

ผลของสารสกัดกวาวเครือแดงต่อหลอดเลือดดำที่แยกจากสายสะดือมนุษย์



นางสาวรุจิเรข บุญกาพิมพ์


สถาบันวิทยบริการ  
วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
สาขาวิทยาศาสตร์การแพทย์  
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2545

ISBN 974-17-3034-9

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EFFECT OF THE EXTRACT FROM *BUTEA SUPERBA* ON ISOLATED HUMAN  
UMBILICAL VEIN



Miss Rujirek Boongapim

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

Program of Medical Science

Faculty of Medicine

Chulalongkorn University

Academic Year 2002

ISBN 974-17-3034-9





# # 427 52480 30 : MAJOR MEDICAL SCIENCE

KEY WORDS : *BUTEA SUPERBA* / ENDOTHELIUM DERIVED RELAXING FACTOR  
(EDRF) / HUMAN UMBILICAL VEIN.

RUJIREK BOONGAPIM : EFFECT OF THE EXTRACT FROM *BUTEA SUPERBA*  
ON ISOLATED HUMAN UMBILICAL VEIN THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF.  
SOPIT THAMAREE , 80 pp. ISBN 974-17-3034-9

Ethanol extract of *Butea superba* was prepared . Thin layer chromatography (TLC) characterizing pattern of compounds in the ethanol extract of *Butea superba* was performed to obtain TLC fingerprint .To assess the vasodilating effect and mode of action of *Butea superba* extract (BSE) , isolated human umbilical vein was used. The effect was first studied whether its action was endothelium – mediated. The strips of isolated vein with or without endothelium were induced contraction with KCl. Nitric oxide synthase (NOS) inhibitor, Cyclooxygenase (COX) inhibitor and Potassium channel blocking agent are used in separated experiments with the same procedure as mentioned above in order to confirm the role of these mediators in producing vasodilating effect of *Butea superba* extract. The results showed inhibitory effect of *Butea superba* extract on KCl (high concentration) and histamine - induced vascular contraction. The inhibitory effect of the extract showed time and concentration - dependent manners. Moreover, the inhibitory effect of BSE required endothelium function. This study indicated that the vasodilating effects of BSE involved the EDRFs and EDHFs. There are at least 3 pathways of EDRFs and EDHFs such as Nitric oxide (NO) , Prostacyclin (PGI<sub>2</sub>) and Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factors (EDHFs) involved in the inhibitory action of BSE. Whereas *Butea superba* extract was unable to inhibit the 5-HT - induced vascular contraction.

Field of study Medical Science

Student's signature.....

Acedemic year 2002

Advisor's signature.....

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ เจ้าหน้าที่ทุกท่านของห้องคลอด และห้องผ่าตัดสูติ-นรีเวช โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย ที่กรุณาช่วยเหลือในการเก็บสายสะดือ

ขอขอบพระคุณ รศ. ดร. นิจศิริ เรืองรังษี ที่กรุณาสกัดสารสกัดกาวเครือแดงที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ ผศ. ดร. กรรณก อิงคนินันท์ ที่กรุณาทำการวิเคราะห์ TLC

ขอขอบพระคุณ รศ. พญ. วรนุช ธนากิจ ที่กรุณาทำการตรวจ histology ของหลอดเลือด

ขอขอบพระคุณ รศ. ไสภิต ธรรมอารี อาจารย์ที่ปรึกษา ที่คอยช่วยเหลือและให้คำปรึกษา

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านที่คอยเป็นกำลังใจ และ เจ้าหน้าที่ทุกท่านของภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ ที่คอยดูแลและช่วยเหลือ

ขอขอบพระคุณบิดา – มารดา พี่น้อง และ เพื่อนร่วมงานทุกท่านที่ส่งเสริมในการทำวิจัย

ขอขอบคุณ คุณเยาวรัตน์ หินชุย คุณประภค ศรีกิติกุลชัย คุณทิพย์สุดา ปลื้มใจ และ คุณพินัธส ปราบโรค ที่คอยช่วยในการเก็บสายสะดือ และเป็นกำลังใจ

ขอขอบคุณ ทุนอุดหนุนและส่งเสริมวิทยานิพนธ์ ระดับปริญญาโท –เอก ในสถาบันอุดมศึกษาของรัฐ ทบวงมหาวิทยาลัย และ ทุนอุดหนุนโครงการวิจัยหรือค้นคว้าเพื่อทำวิทยานิพนธ์ของบัณฑิตวิทยาลัย

นางสาว รุจิเรข บุญกาพิมพ์

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ .....	ช
สารบัญตาราง.....	ฌ
สารบัญรูปภาพ.....	ฎ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ.....	ฏ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
ความสำคัญและที่มาของปัญหา .....	1
วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
คำสำคัญ.....	3
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
กวางเครีแดง.....	4
การควบคุมแรงตึงตัวของหลอดเลือด.....	8
Endothelium.....	11
Endothelium-Derived Relaxing Factors(EDRF).....	12
สารมาตรฐานที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยครั้งนี้ .....	17
โครงสร้าง หน้าที่ และความสำคัญของสายสะดือมนุษย์.....	21
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย.....	24
ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา.....	24
เครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย.....	24
สารเคมี .....	25
วิธีดำเนินงานวิจัย.....	27
การวัดผลและการเสนอผลการวิจัย.....	36
การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ.....	36

## สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
บทที่ 4 ผลการทดลอง.....	37
บทที่ 5 สรุปและอภิปรายผลการทดลอง.....	61
รายการอ้างอิง.....	66
ภาคผนวก.....	71
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	80



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1. แสดงชนิดและหน้าที่ของ Histamine.....	18
2. แสดง 5-HT receptor แต่ละชนิด ตำแหน่ง หน้าที่ และ Second messenger.....	20
3. แสดง Rf value จากการวิเคราะห์ด้วย TLC ของสารสกัดกวางเครือแดง solvent system ; Hexene : ethyl acetate 3 : 1 (v/v).....	37
4. แสดง Rf value จากการวิเคราะห์ด้วย TLC ของสารสกัดกวางเครือแดง solvent system ; n-Butanol : Acetic acid : water 4:1:5(v/v/v).....	38
5. แสดงเปอร์เซ็นต์การหดตัวของหลอดเลือดที่ตอบสนองต่อ BSE.....	43
6. แสดงเปอร์เซ็นต์การหดตัวของหลอดเลือดที่ตอบสนองต่อสารมาตรฐาน KCl ความเข้มข้น 60 mM เมื่อกระตุ้นครั้งที่ 1 และกระตุ้นครั้งที่2.....	44
7. แสดงเปอร์เซ็นต์การตอบสนอง(หดตัว) ที่เปลี่ยนแปลงไปจากการกระตุ้นครั้งที่1 เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วยสารมาตรฐานKCl ความเข้มข้น 60 mM ครั้งที่ 2.....	46
8. แสดงเปอร์เซ็นต์การหดตัวของหลอดเลือดที่ตอบสนองต่อสารมาตรฐาน Histamine ความเข้มข้น $1 \times 10^{-4} M$ เมื่อกระตุ้นครั้งที่ 1 และกระตุ้นครั้งที่2.....	47
9. แสดงเปอร์เซ็นต์การตอบสนอง(หดตัว) ที่เปลี่ยนแปลงไปจากการกระตุ้น ครั้งที่ 1 เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วยสารมาตรฐาน Histamine ความเข้มข้น $1 \times 10^{-4} M$ ครั้งที่ 2.....	48
10. แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดเมื่อให้ BSE ความเข้มข้น 100 $\mu g/ml$ และสารมาตรฐาน KCl ความเข้มข้น 60 mM.....	50
11. แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดเมื่อให้ BSE ความเข้มข้น ต่าง ๆ และสารมาตรฐาน KCl ความเข้มข้น 60 mM.....	51
12. แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดเมื่อให้ BSEความเข้มข้น 400 $\mu g/ml$ และสารมาตรฐาน Histamine ความเข้มข้น $1 \times 10^{-4} M$ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม DMSO ที่ให้ร่วมกับ Histamine .....	54
13. แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดเมื่อให้ BSE ความเข้มข้น 400 $\mu g/ml$ และสารมาตรฐาน 5-HT ความเข้มข้น $1 \times 10^{-6} M$ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม DMSO ที่ให้ร่วมกับ 5-HT .....	59

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
14. แสดงผลการตอบสนองของหลอดเลือดเมื่อให้สารสกัดกวางเครือแดง (BSE).....	72
15. แสดงผลการตอบสนองของหลอดเลือดเมื่อให้สารมาตรฐาน KCl ความเข้มข้น 60 mM ครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2.....	73
16. แสดงผลการเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของหลอดเลือดเมื่อให้สารมาตรฐาน KCl ความเข้มข้น 60 mM.....	74
17. แสดงผลการตอบสนองของหลอดเลือดเมื่อให้สารมาตรฐาน Histamine ความเข้มข้น $1 \times 10^{-4}$ M ครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2.....	74
18. แสดงผลการเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของหลอดเลือดเมื่อให้สารมาตรฐาน Histamine ความเข้มข้น $1 \times 10^{-4}$ M ครั้งที่ 2 เปรียบเทียบกับครั้งที่ 1.....	75
19. แสดงผลการยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดเมื่อให้สัมผัสกับ BSE ความเข้มข้น 100 $\mu$ g/ml ระยะเวลาต่าง ๆ และสารมาตรฐาน KCl ความเข้มข้น 60 mM .....	75
20. แสดงผลการยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดเมื่อให้ BSE ความเข้มข้นต่าง ๆ และสารมาตรฐาน KCl ความเข้มข้น 60 mM .....	76
21. แสดงผลการยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดที่มีและไม่มีเยื่อหุ้มหลอดเลือดเมื่อให้ BSE ความเข้มข้น 400 $\mu$ g/ml และสารมาตรฐาน KCl ความเข้มข้น 60 mM เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม DMSO ที่ให้ร่วมกับ KCl.....	77
22. แสดงผลการยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดเมื่อให้ BSE ความเข้มข้น 400 $\mu$ g/ml และ สารมาตรฐาน Histamine ความเข้มข้น $1 \times 10^{-4}$ M เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม DMSO ที่ให้ ร่วมกับ Histamine.....	77
23. แสดงผลการยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดเมื่อให้ BSE ความเข้มข้น 400 $\mu$ g/ml และสารมาตรฐาน KCl ความเข้มข้น 60 mM เมื่อมีสารยับยั้งแต่ละชนิดหรือให้สารยับยั้งร่วมกัน.....	78
24. แสดงผลการยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดเมื่อให้ BSE ความเข้มข้น 400 $\mu$ g/ml และสารมาตรฐาน 5-HT ความเข้มข้น $1 \times 10^{-6}$ M เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม DMSO ที่ให้ร่วมกับ 5-HT.....	79

## สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1. แสดงลักษณะห้วกวาวเครือแดง.....	4
2. แสดงสูตรโครงสร้างขององค์ประกอบทางเคมีของกวาวเครือแดง.....	6
3. แสดงกลไกการหดตัวและคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....	9
4. แสดงกลไกการควบคุมการหดตัวและคลายตัวของหลอดเลือด.....	10
5. แสดงการสังเคราะห์ Prostacylin(PGI <sub>2</sub> ).....	14
6. แสดงการสังเคราะห์ Nitric oxide.....	16
7. แสดงระบบไหลเวียนโลหิตของทารก.....	22
8. แสดงลักษณะของ Organ bath ที่ใช้ในการทดลอง.....	25
9. แสดงการตัดส่วนของสายสะดือเพื่อนำมาทดลอง.....	28
10. แสดง chromatogram ที่ได้จากสารสกัดกวาวเครือแดง เมื่อตรวจวัดที่ 254 nm จากการทดลอง 2 ครั้ง เมื่อใช้ Hexane : Ethyl acetate 3:1(v/v).....	39
11. แสดง chromatogram ที่ได้จากสารสกัดกวาวเครือแดง เมื่อตรวจวัดที่ 366 nm จากการทดลอง 2 ครั้ง เมื่อใช้ Hexane : Ethyl acetate 3:1(v/v).....	39
12. แสดง chromatogram ที่ได้จากสารสกัดกวาวเครือแดง เมื่อตรวจด้วย anisaldehyde spraying reagent จาก การทดลอง 2 ครั้ง เมื่อใช้ Hexane : Ethyl acetate 3:1(v/v).....	40
13. แสดง chromatogram ที่ได้จากสารสกัดกวาวเครือแดง เมื่อตรวจวัดที่ 254 nm จากการทดลอง 2 ครั้ง เมื่อใช้ n-Butanol : Acetic acid : water 4:1:5(v/v/v).....	40
14. แสดง chromatogram ที่ได้จากสารสกัดกวาวเครือแดง เมื่อตรวจวัดที่ 366 nm จากการทดลอง 2 ครั้ง เมื่อใช้ n-Butanol : Acetic acid : water 4:1:5(v/v/v).....	41

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
15. แสดง chromatogram ที่ได้จากสารสกัดกวางเครือแดงเมื่อตรวจด้วย anisaldehyde spraying reagent จากการทดลอง 2 ครั้ง เมื่อใช้ n-Butanol : Acetic acid : water 4:1:5(v/v/v).....	41
16. ภาพทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของเนื้อเยื่อ (Histology) ของหลอดเลือด ที่ย้อมด้วย H&E.....	42
17. ภาพทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของเนื้อเยื่อ (Histology) ของหลอดเลือด ที่ย้อมด้วย CD 34.....	42
18. แสดงเปอร์เซ็นต์การคลายตัวของหลอดเลือดเมื่อให้ BSE.....	43
19. แสดงเปอร์เซ็นต์การหดตัวของหลอดเลือดที่ตอบสนองต่อ สารมาตรฐาน KCl ความเข้มข้น 60 mM เมื่อกระตุ้นครั้งที่ 1 เปรียบเทียบกับการกระตุ้นครั้งที่ 2.....	45
20. แสดงเปอร์เซ็นต์การตอบสนอง(หดตัว) ที่เปลี่ยนแปลงไป จากการกระตุ้นครั้งที่ 1 เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วยสารมาตรฐาน KCl ความเข้มข้น 60 mM ครั้งที่ 2.....	46
21. แสดงเปอร์เซ็นต์การหดตัวของหลอดเลือดที่ตอบสนองต่อ สารมาตรฐาน Histamine ความเข้มข้น $1 \times 10^{-4} M$ เมื่อกระตุ้น ครั้งที่ 1 เปรียบเทียบกับการกระตุ้นครั้งที่ 2.....	48
22. แสดงเปอร์เซ็นต์การตอบสนอง(หดตัว) ที่เปลี่ยนแปลงไปจาก การกระตุ้นครั้งที่ 1 เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วยสารมาตรฐาน Histamine ความเข้มข้น $1 \times 10^{-4} M$ ครั้งที่ 2.....	49
23. แสดงการเปรียบเทียบระยะเวลาสัมผัสกับ BSE ความเข้มข้น 100 $\mu g/ml$ กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดต่อสารมาตรฐาน KCl ความเข้มข้น 60 mM.....	50
24. แสดงการเปรียบเทียบผลของ BSE ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อ เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดที่ตอบสนอง ต่อสารมาตรฐาน KCl ความเข้มข้น 60 mM.....	52

## สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
25. แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดที่มี และไม่มีเยื่อหุ้มหลอดเลือดเมื่อให้ BSE ความเข้มข้น 400 $\mu\text{g/ml}$ และสารมาตรฐาน KCl ความเข้มข้น 60 mM.....	53
26. แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดที่มีเยื่อหุ้มหลอดเลือด เมื่อให้ BSE ความเข้มข้น 400 $\mu\text{g/ml}$ และสารมาตรฐาน Histamine ความเข้มข้น $1 \times 10^{-4} \text{M}$ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ให้ร่วมกับ Histamine .....	55
27. แสดงการเปรียบเทียบของเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือด เมื่อให้ BSE ความเข้มข้น 400 $\mu\text{g/ml}$ และสารมาตรฐาน KCl ความเข้มข้น 60 mM เมื่อมีสารยับยั้งแต่ละชนิดหรือให้สารยับยั้งร่วมกัน.....	58
28. แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดเมื่อให้ BSE ความเข้มข้น 400 $\mu\text{g/ml}$ และสารมาตรฐาน 5-HT ความเข้มข้น $1 \times 10^{-6} \text{M}$ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ให้ร่วมกับ 5-HT .....	60

## คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

AC	Adenylate cyclase
ADP	Adenosine diphosphate
ANP	Atrial natriuretic peptide
BSE	<i>Butea superba</i> extract
Ca <sup>2+</sup>	Calcium
CaCl <sub>2</sub>	Calcium chloride
cAMP	Cyclic adenosine monophosphate
cGMP	Cyclic guanosine monophosphate
CNS	Central nervous system
COX	Cyclooxygenase enzyme
CSF	Cerebrospinal fluid
DAG	Diacylglycerol
DMSO	Dimethylsuloxide
EDCF	Endothelium- derived constricting factor
EDHF	Endothelium-derived hyperpolarizing factor
EDRF	Endothelium-derived relaxing factor
EET	Epoxyeicosatrienoic acid
EGF	Epidermal growth factor
eNOS	Endothelial nitric oxide synthase
FAD	Flavin adenined dinucleotide
FMN	Flavin mononucleotide
GC	Guanylate cyclase
GI	Gastrointestinal
GTP	Guanosine triphosphate
5-HT	5-hydroxytryptamine
Indo	Indomethacin
iNOS	Inducible nitric oxide synthase
IP <sub>3</sub>	Inositol Triphosphate

## คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ (ต่อ)

$K^+$	Potassium
$K_2HPO_4$	Potassium hydrogen phosphate
KCl	Potassium chloride
KHS	Kreb's Henseleit Solution
$LD_0$	Lethal dose 0%
$LD_{100}$	Lethal dose 100%
M	Molar
$\mu g$	Microgram
$MgSO_4$	Magmesium sulphate
ml	Milliliter
MLCK	Myosin light chain kinase
mM	Millimolar
$Na^+$	Sodium
NaCl	Sodium chloride
$NaCO_3$	Sodium hydrogen carbonate
NADPH	Nicotinamine adenine dinucleotide phosphate
NE	Norepinephrine
nm	nanometer
NNA	$N^{\square}$ -nitro-L-arginine
nNOS	Neuronal nitric oxide synthase
NO	Nitric oxide
$NO_2^-$	Nitrite
$NO_3^-$	Nitrate
NOS	Nitric oxide synthase
PDE	Phosphodiesterase
PDGF	Plaltelet-derived growth factor
$PGG_2$	Prostaglandin $G_2$
$PGI_2$	Prostacyclin



### คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ (ต่อ)

pH	The negative logarithm of the concentration of hydrogen ions
PKA	Protein kinase A
PKG	Protein kinase G
PL	Phospholipid
PLC	Phospholipase C
PNS	Parasympathetic nervous system
PO <sub>4</sub>	Phosphate
Rf	Retardation factor
ROC	Receptor-operated Channels
TEA	Tetraethylammonium chloride
TLC	Thin layer chromatography
UTP	Uridine triphosphate
VOC	Voltage-gated calcium channels
v/v	Volume by volume

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



# บทที่ 1

## บทนำ

### ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ในปัจจุบัน ประชาชนชาวไทย และทั่วโลก ได้เริ่มให้ความสนใจกับสุขภาพของตนเองมากขึ้น วิธีการจัดการกับการเจ็บป่วย ได้เปลี่ยนรูปแบบเป็นการคืนสู่ธรรมชาติมากยิ่งขึ้น และเกิดกระแสนิยมการใช้ผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติมากขึ้น รวมทั้งการกลับมาใช้สมุนไพรในการรักษา ดังนั้นสมุนไพรจึงเป็นสิ่งที่ได้รับความสนใจ ไม่ว่าจะเป็นการค้นคว้าหายาใหม่ ที่อาจจะนำมาใช้ในการรักษาหรือใช้เป็นอาหารเสริมและเครื่องสำอาง นอกจากนี้ในส่วนของรัฐเองก็ให้ความสำคัญในการศึกษาและพัฒนาการแพทย์แผนไทยมากขึ้น โดยเริ่มมีการบรรจุนโยบายเกี่ยวกับสมุนไพรลงในแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ ฉบับที่ 4 สืบเนื่องต่อมาจนกระทั่งถึงแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ ฉบับที่ 9 ( พ.ศ. 2545 - 2549) โดยแผนพัฒนาสุขภาพแห่งชาติ ฉบับที่ 9 ซึ่งรองรับแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ ฉบับที่ 9 ได้มีการบรรจุเป็นยุทธศาสตร์ เพื่อเร่งสร้างระบบบริหารจัดการความรู้และภูมิปัญญาเพื่อสุขภาพ ด้วยการส่งเสริมการวิจัยและพัฒนาการแพทย์แผนไทย สมุนไพร และภูมิปัญญาท้องถิ่น ด้านสุขภาพให้มีมาตรฐานเป็นที่ยอมรับ สามารถที่จะใช้ประโยชน์ ทั้งในระบบบริหารสุขภาพและในระดับการดูแลสุขภาพตนเอง และให้สามารถคุ้มครองสิทธิทางปัญญาของไทยได้<sup>(1)</sup>

การรู้จักนำเอาพืชสมุนไพรที่ใช้รับประทานเป็นอาหาร มาใช้ในการป้องกันและรักษาโรคต่าง ๆ ได้กระทำกันมาเป็นเวลานานแล้ว โดยอาศัยจากคำบอกเล่าสืบต่อกันมา หรือจากตำราแพทย์แผนโบราณ แต่อย่างไรก็ตามการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับ คุณสมบัติทางเคมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา และ ความปลอดภัยในการนำสมุนไพรมาใช้ นับว่ายังมีน้อยมาก ดังนั้นการวิจัยเกี่ยวกับประสิทธิภาพ (efficacy) ในการรักษาโรคของสมุนไพรไทยจึงมีความสำคัญอย่างยิ่งเพื่อเป็นหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ เพื่อรองรับการศึกษาวิจัยแบบครบวงจร อันต้องประกอบด้วย การศึกษาวิจัยทางพฤกษศาสตร์ ได้แก่การตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ทั้งมหภาค และจุลภาค เพื่อพิสูจน์ยืนยัน วงศ์ (Family) & ชนิด (species) ตลอดจนการเพาะปลูก การเก็บเกี่ยว การขยายพันธุ์ การศึกษาทางเคมี เกี่ยวกับองค์ประกอบ และสูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ การศึกษาเกี่ยวกับความเป็นพิษ การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา เภสัชจลนศาสตร์ เภสัชจลนศาสตร์ และการศึกษาทางคลินิก เพื่อที่จะได้พัฒนาเป็นยาแผนปัจจุบัน

กวาวเครือ เป็นหนึ่งในจำนวนสมุนไพรไทยหลายชนิด ซึ่งกำลังได้รับความสนใจจากประชาชนทั่วไปและนักวิจัย ในการแพทย์แผนไทยได้มีการใช้กวาวเครือเป็นสมุนไพรสำคัญตัวหนึ่งมาตั้งแต่โบราณ มีสรรพคุณสำคัญที่ได้มีการบันทึกไว้ในตำรายาหัวกวาวเครือของหลวงอนุสารสุนทร กล่าวว่า คนอ่อนเพลีย ผอมแห้ง แรงน้อย นอนไม่หลับ กินไม่ได้ กินกวาวเครือ 20-30 วัน โรคอ่อนเพลียหายสิ้น นอนหลับสบาย เดินไปมาได้ปกติ เป็นยาอายุวัฒนะ บำรุงโลหิต บำรุงสมอง บำรุงกำลัง <sup>(2)</sup> กวาวเครือจัดเป็นพืชตระกูลถั่ว พบมากตามป่าเบญจพรรณ ทางภาคเหนือ กวาวเครือที่พบในประเทศไทย เท่าที่มีรายงานพบว่ามี 4 ชนิดด้วยกันคือ 1) กวาวเครือขาว (*Pueraria mirifica*) 2) กวาวเครือแดง (*Butea superba*) 3) กวาวเครือมอ 4) กวาวเครือดำ (ชนิดที่ 3 และ 4 ไม่ปรากฏชื่อวิทยาศาสตร์) นอกจากนี้ยังมีรายงานอื่น ๆ ที่ระบุว่า มีกวาวเครือ (กวาวจีน) และกวาวเครืออีกด้วย <sup>(3)</sup>

ในปัจจุบันเราทราบว่า กวาวเครือขาว มีสารที่มีฤทธิ์เหมือนฮอร์โมนเพศหญิงเรียก phytoestrogen สามารถขยายทรวงอก บำรุงผิวพรรณ ซึ่งเป็นที่น่าสนใจอย่างยิ่ง และกวาวเครือแดงเป็นกวาวเครืออีกประเภทหนึ่งที่กำลังได้รับความสนใจในสรรพคุณที่เชื่อว่า กวาวเครือแดงสามารถเพิ่มสมรรถภาพทางเพศของเพศชาย เปรียบเทียบได้เช่นเดียวกับ Sildenafil Citrate (Viagra<sup>®</sup>) ซึ่งเป็นยารักษาอาการเสื่อมสมรรถภาพทางเพศที่ทั่วโลกยอมรับกันดี ทำให้ กวาวทั้ง 2 ชนิด เป็นสมุนไพรที่น่าจะได้รับความสนใจค่อนข้างสูง ในปัจจุบันได้มีหลายบริษัทพยายามผลิตสมุนไพรทั้งสองชนิดออกมาจำหน่ายเป็นจำนวนมาก ทั้งที่ยังไม่มีข้อมูลทางวิทยาศาสตร์มารองรับเพียงพอ การศึกษาวิจัยเกี่ยวกับกวาวเครือขาวในด้านต่าง ๆ มีค่อนข้างมาก ทั้งการออกฤทธิ์ และพิษวิทยา แต่ข้อมูลการศึกษาที่จะเป็นหลักฐานทางวิทยาศาสตร์รองรับสรรพคุณของกวาวเครือแดงมีค่อนข้างน้อย โดยเฉพาะอย่างยิ่ง การศึกษาด้านเภสัชวิทยายังมีข้อมูลไม่เพียงพอที่จะยืนยันการออกฤทธิ์ของสมุนไพรดังกล่าว การศึกษาฤทธิ์และการออกฤทธิ์ของกวาวเครือแดงจะทำให้ได้ข้อมูลสนับสนุนเพื่อสามารถใช้เป็นแนวทางในการศึกษาอื่น ๆ ต่อไป เพื่อที่จะนำไปสู่การพัฒนาอย่างครบวงจรเพื่อให้สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการรักษาโรคได้อย่างถูกต้องและปลอดภัย และอาจจะนำไปสู่การพัฒนาใหม่ (New drug) ต่อไป

จากข้อมูลสนับสนุนเบื้องต้นเกี่ยวกับสรรพคุณและการนำกวาวเครือแดงมาใช้ ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับฤทธิ์การคลายตัวของหลอดเลือด จึงทำให้เกิดความสนใจว่า กวาวเครือแดงน่าจะมีฤทธิ์ขยายหลอดเลือดได้ ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะทำการศึกษาฤทธิ์และกลไกการออกฤทธิ์ดังกล่าว โดยใช้ตัวอย่างในการศึกษาเป็นหลอดเลือดดำจากสายสะดือมนุษย์

เนื่องจากว่าเป็นหลอดเลือดของมนุษย์ ซึ่งจะทำให้ผลการศึกษาที่ได้สามารถนำมาใช้ขยายผลในมนุษย์ได้

### วัตถุประสงค์ของงานวิจัย(Objective)

1. เพื่อศึกษาว่าสารสกัดกวางเครือแดงมีผลในการขยายหลอดเลือดหรือไม่
2. เพื่อศึกษาว่าการออกฤทธิ์ของกวางเครือแดงออกฤทธิ์ผ่าน Endothelial cell และผ่านการสร้างสารที่มีฤทธิ์ขยายหลอดเลือดที่สร้างโดย Endothelial cell (Endothelium Derived Relaxing Factors) เช่น Nitric oxide , Prostacyclin หรือไม่

### ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย

เป็นข้อมูลทางเภสัชวิทยาพื้นฐานอธิบายการออกฤทธิ์และกลไกการออกฤทธิ์ของสารสกัดกวางเครือแดงต่อหลอดเลือด และจะยืนยัน Efficacy ของกวางเครือแดง เพื่อศึกษาต่อไปในขั้นตอนก่อนคลินิกและขั้นตอนคลินิก

### คำสำคัญ (Key word)

*Butea superba*

Endothelium-Derived Relaxing Factor (EDRF)

Human umbilical vein

Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factor (EDHF)

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## บทที่ 2

### เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### กวาวเครือแดง

กวาวเครือแดง มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ *Butea superba* Roxb. เป็นพืชในวงศ์ Leguminasae<sup>(4)</sup> มีชื่อท้องถิ่นที่เรียกกันได้แก่ กวาวเครือ จานเครือ ตานจอมทอง ฟ้าตะกุก โป่มือ ทองเครือ จอมทอง ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ เป็นไม้เถาเนื้อแข็ง เลื้อยพาดพันต้นไม้ใหญ่อื่น ๆ มีใบย่อย 3 ใบ คล้ายใบทองหลาง ใบบาง มน ปลายใบสอบแหลม ดอกคล้ายดอกแค สีเหลืองทองอร่าม เวลาออกดอกจะทำการผลัดใบ หัวกวาวเครือแดงเป็นหัวใต้ดิน มีลักษณะยาวคล้ายมันสำปะหลัง (ดังรูปที่ 1) ผ่าดูข้างในจะมีสีค่อนข้างเหลือง และเมื่อทิ้งไว้จะเป็นสีน้ำตาล หัวประกอบด้วย เม็ดแป้ง และยางในหัวมีสีแดงดังสีเลือดสด<sup>(4,5)</sup>



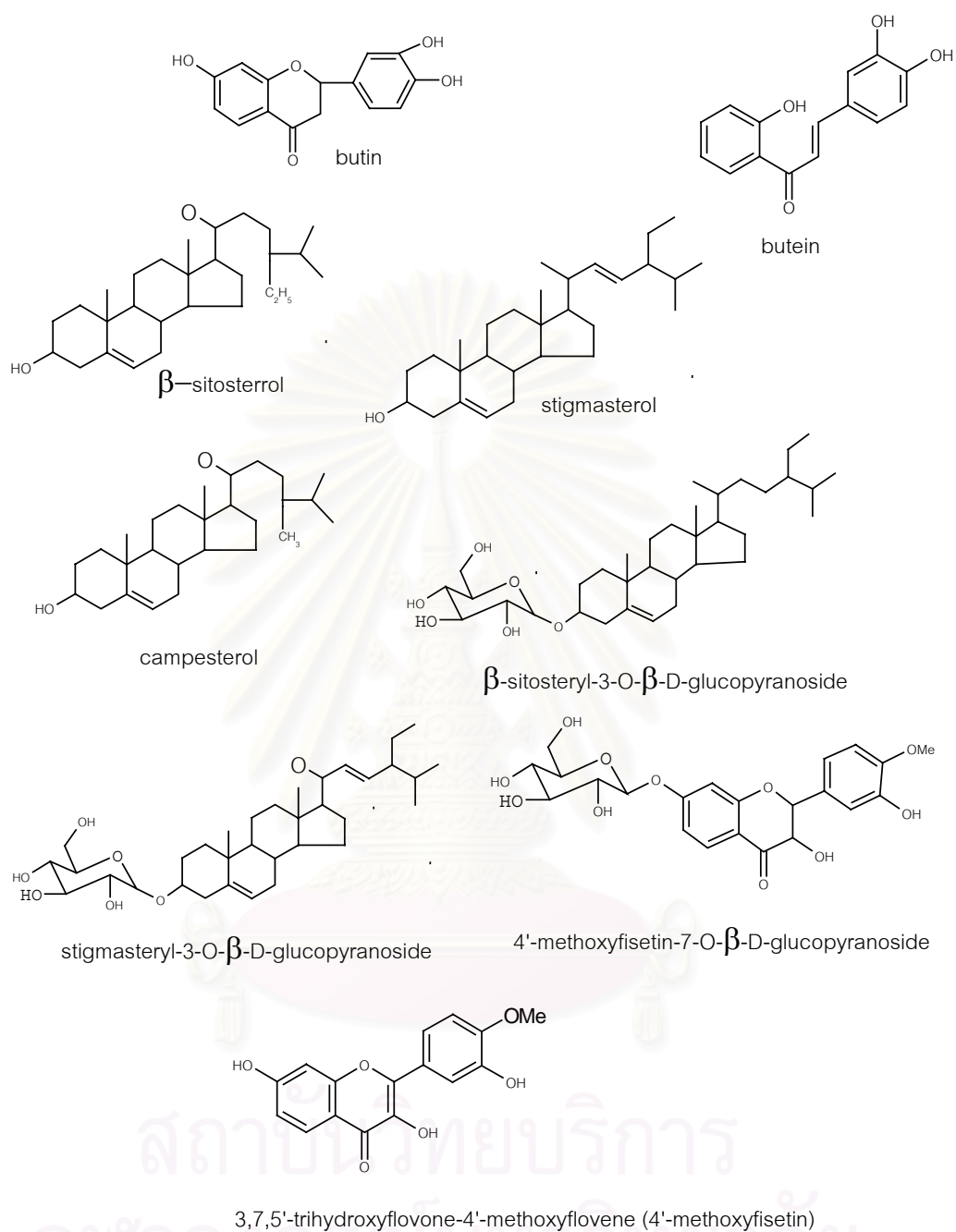
รูปที่ 1 แสดงลักษณะหัวกวาวเครือแดง

การกระจายของพืช พบได้ทางภาคเหนือ ตะวันออกเฉียงเหนือ ตะวันออก<sup>(6)</sup> การขยายพันธุ์สามารถขยายพันธุ์ได้โดยการเพาะเมล็ด แยกหัว ถอดราก ตัดชำ และปัจจุบันสามารถขยายพันธุ์ได้ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออีกด้วย<sup>(7)</sup>

สรรพคุณในตำราแพทย์แผนไทยเท่าที่มีระบุไว้ กล่าวว่า รากและใบทำให้นอนหลับและเสพติด ลำต้นแก้ลม อัมพาต เปลือกแก้ปวดฟัน ขับเสมหะ แก้ไข้ ผลแก้พยาธิ จุกเสียด ลงท้อง แก้สะพั้น เจริญไฟธาตุ รับประทานเป็นยาอายุวัฒนะ บำรุงกำลัง บำรุงเนื้อให้เจริญ ทำให้เลือดคั่งเต่งที่มดลูก และบำรุงอวัยวะสืบพันธุ์ให้เจริญ ถ้ารับประทานมากจะมีเมาและเป็นพิษ<sup>(2,6)</sup>

## งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากการศึกษาองค์ประกอบของ สารสกัดกวางเครือแดง โดยการกลั่น Reflux ด้วย 95 % alcohol เป็นเวลา 6 ชั่วโมง แล้วแยกสารเคมี จะพบ Butein และ Butin ในสารสกัดกวางเครือแดง<sup>(8)</sup> และการสกัดด้วยการแช่ methanol พบว่า องค์ประกอบทางเคมีในหัวกวางเครือแดงประกอบด้วย กรดอินทรีย์โซ่ตรง 5 ชนิด คือ Dodecosanic acid [ $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{19}-\text{CH}_2-\text{COOH}$ ], Tricosanic acid [ $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{20}-\text{CH}_2-\text{COOH}$ ], Tetracosanic acid [ $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{21}-\text{CH}_2-\text{COOH}$ ], Pentacosanic acid [ $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{22}-\text{CH}_2-\text{COOH}$ ], Hexacosanic acid [ $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{23}-\text{CH}_2-\text{COOH}$ ] สเตอรอยด์ 3 ชนิดคือ Campesterol, Stigmasterol,  $\beta$ -sitosterol สเตอรอยด์ไกลโคไซด์ 2 ชนิดคือ  $\beta$ -sitosteryl-3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside และ Stigmasteryl-3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside ฟลาโวนอยด์ คือ 3,7,5'-trihydroxy-4'-methoxyflavone และ ฟลาโวนอยด์ไกลโคไซด์ คือ 4'-methoxyfisetin-7-O- $\beta$ -D-glucopyranoside สูตรโครงสร้างสารเคมีที่พบแสดงดังรูปที่ 2<sup>(9)</sup> และเมื่อนำ ฟลาโวนอยด์ และ ฟลาโวนอยด์ไกลโคไซด์ มาศึกษาพบว่า มีฤทธิ์ยับยั้ง cAMP phosphodiesterase<sup>(10)</sup> สอดคล้องกับการศึกษา กวางเครือแดงที่สกัดด้วยเอทานอล พบว่าที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์ยับยั้ง cAMP phosphodiesterase มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ และนำมาทำการสกัดแยกคอลัมน์โครมาโตกราฟี สามารถแยกองค์ประกอบได้ 9 ส่วน และมี 8 ส่วนใน 9 ส่วน ที่แสดงฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ cAMP phosphodiesterase และทราบสารที่ออกฤทธิ์ 1 ชนิด คือ 3,7,5'-trihydroxy-4'-methoxyflavone<sup>(11)</sup>



รูปที่ 2 แสดงสูตรโครงสร้างขององค์ประกอบทางเคมีของหัวกวาวเครือแดง<sup>(8,9)</sup>



ผงกวาวเครือแดง 0.06 กรัมละลายน้ำมีความเป็นพิษต่อหนูถีบจักร<sup>(12)</sup> ให้ผงของหัวกวาวเครือแดงแก่หนูแรทพันธุ์ Wistar ทางปากเป็นเวลา 6 เดือน พบว่า ขนาด 10 มก/กก/วัน ไม่มีผลทำให้เกิดพยาธิสภาพของหนู แต่ ผงกวาวเครือแดง ขนาด 250 มก/กก/วัน ขึ้นไป มีผลทำให้เกิดพยาธิสภาพของอวัยวะภายในของหนูโดยเฉพาะที่ตับ<sup>(13)</sup>

ขณะเดียวกันกวาวเครือแดงบรรจุแคปซูลที่จำหน่ายในจังหวัดเชียงใหม่ เมื่อให้แก่หนูเพศผู้เป็นเวลานาน 6 เดือน ไม่มีผลต่อ เลือด ตับ ไต อวัยวะสืบพันธุ์ และอวัยวะภายในที่สำคัญ แต่ปริมาณของเซปิร์มเพิ่มขึ้น ซึ่งกลุ่มที่ให้กวาวเครือแดงขนาด 5 มก/กก/วัน และกลุ่มที่ให้น้ำเกลือจะพบเซปิร์มที่ผิดปกติมากกว่าในกลุ่มให้กวาวเครือแดงขนาด 100 มก/กก/วัน และ กลุ่มควบคุม<sup>(14)</sup>

เมื่อให้กวาวเครือแดงในหนู นาน 90 วัน ในหนูเพศเมียไม่พบพิษกึ่งเรื้อรัง แต่ในหนูเพศผู้กวาวเครือแดงขนาดตั้งแต่ 150 มก/กก/วัน จะทำให้มีการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา และระดับฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับการสืบพันธุ์<sup>(15,16)</sup>

ใบกวาวเครือแดง มีความเข้มข้นสูงสุดที่ทำให้เกิดการตาย 0 เปอร์เซ็นต์ (LD<sub>0</sub>) คือ 1,000 ppm หรือ 0.1% และ ความเข้มข้นต่ำสุดที่ทำให้เกิดการตาย 100 เปอร์เซ็นต์ (LD<sub>100</sub>) คือ 10,000 ppm หรือ 1 %<sup>(17)</sup>

เมื่อให้ดอกขนาด 10 ก/กก โดยการรอกทางปากหรือการฉีดใต้ผิวหนังจะไม่เกิดพิษต่อหนูถีบจักร<sup>(18)</sup> และดอกกวาวเครือแดง 0.01 กรัม ไม่มีผลทางเภสัชวิทยาต่อ ลำไส้ส่วน Ileum ของหนูตะเภา ไม่มีผลต่อระบบหัวใจและหลอดเลือดสุนัข และไม่มีผลลดไข้ในกระต่ายอีกด้วย<sup>(19)</sup>

หัวแห้ง หัวสด เปลือกแห้ง เปลือกสด ของกวาวเครือแดงสามารถทำให้ ความดันของ Intracavernous ในหนูเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะ หัวแห้ง ให้ผลแรงที่สุด<sup>(20)</sup> นอกจากนั้น ฟลาโวนอยด์ ไกลโคไซด์ ที่ได้จากลำต้นของกวาวเครือแดงยังมีฤทธิ์ ต้านจุลชีพ (Antimicrobial activity) ทั้งในกลุ่มเชื้อราและแบคทีเรีย<sup>(21)</sup>

## การควบคุมแรงดึงตัวของหลอดเลือด<sup>(22,23)</sup>

ในปัจจุบันเป็นที่ทราบกันดีว่าระบบไหลเวียนโลหิตจะเกิดการไหลเวียนโลหิตไปทั่วร่างกาย ต้องอาศัยการบีบตัวของหลอดเลือดโดยเกิดเนื่องจากการหดตัวและคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบภายในหลอดเลือดนั่นเอง ซึ่งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด (Vascular smooth muscle) เกี่ยวข้องโดยตรงกับปริมาณแคลเซียมภายในเซลล์ ( $[Ca^{2+}]$ ) และความไวของ Contractile element ต่อแคลเซียม ในการตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมภายในเซลล์ อันเกิดจากสารต่าง ๆ ได้แก่ สารสื่อประสาท (เช่น Norepinephrine) สารจากเยื่อหลอดเลือด หรือ ฮอรโมน เป็นต้น

การควบคุมแคลเซียมอิสระภายในเซลล์ของกล้ามเนื้อเรียบขึ้นกับ 2 ปัจจัย คือ การเข้าเซลล์กล้ามเนื้อเรียบและการออกจากเซลล์กล้ามเนื้อเรียบของแคลเซียม ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ (Plasma membrane) การเข้าเซลล์ของแคลเซียมมีทั้งแบบ อาศัย Leak mechanism หรือ Resting influx เข้ามาแล้วเก็บสะสมอยู่ใน Sarcoplasmic reticulum เป็นส่วนใหญ่ และอีกบางส่วนจะเก็บสะสมใน Mitochondria ซึ่งการแพร่ผ่านของแคลเซียมแบบนี้จะถูกเก็บสะสมไว้และไม่ทำให้แคลเซียมภายในเซลล์เพิ่มขึ้นโดยตรง จนกระทั่ง เกิดการกระตุ้น จึงจะปลดปล่อยแคลเซียมอิสระออกมาภายใน Cytoplasm นอกจากการ Leak เข้าเซลล์แล้ว แคลเซียมสามารถผ่านเข้าเซลล์ได้ทาง Voltage-gated calcium channels (VOC) ซึ่งเมื่อมีการเปลี่ยนแปลง Action potential ที่ผนังเซลล์ แล้วเกิด Depolarization ทำให้ Channels เปิดออก แคลเซียมจะผ่านเข้าเซลล์ได้ อีกทางหนึ่ง โดยจะผ่านเข้ามาทาง Receptor-operated channels (ROC) ซึ่งมีสารมากระตุ้น ได้แก่ สารกลุ่มที่ทำให้หลอดเลือดหดตัว (Norepinephrine , Acetylcholine , Serotonin , Histamine ) มาจับกับ Receptor ที่เฉพาะเจาะจงกับสารนั้น ๆ เกิดการสร้าง Second messengers ที่ไปกระตุ้นให้ Receptor-operated channels เปิดออก แคลเซียมจากภายนอกเคลื่อนที่เข้าสู่เซลล์ได้ ในขณะที่เดียวกัน แคลเซียมก็สามารถเคลื่อนที่ผ่านออกไปจากเซลล์ได้โดยอาศัยเส้นทาง  $Na^+ / Ca^{2+}$ -ATPase และ  $Na^+ / Ca^{2+}$  exchanger

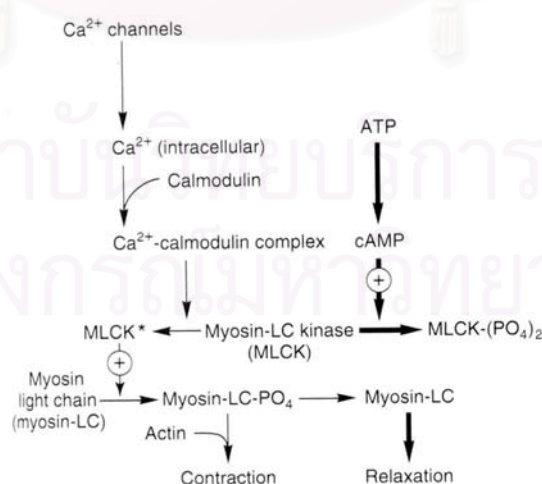


### ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแคลเซียมกับการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ

การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบเกิดจากการเพิ่มขึ้นของแคลเซียมภายในเซลล์ หรือ ความไวในการตอบสนองของ myofilament ต่อแคลเซียมเพิ่มสูงขึ้น โดยปริมาณของแคลเซียมสามารถที่จะเพิ่มขึ้นได้จาก

1. การกระตุ้น receptor ที่ไปกระตุ้น Phospholipase C (PLC) ให้เกิดการสร้าง Inositol triphosphate ( $IP_3$ ) จาก Phospholipid (PL) ทำหน้าที่กระตุ้นการหลั่งแคลเซียมออกมาจาก Sarcoplasmic reticulum
2. เมื่อ Action potential ของผนังเซลล์เปลี่ยนแปลง เกิด Depolarization ทำให้ VOC เปิดออก แล้วแคลเซียมจากภายนอกเคลื่อนที่ผ่านเข้ามา
3. มีตัวมากระตุ้นที่ Receptor ที่ส่งผลให้ ROC เปิดยอมให้แคลเซียมเคลื่อนที่เข้าเซลล์

ทั้งสามเส้นทางจะทำให้ปริมาณแคลเซียมอิสระภายในเซลล์เพิ่มสูงขึ้น แคลเซียมจะไปจับ Calmodulin กลายเป็น Calcium-calmodulin complex กระตุ้น Myosin light chain kinase (MLCK) ให้เกิด Phosphorylate กับ Myosin light chain แล้วจับตัวกับ Actin ส่งผลให้เกิดการหดตัวของ Myofilament หลอดเลือดจึงเกิดการหดตัว นอกจากนั้นการหดตัวยังสามารถเกิดขึ้นหาก Activity ของ Myosin phosphatase ลดลง ทำให้ Sensivity ต่อการเปลี่ยนแปลงของแคลเซียมเพิ่มขึ้น เนื่องจาก Myosin phosphatase ทำหน้าที่ Dephosphorylate ให้กับ Myosin light chain ดังแสดงในรูปที่ 3

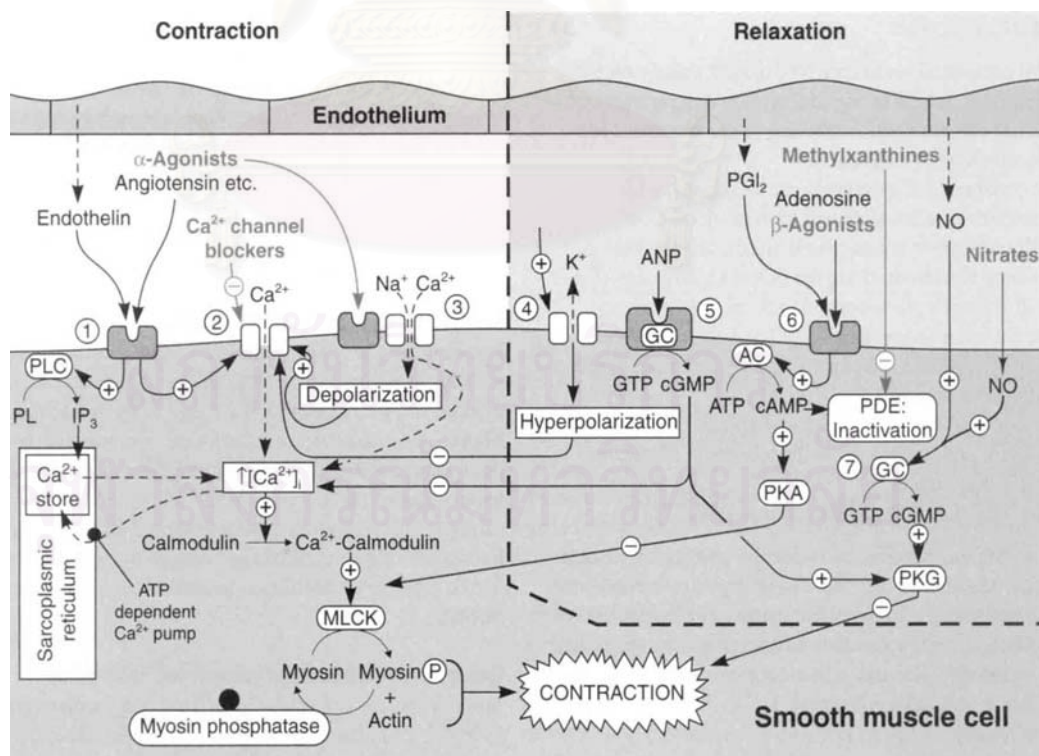


รูปที่ 3 แสดงกลไกการหดตัวและคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ<sup>(23)</sup>

ส่วนกลไกการคลายตัวของกล้ามเนื้อจะเกิดขึ้นหาก ระดับแคลเซียมภายในเซลล์ลดลง หรือลดการหดตัวของ Myofilament ซึ่งเกิดได้เนื่องจาก

1. เกิด Hyperpolarization เนื่องจาก Potassium channels เปิด แล้วโพแทสเซียม เคลื่อนที่ ออกจากเซลล์ ส่งผลไปยังการเปิด ของ VOC ซึ่งพบว่า เมื่อระดับแคลเซียมภายในเซลล์ลด น้อยลงจะทำให้ไม่เกิด Calcium-calmodulin complex จึงไม่ไปกระตุ้นการทำงานของ MLCK
2. กระตุ้น Adenylate cyclase ให้เปลี่ยน ATP ไปเป็น cAMP เพื่อไปกระตุ้นการสร้าง Protein kinase A (PKA) ออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ MLCK
3. กระตุ้น Guanylate cyclase โดยสารบางตัว เช่น Nitric oxide ให้สร้าง cGMP เพิ่มขึ้น และไปกระตุ้นการสร้าง Protein kinase G (PKG) และ แคลเซียมภายในเซลล์ลดลง

นอกจากทั้งสามเส้นทางที่กล่าวมาแล้วนั้น หากมีการยับยั้ง Phosphodiesterase (PDE) ซึ่งจะทำหน้าที่สลาย cAMP และ cGMP ดังนั้นหาก PDE ไม่สามารถทำงานได้ cAMP และ cGMP จะคงอยู่นานขึ้น จึงยับยั้งการหดตัวดังนั้นหลอดเลือดจึงคลายตัวได้เช่นกัน กลไกการหดตัวและคลายตัวของหลอดเลือดสามารถสรุปได้ดังรูปที่ 4



รูปที่ 4 แสดงกลไกการควบคุมการหดและคลายตัวของหลอดเลือด <sup>(22)</sup>

## Endothelium

Endothelial cell เป็นเซลล์ชั้นในสุด (Tunica intima) ของผนังหลอดเลือด และเป็นเซลล์ชนิดเดียวที่เป็นส่วนประกอบในหลอดเลือดฝอย (Capillaries) Endothelial cell เป็น Squamous Epithelial cell เรียงตัวชั้นเดียวติดต่อกัน (Monolayer) อยู่นอกผนังหลอดเลือด ทำหน้าที่เป็น Plasma membrane ของ Plasma และ Extracellular fluid ทั้งแบบ Active และ Passive Transport โดย Endothelial cell จะมีลักษณะคล้ายภูเขาวงกตอยู่บนเยื่อหุ้ม (Basement membrane) ที่อยู่ด้านบนของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ ซึ่ง Endothelial cell จะทำงานประสานกับเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ โดยทำหน้าที่เป็นตัวรับสัญญาณจากสิ่งเร้าต่าง ๆ แล้วแปลผลกลับมายังกล้ามเนื้อเรียบ Vascular endothelial cell ทั้งหมดภายในร่างกายมีประมาณ 60 ล้านล้านเซลล์ หรือประมาณ 3 กิโลกรัม อันมีขนาดใกล้เคียงกับเซลล์ตับที่ เป็นอวัยวะที่ใหญ่ที่สุดในร่างกาย<sup>(24)</sup>

Endothelial cell สามารถสังเคราะห์ กักเก็บ และหลั่งสารต่าง ๆ มากมาย ซึ่งมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพหลายอย่าง<sup>(25)</sup> บทบาทหน้าที่ของ Endothelial cell พอสรุปได้ดังนี้คือ

1. ทำหน้าที่เป็นตัวกั้นและควบคุมการขนส่ง น้ำ Solute และเซลล์ ระหว่าง Vascular space และ Tissue compartment โดยทำหน้าที่ควบคุม Permeability ของสาร โดยอาศัย Pore system และสามารถควบคุมการเข้าออกของ เซลล์เม็ดเลือดขาว ในภาวะอักเสบหรือ Atherosclerosis โดยอาศัย Transmigration<sup>(24, 25, 26)</sup>
2. เป็นเซลล์เป้าหมายในระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย<sup>(27, 28)</sup>
3. เปลี่ยนแปลงสารต่าง ๆ ให้เป็นสารที่มีฤทธิ์หรือหมดฤทธิ์ เช่น เปลี่ยน Angiotensin I ให้เป็น Angiotensin II หรือ เปลี่ยน Bradykinin ให้เป็น Inactive peptide<sup>(24, 25, 28, 29)</sup>
4. ควบคุม Hemostatic homeostasis ควบคุมการแข็งตัวของเลือด ผ่านทาง Platelets , Blood protein และ Fibrinolytic system<sup>(29, 30)</sup>
5. ควบคุม Vascular smooth muscle proliferation<sup>(29)</sup>
6. ควบคุมแรงตึงตัวของหลอดเลือด<sup>(22, 24, 25, 31)</sup>

ซึ่งบทบาทหน้าที่การควบคุมการตึงตัวของหลอดเลือดนั้นเป็นบทบาทหน้าที่สำคัญอย่างหนึ่งของ Vascular endothelium โดย ในภาวะ Shear stress , Pressure หรือ Hypoxia รวมทั้งสารเคมีต่าง ๆ เช่น Catecholamine , Serotonin , Histamine , Norepinephrine , Bradykinin , Substance P เป็นต้น สามารถกระตุ้นให้ Endothelial cell สร้างสารและ

หลังสารต่าง ๆ แล้วสามารถออกฤทธิ์ต่อแรงดึงตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้ ซึ่งมีทั้งที่เป็น Vasoconstrictor ซึ่งมีคุณสมบัติทำให้หลอดเลือดหดตัว สารในกลุ่มนี้ถ้าสร้างมาจาก Endothelial cell จะเรียกว่า Endothelium-Derived Constricting Factor (EDCF) ซึ่งมีด้วยกันหลายชนิด ได้แก่ Endothelin , Superoxide anions , Thromboxane A<sub>2</sub> , Endoperoxide เป็นต้น ส่วนอีกกลุ่มได้แก่ Vasodilator ซึ่งมีคุณสมบัติทำให้หลอดเลือดคลายตัว สารในกลุ่มนี้ถ้าสร้างมาจาก Endothelial cell จะเรียกว่า Endothelium-Derived Relaxing Factors (EDRF) ซึ่งมีด้วยกัน 3 ชนิดได้แก่ Prostacyclin (PGI<sub>2</sub>) , Nitric oxide (NO) , Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factors (EDHF) <sup>(29)</sup> ซึ่งสารที่ Endothelial cell สร้างขึ้นจะไปออกฤทธิ์ยัง Smooth muscle cell โดยกระตุ้นให้ Smooth muscle cell หดหรือคลายตัวตามการออกฤทธิ์ของสารนั้น ๆ

การเกิดความเสียหายของ Endothelial cell หรือ Endothelial cell ไม่สามารถทำงานได้ตามปกติจะทำให้การทำงานของร่างกายผิดปกติไป เพราะสมดุลของร่างกายถูกรบกวน นอกจากนั้นในภาวะ Hypertension , Atherosclerosis หรือ Diabetes จะพบภาวะความผิดปกติของ Endothelial cell ร่วมด้วยทั้งสิ้น ดังนั้น Endothelial cell จึงมีบทบาทสำคัญในร่างกายเป็นอย่างยิ่ง <sup>(24)</sup>

ในที่นี้ขอกล่าวถึงเฉพาะสารในกลุ่ม Endothelium-Derived Relaxing Factors (EDRF) ที่มีฤทธิ์ทำให้หลอดเลือดคลายตัวเท่านั้น

### Endothelium-Derived Relaxing Factors (EDRF)

สารและปัจจัยที่กระตุ้นการหลั่ง EDRF จาก Endothelial cell

เท่าที่ทราบสามารถสรุปได้คือ <sup>(31)</sup>

#### 1. Autonomic neurotransmitters & Biogenic Amine

- Acetylcholine
- Norepinephrine
- Histamine
- Serotonin

## 2. Peptides

- Bradykinin
- Calcitonin gene related peptide
- Vasopressin
- Substance P
- Thrombin
- Vasoactive intestinal peptide      ฯลฯ

## 3. Nucleotides

- Adenosine diphosphate (ADP)
- Adenosine triphosphate (ATP)
- Uridine Triphosphate (UTP)      ฯลฯ

## 4. Others substances

- Fatty acid (Arachidonic acid)
- Growth factors
- Cytokines      ฯลฯ

## 5. Physicochemical Factors

- Shear stress
- Hypoxia
- Electrical stimulation

**Prostacyclin (PGI<sub>2</sub>)**

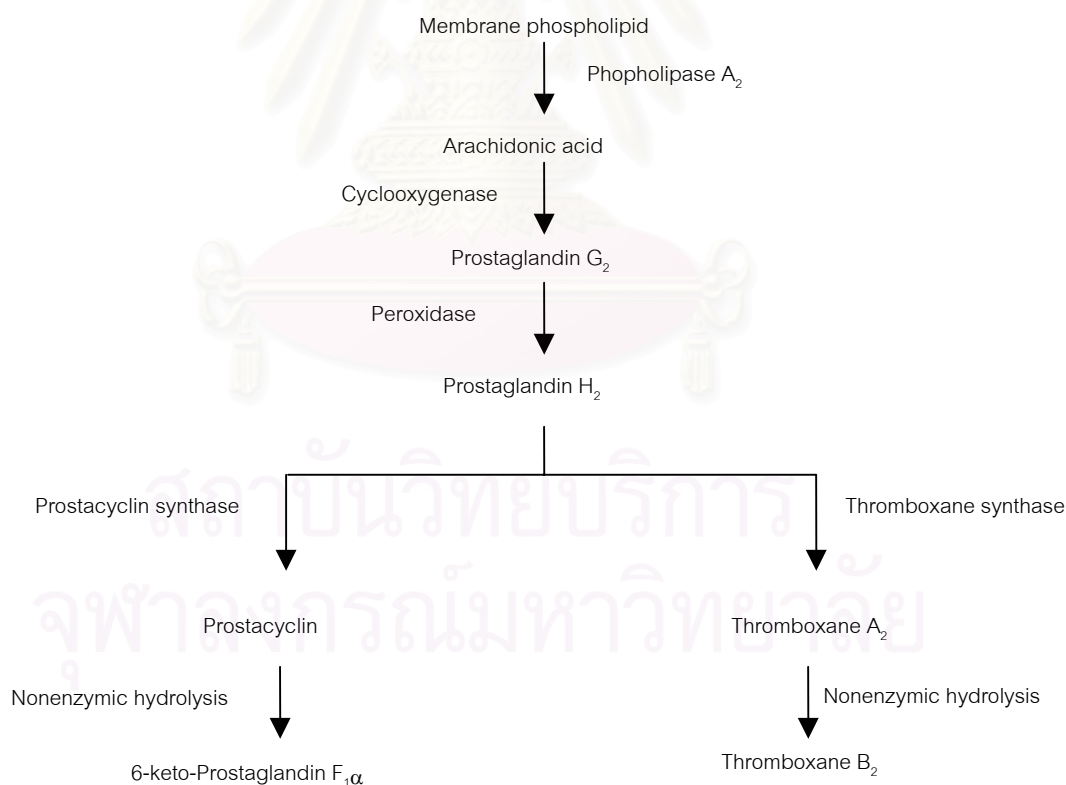
Prostacyclin (PGI<sub>2</sub>) ถูกค้นพบตั้งแต่ปี 1976 เป็นสารที่มีคุณสมบัติเป็น Vasorelaxant และยับยั้งการจับตัวของเกล็ดเลือด<sup>(26, 29)</sup> PGI<sub>2</sub> สร้างจาก Arachidonic acid เมื่อถูกกระตุ้นด้วยสารต่าง ๆ ได้แก่ Bradykinin , Choline esters , Substance P , Arachidonate , Thrombin , Epidermal growth factor (EGF) , Platelet-derived growth factor (PDGF) , Interleukin-1 และ Adenine nucleotides<sup>(29)</sup> การสร้าง PGI<sub>2</sub> สรุปลงได้ดังรูปที่ 5 โดยสารต่าง ๆ จะกระตุ้น Phospholipase A<sub>2</sub> enzyme ให้สร้าง Arachidonic acid จาก Membrane phospholipid หลังจากนั้น Cyclooxygenase enzyme (COX) จะเปลี่ยน Arachidonic acid เป็น Prostaglandin G<sub>2</sub> (PGG<sub>2</sub>) และเปลี่ยนแปลงต่อไปจนได้ Prostacyclin (PGI<sub>2</sub>) ซึ่ง PGI<sub>2</sub>



ที่สร้างขึ้น จะมี Half life ประมาณ 3 - 5 นาที ที่ Physiologic pH หลังจากนั้นจะสลายตัวได้ 6-keto prostaglandin  $F_{1\alpha}$  ซึ่งเป็นสารที่คงตัวมากกว่า<sup>(28,31, 32)</sup>

กลไกการออกฤทธิ์  $PGI_2$  ที่ถูกสร้างขึ้นจากทั้ง endothelial cell หรือจาก Vascular smooth muscle cell จะไปกระตุ้น Adenylate cyclase ทำให้มีการสร้าง 3',5'-adenosine monophosphate (cAMP) เพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้เกิดการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ<sup>(22,33)</sup> ในขณะเดียวกัน  $PGI_2$  ยังมีบทบาทในการยับยั้ง Platelets aggregation และเป็น Thombolytic และ Cytoprotective ได้อีกด้วย<sup>(29)</sup>.

$PGI_2$  ที่ถูกสร้างขึ้นนี้จะทำงานตรงกันข้ามกับ Thromboxane  $A_2$  ซึ่งมาจากสารตั้งต้น เดียวกันคือ Arachidonic acid แต่ Thromboxane  $A_2$  มีฤทธิ์ทำให้กล้ามเนื้อเรียบหดตัว และกระตุ้น Platelets aggregation ดังนั้นแรงดึงตัวของหลอดเลือดจึงเกี่ยวข้องกับความสัมพันธ์ระหว่าง Prostacyclin และ Thromboxane  $A_2$  ด้วยนั่นเอง<sup>(28)</sup>



รูปที่ 5 แสดงการสังเคราะห์ Prostacyclin ( $PGI_2$ )

## Nitric oxide (NO)

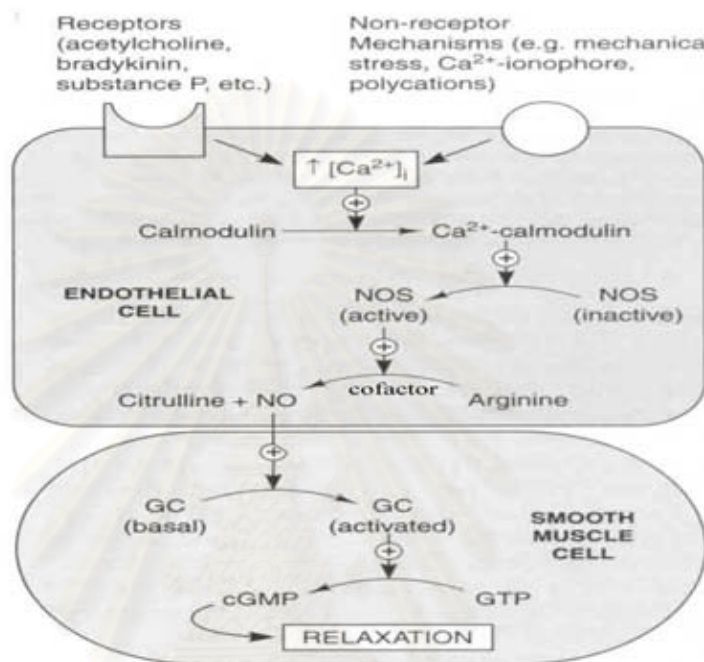
Nitric oxide เป็นสารที่สร้างจาก endothelial cell ที่ทำให้เกิดการคลายตัวของหลอดเลือด Nitric oxide เป็น Endogenously synthesized gas ซึ่งทำหน้าที่เป็น Cell signaling ในร่างกาย ในธรรมชาติ Nitric oxide เป็นก๊าซที่มีความเป็นพิษสูง แต่ในร่างกาย Nitric oxide เป็นสารโมเลกุลเล็กที่มีบทบาทสำคัญในร่างกาย

Nitric oxide เป็นก๊าซใสไม่มีสี ละลายได้ดีทั้งในน้ำและไขมัน จึงสามารถซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ได้ดี จึงสามารถซึมผ่านจากเซลล์ที่สร้างออกไปสู่เซลล์เป้าหมายได้ Nitric oxide มี Half life สั้นมากเพียง 3 - 5 วินาทีเท่านั้น หลังจากนั้น ในภาวะที่มีออกซิเจนจะสลายตัวให้ Nitrate( $\text{NO}_3^-$ ) และ Nitrite( $\text{NO}_2^-$ ) ซึ่งคงตัวมากกว่า<sup>(27, 29, 34)</sup>

ในปัจจุบันได้มีการศึกษาพบว่า Nitric oxide มีบทบาทต่อหลายระบบในร่างกาย โดยเป็นสารสำคัญในการควบคุมแรงตึงตัวของหลอดเลือด ด้วยการทำให้เกิดการขยายตัวของหลอดเลือด (Vasodilator) โดยทำหน้าที่เป็น Paracrine hormone มีบทบาทในการควบคุม Penile erection ทำให้หัวใจบีบตัวลดลง ในระบบประสาทมีความสำคัญต่อการเรียนรู้และการจดจำ รวมทั้งเป็น Neurotransmitter ตัวหนึ่งในระบบประสาทส่วนปลาย นอกจากนั้น Nitric oxide ยังเป็น Cytotoxic และยับยั้งการเกาะกันของเกล็ดเลือด (โดยทำงานเสริมฤทธิ์กันกับ  $\text{PGI}_2$ ) รวมถึงสามารถยับยั้งการ Growth ของกล้ามเนื้อเรียบอีกด้วย<sup>(35,36)</sup>

การสร้าง Nitric oxide อาศัยการทำงานของ Nitric oxide synthase enzyme family (NOS) ซึ่งมีด้วยกัน 3 isoforms คือ Neuronal NOS (nNOS) , Endothelial NOS (eNOS) และ Cytokine-inducible NOS (iNOS) ซึ่งใน Endothelial cell จะพบ eNOS isoform<sup>(27)</sup> การกระตุ้น NOS ใน Endothelial cell สามารถกระตุ้นได้โดย Acetylcholine , Bradykinin , Serotonin , Adenosine , Histamine เป็นต้น<sup>(30)</sup> โดยการกระตุ้น NOS นั้นต้องอาศัย  $\text{Ca}^{2+}$  และ Calmodulin ในขณะที่ สารตั้งต้นในการสร้าง Nitric oxide คือ Guanido nitrogen atom ของ L-arginine โดยมี Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) เป็น Cosubstrate และมี Tetrahydrobiopterin , Flavin adenine dinucleotide (FAD) , Flavin mononucleotide (FMN) และ Heme เป็น Cofactors ได้ Product คือ L-citrulline และ Nitric oxide การสังเคราะห์ Nitric oxide โดยสรุปเป็นดังรูปที่ 6

Nitric oxide ที่สร้างขึ้นจะออกจากเซลล์ไปกระตุ้น Guanylate cyclase ที่กล้ามเนื้อเรียบ ให้มีการสร้าง 3',5'-Guanosine monophosphate (cGMP) เพิ่มมากขึ้น และทำให้  $Ca^{2+}$  ภายในเซลล์ลดลง ส่งผลให้เกิดหลอดเลือดคลายตัวในที่สุด การสังเคราะห์ Nitric oxide สามารถยับยั้งได้โดย L-arginine analogue เช่น  $N^G$ -nitro-L-arginine โดยการแย่งจับกับ L-arginine<sup>(31)</sup>



รูปที่ 6 แสดงการสังเคราะห์ Nitric oxide<sup>(36)</sup>

### Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factors (EDHF)

Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factors (EDHF) เป็น Vasorelaxant กลุ่ม Non nitric oxide และ Non prostacyclin กลไกการออกฤทธิ์ทำให้เกิด Hyperpolarize ที่กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด<sup>(36)</sup> คุณสมบัติของสารกลุ่ม EDHF ยังไม่ค่อยชัดเจนนัก แต่พบว่า สารบางตัวในกลุ่ม คือ Metabolite ของ Arachidonic acid ที่ผ่าน Cytochrome P450 ซึ่ง EDHF ที่สามารถชี้ชัดได้ 1 ชนิดคือ Epoxyeicosanoids (5,6-EET, 11,12-EET, และ 14,15-EET)<sup>(31,37,38)</sup> นอกจากนั้น EDHF ยังอาจจะเป็น Endogenous cannabinoid – anandamide<sup>(39)</sup> หรือสารอื่น ที่ไปเพิ่ม  $K^+$  ภายนอกเซลล์<sup>(40)</sup>



กลไกการออกฤทธิ์ เมื่อมีการสร้าง EDHF จาก Endothelial cell จะไปทำให้ Potassium channel ที่กล้ามเนื้อเรียบเปิดออก และยับยั้งการผ่านเข้ามาของ  $Ca^{2+}$  ทาง Voltage channels ทำให้เกิดการคลายตัวของหลอดเลือด<sup>(41)</sup> ซึ่งสามารถยับยั้งการเกิดได้โดย Depolarization ของ High potassium ภายนอกเซลล์<sup>(31)</sup> EDHF จะมีบทบาทสำคัญในการคลายตัวของหลอดเลือดใน Small arteries แต่สำหรับใน Large arteries จะมีบทบาทน้อยกว่า Nitric oxide<sup>(41)</sup>

### สารมาตรฐานที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยครั้งนี้

#### Potassium chloride(KCl)<sup>(42,43)</sup>

Potassium chloride ความเข้มข้นที่ใช้เป็น Potassium ความเข้มข้นสูง ซึ่งจะทำให้ Potassium ภายนอกเซลล์ เพิ่มสูงขึ้น เกิด Membrane depolarization กระตุ้นให้ Voltage-gated calcium channel (VOC) เปิดออกและยอมให้ Calcium จากภายนอกเซลล์ที่เข้าสู่ภายในเซลล์ ส่งผลให้แคลเซียมอิสระภายในเซลล์เพิ่มขึ้น และกระตุ้นให้ปล่อยแคลเซียมจาก Sarcoplasmic reticulum แล้วเกิดขึ้นต่อเนื่องไปกระตุ้นให้หลอดเลือดหดตัว

#### Histamine

Histamine หรือ 2-(4-imidazol) ethylamine โดยปกติเป็นสาร Amine ที่พบได้ในร่างกายมนุษย์ หลังจาก Mast cell และ Basophil เมื่อมีการแพ้หรือการอักเสบเกิดขึ้น

Histamine ที่ถูกสร้างขึ้นและปล่อยออกมา จะไปจับกับ Histamine receptor ซึ่งมี Receptor ที่แตกต่างกัน 3 ชนิดคือ  $H_1$ ,  $H_2$ ,  $H_3$ <sup>(44,45,46)</sup> เมื่อกระตุ้น  $H_1$ -receptor ซึ่งพบใน ลำไส้ หลอดลม และ เยื่อหลอดเลือด , และเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ จะทำให้ Phospholipase C กระตุ้นการสร้าง Inositol phospholipid hydrolysis( $IP_3$ ) ไปกระตุ้นให้แคลเซียมจากที่กักเก็บหลังออกและยอมให้แคลเซียมจากภายนอกผ่านเข้าเซลล์ทาง ROC ทำให้แคลเซียมเพิ่มสูงขึ้น โดยส่วนใหญ่จะทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ แต่ในบางเนื้อเยื่อและสัตว์บางชนิด อาจเกิดการคลายตัวได้เช่นกัน<sup>(44,46)</sup> ในขณะที่ ถ้ากระตุ้น  $H_2$ -receptor ที่พบใน Acid-secreting cells ในกระเพาะอาหาร มดลูก หัวใจ เซลล์ภูมิคุ้มกัน และยังพบบ้างในเยื่อหลอดเลือด จะกระตุ้นการบีบตัวของหัวใจโดยเพิ่ม Calcium influx และผลต่อกล้ามเนื้อเรียบที่ระบบ

ทางเดินหายใจ จะทำให้คลายตัว โดยไปเพิ่ม cAMP<sup>(44,46,47)</sup> ส่วนเมื่อ H<sub>3</sub>-receptor ที่พบในหลอดลม และ CNS เมื่อถูกกระตุ้น จะมีบทบาทในการเป็น Inhibitory neurotransmitters ที่ Presynaptic site และยับยั้งการสร้าง และปล่อย Histamine<sup>(44,45)</sup> ประเภทของ Histamine receptor และการทำงานสรุปได้ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงชนิดและหน้าที่ของ Histamine receptors<sup>(44,46)</sup>

Receptor	Location	Post receptor mechanism	Effect
H <sub>1</sub>	Blood vessels Smooth muscle Heart CNS	↑ IP <sub>3</sub> /DAG	↑ Vascular permeability ↑ Airway smooth muscle contraction ↑ Vasodilatation and Flusing ↑ Mucus secretion ↑ Pruritus , Neurotransmission in CNS
H <sub>2</sub>	Gastric Mucosa Heart Uterus CNS	↑ cAMP	↑ Gastric acid secretion ↑ Respiratory mucus secretion ↑ Nasal airway resistance ↑ Smooth muscle relaxation in the lower airways
H <sub>3</sub>	Airway GI tract CNS	G protein-coupled	↓ Histamine synthesis and release from nerve tissue ↓ Neurotransmitter release

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## Serotonin (5-HT, 5-hydroxytryptamine) <sup>(44,48,49)</sup>

Serotonin หรือ 5-hydroxytryptamine (5-HT) เป็น endogenous neurotransmitters ที่สร้างในร่างกาย ออกฤทธิ์ต่อหลอดเลือด ประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์ของ 5-HT จะพบในระบบทางเดินอาหาร ส่วนที่เหลือจะมีที่สมองส่วนกลางและเกล็ดเลือด 5-HT จะออกฤทธิ์โดยผ่าน Receptor ซึ่งมีด้วยกัน 7 ชนิดคือ 5-HT<sub>1</sub> , 5-HT<sub>2</sub> , 5-HT<sub>3</sub> , 5-HT<sub>4</sub> , 5-HT<sub>5</sub> , 5-HT<sub>6</sub> , 5-HT<sub>7</sub> โดยแยกสรุปแต่ละ Receptor ได้ดังนี้ และบทบาทของ 5-HT receptor แต่ละ Receptor สรุปดังตารางที่ 2

5-HT<sub>1</sub> receptor มี 5 Subtype ส่วนใหญ่พบในหลอดเลือดและระบบประสาทส่วนกลาง ออกฤทธิ์เป็น Neural inhibition และ Vasoconstriction โดยการยับยั้ง Adenylase cyclase

5-HT<sub>2</sub> receptor พบใน CNS และ Peripheral โดยเฉพาะที่ หลอดเลือด Platelets และ Autonomic neuron โดยจะกระตุ้น Neuron และ กล้ามเนื้อเรียบ ผ่าน Phospholipase C/IP<sub>3</sub> ส่งผลให้ปริมาณแคลเซียมภายในเซลล์เพิ่มขึ้น เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ

5-HT<sub>3</sub> receptor พบในระบบ Peripheral nervous systems โดยออกฤทธิ์กระตุ้นผ่าน Receptor โดยตรง ร่วมกับ Ion channels ทำให้เกิด Hyperpolarization ของประสาทรับความรู้สึก อาจเป็นผลจากการกระตุ้น Channel ของ Cation ตัวใดตัวหนึ่ง ทำให้เกิดความรู้สึกเจ็บปวด คัน และ Reflex ของหัวใจและหลอดเลือด

5-HT<sub>4</sub> receptor พบใน Enteric nervous system รวมทั้ง CNS ออกฤทธิ์กระตุ้นให้เกิด Gastrointestinal motility เพิ่มขึ้น โดยผ่านการกระตุ้น Adenylate cyclase ทำให้ cAMP เพิ่มขึ้น

5-HT<sub>5</sub> , 5-HT<sub>6</sub> , 5-HT<sub>7</sub> receptor ยังมีความรู้อยู่น้อยมากพบในสมอง ทำให้ระดับของ cAMP เพิ่มขึ้น

ตารางที่ 2 แสดง 5-HT receptor แต่ละชนิด ตำแหน่ง หน้าที่ และ Second messenger <sup>(48)</sup>

5HT-Receptor	Lacation	Main effects	Second messenger
1A	CNS	Neuronal inhibition Behavioral effects : sleep, feeding , thermoregulation , anxiety	↓ cAMP
1B	CNS	Presynaptic inhibition Behavioral effects	↓ cAMP
1D	CNS Blood vessel	Cerebral vasoconstriction Behavioral effects : iocomotion	↓ cAMP
2A	CNS PNS Smooth muscle Platelets	Neuroal excitation Behavioral effects Platetet aggregation Smooth muscle contraction (gut , bronchi ,etc) Vasoconstriction / Vasodilation	↑ IP <sub>3</sub> /DAG
2B	Gastric fundus	Contraction	↑ IP <sub>3</sub> /DAG
2C	CNS Choriod plexus	CSF secretion	↑ IP <sub>3</sub> /DAG
3	PNS CNS	Neuronal excitation (autonomic,nociceptive neurons) Emesis Behavioral effects : anxiety	Non-ligand-gated Cation channel
4	PNS(GI tract) CNS	Neuronal excitation GI motility	↑ cAMP
5	CNS	Unknown	Unknown
6	CNS	Unknown	Unknown
7	CNS GI tract Blood vessel	Unknown	↑ cAMP

การออกฤทธิ์ของ 5-HT ต่อระบบไหลเวียนเลือดค่อนข้างซับซ้อน การนำหลอดเลือดมาศึกษาในหลอดทดลอง Serotonin อาจทำให้หลอดเลือดหดหรือคลายตัวก็ได้ขึ้นกับชนิดของสัตว์ทดลอง วิธีให้ยา และขนาดยา รวมทั้งหลอดเลือดที่นำมาทำการศึกษา แต่โดยปกติผลของ 5-HT ต่อหลอดเลือดใหญ่ ๆ ทั้งหลอดเลือดดำและหลอดเลือดแดง จะทำให้เกิดการหดตัวซึ่งออกฤทธิ์โดยตรงต่อกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด ผ่าน 2-HT<sub>A</sub> receptor

### Norepinephrine (NE)<sup>(50)</sup>

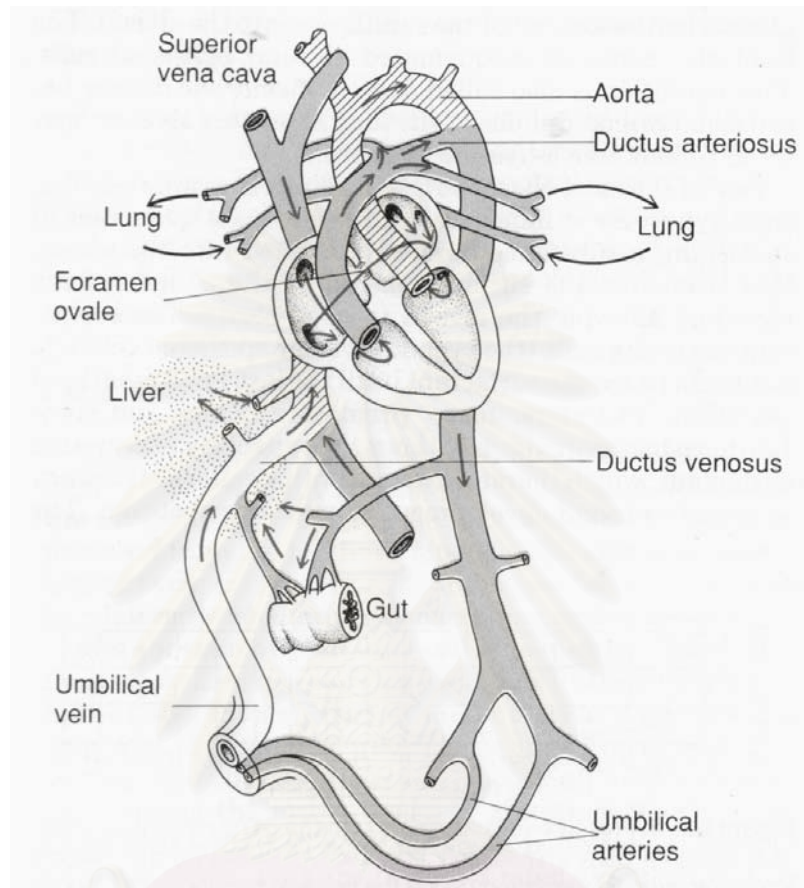
Norepinephrine (NE) เป็น Neurotransmitters ที่สร้าง ในร่างกาย ที่มีฤทธิ์ในการกระตุ้น  $\alpha$ -receptor ใน Adrenergic receptor ซึ่งในระดับโมเลกุลเมื่อกระตุ้นหลอดเลือดด้วย NE จะส่งผลต่อ  $\alpha$ -receptor โดย NE จะไปจับกับ  $\alpha$ -receptor แล้วกระตุ้น G-protein และ PLC ส่งผลให้ IP<sub>3</sub> เพิ่มขึ้น ทำให้แคลเซียมภายในเซลล์เพิ่มขึ้น เกิดการหดตัวของหลอดเลือด แต่สำหรับในหลอดเลือดสายสะดือพบว่า มี  $\alpha$ -receptor และ muscarinic receptor น้อยมาก

### โครงสร้างหน้าที่และความสำคัญของสายสะดือมนุษย์

สายสะดือ (Umbilical cord) ทำหน้าที่เชื่อมต่อระหว่างทารกกับผิวนอกของรก (Chorionic plate) มีหน้าที่ในการนำสารอาหารและออกซิเจนจากมารดาไปยังทารก ผิวนอกจะมีลักษณะขุ่นขาว ประกอบด้วย Connective tissue ที่เรียกว่า Wharton's jelly มีลักษณะเป็ยกขึ้นและคลุมด้วย Stratified squamous epithelium หรือเรียกว่า Amniotic เพื่อป้องกันอันตรายต่อหลอดเลือดที่อยู่ภายใน ซึ่งประกอบด้วย หลอดเลือด 3 เส้น คือ หลอดเลือดดำ 1 เส้น และหลอดเลือดแดง 2 เส้น หลอดเลือดดำจะมีเส้นผ่าศูนย์กลางขนาดใหญ่ ทำหน้าที่เปรียบเสมือนหลอดเลือดแดงที่นำสารอาหารและออกซิเจนจากมารดาไปสู่ทารก ส่วนหลอดเลือดแดงจะมีเส้นผ่าศูนย์กลางขนาดเล็กกว่า ทำหน้าที่เปรียบเสมือนหลอดเลือดดำนำของเสียจากทารก กลับไปยังมารดา<sup>(51,52)</sup>

โดยในระบบไหลเวียนโลหิตของทารก เลือดที่มีปริมาณออกซิเจนสูง (High oxygen) จากมารดาจะส่งไปยังทารกทางหลอดเลือดดำของสายสะดือ (Umbilical vein) ผ่าน Umbilical ring สู่ Anterior abdominal wall เลือดส่วนหนึ่งจะผ่านเข้าสู่ตับ และอีกส่วนหนึ่งซึ่งไม่ผ่านตับแต่เข้าสู่ Ductus venosus โดยเลือดจะเข้าหัวใจของทารกทาง Right atrium และส่งไปยัง Left atrium เพื่อนำไปเลี้ยงส่วนต่าง ๆ ของร่างกายทารก และหมุนเวียนกลับเข้าสู่หัวใจทารกอีกครั้ง ทาง

Right atrium ผ่านทาง Ductus arteriosus สู่ Umbilical arteries ทั้ง 2 เส้น กลับไปยังระบบไหลเวียน ของมารดา ซึ่งระบบไหลเวียนโลหิตของทารกแสดงดังรูปที่ 7 <sup>(53)</sup>



รูปที่ 7 แสดงระบบไหลเวียนโลหิตของทารก <sup>(53)</sup>

ปกติสายสะดือมนุษย์จะมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.2-0.8 เซนติเมตร และมีความยาวประมาณ 30-100 เซนติเมตร โดยเฉลี่ยยาวประมาณ 55 เซนติเมตร มีลักษณะบิดเกลียว ซึ่งมีประโยชน์ทำให้สายสะดือไม่หักพับงอ ถ้ามีการงอของสายสะดือเกิดขึ้น อาจจะทำให้ทารกเป็นอันตรายถึงแก่ชีวิต เนื่องจากขาดเลือดไปเลี้ยง <sup>(54)</sup> การตรวจสายสะดือด้วยกล้องจุลทรรศน์ จะพบว่าเยื่อผนังเซลล์จะเป็นเซลล์ชั้นเดียว มีลักษณะแบน และจะพบ Keratin เป็นแผ่นพอกอยู่ชั้นนอกภายในสายสะดือจะพบเซลล์ Fibroblast, Mast cell และ Macrophage จะไม่พบท่อน้ำเหลืองและเส้นประสาท นอกจากบริเวณที่ใกล้กับรก (Placenta) จะพบเส้นประสาท ในขณะที่ Wharton' jelly จะมีอยู่ตลอดสายสะดือในปริมาณที่ต่างกัน การตัดสายสะดือเพื่อ



การตรวจหรือการทดลอง จึงไม่ควรตัดบริเวณใกล้รัก มักตัดส่วนกลาง เพื่อหลีกเลี่ยงบริเวณเส้นประสาทมาหล่อเลี้ยง (Nerve-free-area) <sup>(55)</sup>

การหดตัวและการคลายตัวของหลอดเลือดดำจะอาศัยกล้ามเนื้อวงกลม คือ Hoboken's valve ความแตกต่างระหว่างหลอดเลือดโดยทั่วไป และหลอดเลือดสายสะดือที่สำคัญคือ หลอดเลือดสายสะดือจะเป็นบริเวณที่ไม่มีประสาทอัตโนมัติมาเลี้ยง (Sympathetic innervation) และ ไม่มีท่อส่งอาหาร (Vasa vasorum) ดังนั้นการไหลเวียนโลหิตและการหดตัวของหลอดเลือด ส่วนใหญ่เกิดขึ้นจากสาร Local factor ที่สามารถผลิตได้เองที่หลอดเลือดสายสะดือ ขณะมารดาตั้งครรภ์ เช่น สารจำพวก Autacoid, Hormones เป็นต้น <sup>(52,56)</sup>



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## บทที่ 3

### วิธีดำเนินการวิจัย

#### ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา

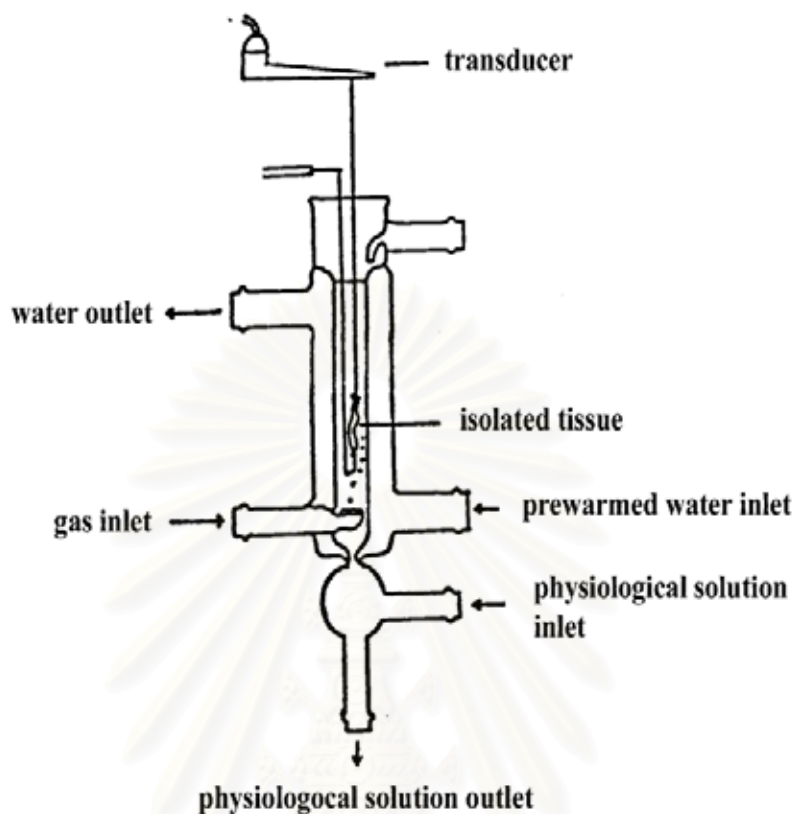
1. สายสะดือมนุษย์ จากทารกที่เกิดจากมารดาที่ตั้งครรภ์ครบกำหนดและสุขภาพดี จากห้องคลอด และ ห้องผ่าตัดสูติ-นรีเวช ของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย โดยมีเกณฑ์ในการคัดเลือกดังนี้
  - 1.1 มารดาที่ตั้งครรภ์ครบกำหนด
  - 1.2 คลอดปกติ (Normal labor) หรือได้รับการผ่าคลอดด้วยวิธี Spinal block
  - 1.3 ขณะระคลอด มารดาไม่ได้รับยาในกลุ่ม Narcotic analgesic ได้แก่ Pethidine Morphine
  - 1.4 มารดาไม่มีภาวะแทรกซ้อนขณะตั้งครรภ์ ได้แก่ ภาวะความดันโลหิตสูง ภาวะระดับน้ำตาลในเลือดสูง (Hyperglycemia)
  - 1.5 ทารกมีน้ำหนักปกติ (3,000 – 4,500 กรัม)
- 2 หัวกวาวเครือแดง ได้จากจังหวัดกาญจนบุรี และส่งให้คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ศึกษาลักษณะทั้ง Macroscopic methods และ Microscopic methods เพื่อพิสูจน์ยืนยันว่าเป็นหัวกวาวเครือแดง

#### เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

1. Organ bath แบบ Double walled Harvard type ประกอบด้วยผนังแก้ว 2 ชั้น ชั้นในบรรจุสารละลายที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อ (Physiological solution) มีความจุ 20 มิลลิลิตร และมีช่องเปิดให้ก๊าซ Carbogen ผ่าน Physiological solution ได้ ชั้นนอกมีน้ำไหลเวียนจาก Thermoregulating water pump ซึ่งทำหน้าที่ในการควบคุมอุณหภูมิของสารละลายในหลอดแก้วชั้นในให้คงที่ที่  $37 \pm 0.5$  องศาเซลเซียส ตลอดเวลาทำการทดลอง ดังรูปที่ 8
2. เครื่องมือวัดการหดตัวของหลอดเลือดของบริษัท BIOPAC ประกอบด้วย Transducer NO.SS12LA และ MP 30



## 3. เครื่องมือผ่าตัดเล็ก



รูปที่ 8 แสดงลักษณะของ Organ bath ที่ใช้ในการทดลอง

## สารเคมี

1. สารสกัดกวางเครือแดง (*Butea superba* extract ;BSE)

วิธีการสกัด บดหัวกวางเครือแดงให้เป็นผงละเอียด แล้วนำผงกวางเครือแดง 1 กก. แช่ใน 95% Ethylalcohol 4 ลิตร แช่ไว้ 2-4 สัปดาห์ จนได้สารละลายสีแดงคล้ายสีเปลือกไม้ ทำการกรองแยกสารสกัดออกจากผงกวางเครือแดง แล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกให้หมด โดยใช้ Rotary evaporator สารสกัดที่ได้เป็นสารกึ่งเหลวสีน้ำตาลแดงมีความหนืดมีกลิ่นคล้ายน้ำตาลไหม้ เมื่อจะใช้ในการทดลองจะละลายสารสกัดกวางเครือแดง (BSE) ใน Dimethylsulfoxide (DMSO)

2. สารมาตรฐานกระตุ้นการหดตัวของหลอดเลือด

- Potassium chloride (Sigma)
- Histamine dihydrochloride (Sigma)
- 5-Hydroxytryptamine (Sigma)
- Norepinephrine (Sigma)

3. สารยับยั้ง

- N<sup>ω</sup>-nitro-L-arginine (NNA) ( เป็น L-arginine analogue , Nitric oxide syntase inhibitor) (Sigma)
- Indomethacin (Cyclooxygenase inhibitor) (Sigma)
- Tetraethylammonium chloride (TEA) (Potassium Channel Blocker) (Sigma)

4. สารเคมีอื่น ๆ

- Dimethylsulfoxide (DMSO) (MERCK)
- Absolute ethanol(MERCK)
  - Sodium chloride (NaCl) (Sigma)
- Magnesium sulphate (MgSO<sub>4</sub>) (Sigma)
- Calcium chloride(CaCl<sub>2</sub>) (Sigma)
- Sodium hydrogen carbonate (NaCO<sub>3</sub>) (Sigma)
- Potassium hydrogen phosphate(K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) (Sigma)
- Glucose(MERCK)
- Ascorbic acid (Sigma)

5. ก๊าซ Carbogen (CO<sub>2</sub> 5%+O<sub>2</sub> 95%) ของบริษัท Thai Industrial Gases (TIG)

## วิธีดำเนินการวิจัย

### 1. การพิสูจน์และยืนยันหัวกวาวเครือแดงและวิเคราะห์รูปแบบ ( Pattern หรือ กระสวน ) ขององค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดกวาวเครือแดง

การพิสูจน์และยืนยันหัวกวาวเครือแดงได้ทำการศึกษาที่ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนครสวรรค์ และนำข้อมูลที่ได้จากการศึกษามาทำการเปรียบเทียบกับข้อมูลของ หอพรรณไม้ กรมป่าไม้ กรุงเทพมหานคร พบว่ากวาวเครือแดงที่นำมาใช้ในการศึกษา เป็นกวาวเครือแดงจริง

แบ่งสารสกัดกวาวเครือแดงที่ได้ส่วนหนึ่งส่งไปทำการวิเคราะห์รูปแบบขององค์ประกอบของสารในสารสกัดกวาวเครือแดงเปรียบเทียบกับสารสกัดจากแหล่งอื่น ด้วยเทคนิค Thin layer chromatography (TLC) โดยใช้ solvent system 2 ชนิด คือ 1. Hexane : Ethyl acetate 3:1 (v/v) 2. n-Butanol : Acetic acid : water 4:1:5(v/v/v) หลังจากนั้นนำ TLC plate มาตรวจ การดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 254 nm และ 356 nm แล้วนำไป spray ด้วย anisaldehyde reagent บันทึกผลการทดลอง

### 2. การเตรียมสารละลาย Kreb's Henseleit Solution (KHS)

Kreb's Henseleit solution 1 ลิตร จะประกอบด้วย

1) NaCl	118.00	mM
2) KCl	4.70	mM
3) CaCl <sub>2</sub>	2.52	mM
4) MgSO <sub>4</sub>	1.64	mM
5) NaHCO <sub>3</sub>	24.88	mM
6) KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1.18	mM
7) Glucose	5.55	mM
8) Ascorbic acid	25.00	mg

### 3. การเก็บสายสะดือมนุษย์

เตรียมสารละลาย Krebs- Henseleit บรรจุในขวดโหล ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่อิ่มตัว (Saturated) ด้วย carbogen gas อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำมายังห้องคลอดหรือห้องผ่าตัด สูติ-นรีเวช เพื่อให้เจ้าหน้าที่ใช้ในการเก็บสายสะดือ โดยตัดสายสะดือหลังจากที่รกคลอดทันที ตัดส่วนกลางระหว่างส่วนของรกกับส่วนของทารก ให้มีความยาวประมาณ 10-15 เซนติเมตร (ดังแสดงในรูปที่ 9) แช่ในขวดโหลทันที เก็บไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส ก่อนนำมาทำการแยกหลอดเลือด



รูปที่ 9 แสดงการตัดส่วนของสายสะดือเพื่อนำมาทดลอง

### 4. การแยกหลอดเลือดจากสายสะดือเพื่อใช้ในการทดลอง

#### 4.1 การเตรียมหลอดเลือดที่มีเยื่อบุหลอดเลือด (Intact endothelium)

นำสายสะดือที่ได้ ตัดให้มีความยาวพอควร วางใน Petri dish ที่บรรจุสารละลาย Krebs-Henseleit โดยมี carbogen gas ผ่านตลอดเวลา เลาะเอา Wharton's jelly และหลอดเลือดแดง ขนาดเล็ก 2 เส้นออก ด้วยเครื่องมือผ่าตัดขนาดเล็ก โดยให้เหลือแต่หลอดเลือดดำ และ ตัดหลอดเลือดดำ แบบ Spiral ได้เป็น Strips ตัด Strips ให้มีความยาวประมาณ 5 มิลลิเมตร ใช้ด้ายผูก

ปลายทั้ง 2 ด้าน โดยให้ปลายด้านหนึ่งผูกติดกับแท่งพลาสติก แล้วนำไปแช่ใน Organ bath ที่บรรจุ Krebs-Henseleit Solution 20 มิลลิลิตร มี Carbogen gas ผ่านตลอดเวลา และควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ประมาณ 37 องศาเซลเซียส ส่วนปลายด้านอีกด้านหนึ่งต่อกับ Transducer ซึ่งต่อเข้ากับเครื่อง MP 30 และ คอมพิวเตอร์ เพิ่มแรงดึงหลอดเลือดให้มีแรงดึงขณะพัก (Resting tension) ประมาณ 1 กรัม ใช้เวลา Incubate หลอดเลือดประมาณ 90 นาที และเปลี่ยน Krebs-Henseleit Solution ทุกๆ 15 นาที จนกระทั่งมีความตึงตัวคงที่ โดยสังเกตจาก Base line คงที่

#### 4.2 การเตรียมหลอดเลือดที่ปราศจากเยื่อบุหลอดเลือด(Denude endothelium)

ทำเช่นเดียวกับข้อ 4.1 แต่หลังจากตัดหลอดเลือดดำ ได้เป็น Strips ตัด Strips ให้มีความยาวประมาณ 5 มิลลิเมตร แล้วใช้ Cotton bud เช็ดด้านในของหลอดเลือดเบา ๆ ให้เยื่อหลอดเลือด (Endothelial cell) หลุดออก แล้วจึงใช้ด้ายผูกปลายทั้ง 2 ด้าน โดยให้ปลายด้านหนึ่งผูกติดกับแท่งพลาสติก แล้วนำไปแช่ใน Organ bath ที่บรรจุ Krebs-Henseleit Solution 20 มิลลิลิตร มี Carbogen gas ผ่านตลอดเวลา และควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ประมาณ 37 องศาเซลเซียส ส่วนปลายด้านอีกด้านหนึ่งต่อกับ Transducer ซึ่งต่อเข้ากับเครื่อง MP 30 และ คอมพิวเตอร์ เพิ่มแรงดึงหลอดเลือดให้มีแรงดึงขณะพัก (Resting tension ) ประมาณ 1 กรัม ใช้เวลา Incubate หลอดเลือดประมาณ 90 นาที และ เปลี่ยน Krebs-Henseleit Solution ทุกๆ 15 นาที จนกระทั่งมีความตึงตัวคงที่ โดยสังเกตจาก Base line คงที่

นำหลอดเลือดทั้งที่มีเยื่อหลอดเลือดและไม่มีเยื่อหลอดเลือดไปตรวจสอบทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของเนื้อเยื่อ (Histology) โดยการย้อม H&E และ CD 34 เพื่อยืนยันว่ามีและไม่มีเยื่อหลอดเลือด

#### 5. ศึกษาผลการตอบสนองของหลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์ต่อสารสกัดกวางเครือแดง (BSE)

Incubate หลอดเลือดให้มีความตึงตัวคงที่แล้ว จึงให้ BSE ความเข้มข้น 50  $\mu\text{g/ml}$  บันทึกผลการทดลอง 20 นาที หลังจากนั้นทำการทดลองเช่นเดิมในหลอดเลือดชิ้นใหม่ แต่เปลี่ยนความเข้มข้นของ BSE เป็น 100  $\mu\text{g/ml}$

## 6. ศึกษาผลการตอบสนองของหลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์ต่อสารมาตรฐาน KCl และ Histamine ด้วยการกระตุ้น 2 ระยะ

### 6.1 ศึกษาผลตอบสนองของหลอดเลือดดำจากสายสะดือมนุษย์ต่อสารมาตรฐาน KCl

Incubate หลอดเลือดให้มีความตึงตัวคงที่แล้วกระตุ้นให้หลอดเลือดหดตัวครั้งที่ 1 ด้วย KCl ความเข้มข้น 60 mM (High concentration) บันทึกผลการทดลอง นาน 30 นาที หลังจากนั้นล้างสารทดสอบออก แล้ว Incubate หลอดเลือดให้มีความตึงตัวคงที่ 30 นาที แล้วจึงกระตุ้นให้หลอดเลือดหดตัวครั้งที่ 2 ด้วย KCl ความเข้มข้น 60 mM อีกครั้ง บันทึกผลการทดลอง นาน 30 นาที เพื่อแสดงว่าการตอบสนองต่อ KCl ครั้งที่สองไม่แตกต่างจากครั้งแรก

### 6.2 ศึกษาผลตอบสนองของหลอดเลือดดำจากสายสะดือมนุษย์ต่อสารมาตรฐาน Histamine

Incubate หลอดเลือดให้มีความตึงตัวคงที่แล้วกระตุ้นให้หลอดเลือดหดตัว ครั้งที่ 1 ด้วย Histamine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-4}$  M บันทึกผลการทดลอง นาน 10 นาที หลังจากนั้นล้างสารทดสอบออก แล้ว Incubate หลอดเลือดให้มีความตึงตัวคงที่ 30 นาที แล้วจึงกระตุ้นให้หลอดเลือดหดตัวครั้งที่ 2 ด้วย Histamine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-4}$  M อีกครั้ง บันทึกผลการทดลอง นาน 10 นาที

## 7. ศึกษาผลของระยะเวลาที่ให้หลอดเลือดสัมผัสกับ BSE ก่อนให้สารมาตรฐาน KCl

จากการทดลองศึกษาผลการตอบสนองของหลอดเลือดเมื่อกระตุ้นด้วย KCl และให้ BSE ความเข้มข้น 1-100  $\mu\text{g/ml}$  พบว่า BSE ความเข้มข้น 100  $\mu\text{g/ml}$  สามารถเห็นผลการตอบสนองของหลอดเลือดได้ชัดเจนจึงเลือก BSE ความเข้มข้น 100  $\mu\text{g/ml}$  มาใช้ในการทดลองนี้

Incubate หลอดเลือดให้มีความตึงตัวคงที่ แล้วกระตุ้นให้หลอดเลือดหดตัว ด้วย KCl ความเข้มข้น 60 mM บันทึกผลการทดลอง นาน 10 นาที หลังจากนั้นล้างสารทดสอบออก แล้ว Incubate หลอดเลือดให้มีความตึงตัวคงที่ 30 นาที หลังจากนั้นให้ BSE ความเข้มข้น 100  $\mu\text{g/ml}$  และให้หลอดเลือดสัมผัสสารนาน 10 นาที แล้วจึงให้ KCl ความเข้มข้น 60 mM อีกครั้ง บันทึกผลการทดลอง นาน 10 นาที หลังจากนั้นทำการทดลองเช่นเดิมในหลอดเลือดชิ้นใหม่ แต่เปลี่ยนระยะเวลาในการสัมผัส BSE ก่อนให้ KCl เป็น 15 , 20 และ 25 นาที ตามลำดับ



## 8. ศึกษาผลของความเข้มข้นของ BSE ต่อหลอดเลือดเมื่อให้สารมาตรฐาน KCl

Incubate หลอดเลือดให้มีความตึงตัวคงที่ แล้วกระตุ้นให้หลอดเลือดหดตัวด้วย KCl ความเข้มข้น 60 mM บันทึกผลการทดลอง นาน 15 นาที หลังจากนั้นล้างสารทดสอบออก แล้ว Incubate หลอดเลือดให้มีความตึงตัวคงที่ 30 นาที หลังจากนั้นให้ BSE ความเข้มข้น 50  $\mu\text{g/ml}$  และให้หลอดเลือดสัมผัสสารนาน 20 นาที ซึ่งเป็นเวลาที่ให้ผลตอบสนองสูงสุดในข้อ 7 แล้วจึงให้ KCl ความเข้มข้น 60 mM อีกครั้ง บันทึกผลการทดลอง นาน 15 นาที หลังจากนั้นทำการทดลองเช่นเดิมในหลอดเลือดชิ้นใหม่ แต่เปลี่ยนความเข้มข้นของ BSE เป็น 100 , 200 และ 400  $\mu\text{g/ml}$  ตามลำดับ ซึ่งความเข้มข้นที่ใช้ในการศึกษาเป็นความเข้มข้นที่ไม่เกิดการตกตะกอนของสารสกัดเมื่อใส่ 0.1 ml ลงใน physiological solution 25 ml ใน organ-bath

## 9. ศึกษาผลของ BSE ต่อหลอดเลือดที่มีและไม่มีเยื่อบุหลอดเลือดเมื่อให้สารมาตรฐาน KCl

### 9.1 ศึกษาผลของ BSE ต่อหลอดเลือดที่มีเยื่อบุหลอดเลือดเมื่อให้สารมาตรฐาน KCl

Incubate หลอดเลือดที่มีเยื่อบุหลอดเลือดให้มีความตึงตัวคงที่ แล้วกระตุ้นให้หลอดเลือดหดตัวด้วย KCl ความเข้มข้น 60 mM บันทึกผลการทดลอง นาน 15 นาที หลังจากนั้นล้างสารทดสอบออก แล้ว Incubate หลอดเลือดให้มีความตึงตัวคงที่ 30 นาที หลังจากนั้นให้ BSE ความเข้มข้น 400  $\mu\text{g/ml}$  (ความเข้มข้นที่ให้ผลตอบสนองสูงสุดในข้อ 8) และให้หลอดเลือดสัมผัสสารนาน 20 นาที (เวลาที่ให้ผลตอบสนองสูงสุดในข้อ 7) แล้วจึงให้ KCl ความเข้มข้น 60 mM อีกครั้ง บันทึกผลการทดลอง นาน 15 นาที

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## 9.2 ศึกษาผลของ BSE ต่อหลอดเลือดที่ปราศจากเยื่อบุหลอดเลือดเมื่อให้สารมาตรฐาน KCl

Incubate หลอดเลือดที่ปราศจากเยื่อบุหลอดเลือดให้มีความตึงตัวคงที่ แล้วกระตุ้นให้หลอดเลือดหดตัวด้วย KCl ความเข้มข้น 60 mM บันทึกผลการทดลอง นาน 15 นาที หลังจากนั้นล้างสารทดสอบออก แล้ว Incubate หลอดเลือดให้มีความตึงตัวคงที่ 30 นาที หลังจากนั้นให้ BSE ความเข้มข้น 400  $\mu\text{g/ml}$  (ความเข้มข้นที่ให้ผลตอบสนองสูงสุดในข้อ 8) และให้หลอดเลือดสัมผัสสารนาน 20 นาที (เวลาที่ให้ผลตอบสนองสูงสุดในข้อ 7) แล้วจึงให้ KCl ความเข้มข้น 60 mM อีกครั้ง บันทึกผลการทดลอง นาน 15 นาที

## 10. ศึกษาผลของ BSE ต่อหลอดเลือดที่มีและไม่มีเยื่อบุหลอดเลือดเมื่อให้สารมาตรฐาน Histamine

### 10.1 ศึกษาผลของ BSE ต่อหลอดเลือดที่มีเยื่อบุหลอดเลือดเมื่อให้สารมาตรฐาน Histamine

Incubate หลอดเลือดที่มีเยื่อบุหลอดเลือดให้มีความตึงตัวคงที่ แล้วกระตุ้นให้หลอดเลือดหดตัวด้วย Histamine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-4}$  M บันทึกผลการทดลอง นาน 10 นาที หลังจากนั้นล้างสารทดสอบออก แล้ว Incubate หลอดเลือดให้มีความตึงตัวคงที่ 30 นาที หลังจากนั้นให้ BSE ความเข้มข้น 400  $\mu\text{g/ml}$  (ความเข้มข้นที่ให้ผลตอบสนองสูงสุดในข้อ 8) และให้หลอดเลือดสัมผัสสารนาน 20 นาที (เวลาที่ให้ผลตอบสนองสูงสุดในข้อ 7) แล้วจึงให้ Histamine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-4}$  M อีกครั้ง บันทึกผลการทดลอง นาน 10 นาที

### 10.2 ศึกษาผลของ BSE ต่อหลอดเลือดที่ปราศจากเยื่อบุหลอดเลือดเมื่อให้สารมาตรฐาน Histamine

Incubate หลอดเลือดที่ปราศจากเยื่อบุหลอดเลือดให้มีความตึงตัวคงที่ แล้วกระตุ้นให้หลอดเลือดหดตัวด้วย Histamine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-4}$  M บันทึกผลการทดลอง นาน 10 นาที หลังจากนั้นล้างสารทดสอบออกแล้ว Incubate หลอดเลือดให้มีความตึงตัวคงที่ 30 นาที หลังจากนั้นให้ BSE ความเข้มข้น 400  $\mu\text{g/ml}$  (ความเข้มข้นที่ให้ผลตอบสนองสูงสุดในข้อ 8) และให้หลอดเลือดสัมผัสสารนาน 20 นาที (เวลาที่ให้ผลตอบสนองสูงสุดในข้อ 7) แล้วจึงให้ Histamine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-4}$  M อีกครั้ง บันทึกผลการทดลอง นาน 10 นาที

11. ศึกษาผลของ BSE ต่อการสังเคราะห์ EDRFs ในหลอดเลือดเมื่อให้สารยับยั้ง NNA (L-arginine analogue ยับยั้งการสร้าง Nitric oxide), Indomethacin (Cyclooxygenase inhibitor ยับยั้งการสร้าง PGI<sub>2</sub>), TEA (Potassium Channel Blocker ยับยั้งการสร้าง EDHF) และกระตุ้นด้วยสารมาตรฐาน KCl

11.1 ศึกษาผลของ BSE ต่อหลอดเลือด ที่มี NNA และให้สารมาตรฐาน KCl

Incubate หลอดเลือดให้มีความตึงตัวคงที่ แล้วให้ NNA ความเข้มข้น  $3 \times 10^{-5}$  M หลังจากนั้น 5 นาที กระตุ้นให้หลอดเลือดหดตัวด้วย KCl ความเข้มข้น 60 mM บันทึกผลการทดลอง นาน 15 นาที หลังจากนั้นล้างสารทดสอบออก แล้ว Incubate หลอดเลือดให้มีความตึงตัวคงที่ 30 นาที แล้วให้ NNA ความเข้มข้น  $3 \times 10^{-5}$  M หลังจากนั้น 5 นาที ให้ BSE ความเข้มข้น 400  $\mu\text{g/ml}$  (ความเข้มข้นที่ให้ผลตอบสนองสูงสุดในข้อ 8) และให้หลอดเลือดสัมผัสสารนาน 20 นาที (เวลาที่ให้ผลตอบสนองสูงสุดในข้อ 7) แล้วจึงให้ KCl ความเข้มข้น 60 mM อีกครั้ง บันทึกผลการทดลอง นาน 15 นาที

11.2 ศึกษาผลของ BSE ต่อหลอดเลือด ที่มี Indomethacin และให้สารมาตรฐาน KCl

Incubate หลอดเลือดให้มีความตึงตัวคงที่ แล้วให้ Indomethacin ความเข้มข้น  $5 \times 10^{-5}$  M หลังจากนั้น 5 นาที กระตุ้นให้หลอดเลือดหดตัวด้วย KCl ความเข้มข้น 60 mM บันทึกผลการทดลอง นาน 15 นาที หลังจากนั้นล้างสารทดสอบออก แล้ว Incubate หลอดเลือดให้มีความตึงตัวคงที่ 30 นาที แล้วให้ Indomethacin ความเข้มข้น  $5 \times 10^{-5}$  M หลังจากนั้น 5 นาที ให้ BSE ความเข้มข้น 400  $\mu\text{g/ml}$  (ความเข้มข้นที่ให้ผลตอบสนองสูงสุดในข้อ 8) และให้หลอดเลือดสัมผัสสารนาน 20 นาที (เวลาที่ให้ผลตอบสนองสูงสุดในข้อ 7) แล้วจึงให้ KCl ความเข้มข้น 60 mM อีกครั้ง บันทึกผลการทดลอง นาน 15 นาที

11.3 ศึกษาผลของ BSE ต่อหลอดเลือด ที่มี TEA และให้สารมาตรฐาน KCl

Incubate หลอดเลือดให้มีความตึงตัวคงที่ แล้วให้ TEA ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-4}$  M หลังจากนั้น 5 นาที กระตุ้นให้หลอดเลือดหดตัวด้วย KCl ความเข้มข้น 60 mM บันทึกผลการทดลอง นาน 15 นาที หลังจากนั้นล้างสารทดสอบออก แล้ว Incubate หลอดเลือดให้มีความตึงตัว

คงที่ 30 นาที แล้วให้ TEA ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-4}$  M หลังจากนั้น 5 นาที ให้ BSE ความเข้มข้น 400  $\mu\text{g/ml}$  (ความเข้มข้นที่ให้ผลตอบสนองสูงสุดในข้อ 8) และให้หลอดเลือดสัมผัสสารนาน 20 นาที (เวลาที่ให้ผลตอบสนองสูงสุดในข้อ 7) แล้วจึงให้ KCl ความเข้มข้น 60 mM อีกครั้ง บันทึกผลการทดลอง นาน 15 นาที

#### 11.4 ศึกษาผลของ BSE ต่อหลอดเลือด ที่มี NNA และ TEA และให้สารมาตรฐาน KCl

Incubate หลอดเลือดให้มีความตึงตัวคงที่ แล้วให้ NNA ความเข้มข้น  $3 \times 10^{-5}$  M และ TEA ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-4}$  M หลังจากนั้น 5 นาที กระตุ้นให้หลอดเลือดหดตัวด้วย KCl ความเข้มข้น 60 mM บันทึกผลการทดลอง นาน 15 นาที หลังจากนั้นล้างสารทดสอบออก แล้ว Incubate หลอดเลือดให้มีความตึงตัวคงที่ 30 นาที แล้วให้ NNA ความเข้มข้น  $3 \times 10^{-5}$  M และ TEA ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-4}$  M หลังจากนั้น 5 นาที ให้ BSE ความเข้มข้น 400  $\mu\text{g/ml}$  (ความเข้มข้นที่ให้ผลตอบสนองสูงสุดในข้อ 8) และให้หลอดเลือดสัมผัสสารนาน 20 นาที (เวลาที่ให้ผลตอบสนองสูงสุดในข้อ 7) แล้วจึงให้ KCl ความเข้มข้น 60 mM อีกครั้ง บันทึกผลการทดลอง นาน 15 นาที

#### 11.5 ศึกษาผลของ BSE ต่อหลอดเลือด ที่มี NNA ,TEA และ Indomethacin เมื่อให้สารมาตรฐาน KCl

Incubate หลอดเลือดให้มีความตึงตัวคงที่ แล้วให้ NNA ความเข้มข้น  $3 \times 10^{-5}$  M ร่วมกับ Indomethacin ความเข้มข้น  $5 \times 10^{-5}$  M และ TEA ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-4}$  M หลังจากนั้น 5 นาที กระตุ้นให้หลอดเลือดหดตัวด้วย KCl ความเข้มข้น 60 mM บันทึกผลการทดลอง นาน 15 นาที หลังจากนั้นล้างสารทดสอบออก แล้ว Incubate หลอดเลือดให้มีความตึงตัวคงที่ 30 นาที แล้วให้ NNA ความเข้มข้น  $3 \times 10^{-5}$  M ร่วมกับ Indomethacin ความเข้มข้น  $5 \times 10^{-5}$  M และ TEA ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-4}$  M หลังจากนั้น 5 นาที ให้ BSE ความเข้มข้น 400  $\mu\text{g/ml}$  (ความเข้มข้นที่ให้ผลตอบสนองสูงสุดในข้อ 8) และให้หลอดเลือดสัมผัสสารนาน 20 นาที (เวลาที่ให้ผลตอบสนองสูงสุดในข้อ 7) แล้วจึงให้ KCl ความเข้มข้น 60 mM อีกครั้ง บันทึกผลการทดลอง นาน 15 นาที

## 12. ศึกษาผลของ BSE ต่อหลอดเลือดเมื่อให้สารมาตรฐาน Norepinephrine

Incubate หลอดเลือดให้มีความตึงตัวคงที่ แล้วกระตุ้นให้หลอดเลือดหดตัวด้วย Norepinephrine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-3}$  M บันทึกผลการทดลอง นาน 15 นาที หลังจากนั้นล้างสารทดสอบออก แล้ว Incubate หลอดเลือดให้มีความตึงตัวคงที่ 30 นาที หลังจากนั้นให้ BSE ความเข้มข้น 400  $\mu\text{g/ml}$  (ความเข้มข้นที่ให้ผลตอบสนองสูงสุดในข้อ 8) และให้หลอดเลือดสัมผัสสารนาน 20 นาที (เวลาที่ให้ผลตอบสนองสูงสุดในข้อ 7) แล้วจึงให้ Norepinephrine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-3}$  M อีกครั้ง บันทึกผลการทดลอง นาน 15 นาที

## 13. ศึกษาผลของ BSE ต่อหลอดเลือดเมื่อให้สารมาตรฐาน 5-HT

Incubate หลอดเลือดให้มีความตึงตัวคงที่ แล้วกระตุ้นให้หลอดเลือดหดตัวด้วย 5-HT ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-6}$  M บันทึกผลการทดลอง นาน 15 นาที หลังจากนั้นล้างสารทดสอบออก แล้ว Incubate หลอดเลือดให้มีความตึงตัวคงที่ 30 นาที หลังจากนั้นให้ BSE ความเข้มข้น 400  $\mu\text{g/ml}$  (ความเข้มข้นที่ให้ผลตอบสนองสูงสุดในข้อ 8) และให้หลอดเลือดสัมผัสสารนาน 20 นาที (เวลาที่ให้ผลตอบสนองสูงสุดในข้อ 7) แล้วจึงให้ 5-HT ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-6}$  M อีกครั้ง บันทึกผลการทดลอง นาน 15 นาที

### หมายเหตุ

เนื่องจากการทดลองครั้งนี้สารสกัดกาวเครือแดง (BSE) ละลายได้ในตัวทำละลาย DMSO เพราะฉะนั้นจึงใช้ DMSO เป็นกลุ่มควบคุมเปรียบเทียบตลอดการทดลอง

## การวัดผลและการเสนอผลการวิจัย

บันทึกข้อมูลแรงดึงตัวของหลอดเลือดด้วยเครื่อง Biopac recorder และคำนวณหาค่า %contraction โดยกำหนดให้แรงดึงตัวสูงสุดที่เกิดขึ้น (Maximum contraction) เมื่อให้สารกระตุ้นมาตรฐาน มีค่าเท่ากับ 100 % แล้วหาเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการหดตัวโดยเปรียบเทียบการหดตัวครั้งที่ 1 เมื่อให้สารกระตุ้นมาตรฐาน และครั้งที่ 2 เมื่อให้สารสกัดก่อนให้สารกระตุ้นมาตรฐาน ในหลอดเลือดแต่ละชิ้น นำเสนอข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย  $\pm$  SE (mean  $\pm$  SE) ของเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัวในแต่ละกลุ่มการทดลอง

## การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำค่า เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการคลายตัว มาวิเคราะห์เปรียบเทียบ โดยใช้สถิติ One way ANOVA และ Unpaired Student's t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % (  $P < 0.05$  )

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



## บทที่ 4

### ผลการทดลอง

#### 1. การวิเคราะห์รูปแบบขององค์ประกอบของสารในสารสกัดกวางเครือแดง

ส่งสารสกัดกวางเครือแดงไปทำการวิเคราะห์หารูปแบบขององค์ประกอบของสารโดยเทคนิค Thin layer chromatography (TLC) พบว่าผลเป็นดังตารางที่ 3 - 4 และ chromatogram ที่ได้แสดงดังรูปที่ 10-15

ตารางที่ 3 แสดง Rf value จากการวิเคราะห์ด้วย TLC ของสารสกัดกวางเครือแดง solvent system ; Hexane : ethyl acetate 3 : 1 (v/v)

Rf value	UV254				UV366				Anisaldehyde			
	จุดฟ้า1	จุดฟ้า2	แพร์	พะเยา	จุดฟ้า1	จุดฟ้า2	แพร์	พะเยา	จุดฟ้า1	จุดฟ้า2	แพร์	พะเยา
0.05	✓t	✓t	✓t	✓t	✓	✓						
0.175	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓				
0.26									✓	✓	✓	✓
0.305			✓	✓					✓	✓	✓	✓
0.355									✓	✓	✓	✓
0.40					✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
0.445									✓	✓	✓	✓
0.525					✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
0.575	✓	✓										
0.63									✓	✓		
0.685									✓	✓		
0.785	✓	✓										
0.815									✓	✓	✓	✓
0.855									✓	✓	✓	✓
0.915									✓	✓	✓	✓

หมายเหตุ เครื่องหมาย ✓ หมายถึง จำนวนที่ซ้ำกันอย่างน้อย 2 ใน 3 ครั้งที่ทดลอง

เครื่องหมาย t หมายถึง spot ที่มีลักษณะเป็น tailing

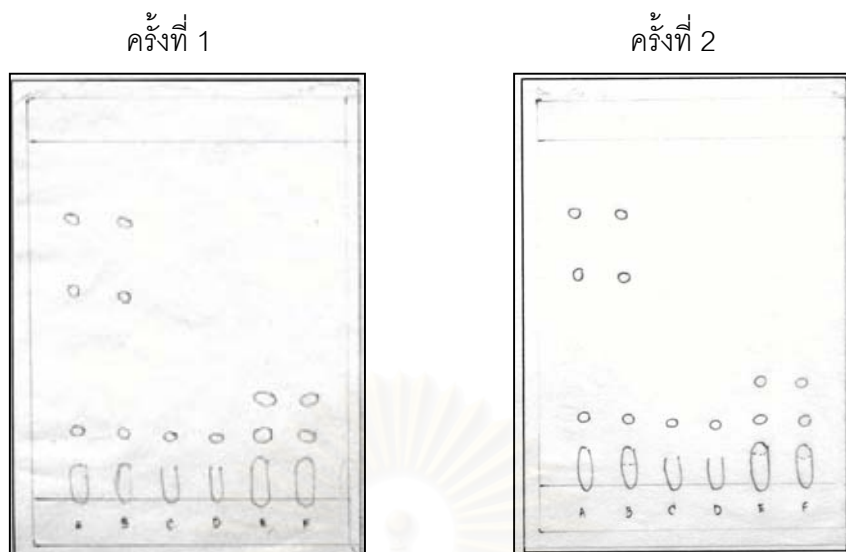
ตารางที่ 4 แสดง Rf value จากการวิเคราะห์ด้วย TLC ของสารสกัดกัววาเครือแดง solvent system ; n-Butanol : Acetic acid : water 4:1:5(v/v/v)

Rf value	UV254				UV366				Anisaldehyde			
	จุดฟ้า1	จุดฟ้า2	แพร์	พะเยา	จุดฟ้า1	จุดฟ้า2	แพร์	พะเยา	จุดฟ้า1	จุดฟ้า2	แพร์	พะเยา
0.095									✓	✓	✓	✓
0.125	✓ t	✓ t	✓ t	✓ t								
0.195									✓	✓	✓	✓
0.215									✓	✓	✓	✓
0.31									✓	✓	✓	✓
0.34			✓ t	✓ t					✓	✓	✓	✓
0.405	✓ t	✓ t	✓ t	✓ t								
0.535	✓ t	✓ t	✓ t	✓ t								
0.595	✓ t	✓ t	✓ t	✓ t								
0.645	✓ t	✓ t	✓ t	✓ t								
0.70									✓	✓	✓	✓
0.86	✓ t	✓ t	✓ t	✓ t	✓	✓	✓ t	✓ t	✓	✓	✓	✓

หมายเหตุ เครื่องหมาย ✓ หมายถึง จำนวนที่ซ้ำกันอย่างน้อย 2 ใน 3 ครั้งที่ทดลอง

เครื่องหมาย t หมายถึง spot ที่มีลักษณะเป็น tailing

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 10 แสดง chromatogram ที่ได้จากสารสกัดกวางเครือแดงเมื่อตรวจวัดที่ 254 nm

จากการทดลอง 2 ครั้ง เมื่อใช้ Hexane : Ethyl acetate 3:1(v/v)

หมายเหตุ A:BSE-จุฬา 1, B:BSE-จุฬา 2, C:BSE -แพร์(เปลือกกราก), D:BSE -พะเยา (เปลือกกราก), E:BSE -แพร์ (เนื้อในของกราก) F:BSE -พะเยา(เนื้อในของกราก)

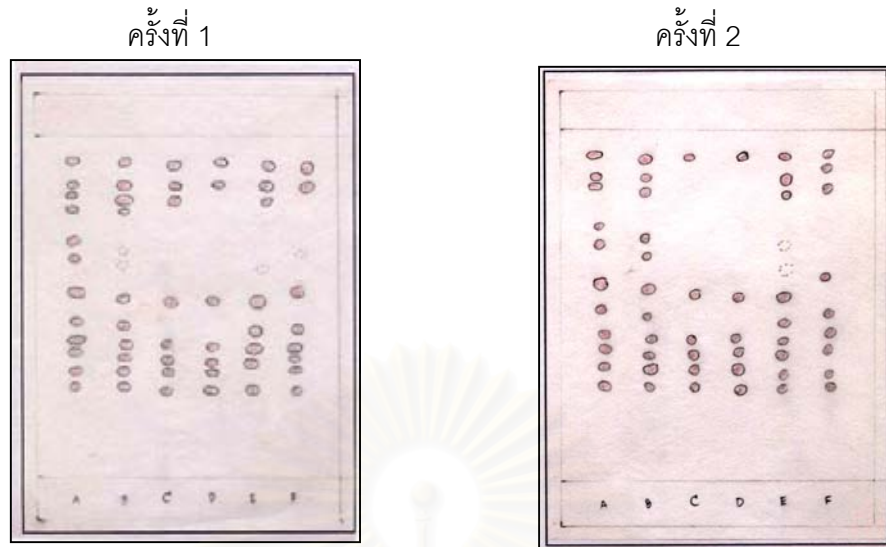


รูปที่ 11 แสดง chromatogram ที่ได้จากสารสกัดกวางเครือแดงเมื่อตรวจวัดที่ 366 nm

จากการทดลอง 2 ครั้ง เมื่อใช้ Hexane : Ethyl acetate 3:1(v/v)

หมายเหตุ A:BSE-จุฬา 1, B:BSE-จุฬา 2, C:BSE -แพร์(เปลือกกราก), D:BSE -พะเยา (เปลือกกราก), E:BSE -แพร์ (เนื้อในของกราก) F:BSE -พะเยา(เนื้อในของกราก)

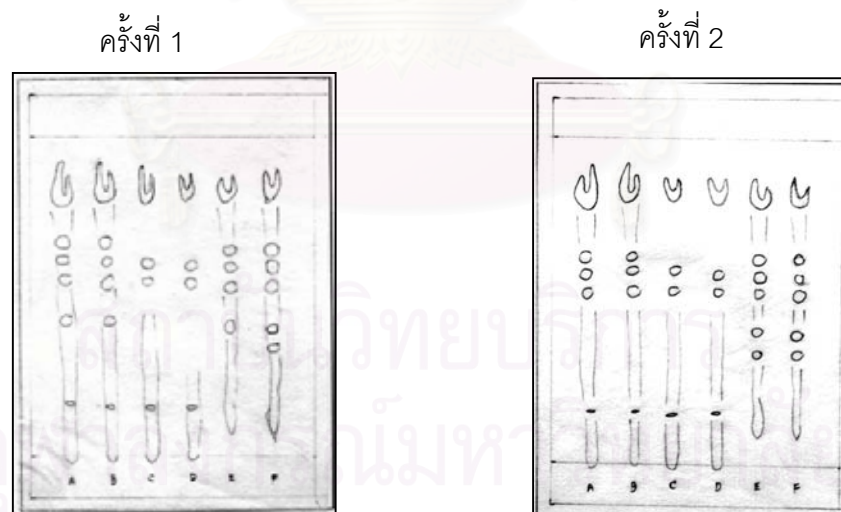
สีที่ใช้ในภาพ จำลองจากสีเรืองแสงที่ 366 nm



รูปที่ 12 แสดง chromatogram ที่ได้จากสารสกัดกาวเครือแดงเมื่อตรวจด้วย anisaldehyde spraying reagent เมื่อใช้ Hexane : Ethyl acetate 3:1(v/v)

หมายเหตุ A:BSE-จุฬา 1, B:BSE-จุฬา 2, C:BSE -แพร์(เปลือกกราก), D:BSE -พะเยา (เปลือกกราก), E:BSE -แพร์ (เนื้อในของกราก) F:BSE -พะเยา(เนื้อในของกราก)

สีที่ใช้ในภาพ จำลองจากการเห็นด้วยตาเปล่าหลังจากการพ่นด้วย anisaldehyde spraying reagen แล้วทำ plate ให้ร้อน



รูปที่ 13 แสดง chromatogram ที่ได้จากสารสกัดกาวเครือแดงเมื่อตรวจด้วยที่ 254 nm จากการทดลอง 2 ครั้ง เมื่อใช้ n-Butanol : Acetic acid : water 4:1:5(v/v/v)

หมายเหตุ A:BSE-จุฬา 1, B:BSE-จุฬา 2, C:BSE -แพร์(เปลือกกราก), D:BSE -พะเยา (เปลือกกราก), E:BSE -แพร์ (เนื้อในของกราก) F:BSE -พะเยา(เนื้อในของกราก)



รูปที่ 14 แสดง chromatogram ที่ได้จากสารสกัดกาวเครือแดงเมื่อตรวจวัดที่ 366 nm

จากการทดลอง 2 ครั้ง เมื่อใช้ n-Butanol : Acetic acid : water 4:1:5(v/v/v)

หมายเหตุ A:BSE-จุ่มา 1, B:BSE-จุ่มา 2 ,C:BSE –แพร่(เปลือกราก), D:BSE –พะเยา (เปลือกราก),

E:BSE –แพร่

(เนื้อในของราก) F:BSE –พะเยา(เนื้อในของราก)

สีที่ใช้ในภาพ จำลองจากสีเรืองแสงที่ 366 nm



รูปที่ 15 แสดง chromatogram ที่ได้จากสารสกัดกาวเครือแดงเมื่อตรวจด้วย anisaldehyde

spraying reagent เมื่อใช้ n-Butanol : Acetic acid : water 4:1:5(v/v/v)

หมายเหตุ A:BSE-จุ่มา 1, B:BSE-จุ่มา 2 ,C:BSE –แพร่(เปลือกราก), D:BSE –พะเยา (เปลือกราก),

E:BSE –

แพร่ (เนื้อในของราก) F:BSE –พะเยา(เนื้อในของราก)

สีที่ใช้ในภาพ จำลองจากการเห็นด้วยตาเปล่าหลังจากการพ่นด้วย anisaldehyde spraying

reagen แล้วทำ plate ให้ร้อน

## 2. การตรวจสอบทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของเนื้อเยื่อ (Histology)





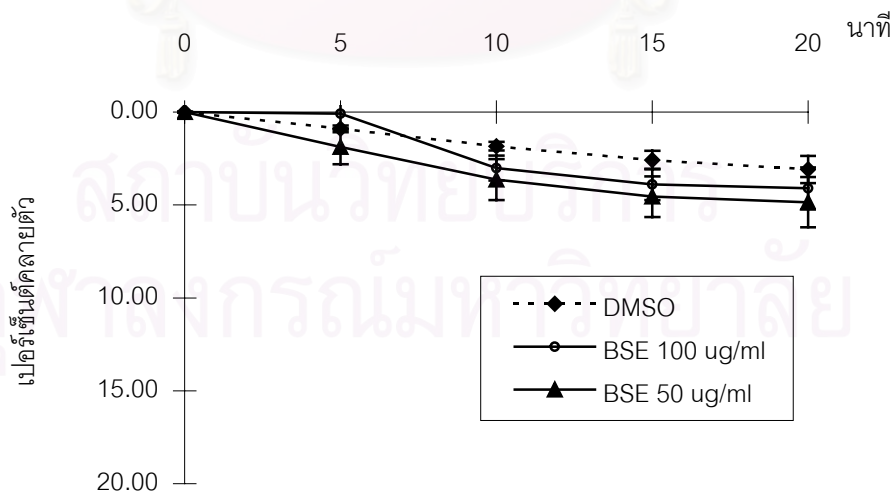


3. ศึกษาผลการตอบสนองของหลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์ต่อสารสกัด กวาวเครือแดง (BSE)

เมื่อให้ BSE ความเข้มข้น 50 และ 100  $\mu\text{g/ml}$  บันทึกผลการทดลองที่ 0 , 5 , 10 , 15 , 20 นาที เปรอ์เซ็นต์การคลายตัวของหลอดเลือดเป็นดังตารางที่ 5 และ กราฟการคลายตัวของหลอดเลือดเป็นดังรูปที่ 18

ตารางที่ 5 แสดงเปอร์เซ็นต์การหดตัวของหลอดเลือดที่ตอบสนองต่อ BSE

เวลาหลัง ได้รับ BSE (นาที)	เปอร์เซ็นต์การคลายตัว(Mean $\pm$ SE)		
	DMSO(n =5)	BSE 50 $\mu\text{g/ml}$ (n =6)	BSE 100 $\mu\text{g/ml}$ (n =6)
0	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00
5	0.90 $\pm$ 0.18	1.88 $\pm$ 0.93	0.08 $\pm$ 0.80
10	1.84 $\pm$ 0.24	3.64 $\pm$ 1.10	3.02 $\pm$ 0.67
15	2.58 $\pm$ 0.50	4.55 $\pm$ 1.09	3.89 $\pm$ 0.85
20	3.09 $\pm$ 0.73	4.85 $\pm$ 1.35	4.10 $\pm$ 1.13



รูปที่ 18 แสดงเปอร์เซ็นต์การคลายตัวของหลอดเลือดเมื่อให้ BSE

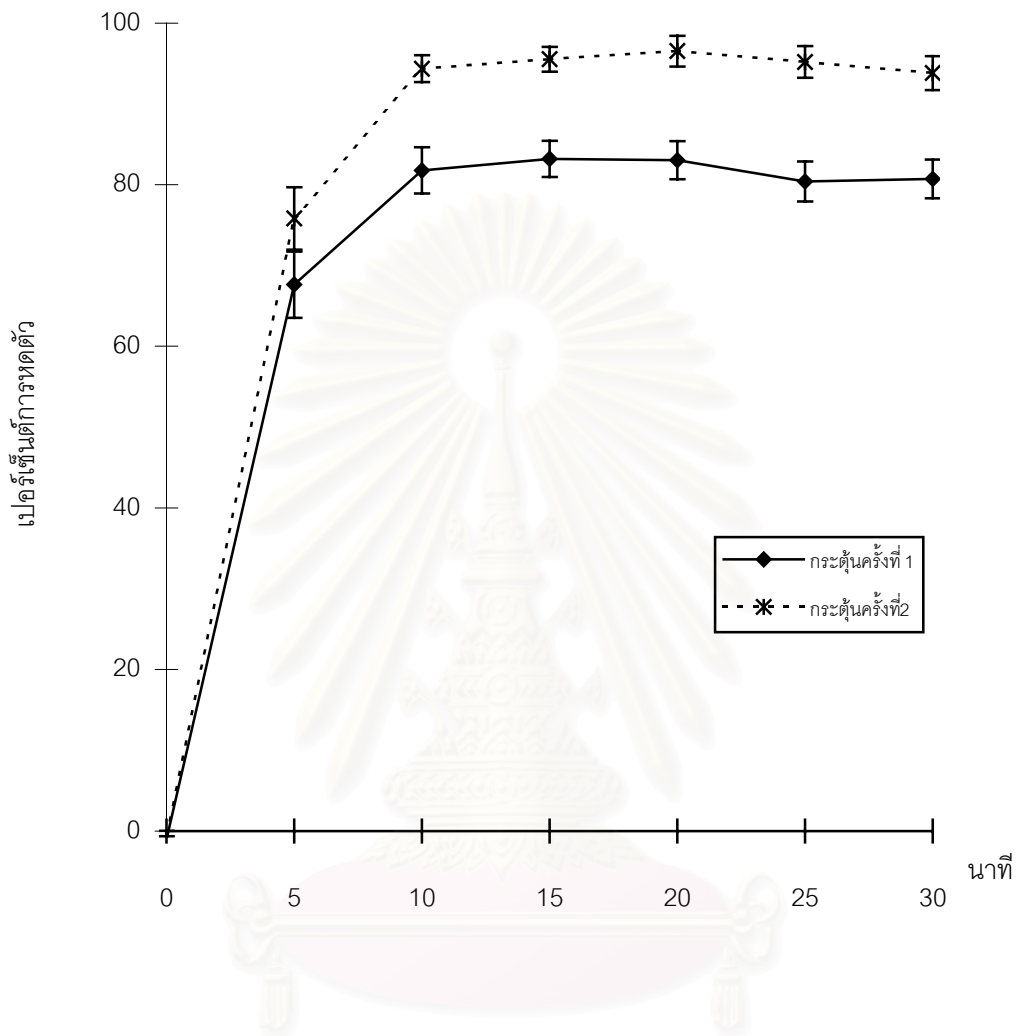
#### 4. ศึกษาผลการตอบสนองของหลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์ ต่อสารมาตรฐาน KCl และ Histamine ด้วยการกระตุ้น 2 ระยะ

##### 4.1 ผลการตอบสนองของหลอดเลือดดำจากสายสะดือมนุษย์ ต่อสารมาตรฐาน KCl

เมื่อกระตุ้นให้หลอดเลือดหดตัวด้วยสารมาตรฐาน KCl ความเข้มข้น 60 mM บันทึกผลการทดลอง ที่ 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 นาที เพอร์เซ็นต์การหดตัวของหลอดเลือดเมื่อกระตุ้นครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 เป็นดังตารางที่ 6 และลักษณะการตอบสนองของหลอดเลือดเปรียบเทียบระหว่างการกระตุ้นครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 เป็นดังรูปที่ 19

ตารางที่ 6 แสดงเปอร์เซ็นต์การหดตัวของหลอดเลือดที่ตอบสนองต่อสารมาตรฐาน KCl ความเข้มข้น 60 mM เมื่อกระตุ้นครั้งที่ 1 และกระตุ้นครั้งที่ 2

เวลาหลังได้รับ สารมาตรฐาน (นาที)	เปอร์เซ็นต์การหดตัวเมื่อให้สารมาตรฐาน KCl ความเข้มข้น 60 mM (n=6) (Mean $\pm$ SE)	
	การกระตุ้นครั้งที่ 1	การกระตุ้นครั้งที่ 2
0	-1.04 $\pm$ 0.40	-0.55 $\pm$ 0.58
5	67.64 $\pm$ 4.11	75.83 $\pm$ 3.84
10	81.77 $\pm$ 2.86	94.38 $\pm$ 1.67
15	83.21 $\pm$ 2.23	95.55 $\pm$ 1.53
20	83.04 $\pm$ 2.35	96.55 $\pm$ 1.91
25	80.39 $\pm$ 2.48	95.20 $\pm$ 1.97
30	80.72 $\pm$ 2.41	93.83 $\pm$ 2.11

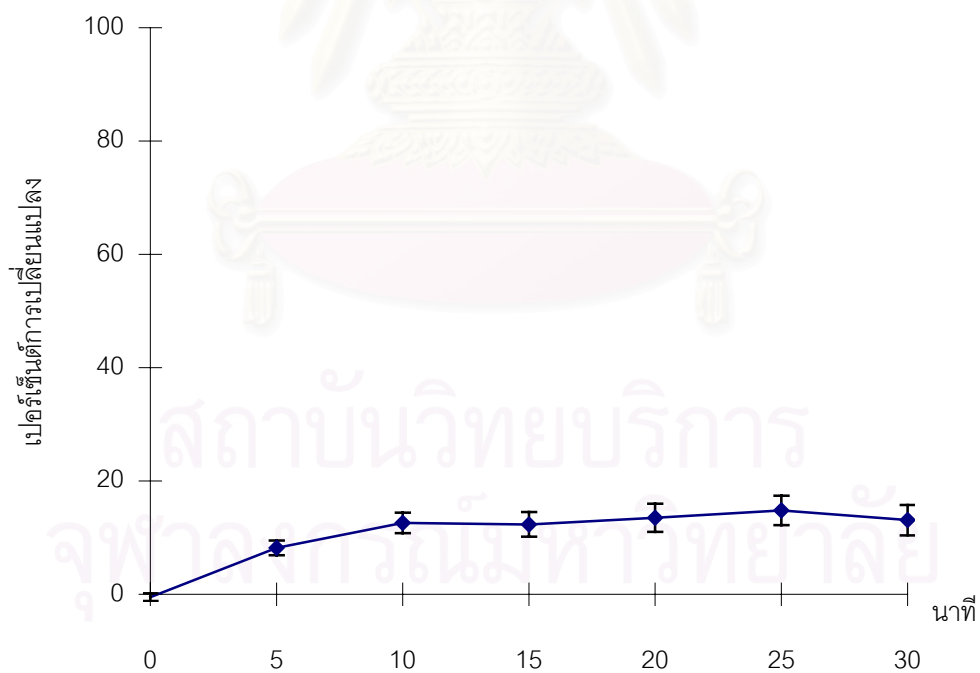


รูปที่ 19 แสดงเปอร์เซ็นต์การหดตัวของหลอดเลือดที่ตอบสนองต่อสารมาตรฐาน KCl ความเข้มข้น 60 mM เมื่อกระตุ้นครั้งที่ 1 เปรียบเทียบกับการกระตุ้นครั้งที่ 2

เมื่อนำมาคำนวณหาการเปลี่ยนแปลงของการตอบสนอง(หดตัว) เมื่อได้รับกระตุ้นครั้งที่ 2 จะมีการตอบสนอง(หดตัว) เปลี่ยนแปลงไปจากการกระตุ้นครั้งที่ 1 แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ดังสรุปได้ดังตารางที่ 7 กราฟการเปลี่ยนแปลงของการตอบสนอง(หดตัว) ของหลอดเลือดเมื่อได้รับการกระตุ้นครั้งที่ 2 แสดงดังรูปที่ 20

ตารางที่ 7 แสดงเปอร์เซ็นต์การตอบสนอง(หดตัว) ที่เปลี่ยนแปลงไปจากการกระตุ้นครั้งที่ 1 เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วยสารมาตรฐาน KCl ความเข้มข้น 60 mM ครั้งที่ 2

เวลาหลังได้รับสารมาตรฐาน (นาที)	เปอร์เซ็นต์การตอบสนอง (หดตัว) ที่เปลี่ยนแปลง (n=6) ( Mean $\pm$ SE)
0	-0.49 $\pm$ 0.67
5	8.19 $\pm$ 1.29
10	12.61 $\pm$ 1.81
15	12.34 $\pm$ 2.17
20	13.50 $\pm$ 2.49
25	14.81 $\pm$ 2.58
30	13.10 $\pm$ 2.68



รูปที่ 20 แสดงเปอร์เซ็นต์การตอบสนอง(หดตัว) ที่เปลี่ยนแปลงไปจากการกระตุ้นครั้งที่ 1 เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วยสารมาตรฐาน KCl ความเข้มข้น 60 mM ครั้งที่ 2

#### 4.2 ผลการตอบสนองของหลอดเลือดดำจากสายสะดือมนุษย์ต่อสารมาตรฐาน Histamine

เมื่อกระตุ้นให้หลอดเลือดหดตัวด้วยสารมาตรฐาน Histamine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-4}$  M บันทึกผลการทดลอง ที่ 0, 4, 7, 10 นาที เปอร์เซ็นต์การหดตัวของหลอดเลือดเมื่อกระตุ้นครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 เป็นดังตารางที่ 8 และลักษณะการตอบสนองของหลอดเลือดเปรียบเทียบระหว่างการกระตุ้นครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 เป็นดังรูปที่ 21

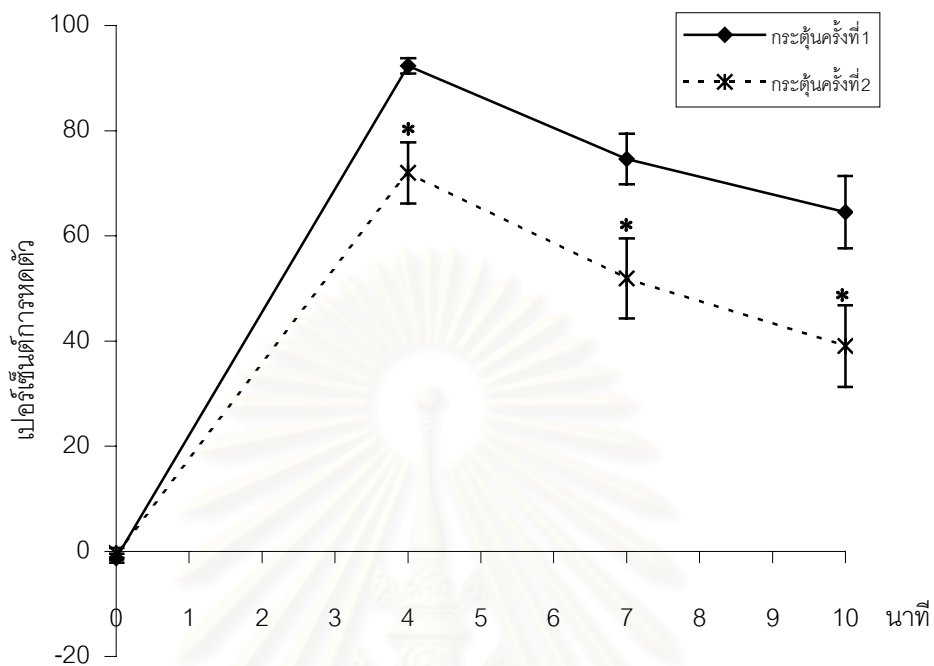
ตารางที่ 8 แสดงเปอร์เซ็นต์การหดตัวของหลอดเลือดที่ตอบสนองต่อสารมาตรฐาน

Histamine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-4}$  M เมื่อกระตุ้นครั้งที่ 1 และกระตุ้นครั้งที่ 2

เวลาหลังได้รับ สารมาตรฐาน (นาที)	เปอร์เซ็นต์การหดตัวเมื่อให้สารมาตรฐาน Histamine ความเข้มข้น $1 \times 10^{-4}$ M (n=6) (Mean $\pm$ SE)	
	การกระตุ้นครั้งที่ 1	การกระตุ้นครั้งที่ 2
0	-1.31 $\pm$ 0.83	-0.31 $\pm$ 0.93
4	92.33 $\pm$ 1.49	71.97 $\pm$ 5.81
7	74.62 $\pm$ 4.80	51.88 $\pm$ 7.61
10	64.49 $\pm$ 6.87	39.03 $\pm$ 7.75

เมื่อนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงของการตอบสนอง(หดตัว) เมื่อได้รับกระตุ้นครั้งที่ 2 จะมีการตอบสนอง(หดตัว)เปลี่ยนแปลงไปจากการกระตุ้นครั้งที่ 1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) สรุปดังตารางที่ 9 กราฟการเปลี่ยนแปลงของการตอบสนอง (หดตัว) ของหลอดเลือดเมื่อกระตุ้นครั้งที่ 2 แสดงดังรูปที่ 22

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



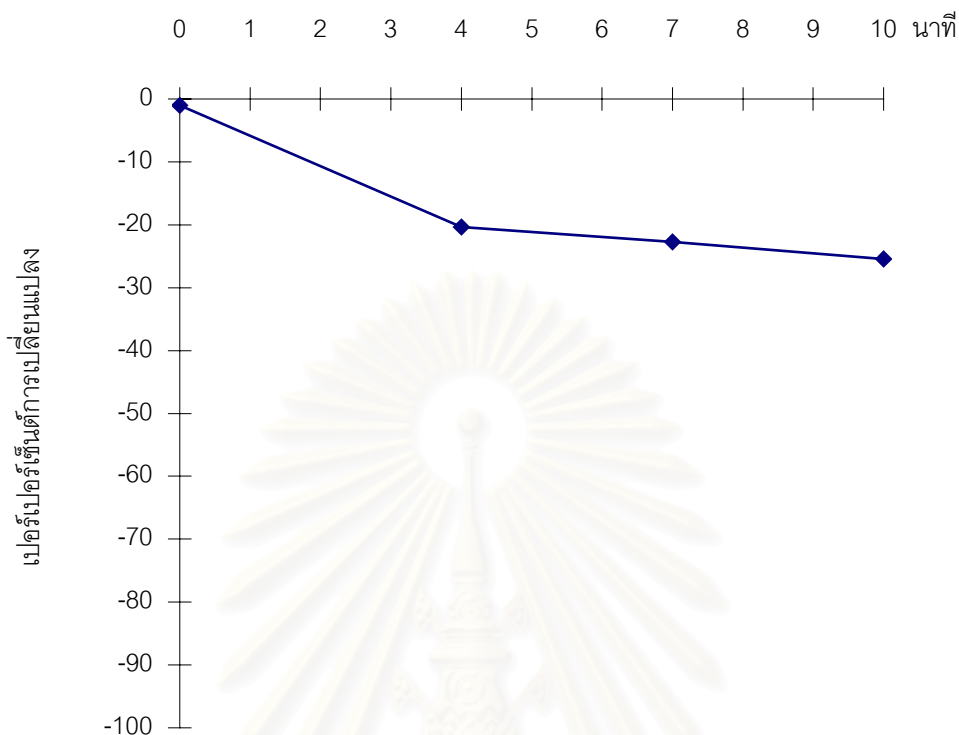
รูปที่ 21 แสดงเปอร์เซ็นต์การหดตัวของหลอดเลือดที่ตอบสนองต่อสารมาตรฐาน Histamine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-4}$  M เมื่อกระตุ้นครั้งที่ 1 เปรียบเทียบกับการกระตุ้นครั้งที่ 2

□ แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเปรียบเทียบที่เวลาเดียวกันของการกระตุ้นครั้งที่ 1 ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ( $p < 0.05$ )

ตารางที่ 9 แสดงเปอร์เซ็นต์การตอบสนอง(หดตัว) ที่เปลี่ยนแปลงไปจากการกระตุ้นครั้งที่ 1 เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วยสารมาตรฐาน Histamine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-4}$  M ครั้งที่ 2

เวลาหลังได้รับสารมาตรฐาน (นาที)	เปอร์เซ็นต์การตอบสนอง (หดตัว) ที่เปลี่ยนแปลง (n=6) ( Mean ± SE)
0	-1.00 ± 1.22
4	-20.36 ± 4.53
7	-22.75 ± 3.92
10	-25.45 ± 6.49





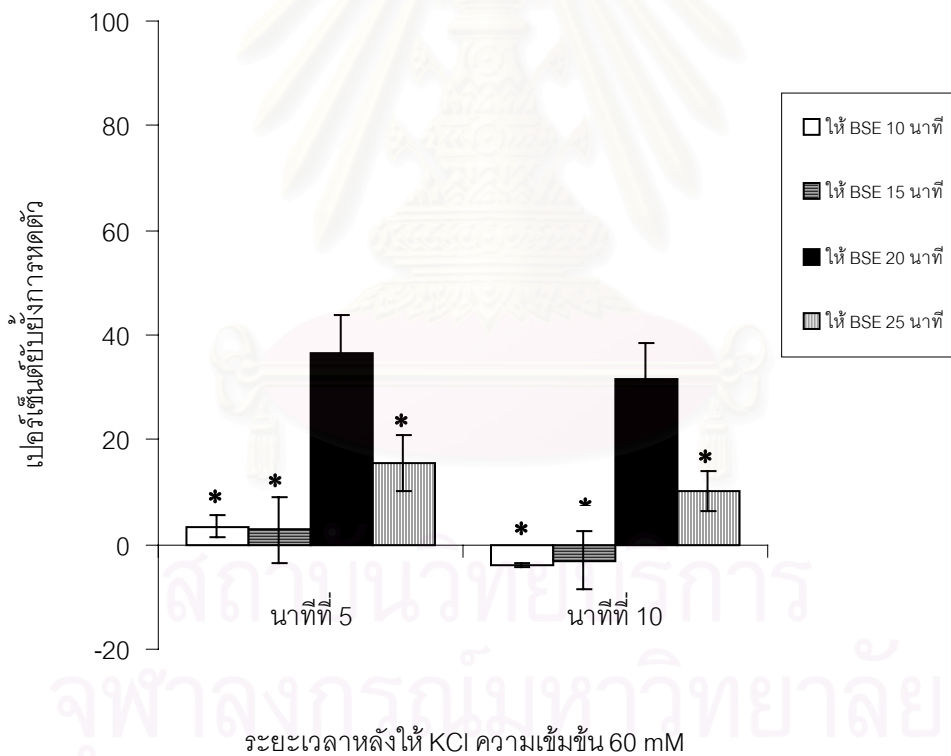
รูปที่ 22 แสดงเปอร์เซ็นต์การตอบสนอง(หดตัว) ที่เปลี่ยนแปลงไปจากการกระตุ้นครั้งที่ 1 เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วยสารมาตรฐาน Histamine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-4}$  M ครั้งที่ 2

#### 5. ศึกษาผลของระยะเวลาที่ให้หลอดเลือดสัมผัสกับ BSE ก่อนให้สารมาตรฐาน KCl

เมื่อให้ BSE ความเข้มข้น  $100 \mu\text{g/ml}$  และให้หลอดเลือดสัมผัสสารนาน 10,15,20,25 นาที ตามลำดับ แล้วกระตุ้นด้วย สารมาตรฐาน KCl ความเข้มข้น  $60 \text{ mM}$  บันทึกผลการทดลอง ที่ 5 และ 10 นาที BSE ความเข้มข้น  $100 \mu\text{g/ml}$  สามารถยับยั้งการหดตัวได้ดังตารางที่ 10 กราฟแสดงเปรียบเทียบระยะเวลา ที่สัมผัส BSE ต่อเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือด เป็นดังรูปที่ 23

ตารางที่ 10 แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดเมื่อให้ BSE ความเข้มข้น 100  $\mu\text{g/ml}$  และสารมาตรฐาน KCl ความเข้มข้น 60 mM

ระยะเวลาที่สัมผัส BSE 100 $\mu\text{g/ml}$ (นาที)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดให้สารมาตรฐาน KCl ความเข้มข้น 60 mM (n=5) (Mean $\pm$ SE)	
	นาทีที่ 5 หลังให้สารมาตรฐาน	นาทีที่ 10 หลังให้สารมาตรฐาน
10	3.47 $\pm$ 2.00	-3.97 $\pm$ 0.39
15	2.81 $\pm$ 6.32	-3.05 $\pm$ 5.46
20	36.41 $\pm$ 7.28	31.63 $\pm$ 6.71
25	15.42 $\pm$ 5.29	10.18 $\pm$ 3.71



รูปที่ 23 แสดงการเปรียบเทียบระยะเวลาสัมผัสกับ BSE ความเข้มข้น 100  $\mu\text{g/ml}$  กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดต่อสารมาตรฐาน KCl ความเข้มข้น 60 mM

\* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเปรียบเทียบกับเมื่อให้ BSE 20 นาที ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ( $p < 0.05$ )

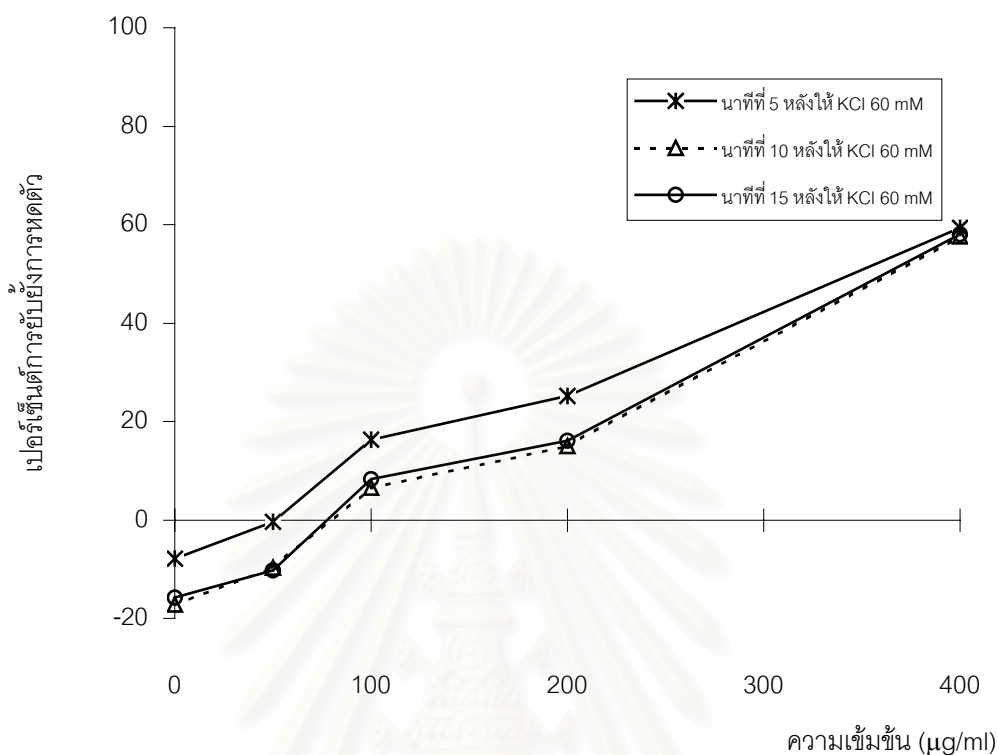
## 6. ศึกษาผลของความเข้มข้นของ BSE ต่อหลอดเลือดเมื่อให้สารมาตรฐาน KCl

เมื่อ ให้ BSE ความเข้มข้น 50 , 100 , 200, 400  $\mu\text{g/ml}$  และให้หลอดเลือดสัมผัสสาร 20 นาที แล้วกระตุ้นให้หดตัวด้วยสารมาตรฐาน KCl ความเข้มข้น 60 mM บันทึกผลการทดลอง ที่ 5 ,10 ,15 นาที หลังให้สารมาตรฐาน พบว่า เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือด แสดงดังตารางที่ 11 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ BSE กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัวแสดงดังรูปที่ 24

ตารางที่ 11 แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดเมื่อให้ BSE ความเข้มข้นต่าง ๆ และสารมาตรฐาน KCl ความเข้มข้น 60 mM

ความเข้มข้นของ BSE ( $\mu\text{g/ml}$ )	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัวเมื่อให้สารมาตรฐาน KCl ความเข้มข้น 60 mM (n=6) (Mean $\pm$ SE)		
	นาทีที่ 5 หลังให้สารมาตรฐาน	นาทีที่ 10 หลังให้สารมาตรฐาน	นาทีที่ 15 หลังให้สารมาตรฐาน
0	-7.86 $\pm$ 4.12	-17.22 $\pm$ 5.39	-15.80 $\pm$ 4.16
50	-0.41 $\pm$ 4.44	-9.67 $\pm$ 5.43	-10.29 $\pm$ 6.03
100	16.36 $\pm$ 7.42	6.55 $\pm$ 6.35	8.29 $\pm$ 5.67
200	25.22 $\pm$ 1.91	15.03 $\pm$ 3.12	16.15 $\pm$ 3.55
400	59.30 $\pm$ 3.48	57.64 $\pm$ 3.26	58.01 $\pm$ 4.65

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 24 แสดงการเปรียบเทียบผลของ BSE ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดที่ตอบสนองต่อสารมาตรฐาน KCl ความเข้มข้น 60 mM

## 7. ศึกษาผลของ BSE ต่อหลอดเลือดที่มีและไม่มีเยื่อหลอดเลือดเมื่อให้สารมาตรฐาน KCl

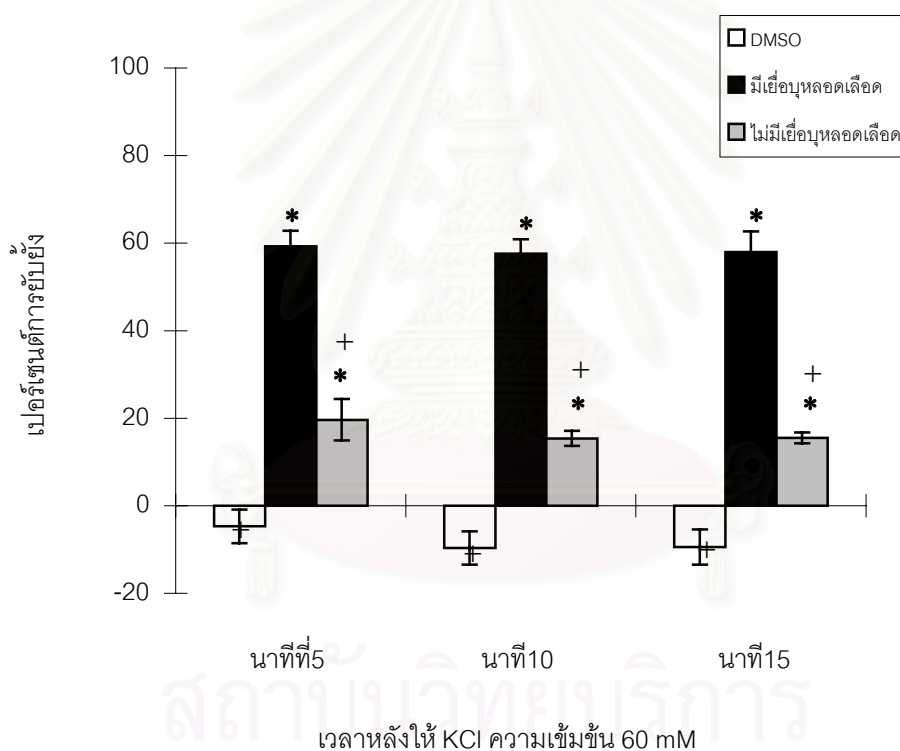
### 7.1 ผลของ BSE ต่อหลอดเลือดที่มีเยื่อหลอดเลือดเมื่อให้สารมาตรฐาน KCl

หลังจากให้ BSE ความเข้มข้น 400 µg/ml 20 นาที กับหลอดเลือดที่มีเยื่อหลอดเลือด แล้วกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ความเข้มข้น 60 mM บันทึกผลที่ 5, 10, 15 นาที หลังจากให้สารกระตุ้นมาตรฐาน พบว่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดที่มีเยื่อหลอดเลือดเป็น  $59.30 \pm 3.48$  ,  $57.64 \pm 3.26$  ,  $58.61 \pm 4.65$  ตามลำดับ

## 7.2 ผลของ BSE ต่อหลอดเลือดที่ปราศจากเยื่อหลอดเลือดเมื่อให้สารมาตรฐาน KCl

หลังจากให้ BSE ความเข้มข้น 400  $\mu\text{g/ml}$  20 นาที กับหลอดเลือดที่ปราศจากเยื่อหลอดเลือดแล้วกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ความเข้มข้น 60 mM บันทึกผลที่ 5,10,15 นาที หลังจากให้สารกระตุ้นมาตรฐาน พบว่า เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดที่ปราศจากเยื่อหลอดเลือดเป็น  $19.63 \pm 4.71$ ,  $15.39 \pm 1.74$ ,  $15.51 \pm 1.24$  ตามลำดับ

กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือด เปรียบเทียบระหว่างหลอดเลือดที่มีและไม่มีเยื่อหลอดเลือดแสดงดังรูปที่ 25



รูปที่ 25 แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดที่มีและไม่มีเยื่อหลอดเลือดเมื่อให้ BSE ความเข้มข้น 400  $\mu\text{g/ml}$  และสารมาตรฐาน KCl ความเข้มข้น 60 mM

- \* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเปรียบเทียบกับ DMSO ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ( $p < 0.05$ )
- + แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเปรียบเทียบกับที่มีเยื่อหลอดเลือด ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ( $p < 0.05$ )

## 8. ศึกษาผลของ BSE ต่อหลอดเลือดที่มีและไม่มีเยื่อหลอดเลือดเมื่อให้สารมาตรฐาน Histamine

### 8.1 ผลของ BSE ต่อหลอดเลือดที่มีเยื่อหลอดเลือดเมื่อให้สารมาตรฐาน Histamine

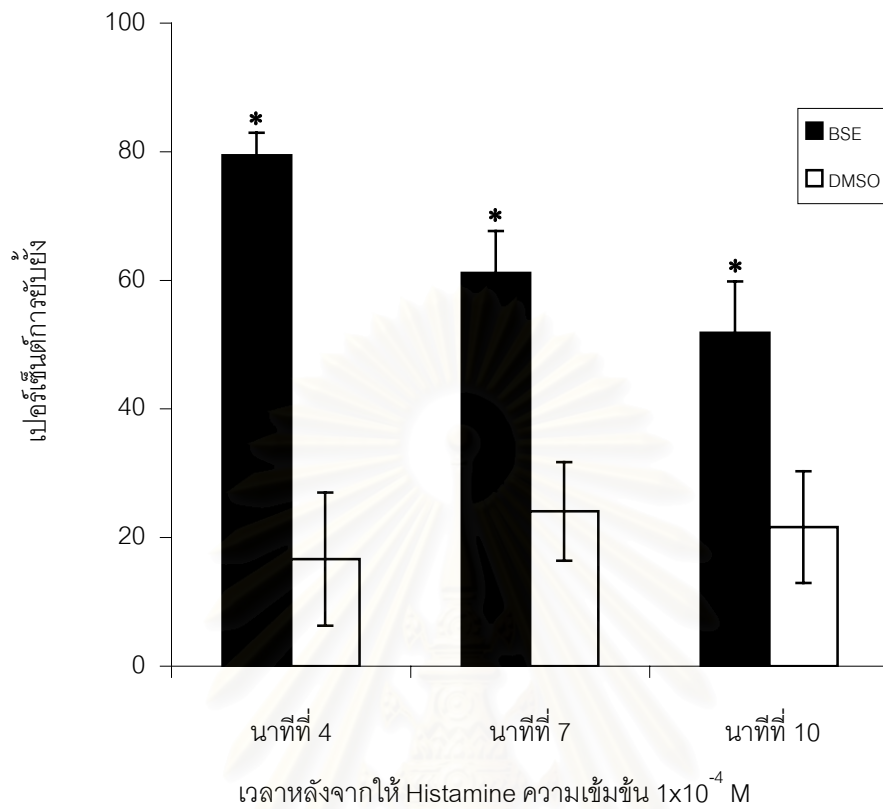
หลังจากให้ BSE ความเข้มข้น 400  $\mu\text{g/ml}$  20 นาที แล้วกระตุ้นให้หดตัว Histamine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-4}$  M บันทึกผลที่ 4 , 7, 10 นาทีหลังจากให้สารกระตุ้นมาตรฐาน พบว่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดแสดงดังตารางที่ 12 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือด เมื่อให้ BSE เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเป็นดังรูปที่ 26

ตารางที่ 12 แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดเมื่อให้ BSE ความเข้มข้น 400  $\mu\text{g/ml}$  และ สารมาตรฐาน Histamine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-4}$  M เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม DMSO ที่ให้ ร่วมกับ Histamine

เวลาหลังให้สารมาตรฐาน Histamine ความเข้มข้น $1 \times 10^{-4}$ M (นาที)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัวที่มีเยื่อหลอดเลือด (n=6) (Mean $\pm$ SE)	
	BSE 400 $\mu\text{g/ml}$	กลุ่มควบคุม DMSO
4	79.46 $\pm$ 3.51	16.65 $\pm$ 10.37
7	61.16 $\pm$ 6.52	24.06 $\pm$ 7.67
10	51.81 $\pm$ 8.04	21.62 $\pm$ 8.68

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย





- รูปที่ 26 แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดที่มีเยื่อหลอดเลือดเมื่อให้ BSE ความเข้มข้น 400  $\mu\text{g/ml}$  และสารมาตรฐาน Histamine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-4}$  M เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม DMSO ที่ให้ร่วมกับ Histamine
- \* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเปรียบเทียบกับ DMSO ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ( $p < 0.05$ )

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## 8.2 ผลของ BSE ต่อหลอดเลือดที่ปราศจากเยื่อหุ้มหลอดเลือดเมื่อให้สารมาตรฐาน Histamine

เมื่อกระตุ้นหลอดเลือดที่ปราศจากเยื่อหุ้มหลอดเลือดด้วย Histamine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-4}$  M ทั้งครั้งที่ 1 ก่อนให้ BSE หรือ DMSO และครั้งที่ 2 หลังให้ BSE หรือ DMSO พบว่าหลอดเลือดตอบสนอง (หดตัว) น้อยมากจนไม่สามารถหาเปอร์เซ็นต์การหดตัวได้

## 9. ศึกษาผลของ BSE ต่อการสังเคราะห์ EDRFs ในหลอดเลือดเมื่อให้สารยับยั้ง NNA (L-arginine analogue ยับยั้งการสร้าง Nitric oxide, Indomethacin (Cyclooxygenase inhibitor ยับยั้งการสร้าง $PGI_2$ ), TEA (Potassium Channel Blocker ยับยั้งการสร้าง EDHF) และกระตุ้นด้วยสารมาตรฐาน KCl

### 9.1 ผลของ BSE ต่อหลอดเลือด ที่มี NNA เมื่อให้สารมาตรฐาน KCl

เมื่อให้ BSE ความเข้มข้น 400  $\mu\text{g/ml}$  แก่หลอดเลือดร่วมกับสารยับยั้ง NNA ความเข้มข้น  $3 \times 10^{-5}$  M แล้วกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ความเข้มข้น 60 mM บันทึกผลที่ 5, 10, 15 นาทีหลังจากให้สารกระตุ้นมาตรฐาน พบว่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดเป็น  $31.71 \pm 11.38$ ,  $22.92 \pm 11.98$ ,  $23.09 \pm 10.79$  ตามลำดับ

### 9.2 ผลของ BSE ต่อหลอดเลือด ที่มี Indomethacin เมื่อให้สารมาตรฐาน KCl

เมื่อให้ BSE ความเข้มข้น 400  $\mu\text{g/ml}$  แก่หลอดเลือดร่วมกับสารยับยั้ง Indomethacin ความเข้มข้น  $5 \times 10^{-5}$  M แล้วกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ความเข้มข้น 60 mM บันทึกผลที่ 5, 10, 15 นาที หลังจากให้สารกระตุ้นมาตรฐานพบว่า เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดเป็น  $44.40 \pm 5.52$ ,  $36.84 \pm 7.28$ ,  $31.04 \pm 7.82$  ตามลำดับ

### 9.3 ผลของ BSE ต่อหลอดเลือด ที่มี TEA เมื่อให้สารมาตรฐาน KCl

เมื่อให้ BSE ความเข้มข้น 400 µg/ml แก่หลอดเลือดร่วมกับสารยับยั้ง TEA ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-4}$  M แล้วกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ความเข้มข้น 60 mM บันทึกผลที่ 5 , 10, 15 นาทีหลังจากให้สารกระตุ้นมาตรฐาน พบว่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดเป็น  $38.77 \pm 5.61$ ,  $36.82 \pm 6.95$ ,  $36.84 \pm 7.98$  ตามลำดับ

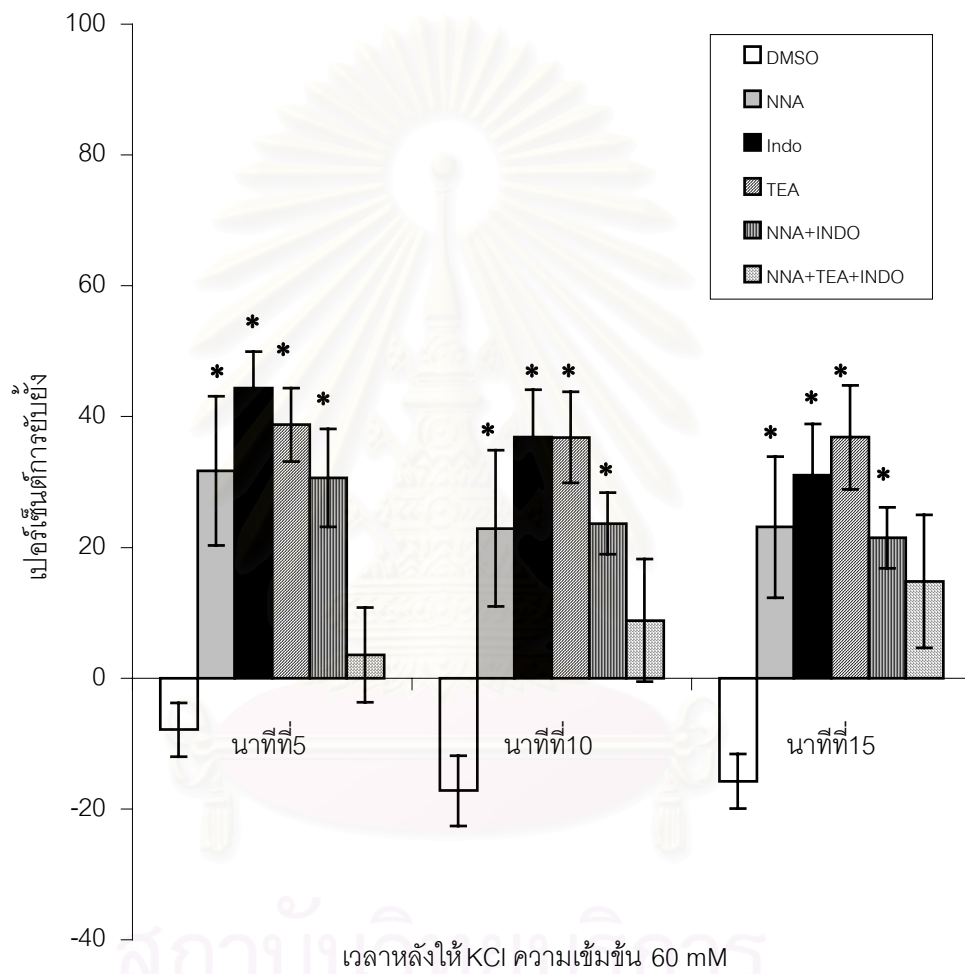
### 9.4 ผลของ BSE ต่อหลอดเลือด ที่มี NNA และ TEA เมื่อให้สารมาตรฐาน KCl

เมื่อให้ BSE ความเข้มข้น 400 µg/ml แก่หลอดเลือดร่วมกับสารยับยั้ง NNA ความเข้มข้น  $3 \times 10^{-5}$  M และ TEA ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-4}$  M แล้วกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ความเข้มข้น 60 mM บันทึกผลที่ 5, 10, 15 นาทีหลังจากให้สารกระตุ้นมาตรฐาน พบว่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดเป็น  $30.65 \pm 7.48$ ,  $23.67 \pm 4.71$ ,  $21.44 \pm 4.65$  ตามลำดับ

### 9.5 ผลของ BSE ต่อหลอดเลือด ที่มี NNA, TEA และ Indomethacin เมื่อให้สารมาตรฐาน KCl

เมื่อให้ BSE ความเข้มข้น 400 µg/ml แก่หลอดเลือดร่วมกับสารยับยั้ง NNA ความเข้มข้น  $3 \times 10^{-5}$  M Indomethacin ความเข้มข้น  $5 \times 10^{-5}$  M และ TEA ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-4}$  M แล้วกระตุ้นให้หดตัวด้วย KCl ความเข้มข้น 60 mM บันทึกผลที่ 5, 10, 15 นาทีหลังจากให้สารกระตุ้นมาตรฐาน พบว่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดเป็น  $3.58 \pm 7.26$ ,  $8.84 \pm 9.34$ ,  $14.83 \pm 10.17$  ตามลำดับ

เมื่อนำเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดของ BSE ความเข้มข้น 400 µg/ml ต่อสารมาตรฐาน KCl ความเข้มข้น 60 mM เมื่อมีสารยับยั้งแต่ละชนิด มาเปรียบเทียบกัน แสดงได้ดังรูปที่ 27



รูปที่ 27 แสดงการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดเมื่อให้ BSE ความเข้มข้น 400  $\mu\text{g/ml}$  และสารมาตรฐาน KCl ความเข้มข้น 60 mM เมื่อมีสารยับยั้งแต่ละชนิดหรือให้สารยับยั้งร่วมกัน

\* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเปรียบเทียบกับ DMSO ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ( $p < 0.05$ )

## 10. ศึกษาผล BSE ต่อหลอดเลือดเมื่อให้สารมาตรฐาน Norepinephrine

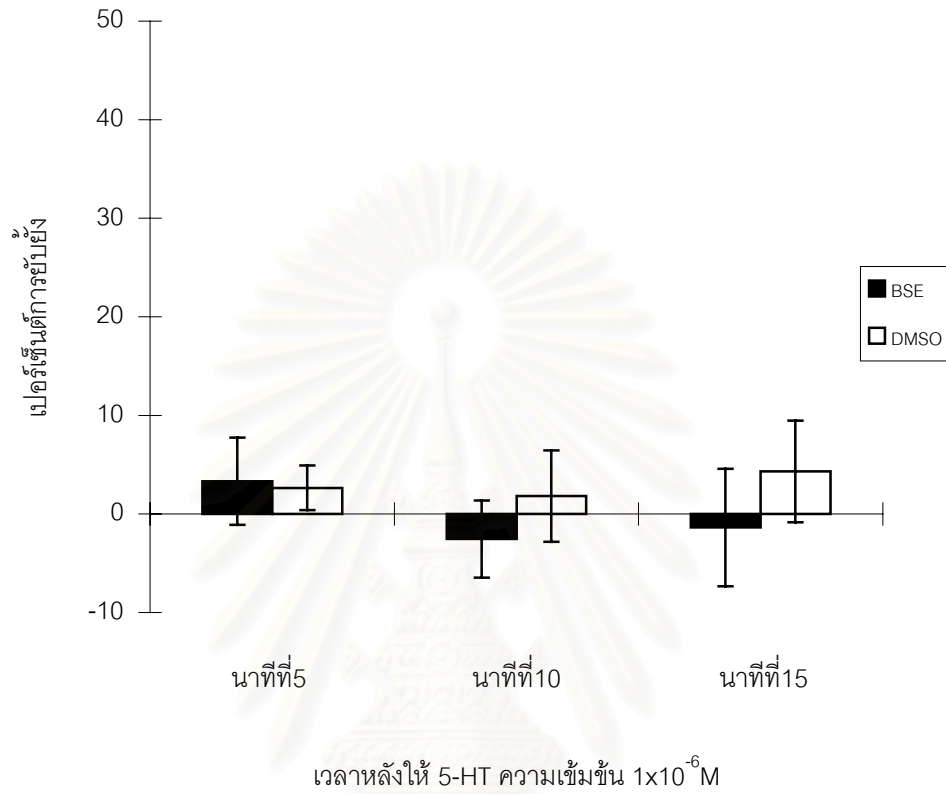
เมื่อกระตุ้นหลอดเลือดด้วย Norepinephrine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-3}$  M ทั้งครั้งที่ 1 ก่อนให้ BSE หรือ DMSO และครั้งที่ 2 หลังให้ BSE หรือ DMSO พบว่าหลอดเลือดมีการตอบสนอง (หดตัว) น้อยมากจนไม่สามารถหาเปอร์เซ็นต์การหดตัวได้

## 11. ศึกษาผล BSE ต่อหลอดเลือดเมื่อให้สารมาตรฐาน 5-HT

หลังจากให้ BSE ความเข้มข้น 400  $\mu\text{g/ml}$  20 นาที แล้วกระตุ้นให้หดตัวด้วย 5-HT ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-6}$  M บันทึกผลที่ 5, 10, 15 นาทีหลังจากให้สารกระตุ้นมาตรฐาน พบว่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดแสดงดังตารางที่ 13 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดเมื่อให้ BSE ร่วมกับ KCl เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม DMSO เป็นดังรูปที่ 28

ตารางที่ 13 แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดเมื่อให้ BSE ความเข้มข้น 400  $\mu\text{g/ml}$  และสารมาตรฐาน 5-HT ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-6}$  M เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม DMSO ที่ให้ร่วมกับ 5-HT

เวลาหลังให้สารมาตรฐาน	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัว (Mean $\pm$ SE)	
	BSE 400 $\mu\text{g/ml}$ (n=6)	กลุ่มควบคุม DMSO (n=6)
5-HT ความเข้มข้น $1 \times 10^{-6}$ M (นาที)		
5	3.32 $\pm$ 4.42	2.65 $\pm$ 2.26
10	-2.54 $\pm$ 3.91	1.82 $\pm$ 4.63
15	-1.37 $\pm$ 5.95	4.33 $\pm$ 5.15



รูปที่ 28 แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดเมื่อให้ BSE ความเข้มข้น 400  $\mu\text{g/ml}$  และ สารมาตรฐาน 5-HT ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-6}$  M เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม DMSO ที่ให้ร่วมกับ 5-HT

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



## บทที่ 5

### สรุปและอภิปรายผลการทดลอง

จากการตรวจวิเคราะห์รูปแบบหรือลักษณะองค์ประกอบของสารในสารสกัดกวางเครือแดง โดยอาศัยเทคนิค TLC ผลการวิเคราะห์ที่ได้สามารถที่จะใช้อ้างอิงในการพิสูจน์เอกลักษณ์และควบคุมคุณภาพวัตถุดิบที่นำมาใช้ในการศึกษาวิจัยได้ และจากการวิเคราะห์สารสกัดกวางเครือแดงที่ใช้ในการศึกษานี้ได้มาจากจังหวัดกาญจนบุรี พบว่า มีความแตกต่างจากสารสกัดกวางเครือแดงจากแพร่และพะเยาเล็กน้อย

จากการทดสอบผลการตอบสนองของหลอดเลือดเมื่อให้สารสกัดกวางเครือแดง (BSE) พบว่า BSE ไม่มีผลทำให้แรงตึงตัวของหลอดเลือดในภาวะปกติเปลี่ยนแปลง จึงต้องทำการทดสอบผลการตอบสนองของหลอดเลือดโดยการกระตุ้นให้เกิดการหดตัวด้วยสารมาตรฐาน

โดยปกติ Potassium chloride (KCl) ความเข้มข้นต่ำ จะทำให้เกิดการคลายตัวของหลอดเลือด เนื่องจากการไปกระตุ้น Potassium channel ในขณะที่ KCl ความเข้มข้นสูง (มากกว่า 40 mM) จะทำให้หลอดเลือดเกิดการหดตัว<sup>(42)</sup> และจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า KCl ความเข้มข้นสูง สามารถทำให้หลอดเลือดหดตัวได้ โดยการกระตุ้นทั้งสองครั้ง การหดตัวครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ห่างกัน 30 นาที เปลี่ยนแปลงแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) (ดังรูปที่ 18) โดยการกระตุ้นครั้งที่ 2 จะทำให้หลอดเลือดหดตัวเพิ่มขึ้นจากครั้งแรก  $8.19 \pm 1.29$ ,  $12.61 \pm 1.81$ ,  $12.34 \pm 2.17$ ,  $13.50 \pm 2.49$ ,  $14.81 \pm 2.58$ ,  $13.10 \pm 2.68$  เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 5, 10, 15, 20, 25, 30 นาที หลังการกระตุ้นตามลำดับ (ดังรูปที่ 20) ทั้งหลอดเลือดที่มีเยื่อหลอดเลือดและที่ปราศจากเยื่อหลอดเลือดสามารถตอบสนองต่อการกระตุ้นด้วย KCl เนื่องมาจากการออกฤทธิ์ของ KCl ไม่ได้อาศัยเยื่อหลอดเลือด โดย KCl ที่ให้เป็น KCl ความเข้มข้นสูงจะทำให้ Membrane action potential เปลี่ยนแปลงเกิด Depolarization กระตุ้นให้ Voltage-gated calcium channel (VOC) เปิดออก ยอมให้แคลเซียม ภายนอกเซลล์เคลื่อนที่ผ่านเข้าสู่ในเซลล์ และเหนี่ยวนำให้ปล่อยแคลเซียม ที่กักเก็บอยู่ภายใน Sarcoplasmic reticulum ออกสู่ Cytoplasm ทำให้แคลเซียมภายใน Cytoplasm เพิ่มขึ้น กระตุ้น MLCK ให้เกิด Phosphorylation ที่ Myosin light chain แล้วจับตัวกับ Actin หลอดเลือดจึงเกิดการหดตัว (ดังรูปที่ 3)<sup>(42,43)</sup> ส่วนผลการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ Histamine เป็นในลักษณะเดียวกัน โดยการกระตุ้นครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ห่างกัน 30 นาที

มีการหดตัวเปลี่ยนแปลงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) (ดังรูปที่ 21) โดยในการกระตุ้นครั้งที่ 2 หลอดเลือดจะหดตัวลดลงจากครั้งแรก  $20.36 \pm 4.53$  ,  $22.75 \pm 3.92$  ,  $25.45 \pm 6.49$  เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 4, 7, 10 นาที หลังการให้ Histamine ตามลำดับ (ดังรูปที่ 22) และ Histamine จะไม่สามารถกระตุ้นให้หลอดเลือดที่ปราศจากเยื่อบุหลอดเลือด เกิดการหดตัวได้ แสดงว่า การกระตุ้นของ Histamine ต้องอาศัยบทบาทของเยื่อบุหลอดเลือด โดย Histamine จะทำงานผ่าน  $H_1$  ,  $H_2$  ,  $H_3$  receptor ซึ่งมีหลักฐานยืนยันว่า พบ  $H_1$  ,  $H_2$  receptor ที่ Endothelial cell โดยเฉพาะอย่างยิ่ง Endothelial cell ของ Umbilical vein <sup>(46)</sup>

ในการศึกษาพบว่า BSE สามารถยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดที่มีเยื่อบุหลอดเลือด เมื่อกระตุ้นด้วย KCl ระยะเวลาที่ให้หลอดเลือดสัมผัสกับ BSE ก่อนให้สารกระตุ้นส่งผลต่อความสามารถในการยับยั้งการหดตัว ในการทดลองได้หาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัวของ BSE 100  $\mu\text{g/ml}$  ในช่วงเวลาสัมผัสสาร 10-25 นาที พบว่าให้หลอดเลือดสัมผัสกับ BSE 20 นาที จะให้เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัวสูงสุด (ดังรูปที่ 23) ในขณะเดียวกันเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัวจะเพิ่มสูงขึ้นหากความเข้มข้นของ BSE เพิ่มขึ้น (ดังรูปที่ 24) แสดงว่าการออกฤทธิ์ของ BSE ขึ้นกับเวลาและขนาดของ BSE ที่ให้ (Dose-dependent) ในการทดลองนี้ พบว่า BSE ความเข้มข้น 400  $\mu\text{g/ml}$  ให้ผลยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือด  $59.30 \pm 3.48$  ,  $57.64 \pm 3.26$  ,  $58.01 \pm 4.65$  เปอร์เซ็นต์ หลังจากให้สารมาตรฐาน KCl 5, 10, 15 นาที ตามลำดับ แสดงว่าเมื่อออกฤทธิ์สูงสุดแล้วเวลาในการสัมผัสไม่มีผลต่อการออกฤทธิ์ ซึ่งในการทดลองนี้ไม่สามารถทดสอบหาความเข้มข้นที่ทำให้สามารถยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดได้ 100 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากมีข้อจำกัดของการละลายของสาร เมื่อความเข้มข้นของ BSE มากกว่า 400  $\mu\text{g/ml}$  จะเกิดการตกตะกอน ดังนั้น หากต้องการที่จะหาความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งการหดตัวได้ 100 เปอร์เซ็นต์ จำเป็นที่จะต้องเปลี่ยนตัวทำละลายหรือเปลี่ยนรูปแบบการทดลอง ซึ่งในการศึกษานี้ความเข้มข้นที่ใช้ในการศึกษาเป็นความเข้มข้นที่ไม่ทำให้สารละลายของสารสกัดเกิดการตกตะกอน (salting out) เมื่อใส่ลงใน organ-bath ที่บรรจุ physiological solution

จากผลการทดลองพบว่าเมื่อกระตุ้นด้วย KCl ในหลอดเลือดที่มีเยื่อบุหลอดเลือด BSE 400  $\mu\text{g/ml}$  สามารถยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดได้  $59.30 \pm 3.48$  ,  $57.64 \pm 3.26$  ,  $58.61 \pm 4.65$  เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 5, 10, 15 นาที หลังให้สารกระตุ้น ตามลำดับ และในหลอดเลือดที่ปราศจากเยื่อบุหลอดเลือด BSE สามารถยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดได้

19.63 ± 4.71 , 15.39 ± 1.74 , 15.51 ± 1.24 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 5 , 10 , 15 นาที หลังให้สารกระตุ้นตามลำดับ (ดังรูปที่ 25) ซึ่งการเตรียมหลอดเลือดทั้งที่มีและไม่มีเยื่อบุหลอดเลือดสามารถยืนยันได้จากการตรวจทาง histology แล้วนั้น (ดังแสดงในรูปที่ 16 และ 17) แสดงว่า BSE ยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดโดยอาศัยการทำงานของเยื่อบุหลอดเลือดเข้ามาเกี่ยวข้อง ซึ่งจะกล่าวต่อไป แต่การยับยั้งการหดตัวเมื่อปราศจากเยื่อบุหลอดเลือดยังคงมีอยู่ จึงคาดว่ามีการออกฤทธิ์ของ BSE อีกส่วนหนึ่งที่ไม่ได้อาศัยเยื่อบุหลอดเลือด ซึ่งการที่ BSE มีความสามารถในการยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือด อาจเกี่ยวข้องกับความสามารถในการยับยั้งการสลายของ cAMP โดย phosphodiesterase (PDE) ของสารฟลาโวนอยด์ คือ 3,7,5'-trihydroxy-4'-methoxyflavone และ ฟลาโวนอยด์ไกลโคไซด์ คือ 4'-methoxyfisetin-7-O-β-D-glucopyranoside ซึ่งเป็นองค์ประกอบที่พบใน BSE <sup>(10,11)</sup> ซึ่ง PDE จะทำหน้าที่สลาย cAMP ให้เป็น 5' AMP เมื่อยับยั้ง PDE จึงทำให้การสลายของ cAMP ช้าลง การคลายตัวของหลอดเลือดจึงเกิดขึ้น และต้านการหดตัวของหลอดเลือดด้วยเช่นกัน (ดังแสดงในรูปที่ 4) <sup>(22)</sup>

การกระตุ้นด้วย Histamine ในหลอดเลือดที่มีเยื่อบุหลอดเลือด BSE 400 μg/ml สามารถยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดได้ 76.46 ± 3.51 , 61.16 ± 6.52 , 51.81 ± 8.04 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 4 , 7 , 10 นาที หลังให้สารกระตุ้น ตามลำดับ (ดังรูปที่ 26) แสดงว่า BSE สามารถยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดจากการกระตุ้นด้วย Histamine ทั้งนี้ น่าจะออกฤทธิ์โดยกลไกที่คล้ายคลึงกับการยับยั้งฤทธิ์ของ KCl เช่นเดียวกัน โดยออกฤทธิ์ผ่าน Endothelial cells ซึ่งเป็นที่ทราบกันอยู่แล้วว่า Endothelial cells สามารถสร้าง EDRFs

จากการศึกษาบทบาทของเซลล์เยื่อบุหลอดเลือดในการออกฤทธิ์ของ BSE มีความเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ EDRFs และ EDHFs โดย Endothelial cell ในหลอดเลือดพบว่าเมื่อให้สารยับยั้งการสังเคราะห์ NO , PGI<sub>2</sub> , EDHFs อย่างใดอย่างหนึ่ง หรือ ให้สารยับยั้งการสังเคราะห์ร่วมกัน 2 เส้นทางการยับยั้งทั้ง 3 เส้นทาง ความสามารถของ BSE ในการยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือด เมื่อกระตุ้นด้วย KCl ลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองที่ไม่มีสารยับยั้ง เมื่อเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดจากผลของ BSE เมื่อมีสารยับยั้งแต่ละชนิดพบว่า ไม่มีความแตกต่างกัน แต่เมื่อให้สารยับยั้งทั้ง 3 ชนิดร่วมกันฤทธิ์ของ BSE ในการยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดจะยับยั้งได้ต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับในกลุ่มที่ให้สารยับยั้งเดี่ยว ๆ (ดังแสดงในรูปที่ 27) จึงสรุปได้ว่าฤทธิ์ของ BSE ที่ยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดน่าจะเกี่ยวข้องกับการสร้าง EDRFs โดย endothelial cell อย่างน้อย 3 เส้นทาง

ได้แก่ NO, PGI<sub>2</sub> และ EDHFs และเกี่ยวเนื่องกับการที่ EDRFs แต่ละเส้นทางจะทำงานเสริมฤทธิ์และเกี่ยวข้องเชื่อมโยงกันด้วยนั่นเอง<sup>(25, 28, 29, 31)</sup> ทั้งนี้การคลายตัวที่เกิดขึ้นน่าจะเกี่ยวข้องกับสารสำคัญที่อยู่ในกาวเครือแดงได้แก่ Butein, Campesterol,  $\beta$ - sitosterol และ flavonoids<sup>(8,9)</sup> ซึ่งมีรายงานก่อนหน้านี้ที่พบว่า Butein มีผลทำให้หลอดเลือดเกิดการคลายตัวโดยผ่านกลไกการสร้าง Nitric oxide และเป็น Phosphodiesterase inhibitor<sup>(57)</sup> อีกทั้งพบว่า Campesterol และ  $\beta$ - sitosterol สามารถกระตุ้นให้การหลั่ง Prostacyclin (PGI<sub>2</sub>) เพิ่มขึ้น<sup>(58)</sup> นอกจากนี้ยังพบว่าสารในกลุ่ม flavonoids มีฤทธิ์ทำให้หลอดเลือดคลายตัวโดยผ่านการสร้าง Nitric oxide<sup>(59)</sup>

ผลของ BSE เมื่อให้ Norepinephrine (NE) พบว่า NE สามารถกระตุ้นให้หลอดเลือดหดตัวน้อยมาก ทั้งนี้เนื่องจาก NE ออกฤทธิ์ผ่าน  $\alpha_1$ -receptor แต่ในสายสะดือมี  $\alpha$ -receptor น้อยมาก<sup>(60)</sup> เพราะสายสะดือช่วงที่ใช้ในการศึกษาไม่มีระบบประสาทมหอลเล็กน้อย<sup>(55)</sup> ดังนั้นหลอดเลือดสายสะดือจึงตอบสนองต่อการกระตุ้นด้วย NE น้อยมาก จนไม่เห็นการเปลี่ยนแปลง ดังนั้นจึงไม่สามารถทำการศึกษาผลของ BSE เมื่อกระตุ้นด้วย NE ได้

ผลของ BSE เมื่อให้ 5-HT พบว่า BSE 400  $\mu$ g/ml ให้ผลยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดเมื่อกระตุ้นด้วย 5-HT ได้  $3.32 \pm 4.42$ ,  $-2.54 \pm 3.91$ ,  $-1.37 \pm 5.95$  เปอร์เซ็นต์ที่เวลา 5, 10, 15 นาที หลังให้สารกระตุ้น ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากกลุ่มควบคุม ( $p < 0.05$ ) (ดังรูปที่ 28) แสดงว่า BSE ไม่สามารถยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดเมื่อกระตุ้นด้วย 5-HT ซึ่งการออกฤทธิ์ผ่าน 5-HT<sub>1</sub> receptor จะไปยับยั้ง Adenylate cyclase<sup>(49)</sup> จึงส่งผลต่อการสร้าง cAMP ที่มีบทบาทในการคลายตัวของหลอดเลือด (ดังแสดงในรูปที่ 4)

#### สรุปผลการทดลอง

สารสกัดกาวเครือแดง (BSE) สามารถยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ที่ถูกกระตุ้นด้วยสารมาตรฐาน KCl ความเข้มข้นสูง และสารมาตรฐาน Histamine ความสามารถของสารสกัด BSE ในการยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดขึ้นกับระยะเวลาที่ให้หลอดเลือดสัมผัสกับสารทดสอบก่อนการกระตุ้นให้เกิดการหดตัว และขึ้นกับความเข้มข้นของสารสกัด เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัวจะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าการออกฤทธิ์ของสารสกัดกาวเครือแดงที่ยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดเมื่อให้ KCl ต้องอาศัยการทำงานของเยื่อหลอดเลือด และการออกฤทธิ์ของสารสกัดที่ยับยั้ง

การหดตัวของหลอดเลือดน่าจะเกี่ยวข้องกับการสร้าง EDRFs และ EDHFs จากเยื่อหลอดเลือด อย่างน้อย 3 เส้นทางคือ Nitric oxide (NO) , Prostacyclin (PGI<sub>2</sub>) และ Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factors (EDHFs) ส่วนการออกฤทธิ์ของ BSE ที่ยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือด เมื่อให้ Histamine อาจมีกลไกส่วนใหญ่เหมือนกับที่ BSE ยับยั้งฤทธิ์ของ KCl ซึ่งไม่ได้ศึกษา ยืนยันในการทดลองนี้ แต่สารสกัดกวางเครือแดงไม่สามารถยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดที่ได้รับ การกระตุ้นให้หดตัวด้วย 5-HT

### ข้อเสนอแนะ

จากการทดลองทั้งหมดข้อมูลที่ได้เป็นเพียงการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดกวางเครือแดง ต่อหลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์ ซึ่งมีคุณสมบัติต่างจากหลอดเลือดดำที่อวัยวะอื่น เนื่องจาก หลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์จะทำหน้าที่เปรียบเสมือนหลอดเลือดแดงที่นำเลือดแม่ไปสู่ลูก<sup>(53)</sup> และจากการที่มีคนนำกวางเครือแดงไปใช้ในการเพิ่มพลังทางเพศของเพศชาย กวางเครือแดงควรมีฤทธิ์ที่ Cavernous ซึ่งควรที่จะทำการศึกษาต่อไป ผลการศึกษานี้ ใช้เป็นแนวทางในการศึกษาในรายละเอียดต่อไป ได้แก่ ฤทธิ์ของสารสกัดกวางเครือแดง ในหลอดเลือดอื่น ๆ เช่น หลอดเลือดที่อวัยวะเพศผู้ของสัตว์ทดลอง และศึกษากลไกการออกฤทธิ์ ในระดับการสร้าง EDRFs ต่อไป รวมทั้งควรศึกษาผลของ BSE ต่อระบบอื่น ๆ เพื่อให้ทราบฤทธิ์ ทั่วไปทางเภสัชวิทยาต่อระบบต่าง ๆ ของร่างกายและพิษวิทยาในสัตว์ทดลองชนิดต่าง ๆ เพื่อยืนยันทั้งประสิทธิผลและความปลอดภัยของสารสกัดกวางเครือแดงใน ขั้นตอนพัฒนา ยาจากสมุนไพร ตามแนวทางของ WHO ซึ่งประกอบด้วยการศึกษาพิษจันเอกลักษณะยืนยันชื่อพืช การควบคุมคุณภาพ การศึกษาระยะก่อนคลินิก และการศึกษาในระยะคลินิก ซึ่งในทุกขั้นตอน ของการศึกษาทดลองการควบคุมคุณภาพของสารสกัดหรือยาเตรียมที่ใช้ในการศึกษาจะ มีความสำคัญและจำเป็นอย่างยิ่ง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



## รายการอ้างอิง

1. สำนักงานนโยบายและแผนสาธารณสุข . แผนพัฒนาสุขภาพแห่งชาติฉบับที่ 9 . วารสารนโยบายและแผนสาธารณสุข 2544 ; 4 : 105-33.
2. อนุสารสุนทร, หลวง . ตำรายาหัวกวาวเครือ เชียงใหม่ : อู่ปะติพงษ์ , 2474.
3. นิสากร ปานประสงค์ . กวาวเครือความหวังสมุนไพรไทย. Update 2542 ; 147 : 40 -5.
4. นันทวัน บุญยะประภัศร. ทองเครือ. ใน : นันทวัน บุญยะประภัศร , อรุณช ไซคชัยเจริญพร, บรรณาธิการ. สมุนไพร ไม้พื้นบ้าน เล่ม 2. กรุงเทพฯ : ประชาชน , 2541 . หน้า 308.
5. รวีวรรณ พิเศษปกาสิต. การศึกษาทางเภสัชเวทของสมุนไพรกวาวเครือ. [วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต] กรุงเทพมหานคร : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ; 2519.
6. สมาคมโรงเรียนแพทย์แผนโบราณ สำนักวัดเชตุพนวิมลมังคลาราม. ประมวลสรรพคุณยาไทย (ภาคสอง) ว่าด้วยพฤกษชาติวัตถุธาตุ และสัตววัตถุนานาชาติ. กรุงเทพฯ : ฟันนี้พับบลิชชิง, 2521 . หน้า 105-6.
7. กองบรรณาธิการ. กวาวเอ๋ย กวาวเครือ. เกษตรกรรมธรรมชาติ 2542 ; 6 : 13-36.
8. เกษม ปังศรีวงศ์. A NOTE ON *BUTEA SUPERBA* , ROXB. อนุสรณ์ในงานพระราชทานเพลิงศพ นายเกษม ปังศรีวงศ์ วันเสาร์ที่ 21 สิงหาคม 2519.
9. ธนาธิป รักศิลป์. องค์ประกอบทางเคมีในหัวกวาวแดง *Butea superba* Roxb. . [วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต] กรุงเทพมหานคร : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ; 2538.
10. Roengsumran Sophon, Petsom Amorn, Ngamrojanavanich Nattaya, Rugsilp Thanatip, Sittiwicheawong Pailin, Khorphueng Prapas, et al. Flavonoid and Flavonoid glycoside from *Butea superba* Roxb. and their cAMP phosphodiesterase inhibitory activity. J Sci Res Chula Univ 2000 ; 25 : 169-76.
11. ไพลิน สิทธีวีเชียรวงศ์. การคัดกรองสารมีฤทธิ์ทางชีวภาพในพืชสมุนไพรโดยวิธียับยั้งไซคลิก-เอเอ็มพี ฟอสโฟไดเอสเทอเรส. . [วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต] กรุงเทพมหานคร : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ; 2542.
12. Vanta S. Preliminary report on the presence of an estrogenic substance and a poisonous substance in the storage root of *Butea superba* Roxb. Thai Sci Bull 1939 ; 4 : 3-9.
13. Pranee Chavalittumrong , Songphol Chivapat , Somkiat Punyamang , Sadudee Rattanajarasroj , Raywadee Butraporn. Chronic Toxicity of *Butea superba* Roxb. Bull Dept Med Sci 2544 ; 3 : 182-95.



14. Aranya Monosroil , Suda Saowadon , Jiradej Monosroi . Preliminary Chronic Toxicity study of Red Kwao Krua (*Butea Superba* , Roxb) and White Kwao Krua (*Pueraria Mirifica* , Airy Shaw and Suvatabandhu ) in rats. [online] 2001 [cited 2003 May 2 ] ; [24 screens] . Available.  
<http://www.planning.oop.cmu.ac.th/cmabstract/2k1/p253-276.pdf> .
15. นภสร โพรธิสาชัย . พิษกึ่งเรื้อรังของกวาวเครือแดง *Butea superba* Roxb. ต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีระวิทยาในหนูแรทเพศเมีย *Rattus norvegicus* . [ปริญญาานิพนธ์] กรุงเทพมหานคร : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ;2543.
16. ภาณุพงษ์ บุญตะคุ . พิษกึ่งเรื้อรังของกวาวเครือแดง (*Butea superba* Roxb.) ต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีระวิทยาในหนูแรทเพศผู้ (*Rattus norvegicus*) . [ปริญญาานิพนธ์] กรุงเทพมหานคร : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ;2543.
17. Sommai Chiayvareesajja, Wilawan Mahabusarakam, Maxwell JF, Pichaet Wiriyaichitra, Towers GHN . Thai Piscicidal Plants,I. J Sci Soc Thai 1987 ; 13 : 29-45.
18. มงคล โมกขะสมิต , กมล สวัสดิ์มงคล , ประยุทธ์ สัตราวาทะ. การศึกษาพิษของสมุนไพรไทย. Bull Dept Med Sci 1970 ; 12 : 36-40.
19. Mongkol Mokkhasmit , Wantana Ngarmwathana, Kamol Sawasdimongkol, Uraivan Permiphath . Pharmacological evaluation of Thai medicinal plants. J Med Assoc Thai 1971 ; 54 : 490-503.
20. Tocharus C , Smitasiri Y , Ingkaninan K , Pisutthanan S , Jeenapongsa R. Effects of *Butea superba* Roxb. on intracavernous pressure in rats. . [online]. Available.  
<http://www.pha.nu.ac.th/Doc/abs/Effects.pdf>
21. Yadava RN ,Reddy KI. A new bio-active flavonol glycoside from the stems of *Butea superba* Roxb. J Asian Nat Prod Res 1998 ; 1: .139-45.
22. Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Garder P, editors. The vascular system. In : Pharmacology. 4<sup>th</sup> ed. New York : Churchill Livingstone , 2001 . p. 279-81.
23. Katzung BG , Chatterjee K. Vasodilators & the treatment of angina Pectoris In : Katzung BG , editors. Basic & clinical pharmacology 7<sup>th</sup> ed . Connecticut : Appleton & Lange,1998 . p.179-96.
24. Boulanger CM, Vonhoutte PM. The endothelium : Pivotal role in health and cardiovascular disease. Neuilly sur Seine : Servier Drug company ; 1994 . p 1-64.

25. Rubanyi GM. Endothelium-derived relaxing and contracting factors. *J Cell Biochem* 1991 ; 46 : 27-36.
26. Meidell RS. Southwestern Internal Medicine Conference: endothelial dysfunction and vascular disease. *Am J Med Sci* 1994 ; 307: 378-89.
27. Pfeilschifter J , Eberhardt W , Huwiler A . Nitric oxide and mechanisms of redox signalling : matrix and matrix-metabolizing enzymes as prime nitric oxide targets. *Eur J Pharmacol* 2001 ; 429 : 279-86.
28. Vane JR, Anggard EE, Regina MB. Regulatory functions of the vascular endothelium. *N Engl J Med* 1990 ; 323 : 27-36.
29. Henrich WL. The endothelium--a key regulator of vascular tone. *Am J Med Sci* 1991 ; 302 : 319-28.
30. Arnal JF, Dinh-Xuan AT, Pueyo M, Darblade B, Rami J. Endothelium-derived nitric oxide and vascular physiology and pathology. *Cell Mol Life Sci* 1999 ; 55 : 1078-87.
31. Vanhoutte PM, Mombouli JV. Vascular endothelium : vasoactive mediators. *Prog Cardiovasc Dis* 1996 ; 39 : 229-38
32. Shepherd JT, Katusic ZS. Endothelium-derived vasoactive factors : I Endothelium-dependent relaxation. *Hypertension* 1991 ; 18(5 suppl) : III76-85
33. Vanhoutte PM, Boulanger CM, Mombouli JV. Endothelium-derived relaxing factors and converting enzyme inhibition. *Am J Cardiol* 1995 ; 76 : 3E-12E.
34. Butler AR, Flitney FW, Williams DL. NO, nitrosonium ions, nitroxide ions, nitrosothiols and iron-nitrosyls in biology: a chemist's perspective. *Trends Pharmacol Sci* 1995 ; 16 : 18-22.
35. Moncada S. Nitric oxide. *J Hypertens Suppl* 1994 ; 12 : S35-9.
36. Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Garder P, editors. Nitric oxide. In : *Pharmacology*. 4<sup>th</sup> ed. New York : Churchill Livingstone , 2001. p 279-81.
37. McGuire JJ , Ding H , Triggle CR. Endothelium -derived relaxing factors : A focus on endothelium-derived hyperpolarizing factor(s). *Can J Physiol Pharmacol* 2001; 79 : 443-70.

38. Campbell WB, Harder DR. Endothelium-derived hyperpolarizing factors and vascular cytochrome P450 metabolites of arachidonic acid in the regulation of tone. *Circ Res* 1999 ; 84 : 484-8.
39. Brailoiu C, Beschea-Chiriac C, Chiriac M. Endothelium-derived hyperpolarizing factor. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi* 1998 ; 102 : 49-55.
40. Triggle CR, Ding H. Endothelium-derived hyperpolarizing factor : is there a novel chemical mediator. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2002 ; 29 : 153-60.
41. Garland CJ, Plane F, Kemp BK, Cocks TM. Endothelium-dependent hyperpolarization : a role in the control of vascular tone. *Trends Pharmacol Sci* 1995 ; 16 : 23-30.
42. Bolton TB. Mechanism of action of transmitter and other substances on smooth muscle. *Physiol Rev* 1979 ; 59 : 606-718.
43. al-Mehdi AB, Shuman H, Fisher AB. Oxidant generation with K<sup>+</sup>-induced depolarization in the isolated perfused lung. *Free Radic Biol Med* 1997 ; 23 : 47-56.
44. Burkhalter A, Julius DJ, Katzung BG. Histamine , serotonin, & the ergot alkaloids. In : Katzung BG. editors. *Basic & clinical pharmacology* 7<sup>th</sup> ed . Connecticut : Appleton & Lange,1998 . p. 261-86.
45. Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Garder P, editors. Local hormone , inflammation and allergy. In : *Pharmacology*. 4<sup>th</sup> ed. New York : Churchill Livingstone , 2001 . p.198-228.
46. Bachert C. The role of histamine in allergic disease : re-appraisal of its inflammatory potential. *Allergy* 2002 ; 57 : 287-96.
47. Repka-Ramirez MS, Baraniuk JN. Histamine in health and disease. *Clin Allergy Immunol* 2002 ; 17 : 1-25.
48. Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Garder P, editors. Other peripheral mediators : 5-hydroxytryptamine and purines. In : *Pharmacology*. 4<sup>th</sup> ed. New York : Churchill Livingstone , 2001 . p. 164-76.
49. Hinton JM, Hill PB, Jeremy JY, Garland C. Signalling pathways activated by 5-HT<sub>1B</sub>/5-HT<sub>1D</sub> receptors in native smooth muscle and primary cultures of rabbit renal artery smooth muscle cells. *J Vasc Res* 2000 ; 37 : 457-68.

50. Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Garder P , editors. Noradenergic transmission. In :  
Pharmacology. 4<sup>th</sup> ed. New York : Churchill Livingstone , 2001 . p. 139-63.
51. กำแพง จตุรจินดา , ประพัทธ์ โอประเสริฐสวัสดิ์ . สูติศาสตร์รามธิบดี . พิมพ์ครั้งที่ 3 กรุงเทพฯ : เมติคัลมีเดีย , 2534.
52. Crawford JM. Vascular anatomy of the human placenta. Am J Obstet Gynecol 1962 ; 84 : 1543-67.
53. Guyton AC. Fetal and Neonatal physiology. In Textbook of medical physiology 8<sup>th</sup> ed. Philadelphia : W.B. Saunder , 1991 : 929-38.
54. สราวุธ สุขมาวงศ์ . คู่มือการฝากครรภ์และการคลอด. พิมพ์ครั้งที่ 14 : รามาธิบดี ; กรุงเทพฯ 2533.
55. Okatani Y, Taniguchi K , Sagara Y. Amplifyting effect of endothelin-1 on serotonin-induced vasoconstriction of human umbilical artery. Am J Obstet Gynecol 1995 ; 172 : 1240-5.
56. Boura AL, Walters AW. Autocoids and control of vascular tone in the human umbilical-placental circulation. Placenta 1991 ; 12 : 453-77.
57. Yu SM , Cheng ZJ , Kuo SC. Endothelium-dependent relaxation of rat aorta by butein , a novel cyclic AMP-specific phosphodiesterase inhibitor. Eur J Pharmacol 1995 ; 280 : 69-77.
58. Awad AB, Smith AJ , Fink CS . Plant sterols regulate rat vascular smooth muscle cell growth and prostacyclin release in culture. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 2001 ; 64 : 323-30.
59. Mojzisoava G , Kuchta M. Dietary Flovonoids and risk of coronary heart disease . Physiol Res 2001 ; 50 : 529-35.
60. Reilly FD, Russel RT. Neurohistochemical evidence supporting an absence of adrenergic and cholinergic innervation in the human placenta and umbilical cord. Anat Rec 1977; 188 : 277-86.



ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 14 แสดงผลการตอบสนองของหลอดเลือดเมื่อให้สารสกัดกวางเครือแดง (BSE)

สารทดสอบ	เวลาหลังให้สารทดสอบ (นาที)	เปอร์เซ็นต์การหดตัว						Mean $\pm$ SE
		1	2	3	4	5	6	
DMSO	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-	0.00 $\pm$ 0.00
	5	0.40	1.40	1.19	0.60	0.91	-	0.90 $\pm$ 0.18
	10	1.64	2.68	1.86	1.21	1.79	-	1.84 $\pm$ 0.24
	15	1.53	4.47	2.39	2.15	2.38	-	2.58 $\pm$ 0.50
	20	1.60	5.87	2.98	2.79	2.21	-	3.09 $\pm$ 0.73
BSE 50 $\mu$ g/ml	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00 $\pm$ 0.00
	5	-0.64	6.12	0.90	1.22	2.23	1.47	1.88 $\pm$ 0.93
	10	0.10	7.93	1.81	3.11	5.03	3.87	3.64 $\pm$ 1.10
	15	1.71	9.04	1.95	5.11	5.08	4.43	4.55 $\pm$ 1.09
	20	2.46	10.15	0.42	5.31	5.76	5.01	4.85 $\pm$ 1.35
BSE 100 $\mu$ g/ml	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00 $\pm$ 0.00
	5	-3.39	0.46	2.67	0.34	0.10	0.31	0.08 $\pm$ 0.80
	10	3.86	3.67	5.49	1.46	2.46	1.18	3.02 $\pm$ 0.67
	15	4.11	5.10	7.22	1.91	3.26	1.73	3.89 $\pm$ 0.85
	20	3.59	6.63	8.37	2.12	1.79	2.10	4.10 $\pm$ 1.13

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ตารางที่ 15 แสดงผลการตอบสนองของหลอดเลือดเมื่อให้สารมาตรฐาน KCl ความเข้มข้น 60 mM ครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2

กระตุ้นครั้งที่	เวลาหลังได้รับสารมาตรฐาน(นาที)	เปอร์เซ็นต์การหดตัว (n=6)						Mean $\pm$ SE
		1	2	3	4	5	6	
ครั้งที่ 1	0	-1.15	0.00	-0.73	-2.13	-0.05	-2.21	-1.04 $\pm$ 0.40
	5	56.47	63.99	80.59	77.70	57.80	69.29	67.64 $\pm$ 4.11
	10	70.21	79.50	86.11	90.00	79.33	85.49	81.77 $\pm$ 2.86
	15	73.72	83.74	82.19	89.83	82.87	86.91	83.21 $\pm$ 2.23
	20	73.92	85.11	79.22	89.77	82.94	87.30	83.04 $\pm$ 2.35
	25	73.21	76.39	76.39	87.29	81.49	87.58	80.39 $\pm$ 2.48
	30	72.57	80.19	76.20	87.76	80.83	86.81	80.72 $\pm$ 2.41
ครั้งที่ 2	0	-0.01	-2.40	-1.30	-0.94	1.83	-0.55	-0.55 $\pm$ 0.58
	5	63.93	68.58	85.95	86.57	71.11	78.85	75.83 $\pm$ 3.84
	10	89.20	90.30	97.10	99.50	96.70	93.60	94.38 $\pm$ 1.67
	15	95.06	93.20	89.55	99.29	99.01	97.17	95.55 $\pm$ 1.53
	20	98.36	98.93	86.99	98.30	98.23	98.47	96.55 $\pm$ 1.91
	25	96.66	97.10	85.46	96.27	97.85	97.88	95.20 $\pm$ 1.97
	30	96.75	94.02	83.59	95.12	97.41	96.10	93.83 $\pm$ 2.11

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 16 แสดงผลการเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของหลอดเลือดเมื่อให้สารมาตรฐาน

KCl ความเข้มข้น 60 mM

เวลาหลังได้รับ สารมาตรฐาน(นาที)	เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลง (n=6)						
	1	2	3	4	5	6	Mean $\pm$ SE
0	-1.13	2.38	0.52	-1.18	-1.87	-1.66	-0.49 $\pm$ 0.67
5	-7.46	-4.59	-5.36	-8.87	-13.31	-9.56	8.19 $\pm$ 1.29
10	-19.00	-11.00	-11.00	-10.00	-17.00	-8.00	12.61 $\pm$ 1.81
15	-21.30	-9.46	-7.36	-9.45	-16.10	-10.30	12.34 $\pm$ 2.17
20	-24.44	-13.82	-7.77	-8.53	-15.29	-11.16	13.50 $\pm$ 2.49
25	-23.45	-20.71	-9.07	-8.97	-16.36	-10.30	14.81 $\pm$ 2.58
30	-24.18	-13.83	-7.39	-7.36	-16.58	-9.28	13.10 $\pm$ 2.68

ตารางที่ 17 แสดงผลการตอบสนองของหลอดเลือดเมื่อให้สารมาตรฐาน Histamine

ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-4}$  M ครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2

กระตุ้น ครั้งที่	เวลาหลังได้รับ สารมาตรฐาน(นาที)	เปอร์เซ็นต์การหดตัว (n=6)						
		1	2	3	4	5	6	Mean $\pm$ SE
ครั้งที่ 1	0	1.88	-0.99	-1.90	-0.55	-1.99	-4.29	-1.31 $\pm$ 0.83
	4	86.41	93.03	90.31	95.47	96.43	92.32	92.33 $\pm$ 1.49
	7	59.51	67.24	68.32	84.05	91.10	77.51	74.62 $\pm$ 4.80
	10	46.03	50.82	54.87	74.00	90.30	70.89	64.49 $\pm$ 6.87
ครั้งที่ 2	0	0.07	0.33	3.65	-2.85	-1.84	-1.21	-0.31 $\pm$ 0.93
	4	50.88	66.17	63.91	79.00	89.88	81.95	71.97 $\pm$ 5.81
	7	27.85	35.37	43.34	66.67	67.03	70.99	51.88 $\pm$ 7.61
	10	18.35	23.20	31.72	56.52	37.75	66.66	39.03 $\pm$ 7.75

ตารางที่ 18 แสดงผลการเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของหลอดเลือดเมื่อให้สารมาตรฐาน

Histamine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-4}$  M ครั้งที่ 2 เปรียบเทียบกับครั้งที่ 1

เวลาหลังได้รับ สารมาตรฐาน(นาที)	เปอร์เซ็นต์การหดตัว (n=6)						Mean $\pm$ SE
	1	2	3	4	5	6	
0	1.81	-1.32	-5.55	2.30	-0.15	-3.08	-1.00 $\pm$ 1.22
4	35.53	26.86	26.40	16.47	6.55	10.37	-20.36 $\pm$ 4.53
7	31.66	31.88	24.98	17.38	24.07	6.52	-22.75 $\pm$ 3.92
10	27.68	27.61	23.14	17.48	52.55	4.23	-25.45 $\pm$ 6.49

ตารางที่ 19 แสดงผลการยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดเมื่อให้สัมผัสกับ BSE

ความเข้มข้น 100  $\mu$ g/ml ระยะเวลาต่าง ๆ และสารมาตรฐาน KCl ความเข้มข้น 60 mM

เวลาที่สัมผัส BSE 100 $\mu$ g/ml (นาที)	เวลาหลังได้รับ สารมาตรฐาน (นาที)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัว (n=6)					Mean $\pm$ SE
		1	2	3	4	5	
10	5	0.51	9.04	6.86	2.72	-1.81	3.47 $\pm$ 2.00
	10	-3.23	-4.31	-3.19	-3.84	-5.29	-3.97 $\pm$ 0.39
15	5	12.26	-3.46	14.95	-19.07	9.39	2.81 $\pm$ 6.32
	10	7.92	-8.30	3.73	-22.05	3.44	-3.05 $\pm$ 5.46
20	5	52.98	36.64	32.38	48.59	11.47	36.41 $\pm$ 7.28
	10	43.23	32.78	23.37	47.90	10.85	31.63 $\pm$ 6.71
25	5	13.41	35.01	15.82	8.78	4.08	15.42 $\pm$ 5.29
	10	6.44	24.04	11.21	2.97	6.23	10.18 $\pm$ 3.71

ตารางที่ 20 แสดงผลการยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดเมื่อให้ BSE ความเข้มข้นต่าง ๆ และสารมาตรฐาน KCl ความเข้มข้น 60 mM

ความเข้มข้น BSE ( $\mu\text{g/ml}$ )	เวลาหลังได้รับ สารมาตรฐาน (นาที)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัว (n=6)						
		1	2	3	4	5	6	Mean $\pm$ SE
0	5	-15.54	-5.50	-0.74	5.21	-22.78	-7.80	-7.86 $\pm$ 4.12
	10	-29.06	-14.54	-10.40	-1.30	-36.87	-11.17	-17.22 $\pm$ 5.39
	15	-30.06	-14.31	-8.94	-5.12	-26.59	-9.77	-15.80 $\pm$ 4.16
50	5	-10.96	-9.85	-8.82	8.97	14.20	3.98	-0.41 $\pm$ 4.44
	10	-16.74	-28.51	-11.14	-6.31	11.74	-7.04	-9.67 $\pm$ 5.43
	15	-12.07	-30.03	-13.35	-11.05	15.93	-11.17	-10.29 $\pm$ 6.03
100	5	5.60	-4.21	30.70	-1.22	33.43	33.88	16.36 $\pm$ 7.42
	10	0.99	-6.59	21.72	-13.53	11.51	25.18	6.55 $\pm$ 6.35
	15	1.13	1.03	21.89	-11.44	12.49	24.64	8.29 $\pm$ 5.67
200	5	21.59	23.40	29.33	32.56	23.67	20.76	25.22 $\pm$ 1.91
	10	10.06	11.50	15.68	10.97	11.84	30.15	15.03 $\pm$ 3.12
	15	12.58	13.55	17.41	12.57	7.97	32.81	16.15 $\pm$ 3.55
400	5	55.70	59.54	49.51	71.90	52.67	66.47	59.30 $\pm$ 3.48
	10	58.22	54.40	61.49	70.21	46.21	55.33	57.64 $\pm$ 3.26
	15	61.48	51.60	69.18	72.14	43.57	50.08	58.01 $\pm$ 4.65

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 21 แสดงผลการยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดที่มีและไม่มีเยื่อหลอดเลือดเมื่อให้ BSE ความเข้มข้น 400  $\mu\text{g/ml}$  และสารมาตรฐาน KCl ความเข้มข้น 60 mM เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม DMSO ที่ให้ร่วมกับ KCl

กลุ่มการทดลอง	เวลาหลังได้รับสารมาตรฐาน (นาที)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัว (n=6)						
		1	2	3	4	5	6	Mean $\pm$ SE
DMSO	5	-0.35	-17.98	-7.16	-2.69	9.67	-9.88	-4.73 $\pm$ 3.82
	10	-16.26	-21.83	-14.69	2.58	-2.77	-5.05	-9.67 $\pm$ 3.81
	15	-16.61	-22.87	-14.45	0.04	1.25	-4.05	-9.45 $\pm$ 4.04
มีเยื่อหลอดเลือด	5	55.70	59.54	49.51	71.90	52.67	66.47	59.30 $\pm$ 3.48
	10	58.22	54.40	61.49	70.21	46.21	55.33	57.64 $\pm$ 3.26
	15	61.48	51.60	69.18	72.14	43.57	50.08	58.61 $\pm$ 4.65
ไม่มีเยื่อหลอดเลือด	5	13.15	21.14	25.08	33.07	25.21	0.15	19.63 $\pm$ 4.71
	10	8.65	20.39	16.73	19.00	13.55	14.01	15.39 $\pm$ 1.74
	15	10.11	19.24	15.38	17.11	15.07	16.14	15.51 $\pm$ 1.24

ตารางที่ 22 แสดงผลการยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดเมื่อให้ BSE ความเข้มข้น 400  $\mu\text{g/ml}$  และสารมาตรฐาน Histamine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-4}$  M เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม DMSO ที่ให้ร่วมกับ Histamine

กลุ่มการทดลอง	เวลาหลังได้รับสารมาตรฐาน (นาที)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัว (n=6)						
		1	2	3	4	5	6	Mean $\pm$ SE
DMSO	4	60.21	-11.05	17.77	27.42	8.11	-2.58	16.65 $\pm$ 10.37
	7	28.58	2.47	41.17	48.66	5.61	17.88	24.06 $\pm$ 7.67
	10	7.53	-4.80	46.83	46.02	10.30	23.85	21.62 $\pm$ 8.68
BSE 400 $\mu\text{g/ml}$	4	75.46	86.28	83.42	73.53	90.37	67.72	79.46 $\pm$ 3.51
	7	70.22	84.16	50.82	40.53	52.52	68.73	61.16 $\pm$ 6.52
	10	64.33	78.59	37.23	30.07	36.59	64.04	51.81 $\pm$ 8.04

ตารางที่ 23 แสดงผลการยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดเมื่อให้ BSE ความเข้มข้น 400  $\mu\text{g/ml}$  และสารมาตรฐาน KCl ความเข้มข้น 60 mM เมื่อมีสารยับยั้งแต่ละชนิดหรือให้สารยับยั้งร่วมกัน

สารยับยั้ง	เวลาหลังได้รับ สารมาตรฐาน (นาที)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัว (n=6)						
		1	2	3	4	5	6	Mean $\pm$ SE
NNA	5	34.82	30.77	52.69	65.62	21.34	-14.97	31.71 $\pm$ 11.38
	10	27.32	14.36	43.89	65.51	3.16	-16.71	22.92 $\pm$ 11.98
	15	27.88	15.35	43.25	60.83	1.65	-10.40	23.09 $\pm$ 10.79
Indomethacin	5	63.65	38.20	44.90	57.00	29.63	33.02	44.40 $\pm$ 5.52
	10	69.85	38.53	25.70	39.77	21.08	26.08	36.84 $\pm$ 7.28
	15	65.24	34.71	12.34	34.95	16.41	22.59	31.04 $\pm$ 7.82
TEA	5	26.89	38.17	36.13	42.44	25.53	63.43	38.77 $\pm$ 5.61
	10	26.05	43.20	20.97	38.01	25.65	67.06	36.82 $\pm$ 6.95
	15	22.85	38.50	16.91	40.03	30.38	72.36	36.84 $\pm$ 7.98
NNA และ TEA	5	44.69	36.68	55.29	5.05	21.01	21.19	30.65 $\pm$ 7.48
	10	13.16	30.21	41.05	15.57	29.08	12.95	23.67 $\pm$ 4.71
	15	11.07	24.13	34.43	11.30	35.04	12.66	21.44 $\pm$ 4.65
NNA , TEA และ Indomethacin	5	37.17	-3.57	-13.07	-2.62	-4.53	8.11	3.58 $\pm$ 7.26
	10	36.22	-0.85	-18.42	-10.42	12.22	34.28	8.84 $\pm$ 9.34
	15	38.79	5.58	-16.49	-8.87	28.32	41.64	14.83 $\pm$ 10.17
กลุ่มควบคุม DMSO	5	-15.54	-5.50	-0.74	5.21	-22.78	-7.80	-7.86 $\pm$ 4.12
	10	-29.06	-14.54	-10.40	-1.30	-36.87	-11.17	-17.22 $\pm$ 5.39
	15	-30.06	-14.31	-8.94	-5.12	-26.59	-9.77	-15.80 $\pm$ 4.16



ตารางที่ 24 แสดงผลการยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดเมื่อให้ BSE ความเข้มข้น 400  $\mu\text{g/ml}$  และสารมาตรฐาน 5-HT ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-6}$  M เปรียบเทียบกับ กลุ่มควบคุม DMSO ที่ให้ร่วมกับ 5-HT

กลุ่มการทดลอง	เวลาหลังได้รับสารมาตรฐาน (นาที)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัว (n = 6)						
		1	2	3	4	5	6	Mean $\pm$ SE
DMSO	4	3.48	5.50	9.91	-6.78	2.71	1.06	2.65 $\pm$ 2.26
	7	-2.44	-2.44	10.03	-16.10	16.10	5.76	1.82 $\pm$ 4.63
	10	-5.48	2.83	13.64	-13.70	20.82	7.86	4.33 $\pm$ 5.15
BSE 400 $\mu\text{g/ml}$	4	-8.10	-10.53	7.75	3.73	17.70	9.34	3.32 $\pm$ 4.42
	7	1.07	-5.46	-2.42	-4.70	12.84	-16.55	-2.54 $\pm$ 3.91
	10	3.83	-3.94	-1.52	-8.85	23.03	-20.75	-1.37 $\pm$ 5.95

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวรุจิเรข บุญกาพิมพ์ เกิดเมื่อวันที่ 17 มิถุนายน 2520 จังหวัด ร้อยเอ็ด  
สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีจาก ภาควิชา วิทยาศาสตร์ทั่วไป คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2540 และสำเร็จการศึกษาระดับปริญญาโทจาก สาขาวิชา  
วิทยาศาสตร์การแพทย์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2545



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย