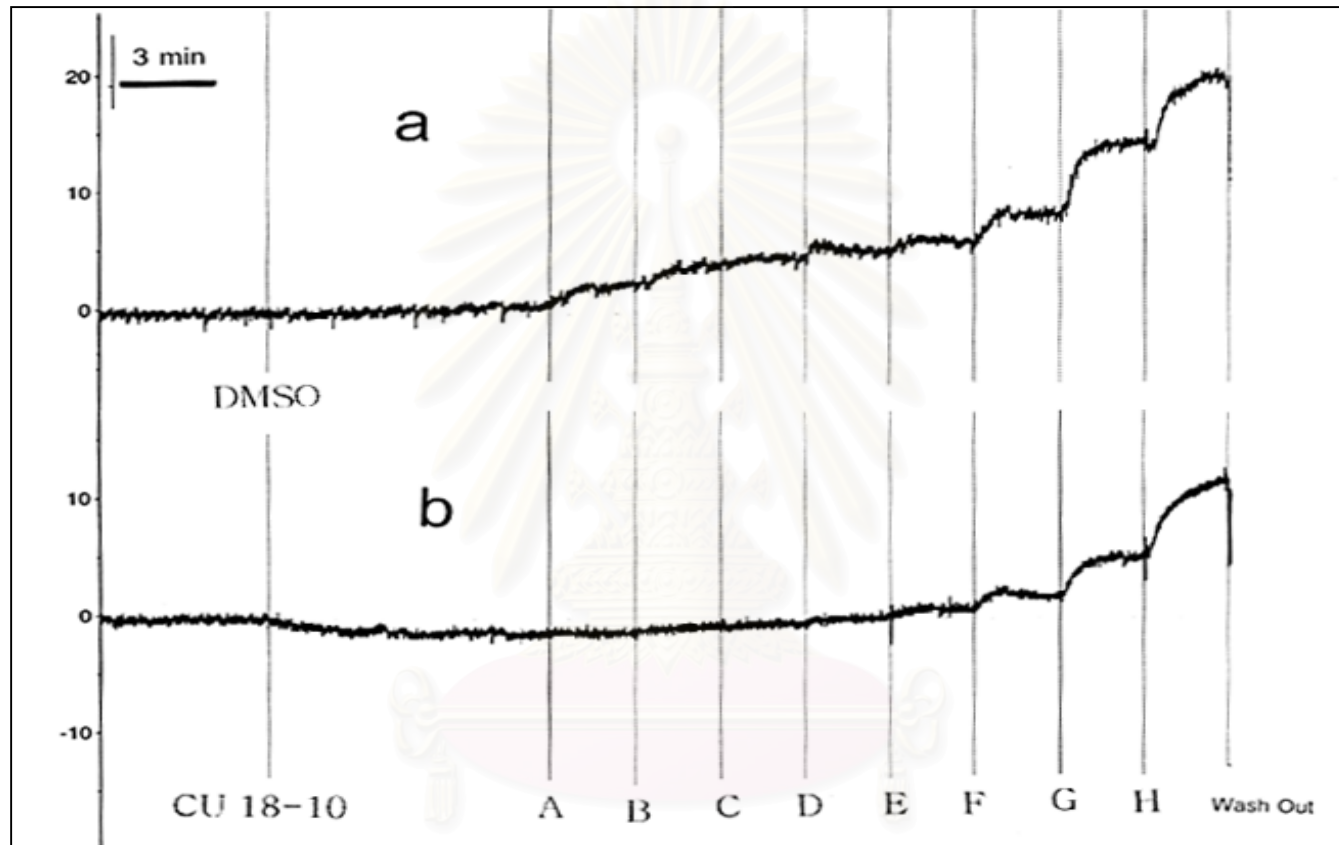
รูปที่ 48 ผลของ CU18-08 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative dose response curve ในสารละลาย Ca^{2+} - free depolarizing solution (n=6)

- a. ได้รับ DMSO ในขนาดความเข้มข้น 0.06% V/V
- b. ได้รับ CU18-08 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM



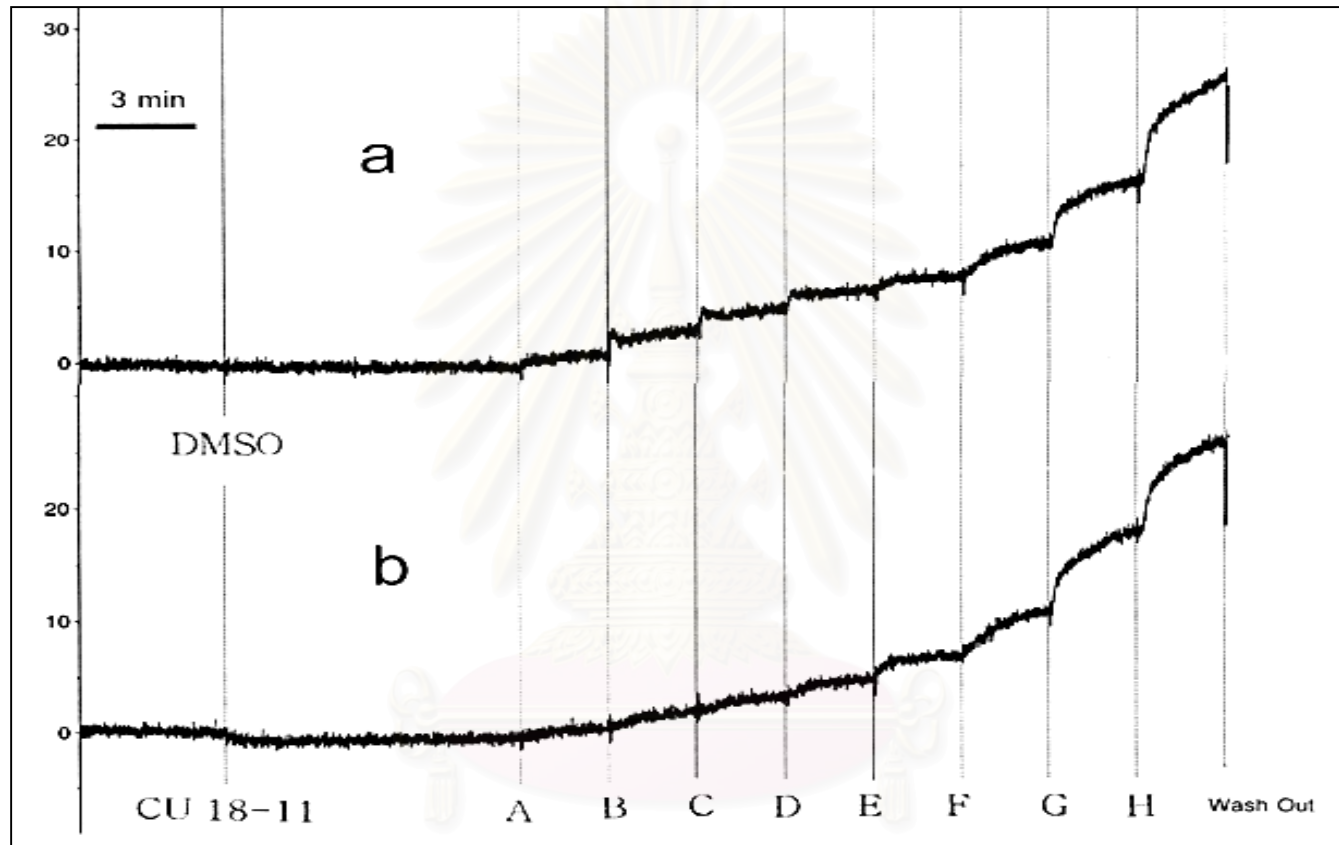
รูปที่ 49 ผลของ CU18-09 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative dose response curve ในสารละลาย Ca^{2+} - free depolarizing solution (n=6)

- a. ได้รับ DMSO ในขนาดความเข้มข้น 0.06% V/V
- b. ได้รับ CU18-09 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM



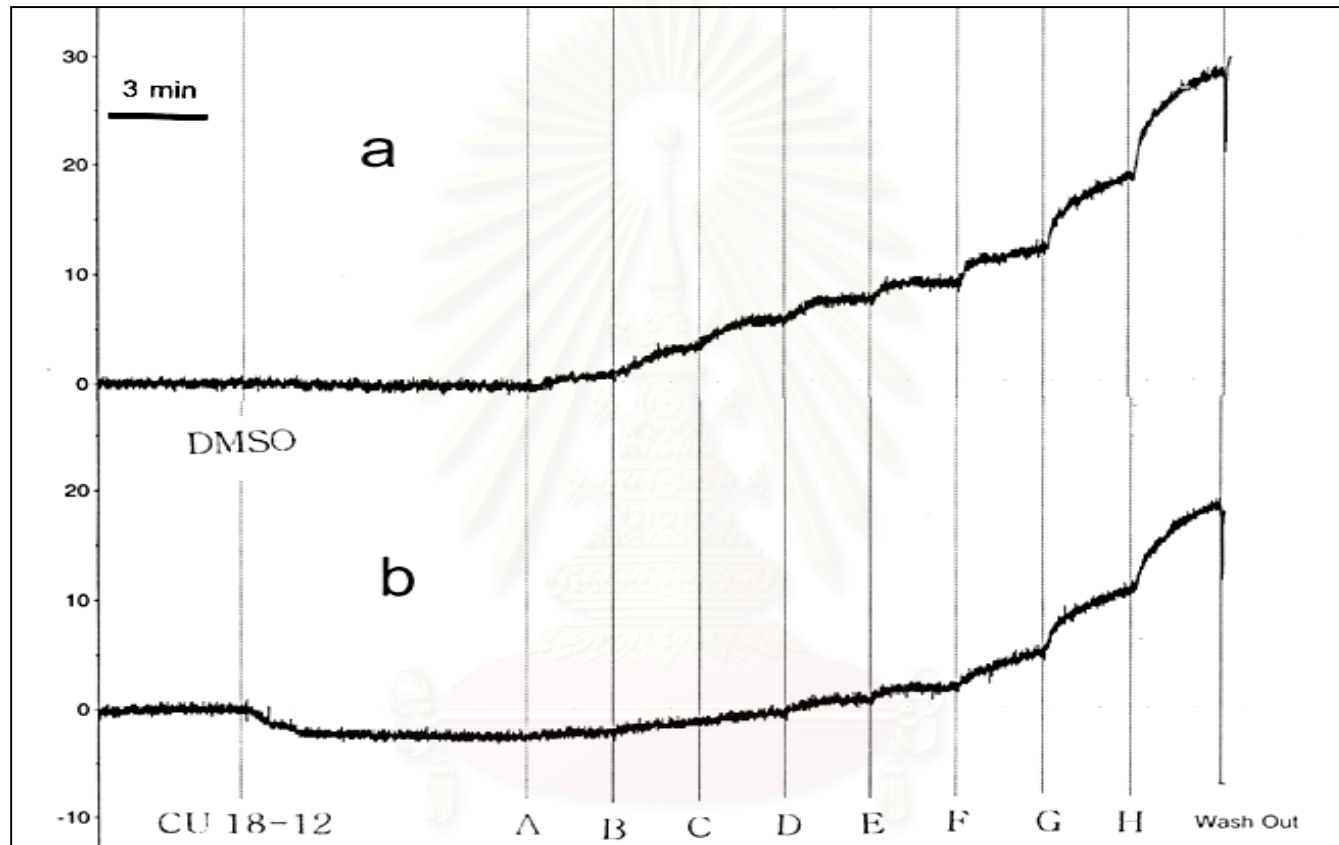
รูปที่ 50 ผลของ CU18-10 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative dose response curve ในสารละลาย Ca^{2+} - free depolarizing solution (n=6)

- a. ได้รับ DMSO ในขนาดความเข้มข้น 0.06% V/V
- b. ได้รับ CU18-10 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM



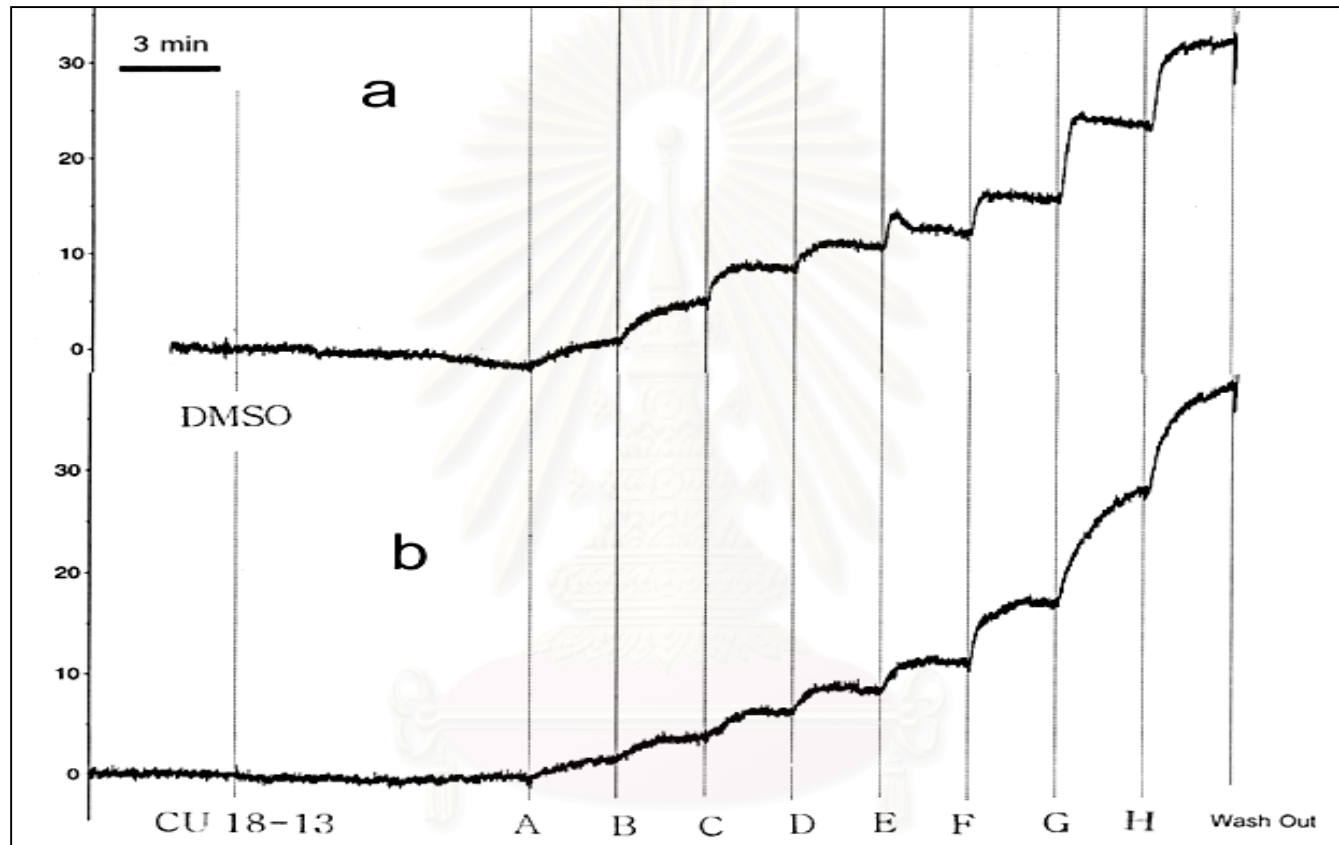
รูปที่ 51 ผลของ CU18-11 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative dose response curve ในสารละลาย Ca^{2+} - free depolarizing solution (n=6)

- ได้รับ DMSO ในขนาดความเข้มข้น 0.06 % V/V
- ได้รับ CU18-11 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM



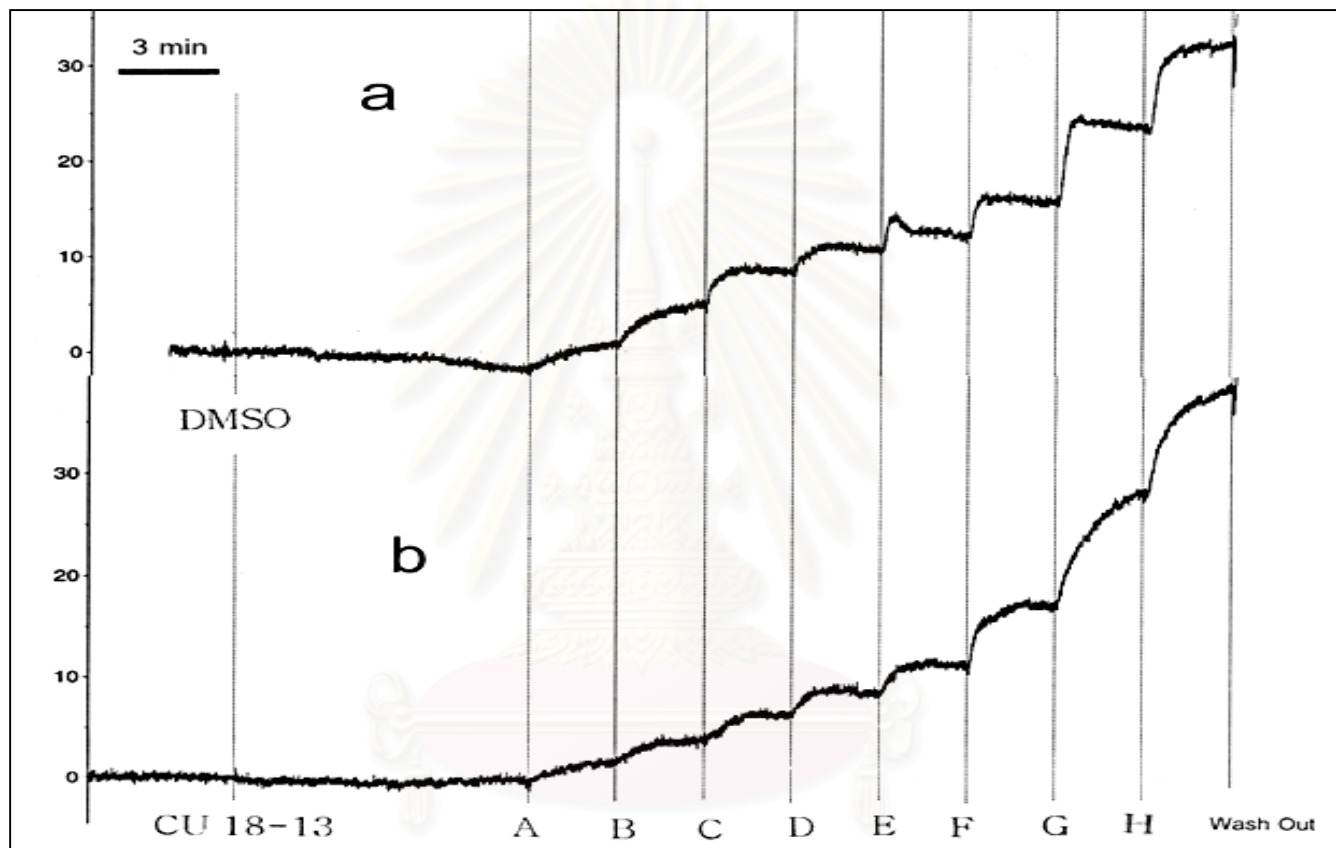
รูปที่ 52 ผลของ CU18-12 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative dose response curve ในสารละลาย Ca^{2+} -free depolarizing solution (n=6)

- a. ได้รับ DMSO ในขนาดความเข้มข้น 0.06 % V/V
- b. ได้รับ CU18-12 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM



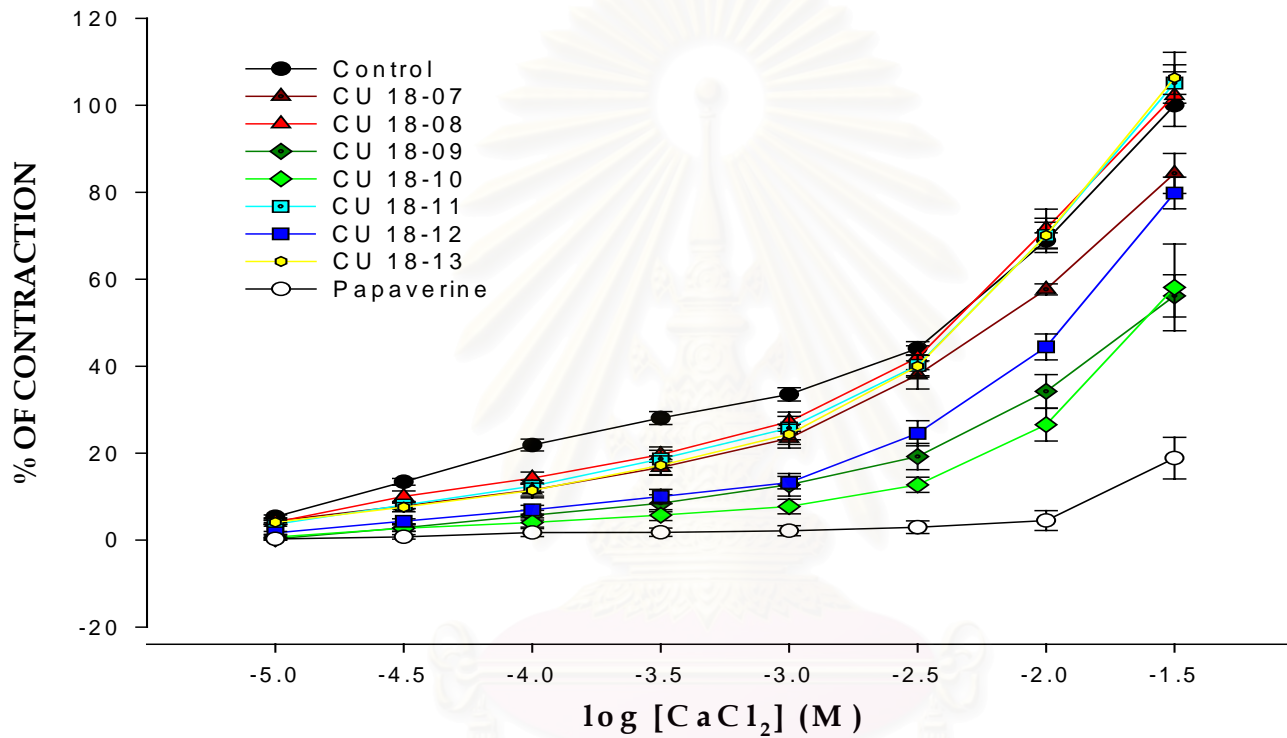
รูปที่ 53 ผลของ CU18-13 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative dose response curve ในสารละลาย Ca^{2+} - free depolarizing solution (n=6)

- a. ได้รับ DMSO ในขนาดความเข้มข้น 0.06 % V/V
- b. ได้รับ CU18-13 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM



รูปที่ 54 ผลของ papaverine ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative dose response curve ในสารละลาย Ca^{2+} - free depolarizing solution (n=6)

- a. ได้รับ DMSO ในขนาดความเข้มข้น 0.06% V/V
- b. ได้รับ papaverine ในขนาดความเข้มข้น 0.01 mM



รูปที่ 55 กราฟแสดงผลของ CU18-07, CU18-08, CU18-09, CU18-10, CU18-12, CU18-13 0.1 mM และ papaverine 0.01 mM ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl₂ แบบ cumulative dose response curve ในสารละลาย Ca²⁺ - free depolarizing solution (n=6)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

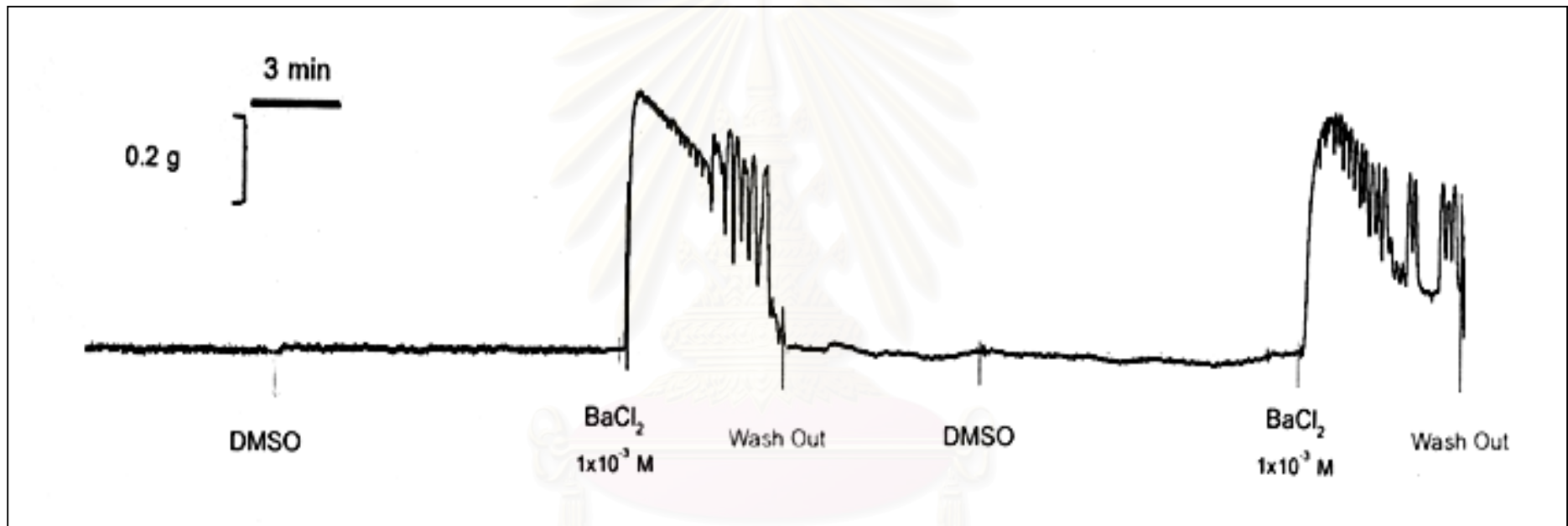
3. ผลของ CU18-09 และ CU18-12 ต่อกกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหนูถีบจักรเมื่อถูกกระตุ้นการหดตัวด้วยสาร BaCl_2 ในสารละลาย Ca^{2+} -free Krebs buffer

เนื่องจากในการศึกษานี้เป็นผลของ Ba^{2+} ในสภาวะที่สารละลายปราศจาก Ca^{2+} ซึ่งไม่สามารถทำการศึกษาในกระเพาะทั้งกระเพาะได้ เพราะต้องเปลี่ยน physiological solution ที่บรรจุภายในกระเพาะจาก Krebs bicarbonate solution เป็น Ca^{2+} -free Krebs buffer เพื่อให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอยู่ในสภาวะที่ปราศจาก Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์ จึงได้ทำการศึกษาผลของ CU18-09 และ CU18-12 ในกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารแบบ strip แทน

ในสภาวะที่ปราศจาก Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์ BaCl_2 สามารถกระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารเกิดการหดตัวอย่างช้า ๆ และเมื่อถึงจุดสูงสุดจะค่อย ๆ ลดลง โดยมีลักษณะเป็น rhythmic contraction ที่มีการลดลงเรื่อย ๆ การวัดผลการทดลองจะทำการวัดผลในส่วนของ %maximum contraction โดยทำการเปรียบเทียบแรงหดตัวส่วน maximum contraction ระหว่างก่อนได้รับสารสังเคราะห์กับแรงหดตัวส่วน maximum contraction ที่เหลืออยู่หลังได้รับสารสังเคราะห์ ใช้วิธีการคิดคำนวณให้แรงหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบส่วน maximum contraction ในขณะที่ยังไม่ได้รับสารสังเคราะห์มีแรงหดตัวสูงสุดเป็น 100% ซึ่งจะนำไปใช้เปรียบเทียบกับแรงหดตัว ส่วน maximum contraction ที่เกิดขึ้นหลังได้รับสารสังเคราะห์

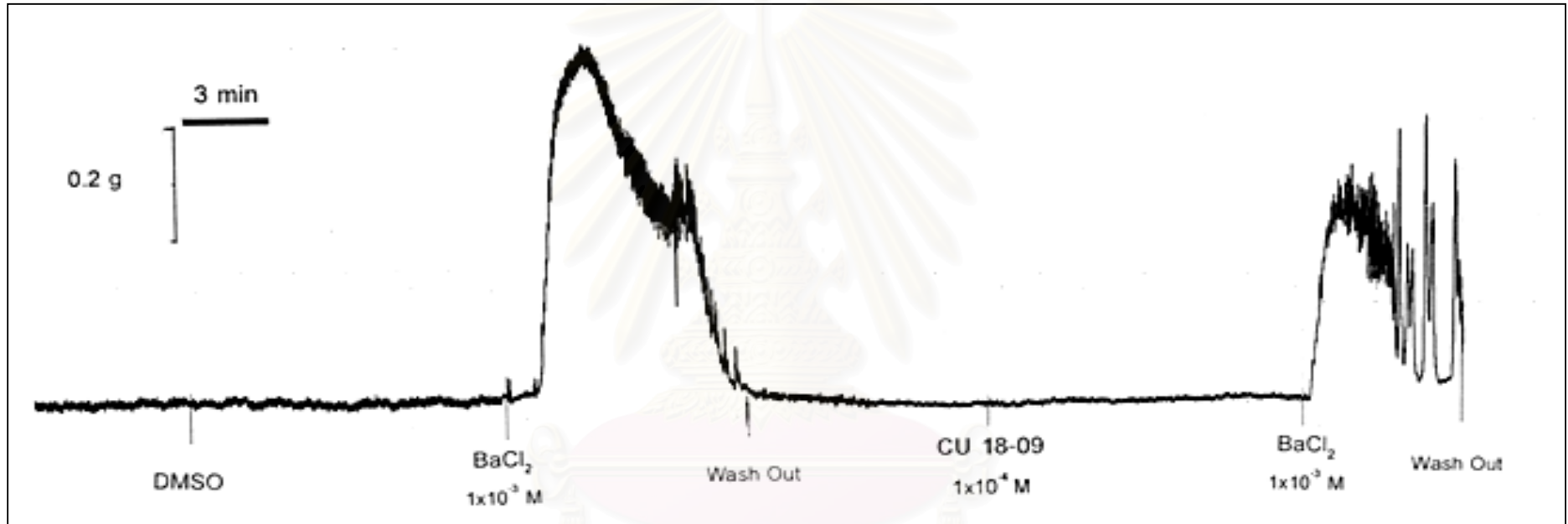
เมื่อให้ DMSO 0.06% v/v ก่อนกระตุ้นด้วย BaCl_2 ในสารละลาย Ca^{2+} -free Krebs buffer พบว่าการหดตัวที่เกิดขึ้นไม่แตกต่างจากสภาวะที่ไม่มี DMSO ดังแสดงในรูปที่ 56

จากการทดลอง พบว่า CU18-09 และ CU18-12 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM สามารถลดแรงหดตัวสูงสุดของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารที่ถูกกระตุ้นด้วย BaCl_2 ที่ความเข้มข้น 1 M ได้ อย่างชัดเจน ดังแสดงในรูปที่ 57 และ 58 ตามลำดับ โดย maximum contraction ที่เกิดขึ้นมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $44.42 \pm 11.60\%$ (n=4) และ $57.87 \pm 12.10\%$ (n=4) ดังแสดงในกราฟรูปที่ 59 ซึ่งลดลงจากก่อนได้รับสารสังเคราะห์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



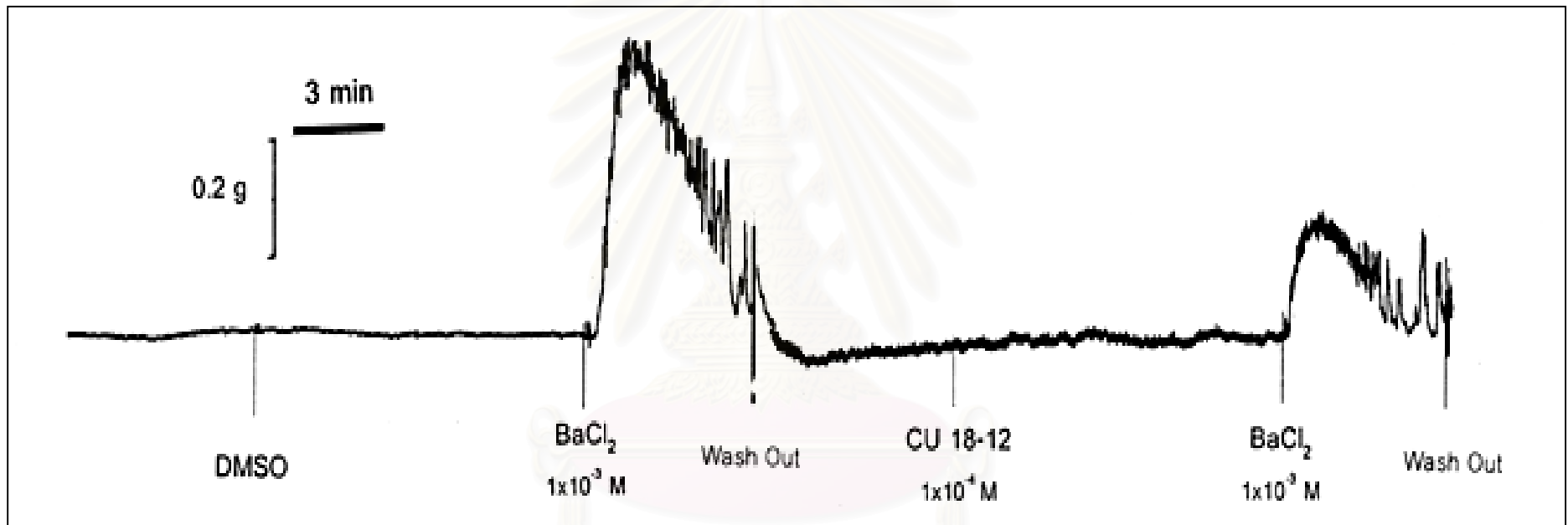
รูปที่ 56 ผลของ DMSO 0.06% v/v ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารแบบ strip ที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย BaCl_2 1 mM (n=4)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

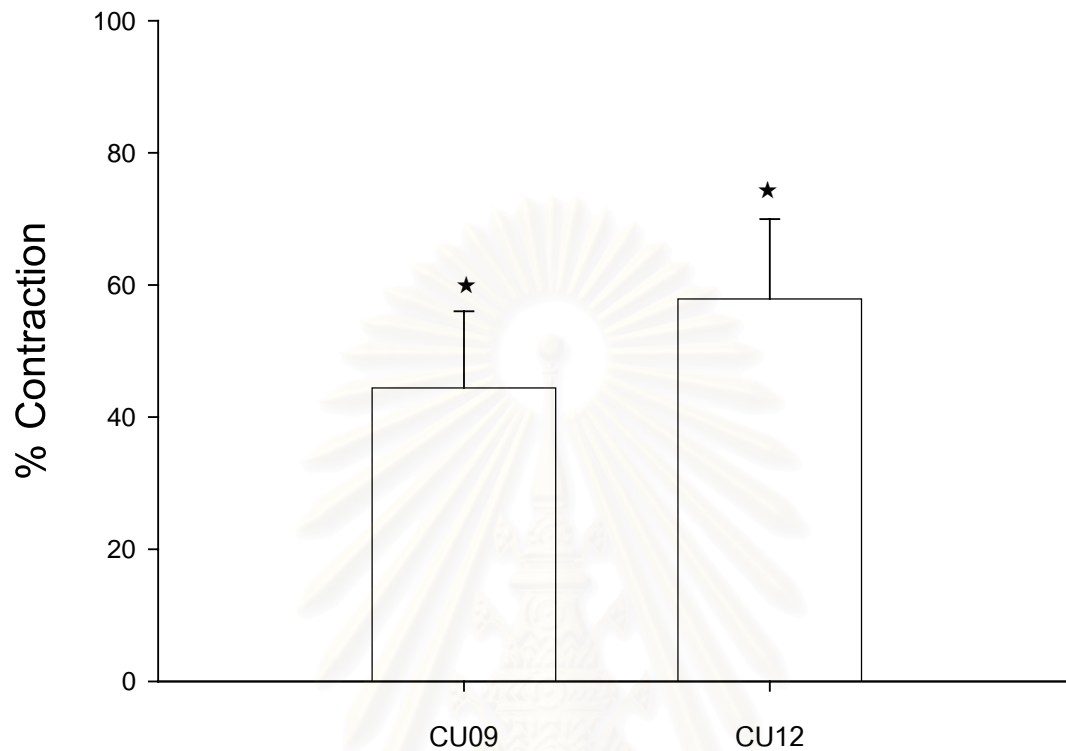


รูปที่ 57 ผลของ CU18-09 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารแบบ strip ที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย BaCl_2 1 mM (n=4)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 58 ผลของ CU18-12 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารแบบ strip ที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย BaCl₂ 1 mM (n=4)



รูปที่ 59 กราฟระหว่างผลของ CU18-09 และ CU18-12 ในขนาดความเข้มข้น 0.1 mM ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารแบบ strip ที่แยกจากหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย BaCl_2 ในขนาดความเข้มข้น 1 mM (n=4)

แสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

★ แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากก่อนได้รับสารทดสอบ ($p < 0.05$)

โดยการทดสอบทางสถิติแบบ paired t -test

* แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของสารที่มีหมู่แทนที่เหมือนกัน แต่แทนที่ในตำแหน่ง meta และ para ($p < 0.05$) โดยการทดสอบทางสถิติแบบ independent paired t -test

บทที่ 5

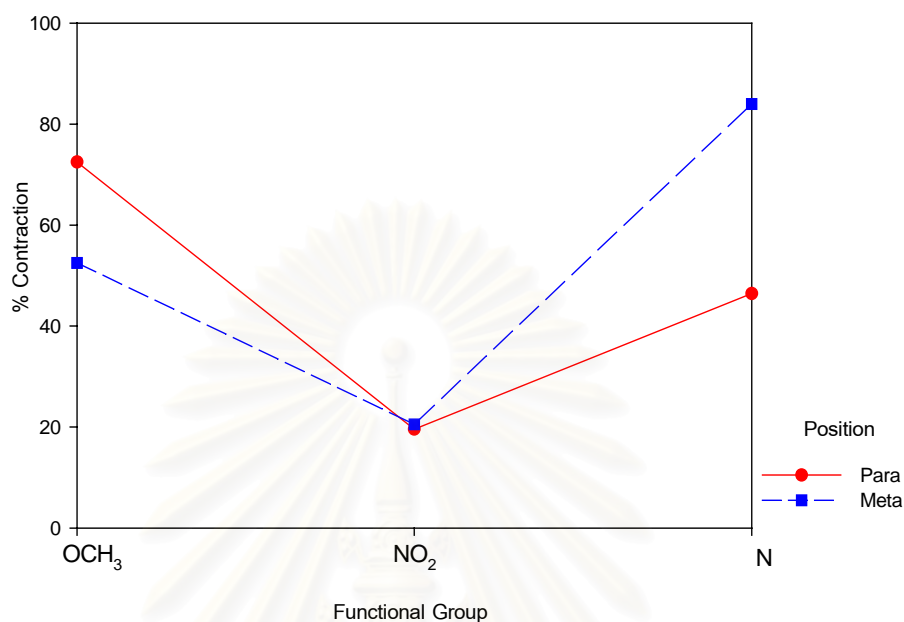
อภิปรายผลการวิจัย สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

อภิปรายผลการวิจัย

การศึกษาวิจัยครั้งนี้ เป็นการศึกษาแบบ *in vitro* โดยใช้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหนูถีบจักรทั้งกระเพาะ เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในการเป็น anti-spasmodic ของสารสังเคราะห์ CU18-07, CU18-08, CU18-09, CU18-10, CU18-11, CU18-12 และ CU18-13 เนื่องจากก่อนหน้านี้ได้มีการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสังเคราะห์กลุ่มนี้ในกล้ามเนื้อเรียบชนิดอื่น เช่น หลอดเลือดใหญ่ และท่อนำสุจิหนูขาว พบว่าสารในกลุ่มนี้มีฤทธิ์ในการคลายกล้ามเนื้อเรียบได้ (ปทุมมาศ, 2544; ไสรัตน์ติยา, 2545) การวิจัยนี้เลือกใช้กระเพาะอาหารหนูถีบจักรทั้งกระเพาะ เนื่องจากต้องการศึกษาผลการออกฤทธิ์ของสารสังเคราะห์ต่อทั้งอวัยวะเพราะผลที่ได้จะเป็นผลรวมของการตอบสนองทั้งอวัยวะ ที่ประกอบด้วยกล้ามเนื้อหลายส่วน ซึ่งในแต่ละส่วนจะมีคุณสมบัติ และจำนวน receptor แตกต่างกันไปดังที่ได้กล่าวไว้ในบทนำ การวิจัยนี้ทำการวัดผลการหดหรือคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะ โดยวัดผลจากความดันที่มีการเปลี่ยนแปลงภายในกระเพาะอาหารซึ่งมีความตึงตัวพอเหมาะ โดยปรับให้ความดันเริ่มต้นประมาณ 15 - 25 mmH₂O เมื่อเกิดการหดหรือคลายตัวของกระเพาะจะมีผลทำให้ความดันภายในกระเพาะอาหารเกิดการเปลี่ยนแปลงขึ้น การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวจะวัดผลในหน่วยของ mmH₂O นอกจากนี้ได้ศึกษาความแรงของสารสังเคราะห์เทียบกับ papaverine ซึ่งเป็นสารที่มีการออกฤทธิ์ในการคลายกล้ามเนื้อเรียบแบบ non - selective smooth muscle relaxant โดยมีกลไกในการออกฤทธิ์ได้ 3 ทางคือ การยับยั้ง phosphodiesterase (PDE) มีผลทำให้ cAMP เพิ่มขึ้น, ยับยั้ง mitochondrial respiration และรบกวนการเคลื่อนที่ของ Ca²⁺ (Kazumasa et al, 2000) รวมทั้งทำการศึกษาถึงผลของความสัมพันธ์ระหว่างสูตรโครงสร้างของสารเคมีที่มีความแตกต่างของหมู่แทนที่ และตำแหน่งในการแทนที่ กับความแรงในการออกฤทธิ์ เมื่อกระตุ้นด้วยสารกระตุ้นที่มีกลไกในการกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่ต่างกัน ได้แก่ BaCl₂, ACh และ KCl โดย BaCl₂ เป็นตัวกระตุ้นที่มีคุณสมบัติเป็น non-selective blocking ต่อ K⁺-channels (Wellman and Beven, 1995) โดยในสภาวะที่มี Ca²⁺ ในสารละลาย physiological solution Ba²⁺ ออกฤทธิ์ผ่าน K⁺ channels ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์เกิดการดีโพลาไรซ์ และเกิดการเปิดของ VOC ส่งผลให้ Ca²⁺ จากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์และเกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในที่สุด ส่วนในสภาวะที่ไม่มี Ca²⁺ ในสารละลายภายนอก Ba²⁺ จะผ่านเข้าภายในเซลล์ทาง VOC และทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหาร โดยทำหน้าที่เหมือนกับ Ca²⁺ (Hotta and Tsuzuki, 1968; Yu and Bose, 1991; Murillo et al, 1997; Uchida et al, 1998) นอกจากนี้พบว่า Ba²⁺ อาจมีกลไก

การออกฤทธิ์ที่เกี่ยวข้องกับภายในเซลล์ โดยสามารถผ่านเข้าไปในเซลล์กล้ามเนื้อเรียบและทำหน้าที่แทน Ca^{2+} ในการกระตุ้น contractile protein ให้เกิดการหดตัวได้ (Uvelius et al, 1974) และจากการศึกษาใน portal vein ของหนูขาว พบว่า $BaCl_2$ กระตุ้นให้มีการหลั่ง Ca^{2+} จากแหล่งสะสมภายในเซลล์ได้ (Uvelius and Sigurdssen, 1981) ในการศึกษาผลการกระตุ้นด้วย $BaCl_2$ จะวัดผลการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นโดยใช้ค่า maximum contraction เป็นหลักในการแปลผลถึงความแรงในการหดตัว โดยจะทำการวัดจาก base line ณ จุดที่เริ่มให้สารกระตุ้น จากผลการศึกษาโดยการกระตุ้นกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารด้วย $BaCl_2$ ใน Tyrode's solution ในสภาวะที่กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหาร ได้รับสารกระตุ้นให้เกิดการหดตัวก่อนได้รับสารสังเคราะห์ พบว่าสารสังเคราะห์ทุกตัวสามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารที่เกิดขึ้นได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนในสภาวะที่กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารได้รับสารสังเคราะห์ก่อนสารกระตุ้น พบว่าสารสังเคราะห์ทุกตัวสามารถลดความตึงตัวของกระเพาะอาหารในสภาวะที่ปราศจากสารกระตุ้นได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) นอกจากนี้สารสังเคราะห์ทุกตัวสามารถลด %maximum contraction ที่เกิดขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ปราศจากสารสังเคราะห์ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งสามารถเรียงลำดับความแรงในการยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารได้ดังนี้ papaverine > CU18-09 > CU18-10 > CU18-12 > CU18-08 > CU18-13 > CU18-07 > CU18-11 เมื่อศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างสูตรโครงสร้างที่แตกต่างกันของสารสังเคราะห์ โดยอนุพันธ์ของ acyl aniline คือ CU18-07 และ CU18-08 ซึ่งมี methoxy group เป็นหมู่แทนที่ ส่วน CU18-09 และ CU18-10 ซึ่งมี nitro group เป็นหมู่แทนที่ ในขณะที่ CU18-12 และ CU18-11 เป็นอนุพันธ์ของ acyl aminopyridine ซึ่งมี nitrogen atom ใน pyridine ring และหมู่แทนที่แต่ละชนิดจะมีการแทนที่ในตำแหน่งที่แตกต่างกัน คือ ตำแหน่ง meta และ para ตามลำดับ จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสังเคราะห์ที่มีการแทนที่ด้วย nitro group มีความแรงมากที่สุด โดยตำแหน่งในการแทนที่ที่ไม่มีผลต่อความแรงที่เกิดขึ้น ส่วนสารสังเคราะห์ที่มีการแทนที่ด้วย methoxy group ในตำแหน่ง meta (CU18-08) จะมีความแรงในการออกฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบมากกว่าการแทนที่ในตำแหน่ง para (CU18-07) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในขณะที่สารสังเคราะห์ที่มีการแทนที่ด้วย nitrogen พบว่าการแทนที่ในตำแหน่ง meta (CU18-11) จะมีความแรงในการออกฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบน้อยกว่าการแทนที่ในตำแหน่ง para (CU18-12) ดังนั้นจะเห็นได้ว่าหมู่แทนที่ที่ต่างกันมีผลต่อความแรงในการออกฤทธิ์ โดยสารสังเคราะห์ที่มี nitro group เป็นหมู่แทนที่มีความแรงในการออกฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบมากกว่าหมู่แทนที่อื่น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในขณะที่ตำแหน่งในการแทนที่มีผลต่อความแรงในการออกฤทธิ์อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้เมื่อศึกษาถึงผลของทั้งสองปัจจัยร่วมกัน พบว่าทั้งหมู่แทนที่

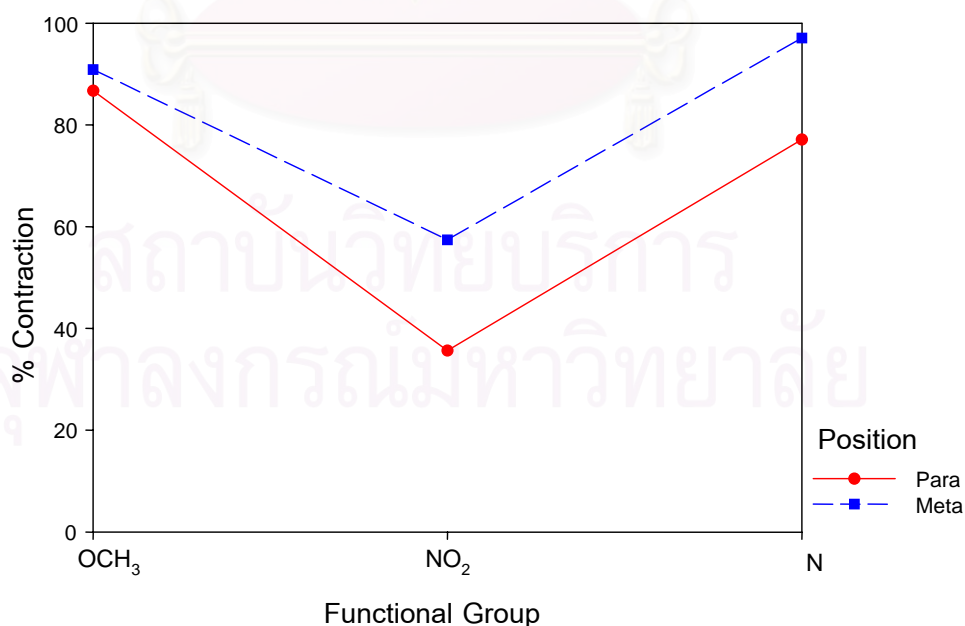
และตำแหน่งในการแทนที่มีผลต่อความแรงในการออกฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ กระเพาะอาหารของสารสังเคราะห์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังแสดงในรูปที่ 60



รูปที่ 60 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างหมู่แทนที่ และตำแหน่งในการแทนที่ของสารสังเคราะห์ เมื่อถูกกระตุ้นด้วย BaCl₂ 1 mM (n=6)

ส่วนในการศึกษาโดยใช้ ACh เป็นตัวกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหาร ซึ่ง ACh มีกลไกหลักในการออกฤทธิ์โดยการจับกับ muscarinic receptor ที่ coupled อยู่กับ G protein จากนั้นทำให้เกิดการกระตุ้น PLC แล้วเกิด hydrolysis PIP₂ ได้ IP₃ ซึ่งจะกระตุ้นการหลั่งของ Ca²⁺ ที่ SR และ DAG ซึ่งจะกระตุ้น PKC ตามลำดับ ทำให้ปริมาณ Ca²⁺ ภายในเซลล์สูงขึ้นเกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบตามมา (Olesson and Holmgren, 2001) การกระตุ้นชนิดนี้เป็นกระตุ้นแบบ ROC ในการกระตุ้นด้วย ACh จะวัดผลการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นโดยใช้ค่า phasic contraction เป็นหลักมากกว่า tonic contraction เนื่องจาก phasic contraction เป็นการหดตัวที่มีความชัดเจนที่สุด และเป็นส่วนที่เกิดการตอบสนองได้รวดเร็วต่อการกระตุ้นหรือการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ โดยจะทำการวัดจาก base line ณ จุดที่เริ่มให้สารกระตุ้น เช่นเดียวกับ BaCl₂ จากผลการศึกษาโดยการกระตุ้นด้วย ACh ใน Tyrode's solution ในสภาวะที่กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารได้รับสารกระตุ้นให้หดตัวก่อนได้รับสารสังเคราะห์ พบว่า CU18-09, CU18-10, CU18-12, CU 18-13 และ papaverine ที่ยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และในสภาวะที่กล้ามเนื้อเรียบได้รับสารสังเคราะห์ก่อนสารกระตุ้น พบว่า

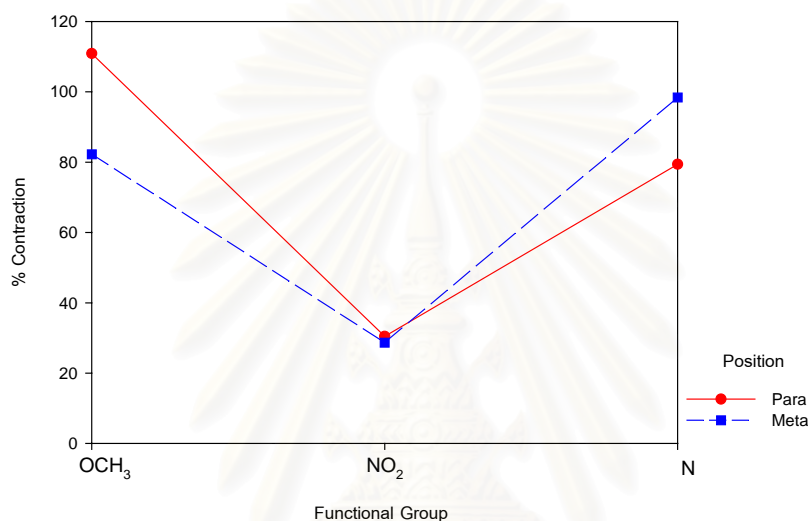
สารสังเคราะห์ทุกตัว ยกเว้น CU18-07 สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารที่เกิดขึ้นได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วน CU18-07 จะกระตุ้นให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารแบบ phasic contraction จากนั้นเมื่อกระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหดตัวด้วย ACh พบว่า CU 18-09, CU 18-10, CU 18-12 และ papaverine สามารถยับยั้งการหดตัวที่เกิดขึ้นได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งสามารถลำดับความแรงในการยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารได้ดังนี้ papaverine > CU 18-09 > CU 18-10 > CU 18-12 > CU 18-07 > CU 18-08 > CU 18-13 > CU 18-11 เมื่อนำผลที่ได้มาศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างสูตรโครงสร้างที่ต่างกันของสารสังเคราะห์ โดยดูผลของหมู่แทนที่เป็นหลักพบว่าสารสังเคราะห์ที่มี nitro group เป็นหมู่แทนที่มีความแรงในการยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารมากที่สุดแตกต่างจากทั้ง methoxy group และ nitrogen อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนหมู่ methoxy group และ nitrogen มีความแรงในการยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ในการกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารด้วย ACh พบว่าตำแหน่งในการแทนที่มีความสำคัญต่อความแรงในการออกฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหาร โดยการแทนที่ในตำแหน่ง para จะให้สารสังเคราะห์ที่มีความแรงในการออกฤทธิ์มากกว่าการแทนที่ในตำแหน่ง meta ในทุกหมู่แทนที่ ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าตำแหน่งในการแทนที่มีผลต่อการออกฤทธิ์ของสารสังเคราะห์ที่ถูกกระตุ้นด้วย ACh อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



รูปที่ 61 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง หมู่แทนที่ และตำแหน่งในการแทนที่ ของสารสังเคราะห์ เมื่อถูกกระตุ้นด้วย ACh 1 μ M (n=6)

สำหรับการศึกษาที่กระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบด้วย KCl ที่มีกลไกหลักในการทำให้กล้ามเนื้อเรียบหดตัวโดยการทำให้เกิดการ depolarizing ของผนัง membrane ทำให้ membrane มี permeability ต่อ Ca^{2+} มากขึ้น จึงยอมให้ Ca^{2+} ผ่านเข้าไปในเซลล์ได้ง่ายขึ้น เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ (Shimodan and Sunano, 1981) ซึ่งการกระตุ้นแบบนี้เป็นการกระตุ้นแบบ VOC สำหรับการกระตุ้นด้วย KCl การวัดผลของการกระตุ้นด้วย KCl นี้จะใช้หลักการเดียวกันกับ ACh โดยวัดความแรงของการหดตัวของกล้ามเนื้อในส่วน phasic contraction เป็นหลัก จากผลการศึกษาโดยการกระตุ้นด้วย KCl ใน Tyrode's solution ในสภาวะที่กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารได้รับสารกระตุ้นให้หดตัวก่อนสารสังเคราะห์ พบว่าสารสังเคราะห์ทุกตัวสามารถยับยั้งการหดตัวที่เกิดขึ้นได้ เช่นเดียวกับการกระตุ้นด้วย $BaCl_2$ โดยสามารถยับยั้งการหดตัวที่เกิดขึ้นได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และในสภาวะที่กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารได้รับสารสังเคราะห์ก่อนสารกระตุ้น พบว่าสารสังเคราะห์ทุกตัว ยกเว้น CU18-07 สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารที่เกิดขึ้นได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วน CU18-07 จะกระตุ้นให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารแบบ phasic contraction จากนั้นเมื่อกระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหดตัวด้วย KCl พบว่ามีเพียง CU 18-09, CU 18-10 และ papaverine เท่านั้นที่สามารถลดแรงในการหดตัวที่เกิดขึ้นได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งสามารถลำดับความแรงในการยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารได้ดังนี้ papaverine > CU18-10 > CU18-09 > CU18-12 > CU18-08 > CU18-11 > CU18-07 > CU18-13 เมื่อนำผลที่ได้มาศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างสูตรโครงสร้างที่แตกต่างกันของสารสังเคราะห์ โดยดูผลของหมู่แทนที่เป็นหลักพบว่าให้ผลที่สอดคล้องกับการกระตุ้นด้วย $BaCl_2$ โดยสารสังเคราะห์ที่มี nitro group เป็นหมู่แทนที่มีความแรงในการยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารมากที่สุดแตกต่างจากทั้ง methoxy group และ nitrogen อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนหมู่ methoxy group และ nitrogen มีความแรงในการยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อศึกษาถึงตำแหน่งในการแทนที่ พบว่ามีผลต่อความแรงในการออกฤทธิ์แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ โดยสารสังเคราะห์ที่มี nitro group เป็นหมู่แทนที่จะมีความแรงในการออกฤทธิ์ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารมากที่สุดโดยไม่ขึ้นกับตำแหน่งในการแทนที่ ส่วนสารสังเคราะห์ที่มี methoxy group เป็นหมู่แทนที่ พบว่าการแทนที่ในตำแหน่ง meta จะมีความแรงในการออกฤทธิ์มากกว่าการแทนที่ในตำแหน่ง para ในขณะที่สารสังเคราะห์ที่มีการแทนที่ด้วย nitrogen ในตำแหน่ง meta จะมีความแรงในการออกฤทธิ์น้อยกว่าการแทนที่ในตำแหน่ง para ดังนั้นจะเห็นได้ว่าสารสังเคราะห์ที่มีหมู่แทนที่ต่างกันจะมีความแรงในการออกฤทธิ์ต่างกัน โดยสารสังเคราะห์ที่มี nitro group เป็นหมู่แทนที่ จะมีความแรงในการออกฤทธิ์มากกว่าหมู่แทนที่อื่นอย่าง

มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในขณะที่ตำแหน่งในการแทนที่นั้นส่งผลต่อความแรงในการออกฤทธิ์อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้เมื่อศึกษาถึงผลของทั้งสองปัจจัยร่วมกัน พบว่าทั้งหมู่แทนที่ และตำแหน่งในการแทนที่มีผลต่อความแรงในการออกฤทธิ์ของสารสังเคราะห์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังแสดงในรูปที่ 62



รูปที่ 62 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง หมู่แทนที่ และตำแหน่งในการแทนที่ ของสารสังเคราะห์ เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM (n=6)

เมื่อศึกษาเปรียบเทียบการออกฤทธิ์ของสารสังเคราะห์เมื่อถูกกระตุ้นให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารด้วย BaCl₂ และ KCl ซึ่งในสภาวะที่มี Ca²⁺ ใน physiological solution สารกระตุ้นทั้ง 2 ชนิด ต่างมีการออกฤทธิ์ผ่าน VOC ทั้งคู่ แต่จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสังเคราะห์สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารที่ถูกกระตุ้นด้วย BaCl₂ ได้ทุกตัวทั้งในสภาวะที่ได้รับสารสังเคราะห์ก่อนได้รับสารกระตุ้น และในสภาวะที่ได้รับสารกระตุ้นก่อนได้รับสารสังเคราะห์ ในขณะที่การกระตุ้นด้วย KCl มีเพียงสารสังเคราะห์บางตัวเท่านั้นที่สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารได้ ซึ่งผลการทดลองที่แตกต่างกันอาจมีส่วนเกี่ยวข้องกับกลไกการออกฤทธิ์ของสารสังเคราะห์ เพราะเกิดการตีโพลาไรซ์ของเยื่อหุ้มเซลล์ โดย BaCl₂ จะมีกลไกเริ่มต้นจากการปิด K⁺ channels ก่อนแล้วจึงทำให้เกิดการ

ดีโพลาริเซชันของเยื่อหุ้มเซลล์ ในขณะที่ KCl จะอาศัยกลไกของการเกิดความต่างศักย์ระหว่างเยื่อหุ้มเซลล์เมมเบรน ทำให้เกิดการดีโพลาริเซชันของเยื่อหุ้มเซลล์เมมเบรน ดังนั้นจึงอาจเป็นไปได้ว่าสารสังเคราะห์กลุ่มนี้อาจมีกลไกการออกฤทธิ์บางส่วนเกี่ยวข้องกับ K^+ channels

นอกจากนี้ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ ได้ทำการศึกษาผลของสารสังเคราะห์ต่อการยับยั้งการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} จากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ผ่าน Ca^{2+} Channels (Ca^{2+} channels inhibitor) โดยทำการศึกษาจากการกระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบหดตัวด้วย $CaCl_2$ แบบ cumulative dose response curve ในสภาวะที่อยู่ในสารละลาย Ca^{2+} -free depolarizing solution (Hof and Vuorela, 1983) ซึ่งในสภาวะนี้สารละลายภายนอกเซลล์จะมี K^+ สูง ทำให้เกิดการเคลื่อนที่ของ K^+ จากภายนอกเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์ ทำให้ความต่างศักย์ของเซลล์ลดลงเกิดการ depolarizing ของ membrane ทำให้ VOC เปิดออก ซึ่งเป็นสภาวะที่เอื้อให้มีการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์ แต่กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารไม่สามารถหดตัวได้เนื่องจากในสารละลายไม่มี Ca^{2+} (Bolton, 1979; Karaki et al, 1997) ดังนั้นเมื่อให้ $CaCl_2$ จากภายนอกเซลล์แบบสะสมขนาดความเข้มข้นจะทำให้ Ca^{2+} เคลื่อนที่ผ่าน VOC เข้าไปภายในเซลล์ ทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหาร โดยการหดตัวที่เกิดขึ้นจะมีเกิดการหดตัวเพิ่มขึ้นตามปริมาณความเข้มข้นของ $CaCl_2$ ที่ให้ ซึ่งการหดตัวที่เกิดขึ้นนี้จะสามารถถูกยับยั้งได้ด้วย Ca^{2+} channel blocker (Yanagisawa et al, 1989; Kageyama et al, 1995) จากผลการศึกษาค้นคว้าพบว่า CU18-07, CU18-09, CU18-10, CU18-12 และ papaverine มีความสามารถในการเป็น Ca^{2+} channel inhibitor โดยยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหนูถีบจักร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $CaCl_2$ แบบ cumulative dose response ซึ่งพบว่าในขนาดความเข้มข้นของ $CaCl_2$ ต่ำ ๆ สารสังเคราะห์ทุกตัวสามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แต่เมื่อระดับความเข้มข้นของ $CaCl_2$ สูงขึ้นพบว่า CU18-08, CU18-11 และ CU18-13 ไม่สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารได้ จากกราฟระหว่าง $\log[CaCl_2]$ กับ %maximum contraction พบว่า CU18-09 มีความสามารถในการยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบมากที่สุด รองลงมาคือ CU18-10, CU18-12 และ CU18-07 ตามลำดับ เมื่อศึกษาถึงความสัมพันธ์ของสูตรโครงสร้างกับการออกฤทธิ์ ก็จะพบว่าสอดคล้องกับการศึกษาข้างต้น แสดงให้เห็นว่า CU 18-09 และ CU 18-10 ซึ่งมี nitro group เป็นหมู่แทนที่ มีความสามารถในการออกฤทธิ์ได้แรงที่สุดในกลุ่มของสารสังเคราะห์ แต่อย่างไรก็ตามสารสังเคราะห์ทุกตัวมีการออกฤทธิ์ที่แรงน้อยกว่า papaverine ซึ่งเป็นสารที่มีฤทธิ์คลายกล้ามเนื้อเรียบชนิดไม่เฉพาะเจาะจงต่อตัวกระตุ้น ในการศึกษานี้ไม่คำนวณค่า drug parameter เนื่องจากปริมาณความเข้มข้นของ $CaCl_2$ ที่ใช้ในการศึกษานี้ยังไม่ถึงจุด maximum contraction ของการหดตัว

ของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารเมื่อกระตุ้นด้วย CaCl_2 30 mM เนื่องจากในการทดลองในกลุ่มควบคุม พบว่าปริมาณความเข้มข้นของ CaCl_2 30 mM เป็นปริมาณความเข้มข้นสูงสุดที่ใช้ในการศึกษานี้ เนื่องจากเมื่อเพิ่มปริมาณความเข้มข้นของ CaCl_2 มากกว่านี้จะเริ่มเกิดการตกตะกอนขุ่นขาวของ CaCl_2 ดังนั้นจึงไม่สามารถเพิ่มความเข้มข้นของ CaCl_2 ไปมากกว่านี้

นอกจากนี้การศึกษาวิจัยครั้งนี้ได้เลือกศึกษาสาร CU 18-09 และ CU 18-12 ซึ่งเป็นสารที่มีการออกฤทธิ์แรงในการยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหาร แต่มีหมู่แทนที่ต่างกัน โดย CU 18-09 เป็นอนุพันธ์ของ acyl aniline ที่มี nitro group เป็นหมู่แทนที่ ส่วน CU 18-12 เป็นอนุพันธ์ของ acyl amino pyridine ที่มี nitrogen เป็นหมู่แทนที่ โดยการแทนที่ในตำแหน่ง para ทั้งคู่ เพื่อศึกษาถึงการออกฤทธิ์ของสารสังเคราะห์ในการยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่ถูกระตุ้นด้วย BaCl_2 ในสภาวะที่ปราศจาก Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์ โดยทำการศึกษาในกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารแบบ strip ในส่วน fundus แทนการศึกษาทั้งกระเพาะเหมือนการศึกษาที่ผ่านมา เนื่องจากในการศึกษานี้ต้องการให้กล้ามเนื้อเรียบอยู่ในสภาวะที่ปราศจาก Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์ ดังนั้นการใช้กระเพาะทั้งกระเพาะจึงไม่สามารถนำมาใช้ในการศึกษานี้ได้ เพราะในกระเพาะจะต้องบรรจุ physiological solution ภายใน ดังนั้นการทำให้อยู่ในสภาวะปราศจาก Ca^{2+} จึงทำได้ยาก ในการศึกษานี้ใช้ Ba^{2+} เป็นตัวกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหาร โดย Ba^{2+} มีคุณสมบัติเป็น non-selective blocking ต่อ K^+ channels (Wellman and Beven, 1995) พบว่า Ba^{2+} ที่ความเข้มข้นสูงจะมีผลต่อ Ca^{2+} -sensitive K^+ channels (Rudy, 1988) ในขณะที่ความเข้มข้นต่ำระดับ sub-millimolar จะมีผลต่อ ATP-sensitive K^+ channels (Standen et al, 1989) การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย BaCl_2 จะแตกต่างจากการกระตุ้นด้วย receptor ชนิดอื่น ๆ ที่ต้องอาศัยความสัมพันธ์ระหว่างระดับ Ca^{2+} จากภายนอกและภายในเซลล์ (Weiss, 1977) นอกจากนี้ Ba^{2+} อาจมีกลไกที่เกี่ยวข้องกับภายในเซลล์ โดยสามารถผ่านเข้าไปในเซลล์กล้ามเนื้อเรียบและทำหน้าที่แทน Ca^{2+} ในการกระตุ้น contractile protein ให้เกิดการหดตัวได้ (Uvelius et al, 1974) จากการศึกษาใน portal vein ของหนูขาว พบว่า BaCl_2 กระตุ้นให้มีการหลั่ง Ca^{2+} จากแหล่งสะสมภายในเซลล์ได้ (Uvelius and Sigurdssen, 1981) ในสภาวะที่ปราศจาก Ca^{2+} ในสารละลายภายนอก Ba^{2+} จะสามารถเข้าภายในเซลล์ผ่าน VOC และทำให้เกิดการหดตัวโดยไม่เกี่ยวข้องกับการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} ที่สะสมอยู่ (Karaki et al, 1986) นอกจากนี้การให้ BaCl_2 จากภายนอกเซลล์แบบสะสมขนาดความเข้มข้น (cumulative dose) ต่อกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหนูขาว พบว่าการหดตัวที่เกิดขึ้นจะเพิ่มขึ้นตามขนาดความเข้มข้นที่ให้ โดยมีการออกฤทธิ์ผ่าน VOC และออกฤทธิ์เหมือน Ca^{2+} ในการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหนูขาว (Hotta and Tsuzuki, 1968; Yu and Bose, 1991;

Murillo et al, 1997; Uchida et al, 1998) ซึ่งผลการศึกษาที่ได้พบว่าในสภาวะที่ปราศจาก Ca^{2+} จากภายนอก แล้วทำการกระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหดตัวด้วย BaCl_2 พบว่า ทั้ง CU 18-09 และ CU 18-12 สามารถลดการหดตัวที่เกิดขึ้นได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งการที่ CU 18-09 และ CU 18-12 สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารได้ ยังไม่สามารถอธิบายได้ชัดเจนว่าเกิดจากกลไกการออกฤทธิ์ของสารสังเคราะห์ที่ลดการเข้าของ Ba^{2+} จากภายนอกเซลล์เข้าภายในเซลล์ผ่านทาง VOC หรือเกิดจากการยับยั้งฤทธิ์ของ Ba^{2+} ต่อการกระตุ้นการหลั่ง Ca^{2+} ที่สะสมภายในเซลล์ อย่างไรก็ตามเชื่อว่าการยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารที่ถูกกระตุ้นด้วย Ba^{2+} อาจเกิดจากการทั้ง 2 กลไกร่วมกัน

สรุปผลการวิจัย

CU 18-09 และ CU 18-10 เป็นสารสังเคราะห์ที่มีโครงสร้างหลักเป็นอนุพันธ์ของ acyl aniline ที่มี nitro group เป็นหมู่แทนที่ พบว่ามีความแรงในการยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะแรงที่สุด เมื่อเทียบกับสารที่หมู่แทนที่อื่น โดยพบว่าในการกระตุ้นด้วย BaCl_2 และ KCl ซึ่งมีกลไกหลักในการออกฤทธิ์ผ่าน VOC การแทนที่ของ nitro group ในตำแหน่ง meta หรือ para ให้ความแรงในการออกฤทธิ์ไม่ต่างกัน ในขณะที่กระตุ้นด้วย ACh ซึ่งมีกลไกหลักในการออกฤทธิ์ผ่าน ROC ตำแหน่งในการแทนที่จะมีผลต่อการออกฤทธิ์ โดยการแทนที่ในตำแหน่ง para จะออกฤทธิ์ได้ดีกว่าในตำแหน่ง meta ส่วน CU 18-07 และ CU 18-08 ซึ่งมีสูตรโครงสร้างหลักเป็นอนุพันธ์ของ acyl aniline เหมือน CU 18-09 และ CU 18-10 แต่มี methoxy group เป็นหมู่แทนที่ ซึ่งมีคุณสมบัติในการเป็นเป็น electron withdrawal น้อยกว่า nitro group พบว่าในการกระตุ้นด้วย BaCl_2 และ KCl ให้ผลที่สอดคล้องกัน โดยพบว่าการแทนที่ของหมู่แทนที่ในตำแหน่ง meta จะทำให้สารมีการออกฤทธิ์แรงกว่าการแทนที่ในตำแหน่ง para แต่ในทางตรงกันข้าม เมื่อทำการกระตุ้นด้วย ACh กลับพบว่าการเติมหมู่แทนที่ที่ตำแหน่ง para จะทำให้สารสังเคราะห์ออกฤทธิ์คลายกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารแรงกว่าการแทนที่ในตำแหน่ง meta ในขณะที่ CU18-11 และ CU18-12 ซึ่งมีสูตรโครงสร้างหลักเป็นอนุพันธ์ของ acyl aminopyridine ที่มี nitrogen แทนที่ใน pyridine ring ที่ตำแหน่ง meta และ para ตามลำดับ กลับพบว่าการมีหมู่แทนที่ในตำแหน่ง para จะให้สารสังเคราะห์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารแรงกว่าการแทนที่ของหมู่แทนที่ในตำแหน่ง meta เสมอ ในทุกตัวกระตุ้นที่ใช้ในการศึกษา

จากผลการทดลองอาจสรุปได้ว่ากลไกที่สารสังเคราะห์แต่ละชนิดลดการบีบตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหนูถีบจักร เมื่อกระตุ้นด้วยสารกระตุ้นแต่ละชนิดได้ เป็นผลเนื่องจากสารสังเคราะห์ไปลดการเคลื่อนที่เข้าของ Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์ผ่าน VOC

ข้อเสนอแนะ

การศึกษาวิจัยในครั้งนี้ ยังเป็นเพียงจุดเริ่มต้นของการศึกษาเพื่อพัฒนายาใหม่โดยศึกษาการออกฤทธิ์ของสารสังเคราะห์ในการเป็น anti-spasmodic และความสัมพัทธ์ของสูตรโครงสร้างที่มีต่อการออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ในการคลายกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหาร จากการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ของสูตรโครงสร้างโดยการเปลี่ยนแปลงหมู่แทนที่ และ/หรือตำแหน่งในการแทนที่ของสารสังเคราะห์ล้วนมีผลต่อความแรงในการออกฤทธิ์ต่อกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะ ซึ่งจะเป็ข้อมูลพื้นฐานเพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาสารสังเคราะห์ในกลุ่มนี้ต่อไป ในปัจจุบันนี้แม้ว่าสารสังเคราะห์ดังกล่าวอาจจะยังไม่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ทางเภสัชวิทยาในเวลาอันใกล้ แต่ถ้าพิจารณาผลของสารสังเคราะห์ในแง่ของการออกฤทธิ์เป็น anti-spasmodic ซึ่งก็จะสอดคล้องกับการออกฤทธิ์ของยากลุ่ม calcium channel blocker ซึ่งการศึกษาเบื้องต้นในหัวใจหนูขาว พบว่าสารในกลุ่มนี้เพิ่มแรงบีบตัวของหัวใจ โดยไม่เพิ่มอัตราเร็วในการเต้นของหัวใจ (สิริรัตน์, 2545) นอกจากนี้ยังพบว่าสามารถคลายกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว (อมรรัตน์, 2545) ดังนั้นสารสังเคราะห์ในกลุ่มนี้น่าสนใจในการที่จะพัฒนาต่อไปในแง่ของยาโรคหัวใจ ในกลุ่มของ congestive heart failure เนื่องจากสามารถเพิ่มแรงบีบตัวของหัวใจโดยไม่เพิ่มอัตราเร็วการเต้นของหัวใจ และสามารถคลายหลอดเลือดได้ ซึ่งในปัจจุบันยาที่มีการออกฤทธิ์เพิ่มแรงบีบตัวของหัวใจ แต่คลายหลอดเลือด ได้แก่ Milrinone แต่อย่างไรก็ตามการศึกษานี้ยังเป็นเพียงขั้นต้นของการพัฒนา ยังจำเป็นต้องมีการศึกษาผลของสารสังเคราะห์อีกมากทั้งในแง่ของฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา และความแรงของสารสังเคราะห์ต่อกล้ามเนื้อเรียบอื่น ๆ และในสัตว์ทดลองที่มีความหลากหลายทาง species มากกว่านี้ รวมทั้งกลไกในการออกฤทธิ์อย่างชัดเจน นอกจากนี้ยังต้องทำการศึกษาในแง่ของพิษวิทยาควบคู่กันไป โดยศึกษาทั้งข้อดีและข้อเสียเพื่อเป็นข้อมูลในการพัฒนาต่อไป

จากผลการศึกษานี้พบว่ามึจุดที่น่าสนใจในการศึกษาการเกิด phasic contraction ในสภาวะปกติที่ปราศจากสารกระตุ้นของกล้ามเนื้อกระเพาะอาหารหลังได้รับ CU18-07 โดยสารกระตุ้นที่ทำให้เกิด phasic contraction คือ ACh และ KCl ในขณะที่การกระตุ้นด้วย $BaCl_2$ ไม่เกิด phasic contraction แต่กลับพบว่า CU 18-07 สามารถลดความตึงตัวของกล้ามเนื้อเรียบ

กระเพาะอาหารทั้งกระเพาะได้ ดังนั้นจึงคิดว่าเป็นเรื่องที่น่าสนใจที่จะศึกษาสาเหตุของการเกิด phasic contraction ในสภาวะที่ต่างกันนี้

นอกจากนี้พบว่าผลการศึกษาของ CU18-11 ที่มีความแรงในการยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารได้น้อย นอกจากนี้ในการกระตุ้นด้วย ACh และ KCl CU18-11 ไม่สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารได้ และพบว่าเพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในช่วงท้ายของ tonic contraction นอกจากนี้ในการศึกษาการผลของสารสังเคราะห์ให้ CaCl_2 แบบ cumulative dose พบว่า CU18-11 สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารได้ในช่วงแรก แต่ในช่วงท้ายที่ปริมาณ CaCl_2 สูงขึ้น จะไม่สามารถยับยั้งการหดตัวที่เกิดขึ้นได้ แต่กลับมีแนวโน้มเพิ่มความแรงในการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารเมื่อเทียบกับก่อนได้รับสารสังเคราะห์ ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับการศึกษาการออกฤทธิ์ในหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาวที่ไม่มี endothelium ซึ่งพบว่า CU18-11 ให้ผลเพิ่มการนำ Ca^{2+} เข้าของเซลล์ผ่านทาง VOC หรือ α - adrenoceptor (ปทุมมาศ, 2544)

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

- กฤษยา สายชุมอินทร์. 2541. ผลของ CU763-15-13 ต่อการหดตัวของลำไส้เล็ก หลอดเลือดแดงใหญ่ที่แยกจากกระต่าย และหลอดเลือดแดงใหญ่ และท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต ภาควิชาเภสัชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- คณิตา ยิ้มศรีใส. 2542. การเปรียบเทียบผลของ CU 763-16-04 และ CU 763-15-13 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหนูขาว และผลของ CU 763-16-04 ต่อหลอดเลือดแดงใหญ่กระต่ายที่แยกจากกาย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต ภาควิชาเภสัชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- เฉลิมเกียรติ สงคราม. 2539. การสังเคราะห์อนุพันธ์ของ วัลโปอิก เอซิด ที่ใช้ไฟรดอกซินเป็นโปรมอยเอที. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต ภาควิชาเภสัชเคมี บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ปทุมมาศ พิษพรม. 2544. ผลของสารสังเคราะห์ CU18-08, CU18-10 และ CU18-11 ต่อการเคลื่อนที่เข้าออกของแคลเซียมในกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาวที่แยกจากกาย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต ภาควิชาเภสัชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- มยุรี ตันตศิระ และทิพย์สุชน ชุมงาม. 2538. การศึกษาฤทธิ์เบื้องต้นในการต้านชักของ CU 763-10-01. (ม. ป. ท. เอกสารไม่ตีพิมพ์).
- วิฑูรย์ แซ่ตั้ง และ ชัยพร บุญวรรณ. 2543. การสังเคราะห์และฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของอนุพันธ์ของเอซิลอะมิโนไพริดีน และเอซิลอะนิลีน. วิทยานิพนธ์ เภสัชศาสตร์บัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- สิริรัตน์ สุชาวีอินทร์. 2545. ผลของซียู 18-11, ซียู 18-12 และซียู 18-13 ต่ออัตราการเต้นและแรงบีบตัวของหัวใจห้องบนขวาและซ้ายที่แยกจากหนูขาว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต สหสาขาวิชาเภสัชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- สุธาทิพ เกษตรลักษมี. 2539. ผลของ CU 763-10-01 ต่อหน้าที่ทางชีวพลังงานของไมโตรคอนเดรียที่แยกจากตับหนูขาว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต สหสาขาวิชาเภสัชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

- โสรัตติยา เจริญสมประสงค์. 2545. ผลของ CU 18-07, ซึ่ยู 18-09 และซึ่ยู 18-12 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต สาขาวิชาเภสัชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- หทัยรัตน์ เชื้อนเสน. 2545. ผลของอนุพันธ์เอซิลอะมิโนไพริดีน และเอซิลอะนิลีนต่อหน้าที่กระบวนการหายใจของไมโทคอนเดรียที่จากตับหนูขาว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต ภาควิชาเภสัชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- อมรรัตน์ ชัยนการนาวิ. 2545. ผลของสารซึ่ยู 18-07, ซึ่ยู 18-09, ซึ่ยู 18-12 และซึ่ยู 18-13 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ที่แยกจากหนูขาว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาเภสัชวิทยา สหสาขาวิชาเภสัชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- อัญชัชฎา ทิพย์วงศวิจิตร. 2543. ผลของอนุพันธ์ของ เอ็น-เอซิลอะมิโนไพริดีน ต่อสมรรถนะของเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดส และกระบวนการหายใจของไมโทคอนเดรียที่แยกจากตับหนูขาว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต สหสาขาวิชาเภสัชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- สุนเรื่อน แก้วพินิจ. 2541. ผลของ CU 763-15-13 ต่อหน้าที่ทางชีวพลังงานของไมโทโรคอนเดรียที่แยกจากตับหนูขาว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต ภาควิชาเภสัชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- อุรวรัตน์ ศักดิ์สิทธิ์วิวัฒน์. 2539. ผลของ CU763-10-01 ต่อกลิ้ามเนื้อเรียบที่แยกจากสัตว์ทดลอง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต ภาควิชาเภสัชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ภาษาอังกฤษ

- Antonio, A., Silva, M.R.E., and Yashuda Y. 1973. The tachyphylactic effect of barium in intestinal smooth muscle. Arch. Int. Pharmacolyn. 204: 260 – 267.
- Day, M., and Vane, J.R. 1963. An analysis of the direct and indirect action of drugs on the isolated guinea-pig ileum. Br.J. Pharmacol. 20: 150-170.
- Guyton, A.C., and Hall, J.E. 2000. General principle of gastrointestinal function. Textbook of medical physiology. Pp. 718-727. Philadelphia: saunder.
- Henry,R.B., and Mark, V.Z. 2001. Drug receptors & pharmacodynamics. In Katzung, R.B.(eds.), Basic & Clinical Pharmacology, pp. 27-28. New York: Mcgraw-Hill.

- Hof, R.P., and Vuorela, H.J. 1983. Assessing calcium antagonism on vascular smooth muscle: A comparison of three methods. J. Pharmacol. Methods. 9: 41-52.
- Horowitz, A., Menice, C.B., Laporte, R., and Morgan, K.G. 1996. Mechanisms of smooth muscle contraction. Physiol Rev. 76(4): 967-1003.
- Hotta, Y., and Tsuzuki, R. 1968. Effect on the guinea-pig taenia coli of the substitution of strontium or barium ions for calcium ions. Nature 217: 867-869.
- Karaki, H., Ozaki, H., Hori, M., Mitsui-Saito, M., Amano, K.I., Harada, K.I., Miyamoto, S., Nakazawa, H., Wan, K.J., and Sato, K. 1997. Calcium movements, distribution, and functions in smooth muscle. Pharmacol. Rev. 49: 157-230.
- Knittel, J.J., and Zavod, R.M. 2002. Drug design and relationship of functional groups to pharmacologic activity. In D. Troy (ed.), Foye's Principles of Medicinal Chemistry, pp. 37-67. New York: Lippincott Williams & Wilkins.
- Kuriyama, H., Kitamura, K., and Inoue, R. 1998. Physiological feature of visceral smooth muscle cell, with special reference to receptors and ion channels. Physiol.Rev. 78(2): 812-920.
- Kuriyama, H., Kitamura, K., and Nataba, H. 1995. Pharmacological and physiological significance of ion channels and factors that modulate them in vascular tissues. Pharmacology, 47: 387-573.
- Merieb, N.E. 1995. Digestion. Human anatomy and physiology, pp. 581-583. California: The Benjamin/Comings Publishing Company.
- Mishra, S.K., Das, P.K., and Sanyal, A.K. 1988. Barium-induced contraction of rat vas deferens in calcium-free solution. Arch. Int. Pharmacodyn. 244: 85-98.
- Murillo, M.D., Plaza, M.A., and Arruebo, M.P. 1997. The effects of Mn^{2+} , Zn^{2+} , Ba^{2+} and Ca^{2+} on spontaneous motility in sheep duodenum in vitro. Gen. Pharmacol. 28: 65-71.
- Noguera, M.A., and D'Ocon, M.P. 1993. Evidence that depletion of internal calcium stores sensitive to noradrenaline elicits a contractile response dependent on extracellular calcium in rat aorta. Br. J. Pharmacol. 110: 861-867.
- Olsson, C., and Holmgren, S. 2001. Review the control of gut motility. Comparative Biochemistry and Physiology Part A 128: 481-503.

- Pasricha, P.J. 2001. Prokinetic agents, antiemetics and agents used in irritable bowel syndrome. In J.G. Hardman, and I.E. Limbird (eds.), Goodman & Gilman's The Pharmacological basis of therapeutics, pp. 1021-1036. Philadelphia: McGraw-Hill.
- Petkov, G.V., and Boev, K.K. 1996. Cyclopiazonic acid-induced changes in contractile activity of smooth muscle strips isolated from cat and guinea-pig stomach. European Journal of Pharmacology 318: 109-115.
- Rang, H.P., Dale, M.M., and Ritter, J.M. 1999. The vascular system. In Rang, H.P., Dale, M.M., and Ritter, J.M. (eds.), Pharmacology, pp. 278-300. Edinburgh: Churchill Livingstone.
- Rudy, B. 1988. Diversity and ubiquity of K⁺ channels. Neuroscience 25: 729-749.
- Shimizu, K., Ichikawa, T., Urakawa, N., and Nakajyo, S. 2000. Inhibitory mechanism of Papaverine on the smooth muscle of guinea pig urinary bladder. JPN.J.Pharmacol. 83: 143-149.
- Shimodan, M., and Sunano, S. 1981. The initiation of phasic and tonic contraction by potassium and the effect of calcium, multivalent cations Ca²⁺-antagonist on potassium contracture in guinea-pig vas deferens. Jap. J. Physiol. 31: 15-27. (abstract)
- Spending, M., and Paoletti, R. 1992. Classification of calcium channels on the sites of action of drugs modifying channel function. Pharmacol. Rev. 44: 363-376.
- Standen, N., Quayle, J., Davies, N., Brayden, J., Huang, Y., and Nelson, M. 1989. Hyperpolarizing vasodilators activated ATP-sensitivity K⁺ channels in arterial smooth muscle. Science 245: 177-180. (abstract)
- Uchida, K., Yuzuki, R., and Kamikawa, Y. 1998. Ba²⁺ selectivity inhibits receptor-mediated contraction of the esophageal muscularis mucosae. Eur. J. Pharmacol. 362: 83-86.
- Uvelius, B., and Sigurdsson, S.B. 1981. Stimulating effects of Ba²⁺ on contractile activity in the smooth muscle of rat portal vein. Acta. Physiol Scand. 113: 201-205. (abstract)
- Van Rossum, J.M. 1963. Cumulative dose-response curves. Arch. Int. Pharmacodyn. Ther. 143: 299-330.

- Wang, M.B. 1990. Gastrointestinal physiology. In J. Bullock, J. Boyle, and M.B. Wang (eds.), Physiology, pp. 303-334. Pennsylvania: Williams & Wilkins.
- Weiss, G.B. 1975. Stimulation with high potassium. In E.F., Daniel and D.M. Paton (eds). Method in Pharmacology Smooth Muscle. Vol.3, pp. 339-345, New York London: Plenw Press.
- Wellman, G.C., and Beven, J.A. 1995. Barium inhibits the endothelium-dependent component of flow but not acetylcholine-induced relaxation in isolated rabbit cerebral arteries. J Pharmacol Exp Ther. 274(1): 47-53.
- Yu, J., and Bose, R. 1991. Calcium channels in smooth muscle. Gastroenterology 100: 1448-1460.



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารเคมี	Physiological solution			
	Tyrode's solution	High K ⁺ depolarizing solution	Krebs bicarbonate buffer	Calcium free-Krebs buffer
NaCl	8.00	1.58	6.91	6.91
KCl	0.20	7.46	0.34	0.34
CaCl ₂ (2H ₂ O)	0.21	-	0.24	-
MgSO ₄	-	-	0.30	0.30
KH ₂ PO ₄	-	-	0.16	0.16
D-glucose	1.00	1.98	1.80	1.80
EDTA	-	-	-	0.02
MgCl ₂ (6H ₂ O)	0.21	0.11	-	-
NaHCO ₃	1.00	-	2.08	2.08

ตารางที่ 4 ส่วนประกอบของ Physiological solutions (mM/L)

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาว ธนพันธ์ สุขสะอาด เกิดวันที่ 8 ตุลาคม 2516 ที่จังหวัดเชียงราย สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีเกสรศาสตร์บัณฑิต จากคณะเกสรศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2539 หลังจากนั้นเข้าทำงานตำแหน่งเภสัชกร ที่โรงพยาบาลป่าซาง จ.ลำพูน เป็นเวลา 2 ปี และย้ายไปทำงานที่โรงพยาบาลแม่ทา จ. ลำพูน เป็นเวลา 2 ปี และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรเกสรศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาเภสัชวิทยา ที่คณะเกสรศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2544



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย