

ผลของน้ำมันระเหยจากใบของต้นหัสศคุณใหญ่ (*Clausena anisata* Hook.)

ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ



นายประภาค ศรีกิติกุลชัย

สถาบันวิทยบริการ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเภสัชวิทยา สหสาขาวิชาเภสัชวิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2545

ISBN 974-17-3032-2

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EFFECTS OF VOLATILE OIL FROM THE LEAVES OF *CLAUSENA ANISATA* HOOK.  
ON SMOOTH MUSCLE CONTRACTIONS



Mr. Parpak Srikiticoolchai

สถาบันวิทยบริการ

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

Inter-Departmental Program in Pharmacology

Graduate School

Chulalongkorn University

Academic Year 2002

ISBN 974-17-3032-2

หัวข้อวิทยานิพนธ์ ผลของน้ำมันระเหยจากใบของต้นหัสศคุณใหญ่ (*Clausena anisata* Hook.) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ

โดย นายประภาค ศรีกิติกุลชัย

สาขาวิชา เกษษวิทยา

อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ จันทนี อธิธิพานิชพงศ์

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม รองศาสตราจารย์ ดร. นิจศิริ เรืองรังษี

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยรับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย  
(ศาสตราจารย์ ดร. สุชาดา กิรนนนท์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ดร. สุพัตรา ศรีไชยรัตน์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษา  
(รองศาสตราจารย์ จันทนี อธิธิพานิชพงศ์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม  
(รองศาสตราจารย์ ดร. นิจศิริ เรืองรังษี)

.....กรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ดร. ประสาน ธรรมอุปกกรณ์)

ประภักดิ์ ศรีกิติกุลชัย : ผลของน้ำมันระเหยจากใบของต้นหัสศคุณใหญ่ (*Clausena anisata* Hook.) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ. (EFFECTS OF VOLATILE OIL FROM THE LEAVES OF *CLAUSENA ANISATA* HOOK. ON SMOOTH MUSCLE CONTRACTIONS) อ. ที่ปรึกษา : รศ. จันทนี อิทธิพานิชพงศ์, อ. ที่ปรึกษาร่วม : รศ.ดร. นิจศิริ เรืองรังษี, 106 หน้า. ISBN 974-17-3032-2

การศึกษาดูฤทธิ์เบื้องต้นทางเภสัชวิทยาของน้ำมันระเหยจากใบของต้นหัสศคุณใหญ่ต่อลำไส้เล็กส่วน jejunum ของกระต่าย ลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภา กระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาว หลอดลมของหนูตะเภา และหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาวที่แยกออกจากกาย พบว่าสารละลายของน้ำมันระเหยความเข้มข้นแบบผสม ( $5 \times 10^{-5}$ - $3.2 \times 10^{-3}$  % v/v) กระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบของทุกอวัยวะที่ทดสอบเกิดการหดตัวเพิ่มขึ้น การหดตัวสูงสุดพบในหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว ( $47.03\%$  :  $EC_{50} = 1.28 \times 10^{-2}$  % v/v) รองลงมาคือ ลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภา ( $39.40\%$  :  $EC_{50} = 9.60 \times 10^{-3}$  % v/v) กระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาว ( $26.19\%$  :  $EC_{50} = 8.19 \times 10^{-1}$  % v/v) หลอดลมของหนูตะเภา ( $15.78\%$ ) และลำไส้เล็กส่วน jejunum ของกระต่าย ( $4.99\%$ ) ตามลำดับ การทดสอบกลไกการออกฤทธิ์ของน้ำมันระเหยจากใบของต้นหัสศคุณใหญ่ที่สัมพันธ์กับกลไกของตัวรับในระบบประสาทพาราซิมพาเทติก โดยใช้สารละลาย atropine พบว่าในลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภา และลำไส้เล็กส่วน jejunum ของกระต่าย atropine ไม่มีผลต่อการหดตัวที่เกิดขึ้นจากการกระตุ้นด้วยน้ำมันระเหยจากใบของต้นหัสศคุณใหญ่ ในขณะที่หลอดลมของหนูตะเภาการให้ atropine ( $1 \times 10^{-7}$  และ  $1 \times 10^{-6}$  M) แสดงให้เห็นถึงการคลายตัวแม้ว่าการคลายตัวนั้นมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนในกระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาวการให้ atropine ( $1 \times 10^{-7}$  และ  $1 \times 10^{-6}$  M) มีผลยับยั้งการหดตัวที่เกิดจากน้ำมันระเหยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนการทดสอบกลไกการออกฤทธิ์ของน้ำมันระเหยจากใบของต้นหัสศคุณใหญ่ที่สัมพันธ์กับกลไกของตัวรับในระบบประสาทพาราซิมพาเทติกโดยใช้สารละลาย prazosin ( $1 \times 10^{-7}$  M) พบว่าการหดตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาวลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อทำการทดสอบแหล่งของแคลเซียมที่เกี่ยวข้องกับการหดตัวที่เกิดจากน้ำมันระเหย พบว่าการหดตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาวอาศัยแคลเซียมจากภายนอกเซลล์ผ่านทาง calcium channel เนื่องจาก verapamil และสารละลาย calcium free Krebs-Henseleit medium สามารถยับยั้งการหดตัวที่เกิดจากน้ำมันระเหยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากผลการทดลองสรุปได้ว่าน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่กระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบหดตัว โดยมีความเกี่ยวข้องกับการทำงานผ่านกลไกของตัวรับในระบบประสาทพาราซิมพาเทติก และระบบประสาทพาราซิมพาเทติก และแคลเซียมจากภายนอกเซลล์มีบทบาทในการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่เกิดจากการกระตุ้นด้วยน้ำมันระเหย

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

# # 4289677020 : MAJOR PHARMACOLOGY

KEY WORDS : ANETHOLE / METHYL CHAVICOL / SMOOTH MUSCLE CONTRACTION /  
*CLAUSENA ANISATA* HOOK.

PARPAK SRIKITICHOOLCHAI : EFFECTS OF VOLATILE OIL FROM THE LEAVES  
OF *CLAUSENA ANISATA* HOOK. ON SMOOTH MUSCLE CONTRACTIONS.  
THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. CHANDHANEE ITTHIPANICHPONG, THESIS  
COADVISOR : ASSOC. PROF. NIJSIRI RUANGRUNGSI, Ph.D., 106 pp.  
ISBN 974-17-3032-2

Preliminary study of the pharmacological action of volatile oil from the leaves of *Clausena anisata* Hook. was carried out in various smooth muscle preparations. Cumulative doses of the essential oil ( $5 \times 10^{-5}$  -  $3.2 \times 10^{-3}$  % v/v) stimulated the contractile response of all smooth muscle preparations. The highest stimulation was found in isolated rat aorta (47.03 %,  $EC_{50} = 1.28 \times 10^{-2}$  %). The others were guinea-pig ileum (39.40 %,  $EC_{50} = 9.60 \times 10^{-3}$  %) rat fundus (26.19 %,  $EC_{50} = 8.19 \times 10^{-1}$  %) guinea-pig trachea (15.78 %) and rabbit jejunum (4.99 %). These spasmodic effects were investigated through autonomic receptors. The result demonstrated that atropine was not able to attenuate the stimulation effect of the essential oil on the isolated rabbit jejunum and guinea-pig ileum while the inhibitory effects of atropine ( $1 \times 10^{-7}$  and  $1 \times 10^{-6}$  M) were prominently found in the contraction induced by the essential oil on rat fundus. Relaxation effect was insignificantly shown in guinea-pig trachea after exposure to atropine. Sympathetic mechanism of the essential oil was confirmed in rat aorta since prazosin ( $1 \times 10^{-7}$  M) reduced the contractile response produced by the essential oil significantly. The source of calcium ion responsible for the essential oil-induced aortic contraction was elucidated. It was shown that verapamil and calcium free Krebs-Henseleit medium could suppress the aortic contraction evoked by the essential oil. All these results could be concluded that the essential oil from the leaves of *Clausena anisata* possessed smooth muscle stimulation effect partly through sympathetic and parasympathetic receptors.

Inter-department pharmacology

Student's signature.....

Field of study pharmacology

Advisor's signature.....

Academic year 2002

Co-advisor's signature.....

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จด้วยดีโดยได้รับความร่วมมือจากบุคคลหลายท่าน อาทิ รศ.จันทน์ อธิพานิชพงศ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และ รศ.ดร.นิจศิริ เรืองรังษี อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาให้ความรู้ คำแนะนำและความช่วยเหลือในการทำวิทยานิพนธ์ ผู้วิจัยจึงขอขอบพระคุณมา ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.ประสาน ธรรมอุปกกรณ์ ที่กรุณาให้ความรู้ คำแนะนำและความช่วยเหลือในด้านวิธีการทดลอง วิธีการเตรียมเนื้อเยื่อที่แยกจากกาย การวิเคราะห์และวิจารณ์ผลการทดลอง

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.สุพัตรา ศรีไชยรัตน์ ที่กรุณาให้คำแนะนำและความช่วยเหลือในการวิเคราะห์และวิจารณ์ผลการทดลอง

ขอขอบพระคุณ คุณสมฤดี ชื่นกิตติยานนท์ คุณพินธิส ปราบโรค คุณเยาวรัตน์ หินชุย คุณรุจิเรข บุญกาพิมพ์ คุณทิพย์สุดา ปลื้มใจ พี่ๆ น้องๆ เพื่อนๆ พร้อมทั้งคณาจารย์และเจ้าหน้าที่ภาควิชาเกษตรศาสตร์วิทยาทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือในการทำวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณผู้ให้ทุนอุดหนุนการวิจัยประกอบด้วย ทุนบัณฑิตวิทยาลัย และทุนอุดหนุนวิจัยทบวงมหาวิทยาลัย

สุดท้ายนี้ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ญาติพี่น้อง ทุกคนที่ให้การสนับสนุนในการศึกษาตลอดหลักสูตร ผู้วิจัยหวังว่าวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จะเป็นประโยชน์แก่ผู้สนใจทุกท่าน

ประกาศ ศรีกิติกุลชัย

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญภาพ.....	ฐ
คำอธิบายลักษณะและคำย่อ.....	ด
บทที่ 1 บทนำ.....	1
ความสำคัญและที่มาของปัญหาวิจัย.....	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย.....	3
ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....	4
บทที่ 2 อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย.....	20
สัตว์ทดลองและสารเคมี.....	20
วิธีดำเนินการทดลอง.....	22
การวัดผลและการนำเสนอผลการวิจัย.....	27
การวิเคราะห์ผลทางสถิติ.....	27
บทที่ 3 ผลการทดลอง.....	31
การทดลองที่ 1.....	31
การทดลองที่ 2.....	36
การทดลองที่ 3.....	39
การทดลองที่ 4.....	42
บทที่ 4 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง.....	68
รายการอ้างอิง.....	74
ภาคผนวก.....	84
ภาคผนวก ก.....	85
ภาคผนวก ข.....	86
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	106

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1. แสดงการกระจายของตัวรับและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของระบบประสาทอัตโนมัติ.....	12
2. แสดงส่วนประกอบของน้ำยาหล่อเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ใช้ในการศึกษา ผลของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่ทั้ง 3 สูตร.....	85
1. แสดงผลของตัวทำละลาย (0.1% tween60) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ ลำไส้เล็กส่วน Jejunum ของกระต่ายที่แยกออกจากกาย.....	86
2. แสดงผลของ MCh แบบสะสมขนาด ( $1 \times 10^{-8}$ - $1 \times 10^{-4}$ M) ต่อการหดตัวของ กล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน Jejunum ของกระต่ายที่แยกออกจากกาย.....	86
3. แสดงผลของ MCh แบบสะสมขนาด ( $1 \times 10^{-8}$ - $1 \times 10^{-4}$ M) ต่อการหดตัวของ กล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน Jejunum ของกระต่ายที่แยกออกจากกาย เมื่อได้รับ atropine ความเข้มข้น $1 \times 10^{-7}$ M.....	87
4. แสดงผลของ MCh แบบสะสมขนาด ( $1 \times 10^{-8}$ - $1 \times 10^{-4}$ M) ต่อการหดตัว ของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน Jejunum ของกระต่ายที่แยกออกจากกาย เมื่อได้รับ atropine ความเข้มข้น $1 \times 10^{-6}$ M.....	87
5. แสดงผลของสารละลายของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่ แบบสะสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$ - $3.2 \times 10^{-3}$ %) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ ลำไส้เล็กส่วน Jejunum ของกระต่ายที่แยกออกจากกาย.....	88
6. แสดงผลของสารละลายของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่ แบบสะสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$ - $3.2 \times 10^{-3}$ %) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ ลำไส้เล็กส่วน Jejunum ของกระต่ายที่แยกออกจากกาย เมื่อได้รับ atropine ความเข้มข้น $1 \times 10^{-7}$ M.....	88
7. แสดงผลของสารละลายของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่ แบบสะสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$ - $3.2 \times 10^{-3}$ %) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ ลำไส้เล็กส่วน Jejunum ของกระต่ายที่แยกออกจากกาย เมื่อได้รับ atropine ความเข้มข้น $1 \times 10^{-6}$ M.....	89
8. แสดงผลของตัวทำละลาย (0.1% tween60) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ ลำไส้เล็กส่วน Ileum ของหนูตะเภาที่แยกออกจากกาย.....	89



สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
9. แสดงผลของ MCh แบบสะสมขนาด ( $1 \times 10^{-8}$ - $1 \times 10^{-4}$ M) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน Ileum ของหนูตะเภาที่แยกออกจากกาย.....	90
10. แสดงผลของ MCh แบบสะสมขนาด ( $1 \times 10^{-8}$ - $1 \times 10^{-4}$ M) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน Ileum ของหนูตะเภาที่แยกออกจากกาย เมื่อได้รับ atropine ความเข้มข้น $1 \times 10^{-7}$ M.....	90
11. แสดงผลของ MCh แบบสะสมขนาด ( $1 \times 10^{-8}$ - $1 \times 10^{-4}$ M) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน Ileum ของหนูตะเภาที่แยกออกจากกาย เมื่อได้รับ atropine ความเข้มข้น $1 \times 10^{-5}$ M.....	91
12. แสดงผลของสารละลายของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่ แบบสะสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$ - $3.2 \times 10^{-3}$ %) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน Ileum ของหนูตะเภาที่แยกออกจากกาย.....	91
13. แสดงผลของสารละลายของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่ แบบสะสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$ - $3.2 \times 10^{-3}$ %) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน Ileum ของหนูตะเภาที่แยกออกจากกาย เมื่อได้รับ atropine ความเข้มข้น $1 \times 10^{-7}$ M.....	92
14. แสดงผลของสารละลายของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่ แบบสะสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$ - $3.2 \times 10^{-3}$ %) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน Ileum ของหนูตะเภาที่แยกออกจากกาย เมื่อได้รับ atropine ความเข้มข้น $1 \times 10^{-5}$ M.....	92
15. แสดงผลของตัวทำละลาย (0.1% tween60) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาวที่แยกออกจากกาย.....	93
16. แสดงผลของ MCh แบบสะสมขนาด ( $1 \times 10^{-8}$ - $1 \times 10^{-4}$ M) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาวที่แยกออกจากกาย.....	93
17. แสดงผลของ MCh แบบสะสมขนาด ( $1 \times 10^{-8}$ - $1 \times 10^{-4}$ M) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาวที่แยกออกจากกาย เมื่อได้รับ atropine ความเข้มข้น $1 \times 10^{-7}$ M.....	94

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
18. แสดงผลของ MCh แบบสะสมขนาด ( $1 \times 10^{-8}$ - $1 \times 10^{-4}$ M) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาวที่แยกออกจากกาย เมื่อได้รับ atropine ความเข้มข้น $1 \times 10^{-6}$ M.....	94
19. แสดงผลของสารละลายของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่ แบบสะสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$ - $3.2 \times 10^{-3}$ %) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาวที่แยกออกจากกาย.....	95
20. แสดงผลของสารละลายของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่ แบบสะสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$ - $3.2 \times 10^{-3}$ %) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาวที่แยกออกจากกาย เมื่อได้รับ atropine ความเข้มข้น $1 \times 10^{-7}$ M.....	95
21. แสดงผลของสารละลายของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่ แบบสะสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$ - $3.2 \times 10^{-3}$ %) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาวที่แยกออกจากกาย เมื่อได้รับ atropine ความเข้มข้น $1 \times 10^{-6}$ M.....	96
22. แสดงผลของตัวทำละลาย (0.1% tween60) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมของหนูตะเภาที่แยกออกจากกาย.....	96
23. แสดงผลของ MCh แบบสะสมขนาด ( $1 \times 10^{-8}$ - $1 \times 10^{-4}$ M) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมของหนูตะเภาที่แยกออกจากกาย.....	97
24. แสดงผลของ MCh แบบสะสมขนาด ( $1 \times 10^{-8}$ - $1 \times 10^{-4}$ M) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมของหนูตะเภาที่แยกออกจากกาย เมื่อได้รับ atropine ความเข้มข้น $1 \times 10^{-7}$ M.....	97
25. แสดงผลของ MCh แบบสะสมขนาด ( $1 \times 10^{-8}$ - $1 \times 10^{-4}$ M) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมของหนูตะเภาที่แยกออกจากกาย เมื่อได้รับ atropine ความเข้มข้น $1 \times 10^{-6}$ M.....	98
26. แสดงผลของสารละลายของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่ แบบสะสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$ - $3.2 \times 10^{-3}$ %) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมของหนูตะเภาที่แยกออกจากกาย.....	98

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
27. แสดงผลของสารละลายของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่ แบบสะสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$ - $3.2 \times 10^{-3}$ %) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ หลอดลมของหนูตะเภาที่แยกออกจากกาย เมื่อได้รับ atropine ความเข้มข้น $1 \times 10^{-7}$ M.....	99
28. แสดงผลของสารละลายของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่ แบบสะสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$ - $3.2 \times 10^{-3}$ %) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ หลอดลมของหนูตะเภาที่แยกออกจากกาย เมื่อได้รับ atropine ความเข้มข้น $1 \times 10^{-6}$ M.....	99
29. แสดงผลของตัวทำละลาย (0.1% tween60) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ หลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาวที่แยกออกจากกาย.....	100
30. แสดงผลของ NE แบบสะสมขนาด ( $1 \times 10^{-9}$ - $1 \times 10^{-5}$ M) ต่อการหดตัวของ กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาวที่แยกออกจากกาย.....	100
31. แสดงผลของ NE แบบสะสมขนาด ( $1 \times 10^{-9}$ - $1 \times 10^{-5}$ M) ต่อการหดตัวของ กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาวที่แยกออกจากกาย เมื่อได้รับ prazosin ความเข้มข้น $1 \times 10^{-8}$ M.....	101
32. แสดงผลของ NE แบบสะสมขนาด ( $1 \times 10^{-9}$ - $1 \times 10^{-5}$ M) ต่อการหดตัวของ กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาวที่แยกออกจากกาย เมื่อได้รับ prazosin ความเข้มข้น $1 \times 10^{-7}$ M.....	101
33. แสดงผลของสารละลายของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่ แบบสะสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$ - $3.2 \times 10^{-3}$ %) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ หลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาวที่แยกออกจากกาย.....	102
34. แสดงผลของสารละลายของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่ แบบสะสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$ - $3.2 \times 10^{-3}$ %) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ หลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาวที่แยกออกจากกาย เมื่อได้รับ prazosin ความเข้มข้น $1 \times 10^{-8}$ M.....	102

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
35. แสดงผลของสารละลายของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่ แบบผสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$ - $3.2 \times 10^{-3}$ %) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ หลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาวที่แยกออกจากกาย เมื่อได้รับ prazosin ความเข้มข้น $1 \times 10^{-7}$ M.....	103
36. แสดงผลของสารละลายของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่ แบบผสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$ - $3.2 \times 10^{-3}$ %) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ หลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาวที่แยกออกจากกายในสารละลาย Calcium free Krebs-Henseleit solution.....	103
37. แสดงผลของสารละลายของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่ แบบผสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$ - $3.2 \times 10^{-3}$ %) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ หลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาวที่แยกออกจากกาย เมื่อได้รับ Verapamil ความเข้มข้น $1 \times 10^{-7}$ M.....	104

## สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1. แสดงลักษณะช่อดอกของต้นหัสศุณใหญ่ ( <i>Clausena anisata</i> Hook.).....	14
2. แสดงลักษณะผลของต้นหัสศุณใหญ่ ( <i>Clausena anisata</i> Hook.).....	14
3. แสดงลักษณะต้นและใบของต้นหัสศุณใหญ่ ( <i>Clausena anisata</i> Hook.).....	15
4. แสดงปริมาณสารเคมีที่พบในน้ำมันระเหยจากใบของต้นหัสศุณใหญ่.....	15
5. แสดงสูตรโครงสร้างของ anethole และ methyl chavicol.....	16
6. แสดงการเคลื่อนที่ของแคลเซียมเข้าสู่เซลล์กล้ามเนื้อเรียบ.....	16
7. แสดงกลไกการเกิด signal transduction ของตัวรับในระบบประสาท adrenergic, cholinergic, serotonergic และ histaminergic ในกระบวนการทำให้เกิดการตอบสนองของเซลล์.....	17
8. แสดง Ca <sup>2+</sup> /phosphoinositide signaling pathway.....	18
9. แสดงกลไกการหดตัว-คลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....	19
10. แสดงเครื่องมือที่ใช้ในการศึกษาการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่แยกจากกาย.....	21
11. แสดงการเตรียมเนื้อเยื่อลำไส้เล็กส่วน Ileum ของหนูตะเภา.....	28
12. แสดงการเตรียมเนื้อเยื่อหลอดลมแบบต่างๆ.....	29
13. แสดงการเตรียมเนื้อเยื่อหลอดลมแบบ Zig Zag section.....	29
14. แสดงการเตรียมเนื้อเยื่อหลอดเลือดแดงใหญ่ส่วน aorta แบบ spiral section.....	30
15. แสดงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน Jejunum ของกระต่ายเมื่อได้รับสารละลายของน้ำมันระเหยแบบผสมขนาด (5×10 <sup>-5</sup> – 3.2×10 <sup>-3</sup> %) เปรียบเทียบกับเมื่อได้รับสารละลายของ MCh (1×10 <sup>-8</sup> - 1×10 <sup>-4</sup> M) และตัวทำละลายอย่างเดียว.....	46
16. แสดงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน jejunum ของกระต่ายเมื่อได้รับสารละลายของ MCh (1×10 <sup>-8</sup> - 1×10 <sup>-4</sup> M) เปรียบเทียบกับเมื่อได้รับสารละลาย atropine ขนาด 1×10 <sup>-7</sup> M หรือ 1×10 <sup>-6</sup> M.....	47
17. แสดงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน Jejunum ของกระต่ายเมื่อได้รับสารละลายของน้ำมันระเหยแบบผสมขนาด (5×10 <sup>-5</sup> – 3.2×10 <sup>-3</sup> %) เปรียบเทียบระหว่างได้รับสารละลาย atropine ขนาด 1×10 <sup>-7</sup> M กับไม่ได้รับสารละลาย atropine ขนาด 1×10 <sup>-7</sup> M.....	48

## สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
18. แสดงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน Jejunum ของกระต่ายเมื่อได้รับสารละลายของน้ำมันระเหยแบบผสมขนาด ( $5 \times 10^{-5} - 3.2 \times 10^{-3} \%$ ) เปรียบเทียบระหว่างได้รับสารละลาย atropine ขนาด $1 \times 10^{-6}$ M กับไม่ได้รับสารละลาย atropine ขนาด $1 \times 10^{-6}$ M.....	49
19. แสดงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน Ileum ของหนูตะเภาเมื่อได้รับสารละลายของน้ำมันระเหยแบบผสมขนาด ( $5 \times 10^{-5} - 3.2 \times 10^{-3} \%$ ) เปรียบเทียบกับเมื่อได้รับสารละลายของ MCh ( $1 \times 10^{-8} - 1 \times 10^{-4}$ M) และตัวทำละลายอย่างเดี่ยว.....	50
20. แสดงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภาเมื่อได้รับสารละลายของ MCh ( $1 \times 10^{-8} - 1 \times 10^{-4}$ M) เปรียบเทียบกับเมื่อได้รับสารละลาย atropine ขนาด $1 \times 10^{-7}$ M หรือ $1 \times 10^{-5}$ M.....	51
21. แสดงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน Ileum ของหนูตะเภาเมื่อได้รับสารละลายของน้ำมันระเหยแบบผสมขนาด ( $5 \times 10^{-5} - 3.2 \times 10^{-3} \%$ ) เปรียบเทียบระหว่างได้รับสารละลาย atropine ขนาด $1 \times 10^{-7}$ M กับไม่ได้รับสารละลาย atropine ขนาด $1 \times 10^{-7}$ M.....	52
22. แสดงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน Ileum ของหนูตะเภาเมื่อได้รับสารละลายของน้ำมันระเหยแบบผสมขนาด ( $5 \times 10^{-5} - 3.2 \times 10^{-3} \%$ ) เปรียบเทียบระหว่างได้รับสารละลาย atropine ขนาด $1 \times 10^{-5}$ M กับไม่ได้รับสารละลาย atropine ขนาด $1 \times 10^{-5}$ M.....	53
23. แสดงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาวเมื่อได้รับสารละลายของน้ำมันระเหยแบบผสมขนาด ( $5 \times 10^{-5} - 3.2 \times 10^{-3} \%$ ) เปรียบเทียบกับเมื่อได้รับสารละลายของ MCh ( $1 \times 10^{-8} - 1 \times 10^{-4}$ M) และตัวทำละลายอย่างเดี่ยว .....	54
24. แสดงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาวเมื่อได้รับสารละลายของ MCh ( $1 \times 10^{-8} - 1 \times 10^{-4}$ M) เปรียบเทียบกับเมื่อได้รับสารละลาย atropine ขนาด $1 \times 10^{-7}$ M หรือ $1 \times 10^{-6}$ M.....	55

สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
25. แสดงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาว เมื่อได้รับสารละลายของน้ำมันระเหยแบบผสมขนาด ( $5 \times 10^{-5} - 3.2 \times 10^{-3} \%$ ) เปรียบเทียบระหว่างได้รับสารละลาย atropine ขนาด $1 \times 10^{-7}$ M กับ ไม่ได้รับสารละลาย atropine ขนาด $1 \times 10^{-7}$ M.....	56
26. แสดงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาว เมื่อได้รับสารละลายของน้ำมันระเหยแบบผสมขนาด ( $5 \times 10^{-5} - 3.2 \times 10^{-3} \%$ ) เปรียบเทียบระหว่างได้รับสารละลาย atropine ขนาด $1 \times 10^{-6}$ M กับไม่ได้รับ สารละลาย atropine ขนาด $1 \times 10^{-6}$ M.....	57
27. แสดงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมของหนูตะเภาเมื่อได้รับ สารละลายของน้ำมันระเหยแบบผสมขนาด ( $5 \times 10^{-5} - 3.2 \times 10^{-3} \%$ ) เปรียบเทียบกับเมื่อได้รับสารละลายของ MCh ( $1 \times 10^{-8} - 1 \times 10^{-4}$ M) และตัวทำละลายอย่างเดียว.....	58
28. แสดงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมของหนูตะเภาเมื่อได้รับ สารละลายของ MCh ( $1 \times 10^{-8} - 1 \times 10^{-4}$ M) เปรียบเทียบกับเมื่อ ได้รับสารละลาย atropine ขนาด $1 \times 10^{-7}$ M หรือ $1 \times 10^{-6}$ M.....	59
29. แสดงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมของหนูตะเภาเมื่อได้รับสารละลาย ของน้ำมันระเหยแบบผสมขนาด ( $5 \times 10^{-5} - 3.2 \times 10^{-3} \%$ ) เปรียบเทียบระหว่าง ได้รับสารละลาย atropine ขนาด $1 \times 10^{-7}$ M กับไม่ได้รับสารละลาย atropine ขนาด $1 \times 10^{-7}$ M.....	60
30. แสดงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมของหนูตะเภาเมื่อได้รับสารละลาย ของน้ำมันระเหยแบบผสมขนาด ( $5 \times 10^{-5} - 3.2 \times 10^{-3} \%$ ) เปรียบเทียบระหว่าง ได้รับสารละลาย atropine ขนาด $1 \times 10^{-6}$ M กับไม่ได้รับสารละลาย atropine ขนาด $1 \times 10^{-6}$ M.....	61
31. แสดงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาวเมื่อได้รับ สารละลายของน้ำมันระเหยแบบผสมขนาด ( $5 \times 10^{-5} - 3.2 \times 10^{-3} \%$ ) เปรียบเทียบกับเมื่อได้รับสารละลายของ Norepinephrine ( $1 \times 10^{-9} - 1 \times 10^{-5}$ M) และตัวทำละลายอย่างเดียว .....	62

## สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
32. แสดงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาวเมื่อได้รับสารละลายของ NE ( $1 \times 10^{-9}$ - $1 \times 10^{-5}$ M) เปรียบเทียบกับเมื่อได้รับสารละลาย prazosin ขนาด $1 \times 10^{-8}$ M หรือ $1 \times 10^{-7}$ M.....	63
33. แสดงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาวเมื่อได้รับสารละลายของน้ำมันระเหยแบบผสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$ - $3.2 \times 10^{-3}$ %) เปรียบเทียบระหว่างได้รับสารละลาย prazosin ขนาด $1 \times 10^{-8}$ M กับไม่ได้รับสารละลาย prazosin ขนาด $1 \times 10^{-8}$ M.....	64
35. แสดงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาวเมื่อได้รับสารละลายของน้ำมันระเหยแบบผสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$ - $3.2 \times 10^{-3}$ %) เปรียบเทียบระหว่างได้รับสารละลาย prazosin ขนาด $1 \times 10^{-7}$ M กับไม่ได้รับสารละลาย prazosin ขนาด $1 \times 10^{-7}$ M.....	65
36. แสดงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาวเมื่อได้รับสารละลายของน้ำมันระเหยแบบผสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$ - $3.2 \times 10^{-3}$ %) เปรียบเทียบระหว่างการทดสอบในสารละลาย Kreb's solution กับการทดสอบในสารละลาย Calcium free Kreb's solution.....	66
37. แสดงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาวเมื่อได้รับสารละลายของน้ำมันระเหยแบบผสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$ - $3.2 \times 10^{-3}$ %) เปรียบเทียบระหว่างได้รับสารละลาย verapamil ขนาด $1 \times 10^{-7}$ M กับไม่ได้รับสารละลาย verapamil ขนาด $1 \times 10^{-7}$ M.....	67



## คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

AA	=	arachidonic acid
ACh	=	Acetylcholine
ATP	=	Adenosine triphosphate
ADP	=	Adenosine diphosphate
ADT	=	anethole dithiolthione
Ca <sup>2+</sup>	=	Calcium ion
Cal	=	Calmodulin
Cal-E	=	Calmodulin binding enzyme
CCR	=	Calcium induced calcium release
CO <sub>2</sub>	=	Carbondioxide
CPH	=	cyclophosphamide
DAG	=	diacylglycerol
DNA	=	deoxyriboneucleic acid
E	=	enzyme
EC <sub>50</sub>	=	effect concentration 50%
EGTA	=	ethylene glycol bis (β-amino ethylether)-N',N',N',N'-tetraacetic acid
EMS	=	ethyl methane sulfonate
G	=	G-protein
GC-MS	=	Gas chromatography-Mass spectrometry
IP <sub>3</sub>	=	inositol-1,4,5-triphosphate
KCl	=	Potassium chloride
Kg	=	kilogram
M	=	molar
MCh	=	methacholine
mg	=	milligram
μl	=	microlitre
ml	=	millilitre
MLCK	=	myosin light chain kinase
MNNG	=	N'-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

## คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ (ต่อ)

Myosin-P	=	phosphorylated myosin
n	=	sample size
NE	=	Norepinephrine
O <sub>2</sub>	=	Oxygen
P	=	probability
PCB	=	procabazine
P <sub>i</sub>	=	inorganic phosphorus
PKC	=	protein kinase C
PLC	=	phospholipase C
po	=	post oral
POC	=	potential (voltage)-operated calcium channel
PI	=	phosphatidylinositol
PIP <sub>2</sub>	=	inositol-1,4-diphosphate
R	=	receptor
RLC	=	receptor-linked calcium channel
ROC	=	receptor-operated calcium channel
S	=	substrates of the kinase
S~P	=	substrates phosphorylated
SR	=	sarcoplasmic recticulum
TNF	=	tumour necrosis factor
Tx	=	thromboxane
LD <sub>50</sub>	=	Lethal dose 50%
URE	=	urethane
v	=	volume
VOC	=	voltage-operated calcium channel
w	=	weight
%	=	percent
<	=	less than
/	=	per

# บทที่ 1

## บทนำ

### ความสำคัญและที่มาของปัญหาวิจัย

ประเทศไทยนับเป็นประเทศที่มีความอุดมสมบูรณ์ทางด้านทรัพยากรธรรมชาติ เนื่องจากมีพื้นที่อยู่ในเขตร้อนชื้น ป่าไม้ในประเทศจัดเป็นป่าชื้นเขตร้อน มีความหลากหลายของพันธุ์พืช พันธุ์สัตว์ จึงอุดมไปด้วยสมุนไพรหลากหลายชนิด และยังมีสมุนไพรที่มีประโยชน์อีกมาก ที่รอการศึกษาและพัฒนาไปใช้ในการรักษาโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

เครื่องเทศเป็นพืชสมุนไพรที่ถูกใช้เป็นเครื่องปรุงแต่งรสและกลิ่นของอาหารมาแต่โบราณ ชนิดและกรรมวิธีการใช้เครื่องเทศนั้นจะแตกต่างกันไปตามวัฒนธรรมของแต่ละประเทศ จากการตรวจสอบสารเคมีที่เป็นองค์ประกอบของเครื่องเทศหลายชนิด พบว่าส่วนใหญ่จะประกอบด้วย น้ำมันระเหย นอกจากนี้ก็ยังมีสารกลุ่มอื่นอีกมาก เช่น ซาโปนิน (saponin) แทนนิน (tannin) ฟลาโวนอยด์ (flavonoid) เป็นต้น <sup>(1)</sup> อีกทั้งปัจจุบันมีความนิยมในการใช้น้ำมันระเหยในประเทศต่างๆ เพื่อการส่งเสริมสุขภาพ และเพื่อการบำบัดโรค หรือที่เรียกว่า aromatherapy นั้น ในปัจจุบันพบว่าการรักษาโดยวิธีดังกล่าวจะมีผลต่อระบบต่างๆของร่างกายตามแต่ชนิดและปริมาณของน้ำมันระเหยที่ใช้ เช่น ผลต่อระบบทางเดินอาหาร ระบบหายใจ ระบบหมุนเวียนโลหิต ระบบสืบพันธุ์ ระบบประสาท รักษาบาดแผล และอาการปวดเมื่อย รวมไปถึงโรคทางระบบภูมิคุ้มกันบางชนิดด้วย แต่ยังไม่มีความรู้ทางวิทยาศาสตร์รองรับถึงข้อมูลด้านประสิทธิภาพอย่างแท้จริง <sup>(2-3)</sup> น้ำมันระเหยชนิดหนึ่งที่น่าสนใจคือ anethole โดยพบว่าเป็นองค์ประกอบอยู่ในน้ำมันที่สกัดได้ในพืชหลายชนิด เช่น ยี่ห่วย (fennel) เทียนสัตบุษย์ (aniseed) โป๊ยกั๊ก และ black cumin เป็นต้น จากรายงานการศึกษาขององค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันระเหยจากพืชในวงศ์ Rutaceae ของไทย พบว่าต้นหัสศคุณใหญ่ (*Clausena anisata* Hook.) ซึ่งสามารถพบได้ในประเทศไทยที่จังหวัดกาญจนบุรี เมื่อนำใบสดของต้นหัสศคุณใหญ่มาแยกโดยวิธีกลั่นด้วยไอน้ำ (steam distillation) จะได้น้ำมันระเหย (volatile oil) ออกมาร้อยละ 3.5 (v/w) ของน้ำหนักพืชสด เมื่อนำน้ำมันระเหยที่ได้มาวิเคราะห์โดยวิธี Gas chromatography-Mass spectrometry (GC-MS) จะพบว่าประกอบด้วยสาร 2 ชนิดคือ (*E*)-anethole และ Methyl chavicol ในขนาดร้อยละ 98.40 และ 1.60 ตามลำดับ สารทั้งสองชนิดนี้เป็นสารในกลุ่ม phenylpropanoid ทั้งคู่และไม่พบสารชนิดอื่นอีก <sup>(4)</sup> และจากการ

รวบรวมข้อมูลการทดลองที่เกี่ยวข้องพบว่า anethole และ derivative ของมันบางตัวมีฤทธิ์ในการต้านความเป็นพิษต่อหน่วยพันธุกรรม (antigenotoxicity)<sup>(5-6)</sup> ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant)<sup>(5,7-13)</sup> ต้านการอักเสบ (anti-inflammation)<sup>(14-15)</sup> ยับยั้งการเกิดมะเร็ง (anticancer)<sup>(15-19)</sup> ยับยั้งการเกาะกลุ่มกันของเกล็ดเลือด (anti-platelet aggregation)<sup>(20)</sup> กระตุ้นให้กล้ามเนื้อละลายหดตัว<sup>(21)</sup> ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (antimicrobial)<sup>(22-29)</sup> เป็นยาฆ่าแมลง (insecticidal)<sup>(30-31)</sup> มีฤทธิ์คล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจน (estrogenic effect)<sup>(32-33)</sup> ทำให้ประสาทตื่นตัว (alleged psychoactivity)<sup>(34)</sup> อาจทำให้เกิดการแพ้ได้แม้ว่าจะมีอัตราการเกิดน้อยเนื่องจากมี sensitizing potential ต่ำ<sup>(35-37)</sup> รักษาโรคปากแห้ง (xerostomia)<sup>(38-47)</sup> โดยผลที่เกิดขึ้นนี้ยังไม่ทราบกลไกการทำงานที่แน่นอน

จากผลการทดลองที่รายงานไว้ว่า anethole ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักในน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่มีผลในการรักษาโรคปากแห้งโดยกระตุ้นให้ต่อมน้ำลายหลั่งน้ำลายมากขึ้นนั้น ในทางสรีรวิทยาการหลั่งของน้ำลายเกี่ยวข้องกับการทำงานของระบบประสาทอัตโนมัติทั้งระบบประสาทซิมพาเทติก และระบบประสาทพาราซิมพาเทติก ระบบประสาททั้งสองกระตุ้นให้เกิดการหลั่งของน้ำลายได้มากขึ้นทั้งคู่ และยังเกี่ยวข้องกับการทำงานของระบบกล้ามเนื้อเรียบที่สำคัญทั่วร่างกายอีกด้วย เช่น ระบบหมุนเวียนโลหิต ระบบทางเดินอาหาร และระบบหายใจ เป็นต้น<sup>(48-49)</sup> ด้วยเหตุผลดังกล่าวข้างต้นผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาผลของน้ำมันระเหยที่แยกได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่ (*Clausena anisata* Hook.) ต่อการหดตัว-คลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลม กระเพาะอาหาร ลำไส้เล็ก และหลอดเลือด aorta รวมถึงกลไกของการหดตัวที่เกิดขึ้นว่าผ่านตัวรับ (receptor) ชนิดใด โดยมุ่งศึกษาผลต่อตัวรับของระบบประสาทอัตโนมัติที่ควบคุมการหดตัว-คลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบอวัยวะเหล่านั้น โดยอาศัยตัวยับยั้ง (antagonist) ที่เฉพาะเจาะจงต่อตัวรับชนิดนั้นๆ

## วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของน้ำมันระเหยที่แยกได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่ (*Clausena anisata* Hook.) ต่อการทำงานของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลม กระเพาะอาหารส่วน fundus ลำไส้เล็ก และหลอดเลือด aorta ที่แยกจากกาย โดยมุ่งศึกษาผลต่อตัวรับของระบบประสาทอัตโนมัติที่ควบคุมการหดตัว-คลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ

## ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับการวิจัย

1. ได้ข้อมูลฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่ต่อการหดตัว-คลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด aorta กระเพาะอาหารส่วน fundus และลำไส้เล็ก
2. การหดตัว-คลายตัวที่เกิดขึ้นเป็นผลจากการทำงานผ่านตัวรับในระบบประสาทอัตโนมัติหรือไม่อย่างไร
3. เป็นแนวทางการศึกษาพัฒนาน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่อย่างครบวงจร

## ปัญหาจริยธรรม

โครงการวิจัยนี้ได้ผ่านการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยจากคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อวันที่ 29 มิถุนายน พ.ศ. 2544

## คำสำคัญที่ใช้ในการวิจัย

- Anethole
- Methyl chavicol
- Smooth muscle contraction
- *Clausena anisata* Hook.

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

ต้นหัสศุณใหญ่ (*Clausena anisata* Hook.) เป็นพืชในวงศ์ Rutaceae พบกระจายอยู่ทั่วไปในป่าเขตร้อน ในหลายประเทศ เช่น กานา แอฟริกาตะวันตก แอฟริกาตะวันออก เคนยา ไนจีเรีย เซียร์ราเลออน แทนซาเนีย โตโก โดยพบมากที่แอฟริกาใต้ และออสเตรเลีย พืชในวงศ์นี้ที่พบในประเทศไทยมีมากมาย เช่น มะตูม มะนาวผี มะนาว ส้ม มะกรูด ส้มโอ ส้มมือ สมุยหอม หวดหม่อน ส่องฟ้า ส่องฟ้าดง มะไฟจีน สามง่าม มะขวิด กระแจะ ช้างงาเดี่ยว หัสศุณ แก้ว โบรงฟ้า กำจัดต้น และกำจัดหน่วย เป็นต้น บางชนิดใช้เป็นอาหารและบางชนิดใช้เป็นพืชสมุนไพรที่รู้จักกันดีในตำหรับยาสมุนไพรโบราณ<sup>(4)</sup>

ในประเทศไทยพบต้นหัสศุณใหญ่นี้ ได้ที่จังหวัดกาญจนบุรี มีลักษณะทางพฤกษศาสตร์ทั่วไปคือ เป็นไม้พุ่มถึงไม้ยืนต้นขนาดเล็กเมื่อเจริญเติบโตเต็มที่สูงประมาณ 3-6 เมตร ใบเป็นใบประกอบยาวประมาณ 20-30 เซนติเมตร และประกอบด้วยใบประกอบรูปร่างแบบ ovate-lanceolate ถึงเป็นแบบ lanceolate จำนวน 7-11 ใบ แต่ละใบมีความยาวประมาณ 7-11 เซนติเมตร ดอกออกเป็นช่อ โดยมีช่อดอกยาวประมาณ 15-20 เซนติเมตร ซึ่งจะแทงออกมาบริเวณซอกใบ ดอกประกอบด้วย 5 ส่วน มีสีขาวถึงเขียวอ่อน และมีกลิ่นหอม มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 8 มิลลิเมตร ผลมีลักษณะค่อนข้างกลมจนถึงเป็นรูปไข่ เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1 เซนติเมตร ผลจะแตกออกเมื่อแก่เต็มที่<sup>(4)</sup> (ภาพที่ 1-3)

ในประเทศฟิลิปปินส์ น้ำต้มจากรากและผลใช้รักษาอาการไข้ สารแยกจากใบใช้สูดดมเพื่อลดอาการคลื่นไส้ในหญิงตั้งครรภ์ ในเมือง Guerrero จะใช้ใบใส่ไว้ในหมอนหนุน หรือเอาใบวางไว้ใต้หัวนอนเพื่อให้หลับสบาย และใช้อาบสำหรับผู้ที่ป่วยเป็นโรคปวดตามข้อ<sup>(4)</sup>

จากการรวบรวมข้อมูลพบว่า *Clausena anisata* Hook. มีฤทธิ์ในการบรรเทาปวด บำรุงหัวใจ เป็นยาระบาย กำจัดพยาธิ ถ่ายพยาธิ ช่วยในระบบหายใจ อบไอน้ำ ไล้แมลง เป็นต้น โดยมีการใช้รักษาโรคหลอดลมอักเสบ ไอ ไข้ ปวดศีรษะ พยาธิ เสริมสมรรถภาพ หัด โรคจิต ไมเกรน ร่องการคลอด ริดสีดวงทวาร ไชข้ออักเสบ งูกัด เป็นหมัน บวม ปวดฟัน เป็นต้น โดยใช้กิน สูดดม อบไอน้ำ ทา ถู นวด หรือล้างปาก<sup>(50)</sup>

ใบของพืชชนิดนี้เมื่อนำมาแยกโดยวิธีกลั่นด้วยไอน้ำ (steam distillation) จะได้น้ำมันระเหย (volatile oil) ออกมาร้อยละ 3.5 (v/w) ของน้ำหนักพืชสด เมื่อนำน้ำมันระเหยที่ได้มา

วิเคราะห์โดยวิธี Gas chromatography-Mass spectrometry (GC-MS) จะพบว่าประกอบด้วยสาร 2 ชนิดคือ (*E*)-anethole และ Methyl chavicol ในขนาดร้อยละ 98.40 และ 1.60 ตามลำดับ (ภาพที่ 4) ซึ่งสารทั้งสองชนิดนี้เป็นสารในกลุ่ม phenylpropanoid ทั้งคู่และไม่พบสารชนิดอื่นอีก โดยสูตรโครงสร้างทางเคมีของสารทั้งสองชนิดแสดงไว้ในภาพที่ 5<sup>(4)</sup>

Anethole [ (*E*)-1-methoxy-4- (1-propenyl)benzene] เป็นสารประเภทน้ำมันระเหยในกลุ่ม phenylpropanoid สามารถพบได้ในพืชหลายชนิด เช่น ยี่ห่วย (*Foeniculum vulgare* Mill, Fennel)<sup>(51-53)</sup>, *Piper fulvescens*<sup>(54)</sup>, Star anise (*Illicium verum* Hook.)<sup>(55)</sup>, *Illicium modestum* A.C. Smith<sup>(56)</sup>, black cummin seeds (*Nigella sativa* L.)<sup>(57)</sup> Alfalfa seeds and sprouts<sup>(29)</sup> ใบบายสูบ (Tobacco)<sup>(58)</sup> *Croton zehntneri*<sup>(21)</sup> และหัสศคุณใหญ่ *Clausena anisata* Hook.<sup>(4)</sup> เป็นต้น นอกจากนี้ anethole ยังมีชื่อเรียกอื่นๆอีกเช่น anethole, oil of anise และ anise camphor เป็นต้น มีสูตรโครงสร้างทางเคมีดังภาพที่ 5 มีสูตรเคมีคือ C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>O น้ำหนักโมเลกุล 148.21 ผลึกเป็นสีขาวขุ่น ความหนาแน่น 0.9882 กรัมต่อมิลลิลิตร เป็นของเหลวที่อุณหภูมิห้อง (25°C) ละลายในน้ำได้น้อย สามารถละลายได้ใน ethyl acetate, carbon disulfide, petroleum ether และละลายได้ดีใน 95% ethanol, acetone, chloroform, ether และ benzene มีความสามารถในการระเหยต่ำ สามารถถูกทำลายได้ด้วยแสง มีกลิ่นหอมเหมือนเมล็ดต้นเทียนสัตบุษย์ มีรสหวาน มีค่า LD<sub>50</sub> เมื่อให้โดยการกินในหนูขาว 2,090 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในหนูถีบจักร 3,050 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และในหนูตะเภา 2,160 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม<sup>(59-60)</sup>

จากการรวบรวมข้อมูล anethole และ derivative ของ anethole พบว่ามีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาหลายประการ ดังนี้

### 1. Antigenotoxicity

การให้ trans-anethole หรือ anethole dithione จะสามารถป้องกันการเกิดความเสียหายของหน่วยพันธุกรรม (DNA damage) จากสารพิษต่างๆ เช่น cyclophosphamide (CPH), procabazine (PCB), N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG), urethane (URE) และ ethyl methane sulfonate (EMS) ได้<sup>(5-6)</sup>

### 2. Antioxidant

การให้ anethole dithiolthione, anethole dithione และ anethole จะสามารถป้องกันการเกิด oxidative damage ได้โดยจะมีผลทำให้ระดับของ glutathione ทั้งภายในและภายนอกเซลล์สูงขึ้น ซึ่งมีผลให้การกำจัด superoxide radical มากขึ้น ความเป็นพิษที่จะเกิดขึ้นต่อเซลล์ต่างๆของ superoxide radical ก็จะลดลง<sup>(5,7-13)</sup>

### 3. Antiinflammation

Anethole และ anethole trithione สามารถป้องกันการอักเสบได้โดยจะมีผลยับยั้งกระบวนการ TNF-signaling ได้<sup>(14-15)</sup>

### 4. Anticancer

Anethole และ anethole trithione สามารถยับยั้งการเกิดและการกระจายของเซลล์มะเร็งได้ โดยจะมีผลยับยั้งการทำงานของ TNF ในการกระตุ้นการทำงานของ NF-kappa B และ transcription factor AP-1, C-jun, N-terminal kinase, และ MAPK-kinase ทำให้ระยะเวลาและอัตราการรอดชีวิตสูงขึ้น ขนาดและน้ำหนักของเนื้องอกลดลง<sup>(15-19)</sup>

### 5. Anti-platelet aggregation

Anethole dithiolthione (ADT) สามารถยับยั้งการเกาะกลุ่มกันของเกล็ดเลือดได้ โดยการยับยั้งการสร้าง thromboxane (Tx) B<sub>2</sub> ในพลาสมาได้ นอกจากนี้ยังป้องกันการหลั่ง arachidonic acid (AA) ได้ด้วย<sup>(20)</sup>

### 6. Skeleton muscle contraction

Anethole มีผลทำให้กล้ามเนื้อคลายหดตัวได้ โดยมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของ multivalent cation ส่งผลให้ sarcoplasmic reticulum หลังแคลเซียมออกมาทำให้ระดับของแคลเซียมอิสระภายในเซลล์กล้ามเนื้อสูงขึ้น และเกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อได้<sup>(21)</sup>

### 7. Antimicrobial effect

Anethole มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ มีผลยับยั้งการเจริญเติบโต และฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้ทั้งแบคทีเรีย (bacteria) ยีสต์ (yeast) รา (fungi) นอกจากนี้การให้ anethole ร่วมกับสารต้านเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่น จะพบว่า anethole จะช่วยเสริมฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารต้านเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ร่วมกันได้<sup>(22-29)</sup>

### 8. Insecticidal effect

Anethole สามารถป้องกันและกำจัดแมลงได้ โดยจะมีผลสองประการคือ มีความเป็นพิษต่อแมลงอย่างชนิดเฉียบพลัน (acute toxicity) และทำให้แมลงไม่สามารถกินอาหารได้ (feeding deterence)<sup>(30-31)</sup>

### 9. Estrogenic effect

Anethole มี estrogenic activity โดยมีฤทธิ์ anti-implantation และ antifertilization ได้ มีค่า LD<sub>50</sub>>3000 mg/kg, po ในหนู mice<sup>(32-33)</sup>

### 10. Psychoactivity

Anethole มีผลต่อจิตประสาทโดยจะทำให้ประสาทตื่นตัว (alleged psychoactivity)<sup>(34)</sup>

### 11. Sensitizing potential



Anethole อาจก่อให้เกิดการแพ้ได้แต่น้อยเนื่องจากมี sensitizing potential ต่ำ<sup>(35-37)</sup>

## 12. Salivary secretion

anethole trithiolthione จะกระตุ้นให้เกิดการหลั่งน้ำลายเพิ่ม salivary flow โดยเป็นผลมาจากการทำงานของอวัยวะต่อ post receptor บางตัวที่อยู่ใน postjunctional secretory process ของระบบประสาทพาราซิมพาเทติก (parasympathetic nerves system) และระบบประสาทซิมพาเทติก (sympathetic nerves system) จึงมีผลในการใช้รักษา xerostomia ที่เกิดขึ้นจากสาเหตุต่างๆ เช่น โรค สภาพร่างกาย การได้รับยาบางชนิด หรือการได้รับรังสีบำบัด<sup>(38-47)</sup>

## 13. Safety and toxicity

Anethole ในขนาดต่างๆจะไม่ก่อให้เกิดพิษต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม แม้จะให้ติดต่อกันระยะยาว ความเป็นพิษของ anethole จะมากขึ้นตามขนาดที่มากขึ้น ในขนาดสูงๆของ anethole จะมีผลทำให้ anethole ผ่านเข้าสู่กระบวนการ epoxidation และ hydroxylation มากขึ้นกระบวนการในการป้องกันไม่สามารถกำจัดได้ทัน ทำให้ anethole epoxide และ hydroxy anethole ซึ่งเป็นอนุพันธ์ที่ได้จากกระบวนการทั้งสองตามลำดับมากขึ้น ซึ่งอนุพันธ์ทั้งสองนี้มีความเป็นพิษต่อเซลล์สูง เป็นสารก่อกลายพันธุ์ และยังเป็นสารก่อมะเร็งอีกด้วย ความเป็นพิษของ anethole จะแปรผันตามชนิดของสิ่งมีชีวิต (species) อายุ (age) เพศ (sex) และขนาดที่ได้รับ (dose)<sup>(61-77)</sup>

Methyl chavicol [1-methoxy-4-(2-propenyl)-benzene] หรือ estragole เป็นสารประเภทน้ำมันระเหยในกลุ่ม phenylpropanoid อีกชนิดหนึ่งที่พบในน้ำมันที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่ แต่พบในปริมาณที่น้อยมากประมาณ 1.6% สารชนิดนี้สามารถพบได้ในพืชหลายชนิด มีสูตรโครงสร้างทางเคมีคือ  $C_{10}H_{12}O$  (ภาพที่ 5) เป็นของเหลวที่อุณหภูมิห้อง สีขาวใส น้ำหนักโมเลกุล 148.21 g/mol ความถ่วงจำเพาะของสาร 0.964 ค่าดัชนีการหักเหแสง 1.521 สามารถละลายได้ดีใน 80% alcohol ในอัตราส่วน 1/5 (V/V) มีค่า  $LD_{50}$  เมื่อให้ทางปากในหนูขาว 1,820 mg/kg ในหนูถีบจักร 1,250 mg/kg<sup>(78)</sup> ในปัจจุบันมีผลการศึกษาของสารชนิดนี้อยู่บ้างแต่ไม่มากนัก มีฤทธิ์ในการกำจัดแมลง<sup>(31)</sup> ต่อด้านเชื้อแบคทีเรีย<sup>(79-80)</sup> ไม่ทำให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนัง แต่อาจทำให้เกิดการระคายเคืองต่อดวงตาได้หากได้รับสารความเข้มข้นสูงเป็นเวลานาน การทดลองในสัตว์พบว่า มีผลกระตุ้นให้เกิดเนื้องอกในตับ (liver tumour) และมะเร็งตับ (hepatocarcinogenicity) อย่างอ่อนๆ ผลที่เกิดขึ้นอยู่กับปริมาณของ 1'-hydroxymetabolites ซึ่งจะเกิดขึ้นเมื่อร่างกายสัตว์ทดลองได้รับสารในปริมาณที่มากและติดต่อกัน และยังไม่มีการทดลองในมนุษย์ แต่คาดว่าถ้าได้รับในปริมาณมากอาจเป็นอันตรายต่อสุขภาพ<sup>(81)</sup>

## กลไกการหดตัว-คลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ

การหดตัว-คลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ เป็นที่ทราบกันดีว่ามีความเกี่ยวข้องกับระดับของแคลเซียม ( $Ca^{2+}$ ) อิสระภายในเซลล์ (intracellular free calcium) ซึ่งอาจจะมาจากแคลเซียมภายนอกเซลล์เคลื่อนที่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) เข้าสู่ภายในเซลล์โดยตรง หรือมาจากแคลเซียมที่ปลดปล่อยออกจากแหล่งเก็บสะสมแคลเซียมภายในเซลล์ (sarcoplasmic reticulum : SR) โดยเชื่อว่าแคลเซียมอิสระภายในเซลล์นี้ทำหน้าที่เป็น intracellular messenger ซึ่งเป็นองค์ประกอบในการทำงานของเอนไซม์ที่สำคัญ เช่น myosin light chain kinase (MLCK) หรือ protein kinase ชนิดอื่นๆ ที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ<sup>(82-83)</sup>

Karaki and Weiss (1988) ได้เสนอกลไกที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มขึ้นของแคลเซียมอิสระภายในเซลล์ ไว้ดังนี้คือ<sup>(84)</sup>

1. แคลเซียมจากภายนอกเซลล์เคลื่อนที่ผ่านเข้าสู่ภายในเซลล์ มีกลไกที่เกี่ยวข้องอย่างน้อย 3 กลไก ดังภาพที่ 6 คือ

1.1 แคลเซียมผ่านเข้าเซลล์โดยอาศัย leak mechanism หรือ resting influk ซึ่งแคลเซียมที่ผ่านเข้าเซลล์ด้วยกลไกนี้จะถูกเก็บสะสมไว้ในแหล่งเก็บสะสมแคลเซียมภายในเซลล์ (sarcoplasmic reticulum) และไม่ทำให้แคลเซียมอิสระภายในเซลล์เพิ่มขึ้นโดยตรง

1.2 แคลเซียมผ่านเข้าเซลล์โดยทาง potential (voltage) – operated calcium channel (POC หรือ VOC) โดยการเปลี่ยนแปลง action potential ของผนังเซลล์ เกิด depolarization ซึ่งกระตุ้นให้ POC เปิดออก ทำให้แคลเซียมจากภายนอกเซลล์เคลื่อนที่เข้าสู่ภายในเซลล์ได้ ซึ่ง POC ยังสามารถแบ่งออกเป็น 4 ชนิด คือ L-type channels, T-type channels, N-type channels และ P-type channels

1.3 แคลเซียมผ่านเข้าเซลล์ทาง receptor-operated calcium channels (ROC) โดยเกิดจากการที่มีตัวกระตุ้นต่างๆ เช่น acetylcholine, serotonin, oxytocin และ histamine เป็นต้น จับกับตัวรับสัมผัส (receptor) ที่เฉพาะเจาะจงต่อตัวกระตุ้นนั้นๆ แล้วกระตุ้นให้ ROC เปิดออก ทำให้แคลเซียมจากภายนอกเซลล์เคลื่อนที่เข้าสู่ภายในเซลล์ได้

2. การหลั่งของแคลเซียมจาก แหล่งเก็บสะสมแคลเซียมภายในเซลล์ (sarcoplasmic reticulum) เกิดจาก 4 กลไกคือ

2.1 calcium induced calcium release (CCR) เกิดจากแคลเซียมจากภายนอกเซลล์ เคลื่อนที่ผ่าน POC เข้าสู่เซลล์ แล้วไปกระตุ้นให้มีการหลั่งของแคลเซียมจากแหล่งสะสมภายในเซลล์

2.2 จากการกระตุ้นโดยสารเคมี ได้แก่ caffeine ซึ่งสามารถกระตุ้นให้มีการหลั่งของแคลเซียมจากแหล่งสะสมภายในเซลล์ได้ในกล้ามเนื้อเรียบหลายชนิด

2.3 จากการที่ตัวรับสัมผัส (receptor) ถูกกระตุ้น แล้วเกิดการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมี ได้  $IP_3$  (inositol-1,4,5-triphosphate) มากขึ้น และ  $IP_3$  ที่เพิ่มขึ้นนี้มีผลไปกระตุ้นให้มีการหลั่งแคลเซียม จากแหล่งสะสมภายในเซลล์ โดยสารต่างๆ (ภาพที่ 7 และ 8)

2.4 การเกิด depolarization ที่ membrane ของ sarcoplasmic reticulum membrane สามารถทำให้เกิดการหลั่งแคลเซียมจากแหล่งสะสมภายในเซลล์ได้

### กลไกการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ

การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ ในปัจจุบันเป็นที่ทราบกันดีแล้วว่า การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบทั่วๆไปนั้นมีความสัมพันธ์กับแคลเซียม แคลเซียมภายในเซลล์จะเพิ่มขึ้นโดยสิ่งกระตุ้นหลายชนิด เมื่อแคลเซียมไปจับกับ receptor ของแคลเซียมภายในเซลล์คือ calmodulin เป็น calcium-calmodulin complex นี้จะไปกระตุ้นให้เอนไซม์ myosin light chain kinase (MLCK) กลายเป็น calcium-calmodulin-MLCK ซึ่งจะไปทำให้ phosphate group (Pi) จาก ATP ไปจับที่ P-light chain ของ myosin กลายเป็น myosin-P และ myosin-P นี้จะทำปฏิกิริยากับ actin เป็นผลให้เกิดการหดตัวของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ

การคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลังหมดสิ่งกระตุ้น จะมีผลทำให้ระดับแคลเซียมภายในเซลล์ลดลง calcium ไม่สามารถจับกับ calmodulin ได้ และทำให้ calcium-calmodulin หลุดจาก calcium-calmodulin-MLCK ทำให้ MLCK อยู่ในรูป inactivate เอนไซม์ MLCK phosphatase

ทำให้เกิด dephosphorylated ของ ATP ทำให้ไม่เกิด myosin-P ในภาวะเช่นนี้ myosin ไม่สามารถทำปฏิกิริยากับ actin ได้เป็นผลให้เกิดการคลายตัวของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ (ภาพที่ 9)<sup>(85)</sup>

### ระบบประสาทอัตโนมัติ (autonomic nervous system, ANS) ที่ควบคุมการหดตัวและคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ

ระบบประสาทอัตโนมัติ (autonomic nervous system, ANS) เป็นระบบประสาทที่ส่งกระแสประสาทออกไปเลี้ยงกล้ามเนื้อเรียบ หัวใจ และต่อมต่างๆ มีบทบาทสำคัญในการรักษาสภาพแวดล้อมภายในร่างกาย (internal environment) ให้คงที่อยู่เสมอที่เรียกว่า homeostasis ระบบประสาทอัตโนมัติทำงานอยู่นอกอำนาจจิตใจ สามารถแบ่งระบบประสาทนี้ออกได้เป็น 2 ระบบย่อยคือ

ระบบประสาทซิมพาเทติก (sympathetic nervous system) มี epinephrine และ norepinephrine เป็นสารสื่อประสาท และมี alpha/beta adrenergic receptor เป็นตัวรับบนอวัยวะเป้าหมาย

ระบบประสาทพาราซิมพาเทติก (parasympathetic nervous system) มี acetylcholine (ACh) เป็นสารสื่อประสาท และมี muscarinic receptor เป็นตัวรับบนอวัยวะเป้าหมาย

โดยทั่วไปผลของระบบประสาททั้งสองนี้มักตรงข้ามกัน ในขณะที่พักอวัยวะส่วนใหญ่จะถูกควบคุมโดยระบบประสาทพาราซิมพาเทติกมากกว่า ผลของระบบประสาททั้งสองต่ออวัยวะต่างๆ แสดงในตาราง 1 การทำงานร่วมกันของระบบประสาททั้งสองนี้ก่อให้เกิดสมดุลของระบบต่างๆ ภายในร่างกายทำให้ร่างกายสามารถรับ และปรับเปลี่ยนให้เข้ากับสภาพแวดล้อมหรือเหตุการณ์เปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นได้ ช่วยให้มีมนุษย์และสัตว์ชนิดต่างๆ สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้<sup>(48-49)</sup>

### สารมาตรฐานที่เกี่ยวข้องกับการวิจัยครั้งนี้

Methacholine (MCh) เป็นสารที่มีฤทธิ์ในการกระตุ้นกล้ามเนื้อเรียบที่มี muscarinic receptor ซึ่งในปัจจุบันสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม สามารถพบ muscarinic receptor ได้ 5 subtypes โดยพบแต่ละ subtypes ได้ในบริเวณดังนี้<sup>(86)</sup>

- M<sub>1</sub>-subtype พบบริเวณระบบประสาท
- M<sub>2</sub>-subtype พบบริเวณหัวใจและสมองส่วนหลัง
- M<sub>3</sub>-subtype พบบริเวณกล้ามเนื้อเรียบและเนื้อเยื่อของต่อมต่างๆ
- M<sub>4</sub>-subtype พบบริเวณสมองหนูขาว

- M<sub>5</sub>-subtype พบบริเวณสมองหนูขาว

กลไกการออกฤทธิ์ของ methacholine พบว่าการกระตุ้น muscarinic receptor จะเกิดการกระตุ้นฤทธิ์ของ triphosphoinositide phospholipase C โดยมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับของ cGMP, cAMP, IP<sub>3</sub> และ DAG และการเปิดของ K<sup>+</sup> channel

นอกจากนี้ methacholine ยังสามารถยับยั้งการหลั่ง NE ต่อ alpha หรือ beta-adrenergic receptor ที่อยู่บนกล้ามเนื้อเรียบ และไม่ถูกทำลายโดยเอนไซม์ acetylcholinesterase ด้วย<sup>(86)</sup>

**Atropine** เป็นสารที่มีฤทธิ์ขัดขวางการทำงานของสารในกลุ่ม cholinergic receptor agonists เช่น acetylcholine หรือ methacholine เป็นต้น โดยมีคุณสมบัติเป็น competitive inhibitor ที่ autonomic postganglionic cholinergic receptor เมื่อให้สัมผัสกับอวัยวะเป้าหมาย atropine จะไปแย่งจับกับสารที่จะมาจับกับ cholinergic receptor ทำให้สารที่จะมาจับกับ cholinergic receptor นั้นจับได้น้อยลง ผลที่เกิดขึ้นจากสารนั้นก็ลดลงด้วย<sup>(86)</sup>

**Norepinephrine (NE)** เป็นสารที่มีฤทธิ์ในการกระตุ้น  $\alpha$ -receptor ซึ่ง  $\alpha$ -receptor เป็น adrenergic receptor และ adrenergic receptor ในปัจจุบันสามารถแบ่งได้เป็น 2 subtypes คือ  $\alpha$ -receptor และ  $\beta$ -receptor ในระดับโมเลกุลเมื่อกระตุ้นหลอดเลือดด้วย NE จะมีผลต่อ  $\alpha$ -receptor โดย NE จะจับกับ  $\alpha$ -receptor ที่ couple กับ G-protein และ PLC ส่งผลให้ระดับ IP<sub>3</sub> เพิ่มขึ้นทำให้ระดับแคลเซียมไอออนภายในเซลล์เพิ่มขึ้น และเกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ<sup>(86)</sup>

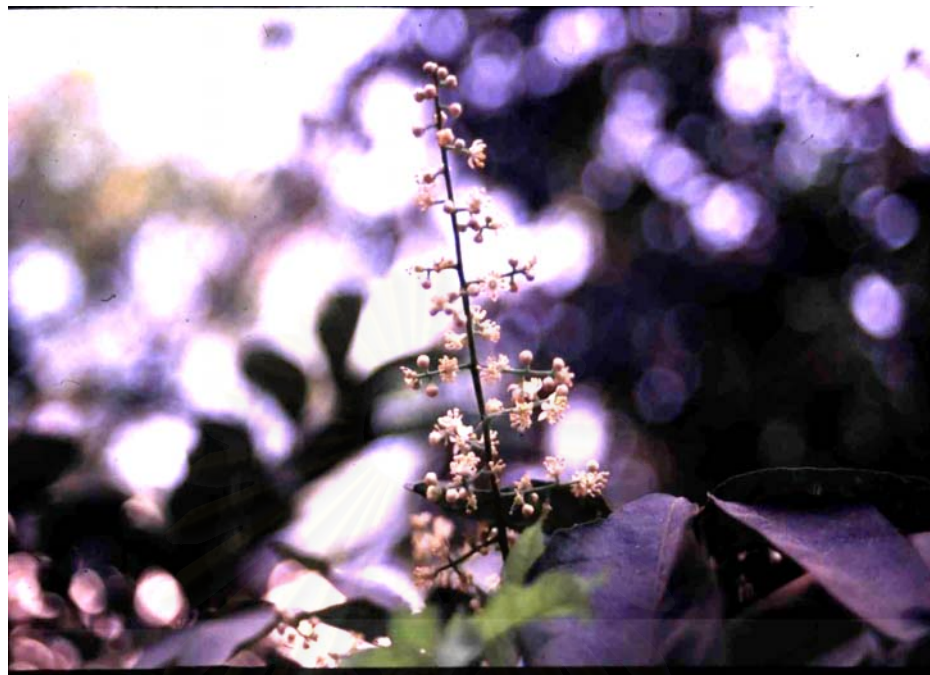
**Prazosin** เป็นสารที่มีฤทธิ์ในการขัดขวางการทำงานของ NE โดยมีคุณสมบัติเป็น competitive antagonist ของ NE ที่  $\alpha_1$ -receptor เมื่อให้สัมผัสกับอวัยวะเป้าหมาย prazosin จะไปแย่งจับกับสารที่จะมาจับกับ  $\alpha_1$ -receptor ทำให้สารที่จะมาจับกับ  $\alpha_1$ -receptor นั้นจับได้น้อยลง ผลที่เกิดขึ้นจากสารนั้นก็ลดลงด้วย<sup>(86)</sup>

**Verapamil** เป็นสารที่มีฤทธิ์ในการขัดขวางการผ่านเข้าสู่ภายในเซลล์ของแคลเซียมภายนอกเซลล์ (extracellular calcium) โดยสารมีคุณสมบัติเป็น calcium channel blocker เมื่อให้สัมผัสกับอวัยวะเป้าหมาย verapamil จะไปจับกับ calcium channel ทำให้ calcium channel อยู่ในสภาวะปิดแคลเซียมจากภายนอกเซลล์จึงไม่สามารถผ่านเยื่อหุ้มเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์ได้ การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่ต้องอาศัยแคลเซียมจากภายนอกเซลล์ก็จะเกิดได้น้อยลง<sup>(86)</sup>

ตาราง 1 แสดงการกระจายของตัวรับและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของระบบประสาทอัตโนมัติ (48-49)

Organ	Parasympathetic	Sympathetic	Type of Receptor (Sympathetic)
Eye			
Radial muscle, iris	-	Contraction (mydriasis)	$\alpha_1$
Sphincter muscle, iris	contraction (miosis)	-	
Ciliary muscle	contraction for near vision	Relaxation for far vision	$\beta_2$
Lacrimal glands	secretion	Secretion	$\alpha$
Heart			
SA node	Decrease in heart rate ; vagal arrest	Increase in heart rate	$\beta_1, \beta_2$
Atria	Decrease in contractility, and shortened AP duration	Increase in contractility and conduction velocity	$\beta_1, \beta_2$
AV node	Decrease in conduction velocity ; AV block	Increase in automaticity and conduction velocity	$\beta_1, \beta_2$
His-Purkinje system	Little effect	Increase in automaticity and conduction velocity	$\beta_1, \beta_2$
Ventricles	Slight decrease in contractility	Increase in contractility, conduction velocity, automaticity, and rate of idioventricular pacemakers	$\beta_1, \beta_2$
Arterioles			
Coronary	Dilation (constriction with endothelial damage)	Constriction ; dilation	$\alpha_1, \alpha_2; \beta_2$
Skin and mucosa	Dilation	Constriction	$\alpha_1, \alpha_2$
Skeletal muscle	Dilation	Constriction ; dilation	$\alpha; \beta_2$
Cerebral	Dilation	Constriction (slight)	$\alpha_1$
Pulmonary	Dilation	Constriction ; dilation	$\alpha_1; \beta_2$
Abdominal	-	Constriction ; dilation	$\alpha_1; \beta_2$
Salivary glands	Dilation	Constriction	$\alpha_1, \alpha_2$
Renal	-	Constriction ; dilation	$\alpha_1, \alpha_2; \beta_1, \beta_2$
Veins (Systemic)	-	Constriction ; dilation	$\alpha_1, \alpha_2; \beta_2$
Lung			
Tracheal and bronchial muscle	Contraction	Relaxation	$\beta_2$
Bronchial glands	Stimulation	Decreased secretion ; increased secretion	$\alpha_1; \beta_2$
Stomach			
Motility and tone	Increase	Decrease (usually)	$\alpha_1, \alpha_2; \beta_2$
Sphincters	Relaxation (usually)	Contraction (usually)	$\alpha_1$
Secretion	Stimulation	Inhibition	

Organ	Parasympathetic	Sympathetic	Type of Receptor (Sympathetic)
Intestine			
Motility and tone	Increase	Decrease	$\alpha_1, \alpha_2; \beta_1, \beta_2$
Sphincters	Relaxation (usually)	Contraction (usually)	$\alpha_1$
Secretion	Stimulation	Inhibition	$\alpha_2$
Gallbladder and ducts	Contraction	Relaxation	$\beta_2$
Kidney			
Renin secretion	-	Decrease ; increase	$\alpha_1; \beta_1$
Urinary bladder			
Detrusor	Contraction	Relaxation (usually)	$\beta_2$
Trigone and sphincter	Relaxation	Contraction	$\alpha_1$
Ureter			
Motility and tone	Increase	Increase	$\alpha_1$
Uterus	Variable	Pregnant : contraction ( $\alpha_1$ ) ; relaxation ( $\beta_2$ ) Nonpregnant : relaxation ( $\beta_2$ )	$\alpha_1; \beta_2$
Sex Organs, Male	Erection	Ejaculation	$\alpha_1$
Skin			
Pilomotor muscles	-	Contraction	$\alpha_1$
Sweat glands	Generalized secretion	Localized secretion	$\alpha_1$
Spleen Capsule	-	Contraction ; relaxation	$\alpha_1; \beta_2$
Adrenal Medulla	Secretion of epinephrine and norepinephrine (primarily nicotinic and secondarily muscarinic)	-	
Skeletal Muscle	-	Increased contractility ; glycogenolysis ; $K^+$ uptake	$\beta_2$
Liver	-	Glycogenolysis and gluconeogenesis	$\alpha_1; \beta_2$
Pancreas			
Acini	Secretion	Decrease secretion	$\alpha$
Islets ( $\beta$ cells)	-	Decrease secretion Increase secretion	$\alpha_2$ $\beta_2$
Fat Cells	-	Lipolysis (thermogenesis) ; inhibition of lipolysis	$\alpha_2; \beta_1, \beta_2, \beta_3$
Salivary Glands	$K^+$ and water secretion	$K^+$ and water secretion Amylase secretion	$\alpha_1$ $\beta$
Nasopharyngeal Glands	Secretion	-	
Pineal Gland	-	Melatonin synthesis	$\beta$
Posterior Pituitary	-	Antidiuretic hormone secretion	$\beta_1$



ภาพที่ 1 แสดงลักษณะช่อดอกของต้นหัสคุณใหญ่ (*Clausena anisata* Hook.)

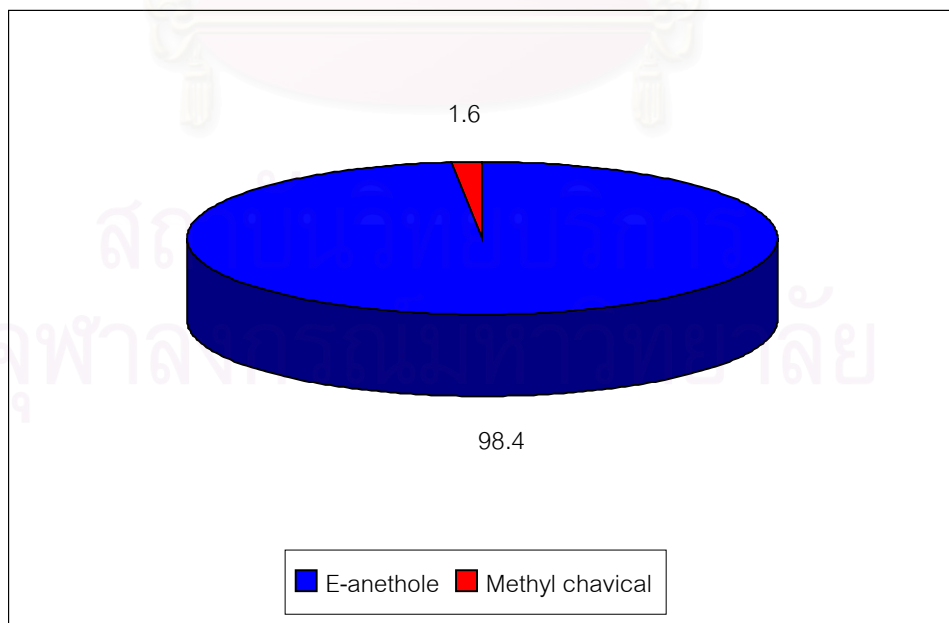


ภาพที่ 2 แสดงลักษณะช่อดอกตูมของต้นหัสคุณใหญ่ (*Clausena anisata* Hook.)

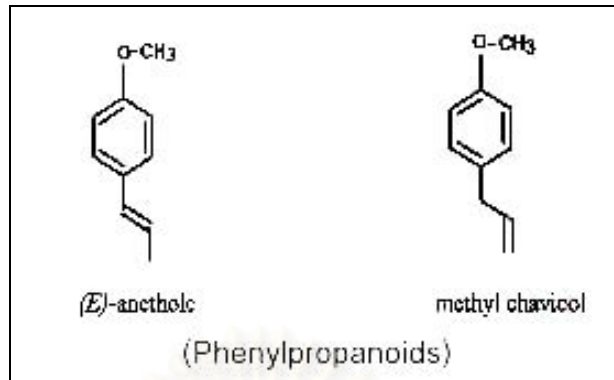




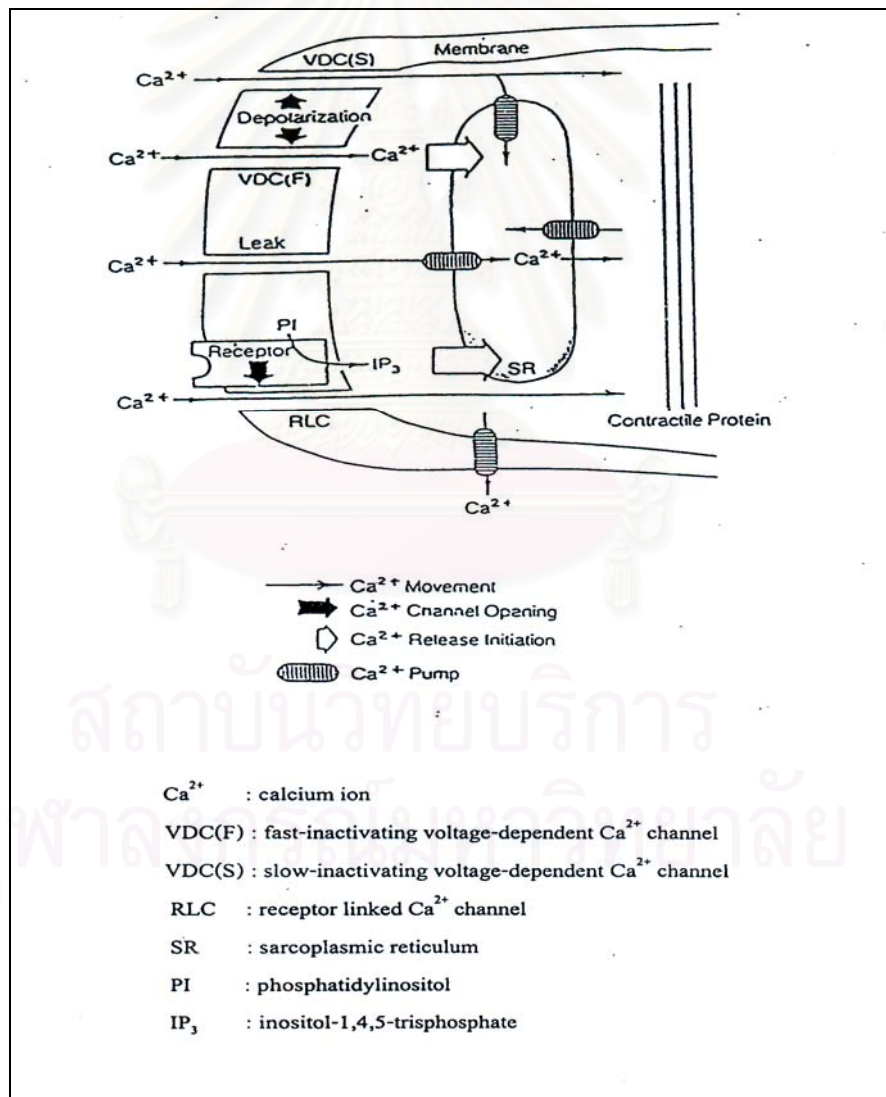
ภาพที่ 3 แสดงลักษณะต้นและใบของต้นหัสคุณใหญ่ (*Clausena anisata* Hook.)



ภาพที่ 4 แสดงปริมาณสารเคมี ที่พบในน้ำมันระเหยจากใบของต้นหัสคุณใหญ่<sup>(4)</sup>

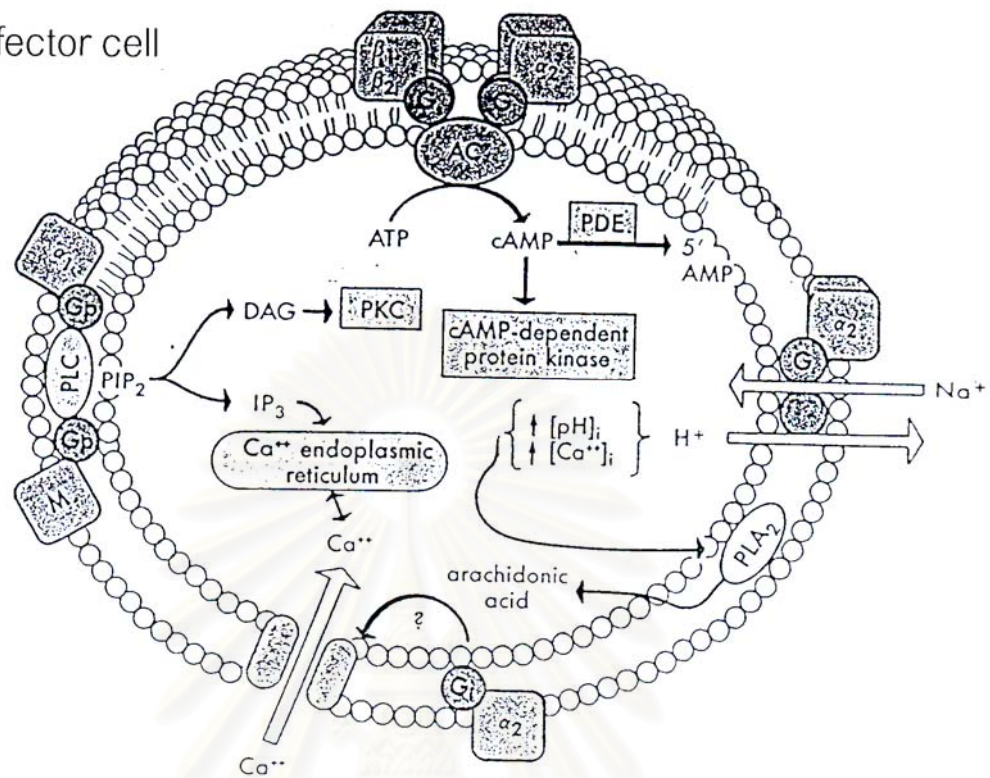


ภาพที่ 5 แสดงสูตรโครงสร้างของ anethole และ methyl chavicol<sup>(4)</sup>



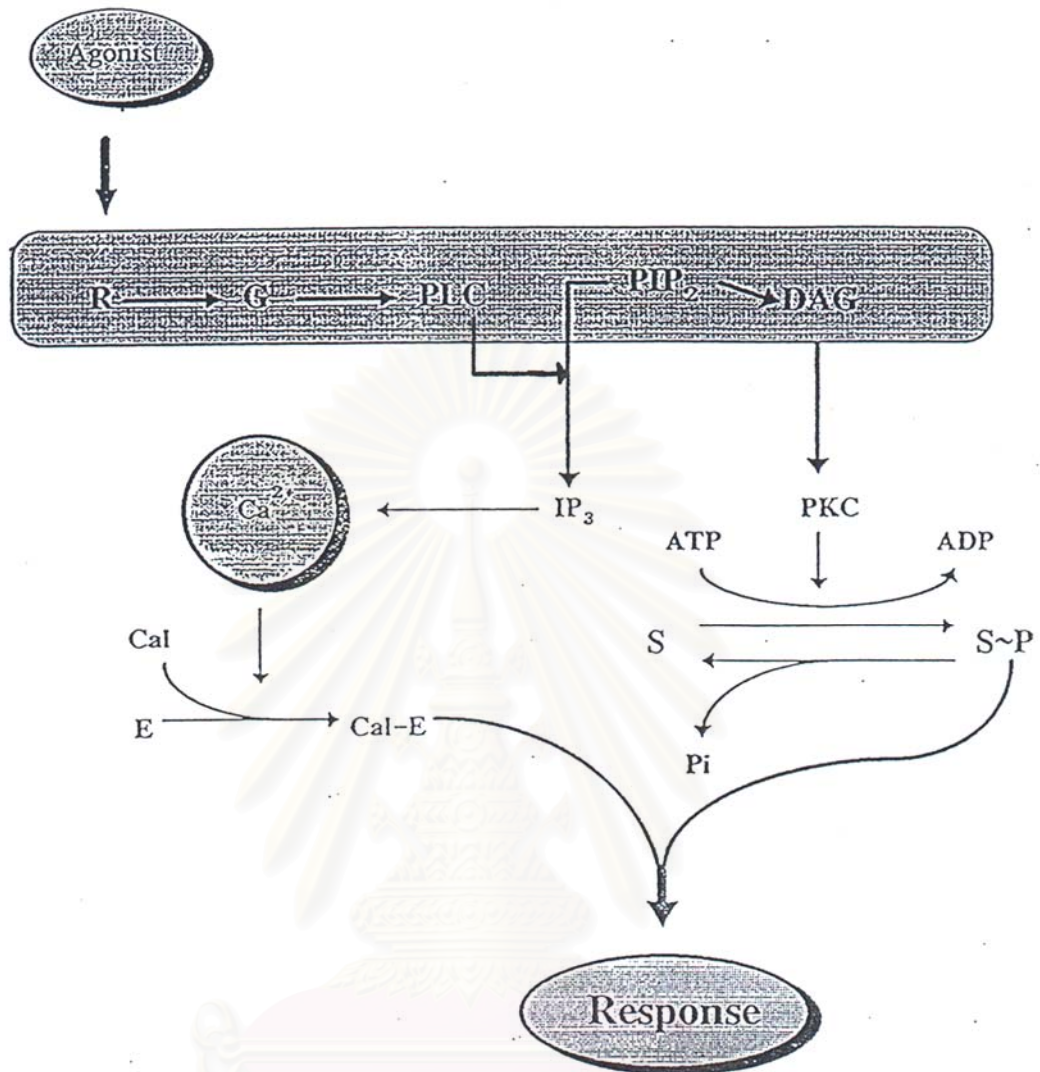
ภาพที่ 6 แสดงการเคลื่อนที่ของแคลเซียมเข้าสู่เซลล์กล้ามเนื้อเรียบ<sup>(84)</sup>

Effector cell



G	= G-protein	AC	= adenylate cyclase
PLC	= phospholipase C	DAG	= diacylglycerol
Ca <sup>2+</sup>	= calcium ion	PKC	= protein kinase C
ADP	= adenosine diphosphate	ATP	= adenosine triphosphate
PIP <sub>2</sub>	= inositol (1,4)-diphosphate	IP <sub>3</sub>	= inositol (1,4,5)-triphosphate

ภาพที่ 7 แสดงกลไกการเกิด signal transduction ของตัวรับในระบบประสาท adrenergic, cholinergic, serotonergic และ histaminergic ในกระบวนการทำให้เกิดการตอบสนองของเซลล์<sup>(85)</sup>



G = G-protein

PLC = phospholipase C

Cal = calmodulin

PKC = protein kinase C

PIP<sub>2</sub> = inositol (1,4)-diphosphate

IP<sub>3</sub> = inositol (1,4,5)-triphosphate

ATP = adenosine triphosphate

R = receptor

DAG = diacylglycerol

S = substrates of the kinase

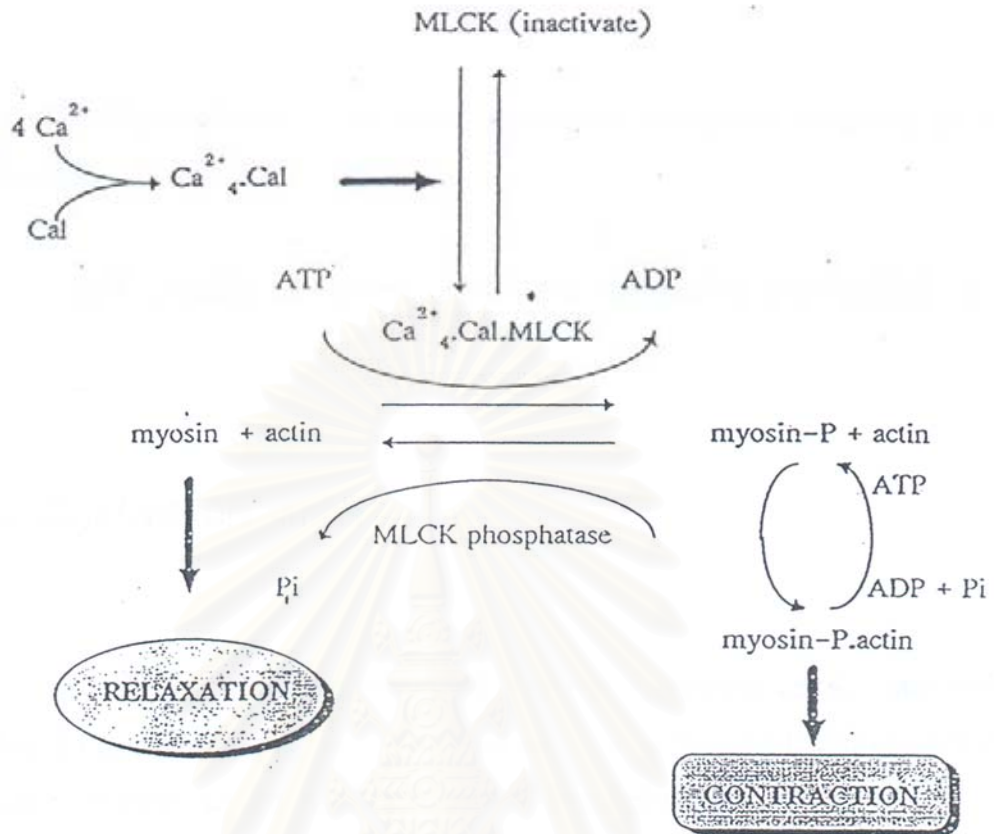
ADP = adenosine diphosphate

E = enzyme

Cal-E = calmodulin binding enzyme

S~P = substrates phosphorylated

ภาพที่ 8 แสดง Ca<sup>2+</sup> / phosphoinositide signaling pathway<sup>(84)</sup>



$\text{Ca}^{2+}$	= calcium ion
Cal	= calmodulin
MLCK	= myosin light chain kinase
Myosin-P	= phosphorylated myosin
ATP	= adenosine triphosphate
ADP	= adenosine diphosphate
$\text{P}_i$	= inorganic phosphorus

ภาพที่ 9 แสดงกลไกการหดตัว-คลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ<sup>(83)</sup>

## บทที่ 2

### อุปกรณ์ และ วิธีดำเนินการวิจัย

#### สัตว์ทดลอง เครื่องมือและสารเคมี

1. สัตว์ทดลอง จากสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ ต. ศาลายา กิ่ง อ. พุทธมณฑล จ. นครปฐม

หนูขาวพันธุ์ Wistar rat เพศผู้	น้ำหนัก 200-250 กรัม
หนูตะเภา ทั้งสองเพศ	น้ำหนัก 300-400 กรัม
กระต่ายขาว ทั้งสองเพศ	น้ำหนัก 700-1000 กรัม

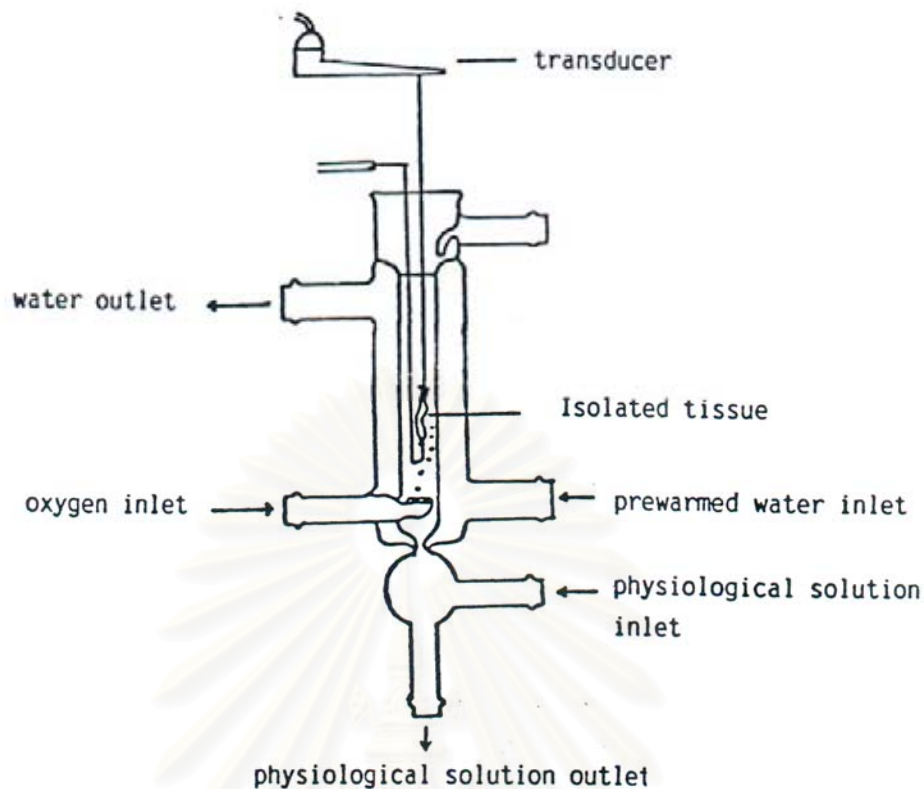
สัตว์ทดลองทั้งหมดอดอาหารก่อนทำการทดลอง 12 ชั่วโมง ให้น้ำเพียงอย่างเดียว

2. เครื่องมือ

- Organ bath แบบ double walled Harvard type ประกอบด้วยผนังแก้ว 2 ชั้น ชั้นในบรรจุน้ำยาหล่อเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Physiological solution) ปริมาตร 25 มิลลิลิตร สำหรับแช่เนื้อเยื่อที่แยกมาทดลอง และมีช่องเปิดให้ก๊าซ Carbogen ( $O_2$  95%+ $CO_2$  5%) ผ่านเข้ามาได้ ชั้นนอกของ organ bath ชั้นนอกของ organ bath มีน้ำไหลเวียน เพื่อควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ที่  $37 \pm 0.5$  องศาเซลเซียส โดยมี Thermoregulating water pump เป็นตัวส่งน้ำ และ ควบคุมอุณหภูมิ ดังภาพที่ 10

- เครื่องมือวัดการหดตัวของกล้ามเนื้อ (isometric transducer) รุ่น Biopac Lab Pro MP30

- เครื่องบันทึกผล (recorder) รุ่น Biopac Lab Pro MP30
- Water bath พร้อม Thermoregulating water และ pump
- เครื่องชั่งอย่างละเอียด
- ถังบรรจุก๊าซ carbogen ( $O_2$  95% +  $CO_2$  5%)
- ชุดผ่าตัดเล็ก
- Cold pad



ภาพที่ 10 แสดงเครื่องมือที่ใช้ในการศึกษาการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่แยกจากกาย (Isolated organ)

### 3. สารเคมี

3.1 สารเคมี ที่ใช้เตรียมสารละลาย Krebs-Henseleit และ Tyrode จากบริษัท Sigma Chemical Co., St Louis, U.S.A.

- |   |                             |   |
|---|-----------------------------|---|
| - D-glucose                             | - NaCl                      | - KCl                                   |
| - $\text{CaCl}_2 (2\text{H}_2\text{O})$ | - $\text{MgSO}_4$           | - $\text{MgCl}_2 (6\text{H}_2\text{O})$ |
| - $\text{KH}_2\text{PO}_4$              | - $\text{NaHCO}_3$          | - Ascorbic acid                         |
| - EGTA                                  | - $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ |   |

3.2 สารมาตรฐาน ( Standard ) จากบริษัท Sigma Chemical Co., St Louis, U.S.A.

- |                        |   |
|------------------------|---|
| 1. Methacholine (MCh)  | ความเข้มข้น $1 \times 10^{-8} - 1 \times 10^{-4}$ M |
| 2. Norepinephrine (NE) | ความเข้มข้น $1 \times 10^{-9} - 1 \times 10^{-5}$ M |

3. Atropine	ความเข้มข้น $1 \times 10^{-7}$ , $1 \times 10^{-6}$ และ $1 \times 10^{-5}$ M
4. Prazosin	ความเข้มข้น $1 \times 10^{-7}$ และ $1 \times 10^{-8}$ M
5. Verapamil	ความเข้มข้น $1 \times 10^{-7}$ M

### 3.3 สารทดสอบ (Test compound)

น้ำมันระเหยความเข้มข้น (v/v)  $3.2 \times 10^{-3}\%$ ,  $1.6 \times 10^{-3}\%$ ,  $8 \times 10^{-4}\%$ ,  $4 \times 10^{-4}\%$ ,  $2 \times 10^{-4}\%$ ,  $1 \times 10^{-4}\%$ ,  $5 \times 10^{-5}\%$  v/v ใน 0.1 % tween 60 เตรียมน้ำมันระเหยจากใบของต้นหัสศุณใหญ่ โดยวิธีการด้วยไอน้ำ<sup>(4)</sup> ส่วนการวิเคราะห์หาสัดส่วนของ anethole และ methyl chavicol ดำเนินการโดย รศ. ดร.นิจศิริ เรืองรังษี ภาควิชาเภสัชเวท คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

#### วิธีดำเนินการทดลอง

##### การเตรียมกล้ามเนื้อเรียบจากอวัยวะต่างๆ

##### การเตรียมลำไส้เล็ก

เตรียมกระต่ายหรือหนูตะเภาโดยให้อุดอาหารก่อนการทดลอง 12 ชั่วโมงโดยให้แต่น้ำ ทำให้สัตว์ทดลองสลบโดยการตีบริเวณรอยต่อระหว่างคอและหัว ผ่าตัดเปิดช่องท้องเอาลำไส้เล็กในส่วนที่ต้องการออกมาใส่ใน Petri dish ที่มีสารละลาย Tyrode อยู่ และมีก๊าซ carbogen ผ่านตลอดเวลา ตัดแยกไขมันและเนื้อเยื่อเกี่ยวพันออกให้หมด ล้างลำไส้ด้านในด้วยสารละลาย Tyrode ตัดแบ่งลำไส้เป็นท่อนยาวประมาณ 1 เซนติเมตร ใช้ด้ายผูกปลายทั้งสองด้านโดยให้ปลายทั้งสองด้านเปิด เพื่อให้สารละลาย Tyrode ผ่านได้ และผูกปลายด้านหนึ่งกับแท่งพลาสติกแล้วนำไปแช่ไว้ใน organ bath ซึ่งควบคุมอุณหภูมิไว้ที่  $37 \pm 0.5$  องศาเซลเซียส และบรรจุสารละลาย Tyrode ปริมาตร 25 มิลลิลิตร โดยมีก๊าซ carbogen ผ่านตลอดการทดลอง ส่วนปลายอีกด้านหนึ่งผูกติดกับ transducer ซึ่งต่อเข้ากับเครื่องขยายสัญญาณและเครื่องบันทึกผลการทดลอง ปรับให้ลำไส้มีแรงดึงตัวคงที่ในขณะที่พักประมาณ 1 กรัม แล้ว incubate ลำไส้ นานประมาณ 30 นาที โดยเปลี่ยนสารละลาย Tyrode ทุก 15 นาที<sup>(87-89)</sup> ดังแสดงในภาพที่ 11

##### การเตรียมกระเพาะอาหาร

เตรียมหนูขาวโดยให้อุดอาหารก่อนการทดลอง 12 ชั่วโมงโดยให้แต่น้ำ ทำให้สัตว์ทดลองสลบโดยการตีบริเวณรอยต่อระหว่างคอและหัว ผ่าตัดเปิดช่องท้องแยกตัดเอากระเพาะอาหารออกมา รีบแช่กระเพาะอาหารที่แยกออกมาใน Petri dish ที่มีสารละลาย Krebs-Henseleit อยู่ และมีก๊าซ carbogen ผ่านตลอดเวลา ตัดแยกเอาหลอดเลือดและเนื้อเยื่อเกี่ยวพันออกให้หมด แล้วตัด



เอาเฉพาะส่วน fundus ของกระเพาะอาหารออกมา แล้วจึงเตรียมกระเพาะอาหารโดยตัดแยกเป็นสองส่วนตามแนวยาวออกเป็น 2 ชิ้น สามารถใช้ทดลองได้ 2 ครั้ง ใช้ด้ายผูกปลายทั้งสองด้านโดยปลายด้านหนึ่งผูกติดกับแท่งพลาสติกแล้วนำไปใส่ใน organ bath ซึ่งควบคุมอุณหภูมิไว้ที่  $37 \pm 0.5$  องศาเซลเซียส และบรรจุสารละลาย Krebs-Henseleit ปริมาตร 25 มิลลิลิตร โดยมีก๊าซ carbogen ผ่านตลอดการทดลอง ส่วนปลายอีกด้านหนึ่งผูกติดกับ transducer ซึ่งต่อเข้ากับเครื่องขยายสัญญาณและเครื่องบันทึกผลการทดลองปรับให้กระเพาะอาหารมีความตึงตัวคงที่ในขณะที่พักประมาณ 1 กรัม แล้ว Incubate กระเพาะอาหารนานประมาณ 45-60 นาที โดยเปลี่ยนสารละลาย Krebs-Henseleit ทุกๆ 15 นาที<sup>(87,90)</sup>

### การเตรียมหลอดลม

ทำให้หนูตะเภาสลบโดยการตีบริเวณรอยต่อระหว่างคอและหัว ผ่าตัดเปิดช่องคอจนถึงช่องอกแยกตัดเอาหลอดลม โดยตัดให้ต่ำลงมาจากกล่องเสียงประมาณ 5 มิลลิเมตร และตัดให้มีความยาวของหลอดลมประมาณ 1.5-2 เซนติเมตร รีบแช่หลอดลมที่แยกออกมาใน Petri dish ที่มีสารละลาย Krebs-Henseleit อยู่ และมีก๊าซ carbogen ผ่านตลอดเวลา ตัดแยกเอาหลอดเลือดและเนื้อเยื่อเกี่ยวพันออกให้หมด แล้วแบ่งครึ่งหลอดลมเป็น 2 ท่อน สามารถใช้ทดลองได้ 2 ครั้ง แล้วจึงเตรียมหลอดลมโดยตัดแบบซิกแซก<sup>(87,91-92)</sup> ใช้ด้ายผูกปลายทั้งสองด้านโดยปลายด้านหนึ่งผูกติดกับแท่งพลาสติกแล้วนำไปใส่ใน organ bath ซึ่งควบคุมอุณหภูมิไว้ที่  $37 \pm 0.5$  องศาเซลเซียส และบรรจุสารละลาย Krebs-Henseleit ปริมาตร 25 มิลลิลิตร โดยมีก๊าซ carbogen ผ่านตลอดการทดลอง ส่วนปลายอีกด้านหนึ่งผูกติดกับ transducer ซึ่งต่อเข้ากับเครื่องขยายสัญญาณและเครื่องบันทึกผลการทดลองปรับให้หลอดเลือดมีความตึงตัวคงที่ในขณะที่พัก (resting tension) ประมาณ 0.5-0.8 กรัม แล้ว Incubate หลอดลมนานประมาณ 45-60 นาที โดยเปลี่ยนสารละลาย Krebs-Henseleit ทุกๆ 15 นาที<sup>(87,91-92)</sup> ดังแสดงในภาพที่ 12-13

### การเตรียมหลอดเลือดแดงใหญ่ (aorta)

ทำให้หนูขาวสลบโดยตีบริเวณรอยต่อระหว่างคอและหัว ผ่าตัดเปิดช่องอกแล้วเคลื่อนย้ายเอาหัวใจ ปอด (ส่วนที่บังหลอดเลือดแดงใหญ่) ออกจะเห็นหลอดเลือดแดงใหญ่ติดอยู่กับกระดูกสันหลัง ใช้ด้ายผูกหลอดเลือดแดงใหญ่และใช้กรรไกรเลาะหลอดเลือดแดงใหญ่ในช่องอกตัดมาใส่ใน Petri dish ที่มีสารละลาย Krebs-Henseleit อยู่ และมีก๊าซ carbogen ผ่านตลอดเวลา ค่อยๆ เลาะเอาเนื้อเยื่อเกี่ยวพันออกให้หมด ล้างเลือดที่อยู่ภายในหลอดเลือดออกให้หมดด้วยสารละลาย Krebs-Henseleit ตัดผนังหลอดเลือดเป็นเกลียว (spiral) แล้วตัดแบ่งเป็นท่อนยาวประมาณ 1 เซนติเมตร ใช้ด้ายผูกปลายทั้งสองด้านโดยผูกปลายด้านหนึ่งกับแท่งพลาสติก แล้วนำไปแช่ไว้ใน

organ bath ซึ่งควบคุมอุณหภูมิไว้ที่  $37\pm 0.5$  องศาเซลเซียส และบรรจุสารละลาย Krebs-Henseleit ปริมาตร 25 มิลลิลิตร โดยมีก๊าซ carbogen ผ่านตลอดการทดลองส่วนปลายอีกด้านหนึ่งผูกติดกับ transducer ซึ่งต่อเข้ากับเครื่องขยายสัญญาณและเครื่องบันทึกผลการทดลองปรับให้หลอดเล็สดมีความตึงตัวคงที่ในขณะที่พักประมาณ 1 กรัม แล้ว Incubate หลอดเล็สดนานประมาณ 60-90 นาที โดยเปลี่ยนสารละลาย Krebs-Henseleit ทุกๆ 15 นาที<sup>(87,89)</sup> ดังแสดงในภาพที่ 14

**การทดลองที่ 1** การศึกษาผลของน้ำมันระเหยจากใบของต้นหัสศคุณใหญ่ เมื่อให้น้ำมันระเหยแบบสะสม (cumulative dose) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กที่แยกจากกาย (n=8)

1.1 ศึกษาผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน jejunum ของกระต่าย

1.1.1 ศึกษาผลของตัวทำละลาย (0.1% tween 60 ในน้ำ) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน jejunum ของกระต่าย<sup>(89)</sup>

1.1.2 ศึกษาผลของ MCh ( $1\times 10^{-8}$ - $1\times 10^{-4}$  M) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน jejunum ของกระต่าย และเมื่อให้ร่วมกับ atropine  $1\times 10^{-7}$  M และ  $1\times 10^{-6}$  M<sup>(88,93)</sup>

1.1.3 ศึกษาผลของน้ำมันระเหยที่ละลายใน 0.1% tween60 ในน้ำ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน jejunum ของกระต่าย และเมื่อให้ร่วมกับ atropine  $1\times 10^{-7}$  M และ  $1\times 10^{-6}$  M<sup>(88,93)</sup>

1.2 ศึกษาผลของน้ำมันระเหยที่ละลายใน 0.1% tween60 ในน้ำ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภา (n=8)

1.2.1 ศึกษาผลของตัวทำละลาย (0.1% tween60 ในน้ำ) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภา<sup>(89)</sup>

1.2.2 ศึกษาผลของ MCh ( $1\times 10^{-8}$  -  $1\times 10^{-4}$  M) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภา และเมื่อให้ร่วมกับ atropine  $1\times 10^{-7}$  และ  $1\times 10^{-5}$  M<sup>(88,93)</sup>

1.2.3 ศึกษาผลของน้ำมันระเหยที่ละลายใน 0.1% tween60 ในน้ำ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภา และเมื่อให้ร่วมกับ atropine  $1 \times 10^{-7}$  และ  $1 \times 10^{-5}$  M<sup>(88,93)</sup>

**การทดลองที่ 2** การศึกษาผลของน้ำมันระเหยจากใบของต้นหัสศคุณใหญ่ เมื่อให้น้ำมันระเหยแบบสะสม (cumulative dose) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาวที่แยกออกจากกาย (n=8)

2.1 ศึกษาผลของตัวทำละลาย (0.1% tween60 ในน้ำ) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาว<sup>(89)</sup>

2.2 ศึกษาผลของ MCh ( $1 \times 10^{-8}$  -  $1 \times 10^{-4}$  M) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาว และเมื่อให้ร่วมกับ atropine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-7}$  และ  $1 \times 10^{-6}$  M<sup>(88,93)</sup>

2.3 ศึกษาผลของน้ำมันระเหยที่ละลายใน 0.1% tween60 ในน้ำ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาว และเมื่อให้ร่วมกับ atropine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-7}$  และ  $1 \times 10^{-6}$  M<sup>(88,93)</sup>

**การทดลองที่ 3** การศึกษาผลของน้ำมันระเหยจากใบของต้นหัสศคุณใหญ่ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมของหนูตะเภาที่แยกออกจากกาย (n=8)

3.1 ศึกษาผลของตัวทำละลาย (0.1% tween60 ในน้ำ) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมของหนูตะเภา<sup>(89)</sup>

3.2 ศึกษาผลของ MCh ( $1 \times 10^{-8}$  -  $1 \times 10^{-4}$  M) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมของหนูตะเภา และเมื่อให้ร่วมกับ atropine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-7}$  และ  $1 \times 10^{-6}$  M<sup>(91-92)</sup>

3.3 ศึกษาผลของน้ำมันระเหยที่ละลายใน 0.1% tween60 ในน้ำ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมของหนูตะเภา และเมื่อให้ร่วมกับ atropine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-7}$  และ  $1 \times 10^{-6}$  M<sup>(91-92)</sup>

**การทดลองที่ 4** การศึกษาผลของน้ำมันระเหยจากใบของต้นหัสศคุณใหญ่ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาวที่แยกออกจากกาย (n=8)

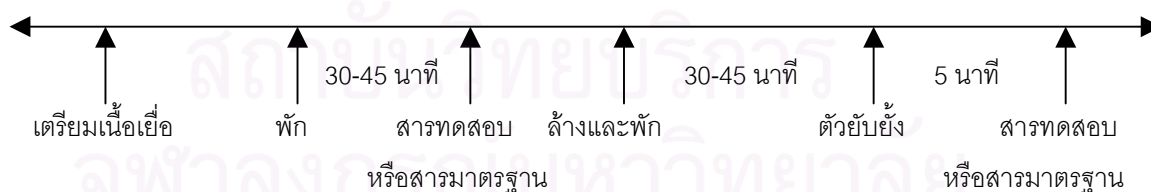
4.1 ศึกษาผลของตัวทำละลาย (0.1% tween60 ในน้ำ) แบบสะสมขนาดต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่<sup>(89)</sup>

4.2 ศึกษาผลของ NE ( $1 \times 10^{-9}$ – $1 \times 10^{-5}$  M) แบบสะสมขนาดต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ และเมื่อให้ร่วมกับ prazosin ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  และ  $1 \times 10^{-8}$  M<sup>(89,94-97)</sup>

4.3 ศึกษาผลของน้ำมันระเหยที่ละลายใน 0.1% tween60 ในน้ำ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว และเมื่อให้ร่วมกับ prazosin ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  และ  $1 \times 10^{-8}$  M<sup>(89,94-97)</sup>

4.4 ศึกษาผลของน้ำมันระเหยที่ละลายใน 0.1% tween60 ในน้ำ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ ใน calcium free Krebs-Henseleit solution เพื่อดูผลของสารต่อ calcium ภายในเซลล์<sup>(89,94-97)</sup>

4.5 ศึกษาผลของน้ำมันระเหยที่ละลายใน 0.1% tween60 ในน้ำ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ และเมื่อให้ร่วมกับ verapamil  $1 \times 10^{-7}$  M<sup>(89,94-97)</sup> เพื่อดูผลของแคลเซียมภายนอกเซลล์ต่อการหดตัวของหลอดเลือด



## การวัดผลและการนำเสนอผลการวิจัย

### 1. การวัดผลการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็ก

วัดปริมาณการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กเป็นกรัม แล้วคำนวณเป็นร้อยละของการหดตัว (% contraction) โดยให้การหดตัวสูงสุด (maximum contraction) ที่เกิดจากการได้รับตัวกระตุ้นมาตรฐานแบบสะสมขนาด = 100% และนำเสนอเป็น cumulative dose-response curve ในรูปค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean  $\pm$  SE) คำนวณหาค่า  $EC_{50}^{(98)}$

### 2. การวัดผลการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารส่วน fundus

วัดปริมาณการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารเป็นกรัม แล้วคำนวณเป็นร้อยละของการหดตัว (% contraction) โดยให้การหดตัวสูงสุด (maximum contraction) = 100% และนำเสนอเป็น cumulative dose-response curve ในรูปค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean  $\pm$  SE) คำนวณหาค่า  $EC_{50}^{(98)}$

### 3. การวัดผลการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลม

วัดปริมาณการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมเป็นกรัม แล้วคำนวณเป็นร้อยละของการหดตัว (% contraction) โดยให้การหดตัวสูงสุด (maximum contraction) = 100% และนำเสนอเป็น cumulative dose-response curve ในรูปค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean  $\pm$  SE) คำนวณหาค่า  $EC_{50}^{(98)}$

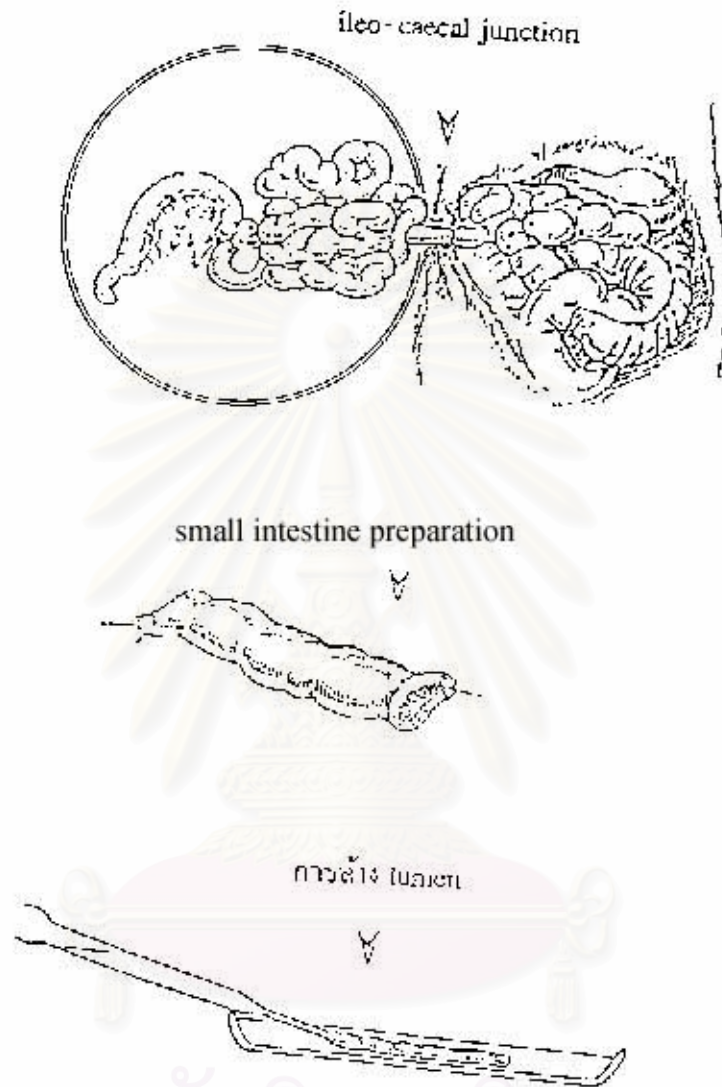
### 4. การวัดผลการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่

วัดปริมาณการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่เป็นกรัม แล้วคำนวณเป็นร้อยละของการหดตัว (% contraction) โดยให้การหดตัวสูงสุด (maximum contraction) = 100% และนำเสนอเป็น cumulative dose-response curve ในรูปค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean  $\pm$  SE) คำนวณหาค่า  $EC_{50}^{(98)}$

### 5. การคำนวณหาค่า $EC_{50}$ จะคำนวณโดยเทียบกับตัวกระตุ้นมาตรฐาน

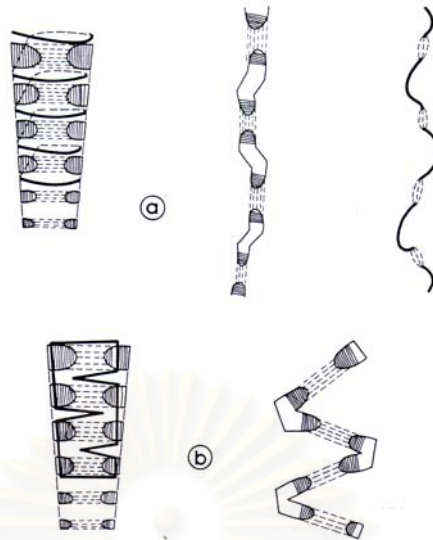
## การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

การวิเคราะห์ผลทางสถิติในการศึกษาผลของน้ำมันระเหยที่แยกจากต้นหัสศคุณใหญ่ (*Clausena anisata* Hook.) ต่อการหดตัวของ isolated smooth muscle การทดสอบความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลอง และกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารมาตรฐานใช้การทดสอบแบบ ONE WAY ANOVA (Bonferroni test) โดยพิจารณาค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ค่า  $P < 0.05$ )



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

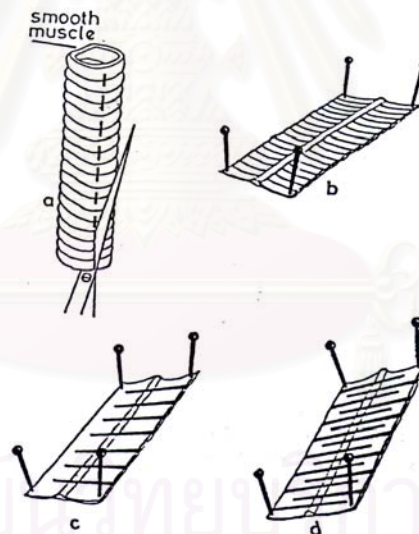
ภาพที่ 11 แสดงการเตรียมเนื้อเยื่อลำไส้เล็กส่วน Ileum จากหนูตะเภา



a = Spiral section

b = Zig Zag section

ภาพที่ 12 แสดงการเตรียมเนื้อเยื่อหลอดลมแบบต่างๆ



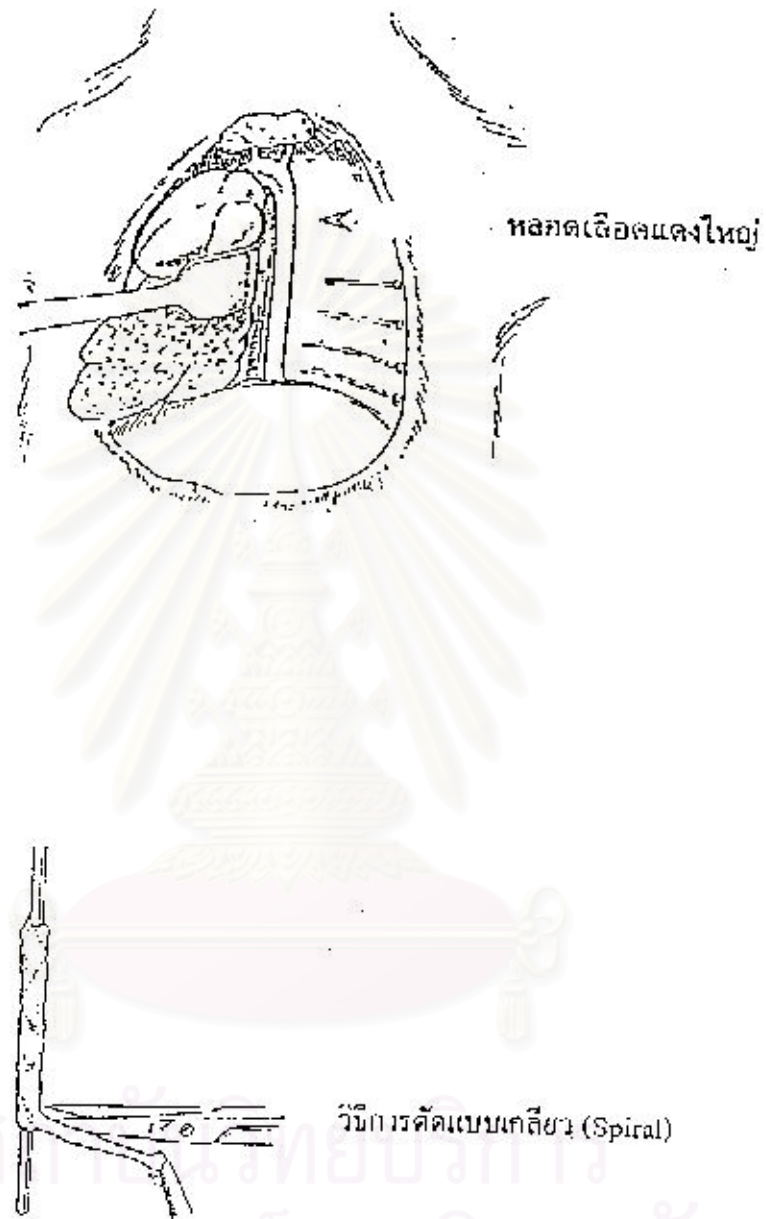
a = ตัดหลอดลมตามแนวเส้นปะ

b = หลอดลมที่ตัดตามแนวยาวแล้วนำมากางออก

c = ตัดด้านข้างตามแนวตัด

d = ตัดอีกข้างหนึ่งให้เยื้องกับข้างเดิม

ภาพที่ 13 แสดงการเตรียมเนื้อเยื่อหลอดลมแบบ Zig Zag section



ภาพที่ 14 แสดงการเตรียมเนื้อเยื่อหลอดเลือดแดงใหญ่ส่วน aorta แบบ spiral section



### บทที่ 3

## ผลการทดลอง

จากการสกัดน้ำมันระเหยจากใบของต้นหัสศคุณใหญ่ด้วยไอน้ำพบว่าได้ผลผลิตน้ำมันระเหยเป็น 3.5 % (v/w) ของน้ำหนักใบสด และมีสัดส่วนของ anethole และ methyl chavicol เป็น 98.4 และ 1.6 % (v/v) ตามลำดับ

**การทดลองที่ 1** การศึกษาผลของน้ำมันระเหยจากใบของต้นหัสศคุณใหญ่ เมื่อให้น้ำมันระเหยแบบสะสมขนาด (cumulative dose) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กที่แยกจากกาย (n=8)

1.1 ศึกษาผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน jejunum ของกระต่าย

1.1.1 ศึกษาผลของตัวทำละลาย (0.1 % tween 60 ในน้ำ) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน jejunum ของกระต่าย

เมื่อกกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน jejunum ของกระต่ายมีการหดตัวคงที่แล้ว ให้สารละลาย 0.1 % tween 60 ในน้ำขนาด 10  $\mu$ l ติดต่อกัน 7 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 1 นาที ซึ่งเท่ากับปริมาตรตัวทำละลายของน้ำมันระเหยที่ใช้ในการศึกษา หลังจากการทดลองพบว่าตัวทำละลายที่ไม่ให้ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน jejunum ของกระต่าย ในทุกความเข้มข้นของตัวทำละลาย (ภาพที่ 15)

1.1.2 ศึกษาผลของ MCh ( $1 \times 10^{-8}$  -  $1 \times 10^{-4}$  M) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน jejunum ของกระต่าย และเมื่อให้ร่วมกับ atropine  $1 \times 10^{-6}$  M และ  $1 \times 10^{-7}$  M

เมื่อกกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน jejunum ของกระต่ายมีการหดตัวคงที่แล้ว ให้สารละลายของ MCh แบบสะสมขนาด  $1 \times 10^{-8}$ ,  $1 \times 10^{-7}$ ,  $1 \times 10^{-6}$ ,  $1 \times 10^{-5}$  และ  $1 \times 10^{-4}$  M พบว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน jejunum ของกระต่ายจะเพิ่มขึ้นตามขนาดสารละลาย MCh ที่เพิ่มขึ้นคือจาก 0 % เป็น 7.92 %, 20.31 %, 47.84 %, 76.42 % และ 100 % ตามลำดับ (ภาพที่ 15)

จากนั้นล้างเอาสารละลายของ MCh ออกให้หมด incubate ประมาณ 1 ชั่วโมง เมื่อการหดตัวลดลงถึง base line และคงที่แล้วก็ทำการทดลองต่อโดยการให้สารละลายของ atropine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-7}$  M ก่อน 5 นาที หลังจากนั้นให้ MCh แบบผสมขนาดเช่นเดียวกับตอนแรก พบว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน jejunum ของกระต่ายจะเปลี่ยนแปลงไปภายหลังจากให้ atropine โดยการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบจะมีความเปลี่ยนแปลงเมื่อเทียบกับก่อนให้ atropine ดังนี้  $-6.34\%$ ,  $-18.63\%$ ,  $-42.47\%$ ,  $-45.73\%$  และ  $-33.28\%$  ตามลำดับจะเห็นว่าภายหลังจากให้สารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  M การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน jejunum ของกระต่ายที่ได้รับสารละลายของ MCh แบบผสมขนาดจะมีการหดตัวลดลงกว่าก่อนได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  M ความเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนี้เมื่อนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้ one way ANOVA แล้วพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบก่อนได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  M (ภาพที่ 16)

จากนั้นล้างเอาสารละลายของ MCh ออกให้หมด incubate ประมาณ 1 ชั่วโมง เมื่อการหดตัวลดลงถึง base line และคงที่แล้วก็ทำการทดลองต่อโดยการให้สารละลายของ atropine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-6}$  M ก่อน 5 นาที หลังจากนั้นให้ MCh แบบผสมขนาดเช่นเดียวกับตอนแรก พบว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน jejunum ของกระต่ายจะเปลี่ยนแปลงไปภายหลังจากให้ atropine โดยการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบจะมีความเปลี่ยนแปลงเมื่อเทียบกับก่อนให้ atropine ดังนี้  $-7.02\%$ ,  $-19.10\%$ ,  $-45.83\%$ ,  $-67.61\%$  และ  $-56.18\%$  ตามลำดับจะเห็นว่าภายหลังจากให้สารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-6}$  M การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน jejunum ของกระต่ายที่ได้รับสารละลายของ MCh แบบผสมขนาดจะมีการหดตัวลดลงกว่าก่อนได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-6}$  M ความเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนี้เมื่อนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้ one way ANOVA แล้วพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบก่อนได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-6}$  M (ภาพที่ 16)

1.1.3 ศึกษาผลของน้ำมันระเหยที่ละลายใน  $0.1\%$  tween60 ในน้ำ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน jejunum ของกระต่าย และเมื่อให้ร่วมกับ atropine  $1 \times 10^{-6}$  M และ  $1 \times 10^{-7}$  M

เมื่อกกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน jejunum ของกระต่ายมีการหดตัวคงที่แล้ว ให้สารละลายของน้ำมันระเหยแบบผสมขนาด  $5 \times 10^{-5}$ ,  $1 \times 10^{-4}$ ,  $2 \times 10^{-4}$ ,  $4 \times 10^{-4}$ ,  $8 \times 10^{-4}$ ,  $1.6 \times 10^{-3}$  และ  $3.2 \times 10^{-3}$  % v/v พบว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน jejunum ของกระต่ายเกิดการเปลี่ยนแปลงจาก  $0\%$  เป็น  $0.36\%$ ,  $0.10\%$ ,  $1.87\%$ ,  $2.93\%$ ,  $3.99\%$ ,  $4.99\%$  และ  $-5.48$

% ตามลำดับ จะเห็นว่า การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน jejunum ของกระต่ายจะค่อยๆ เพิ่มขึ้นจนมีการหดตัวสูงสุดที่ขนาด  $1.6 \times 10^{-3}$  % v/v จากนั้นจะลดลงมากในขนาด  $3.2 \times 10^{-3}$  % v/v ความเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนี้เมื่อนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้ one way ANOVA แล้วพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการให้ตัวทำละลายเพียงอย่างเดียว (negative control) ที่ความเข้มข้น  $8 \times 10^{-4}$  และ  $1.6 \times 10^{-3}$  % v/v ค่าความเข้มข้นของน้ำมันระเหยที่ทำให้เกิดการหดตัวเพิ่มขึ้น 50 % เมื่อเทียบกับสารละลาย MCh ( $EC_{50}$ ) ไม่สามารถหาค่าได้ (ภาพที่ 15)

จากนั้นล้างเอาสารละลายของน้ำมันระเหยออกให้หมด incubate ประมาณ 1 ชั่วโมง เมื่อการหดตัวลดลงถึง base line และคงที่แล้วก็จึงทำการทดลองต่อโดยการให้สารละลายของ atropine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-7}$  M ก่อน 5 นาที หลังจากนั้นให้น้ำมันระเหยแบบผสมขนาดเช่นเดียวกับตอนแรก พบว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน jejunum ของกระต่ายจะเปลี่ยนแปลงไปภายหลังจากให้ atropine โดยการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบจะมีความเปลี่ยนแปลงเมื่อเทียบกับก่อนให้ atropine ดังนี้ +0.52 %, +1.49 %, +0.74 %, +1.08 %, +1.29 %, -4.15 % และ -6.57 % ตามลำดับจะเห็นว่าภายหลังจากให้สารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  M การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน jejunum ของกระต่ายที่ได้รับสารละลายของน้ำมันระเหยที่ความเข้มข้น  $5 \times 10^{-5}$ ,  $1 \times 10^{-4}$ ,  $2 \times 10^{-4}$ ,  $4 \times 10^{-4}$  และ  $8 \times 10^{-4}$  % v/v จะมีการหดตัวเพิ่มขึ้นกว่าก่อนได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  M แต่ที่ความเข้มข้น  $1.6 \times 10^{-3}$  และ  $3.2 \times 10^{-3}$  % v/v จะมีการหดตัวลดลงกว่าก่อนได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  M ความเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนี้เมื่อนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้ one way ANOVA แล้วพบว่ามีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับก่อนได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  M (ภาพที่ 17)

จากนั้นล้างเอาสารละลายของน้ำมันระเหยออกให้หมด incubate ประมาณ 1 ชั่วโมง เมื่อการหดตัวลดลงถึง base line และคงที่แล้วก็จึงทำการทดลองต่อโดยการให้สารละลายของ atropine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-6}$  M ก่อน 5 นาที หลังจากนั้นให้น้ำมันระเหยแบบผสมขนาดเช่นเดียวกับตอนแรก พบว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน jejunum ของกระต่ายจะเปลี่ยนแปลงไปภายหลังจากให้ atropine โดยการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบจะมีความเปลี่ยนแปลงเมื่อเทียบกับก่อนให้ atropine ดังนี้ +0.38 %, +1.26 %, +0.68 %, +0.87 %, +0.96 %, +0.68 % และ -2.18 % ตามลำดับจะเห็นว่าภายหลังจากให้สารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-6}$  M การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน jejunum ของกระต่ายที่ได้รับสารละลายของน้ำมันระเหยที่ความเข้มข้น  $5 \times 10^{-5}$ ,  $1 \times 10^{-4}$ ,  $2 \times 10^{-4}$ ,  $4 \times 10^{-4}$ ,  $8 \times 10^{-4}$ ,  $1.6 \times 10^{-3}$  และ  $3.2 \times 10^{-3}$  % v/v จะมีการหดตัวเพิ่มขึ้นกว่าก่อนได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-6}$  M เล็กน้อยแต่ความ

เปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนี้เมื่อนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้ one way ANOVA แล้วพบว่ามีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับก่อนได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-6}$  M (ภาพที่ 18)

1.2 ศึกษาผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภา

1.2.1 ศึกษาผลของตัวทำละลาย (0.1 % tween60 ในน้ำ) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภา

เมื่อลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภามีการหดตัวคงที่แล้ว ให้สารละลาย 0.1 % tween 60 ในน้ำขนาด  $10 \mu\text{l}$  ติดต่อกัน 7 ครั้ง แต่แต่ละครั้งห่างกัน 1 นาที ซึ่งเท่ากับปริมาตรตัวทำละลายของน้ำมันระเหยที่ใช้ในการศึกษา หลังจากการทดลองพบว่าตัวทำละลายที่ให้ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงการหดตัวของลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภาในทุกความเข้มข้นของตัวทำละลาย (ภาพที่ 19)

1.2.2 ศึกษาผลของ MCh ( $1 \times 10^{-8}$  -  $1 \times 10^{-4}$  M) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภา และเมื่อให้ร่วมกับ atropine  $1 \times 10^{-7}$  และ  $1 \times 10^{-5}$  M

เมื่อกกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภามีการหดตัวคงที่แล้ว ให้สารละลายของ MCh แบบสะสมขนาด  $1 \times 10^{-8}$ ,  $1 \times 10^{-7}$ ,  $1 \times 10^{-6}$ ,  $1 \times 10^{-5}$  และ  $1 \times 10^{-4}$  M พบว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภาจะเพิ่มขึ้นตามขนาดสารละลาย MCh ที่เพิ่มขึ้นคือจาก 0 % เป็น 1.40 %, 1.38 %, 3.51 %, 26.22 % และ 100 % ตามลำดับ (ภาพที่ 19)

จากนั้นล้างเอาสารละลายของ MCh ออกให้หมด incubate ประมาณ 1 ชั่วโมง เมื่อการหดตัวลดลงถึง base line และคงที่แล้วก็จึงทำการทดลองต่อโดยการให้สารละลายของ atropine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-7}$  M ก่อน 5 นาที หลังจากนั้นให้ MCh แบบสะสมขนาดเช่นเดียวกับตอนแรก พบว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภาจะเปลี่ยนแปลงไปภายหลังจากให้ atropine โดยการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบจะมีความเปลี่ยนแปลงเมื่อเทียบกับก่อนให้ atropine ดังนี้ -1.36 %, -2.26 %, -1.92 %, -11.16 % และ -8.83 % ตามลำดับจะเห็นว่าภายหลังจากให้สารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  M การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภาที่ได้รับสารละลายของ MCh แบบสะสมขนาดจะมีการหดตัวลดลงกว่าก่อนได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  M ความเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนี้เมื่อนำมาวิเคราะห์ผลทาง

สถิติโดยใช้ one way ANOVA แล้วพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับก่อนได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  M (ภาพที่ 20)

จากนั้นล้างเอาสารละลายของ MCh ออกให้หมด incubate ประมาณ 1 ชั่วโมง เมื่อการหดตัวลดลงถึง base line และคงที่แล้วก็จึงทำการทดลองต่อโดยการให้สารละลายของ atropine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-5}$  M ก่อน 5 นาที หลังจากนั้นให้ MCh แบบผสมขนาดเช่นเดียวกับตอนแรก พบว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภาจะเปลี่ยนแปลงไปภายหลังจากให้ atropine โดยการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบจะมีความเปลี่ยนแปลงเมื่อเทียบกับก่อนให้ atropine ดังนี้  $-1.88\%$ ,  $-2.14\%$ ,  $-4.11\%$ ,  $-26.14\%$  และ  $-86.20\%$  ตามลำดับจะเห็นว่าภายหลังจากให้สารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-5}$  M การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภาที่ได้รับสารละลายของ MCh แบบผสมขนาดจะมีการหดตัวลดลงกว่าก่อนได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-5}$  M ความเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนี้เมื่อนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้ one way ANOVA แล้วพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับก่อนได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-5}$  M (ภาพที่ 20)

1.2.3 ศึกษาผลของน้ำมันระเหยที่ละลายใน 0.1 % tween60 ในน้ำ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภา และเมื่อให้ร่วมกับ atropine  $1 \times 10^{-7}$  และ  $1 \times 10^{-5}$  M

เมื่อกกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภามีการหดตัวคงที่แล้ว ให้สารละลายของน้ำมันระเหยแบบผสมขนาด  $5 \times 10^{-5}$ ,  $1 \times 10^{-4}$ ,  $2 \times 10^{-4}$ ,  $4 \times 10^{-4}$ ,  $8 \times 10^{-4}$ ,  $1.6 \times 10^{-3}$  และ  $3.2 \times 10^{-3}$  % v/v พบว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภาเกิดการเปลี่ยนแปลงจาก 0 % เป็น  $-0.66\%$ ,  $-2.34\%$ ,  $-4.01\%$ ,  $-5.99\%$ ,  $1.58\%$ ,  $27.89\%$  และ  $39.40\%$  ตามลำดับ จะเห็นว่า การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภาจะลดลงในสัดส่วนความเข้มข้นแรกและจะค่อยๆเพิ่มขึ้นจนมีการหดตัวสูงสุดที่ขนาด  $3.2 \times 10^{-3}$  % v/v การเพิ่มขึ้นนี้เมื่อนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้ one way ANOVA แล้วพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการให้ตัวทำละลายเพียงอย่างเดียว (negative control) ที่ความเข้มข้น  $1.6 \times 10^{-3}$  และ  $3.2 \times 10^{-3}$  % v/v ค่าความเข้มข้นของน้ำมันระเหยที่ทำให้เกิดการหดตัวเพิ่มขึ้น 50 % ( $EC_{50}$ ) มีค่าเท่ากับ  $9.6 \times 10^{-3}$  % v/v ค่าความเข้มข้นของ MCh ที่ทำให้เกิดการหดตัวเพิ่มขึ้น 50 % ( $EC_{50}$ ) มีค่าเท่ากับ  $1 \times 10^{-4}$  M (ภาพที่ 19)

จากนั้นล้างเอาสารละลายของน้ำมันระเหยออกให้หมด incubate ประมาณ 1 ชั่วโมง เมื่อการหดตัวลดลงถึง base line และคงที่แล้วก็จึงทำการทดลองต่อโดยการให้สารละลายของ

atropine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-7}$  M ก่อน 5 นาที หลังจากนั้นให้น้ำมันระเหยแบบสะสมขนาดเช่นเดียวกับตอนแรก พบว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภาจะเปลี่ยนแปลงไปภายหลังจากให้ atropine โดยการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบจะมีความเปลี่ยนแปลงเมื่อเทียบกับก่อนให้ atropine ดังนี้ +2.49 %, +1.30 %, +5.00 %, +7.13 %, +5.85 %, -1.67 % และ +1.57 % ตามลำดับจะเห็นว่าภายหลังจากให้สารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  M การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภาที่ได้รับสารละลายของน้ำมันระเหยที่ทุกความเข้มข้นจะมีการหดตัวเพิ่มขึ้นกว่าก่อนได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  M ยกเว้นที่ความเข้มข้น  $1.6 \times 10^{-3}$  % v/v เท่านั้นที่ลดลง แต่ความเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนี้เมื่อนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้ one way ANOVA แล้วพบว่ามีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับก่อนได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  M (ภาพที่ 21)

จากนั้นล้างเอาสารละลายของน้ำมันระเหยออกให้หมด incubate ประมาณ 1 ชั่วโมง เมื่อการหดตัวลดลงถึง base line และคงที่แล้วก็จึงทำการทดลองต่อโดยการให้สารละลายของ atropine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-5}$  M ก่อน 5 นาที หลังจากนั้นให้น้ำมันระเหยแบบสะสมขนาดเช่นเดียวกับตอนแรก พบว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภาจะเปลี่ยนแปลงไปภายหลังจากให้ atropine โดยการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบจะมีความเปลี่ยนแปลงเมื่อเทียบกับก่อนให้ atropine ดังนี้ +3.63 %, +3.63 %, +5.45 %, +6.57 %, +0.50 %, -4.25 % และ +0.06 % ตามลำดับจะเห็นว่าภายหลังจากให้สารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-5}$  M การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภาที่ได้รับสารละลายของน้ำมันระเหยที่ทุกความเข้มข้นจะมีการหดตัวเพิ่มขึ้นกว่าก่อนได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-5}$  M ยกเว้นที่ความเข้มข้น  $1.6 \times 10^{-3}$  % v/v เท่านั้นที่ลดลง ความเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนี้เมื่อนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้ one way ANOVA แล้วพบว่ามีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับก่อนได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-5}$  M (ภาพที่ 22)

**การทดลองที่ 2** การศึกษาผลของน้ำมันระเหยจากใบของต้นหัสศคุณใหญ่ เมื่อให้น้ำมันระเหยแบบสะสมขนาด (cumulative dose) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาวที่แยกออกจากกาย

2.1 ศึกษาผลของตัวทำละลาย (0.1 % tween60 ในน้ำ) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาว

เมื่อกกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาวมีการหดตัวคงที่แล้ว ให้สารละลาย 0.1 % tween 60 ในน้ำขนาด 10  $\mu$ l ติดต่อกัน 7 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 1 นาที ซึ่งเท่ากับปริมาตรตัวทำละลายของน้ำมันระเหยที่ใช้ในการศึกษา หลังจากการทดลองพบว่าตัวทำละลายที่ให้ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาวในทุกความเข้มข้นของตัวทำละลาย (ภาพที่ 23)

2.2 ศึกษาผลของ MCh ( $1 \times 10^{-8}$  -  $1 \times 10^{-4}$  M) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาว และเมื่อให้ร่วมกับ atropine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-7}$  และ  $1 \times 10^{-6}$  M

เมื่อกกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาวมีการหดตัวคงที่แล้ว ให้สารละลายของ MCh แบบสะสมขนาด  $1 \times 10^{-8}$ ,  $1 \times 10^{-7}$ ,  $1 \times 10^{-6}$ ,  $1 \times 10^{-5}$  และ  $1 \times 10^{-4}$  M พบว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาวจะเพิ่มขึ้นตามขนาดสารละลาย MCh ที่เพิ่มขึ้นคือจาก 0 % เป็น 28.47 %, 51.45 %, 80.83 %, 95.10 % และ 100 % ตามลำดับ (ภาพที่ 23)

จากนั้นล้างเอาสารละลายของ MCh ออกให้หมด incubate ประมาณ 1 ชั่วโมง เมื่อการหดตัวลดลงถึง base line และคงที่แล้วก็ทำการทดลองต่อโดยการให้สารละลายของ atropine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-7}$  M ก่อน 5 นาที หลังจากนั้นให้ MCh แบบสะสมขนาดเช่นเดียวกับตอนแรก พบว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาวจะเปลี่ยนแปลงไปภายหลังจากให้ atropine โดยการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบจะมีความเปลี่ยนแปลงเมื่อเทียบกับก่อนให้ atropine ดังนี้ -27.65 %, -48.65 %, -66.65 %, -42.84 % และ -11.92 % ตามลำดับจะเห็นว่าภายหลังจากให้สารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  M การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาวที่ได้รับสารละลายของ MCh แบบสะสมขนาดจะมีการหดตัวลดลงกว่าก่อนได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  M ความเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนี้เมื่อนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้ one way ANOVA แล้วพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับก่อนได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  M (ภาพที่ 24)

จากนั้นล้างเอาสารละลายของ MCh ออกให้หมด incubate ประมาณ 1 ชั่วโมง เมื่อการหดตัวลดลงถึง base line และคงที่แล้วก็ทำการทดลองต่อโดยการให้สารละลายของ atropine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-6}$  M ก่อน 5 นาที หลังจากนั้นให้ MCh แบบสะสมขนาดเช่นเดียวกับตอนแรก พบว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาวจะเปลี่ยนแปลงไปภายหลังจากให้ atropine โดยการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบจะมีความเปลี่ยนแปลงเมื่อเทียบกับก่อนให้ atropine ดังนี้ -28.72 %, -51.14 %, -79.15 %, -80.28 % และ -42.82 % ตามลำดับจะ

เห็นว่าภายหลังจากให้สารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-6}$  M การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ กระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาวที่ได้รับสารละลายของ MCh แบบผสมขนาดจะมีการหดตัวลดลงกว่าก่อนได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-6}$  M ความเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนี้เมื่อนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้ one way ANOVA แล้วพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับก่อนได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-6}$  M (ภาพที่ 24)

2.3 ศึกษาผลของน้ำมันระเหยที่ละลายใน 0.1 % tween60 ในน้ำ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ กระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาว และเมื่อให้ร่วมกับ atropine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-7}$  และ  $1 \times 10^{-6}$  M

เมื่อกกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาวมีการหดตัวคงที่แล้ว ให้สารละลายของน้ำมันระเหยแบบผสมขนาด  $5 \times 10^{-5}$ ,  $1 \times 10^{-4}$ ,  $2 \times 10^{-4}$ ,  $4 \times 10^{-4}$ ,  $8 \times 10^{-4}$ ,  $1.6 \times 10^{-3}$  และ  $3.2 \times 10^{-3}$  % v/v พบว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาว เกิดการเปลี่ยนแปลงจาก 0 % เป็น 1.10 %, 3.24 %, 7.02 %, 11.99 %, 16.39 %, 26.19 % และ 20.54 % ตามลำดับ จะเห็นว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาวเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารละลายน้ำมันระเหยที่เพิ่มขึ้นจนมีการหดตัวสูงสุดที่ขนาด  $1.6 \times 10^{-3}$  % v/v และเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้นเป็น  $3.2 \times 10^{-3}$  % v/v การหดตัวจะลดลงเล็กน้อย ความเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนี้เมื่อนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้ one way ANOVA แล้วพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการให้ตัวทำละลายเพียงอย่างเดียว (negative control) ที่ความเข้มข้น  $2 \times 10^{-4}$ ,  $4 \times 10^{-4}$ ,  $8 \times 10^{-4}$ ,  $1.6 \times 10^{-3}$  และ  $3.2 \times 10^{-3}$  % v/v ค่าความเข้มข้นของน้ำมันระเหยที่ทำให้เกิดการหดตัวเพิ่มขึ้น 50 % ( $EC_{50}$ ) มีค่าเท่ากับ  $8.192 \times 10^{-1}$  % v/v ค่าความเข้มข้นของ MCh ที่ทำให้เกิดการหดตัวเพิ่มขึ้น 50 % ( $EC_{50}$ ) มีค่าเท่ากับ  $1 \times 10^{-6}$  M (ภาพที่ 23)

จากนั้นล้างเอาสารละลายของน้ำมันระเหยออกให้หมด incubate ประมาณ 1 ชั่วโมง เมื่อการหดตัวลดลงถึง base line และคงที่แล้วก็ทำการทดลองต่อโดยการให้สารละลายของ atropine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-7}$  M ก่อน 5 นาที หลังจากนั้นให้น้ำมันระเหยแบบผสมขนาดเช่นเดียวกับตอนแรก พบว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาวจะเปลี่ยนแปลงไปภายหลังจากให้ atropine โดยการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาวจะมีความเปลี่ยนแปลงเมื่อเทียบกับก่อนให้ atropine ดังนี้ -1.23 %, -1.82 %, -6.11 %, -10.91 %, -13.76 %, -20.78 % และ -15.25 % ตามลำดับจะเห็นว่าภายหลังจากให้สารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  M การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารส่วน fundus



ของหนูขาวที่ได้รับสารละลายของน้ำมันระเหยที่ทุกความเข้มข้นจะมีการหดตัวลดลงกว่าก่อนได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  M ความเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนี้เมื่อนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้ one way ANOVA แล้วพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับก่อนได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  M ที่ความเข้มข้น  $2 \times 10^{-4}$ ,  $4 \times 10^{-4}$ ,  $8 \times 10^{-4}$ ,  $1.6 \times 10^{-3}$  และ  $3.2 \times 10^{-3}$  % v/v (ภาพที่ 25)

จากนั้นล้างเอาสารละลายของน้ำมันระเหยออกให้หมด incubate ประมาณ 1 ชั่วโมง เมื่อการหดตัวลดลงถึง base line และคงที่แล้วก็จึงทำการทดลองต่อโดยการให้สารละลายของ atropine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-6}$  M ก่อน 5 นาที หลังจากนั้นให้น้ำมันระเหยแบบผสมขนาดเช่นเดียวกับตอนแรก พบว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาวจะเปลี่ยนแปลงไปภายหลังจากให้ atropine โดยการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาวจะมีความเปลี่ยนแปลงเมื่อเทียบกับก่อนให้ atropine ดังนี้ +0.12 %, -2.90 %, -3.88 %, -8.31 %, -9.34 %, -8.45 % และ -8.45 % ตามลำดับจะเห็นว่าภายหลังจากให้สารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-6}$  M การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาวที่ได้รับสารละลายของน้ำมันระเหยที่ทุกความเข้มข้นจะมีการหดตัวลดลงกว่าก่อนได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-6}$  M ยกเว้นที่ความเข้มข้น  $5 \times 10^{-5}$  % v/v เท่านั้นที่เพิ่มขึ้น ความเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนี้เมื่อนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้ one way ANOVA แล้วพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับก่อนได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-6}$  M ที่ความเข้มข้น  $8 \times 10^{-4}$  % v/v (ภาพที่ 26)

**การทดลองที่ 3** การศึกษาผลของน้ำมันระเหยจากใบของต้นหัสศุนใหญ่ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมของหนูตะเภาที่แยกออกจากกาย (n=8)

3.1 ศึกษาผลของตัวทำละลาย (0.1 % tween60 ในน้ำ) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมของหนูตะเภา

เมื่อกกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมของหนูตะเภามีการหดตัวคงที่แล้ว ให้สารละลาย 0.1 % tween 60 ในน้ำขนาด 10  $\mu$ l ติดต่อกัน 7 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 1 นาที ซึ่งเท่ากับปริมาตรตัวทำละลายของน้ำมันระเหยที่ใช้ในการศึกษา หลังจากการทดลองพบว่าตัวทำละลายที่ให้ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมของหนูตะเภาในทุกความเข้มข้นของตัวทำละลาย (ภาพที่ 27)

3.2 ศึกษาผลของ MCh ( $1 \times 10^{-8}$  -  $1 \times 10^{-4}$  M) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมของหนูตะเภา และเมื่อให้ร่วมกับ atropine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-7}$  และ  $1 \times 10^{-6}$  M

เมื่อกกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมของหนูตะเภามีการหดตัวคงที่แล้ว ให้สารละลายของ MCh แบบสะสมขนาด  $1 \times 10^{-8}$ ,  $1 \times 10^{-7}$ ,  $1 \times 10^{-6}$ ,  $1 \times 10^{-5}$  และ  $1 \times 10^{-4}$  M พบว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมของหนูตะเภาจะเพิ่มขึ้นตามขนาดสารละลาย MCh ที่เพิ่มขึ้นคือจาก 0 % เป็น 2.53 %, 13.93 %, 40.68 %, 74.41 % และ 100 % ตามลำดับ (ภาพที่ 27)

จากนั้นล้างเอาสารละลายของ MCh ออกให้หมด incubate ประมาณ 1 ชั่วโมง เมื่อการหดตัวลดลงถึง base line และคงที่แล้วก็ทำการทดลองต่อโดยการให้สารละลายของ atropine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-7}$  M ก่อน 5 นาที หลังจากนั้นให้ MCh แบบสะสมขนาดเช่นเดียวกับตอนแรก พบว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมของหนูตะเภาจะเปลี่ยนแปลงไปภายหลังจากให้ atropine โดยการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบจะมีความเปลี่ยนแปลงเมื่อเทียบกับก่อนให้ atropine ดังนี้ -2.78 %, -12.59 %, -34.82 %, -47.82 % และ -50.30 % ตามลำดับจะเห็นว่าภายหลังจากให้สารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  M การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมของหนูตะเภาที่ได้รับสารละลายของ MCh แบบสะสมขนาดจะมีการหดตัวลดลงกว่าก่อนได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  M ความเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนี้เมื่อนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้ one way ANOVA แล้วพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับก่อนได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  M (ภาพที่ 28)

จากนั้นล้างเอาสารละลายของ MCh ออกให้หมด incubate ประมาณ 1 ชั่วโมง เมื่อการหดตัวลดลงถึง base line และคงที่แล้วก็ทำการทดลองต่อโดยการให้สารละลายของ atropine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-6}$  M ก่อน 5 นาที หลังจากนั้นให้ MCh แบบสะสมขนาดเช่นเดียวกับตอนแรก พบว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมของหนูตะเภาจะเปลี่ยนแปลงไปภายหลังจากให้ atropine โดยการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบจะมีความเปลี่ยนแปลงเมื่อเทียบกับก่อนให้ atropine ดังนี้ -2.91 %, -12.29 %, -40.40 %, -71.04 % และ -78.30 % ตามลำดับจะเห็นว่าภายหลังจากให้สารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-6}$  M การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมของหนูตะเภาที่ได้รับสารละลายของ MCh แบบสะสมขนาดจะมีการหดตัวลดลงกว่าก่อนได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-6}$  M ความเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนี้เมื่อนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้ one way ANOVA แล้วพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับก่อนได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-6}$  M (ภาพที่ 28)

3.3 ศึกษาผลของน้ำมันระเหยที่ละลายใน 0.1 % tween60 ในน้ำ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ หลอดลมของหนูตะเภา และเมื่อให้ร่วมกับ atropine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-7}$  และ  $1 \times 10^{-6}$  M

เมื่อกกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมของหนูตะเภามีการหดตัวคงที่แล้ว ให้สารละลายของน้ำมันระเหยแบบผสมขนาด  $5 \times 10^{-5}$ ,  $1 \times 10^{-4}$ ,  $2 \times 10^{-4}$ ,  $4 \times 10^{-4}$ ,  $8 \times 10^{-4}$ ,  $1.6 \times 10^{-3}$  และ  $3.2 \times 10^{-3}$  % v/v พบว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมของหนูตะเภาเกิดการเปลี่ยนแปลงจาก 0 % เป็น 0.67 %, 2.48 %, 3.82 %, 5.70 %, 8.30 %, 11.63 % และ 15.78 % ตามลำดับ จะเห็นว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมของหนูตะเภาจะค่อยๆเพิ่มขึ้นจนมีการหดตัวสูงสุดที่ขนาด  $3.2 \times 10^{-3}$  % v/v การเพิ่มขึ้นนี้เมื่อนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้ one way ANOVA แล้วพบว่ามี ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการให้ตัวทำละลายเพียงอย่างเดียว (negative control) ที่ความเข้มข้น  $8 \times 10^{-4}$ ,  $1.6 \times 10^{-3}$  และ  $3.2 \times 10^{-3}$  % v/v ค่า ค่าความเข้มข้นของน้ำมันระเหยที่ทำให้เกิดการหดตัวเพิ่มขึ้น 50 % เมื่อเทียบกับสารละลายมาตรฐาน เทียบกับ สารละลาย MCh ( $EC_{50}$ ) ไม่สามารถหาค่าได้ (ภาพที่ 27)

จากนั้นล้างเอาสารละลายของน้ำมันระเหยออกให้หมด incubate ประมาณ 1 ชั่วโมง เมื่อ การหดตัวลดลงถึง base line และคงที่แล้วก็จึงทำการทดลองต่อโดยการให้สารละลายของ atropine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-7}$  M ก่อน 5 นาที หลังจากนั้นให้น้ำมันระเหยแบบผสมขนาดเช่นเดียวกับตอนแรก พบว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมของหนูตะเภาจะเปลี่ยนแปลงไป ภายหลังจากให้ atropine โดยการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมของหนูตะเภาจะมีความเปลี่ยนแปลงเมื่อเทียบกับก่อนให้ atropine ดังนี้ -0.97 %, -3.59 %, -5.78 %, -8.94 %, -12.05 %, -15.84 % และ -17.61 % ตามลำดับจะเห็นว่าภายหลังจากให้สารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  M การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมของหนูตะเภาที่ได้รับสารละลายของน้ำมันระเหยที่ ทุกความเข้มข้นจะมีการหดตัวลดลงกว่าก่อนได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  M ความเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนี้เมื่อนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้ one way ANOVA แล้วพบว่ามี ความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับก่อนได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  M (ภาพที่ 29)

จากนั้นล้างเอาสารละลายของน้ำมันระเหยออกให้หมด incubate ประมาณ 1 ชั่วโมง เมื่อ การหดตัวลดลงถึง base line และคงที่แล้วก็จึงทำการทดลองต่อโดยการให้สารละลายของ atropine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-6}$  M ก่อน 5 นาที หลังจากนั้นให้น้ำมันระเหยแบบผสมขนาดเช่นเดียวกับตอนแรก พบว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมของหนูตะเภาจะเปลี่ยนแปลงไป ภายหลังจากให้ atropine โดยการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมของหนูตะเภาจะมีความเปลี่ยนแปลงเมื่อเทียบกับก่อนให้ atropine ดังนี้ -1.05 %, -2.45 %, -4.63 %, -6.06 %, -8.30 %, -

-11.55 % และ -14.55 % ตามลำดับจะเห็นว่าภายหลังจากให้สารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-6}$  M การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมของหนูตะเภาที่ได้รับสารละลายของน้ำมันระเหยที่ทุกความเข้มข้นจะมีการหดตัวลดลงกว่าก่อนได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-6}$  M ความเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนี้เมื่อนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้ one way ANOVA แล้วพบว่ามีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับก่อนได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-6}$  M (ภาพที่ 30)

**การทดลองที่ 4** การศึกษาผลของน้ำมันระเหยจากใบของต้นหัสศุณใหญ่ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาวที่แยกออกจากกาย (n=8)

4.1 ศึกษาผลของตัวทำละลาย (0.1 % tween60 ในน้ำ) แบบผสมขนาดต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่

เมื่อหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาวมีการหดตัวครั้งที่แล้ว ให้สารละลาย 0.1 % tween 60 ในน้ำขนาด 10  $\mu$ l ติดต่อกัน 7 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 1 นาที ซึ่งเท่ากับปริมาตรตัวทำละลายของน้ำมันระเหยที่ใช้ในการศึกษา หลังจากการทดลองพบว่าตัวทำละลายที่ให้ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงการหดตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาวในทุกความเข้มข้นของตัวทำละลาย (ภาพที่ 31)

4.2 ศึกษาผลของ NE ( $1 \times 10^{-9}$ – $1 \times 10^{-5}$  M) แบบผสมขนาดต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ และเมื่อให้ร่วมกับ prazosin ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  และ  $1 \times 10^{-8}$

เมื่อกกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาวมีการหดตัวครั้งที่แล้ว ให้สารละลายของ NE แบบผสมขนาด  $1 \times 10^{-9}$ ,  $1 \times 10^{-8}$ ,  $1 \times 10^{-7}$ ,  $1 \times 10^{-6}$  และ  $1 \times 10^{-5}$  M พบว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาวจะเพิ่มขึ้นตามขนาดสารละลาย NE ที่เพิ่มขึ้นคือจาก 0 % เป็น 30.28 %, 67.13 %, 85.09 %, 96.20 % และ 100 % ตามลำดับ (ภาพที่ 31)

จากนั้นล้างเอาสารละลายของ NE ออกให้หมด incubate ประมาณ 1 ชั่วโมง เมื่อการหดตัวลดลงถึง base line และคงที่แล้วก็ทำการทดลองต่อโดยการให้สารละลายของ prazosin ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-8}$  M ก่อน 5 นาที หลังจากนั้นให้ NE แบบผสมขนาดเช่นเดียวกับตอนแรก พบว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาวจะเปลี่ยนแปลงไปภายหลังจากให้ prazosin โดยการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบจะมีความเปลี่ยนแปลงเมื่อเทียบกับก่อนให้ prazosin

ดังนี้ -37.47 %, -75.98 %, -73.99 %, -57.80 % และ -54.40 % ตามลำดับจะเห็นว่าภายหลัง จากให้สารละลาย prazosin ขนาด  $1 \times 10^{-8}$  M การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ ของหนูขาวที่ได้รับสารละลายของ NE แบบผสมขนาดจะมีการหดตัวลดลงกว่าก่อนได้รับสาร ละลาย prazosin ขนาด  $1 \times 10^{-8}$  M ความเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนี้เมื่อนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ โดยใช้ one way ANOVA แล้วพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับ ก่อนได้รับสารละลาย prazosin ขนาด  $1 \times 10^{-8}$  M (ภาพที่ 32)

จากนั้นล้างเอาสารละลายของ NE ออกให้หมด incubate ประมาณ 1 ชั่วโมง เมื่อการหด ตัวลดลงถึง base line และคงที่แล้วก็ทำการทดลองต่อโดยการให้สารละลายของ prazosin ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-7}$  M ก่อน 5 นาที หลังจากนั้นให้ NE แบบผสมขนาดเช่นเดียวกับตอนแรก พบ ว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาวจะเปลี่ยนแปลงไปภายหลังจากให้ atropine โดยการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบจะมีความเปลี่ยนแปลงเมื่อเทียบกับก่อนให้ prazosin ดังนี้ -34.68 %, -74.48 %, -92.04 %, -94.16 % และ -87.77 % ตามลำดับจะเห็นว่าภายหลัง จากให้สารละลาย prazosin ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  M การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ ของหนูขาวที่ได้รับสารละลายของ NE แบบผสมขนาดจะมีการหดตัวลดลงกว่าก่อนได้รับสาร ละลาย prazosin ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  M ความเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนี้เมื่อนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ โดยใช้ one way ANOVA แล้วพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับ ก่อนได้รับสารละลาย prazosin ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  M (ภาพที่ 32)

4.3 ศึกษาผลของน้ำมันระเหยที่ละลายใน 0.1 % tween60 ในน้ำ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ หลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว และเมื่อให้ร่วมกับ prazosin ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  และ  $1 \times 10^{-8}$  M

เมื่อกกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาวมีการหดตัวคงที่แล้ว ให้สารละลายของน้ำ มันระเหยแบบผสมขนาด  $5 \times 10^{-5}$ ,  $1 \times 10^{-4}$ ,  $2 \times 10^{-4}$ ,  $4 \times 10^{-4}$ ,  $8 \times 10^{-4}$ ,  $1.6 \times 10^{-3}$  และ  $3.2 \times 10^{-3}$  % v/v พบว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว เกิดการเปลี่ยนแปลงจาก 0 % เป็น 0.82 %, 6.17 %, 14.07 %, 19.55 %, 27.04 %, 35.26 % และ 47.03 % ตามลำดับ จะเห็น ว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาวจะค่อยๆเพิ่มขึ้นจนมีการหดตัวสูงสุดที่ ขนาด  $3.2 \times 10^{-3}$  % v/v การเพิ่มขึ้นนี้เมื่อนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้ one way ANOVA แล้ว พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการให้ตัวทำละลายเพียงอย่าง เดียว (negative control) ที่ความเข้มข้น  $8 \times 10^{-4}$ ,  $1.6 \times 10^{-3}$  และ  $3.2 \times 10^{-3}$  % v/v ค่าความเข้มข้น ของน้ำมันระเหยที่ทำให้เกิดการหดตัวเพิ่มขึ้น 50 % ( $EC_{50}$ ) มีค่าเท่ากับ  $1.28 \times 10^{-2}$  % v/v ค่า

ความเข้มข้นของ NE ที่ทำให้เกิดการหดตัวเพิ่มขึ้น 50 % ( $EC_{50}$ ) มีค่าเท่ากับ  $1 \times 10^{-7}$  M (ภาพที่ 31)

จากนั้นล้างเอาสารละลายของน้ำมันระเหยออกให้หมด incubate ประมาณ 1 ชั่วโมง เมื่อการหดตัวลดลงถึง base line และคงที่แล้วก็จึงทำการทดลองต่อโดยการให้สารละลายของ prazosin ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-8}$  M ก่อน 5 นาที หลังจากนั้นให้น้ำมันระเหยแบบผสมขนาดเช่นเดียวกับตอนแรก พบว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาวจะเปลี่ยนแปลงไปภายหลังจากให้ prazosin โดยการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาวจะมีความเปลี่ยนแปลงเมื่อเทียบกับก่อนให้ prazosin ดังนี้ -7.63 %, -12.45 %, -0.38 %, +7.41 %, +7.41 %, +9.74 % และ -7.66 % ตามลำดับจะเห็นว่าภายหลังจากให้สารละลาย prazosin ขนาด  $1 \times 10^{-8}$  M การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาวที่ได้รับสารละลายของน้ำมันระเหยมีการหดตัวลดลงเล็กน้อยในสามขนาดแรก จากนั้นจะเพิ่มขึ้นในสามขนาดต่อมาและจะลดลงอีกครั้งในขนาดสุดท้ายเมื่อเทียบกับก่อนได้รับสารละลาย prazosin ขนาด  $1 \times 10^{-8}$  M ความเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนี้เมื่อนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้ one way ANOVA แล้วพบว่ามีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับก่อนได้รับสารละลาย prazosin ขนาด  $1 \times 10^{-8}$  M (ภาพที่ 33)

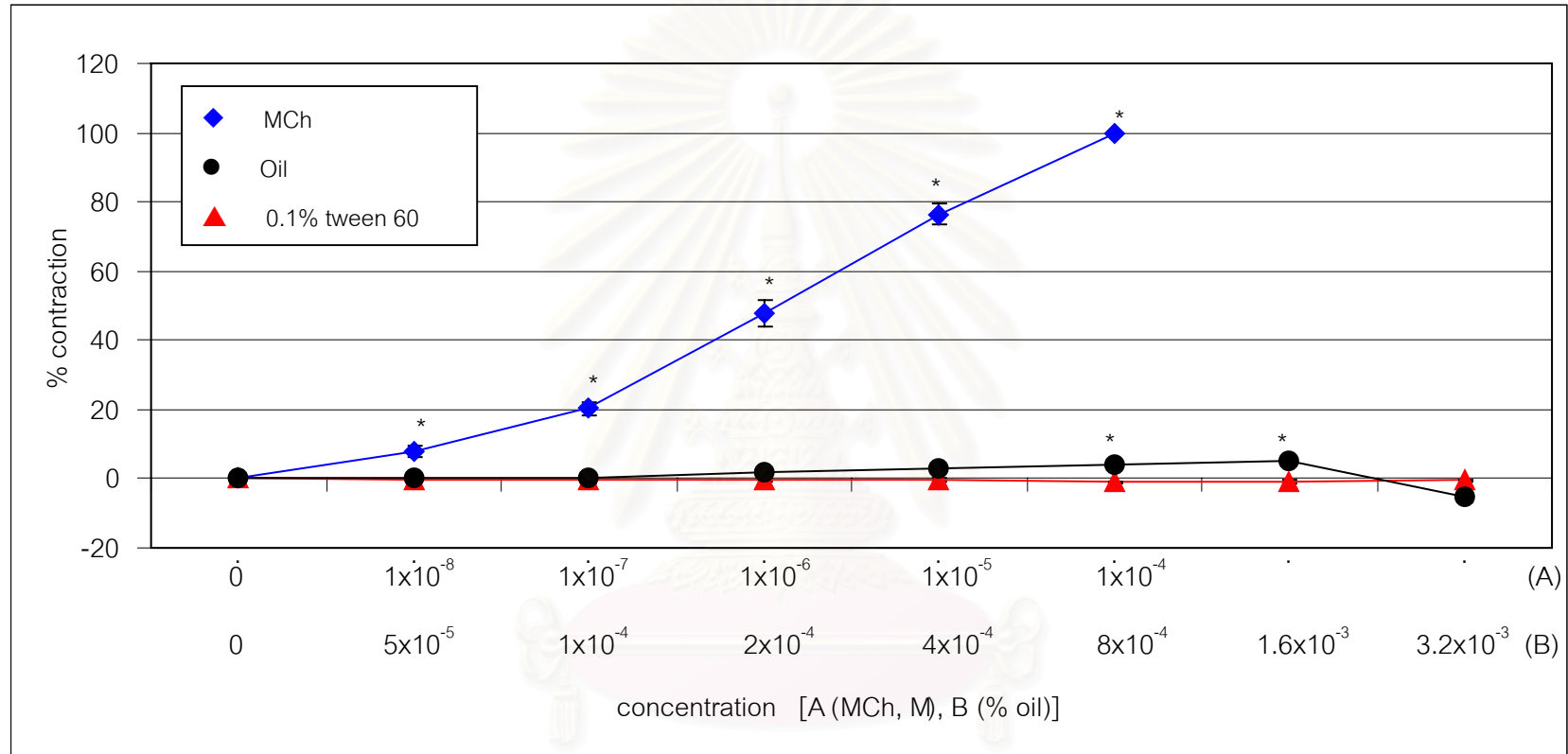
จากนั้นล้างเอาสารละลายของน้ำมันระเหยออกให้หมด incubate ประมาณ 1 ชั่วโมง เมื่อการหดตัวลดลงถึง base line และคงที่แล้วก็จึงทำการทดลองต่อโดยการให้สารละลายของ prazosin ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-7}$  M ก่อน 5 นาที หลังจากนั้นให้น้ำมันระเหยแบบผสมขนาดเช่นเดียวกับตอนแรก พบว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาวจะเปลี่ยนแปลงไปภายหลังจากให้ prazosin โดยการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาวจะมีความเปลี่ยนแปลงเมื่อเทียบกับก่อนให้ prazosin ดังนี้ +1.60 %, -5.84 %, -13.96 %, -24.18 %, -29.56 %, -35.35 % และ -48.41 % ตามลำดับจะเห็นว่าภายหลังจากให้สารละลาย prazosin ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  M การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาวที่ได้รับสารละลายของน้ำมันระเหยที่ทุกความเข้มข้นจะมีการหดตัวลดลงกว่าก่อนได้รับสารละลาย prazosin ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  M ยกเว้นที่ความเข้มข้นแรกเท่านั้นที่มีการหดตัวเพิ่มขึ้นแต่ก็ไม่มาก ความเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนี้เมื่อนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้ one way ANOVA แล้วพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับก่อนได้รับสารละลาย prazosin ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  M ที่ความเข้มข้น  $1.6 \times 10^{-3}$  และ  $3.2 \times 10^{-3}$  % v/v (ภาพที่ 34)

4.4 ศึกษาผลของน้ำมันระเหยที่ละลายใน 0.1 % tween60 ในน้ำ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ หลอดเลือดแดงใหญ่ ใน calcium free Krebs-Henseleit solution เพื่อดูผลของสารต่อ calcium ภายในเซลล์

เมื่อกกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาวที่ incubated ใน calcium free Krebs-Henseleit solution มีการหดตัวคงที่แล้ว ให้สารละลายของน้ำมันระเหยแบบผสมขนาด  $5 \times 10^{-5}$ ,  $1 \times 10^{-4}$ ,  $2 \times 10^{-4}$ ,  $4 \times 10^{-4}$ ,  $8 \times 10^{-4}$ ,  $1.6 \times 10^{-3}$  และ  $3.2 \times 10^{-3}$  % v/v พบว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาวจะเปลี่ยนแปลงไปจากการทดลองใน Krebs-Henseleit solution ดังนี้ +0.35 %, -3.38 %, -11.29 %, -16.40 %, -22.45 %, -28.55 % และ -41.40 % ตามลำดับ จะเห็นว่าการทดลองใน calcium free Krebs-Henseleit solution การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาวที่ได้รับสารละลายของน้ำมันระเหยที่ทุกความเข้มข้นจะมีการหดตัวลดลงกว่าการทดลองใน Krebs-Henseleit solution ยกเว้นที่ความเข้มข้นแรกเท่านั้นที่มีการหดตัวเพิ่มขึ้นแต่ก็ไม่มาก ความเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนี้เมื่อนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้ one way ANOVA แล้วพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองใน Krebs-Henseleit solution ที่ความเข้มข้น  $8 \times 10^{-4}$ ,  $1.6 \times 10^{-3}$  และ  $3.2 \times 10^{-3}$  % v/v (ภาพที่ 35)

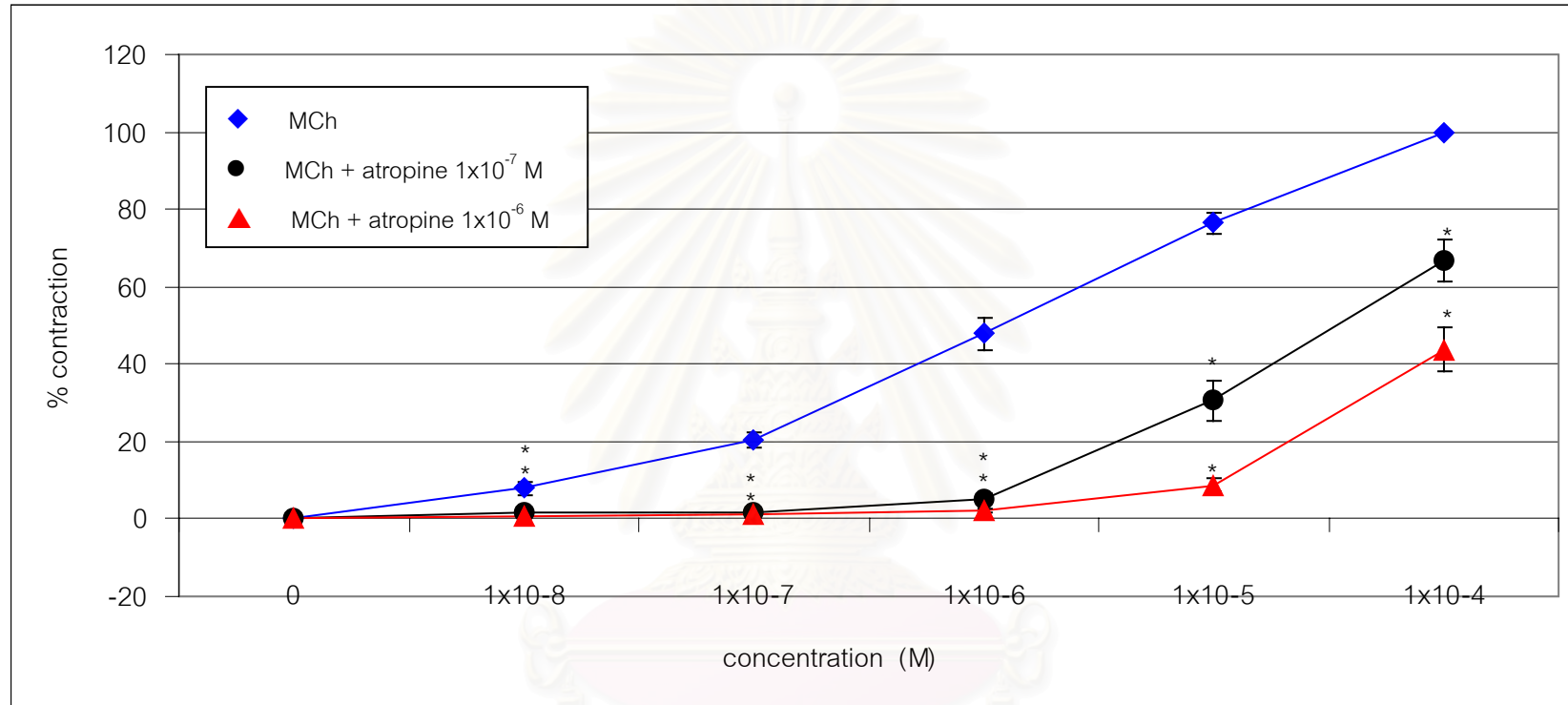
4.5 ศึกษาผลของน้ำมันระเหยที่ละลายใน 0.1 % tween60 ในน้ำ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ หลอดเลือดแดงใหญ่ และเมื่อให้ร่วมกับ verapamil  $1 \times 10^{-7}$  M

จากนั้นล้างเอาสารละลายของน้ำมันระเหยออกให้หมด incubate ประมาณ 1 ชั่วโมง เมื่อการหดตัวลดลงถึง base line และคงที่แล้วก็จึงทำการทดลองต่อโดยการให้สารละลายของ verapamil ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-7}$  M ก่อน 5 นาที หลังจากนั้นให้น้ำมันระเหยแบบผสมขนาดเช่นเดียวกับตอนแรก พบว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาวจะเปลี่ยนแปลงไปภายหลังจากให้ verapamil โดยการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาวจะมีความเปลี่ยนแปลงเมื่อเทียบกับก่อนให้ verapamil ดังนี้ -1.46 %, -5.57 %, -12.86 %, -16.50 %, -23.80 %, -31.21 % และ -44.73 % ตามลำดับจะเห็นว่าภายหลังจากให้สารละลาย verapamil ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  M การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาวที่ได้รับสารละลายของน้ำมันระเหยที่ทุกความเข้มข้นจะมีการหดตัวลดลงกว่าก่อนได้รับสารละลาย verapamil ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  M ความเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนี้เมื่อนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้ one way ANOVA แล้วพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับก่อนได้รับสารละลาย verapamil ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  M ที่ความเข้มข้น  $8 \times 10^{-4}$ ,  $1.6 \times 10^{-3}$  และ  $3.2 \times 10^{-3}$  % v/v (ภาพที่ 36)



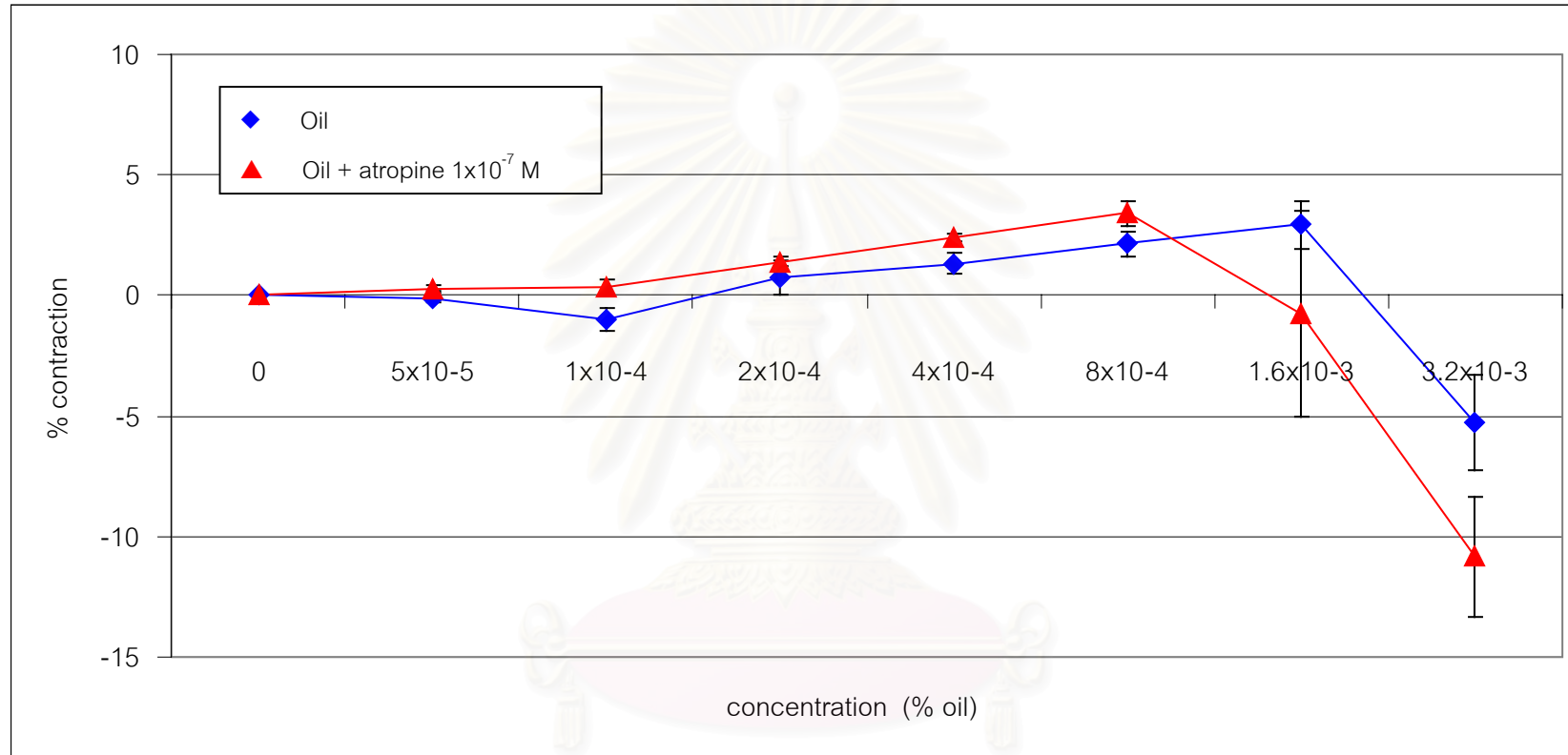
ภาพที่ 15 แสดงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน jejunum ของกระต่ายเมื่อได้รับ (●) สารละลายของน้ำมันระเหยแบบผสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$  –  $3.2 \times 10^{-3}$ % oil) เปรียบเทียบกับเมื่อได้รับ (◆) สารละลายของ MCh ( $1 \times 10^{-8}$  -  $1 \times 10^{-4}$  M) และ (▲) ตัวทำละลายอย่างเดียว (n=8)  
 (\*) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเปรียบเทียบที่ลำดับการให้เดียวกันกับการให้ตัวทำละลายอย่างเดียว ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ( $p < 0.05$ )



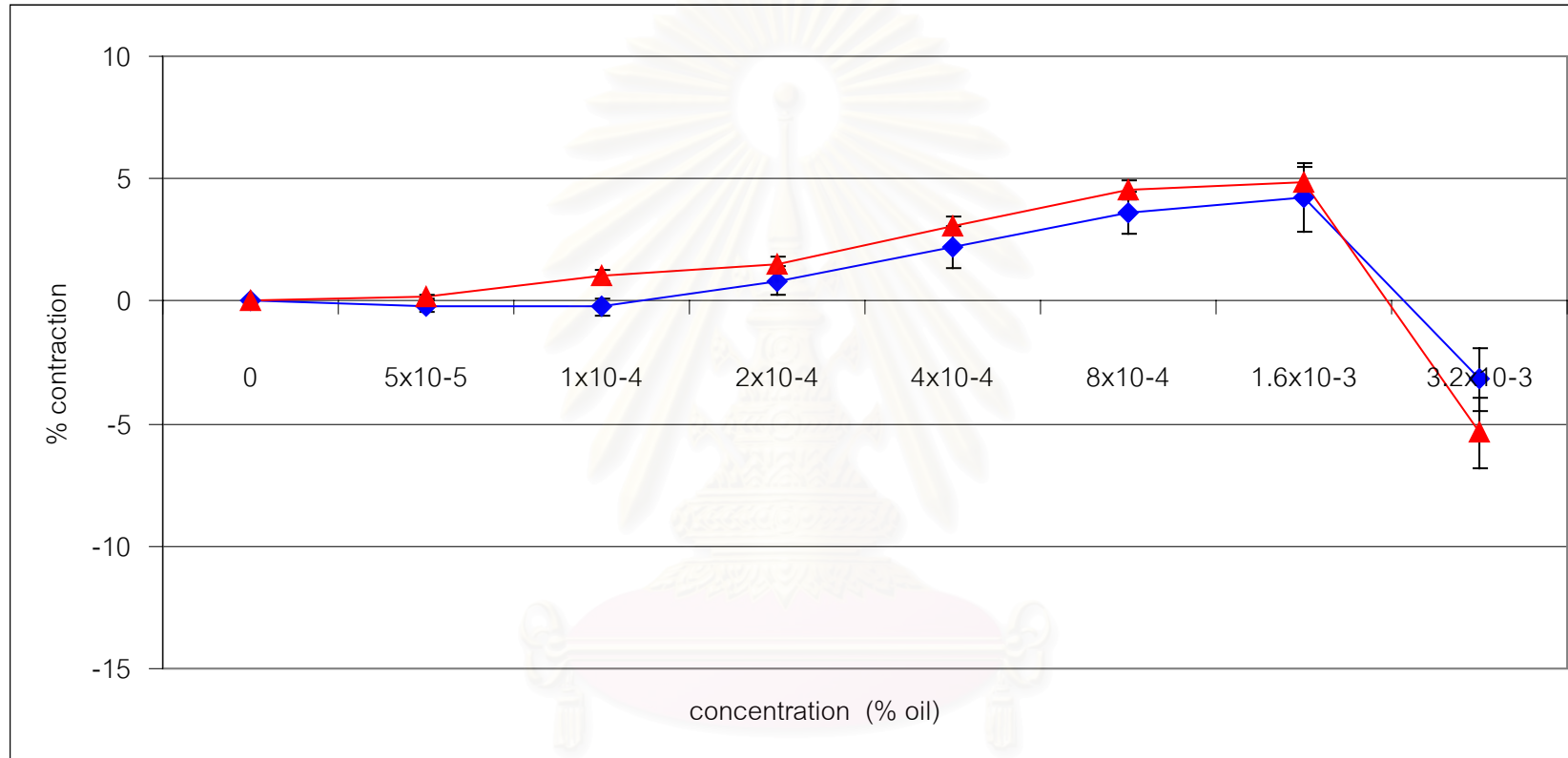


ภาพที่ 16 แสดงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน jejunum ของกระต่ายเมื่อได้รับ (◆) สารละลายของ MCh ( $1 \times 10^{-8}$  -  $1 \times 10^{-4}$  M) เปรียบเทียบกับเมื่อ (●) ได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  M หรือ (▲)  $1 \times 10^{-6}$  M (n=8)

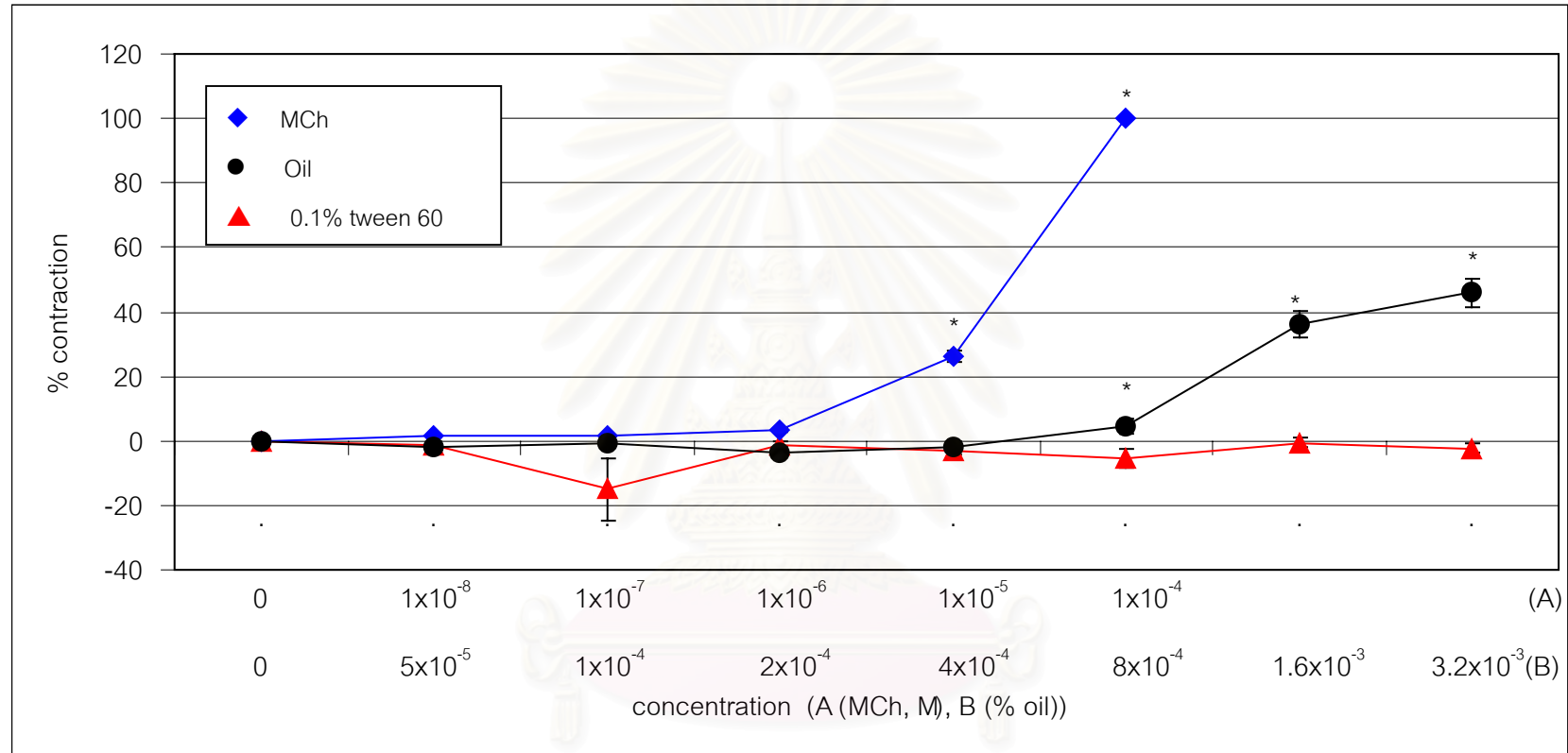
(\*) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเปรียบเทียบที่ความเข้มข้นเดียวกันกับการให้สารละลายของ MCh เพียงอย่างเดียว ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ( $p < 0.05$ )



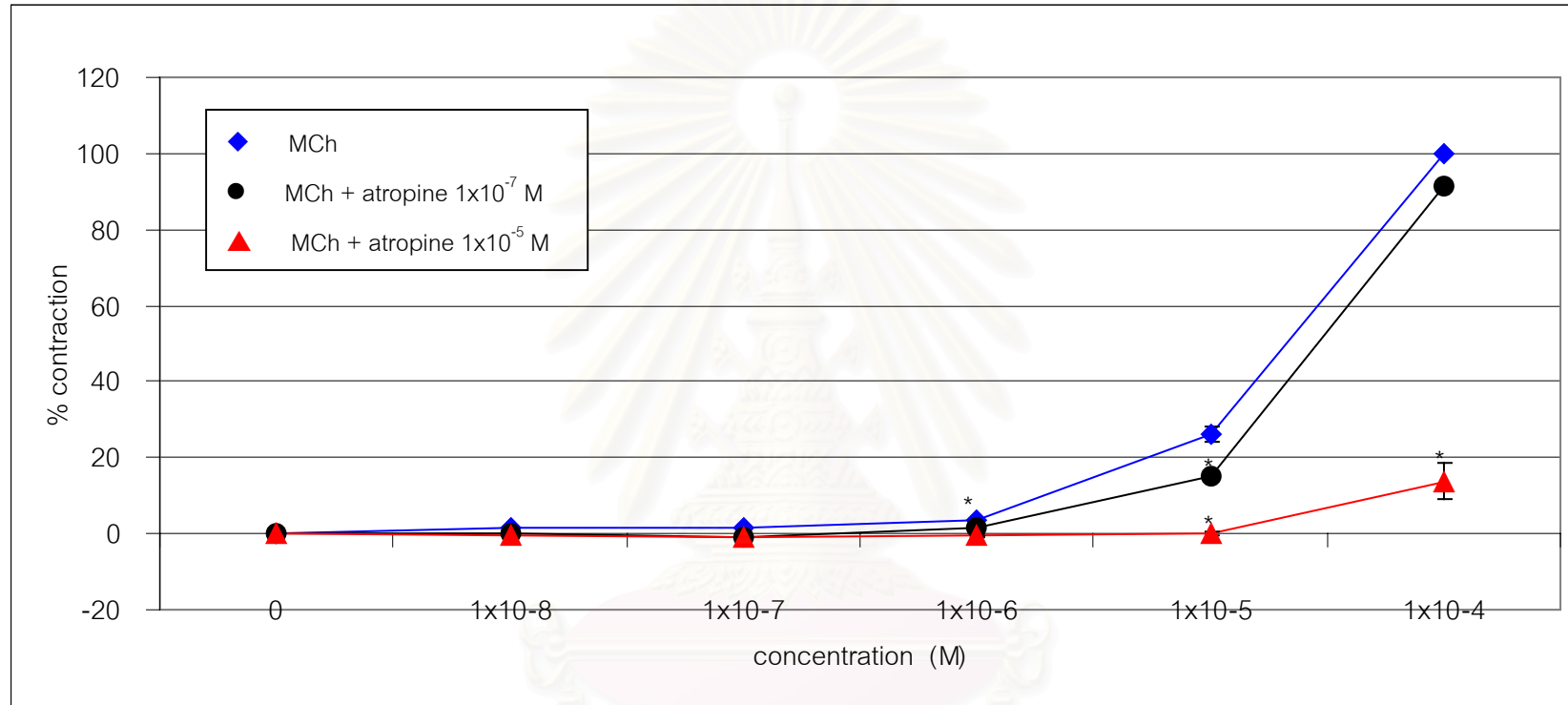
ภาพที่ 17 แสดงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน jejunum ของกระต่ายเมื่อได้รับสารละลายของน้ำมันระเหยแบบผสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$  –  $3.2 \times 10^{-3}$  % oil) เปรียบเทียบระหว่าง (▲) ได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  M กับ (◆) ไม่ได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  M (n=8)



ภาพที่ 18 แสดงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน jejunum ของกระต่ายเมื่อได้รับสารละลายของน้ำมันระเหยแบบผสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$  –  $3.2 \times 10^{-3}$  % oil) เปรียบเทียบระหว่าง (▲) ได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-6}$  M กับ (◆) ไม่ได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-6}$  M (n=8)

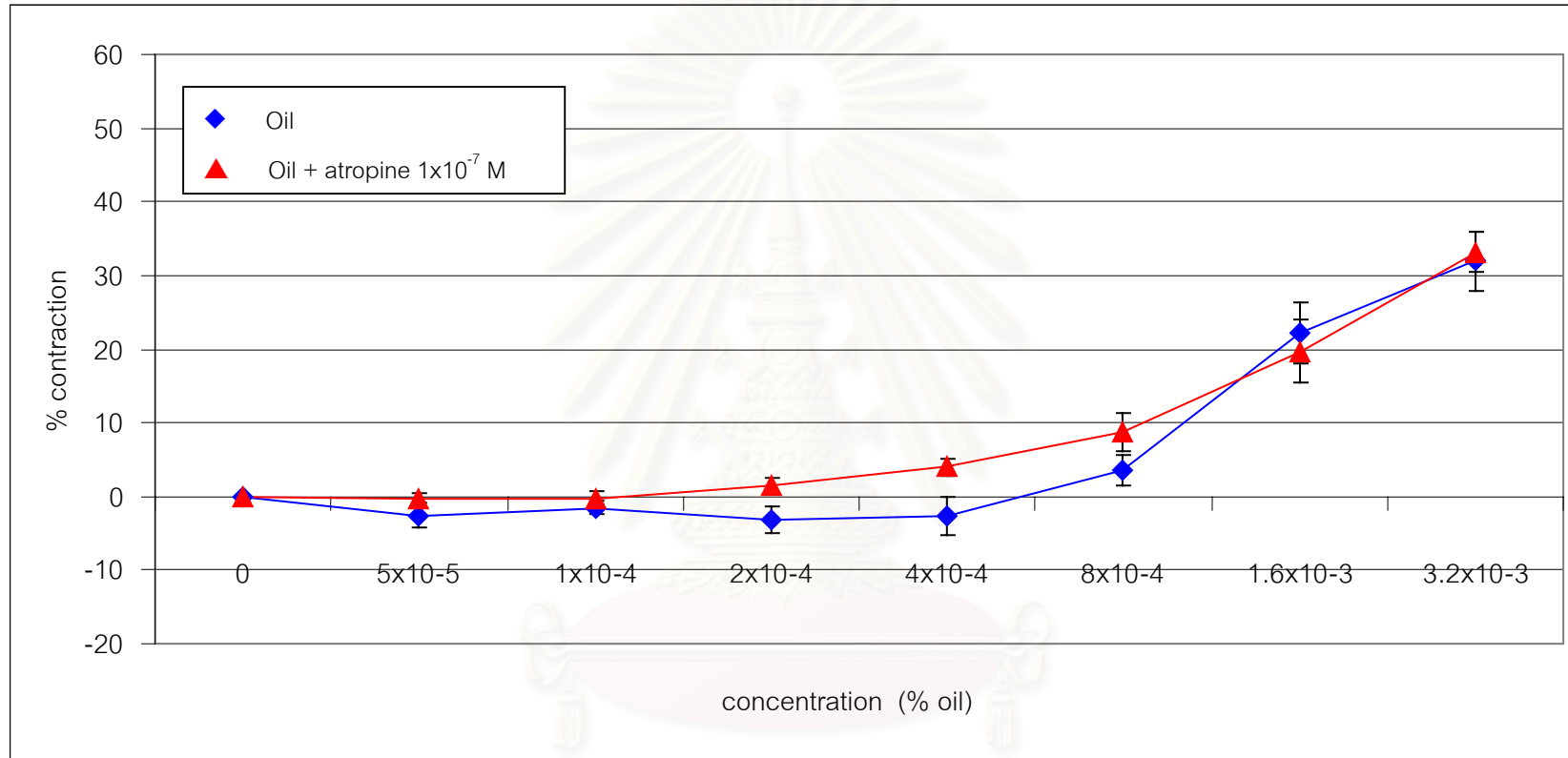


ภาพที่ 19 แสดงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภาเมื่อได้รับ (●) สารละลายของน้ำมันระเหยแบบผสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$  –  $3.2 \times 10^{-3}$  % oil) เปรียบเทียบกับเมื่อได้รับ (◆) สารละลายของ MCh ( $1 \times 10^{-8}$  -  $1 \times 10^{-4}$  M) และ (▲) ตัวทำละลายอย่างเดียว (n=8)  
 (\*) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเปรียบเทียบที่ลำดับการให้เดียวกันกับการให้ตัวทำละลายอย่างเดียว ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (p<0.05)

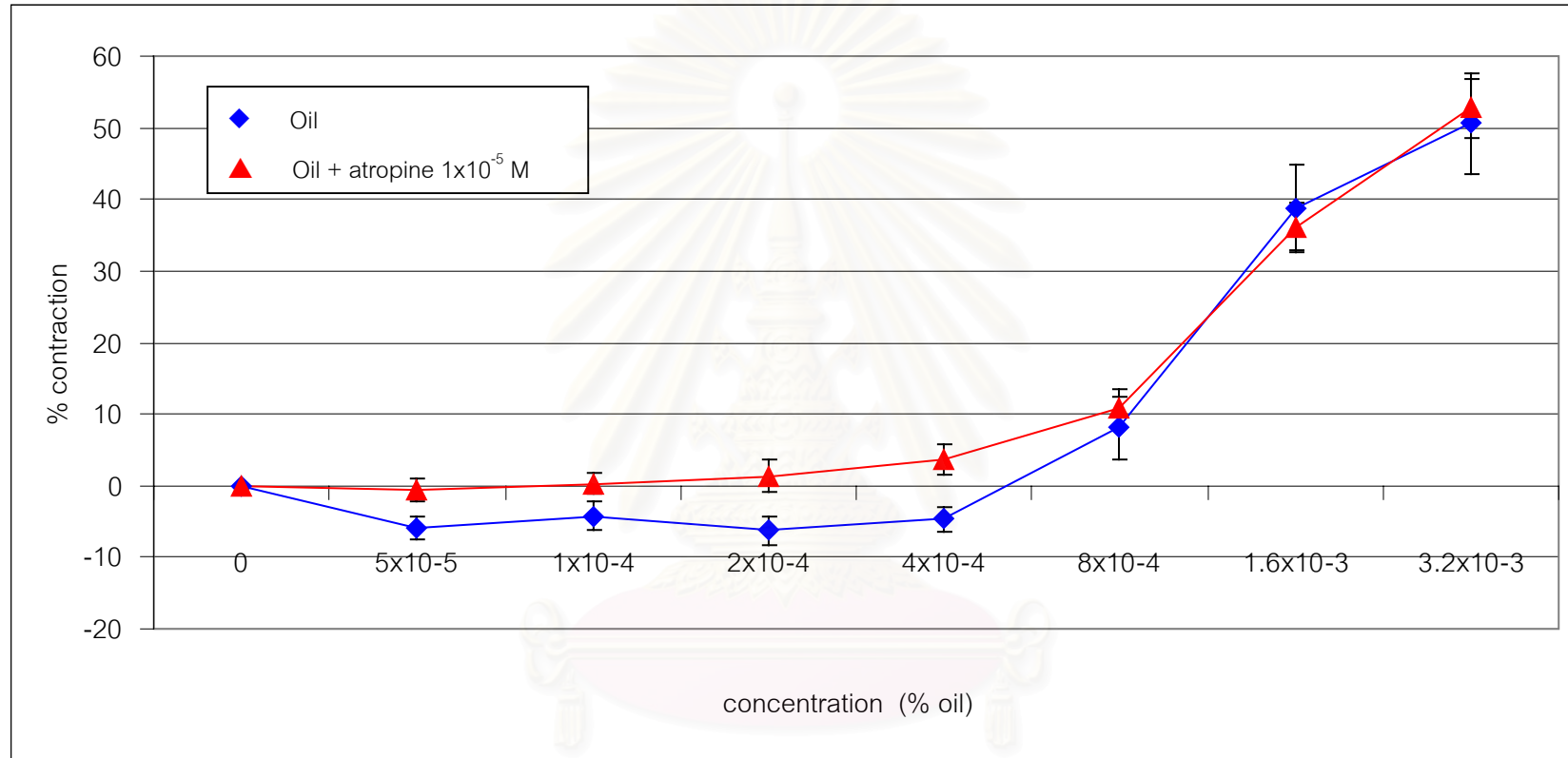


ภาพที่ 20 แสดงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภาเมื่อได้รับ (◆) สารละลายของ MCh ( $1 \times 10^{-8}$  -  $1 \times 10^{-4}$  M) เปรียบเทียบกับเมื่อ (●) ได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  M หรือ (▲)  $1 \times 10^{-5}$  M (n=8)

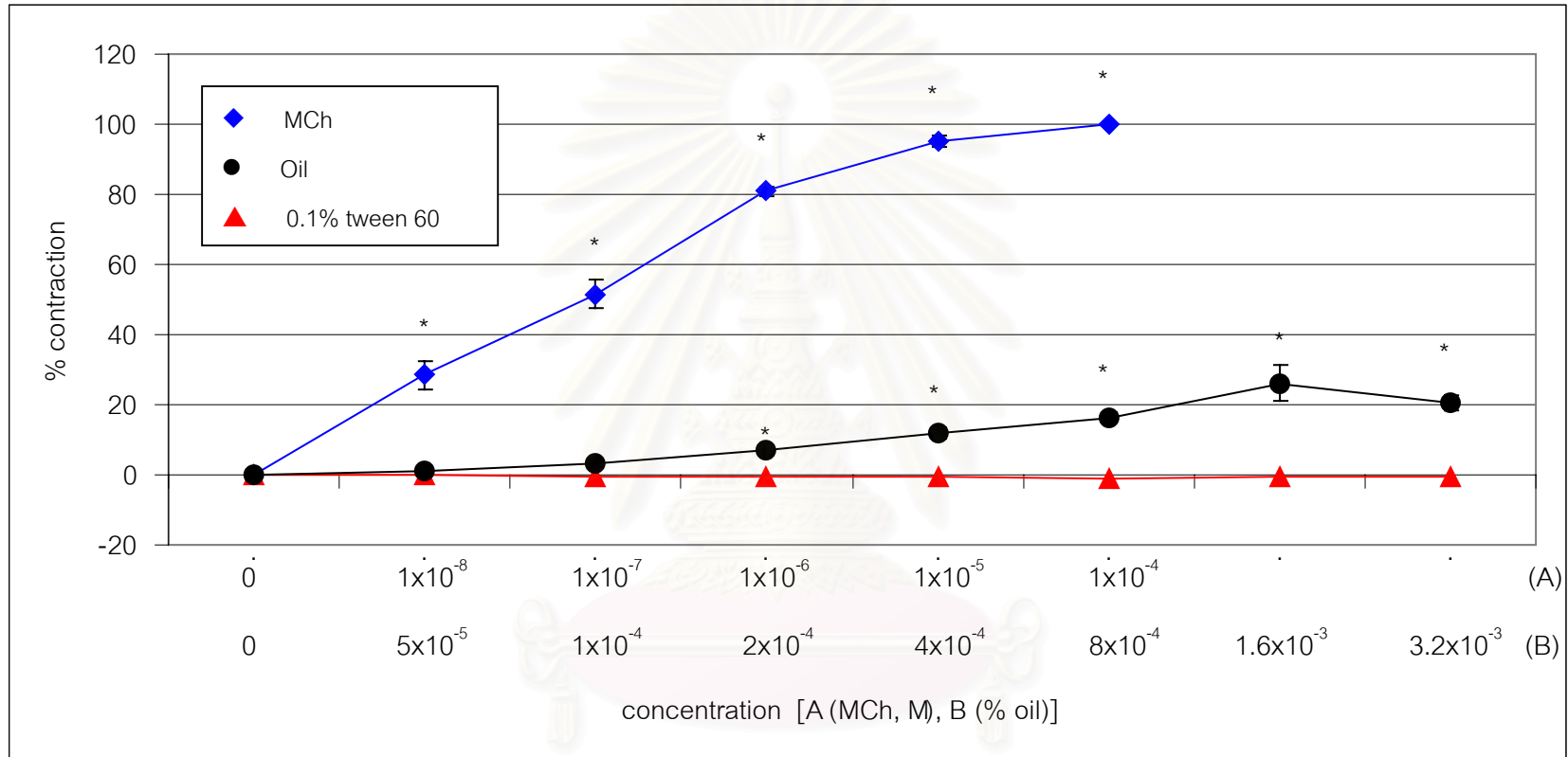
(\*) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเปรียบเทียบที่ความเข้มข้นเดียวกันกับการให้สารละลายของ MCh เพียงอย่างเดียว ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ( $p < 0.05$ )



ภาพที่ 21 แสดงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภาเมื่อได้รับสารละลายของน้ำมันระเหยแบบผสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$  –  $3.2 \times 10^{-3}$  % oil) เปรียบเทียบระหว่าง (▲) ได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  M กับ (◆) ไม่ได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  M (n=8)

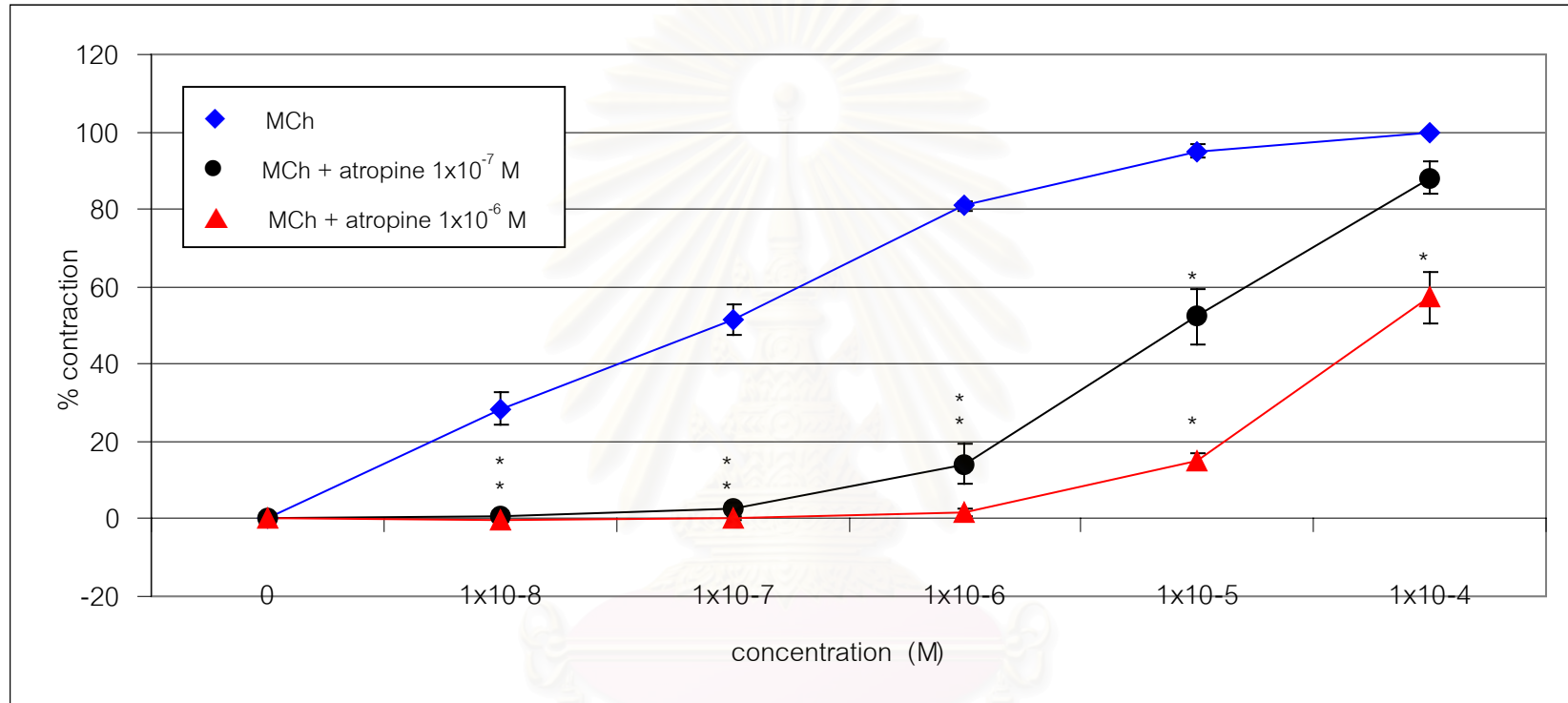


ภาพที่ 22 แสดงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภาเมื่อได้รับสารละลายของน้ำมันระเหยแบบผสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$  -  $3.2 \times 10^{-3}$  % v/v) เปรียบเทียบระหว่าง (▲) ได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-5}$  M กับ (◆) ไม่ได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-5}$  M (n=8)



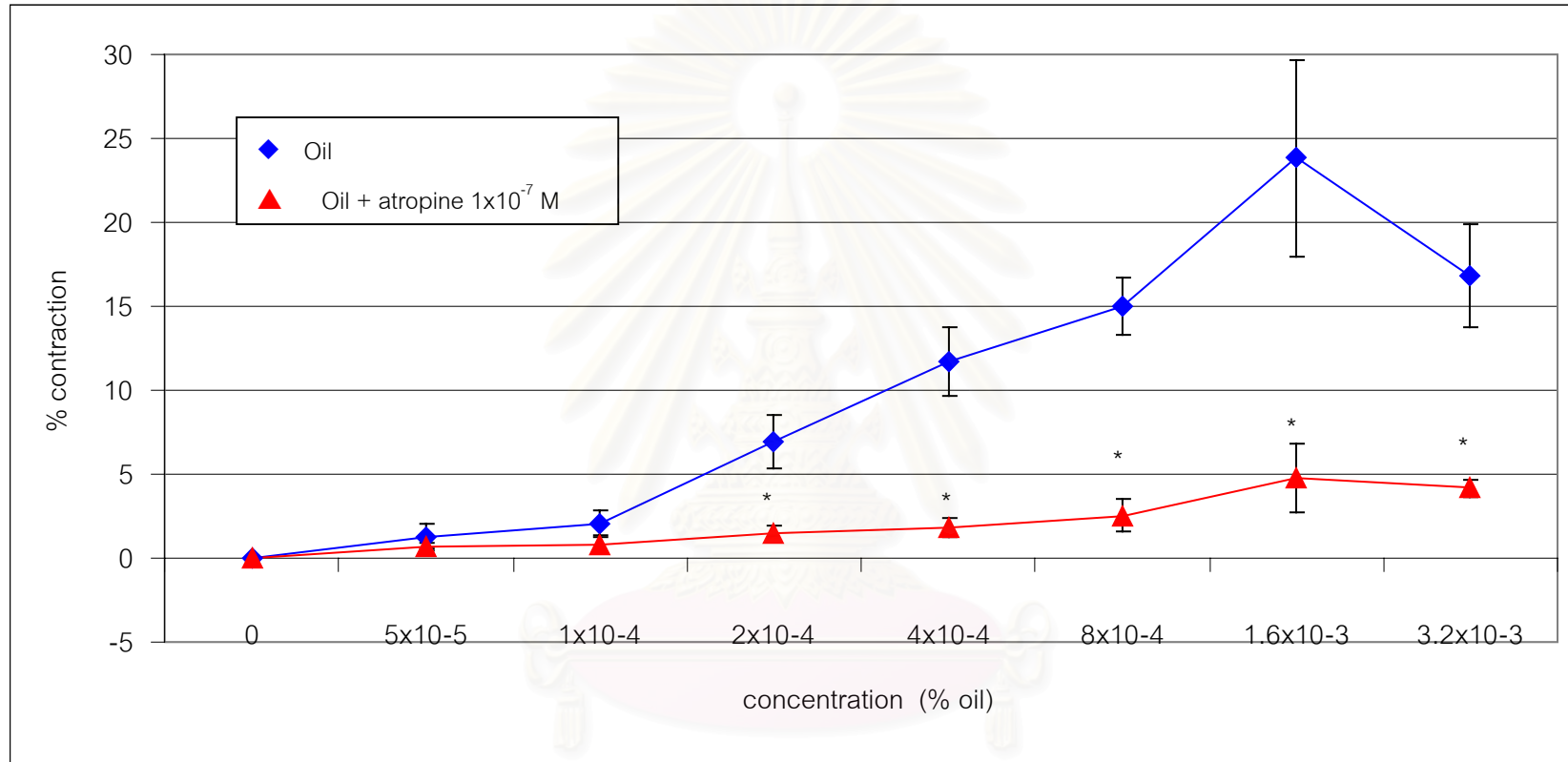
ภาพที่ 23 แสดงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาวเมื่อได้รับ (●) สารละลายของน้ำมันระเหยแบบผสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$  –  $3.2 \times 10^{-3}$  % oil) เปรียบเทียบกับเมื่อได้รับ (◆) สารละลายของ MCh ( $1 \times 10^{-8}$  -  $1 \times 10^{-4}$  M) และ (▲) ตัวทำละลายอย่างเดียว (n=8) (\* ) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเปรียบเทียบที่ลำดับการให้เดียวกันกับการให้ตัวทำละลายอย่างเดียว ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (p<0.05)



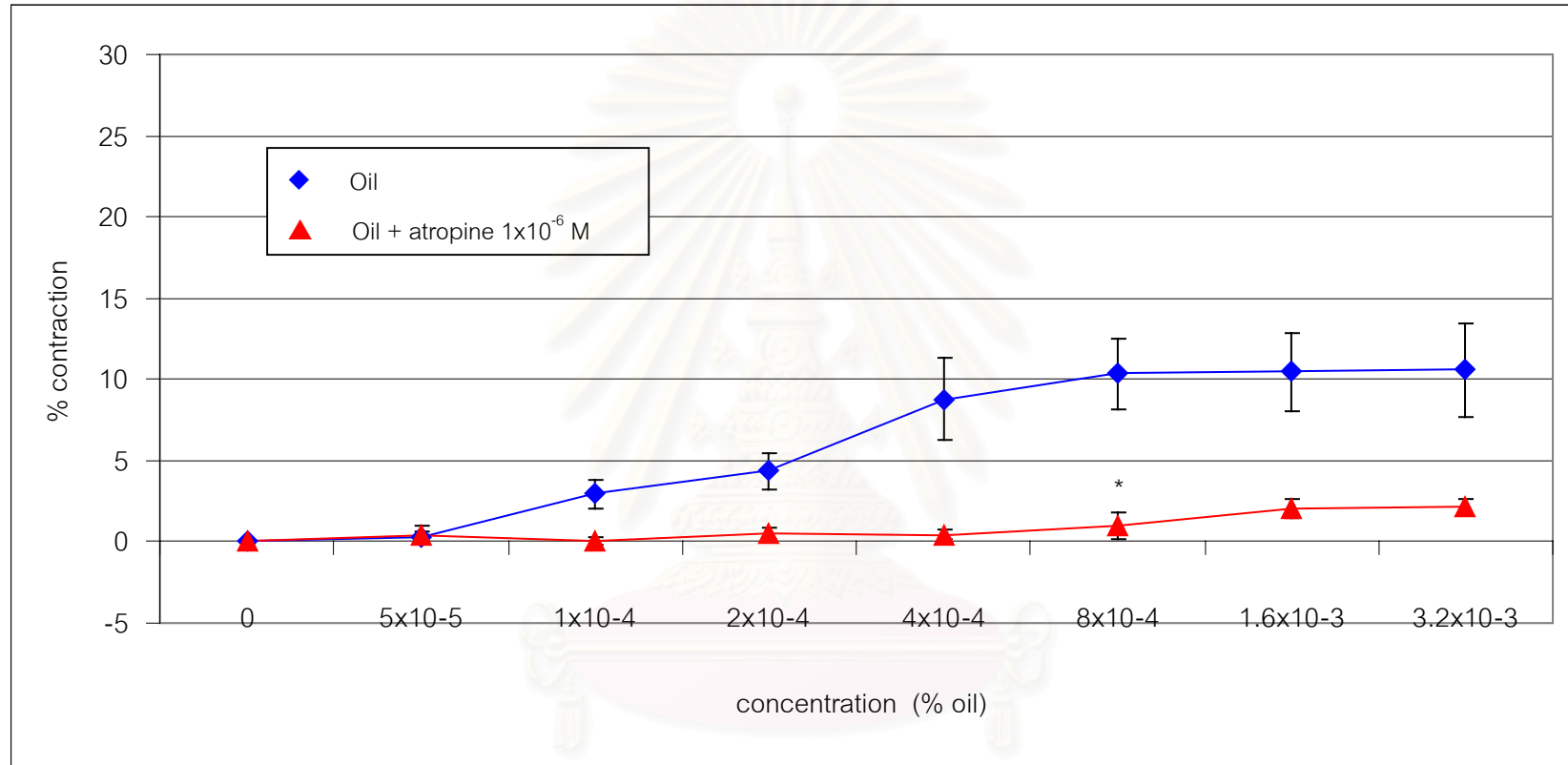


ภาพที่ 24 แสดงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาวเมื่อได้รับ (◆) สารละลายของ MCh ( $1 \times 10^{-8}$  -  $1 \times 10^{-4}$  M) เปรียบเทียบกับเมื่อ (●) ได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  M หรือ (▲)  $1 \times 10^{-6}$  M (n=8)

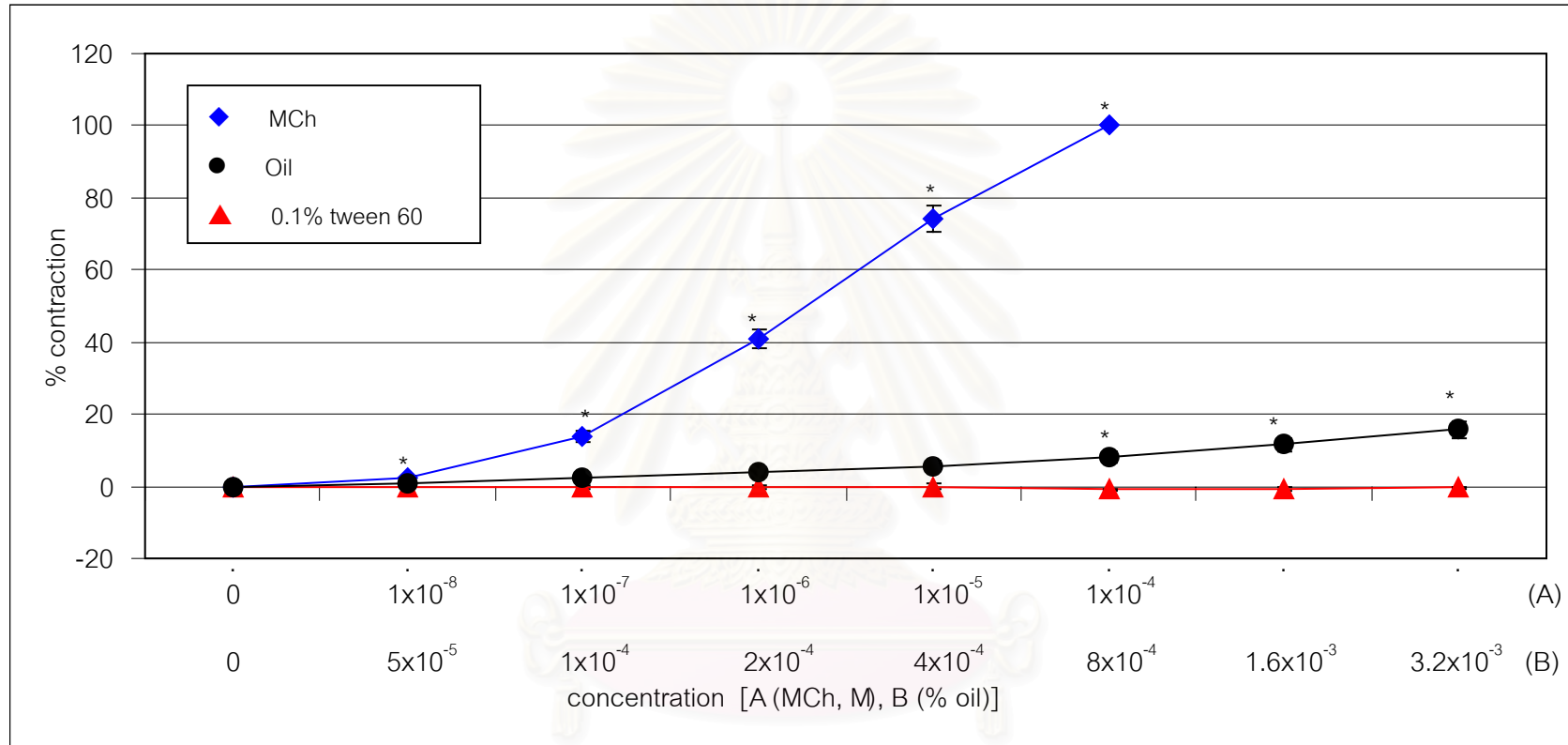
(\*) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเปรียบเทียบที่ความเข้มข้นเดียวกันกับการให้สารละลายของ MCh เพียงอย่างเดียว ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (p<0.05)



ภาพที่ 25 แสดงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาวเมื่อได้รับสารละลายของน้ำมันระเหยแบบผสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$  –  $3.2 \times 10^{-3}$  % oil) เปรียบเทียบระหว่าง (▲) ได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  M กับ (◆) ไม่ได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  M (n=8) (\*) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเปรียบเทียบที่ความเข้มข้นเดียวกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ( $p < 0.05$ )

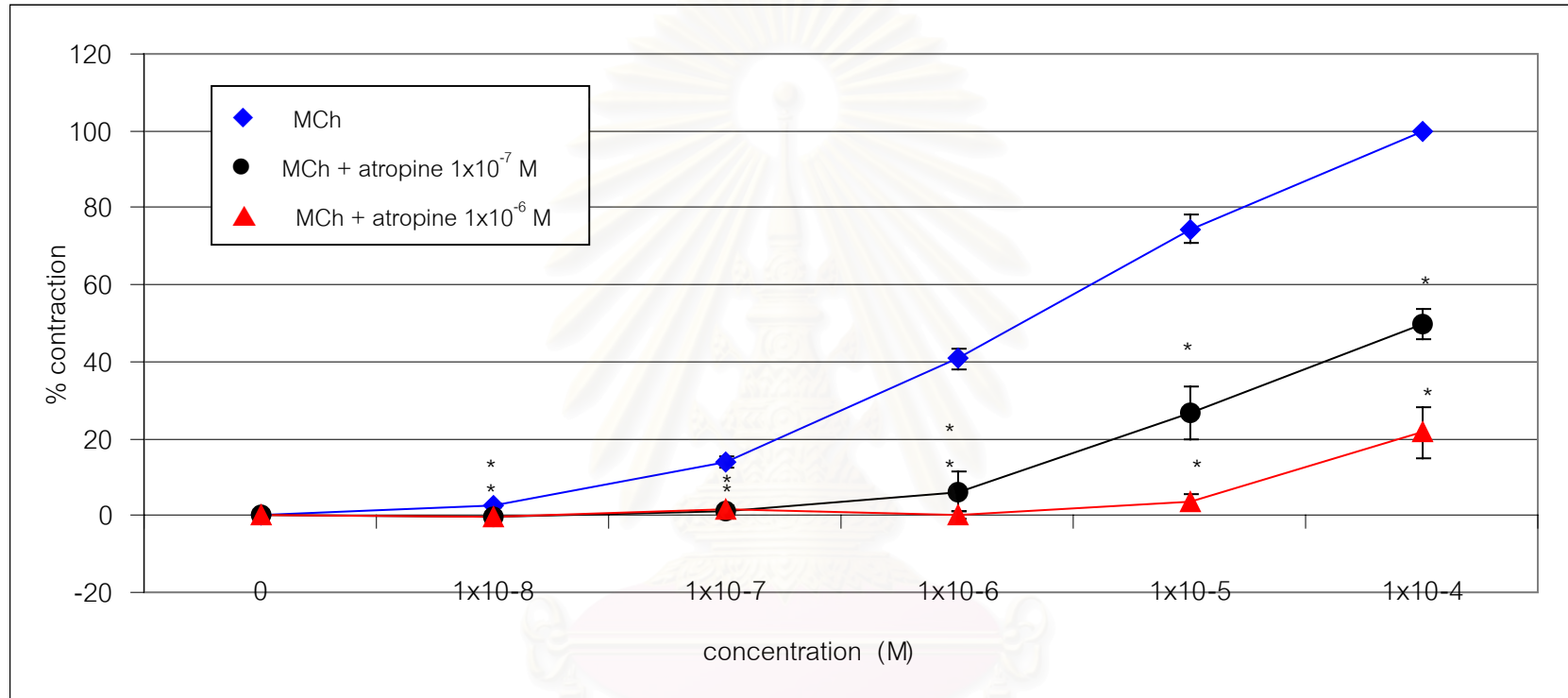


ภาพที่ 26 แสดงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาวเมื่อได้รับสารละลายของน้ำมันระเหยแบบผสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$  –  $3.2 \times 10^{-3}$  % v/v) เปรียบเทียบระหว่าง (▲) ได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-6}$  M กับ (◆) ไม่ได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-6}$  M (n=8)  
 (\*) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเปรียบเทียบที่ความเข้มข้นเดียวกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ( $p < 0.05$ )



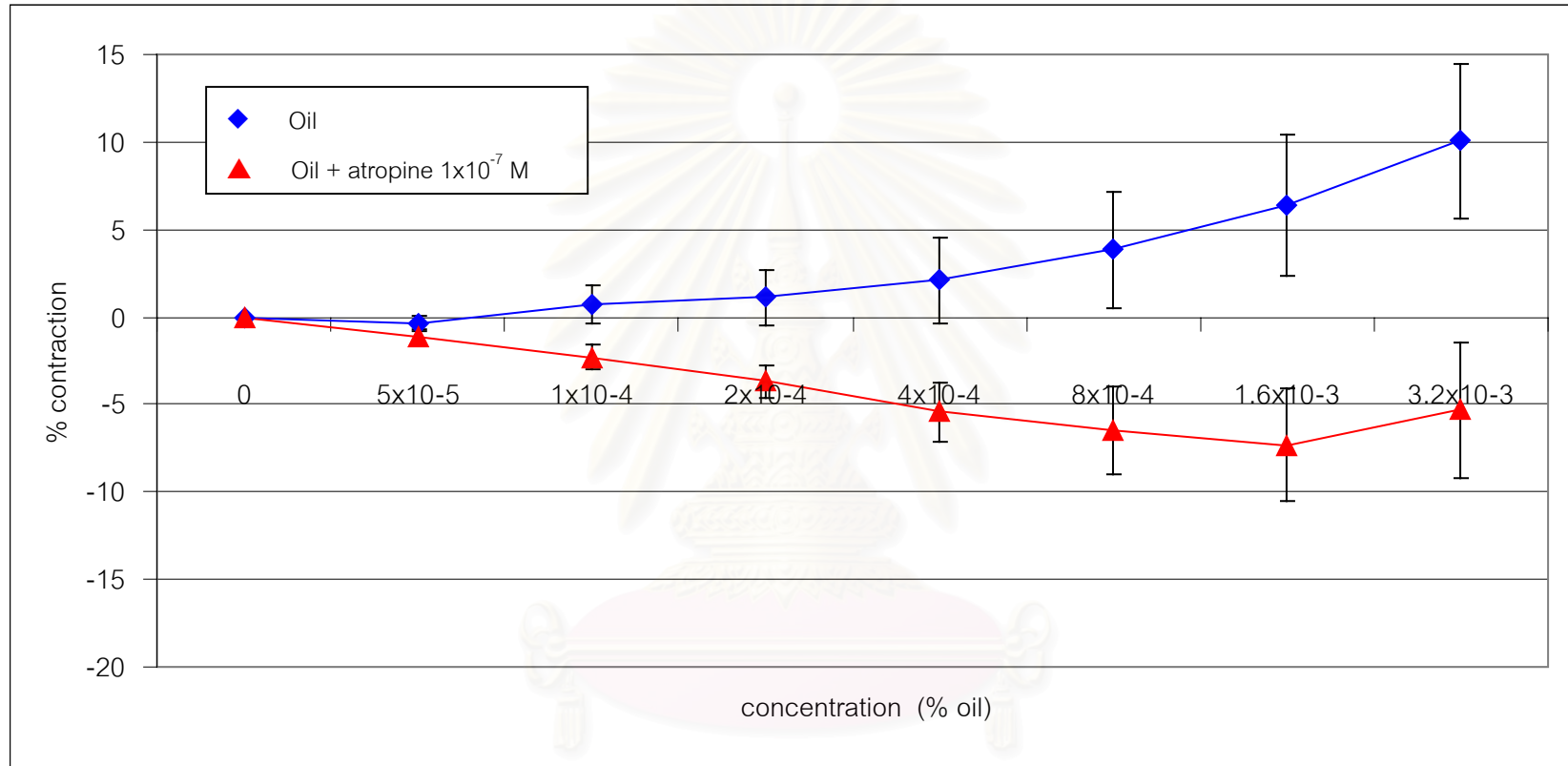
ภาพที่ 27 แสดงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมของหนูตะเภาเมื่อได้รับ (●) สารละลายของน้ำมันระเหยแบบผสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$  –  $3.2 \times 10^{-3}$  % oil) เปรียบเทียบกับเมื่อได้รับ (◆) สารละลายของ MCh ( $1 \times 10^{-8}$  -  $1 \times 10^{-4}$  M) และ (▲) ตัวทำละลายอย่างเดียว (n=8)

(\*) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเปรียบเทียบที่ลำดับการให้เดียวกันกับการให้ตัวทำละลายอย่างเดียว ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ( $p < 0.05$ )

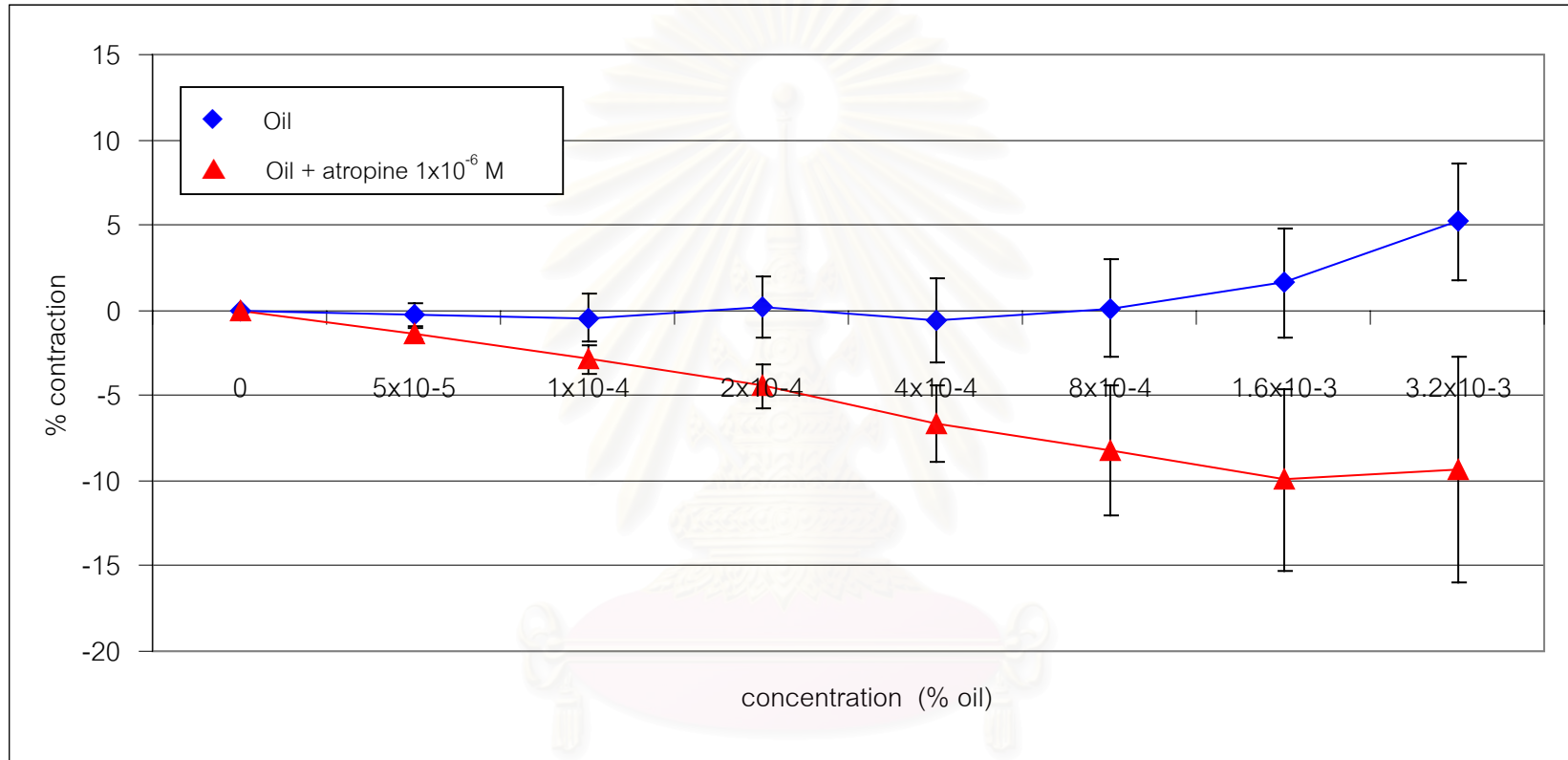


ภาพที่ 28 แสดงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมของหนูตะเภาเมื่อได้รับ (◆) สารละลายของ MCh ( $1 \times 10^{-8}$  -  $1 \times 10^{-4}$  M) เปรียบเทียบกับเมื่อ (●) ได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  M หรือ (▲)  $1 \times 10^{-6}$  M (n=8)

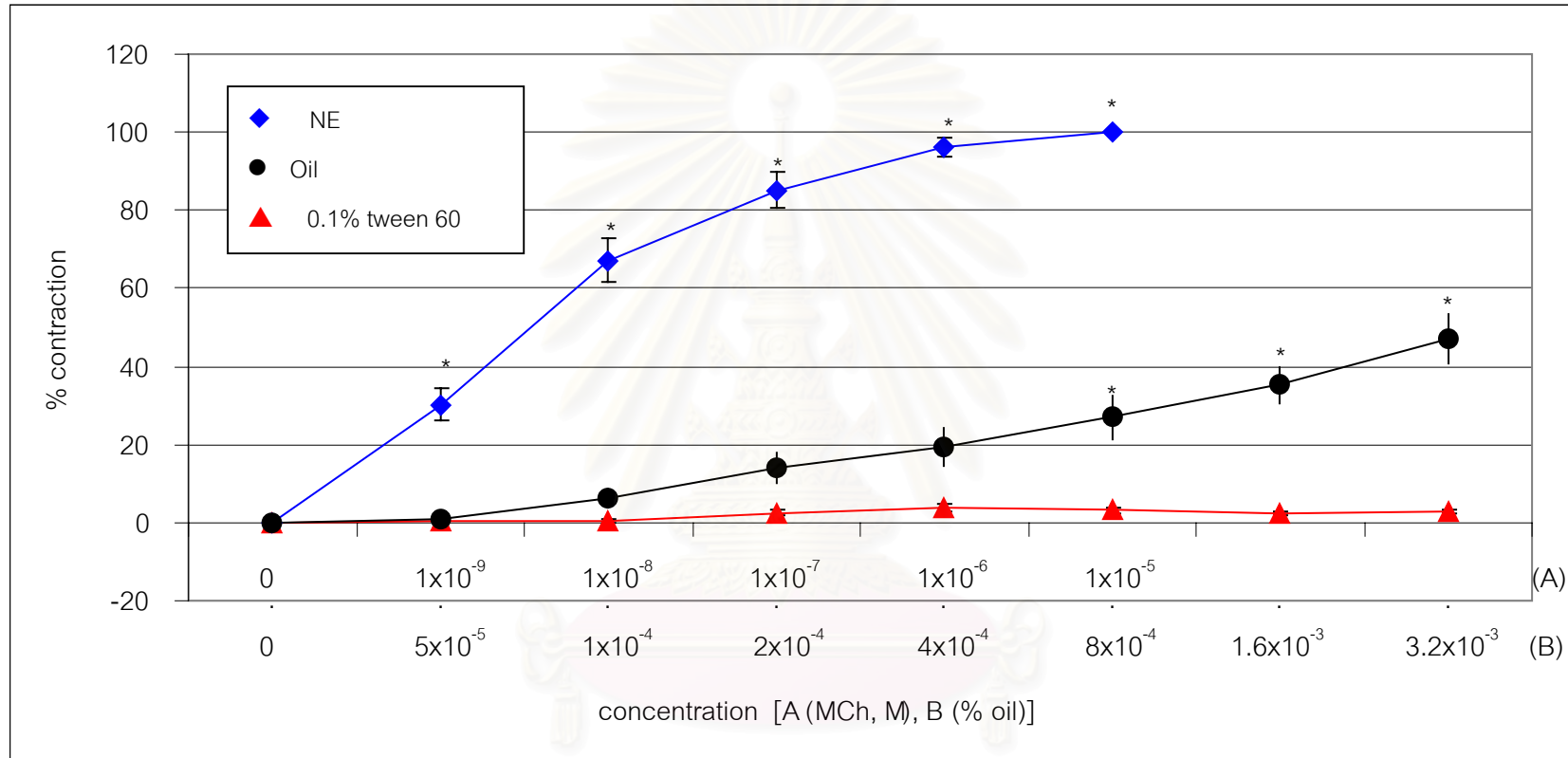
(\*) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเปรียบเทียบที่ความเข้มข้นเดียวกันกับการให้สารละลายของ MCh เพียงอย่างเดียว ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% n (p<0.05)



ภาพที่ 29 แสดงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมของหนูตะเภาเมื่อได้รับสารละลายของน้ำมันระเหยแบบผสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$  –  $3.2 \times 10^{-3}$  % v/v) เปรียบเทียบระหว่าง (▲) ได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  M กับ (◆) ไม่ได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  M (n=8)

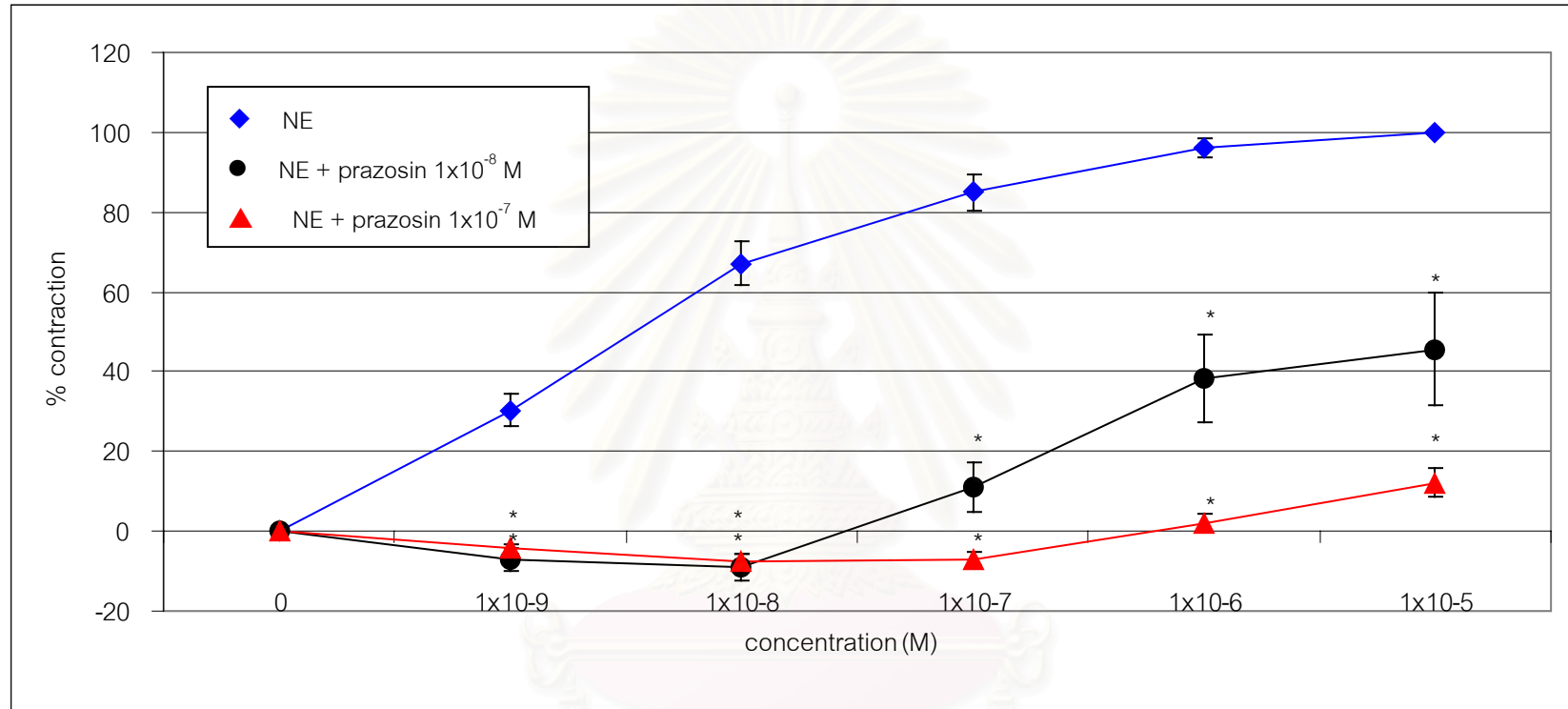


ภาพที่ 30 แสดงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมของหนูตะเภาเมื่อได้รับสารละลายของน้ำมันระเหยแบบผสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$  –  $3.2 \times 10^{-3}$  % oil) เปรียบเทียบระหว่าง (▲) ได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-6}$  M กับ (◆) ไม่ได้รับสารละลาย atropine ขนาด  $1 \times 10^{-6}$  M (n=8)

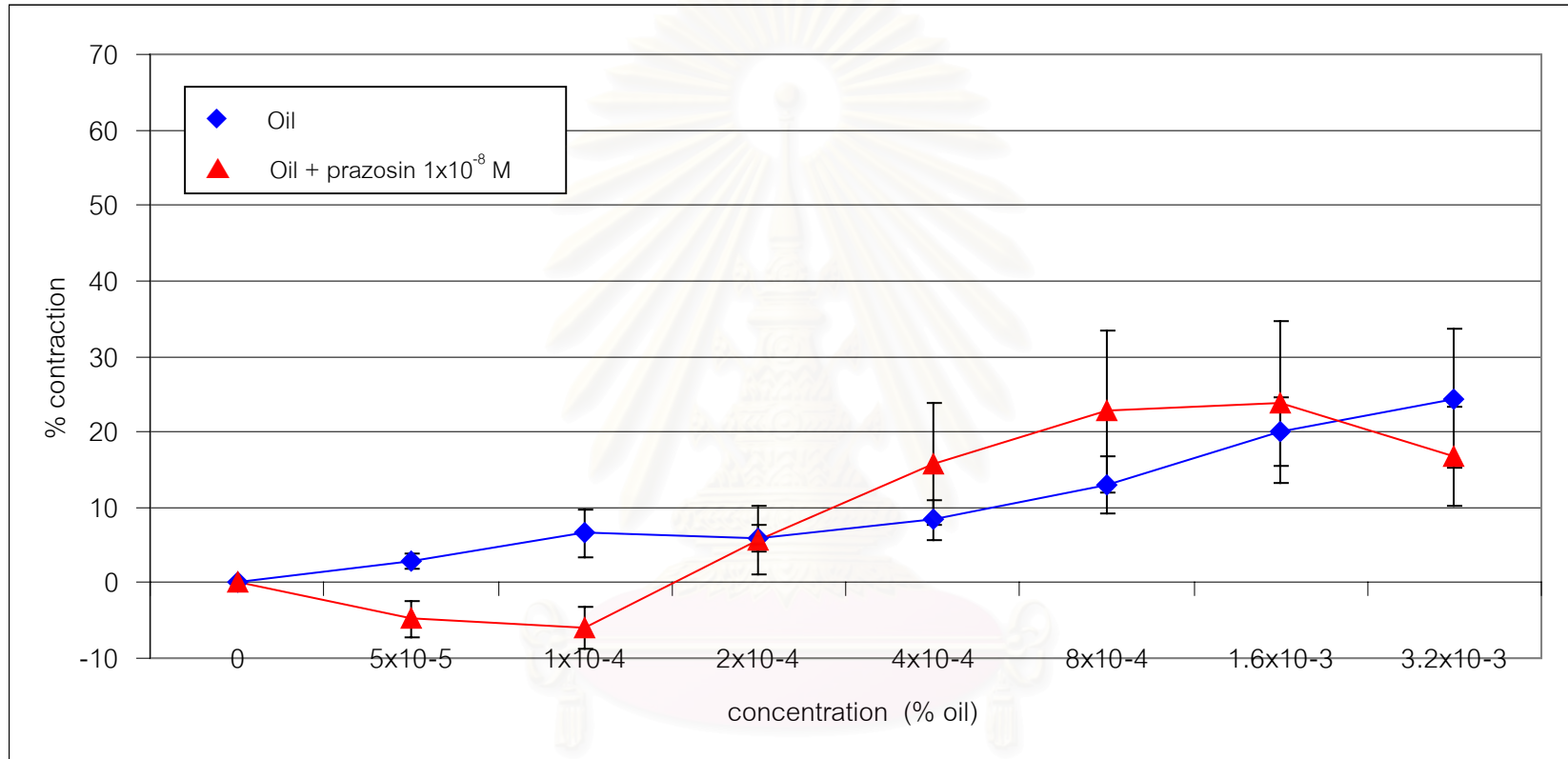


ภาพที่ 31 แสดงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาวเมื่อได้รับ (●) สารละลายของน้ำมันระเหยแบบผสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$  -  $3.2 \times 10^{-3}$  % oil) เปรียบเทียบกับเมื่อได้รับ (◆) สารละลายของ NE ( $1 \times 10^{-9}$  -  $1 \times 10^{-5}$  M) และ (▲) ตัวทำละลายอย่างเดียว (n=8)  
 (\*) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเปรียบเทียบที่ลำดับการให้เดียวกันกับการให้ตัวทำละลายอย่างเดียว ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ( $p < 0.05$ )





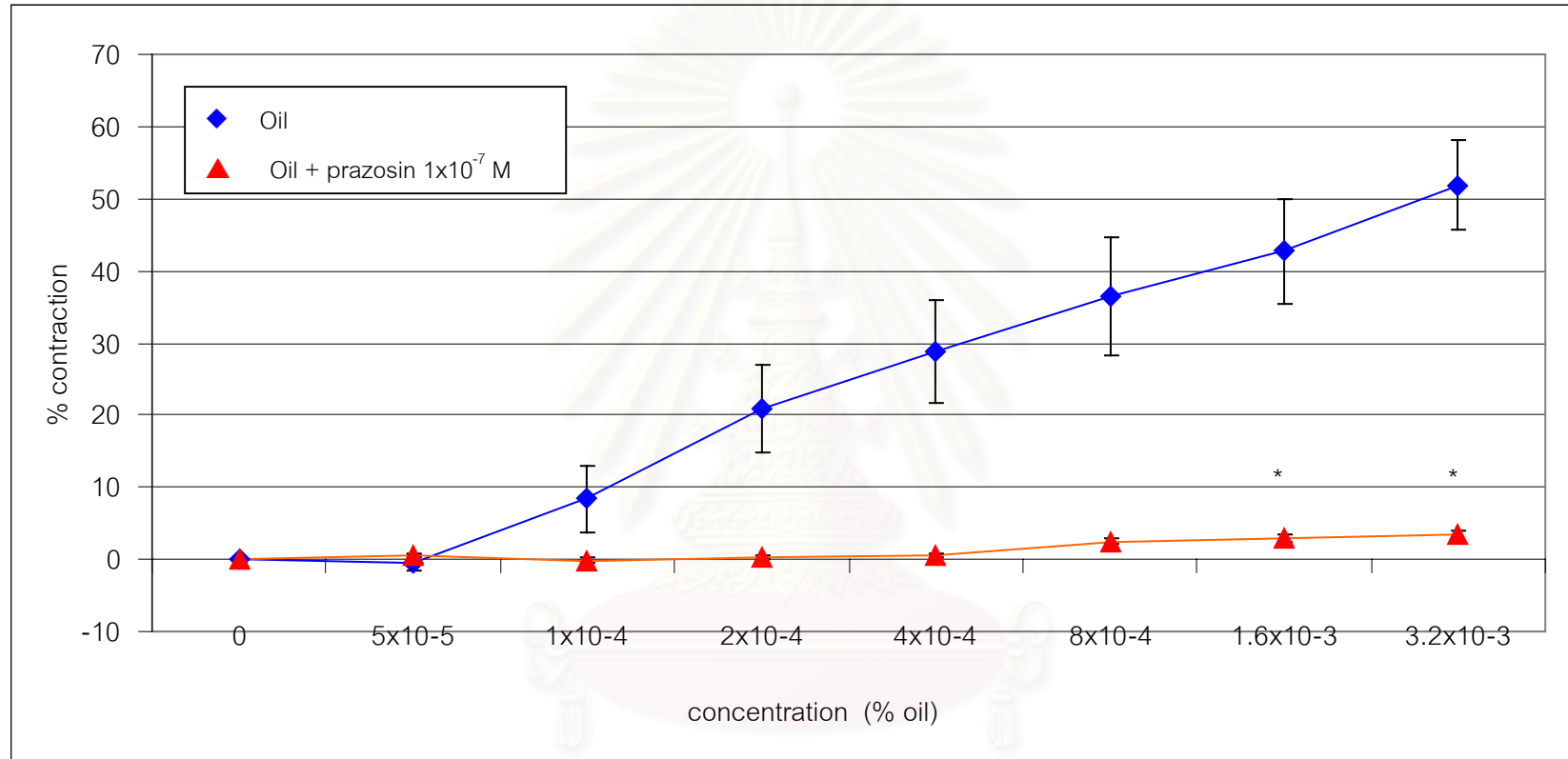
ภาพที่ 32 แสดงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาวเมื่อได้รับ (◆) สารละลายของ NE (1x10<sup>-9</sup> - 1x10<sup>-5</sup> M) เปรียบเทียบกับเมื่อ (●) ได้รับ สารละลาย prazosin ขนาด 1x10<sup>-8</sup> M หรือ (▲) 1x10<sup>-7</sup> M (n=8)  
 (\*) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเปรียบเทียบที่ความเข้มข้นเดียวกันกับการให้สารละลายของ NE เพียงอย่างเดียว ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (p<0.05)



ภาพที่ 33 แสดงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาวเมื่อได้รับสารละลายของน้ำมันระเหยแบบผสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$  –  $3.2 \times 10^{-3}$  % oil)

เปรียบเทียบระหว่าง (▲) ได้รับสารละลาย prazosin ขนาด  $1 \times 10^{-8}$  M กับ (◆) ไม่ได้รับสารละลาย prazosin ขนาด  $1 \times 10^{-8}$  M (n=8)

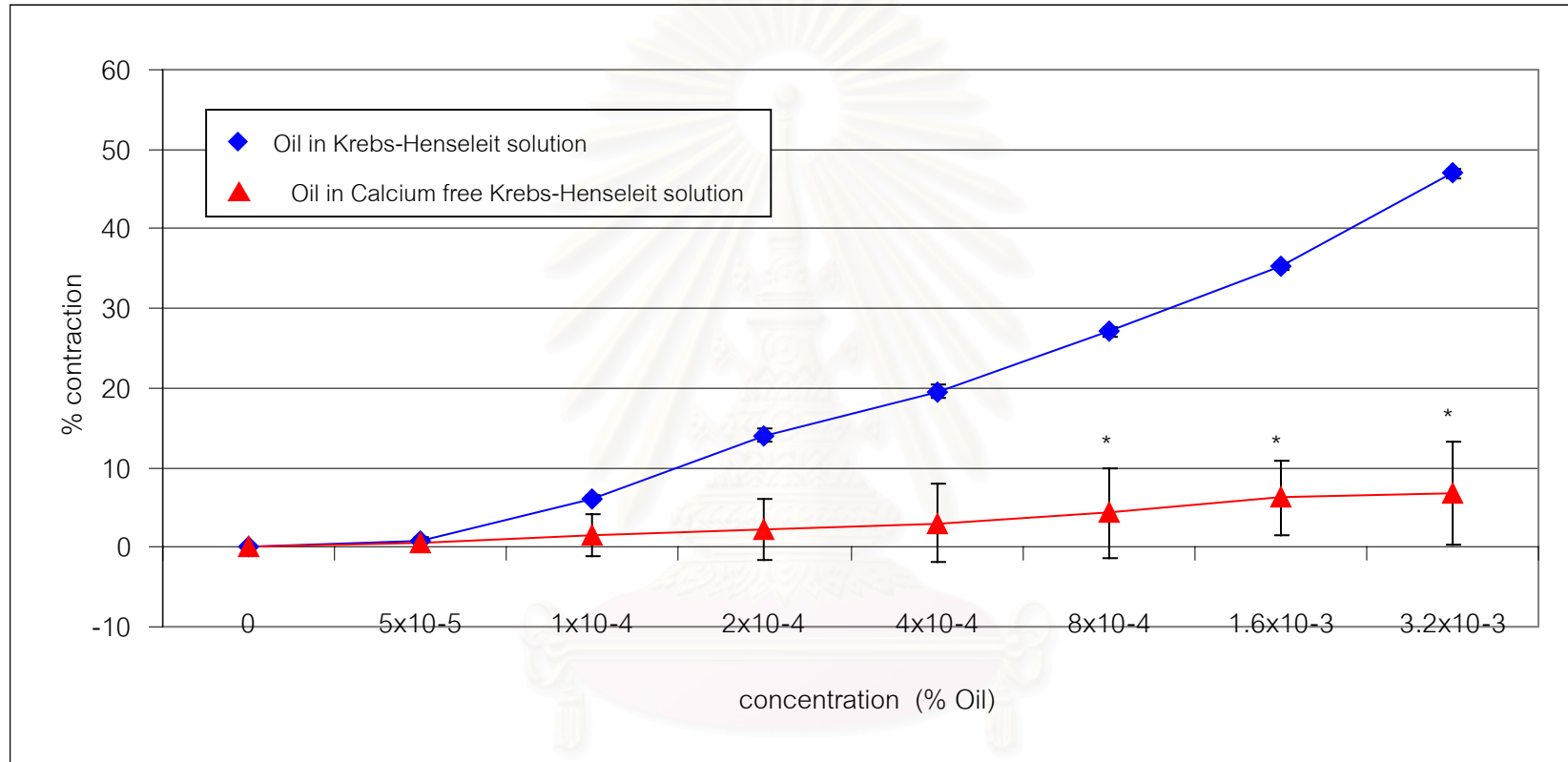
(\*) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเปรียบเทียบที่ความเข้มข้นเดียวกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ( $p < 0.05$ )



ภาพที่ 34 แสดงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาวเมื่อได้รับสารละลายของน้ำมันระเหยแบบผสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$  –  $3.2 \times 10^{-3}$  % oil)

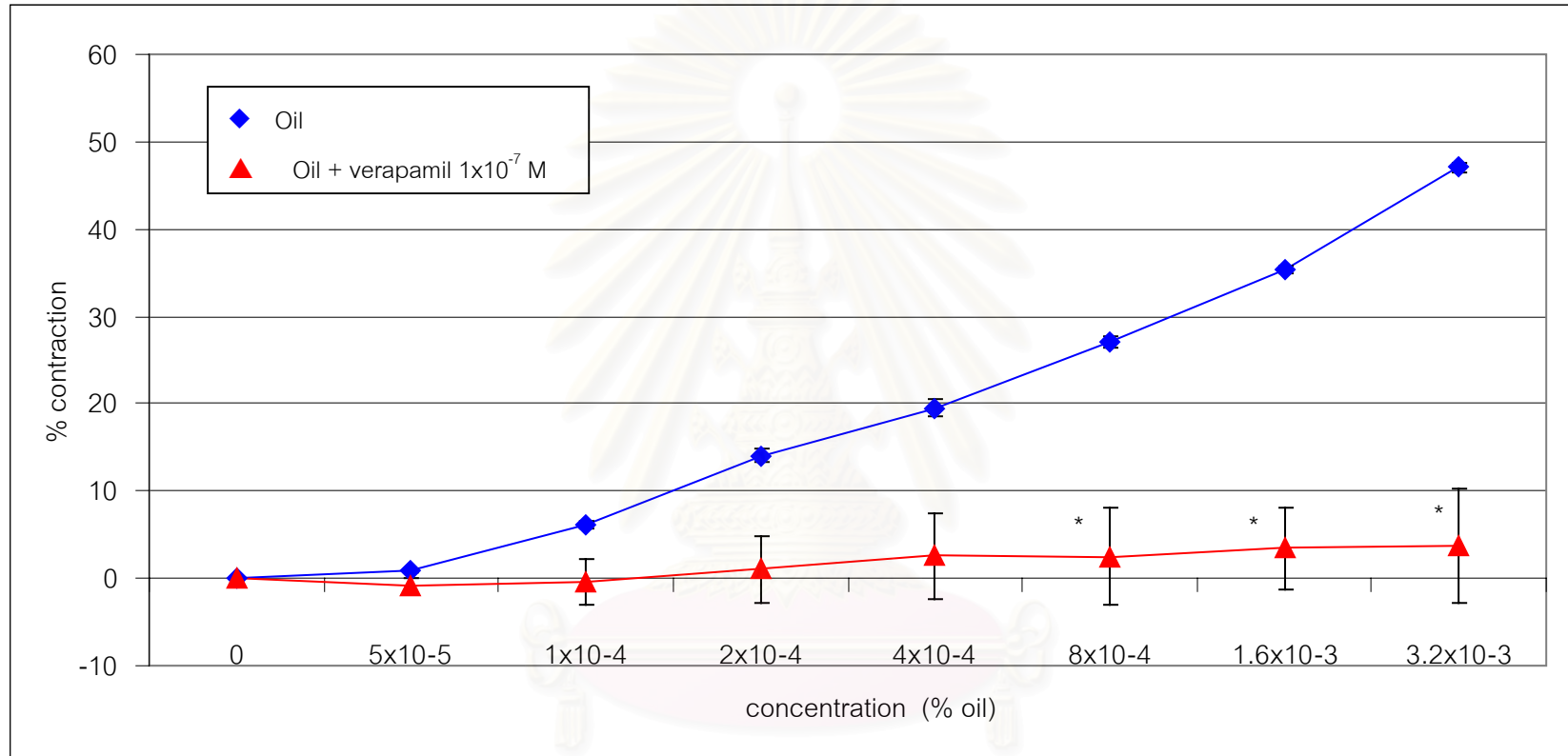
เปรียบเทียบระหว่าง (▲) ได้รับสารละลาย prazosin ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  M กับ (◆) ไม่ได้รับสารละลาย prazosin ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  M (n=8)

(\*) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเปรียบเทียบที่ความเข้มข้นเดียวกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ( $p < 0.05$ )



ภาพที่ 35 แสดงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาวเมื่อได้รับสารละลายของน้ำมันระเหยแบบผสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$  –  $3.2 \times 10^{-3}$  % oil) เปรียบเทียบระหว่างการทดสอบ (◆) ในสารละลาย Krebs-Henseleit solution กับการทดสอบ (▲) ในสารละลาย Calcium free Krebs-Henseleit solution (n=8)

(\*) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเปรียบเทียบที่ความเข้มข้นเดียวกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ( $p < 0.05$ )



ภาพที่ 36 แสดงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาวเมื่อได้รับสารละลายของน้ำมันระเหยแบบผสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$  –  $3.2 \times 10^{-3}$  % oil)

เปรียบเทียบระหว่าง (▲) ได้รับสารละลาย verapamil ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  M กับ (◆) ไม่ได้รับสารละลาย verapamil ขนาด  $1 \times 10^{-7}$  M (n=8)

(\*) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเปรียบเทียบที่ความเข้มข้นเดียวกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ( $p < 0.05$ )

## บทที่ 4

### สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

#### น้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่กับการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ

จากการทดลองเมื่อให้กล้ามเนื้อเรียบจากอวัยวะต่างๆที่แยกจากกายสัตว์ทดลองคือ หลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาว (rat aorta) กระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาว (rat fundus) หลอดลมของหนูตะเภา (guinea pig trachea) ลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภา (guinea pig ileum) และ ลำไส้เล็กส่วน jejunum ของกระต่าย (rabbit jejunum) สัมผัสกับสารละลายของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่แบบสะสมขนาดจาก  $5 \times 10^{-5}$ ,  $1 \times 10^{-4}$ ,  $2 \times 10^{-4}$ ,  $4 \times 10^{-4}$ ,  $8 \times 10^{-4}$ ,  $1.6 \times 10^{-3}$  ถึง  $3.2 \times 10^{-3}$  % v/v พบว่าจะมีผลทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบมากขึ้นแตกต่างกันไปตามเนื้อเยื่อแต่ละชนิด การหดตัวสูงสุดพบในหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาว (rat aorta) โดยมีการหดตัวสูงสุด (maximum response) เป็น 47.03% รองลงมาคือลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภา (guinea pig ileum) 39.40% กระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาว (rat fundus) 26.19% หลอดลมของหนูตะเภา (guinea pig trachea) 15.78% และ ลำไส้เล็กส่วน jejunum ของกระต่าย (rabbit jejunum) 4.99% ตามลำดับ จะเห็นว่าความแรงของการหดตัวที่เกิดขึ้นในกล้ามเนื้อเรียบอวัยวะต่างๆมีความแตกต่างกันมาก เมื่อพิจารณาจากค่าความเข้มข้นของสารที่ทำให้เกิดการหดตัวเพิ่มขึ้น 50% ( $EC_{50}$ ) ที่หาได้ในลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภา มีค่า  $EC_{50}$  ของ methacholine เท่ากับ  $1 \times 10^{-4}$  M ของน้ำมันระเหยเท่ากับ  $9.6 \times 10^{-3}$  % v/v กระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาว มีค่า  $EC_{50}$  ของ methacholine เท่ากับ  $1 \times 10^{-6}$  M ของน้ำมันระเหยเท่ากับ  $8.192 \times 10^{-1}$  % v/v และหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาว มีค่า  $EC_{50}$  ของ NE เท่ากับ  $1 \times 10^{-7}$  M ของน้ำมันระเหยเท่ากับ  $1.28 \times 10^{-2}$  % v/v จะเห็นว่าในเนื้อเยื่อแต่ละชนิดมีการตอบสนองต่อสารละลายของน้ำมันระเหยแตกต่างกัน

จากข้อมูลในส่วนของการทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้องในบทที่ 1 จะเห็นว่า anethole ซึ่งเป็นสารสำคัญชนิดหนึ่งและมีปริมาณมากที่สุด (98.4%) ในน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่<sup>(4)</sup> นั้นมีประสิทธิภาพในการรักษาโรคปากแห้ง (xerostomia) ได้โดยกระตุ้นให้เกิดการหลั่งของน้ำลายจากต่อมน้ำลายมากขึ้น<sup>(38-47)</sup> ในทางสรีรวิทยา ระบบประสาทอัตโนมัติที่ควบคุมการหลั่งของน้ำลายคือระบบประสาทพาราซิมพาเทติกผ่านทาง muscarinic-cholinergic receptor และระบบประสาทซิมพาเทติกผ่านทาง alpha-adrenergic receptor ระบบประสาททั้งสองมีผลกระตุ้นให้เกิดการหลั่งของน้ำลายจากต่อมน้ำลายมากขึ้นได้ทั้งคู่ (ตาราง 1)<sup>(48-49)</sup> นอก

จากนี้การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบอวัยวะต่างๆก็เกี่ยวข้องกับการทำงานของระบบประสาทอัตโนมัติเช่นกันโดยในหลอดเลือดแดงใหญ่ควบคุมโดยระบบประสาทซิมพาเทติกผ่านทาง alpha-adrenergic receptor มีผลทำให้กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หดตัว กล้ามเนื้อเรียบทางเดินอาหารควบคุมโดยระบบประสาทพาราซิมพาเทติกที่ควบคุมผ่าน muscarinic-cholinergic receptor มีผลเพิ่มการเคลื่อนไหวของกล้ามเนื้อเรียบทางเดินอาหาร และระบบประสาทซิมพาเทติกที่ควบคุมผ่าน beta-/alpha-adrenergic receptor มีผลลดการเคลื่อนไหวของกล้ามเนื้อเรียบทางเดินอาหาร ส่วนหลอดเลือดควบคุมโดยระบบประสาทพาราซิมพาเทติกที่ควบคุมผ่าน muscarinic-cholinergic receptor มีผลทำให้หลอดเลือดหดตัว และระบบประสาทซิมพาเทติกที่ควบคุมผ่าน beta-adrenergic receptor มีผลทำให้หลอดเลือดคลายตัว<sup>(83,85-86)</sup> ฉะนั้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบอวัยวะต่างๆที่เกิดจากการได้รับสารละลายของน้ำมันระเหยจากใบของต้นหัสศคุณใหญ่อาจมีความสัมพันธ์กับการทำงานผ่านตัวรับของระบบประสาทอัตโนมัติ จึงทดสอบโดยการให้ตัวรับที่ยังที่เฉพาะเจาะจงต่อตัวรับของระบบประสาทซิมพาเทติก และระบบประสาทพาราซิมพาเทติกเพื่อตรวจสอบสมมติฐานนี้

### น้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่กับระบบประสาทพาราซิมพาเทติก

ระบบประสาทพาราซิมพาเทติกควบคุมการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบผ่านทางตัวรับชนิด muscarinic-cholinergic receptor โดยการหลั่ง Acetylcholine (ACh) เมื่อ ACh จับกับ muscarinic receptor มีผลกระตุ้นการทำงานของ G-protein ทำให้ phospholipids เปลี่ยนเป็น phospholipase C ซึ่งเอนไซม์ตัวนี้สามารถ hydrolyze phosphatidylinositol ให้กลายเป็น IP<sub>3</sub> เมื่อระดับของ IP<sub>3</sub> ภายในเซลล์เพิ่มขึ้นจะมีผลกระตุ้นการปลดปล่อยแคลเซียมจากแหล่งเก็บสะสมหรือ SR และทำให้กล้ามเนื้อเรียบเกิดการหดตัวตามมา นอกจากนี้ยังมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ membrane potential มีผลต่อ ion channels ทำให้โซเดียมและแคลเซียมเคลื่อนที่จากภายนอกเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์ ทำให้กล้ามเนื้อเรียบหดตัว<sup>(83,85-86)</sup>

จากผลการทดลองในกระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาว (rat fundus) หลอดลมของหนูตะเภา (guinea pig trachea) ลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภา (guinea pig ileum) และ ลำไส้เล็กส่วน jejunum ของกระต่าย (rabbit jejunum) ที่ได้รับสารละลายของ MCh แบบสะสมขนาด พบว่าเมื่อให้สารละลายของ atropine ซึ่งเป็น muscarinic receptor antagonist สัมผัสกับเนื้อเยื่อก่อนสามารถลดการหดตัวที่เกิดจากการได้รับ MCh แบบสะสมขนาดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าเนื้อเยื่อทุกชนิดที่ใช้ในการทดสอบมีกลไกการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบผ่านทางตัวรับของระบบประสาทพาราซิมพาเทติก

จากสมมติฐานว่าผลของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่เกี่ยวข้องกับการทำงานผ่านตัวรับของระบบประสาทพาราซิมพาเทติกจึงทดสอบสมมติฐานนี้โดยการให้ตัวยับยั้ง muscarinic receptor คือ atropine<sup>(84,86-87)</sup> ในการยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน jejunum ของกระต่าย ลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภา กระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาว และหลอดลมของหนูตะเภา ได้ผลดังนี้

กล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน jejunum ของกระต่าย และลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภา (guinea pig ileum) พบว่าการให้ atropine สัมผัสกับเนื้อเยื่อก่อน 5 นาที ไม่มีผลทำให้การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่เกิดขึ้นจากสารละลายของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่เปลี่ยนแปลง ดังนั้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน jejunum ของกระต่าย และลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภาที่เกิดขึ้นจากสารละลายของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่ไม่มีความสัมพันธ์กับการทำงานผ่านตัวรับของระบบประสาทพาราซิมพาเทติก การหดตัวที่เกิดขึ้นน่าจะผ่านทางกลไกอื่นๆ

ในกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาว (rat fundus) พบว่าเมื่อให้ atropine การหดตัวที่เกิดจากการให้สารละลายของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่แบบสะสมขนาดลดลง และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าการหดตัวที่เกิดจากการให้สารละลายของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่แบบสะสมขนาดมีความเกี่ยวข้องกับการทำงานผ่านตัวรับของระบบประสาทพาราซิมพาเทติก และความเป็นไปได้ในการใช้น้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่เพียยาขับลมหรือยาช่วยย่อยได้ แต่ต้องพิจารณาถึงปัจจัยอื่นๆประกอบด้วย

กล้ามเนื้อเรียบหลอดลมของหนูตะเภา (guinea pig trachea) แสดงให้เห็นว่าเมื่อให้ atropine สัมผัสกับเนื้อเยื่อก่อน 5 นาที จากนั้นให้สารละลายของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่แบบสะสมขนาด จะมีผลทำให้กล้ามเนื้อเรียบหลอดลมของหนูตะเภาเกิดการคลายตัวขึ้นแต่มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ จากผลดังกล่าวนี้อาจเป็นไปได้ว่าของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่มีผลแบบ dual action โดยมีผลทั้งกับตัวรับของระบบประสาทพาราซิมพาเทติก และซิมพาเทติกทั้งคู่ เมื่อกลไกการทำงานผ่านตัวรับของระบบประสาทพาราซิมพาเทติกถูกยับยั้งโดย atropine จึงมีผลทำให้ผลต่อตัวรับของระบบประสาทซิมพาเทติกของของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่ปรากฏให้เห็นจึงมีผลทำให้กล้ามเนื้อเรียบหลอดลมคลายตัวมากขึ้น เนื่องจากบนกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมมีตัวรับของทั้งระบบประสาทซิมพาเทติก และพาราซิมพาเทติก



## น้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่กับระบบประสาทซิมพาเทติก

ระบบประสาทซิมพาเทติกควบคุมการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบผ่านทางตัวรับชนิด adrenergic receptor ทั้งชนิด alpha และ beta เมื่อ NE จับกับ adrenergic receptor มีผลกระตุ้นการทำงานของ G-protein ทำให้ phospholipids เปลี่ยนเป็น phospholipase C ซึ่งเอ็นไซม์ตัวนี้สามารถ hydrolyze phosphatidylinositol ให้กลายเป็น  $IP_3$  (เมื่อระดับ  $IP_3$  ภายในเซลล์เพิ่มขึ้น จะมีผลกระตุ้นการปลดปล่อยแคลเซียมจากแหล่งเก็บสะสม) และ DAG ที่สามารถกระตุ้นการทำงานของ protein kinase C นอกจากนี้ยังมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง action potential ของ cell membrane ทำให้โซเดียมและแคลเซียมเคลื่อนที่จากภายนอกเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์ ทำให้กล้ามเนื้อเรียบหดตัว (83,85-86)

จากผลการทดลองในหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาว (rat aorta) ที่ได้รับสารละลายของ NE แบบสะสมขนาด พบว่าเมื่อให้สารละลายของ prazosin ซึ่งเป็น  $\alpha_1$ -adrenergic receptor antagonist สัมผัสกับเนื้อเยื่อก่อนสามารถลดการหดตัวที่เกิดจากการได้รับ NE แบบสะสมขนาดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าเนื้อเยื่อหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาวที่ใช้ในการทดสอบมีกลไกการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบผ่านทางตัวรับของระบบประสาทซิมพาเทติก

จากสมมติฐานว่าผลของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่เกี่ยวข้องกับการทำงานผ่านตัวรับของระบบประสาทซิมพาเทติกผู้วิจัยจึงทดสอบสมมติฐานนี้โดยการใช้ตัวยับยั้ง adrenergic receptor คือ prazosin ในการยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาว (rat aorta) ที่เกิดจากการให้สารละลายของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่แบบสะสมขนาด ในทุกการทดสอบทำโดยการให้ prazosin สัมผัสกับเนื้อเยื่อก่อน 5 นาที จากนั้นจึงให้สารละลายของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่แบบสะสมขนาด ผลการทดลองในกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาว (rat aorta) พบว่าเมื่อให้ prazosin การหดตัวที่เกิดขึ้นจากการให้สารละลายของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่แบบสะสมขนาดจะลดลง และมีความแตกต่างกับการหดตัวที่เกิดขึ้นจากการให้สารละลายของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่แบบสะสมขนาดเมื่อไม่มี prazosin อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากผลนี้แสดงให้เห็นว่าการหดตัวที่เกิดขึ้นจากการให้สารละลายของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่แบบสะสมขนาดมีความเกี่ยวข้องกับการทำงานผ่านตัวรับของระบบประสาทซิมพาเทติก ดังนั้นผลที่เกิดขึ้นจากการที่น้ำมันระเหยจากใบของต้นหัสศคุณใหญ่กระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด ซึ่งมีส่วนเกี่ยวข้องกับการทำงานของตัวรับชนิด อัลฟา (alpha adrenergic receptor) ของระบบประสาทซิมพาเทติก อาจสามารถสนับสนุนการใช้

น้ำมันระเหย (anethole) บรรเทาอาการคัดจมูก หรือทำให้จมูกโล่งได้ อีกทั้งอาจสนับสนุนในด้านของการใช้รักษาโรคจิตเสีตดวงทวารของคนโบราณด้วย

### น้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่กับ $\text{Ca}^{2+}$ Ion

จากที่ทราบกับดีว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบมีความเกี่ยวข้องกับปริมาณของแคลเซียมอิสระภายในเซลล์ที่มีที่มาจากทั้งแคลเซียมที่เก็บสะสมภายในเซลล์เอง (intracellular calcium) และแคลเซียมภายนอกเซลล์ (extracellular calcium) ที่ผ่านเข้าสู่เซลล์ทาง calcium channel ซึ่งการทดสอบว่าแคลเซียมจากภายนอกเซลล์มีผลต่อการหดตัวที่เกิดขึ้นจากการให้สารละลายของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่แบบสะสมขนาดหรือไม่ นั้นแบ่งออกเป็นสองส่วนคือ ทดสอบโดยใช้สารละลาย calcium free Krebs-Henseleit solution และการใช้สารยับยั้งทางผ่านแคลเซียม (calcium channel blocker) คือ verapamil โดยให้สัมผัสกับเนื้อเยื่อก่อน 5 นาทีตามด้วยสารละลายของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่แบบสะสมขนาด เพื่อดูว่าเมื่อไม่มีแคลเซียมจากภายนอกเซลล์การหดตัวที่เกิดขึ้นจากการให้สารละลายของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่แบบสะสมขนาดยังสามารถเกิดขึ้นได้หรือไม่ จากผลการทดลองทั้งสองวิธี พบว่ามีการลดลงของการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาวที่เกิดจากการให้สารละลายของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่แบบสะสมขนาดทั้งสองการทดสอบ และการลดลงมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาวที่เกิดจากการให้สารละลายของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่แบบสะสมขนาดมีความสัมพันธ์โดยตรงกับแคลเซียมภายนอกเซลล์ (extracellular calcium) โดยผ่านทาง calcium channel อย่างไรก็ตามจากการศึกษานี้ พบว่าแม้จะไม่มีแคลเซียมจากภายนอกเซลล์ผ่านเข้ามาภายในเซลล์ ก็ยังคงมีการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดเกิดขึ้นได้บ้าง แสดงให้เห็นว่าการหดตัวที่เกิดขึ้นนั้นน่าจะเป็นผลมาจากแคลเซียมที่สะสมภายในเซลล์ (sarcoplasmic reticulum) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Allbuquerque, Sorenson and Leal-Cardoso ในปี 1995 เป็นการศึกษาผลของ anethole และ estragole ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย พบว่าทั้ง anethole และ estragole สามารถกระตุ้นให้กล้ามเนื้อลายหดตัวได้ โดยมีผลกระตุ้นให้เกิดการหลั่งของแคลเซียมออกมาจาก sarcoplasmic reticulum เนื่องจากสามารถกระตุ้นได้ด้วย caffeine และยับยั้งได้ด้วย procaine

## สรุป

ต้นหัสศคุณใหญ่เป็นพันธุ์ไม้ที่พบได้ในประเทศไทยที่จังหวัดกาญจนบุรี น้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่มีผลกระตุ้นให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของอวัยวะลำไส้เล็กส่วน jejunum ของกระต่าย ลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภา กระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาว หลอดลมของหนูตะเภา และหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาวได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การหดตัวที่เกิดขึ้นจากการให้สารละลายของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่แบบสะสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$ - $3.2 \times 10^{-3}$  %) มีความเกี่ยวข้องกับตัวรับของระบบประสาทอัตโนมัติที่ควบคุมการหด-คลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบทั้งระบบพาราซิมพาเทติก และระบบซิมพาเทติก แคลเซียมอิสระจากภายนอกเซลล์มีบทบาทเกี่ยวข้องกับการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่เกิดขึ้นจากน้ำมันระเหยด้วย โดยการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่เกิดขึ้นจะเกิดจากการกระตุ้นให้แคลเซียมจากภายนอกผ่านเข้าสู่ภายในเซลล์ทาง calcium channel ซึ่งอาจผ่านทางกลไก receptor-operated calcium channel (ROC) และ/หรือ voltage-operated calcium channel (VOC) นอกจากนี้ยังอาจมีผลกระตุ้นให้เกิดการหลั่งของแคลเซียมออกมาจากแหล่งสะสมภายในเซลล์ (sarcoplasmic reticulum) ได้ด้วย การหดตัวที่เกิดขึ้นจะมากหรือน้อยนั้นขึ้นกับปริมาณ ความหนาแน่น และโครงสร้างของตัวรับทั้งสองที่อยู่บนเนื้อเยื่อที่ทดสอบ ความแตกต่างดังกล่าวข้างต้นเกิดจากความแตกต่างในด้านของตำแหน่งและหน้าที่ของอวัยวะที่ใช้ทดสอบ กับชนิดของสัตว์ทดลองที่ใช้

### ข้อเสนอแนะ

1. ศึกษาผลของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่ต่อตัวรับชนิดอื่นเช่น histamine receptor และ serotonin receptor ต่อไปเพื่อดูผลต่อตัวรับชนิดต่างๆที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของกล้ามเนื้อเรียบ
2. ศึกษาความสัมพันธ์ของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่ต่อตัวรับของระบบประสาทอัตโนมัติทั้งสองต่อไปในระดับลึกกว่าน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่มีผลกระตุ้นที่ตัวรับโดยตรงหรือกระตุ้นผ่านทางตัวรับชนิดอื่น
3. ฤทธิ์ที่ทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบอวัยวะต่างๆอาจเป็นผลดีหรือก่อให้เกิดอันตรายก็ได้ การนำไปใช้จึงจำเป็นต้องได้รับการศึกษาต่อไปในรายละเอียดอีกมากมาย ทั้งภายในและภายนอกร่างกาย

## รายการอ้างอิง

1. นิจศิริ เรืองรังษี. เครื่องเทศ. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย , 2534.
2. The National Association for Holistic Aromatherapy (NAHA). Aromatherapy [online]. Available from : <http://www.naha.org/> [2003, Jan 7]
3. Aromatherapy Registration Council. Aromatherapy [online]. Available from : <http://www.aromatherapycouncil.org/> [2003, Jan 7]
4. วารุณี อังรวงศ์สวัสดิ์. การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันระเหยจากพืชในวงศ์ RUTACEAE ของไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต ภาควิชาเภสัชเวช บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2539.
5. Stohs, S. J.; Lawson, T. A.; Anderson, L.; and Bueding, E. Effects of oltipraz, BHA, ADT and cabbage on glutathione metabolism, DNA damage and lipid peroxidation in old mice. Mech Ageing Dev. 37 (1986) : 137-45.
6. Abraham, S. K. Anti-genotoxicity of trans-anethole and eugenol in mice. Food Chem Toxicol. 39 (2001) : 493-8.
7. Feldman, G. M.; Naples, J. M.; Seed, J. L.; and Bueding, E. Effects of anethole dithiolthione and 2 (3)-tert-butyl-4-hydroxyanisole on schistosome granuloma formation. Parasite Immunol. 7 (1985) : 567-73.
8. Sen, C. K.; Traber, K. E.; and Packer, L. Inhibition of NF-kappa B activation in human T-cell lines by anetholdithiolthione. Biochem Biophys Res Commun. 218 (1996) : 148-53.
9. Bouthillier, L.; Charbonneau, M.; and Brodeur, J. Assessment of the role of glutathione conjugation in the protection afforded by anethol dithiolthione against hexachloro-1, 3-butadiene-induced nephrotoxicity. Toxicol Appl Pharmacol. 139 (1996) : 177-85.
10. Drukarch, B.; Schepens, E.; Stoof, J. C.; and Langeveld, C. H. Anethole dithiolethione prevents oxidative damage in glutathione-depleted astrocytes. Eur J Pharmacol. 329 (1997) : 259-62.

11. Khanna, S.; Sen, C. K.; Roy, S.; Christen, M. O.; and Packer, L. Protective effects of anethole dithiolethione against oxidative stress-induced cytotoxicity in human Jurkat T cells. Biochem Pharmacol. 56 (1998) : 61-9.
12. Dringen, R.; Hamprecht, B.; and Drukarch, B. Anethole dithiolethione, a putative neuroprotectant, increases intracellular and extracellular glutathione levels during starvation of cultured astroglial cells. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol. 358 (1998) : 616-22.
13. Ben-Mahdi, M. H.; Gozin, A.; Driss, F.; Andrieu, V.; Christen, M. O.; and Pasquier, C. Anethole dithiolethione regulates oxidant-induced tyrosine kinase activation in endothelial cells. Antioxid Redox Signal. 2 (2000) : 789-99.
14. Ukai, Y.; Shiraishi, M.; Takashita, K.; Fukui, T.; and Kura, K. Pharmacological studies on anethole trithione. Arzneimittelforschung. 38 (1988) : 1460-5.
15. Chainy, G. B.; Manna, S. K.; Chaturvedi, M. M.; and Aggarwal, B. B. Anethole blocks both early and late cellular responses transduced by tumor necrosis factor : effect on NF-kappa B , AP-1 , JNK , MAPKK and apoptosis. Oncogene. 19 (2000) : 2943-50.
16. Reddy, B. S.; Rao, C. V.; Rivenson, A.; and Kelloff, G. Chemoprevention of colon carcinogenesis by organosulfur compounds. Cancer Res. 53 (1993) : 3493-8.
17. al-Harbi, M. M.; Qureshi, S.; Raza, M., Ahmed, M. M.; Giangreco, A. B.; and Shah, A. H. Influence of anethole treatment on the tumour induced by Ehrlich ascites carcinoma cells in paw of Swiss albino mice. Eur J Cancer Prev. 4 (1995) : 307-18.
18. Reddy, B. S. Chemoprevention of the colon cancer by minor dietary constituents and their synthetic analogues. Prev Med. 25 (1996) : 48-50.
19. Lubet, R. A.; Steele, V. E.; Eto, I.; Juliana, M. M.; Kelloff, G. J.; and Grubbs, C. J. Chemopreventive efficacy of anethole trithione, N-acetyl-L-cysteine, miconazole and phenethylisothiocyanate in the DMBA-induced rat mammary cancer model. Int J Cancer. 72 (1997) : 95-101.
20. Selley, M. L.; McGuinness, J. A.; Bartlett, M. R.; and Ardlie, N. G. Effect of anethole dithiolthione on human platelet aggregation. Arzneimittelforschung. 42 (1992) : 318-21.

21. Albuquerque, A. A.; Sorenson, A. L.; and Leal-Cardoso, J. H. Effect of essential oil of *Croton zehntneri* and of anethole and estragole on skeletal muscle. J Ethnopharmacol. 49 (1995) : 41-9.
22. Hitokoto, H.; Morozumi, S.; Wauke, T.; Sakai, S.; and Kurata, H. Inhibitory effects of spices on growth and toxin production of toxigenic fungi. Appl Environ Microbiol. 39 (1980) : 818-22.
23. Karapinar, M. Inhibitory effects of anethole and eugenol on the growth and toxin production of *Aspergillus parasiticus*. Int J Food Microbiol. 10 (1990) : 193-9.
24. Kubo, I.; and Himejima, M. Potentiation of antifungal activity of sesquiterpene dialdehydes against *Candida albicans* and two other fungi. Experientia. 48 (1992) : 1162-4.
25. Himejima, M.; and Kubo, I. Antimicrobial agents from *Licaria puchuri*-major and their synergistic effect with polygodial. J Nat Prod. 55 (1992) : 620-5.
26. Kubo, I.; Muroi, H.; and Himejima, M. Combination effect of antifungal nagilactones against *Candida albicans* and two other fungi with phenylpropanoids. J Nat prod. 56 (1993) : 220-6.
27. Kubo, I.; and Fujita, K. Naturally occurring anti-Salmonella agents. J Agric Food Chem. 49 (2001) : 5750-4.
28. Kubo I.; Fujita K.; and Lee S. H. Antifungal mechanism of polygodial. J Agric Food Chem. 2001; 49 (3) : 1607-11.
29. Weissinger, W. R.; McWatters, K. H.; and Beuchat, L. R. Evaluation of volatile chemical treatments for lethality to Salmonella on alfalfa seeds and sprouts. J Food Prot. 64 (2001) : 442-50.
30. Hummelbrunner, L. A.; Isman, M. B. Acute. sublethal. antifeedant. and synergistic effects of monoterpenoid essential oil compounds on the tobacco cutworm, *Spodoptera litura* (Lep., Noctuidae). J Agri Food Chem. 49 (2001) : 715-20.
31. Kim, D. H.; and Ahn, Y. J. Contact and fumigant activities of constituents of *Foeniculum vulgare* fruit against three coleopteran stored-product insects. Pest Manag Sci. 57 (2001) : 301-6.

32. Albert-Puleo, M. Fennel and anise as estrogenic agents. J Ethnopharmacol. 2 (1980) : 337-44.
33. Dhar, S. K. Anti-fertility activity and hormonal profile of trans-anethole in rats. Indian J Physiol Pharmacol. 39 (1995) : 63-7.
34. Benoni, H.; Dallakian, P.; and Taraz, K. Studies on the essential oil from guarana. Z Labensm Unters Forsch. 203 (1996) : 95-8.
35. Rudzki, E.; and Grzywa, Z. Sensitizing and irritating properties of star anise oil. Contact Dermatitis. 2 (1976) : 305-8.
36. Anderson, K. E. Contact allergy to toothpaste flavors. Contact Dermatitis. 4 (1978) : 195-8.
37. Barratt, M. D.; and Basketter, D. A. Possible origin of the skin sensitization potential of isoeugenol and related compounds. (I). Preliminary studies of potential reaction mechanisms. Contact Dermatitis. 27 (1992) : 98-104.
38. Ukai, Y.; Taniguchi, N.; Takeshita, K.; Kimura, K.; and Enomoto, H. Chronic anethole trithione treatment enhances the salivary secretion and increases the muscarinic acetylcholine receptors in the rat submaxillary gland. Arch Int Pharmacodyn Ther. 271 (1984) : 206-12.
39. Schiodt, M.; Oxholm, P.; and Jacobsen, A. Treatment of xerostomia in patients with primary Sjogren's syndrome with sulfarlem. Scand J Rheumatol Suppl. 61 (1986) : 250-2.
40. Malmstrom, M. J.; et al. Xerostomia due to Sjogren's syndrome. Diagnostic criteria, treatment and outlines for a continuous dental care programme and an open trial with Sulfarlem. Scand J Rheumatol. 17 (1988) : 77-86.
41. Ukai, Y.; Taniguchi, N.; Takeshita, K.; Ogasawara, T.; and Kimura, K. Enhancement of salivary secretion by chronic anethole trithione treatment. Arch Int Pharmacodyn Ther. 294 (1988) : 248-58.
42. Ukai, Y.; Taniguchi, N.; Yamazaki, A.; and Kimura, K. Enhancement of phosphatidylinositol turnover and cyclic nucleotide accumulation by chronic anethole trithione treatment in rat submaxillary glands. J Pharm Pharmacol. 41 (1989) : 247-52.

43. Glenert, U. Acute effects of a possible sialogogue , anethole trithione , in rat parotid glands. Eur J Pharmacol. 208 (1991) : 287-95.
44. Glenert, U. Effects of chronic anethole trithione and amitriptyline treatment on rat parotid gland signalling. Eur J Pharmacol. 226 (1992) : 43-52.
45. Bagheri, H.; Schmitt, L.; Berian, M.; and Montastruc, J. L. A comparative study of the effects of yohimbine and anetholtrithione on salivary secretion in depressed patients treated with psychotropic drugs. Eur J Clin Pharmacol. 52 (1997) : 339-42.
46. Hamada, T.; et al. Treatment of xerostomia with the bile secretion-stimulating drug anethole trithione : a clinical trial. Am J Med Sci. 318 (1999) : 46-151.
47. Nagano, T.; and Takeyama, M. Enhancement of salivary secretion and neuropeptide (substance P, alpha-calcitonin gene-related peptide) levels in saliva by chronic anethole trithione treatment. J Pharm Pharmacol. 53 (2001) : 1697-702.
48. ชูศักดิ์ เวชแพทย. บทที่ 6 ระบบประสาทอัตโนมัติ, สรีรวิทยา 1. พิมพ์ครั้งที่ 3, กรุงเทพมหานคร ; สวีส์ตีการพิมพ์, 2540 : หน้า 121-36.
49. Hoffman, B. B., and Taylor, P. Neurotransmission : The autonomic and somatic motor nervous systems. In J. G. Hardman; and L. E. Limbird (eds.), Goodman & Gillman's : The Pharmacological Basic of Therapeutics, 10<sup>th</sup> ed., North America : McGraw-Hill Companies Inc., 2001: pp. 115-54.
50. Fairman, R. M. Miner oil crops [online]. Available from : <http://www.fao.org/inpho/vlibrary/x0043e/X0043E0g.htm> [2003, Jan 8]
51. Simandi, B.; et al. Supercritical carbon dioxide extraction and fractionation of fennel oil. J Agric Food Chem. 47 (1999) : 1635-40.
52. Bilia, A. R.; Fumarola, M.; Gallori, S.; Mazzi, G.; and Vincieri, F. F. Identification by HPLC-DAD and HPLC-MS analyses and quantification of constituents of fennel teas and decoctions. J Agric Food Chem. 48 (2000) : 4734-8.
53. Piccaglia, R.; and Marotti, M. Characterization of some Italian types of wild fennel (*Foeniculum vulgare* Mill. ). J Agric Food Chem. 49 (2001) : 239-44.



54. Vila, R.; Milo, B.; Tomi, F.; Casanova, J.; Ferro, E. A.; and Canigueral, S. Chemical composition of the essential oil from the leaves of *Piper fulvescens*, a plant traditionally used in Paraguay. J Ethnopharmacol. 76 (2001) : 105-7.
55. De, M.; De, A. K.; Sen, P.; and Banerjee, A. B. Antimicrobial properties of star anise (*Illicium verum* Hook f). Phytother Res. 16 (2002) : 94-5.
56. Huang, J.; Wang, J.; Yang, C.; Wang, H.; Quan, L.; Zhang, X.; and Cao, H. GC-MS analysis of essential oil from pericarp of *Illicium modestum* A. C. Smith. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi. 21 (1996) : 168-70, 191.
57. Burits, M.; and Bucar, F. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. Phytother Res. 14 (2000) : 323-8.
58. Stanfill, S. B.; and Ashley, D. L. Solid phase microextraction of alkenylbenzenes and other flavor-related compounds from tobacco for analysis by selected ion monitoring gas chromatography-mass spectrometry. J Chromatogr A. 858 (1999) : 79-89.
59. FAO Nutrition Meetings Resort Series No. 44A. Toxicological evaluation of some flavouring substances and non-nutritive sweetening agents [online]. Available from : <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v44aje02.htm> [2003, Jan 7]
60. Lin, F. S. D. Trans-anethole [online]. Available from : <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v28je10.htm> [2003, Jan 7]
61. Swanson, A. B.; Chambliss, D. D.; Blomquist, J. C.; Miller, E. C.; and Miller, J. A. The mutagenicities of safrole, estragole, eugenol, trans-anethole, and some of their known or possible metabolites for *Salmonella typhimurium* mutants. Mutat Res. 60 (1979) : 143-53.
62. Swanson, A. B.; Miller, E. C.; and Miller, J. A. The side-chain epoxidation and hydroxylation of the hepatocarcinogens safrole and estragole and some related compounds by rat and mouse liver microsomes. Biochim Biophys Acta. 673 (1981) : 504-16.
63. Sekizawa, J.; and Shibamoto, T. Genotoxicity of safrole-related chemicals in microbial test systems. Mutat Res. 101 (1982) : 127-40.

64. Miller, E. C.; Swanson, A. B.; Phillips, D. H.; Fletcher, T. L.; Liem, A.; and Miller, J. A. Structure-activity studies of the carcinogenicities in the mouse and rat of some naturally occurring and synthetic alkenylbenzene derivatives related to safrole and estragole. Cancer Res. 43 (1983) : 1124-34.
65. Phillips, D. H.; Reddy, M. V.; and Randerath, K. 32P-post-labelling analysis of DNA adducts formed in the livers of animals treated with safrole, estragole and other naturally-occurring alkenylbenzenes. II. Newborn male B6C3F1 mice. Carcinogenesis. 5 (1984) : 1623-8.
66. Nokata, M.; Katoh, M.; Inishi, S.; and Sugimoto, T. Protective effect of malotilate (diisopropyl 1, 3-dithiol-2-ylidenemalonate) on chemical-induced hepatotoxicity. J Toxicol Sci. 11 (1986) : 225-36.
67. Wiseman, R. W.; Miller, E. C.; Miller, J. A.; and Liem, A. Structure-activity studies of the hepatocarcinogenicities of alkenylbenzene derivatives related to estragole and safrole on administration to preweanling male C57BL/6J x C3H/HeJ F1 mice. Cancer Res. 47 (1987) : 2275-83.
68. Newberne, P. M.; Carlton, W. W.; and Brown, W. R. Histopathological evaluation of proliferative liver lesions in rats fed trans-anethole in chronic studies. Food Chem Toxicol. 27 (1989) : 21-6.
69. Truhaut, R.; Le Bourhis, B.; Attia, M.; Glomot, R.; Newman, J.; and Caldwell, J. Chronic toxicity/carcinogenicity study of trans-anethole in rats. Food Chem Toxicol. 27 (1989) : 11-20.
70. Marshall, A. D.; and Caldwell, J. Influence of modulators of epoxide metabolism on the cytotoxicity of trans-anethole in freshly isolated rat hepatocytes. Food Chem Toxicol. 30 (1992) : 467-73.
71. Tsai, R. S.; Carrupt, P. A.; Testa, B.; and Caldwell, J. Structure-genotoxicity relationships of allylbenzenes and propenylbenzenes: a quantum chemical study. Chem Res Toxicol. 7 (1994) : 73-6.
72. Hasheminejad, G.; and Caldwell, J. Genotoxicity of the alkenylbenzenes alpha- and beta-asarone, myristicin and elimicin as determined by the UDS assay in cultured rat hepatocytes. Food Chem Toxicol. 32 (1994) : 223-31.

73. Muller, L.; Kasper, P.; Muller-Tegethoff, K.; and Petr, T. The genotoxic potential in vitro and in vivo of the allyl benzene etheric oils estragole, basil oil and trans-anethole. Mutat Res. 325 (1994) : 129-36.
74. Gorelick, N. J. Genotoxicity of trans-anethole in vitro. Mutat Res. 326 (1995) : 199-209.
75. Marshall, A. D.; and Caldwell, J. Lack of influence of modulators of epoxide metabolism on the genotoxicity of trans-anethole in freshly isolated rat hepatocytes assessed with the unscheduled DNA synthesis assay. Food Chem Toxicol. 34 (1996) : 337-45.
76. Kim, S. G.; Liem, A.; Stewart, B. C.; and Miller, J. A. New studies on trans-anethole oxide and trans-asarone oxide. Carcinogenesis. 20 (1999) : 1303-7.
77. Newberne, P.; et al. The FEMA GRAS assessment of trans-anethole used as a flavouring substance. Flavour and Extract Manufacturer's Association. Food Chem Toxicol. 37 (1999) : 789-811.
78. Budavari, S. The merck index an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals, 12<sup>th</sup> ed., U.S.A. MERCK&CO.,INC, 1996: p 631.
79. Lachowicz, K. J.; et al. The synergistic preservative effects of the essential oils of sweet basil (*Ocimum basilicum* L. ) against acid-tolerant food microflora. Lett Appl Microbiol. 26 (1998) : 209-14.
80. Wan, J.; Wilcock, A.; and Coventry, M. J. The effect of essential oils of basil on the growth of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*. J Appl Microbiol. 84 (1998) : 152-6.
81. McDonald, T. A. Estragole [online]. Available from : <http://www.oehha.ca.gov/prop65/pdf/Destrag.pdf> [2003, Jan 8]
82. Aksoy, M. O.; Murphy, R. A.; and Kamm, K. E. Role of Ca<sup>2+</sup> and myosin light chain phosphorelation in regulation of smooth muscle. Am J Physiol. 242 (1982) ; : C109-C16.
83. Berne, R. M.; and Levy, M. N. Smooth muscle. In (eds). Physiology. 4<sup>th</sup> ed. , New york : Mosby, Inc, 1998 : 300-16.
84. Karaki, H.; and Weiss, G. B. Calcium release in smooth muscle. Life Science. 42 (1988) : pp. 111-22.

85. Murphy, R. A. Smooth muscle. In Berne, R. M.; and Levy, M. N. (eds). Physiology. 3<sup>rd</sup> ed., New York ; Mosby-Years Book , 1993 : pp. 309-24.
86. Bourne, H. R.; and Roberts, J. M. Dung Receptor & pharmacodynamics. In. Katzung ,B. G. (ed) , Basic & Clinical Pharmacology. 7<sup>th</sup> ed., U. S. A. ; Prentic Hall ,1998 : pp. 9-33.
87. Blattner, R.; Classen, H. G.; Dehnert, H.; and Doring, H. J. Experiments on isolated smooth muscle preparations (text). English edition. 1980 : 189 pp.
88. Lee, J. J.; and Parsons, M. E. Signaling mechanisms coupled to presynaptic A<sub>1</sub>- and H<sub>3</sub>-receptors in the inhibition of cholinergic contractile responses of the guinea pig ileum. J Pharmacol Exp Ther. 295 (2000) : 607-13.
89. ชรริน พัฒนาอุตสาหกรรมกิจ. ฤทธิ์ของน้ำมันระเหยจากผลมะเขินต่อกล้ามเนื้อเรียบ. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเภสัชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2541.
90. Roberta, J. S.; Darryle, D. S.; and Marlene, L. C. Comparison of contraction to serotonin, carbamylcholine and prostaglandin F<sub>2α</sub> in rat stomach fundus. J Pharmacol Exp Ther. 250 (1989) : 971-8.
91. Boskabady, M. H.; and Shahabi, M. Bronchodilatory and anticholinergic effects of *Nigella sativa* on isolated guinea pig tracheal chains. Iran J Med Sci. 22 (1997) : 133-9.
92. พันจำเอกโชติ วีรวงษ์. บทบาทของเนื้อเยื่อบุผิวและอุณหภูมิต่อการทำงานของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมไก่. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเภสัชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2532.
93. Gandhi, D. N.; and Venkatakrishna-Bhatt, H. Potentiation of acetylcholine-induced smooth muscle contraction in rat ileum by lead. Ann Acad Med Singapore. 28 (1999) : 488-93.
94. Errasti, A. E.; Velo, M. P. R.; Torres, R. M.; Sard, S. P.; and Rothlin, P. R. Characterization of α<sub>1</sub>-adrenoceptor subtypes mediating vasoconstriction in human umbilical vein. Br J Pharmacol. 126 (1999) : 437-42.
95. Daniel, E. E.; Brown, R. D.; Wang, Y. F.; Low, A. M.; Lu-Chao, H.; and Kwan, C. Y. α-adrenoceptors in canine mesenteric artery are predominantly 1A subtype :

- Pharmacological and Immunochemical evidence. J Pharmacol Exp Ther. 291 (1999) : 671-9.
96. Gisbert, R.; Noguera, M. A.; Ivorra, M. D.; and D'Ocon, P. Functional evidence of a constitutively active population of  $\alpha_{1D}$ -adrenoceptors in rat aorta. J Pharmacol Exp Ther. 295 (2000) : 810-7.
97. Villalobos-Molina, R.; Lopez-Guerrero, J. J.; and Ibarra, M. Chloroethylclonidine is a partial  $\alpha_1$ -adrenoceptor agonist in aorta and caudal arteries of the Wistar Kyoto rat. Eur J Pharmacol. 351 (1998) : 49-52.
98. John, C. F.; and Torben, J. Textbook of receptor pharmacology. 1996 : 300 pp.



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ภาคผนวก ก

ตารางที่ 2 แสดงส่วนประกอบของน้ำยาหล่อเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ใช้ในการศึกษาผลของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่ทั้ง 3 สัตว์

สารเคมี	Tyrode solution (จำนวนกรัม/ลิตร)	Krebs-Henseleit solution (จำนวนกรัม/ลิตร)	Calcium free Krebs- Henseleit solution (จำนวนกรัม/ลิตร)
NaCl	8.00	6.90	6.90
KCl	0.20	0.35	0.35
MgCl <sub>2</sub> (6H <sub>2</sub> O)	0.21	-	0.51
NaHCO <sub>3</sub>	1.00	2.09	2.09
MgSO <sub>4</sub> (7H <sub>2</sub> O)	-	0.40	0.40
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.05	-	-
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	-	0.14	0.16
CaCl <sub>2</sub> (2H <sub>2</sub> O)	0.26	0.37	-
Glucose	1.00	1.00	1.00
EGTA	-	-	0.038
Airating gas O <sub>2</sub> 95% + CO <sub>2</sub> 5%			

## ภาคผนวก ข

ตารางที่ 3 แสดงผลของตัวทำละลาย (0.1% tween60) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน Jejunum ของกระต่ายที่แยกออกจากกาย

n	% Contraction						
	10 $\mu$ l	10 $\mu$ l	10 $\mu$ l	10 $\mu$ l	10 $\mu$ l	10 $\mu$ l	10 $\mu$ l
1	-1.0877	-1.5817	-1.6263	-1.7929	-1.6670	-1.1089	-1.4094
2	-0.2175	-0.7839	-0.9218	-0.6652	-1.0859	-0.7327	-0.2182
3	-0.8471	-1.9285	-1.7290	-2.4242	-1.8252	-1.1245	-0.3376
4	-0.9400	-2.1978	-0.9463	-1.2398	-2.1861	-2.5419	-1.2299
5	1.1168	2.6918	1.8086	2.6596	0.3100	1.4333	0.7930
6	-0.8127	-1.9002	-0.8182	-1.0719	-1.8901	-2.1977	-1.0633
7	0.8352	2.0130	1.3525	1.9889	0.2318	1.0719	0.5930
8	-0.1639	-0.5908	-0.6947	-0.5014	-0.8184	-0.5522	-0.1644
Mean $\pm$ SE	-0.2646 $\pm$	-0.5348 $\pm$	-0.4469 $\pm$	-0.3805 $\pm$	-1.1164 $\pm$	-0.7191 $\pm$	-0.3796 $\pm$
	0.1639	0.3036	0.5980	0.6907	0.4866	0.3431	0.4503

ตารางที่ 4 แสดงผลของ MCh แบบสะสมขนาด ( $1 \times 10^{-8}$ - $1 \times 10^{-4}$  M) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน Jejunum ของกระต่ายที่แยกออกจากกาย

n	% Contraction				
	$1 \times 10^{-8}$ M	$1 \times 10^{-7}$ M	$1 \times 10^{-6}$ M	$1 \times 10^{-5}$ M	$1 \times 10^{-4}$ M
1	7.9627	32.1977	66.8478	75.3223	100.0000
2	8.0384	15.4772	46.7851	76.6149	100.0000
3	8.1333	23.5950	51.2599	60.9847	100.0000
4	6.7302	12.7775	45.1215	72.8575	100.0000
5	7.0054	25.7489	65.9237	81.6559	100.0000
6	9.2405	19.9782	38.0952	86.8674	100.0000
7	7.5577	14.6766	31.7119	75.4161	100.0000
8	8.6977	18.0242	36.9414	81.6748	100.0000
Mean $\pm$ SE	7.9207 $\pm$	20.3094 $\pm$	47.8358 $\pm$	76.4242 $\pm$	100.0000 $\pm$
	0.2926	2.3101	4.5950	2.7300	0.0000



ตารางที่ 5 แสดงผลของ MCh แบบสะสมขนาด ( $1 \times 10^{-8}$ - $1 \times 10^{-4}$  M) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน Jejunum ของกระต่ายที่แยกออกจากกาย เมื่อได้รับ atropine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-7}$  M

n	% Contraction				
	$1 \times 10^{-8}$ M	$1 \times 10^{-7}$ M	$1 \times 10^{-6}$ M	$1 \times 10^{-5}$ M	$1 \times 10^{-4}$ M
1	3.9868	3.9400	9.8606	48.9702	85.0176
2	-0.0106	0.5707	2.6776	15.0190	44.3335
3	0.9369	1.1867	4.3845	34.4810	68.1437
4	-0.2003	-0.1197	2.0577	19.9487	70.5743
5	2.1098	1.8242	4.7529	24.9534	75.1347
6	5.0140	4.5621	12.9234	54.0525	80.3169
7	-0.0041	0.5767	2.7025	15.0533	44.8314
8	0.8214	0.9198	3.5424	33.1032	65.3928
Mean $\pm$ SE	1.5818 $\pm$ 0.6952	1.6826 $\pm$ 0.5968	5.3627 $\pm$ 1.3839	30.6977 $\pm$ 5.2416	66.7182 $\pm$ 5.3275

ตารางที่ 6 แสดงผลของ MCh แบบสะสมขนาด ( $1 \times 10^{-8}$ - $1 \times 10^{-4}$  M) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน Jejunum ของกระต่ายที่แยกออกจากกาย เมื่อได้รับ atropine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-6}$  M

n	% Contraction				
	$1 \times 10^{-8}$ M	$1 \times 10^{-7}$ M	$1 \times 10^{-6}$ M	$1 \times 10^{-5}$ M	$1 \times 10^{-4}$ M
1	1.1470	2.5507	4.5946	10.2031	45.3984
2	0.9260	0.8897	1.3247	5.3465	36.3750
3	0.7388	0.9089	1.4383	4.3128	26.0916
4	2.1391	2.8732	2.8552	11.2023	65.5388
5	-1.3100	-0.3909	0.3606	17.2684	60.5330
6	1.8065	0.8900	2.9596	12.0626	57.9389
7	0.9796	0.9177	1.0209	5.8312	33.1400
8	0.7702	1.0032	1.4622	4.3112	25.5383
Mean $\pm$ SE	0.8997 $\pm$ 0.3623	1.2054 $\pm$ 0.3672	2.0021 $\pm$ 0.4835	8.8173 $\pm$ 1.6427	43.8193 $\pm$ 5.6234

ตารางที่ 7 แสดงผลของสารละลายของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่แบบ  
 สะสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$ - $3.2 \times 10^{-3}$  %) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน Jejunum ของ  
 กระต่ายที่แยกออกจากกาย

n	% Contraction						
	$5 \times 10^{-5}$ %	$1 \times 10^{-4}$ %	$2 \times 10^{-4}$ %	$4 \times 10^{-4}$ %	$8 \times 10^{-4}$ %	$1.6 \times 10^{-3}$ %	$3.2 \times 10^{-3}$ %
1	-0.0050	0.4028	2.2788	4.1979	6.2392	6.8017	2.1219
2	0.2167	0.3260	0.5797	1.9938	4.4011	9.1354	-7.5317
3	0.9834	0.3983	1.1435	2.4360	5.1370	4.8951	-7.1784
4	0.2217	0.4755	3.0604	5.1948	4.1401	5.8030	-4.1166
5	0.0011	0.1741	2.2020	4.1335	5.9326	6.4870	1.8581
6	0.3673	0.0798	1.1589	2.0392	4.4391	6.6543	-11.3543
7	0.9787	-0.0681	5.2289	3.0109	1.0673	-0.3800	-13.4984
8	0.1505	-0.9800	-0.6708	0.4353	0.6150	0.5565	-4.1262
Mean $\pm$ SE	0.3643 $\pm$ 0.1412	0.1011 $\pm$ 0.1676	1.8727 $\pm$ 0.6286	2.9302 $\pm$ 0.5400	3.9964 $\pm$ 0.7377	4.9941 $\pm$ 1.1545	-5.4782 $\pm$ 1.9876

ตารางที่ 8 แสดงผลของสารละลายของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่แบบ  
 สะสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$ - $3.2 \times 10^{-3}$  %) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน Jejunum ของ  
 กระต่ายที่แยกออกจากกาย เมื่อได้รับ atropine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-7}$  M

n	% Contraction						
	$5 \times 10^{-5}$ %	$1 \times 10^{-4}$ %	$2 \times 10^{-4}$ %	$4 \times 10^{-4}$ %	$8 \times 10^{-4}$ %	$1.6 \times 10^{-3}$ %	$3.2 \times 10^{-3}$ %
1	0.9330	0.2579	2.0272	2.9873	5.2142	5.5970	-10.6064
2	0.4738	0.7716	1.9116	2.3763	3.7738	3.8304	-2.1471
3	0.4554	1.0885	1.5837	2.3767	3.5176	3.0875	-17.8970
4	0.4249	0.6504	1.3592	2.8803	4.1686	4.2595	-4.1087
5	0.4894	1.1695	1.7016	2.5536	3.7795	3.3173	-19.2294
6	-0.3371	-1.6461	0.0825	1.5344	-0.0191	-2.2118	-17.9352
7	0.4645	0.7209	1.8283	2.2915	3.6595	-30.5275	-5.5450
8	0.3357	0.9540	1.4360	2.2416	3.4924	2.8920	-17.3554
Mean $\pm$ SE	0.2903 $\pm$ 0.1234	0.3658 $\pm$ 0.3221	1.4144 $\pm$ 0.2169	2.3867 $\pm$ 0.1573	3.4055 $\pm$ 0.5333	-0.7819 $\pm$ 4.2639	-10.8464 $\pm$ 2.5133

ตารางที่ 9 แสดงผลของสารละลายของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสคุณใหญ่แบบ  
 สละขนาด ( $5 \times 10^{-5}$ - $3.2 \times 10^{-3}$  %) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน Jejunum ของ  
 กระต่ายที่แยกออกจากกาย เมื่อได้รับ atropine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-6}$  M

n	% Contraction						
	$5 \times 10^{-5}$ %	$1 \times 10^{-4}$ %	$2 \times 10^{-4}$ %	$4 \times 10^{-4}$ %	$8 \times 10^{-4}$ %	$1.6 \times 10^{-3}$ %	$3.2 \times 10^{-3}$ %
1	0.4191	2.1698	1.8773	3.1754	4.0536	5.2080	-1.4858
2	0.3290	0.9764	1.6608	3.5896	4.7019	4.8788	-3.6735
3	0.2099	1.3433	2.1406	3.1624	5.4616	6.3364	-3.0850
4	0.1390	0.6889	1.4348	2.5581	4.1961	5.2697	-1.2876
5	0.2180	1.1959	1.9355	4.5602	5.8601	6.0643	-10.9107
6	-0.1842	-0.1694	-0.2443	1.2725	2.4802	0.6620	-11.1211
7	0.1630	0.8943	1.4474	3.4102	4.3823	4.5350	-8.1592
8	0.1140	1.2924	1.9598	3.0198	5.3654	6.0708	-3.2577
Mean $\pm$ SE	0.1760 $\pm$	1.0490 $\pm$	1.5265 $\pm$	3.0936 $\pm$	4.5627 $\pm$	4.8782 $\pm$	-5.3726 $\pm$
	0.0628	0.2340	0.2681	0.3305	0.3760	0.6424	1.4384

ตารางที่ 10 แสดงผลของตัวทำละลาย (0.1% tween60) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้  
 เล็กส่วน Ileum ของหนูตะเภาที่แยกออกจากกาย

n	% Contraction						
	10 $\mu$ l	10 $\mu$ l	10 $\mu$ l	10 $\mu$ l	10 $\mu$ l	10 $\mu$ l	10 $\mu$ l
1	-1.1549	-3.9177	-5.5275	-7.0700	-17.2529	0.7719	-6.9202
2	-4.9072	-58.4916	-1.3171	-5.6090	-6.6907	-7.2102	-5.8416
3	2.4422	8.6302	5.0469	1.4553	0.6906	0.2258	0.8029
4	-1.4009	-4.1637	-5.7735	-7.3160	-17.4989	0.5359	-7.1662
5	-4.6612	-58.2456	-1.0711	-5.3630	-6.4447	-6.9642	-5.5956
6	0.1158	-0.6082	-0.9999	-0.4616	1.4981	2.1324	1.3314
7	0.3618	-0.3622	-0.7539	-0.2156	1.7441	2.3784	1.5774
8	-0.9011	-2.1872	-2.4614	-1.0615	2.0881	3.5608	3.4675
Mean $\pm$ SE	-1.2632 $\pm$	-14.9183	-1.6072 $\pm$	-3.2052 $\pm$	-5.2333 $\pm$	-0.5724 $\pm$	-2.2931 $\pm$
	0.8780	$\pm$ 9.5858	1.1886	1.2317	2.9311	1.4735	1.5780

ตารางที่ 11 แสดงผลของ MCh แบบสะสมขนาด ( $1 \times 10^{-8}$ - $1 \times 10^{-4}$  M) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน Ileum ของหนูตะเภาที่แยกออกจากกาย

n	% Contraction				
	$1 \times 10^{-8}$ M	$1 \times 10^{-7}$ M	$1 \times 10^{-6}$ M	$1 \times 10^{-5}$ M	$1 \times 10^{-4}$ M
1	3.7126	2.2792	5.0930	23.6094	100.0000
2	0.9444	1.7048	3.2918	21.6321	100.0000
3	3.5791	2.0536	4.9238	30.8283	100.0000
4	0.5812	0.1219	0.8135	27.8399	100.0000
5	0.2156	2.8389	6.5075	31.6753	100.0000
6	1.2405	1.9997	5.5714	23.2538	100.0000
7	0.5254	0.4129	1.5120	21.1826	100.0000
8	0.4191	-0.3246	0.3734	29.7301	100.0000
Mean $\pm$ SE	1.4022 $\pm$	1.3858 $\pm$	3.5108 $\pm$	26.2189 $\pm$	100.0000 $\pm$
	0.3122	0.3332	0.6131	1.9113	0.0000

ตารางที่ 12 แสดงผลของ MCh แบบสะสมขนาด ( $1 \times 10^{-8}$ - $1 \times 10^{-4}$  M) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน Ileum ของหนูตะเภาที่แยกออกจากกาย เมื่อได้รับ atropine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-7}$  M

n	% Contraction				
	$1 \times 10^{-8}$ M	$1 \times 10^{-7}$ M	$1 \times 10^{-6}$ M	$1 \times 10^{-5}$ M	$1 \times 10^{-4}$ M
1	1.3366	1.1194	1.2284	17.3514	93.9344
2	0.7823	0.7130	2.8118	15.4878	89.8934
3	-0.5790	-1.2669	2.1107	16.8828	94.5977
4	0.5062	-2.5408	1.1638	10.1982	91.0664
5	-0.1166	-0.0450	2.4581	16.9247	88.6519
6	-2.1082	-2.7676	0.5680	15.5800	88.0684
7	1.1914	1.1230	1.3777	18.2388	94.3865
8	-0.6356	-3.3247	1.0450	9.7735	88.7307
Mean $\pm$ SE	0.0471 $\pm$	-0.8737 $\pm$	1.5954 $\pm$	15.0547 $\pm$	91.1662 $\pm$
	0.4065	0.6504	0.2744	1.1510	0.9755

ตารางที่ 13 แสดงผลของ MCh แบบสะสมขนาด ( $1 \times 10^{-8}$ - $1 \times 10^{-4}$  M) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน Ileum ของหนูตะเภาที่แยกออกจากกาย เมื่อได้รับ atropine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-5}$  M

n	% Contraction				
	$1 \times 10^{-8}$ M	$1 \times 10^{-7}$ M	$1 \times 10^{-6}$ M	$1 \times 10^{-5}$ M	$1 \times 10^{-4}$ M
1	0.1048	-0.1531	-0.1169	0.4151	43.0322
2	0.2271	-0.5397	-0.2271	1.0601	17.9451
3	-0.6016	-0.8844	-0.6662	0.3969	4.9178
4	-1.2426	-1.6713	-1.5761	-2.1235	3.6525
5	-0.5775	-1.3432	-0.8101	0.5684	17.5284
6	0.4148	0.0303	0.2804	1.4365	4.8027
7	-0.9680	0.3660	0.2928	1.3096	15.8661
8	-1.1894	-1.8536	-2.0149	-2.4200	2.6683
Mean $\pm$ SE	-0.4790 $\pm$	-0.7561 $\pm$	-0.6048 $\pm$	0.0804 $\pm$	13.8016 $\pm$
	0.2311	0.2894	0.2972	0.5323	4.7746

ตารางที่ 14 แสดงผลของสารละลายของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่แบบสะสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$ - $3.2 \times 10^{-3}$  %) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน Ileum ของหนูตะเภาที่แยกออกจากกาย

n	% Contraction						
	$5 \times 10^{-5}$ %	$1 \times 10^{-4}$ %	$2 \times 10^{-4}$ %	$4 \times 10^{-4}$ %	$8 \times 10^{-4}$ %	$1.6 \times 10^{-3}$ %	$3.2 \times 10^{-3}$ %
1	3.7180	3.6754	-4.7508	-10.4827	-3.0893	42.7583	53.1467
2	-3.3367	-8.3621	-8.2027	-9.1803	-5.5122	39.9797	54.9119
3	-3.7674	-4.7103	-7.6000	-13.1424	-3.9154	16.3089	26.8168
4	-4.1539	-5.7198	-7.9596	-13.7942	-3.2030	14.3729	27.8523
5	-0.5207	-1.0414	0.0779	-3.3373	12.3336	39.9473	31.6457
6	2.2807	-2.2951	-3.5706	1.6052	9.8577	40.6562	55.3358
7	0.2594	0.5920	0.3390	1.0517	3.5430	14.9269	34.8131
8	0.2105	-0.8455	-0.3757	-0.6324	2.5887	12.5540	30.6893
Mean $\pm$ SE	-0.6638 $\pm$	-2.3384 $\pm$	-4.0053 $\pm$	-5.9891 $\pm$	1.5754 $\pm$	27.6880 $\pm$	39.4014 $\pm$
	1.1077	1.1397	1.3416	1.4843	2.4383	4.1728	4.6146

ตารางที่ 15 แสดงผลของสารละลายของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสคุณใหญ่แบบ  
 สะสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$ - $3.2 \times 10^{-3}$  %) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน Ileum ของหนู  
 ตะเภาทีแยกออกจากกาย เมื่อได้รับ atropine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-7}$  M

n	% Contraction						
	$5 \times 10^{-5}$ %	$1 \times 10^{-4}$ %	$2 \times 10^{-4}$ %	$4 \times 10^{-4}$ %	$8 \times 10^{-4}$ %	$1.6 \times 10^{-3}$ %	$3.2 \times 10^{-3}$ %
1	0.25879	-1.54009	3.7059	4.4868	5.62151	11.286	35.83108
2	-0.03554	-1.6106	3.6791	4.29919	5.34802	10.86553	34.90612
3	-3.29885	-1.99471	0.1368	3.18908	10.5699	42.66791	49.21154
4	3.0438	-0.64668	-2.81006	6.8005	24.13354	32.75851	31.45866
5	-0.1158	-0.82348	0.80579	4.06594	8.80097	24.09168	31.24085
6	-1.7419	5.76094	7.22537	11.53525	15.23672	19.18766	22.61865
7	-0.10402	-1.17884	0.51879	0.35828	0.09759	9.61951	33.34147
8	-0.19939	0.15746	1.04831	1.51555	5.62663	14.25442	29.29785
Mean $\pm$ SE	-0.2203 $\pm$ 0.6369	-0.3204 $\pm$ 0.8885	1.5483 $\pm$ 1.0675	3.9586 $\pm$ 1.2159	8.6693 $\pm$ 2.6198	19.6984 $\pm$ 4.2075	33.1773 $\pm$ 2.6713

ตารางที่ 16 แสดงผลของสารละลายของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสคุณใหญ่แบบ  
 สะสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$ - $3.2 \times 10^{-3}$  %) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน Ileum ของหนู  
 ตะเภาทีแยกออกจากกาย เมื่อได้รับ atropine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-5}$  M

n	% Contraction						
	$5 \times 10^{-5}$ %	$1 \times 10^{-4}$ %	$2 \times 10^{-4}$ %	$4 \times 10^{-4}$ %	$8 \times 10^{-4}$ %	$1.6 \times 10^{-3}$ %	$3.2 \times 10^{-3}$ %
1	-3.7005	-4.6656	-3.3608	-1.3936	3.1531	22.8098	42.1764
2	-2.9469	-2.3481	-2.4242	-0.7593	5.4829	24.7662	41.7834
3	-2.4777	4.6550	3.5622	7.2897	10.8337	39.3142	67.3392
4	10.0693	6.6950	16.2822	15.8038	26.8603	48.3039	67.2302
5	-0.1859	0.7914	0.7578	2.8660	8.0595	38.2244	46.9217
6	-5.1331	1.6132	-1.0910	7.8132	15.9826	31.4757	40.9162
7	0.1392	-2.1178	-0.6593	-2.4972	4.9952	43.6494	62.5111
8	-1.0723	-1.9910	-2.2393	0.0367	11.3452	41.1187	52.8155
Mean $\pm$ SE	-0.6635 $\pm$ 1.6580	0.3290 $\pm$ 1.3666	1.3535 $\pm$ 2.2659	3.6449 $\pm$ 2.2145	10.8391 $\pm$ 2.7158	36.7324 $\pm$ 3.1969	50.5766 $\pm$ 4.0617

ตารางที่ 17 แสดงผลของตัวทำละลาย (0.1% tween60) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ กระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาวที่แยกออกจากกาย

n	% Contraction						
	10 $\mu$ l	10 $\mu$ l	10 $\mu$ l	10 $\mu$ l	10 $\mu$ l	10 $\mu$ l	10 $\mu$ l
1	-0.9354	-1.4297	-1.4743	-1.6409	-1.5150	-0.9569	-1.2574
2	-0.3695	-0.9359	-1.0738	-0.8172	-1.2379	-0.8847	-0.3702
3	-1.1721	-2.2535	-2.0540	-2.7492	-2.1502	-1.4495	-0.6626
4	-0.6150	-1.8728	-0.6213	-0.9148	-1.8611	-2.2169	-0.9049
5	1.6508	3.2258	2.3426	3.1936	0.8440	1.9673	1.3270
6	-1.3467	-2.4342	-1.3522	-1.6059	-2.4241	-2.7317	-1.5973
7	1.5482	2.7260	2.0655	2.7019	0.9448	1.7849	1.3060
8	-0.8769	-1.3038	-1.4077	-1.2144	-1.5314	-1.2652	-0.8774
Mean $\pm$ SE	-0.2646 $\pm$ 0.2959	-0.5348 $\pm$ 0.7869	-0.4469 $\pm$ 0.5961	-0.3808 $\pm$ 0.7577	-1.1164 $\pm$ 0.4585	-0.7191 $\pm$ 0.6079	-0.3796 $\pm$ 0.3921

ตารางที่ 18 แสดงผลของ MCh แบบสะสมขนาด ( $1 \times 10^{-8}$ - $1 \times 10^{-4}$  M) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาวที่แยกออกจากกาย

n	% Contraction				
	$1 \times 10^{-8}$ M	$1 \times 10^{-7}$ M	$1 \times 10^{-6}$ M	$1 \times 10^{-5}$ M	$1 \times 10^{-4}$ M
1	25.7392	45.6381	76.4584	92.8669	100.0000
2	27.0248	49.2272	85.9540	98.9981	100.0000
3	24.0271	58.3417	82.6311	96.9980	100.0000
4	25.9969	45.4208	76.3087	92.3901	100.0000
5	34.9827	47.8409	80.4896	97.2082	100.0000
6	53.6302	75.1690	82.9843	86.1258	100.0000
7	21.2824	52.2636	83.1401	98.0012	100.0000
8	15.1028	37.6736	78.6352	98.2181	100.0000
Mean $\pm$ SE	28.4732 $\pm$ 4.0996	51.4469 $\pm$ 3.9835	80.8252 $\pm$ 1.2245	95.1008 $\pm$ 1.5483	100.0000 $\pm$ 0.0000

ตารางที่ 19 แสดงผลของ MCh แบบสะสมขนาด ( $1 \times 10^{-8}$ - $1 \times 10^{-4}$  M) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาวที่แยกออกจากกาย เมื่อได้รับ atropine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-7}$  M

n	% Contraction				
	$1 \times 10^{-8}$ M	$1 \times 10^{-7}$ M	$1 \times 10^{-6}$ M	$1 \times 10^{-5}$ M	$1 \times 10^{-4}$ M
1	0.1103	0.3721	2.6040	28.5780	77.0771
2	-0.3947	5.7941	12.7383	63.8176	96.5358
3	0.4926	2.3498	8.8504	58.1382	90.6488
4	4.8257	3.9734	32.6941	88.2950	105.9184
5	1.4539	1.4688	2.5080	28.0014	76.9590
6	-2.4996	-2.3887	2.6518	58.1095	98.5511
7	2.4891	6.0134	42.0813	45.6584	74.8959
8	0.0759	4.7832	9.2738	47.5033	84.0603
Mean $\pm$ SE	0.8192 $\pm$	2.7958 $\pm$	14.1752 $\pm$	52.2627 $\pm$	88.0808 $\pm$
	0.7664	1.0298	5.3099	6.9647	4.0985

ตารางที่ 20 แสดงผลของ MCh แบบสะสมขนาด ( $1 \times 10^{-8}$ - $1 \times 10^{-4}$  M) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาวที่แยกออกจากกาย เมื่อได้รับ atropine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-6}$  M

n	% Contraction				
	$1 \times 10^{-8}$ M	$1 \times 10^{-7}$ M	$1 \times 10^{-6}$ M	$1 \times 10^{-5}$ M	$1 \times 10^{-4}$ M
1	0.0661	-0.7537	3.4011	19.1420	65.3177
2	0.4957	0.5144	0.8650	6.7259	30.0257
3	-0.7535	1.2228	1.0836	16.1805	47.7739
4	-1.5549	-0.9903	7.2868	22.4948	37.4541
5	0.9272	1.6640	1.9800	18.2527	68.9367
6	-0.9939	-0.2102	-0.4894	9.0640	79.4203
7	0.3290	1.5816	-0.1591	10.2209	49.1947
8	-0.4543	-0.5720	-0.5654	16.4796	79.3028
Mean $\pm$ SE	-0.2423 $\pm$	0.3071 $\pm$	1.6753 $\pm$	14.8200 $\pm$	57.1782 $\pm$
	0.2966	0.3826	0.9320	1.9538	6.6376



ตารางที่ 21 แสดงผลของสารละลายของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่แบบ  
 สะสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$ - $3.2 \times 10^{-3}$  %) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารส่วน fundus  
 ของหนูขาวที่แยกออกจากกาย

n	% Contraction						
	$5 \times 10^{-5}$ %	$1 \times 10^{-4}$ %	$2 \times 10^{-4}$ %	$4 \times 10^{-4}$ %	$8 \times 10^{-4}$ %	$1.6 \times 10^{-3}$ %	$3.2 \times 10^{-3}$ %
1	0.2950	3.7915	10.1369	16.6355	20.4539	22.9216	24.7303
2	-0.1213	6.7406	5.9388	11.3955	14.1541	19.4311	20.8719
3	1.0142	1.7850	4.6759	10.0309	15.0094	17.5524	12.6496
4	-1.6380	-1.5616	1.8229	5.8640	16.3391	57.1428	31.1479
5	0.7951	4.3634	12.8226	20.7409	24.1101	41.3490	23.1186
6	1.6358	2.4814	5.2672	10.3480	15.4734	17.9728	13.0518
7	1.3328	2.7291	8.6169	10.8639	13.1247	14.6371	13.8079
8	5.5151	5.5717	6.8860	10.0468	12.4567	18.4895	24.9562
Mean $\pm$ SE	1.1036 $\pm$	3.2376 $\pm$	7.0209 $\pm$	11.9907 $\pm$	16.3902 $\pm$	26.1870 $\pm$	20.5418 $\pm$
	0.7267	0.8991	1.2152	1.6236	1.4015	5.3103	2.3905

ตารางที่ 22 แสดงผลของสารละลายของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่แบบ  
 สะสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$ - $3.2 \times 10^{-3}$  %) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารส่วน fundus  
 ของหนูขาวที่แยกออกจากกาย เมื่อได้รับ atropine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-7}$  M

n	% Contraction						
	$5 \times 10^{-5}$ %	$1 \times 10^{-4}$ %	$2 \times 10^{-4}$ %	$4 \times 10^{-4}$ %	$8 \times 10^{-4}$ %	$1.6 \times 10^{-3}$ %	$3.2 \times 10^{-3}$ %
1	0.3740	-0.3968	-0.2904	0.3273	-0.1951	0.1010	1.0196
2	-0.5705	-0.8949	0.0214	-0.8849	0.0803	0.6835	4.4397
3	-0.0115	-0.1463	0.0987	-0.2846	-0.0109	2.8821	2.3110
4	-0.5233	3.7549	3.5219	4.1471	7.9616	16.8853	1.5156
5	1.3880	0.6599	0.7781	1.3650	0.8889	1.1483	2.0513
6	0.3384	0.0050	0.7992	0.7633	-0.0654	2.3355	0.5004
7	-0.5595	-1.0862	1.4578	1.0817	0.8228	0.7606	0.7279
8	0.2163	0.0943	-0.0607	-0.1405	0.6122	-0.5090	-0.0425
Mean $\pm$ SE	0.6852 $\pm$	0.8402 $\pm$	1.4680 $\pm$	1.8246 $\pm$	2.5057 $\pm$	4.7530 $\pm$	4.1644 $\pm$
	0.2348	0.5380	0.4405	0.5465	0.9686	2.0169	0.4960

ตารางที่ 23 แสดงผลของสารละลายของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่แบบ  
 สะสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$ - $3.2 \times 10^{-3}$  %) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารส่วน fundus  
 ของหนูขาวที่แยกออกจากกาย เมื่อได้รับ atropine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-6}$  M

n	% Contraction						
	$5 \times 10^{-5}$ %	$1 \times 10^{-4}$ %	$2 \times 10^{-4}$ %	$4 \times 10^{-4}$ %	$8 \times 10^{-4}$ %	$1.6 \times 10^{-3}$ %	$3.2 \times 10^{-3}$ %
1	0.1008	-0.0883	0.0420	0.2330	0.0517	0.6416	2.8584
2	0.1529	0.4821	0.2767	0.2887	0.3405	2.3436	0.8654
3	-0.2569	-0.6939	0.3643	-0.3979	-0.3379	2.7814	-0.2866
4	3.9146	1.1655	2.6837	1.2757	6.4653	4.7061	1.7384
5	0.0421	-0.1908	-0.0288	0.1588	-0.0457	0.6523	2.6846
6	-0.2904	-0.5174	0.4016	-0.8778	-0.3715	0.9519	2.6310
7	1.0393	-0.2295	0.7795	1.1311	0.3470	0.6478	2.2637
8	-1.1987	0.5670	-0.6920	1.6659	1.7763	3.5199	4.4692
Mean $\pm$ SE	0.4380 $\pm$	0.0618 $\pm$	0.4784 $\pm$	0.4347 $\pm$	1.0282 $\pm$	2.0306 $\pm$	2.1530 $\pm$
	0.5427	0.2207	0.3493	0.3065	0.8127	0.5500	0.5030

ตารางที่ 24 แสดงผลของตัวทำละลาย (0.1% tween60) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอด  
 ลมของหนูตะเภาที่แยกออกจากกาย

n	% Contraction						
	10 $\mu$ l	10 $\mu$ l	10 $\mu$ l	10 $\mu$ l	10 $\mu$ l	10 $\mu$ l	10 $\mu$ l
1	-1.4127	-1.9067	-1.9513	-2.1179	-1.9920	-1.4339	-1.7344
2	0.1075	-0.4589	-0.5968	-0.3402	-0.7609	-0.4077	0.1068
3	-0.3131	-1.3945	-1.1950	-1.8902	-1.2912	-0.5905	0.1964
4	-1.4740	-2.7318	-1.4803	-1.7738	-2.7201	-3.0759	-1.7639
5	1.8298	3.4048	2.5216	3.3726	1.0230	2.1463	1.5060
6	-1.5257	-2.6132	-1.5312	-1.7849	-2.6031	-2.9107	-1.7763
7	0.9872	2.1650	1.5045	2.1409	0.3838	1.2239	0.7450
8	0.6832	1.8610	1.2005	1.8369	0.0798	0.9199	0.4410
Mean $\pm$ SE	-0.1397 $\pm$	-0.2093 $\pm$	-0.1910 $\pm$	-0.0696 $\pm$	-0.9851 $\pm$	-0.5161 $\pm$	-0.2849 $\pm$
	0.4460	0.8396	0.5961	0.7769	0.4969	0.6725	0.4569

ตารางที่ 25 แสดงผลของ MCh แบบสะสมขนาด ( $1 \times 10^{-8}$ - $1 \times 10^{-4}$  M) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมของหนูตะเภาที่แยกออกจากกาย

n	% Contraction				
	$1 \times 10^{-8}$ M	$1 \times 10^{-7}$ M	$1 \times 10^{-6}$ M	$1 \times 10^{-5}$ M	$1 \times 10^{-4}$ M
1	2.1901	20.8624	40.8092	57.0152	100.0000
2	4.6603	9.9657	31.7981	74.9141	100.0000
3	2.4523	21.0295	41.6533	59.6081	100.0000
4	2.2111	11.2832	34.5780	81.4571	100.0000
5	1.6841	13.9783	52.2809	80.0398	100.0000
6	1.6595	13.6476	50.6022	79.1904	100.0000
7	2.5381	10.3052	37.4547	82.4639	100.0000
8	2.8638	10.3948	36.2903	80.5679	100.0000
Mean $\pm$ SE	2.5324 $\pm$	13.9333 $\pm$	40.6833 $\pm$	74.4071 $\pm$	100.0000 $\pm$
	0.3366	1.6196	2.6042	3.6078	0.0000

ตารางที่ 26 แสดงผลของ MCh แบบสะสมขนาด ( $1 \times 10^{-8}$ - $1 \times 10^{-4}$  M) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมของหนูตะเภาที่แยกออกจากกาย เมื่อได้รับ atropine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-7}$  M

n	% Contraction				
	$1 \times 10^{-8}$ M	$1 \times 10^{-7}$ M	$1 \times 10^{-6}$ M	$1 \times 10^{-5}$ M	$1 \times 10^{-4}$ M
1	-0.6782	1.3942	11.0498	70.4620	70.4620
2	-1.0308	-1.5934	-0.7145	2.7699	21.5299
3	1.9923	8.4267	14.2736	28.3374	56.6763
4	-1.2050	-0.9353	1.4305	12.1675	70.9465
5	-1.3915	-1.0260	1.6817	13.9637	48.7865
6	0.2620	2.4871	10.9052	39.3816	-7.7246
7	0.0252	1.0406	5.6897	22.2869	66.6014
8	0.0335	0.9701	5.4450	23.3579	70.2995
Mean $\pm$ SE	-0.2491 $\pm$	1.3455 $\pm$	6.2201 $\pm$	26.5909 $\pm$	49.6972 $\pm$
	0.3885	1.1271	1.9023	7.3863	10.1182

ตารางที่ 27 แสดงผลของ MCh แบบสะสมขนาด ( $1 \times 10^{-8}$ - $1 \times 10^{-4}$  M) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมของหนูตะเภาที่แยกออกจากกาย เมื่อได้รับ atropine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-6}$  M

n	% Contraction				
	$1 \times 10^{-8}$ M	$1 \times 10^{-7}$ M	$1 \times 10^{-6}$ M	$1 \times 10^{-5}$ M	$1 \times 10^{-4}$ M
1	-0.8385	-1.3230	-1.0362	1.3268	30.6750
2	-0.3632	-0.3337	-0.5799	0.8651	4.8396
3	-0.0514	14.5521	-0.8388	0.2076	6.4608
4	-1.3358	-1.5069	-1.2450	1.6319	31.5971
5	-0.1479	1.0445	2.3746	6.8656	30.1586
6	0.0744	1.0123	2.1676	5.6243	21.9833
7	-0.0425	-0.0300	0.8020	5.1261	23.1820
8	-0.3289	-0.2314	0.6253	5.2512	24.6839
Mean $\pm$ SE	-0.3792 $\pm$	1.6480 $\pm$	0.2837 $\pm$	3.3623 $\pm$	21.6975 $\pm$
	0.1695	1.8724	0.5069	0.9200	3.7267

ตารางที่ 28 แสดงผลของสารละลายของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสคุณใหญ่แบบสะสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$ - $3.2 \times 10^{-3}$  %) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมของหนูตะเภาที่แยกออกจากกาย

n	% Contraction						
	$5 \times 10^{-5}$ %	$1 \times 10^{-4}$ %	$2 \times 10^{-4}$ %	$4 \times 10^{-4}$ %	$8 \times 10^{-4}$ %	$1.6 \times 10^{-3}$ %	$3.2 \times 10^{-3}$ %
1	0.3059	0.7441	1.7261	2.5638	5.1975	9.0372	14.9144
2	0.5725	1.1281	2.1855	3.0424	5.6714	9.5651	15.9041
3	2.5262	4.9810	6.8715	7.6360	7.9225	7.8387	9.0949
4	0.1817	6.5388	7.0644	12.4892	18.3668	23.9487	31.1538
5	0.2353	0.8086	1.3915	2.5154	4.8660	8.2844	13.8634
6	0.5592	1.2175	2.4154	4.9116	8.6488	14.9617	15.7399
7	0.6359	2.3040	4.5820	6.4282	8.0879	9.9098	12.9738
8	0.3466	2.0832	4.2882	6.0100	7.6054	9.5232	12.6221
Mean $\pm$ SE	0.6704 $\pm$	2.4757 $\pm$	3.8156 $\pm$	5.6996 $\pm$	8.2958 $\pm$	11.6336 $\pm$	15.7833 $\pm$
	0.2717	0.7576	0.7970	1.1812	1.5263	1.9217	2.3274

ตารางที่ 29 แสดงผลของสารละลายของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่แบบ  
 สะสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$ - $3.2 \times 10^{-3}$  %) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมของหนูตะเภาที่แยก  
 ออกจากกาย เมื่อได้รับ atropine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-7}$  M

n	% Contraction						
	$5 \times 10^{-5}$ %	$1 \times 10^{-4}$ %	$2 \times 10^{-4}$ %	$4 \times 10^{-4}$ %	$8 \times 10^{-4}$ %	$1.6 \times 10^{-3}$ %	$3.2 \times 10^{-3}$ %
1	-1.5785	-5.5032	-8.1922	-11.6165	-13.8650	-15.1118	-14.5653
2	-2.7894	-5.3150	-6.0788	-7.0418	-7.5510	-8.4473	-7.3960
3	-3.3769	-3.3284	-5.3426	-6.0898	-4.3997	-3.0934	3.3910
4	-1.3734	-3.9868	-6.7806	-10.1663	-12.6185	-14.4853	-14.9088
5	-0.3858	-0.5351	-0.5518	1.0702	2.3363	2.3363	5.8884
6	-0.2385	-0.5762	-0.9646	-0.5227	0.9229	2.1743	5.6768
7	-0.4653	-1.9143	-4.7498	-10.2772	-15.4624	-19.5194	-19.4486
8	-0.2964	-1.7850	-4.6162	-10.1319	-15.1104	-19.2778	-19.1998
Mean $\pm$ SE	-1.1286 $\pm$ 0.4285	-2.3178 $\pm$ 0.6966	-3.6654 $\pm$ 0.9449	-5.4184 $\pm$ 1.6883	-6.4603 $\pm$ 2.5394	-7.3224 $\pm$ 3.1927	-5.3267 $\pm$ 3.9095

ตารางที่ 30 แสดงผลของสารละลายของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่แบบ  
 สะสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$ - $3.2 \times 10^{-3}$  %) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมของหนูตะเภาที่แยก  
 ออกจากกาย เมื่อได้รับ atropine ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-6}$  M

n	% Contraction						
	$5 \times 10^{-5}$ %	$1 \times 10^{-4}$ %	$2 \times 10^{-4}$ %	$4 \times 10^{-4}$ %	$8 \times 10^{-4}$ %	$1.6 \times 10^{-3}$ %	$3.2 \times 10^{-3}$ %
1	-3.0529	-6.2864	-8.4586	-10.8357	-13.2336	-14.1158	-11.9722
2	-0.2436	0.6467	1.4138	1.6739	2.5243	3.1310	2.5364
3	-2.9806	-5.2316	-2.4810	-1.4582	2.6297	5.7109	9.6383
4	-1.4548	-4.2662	-7.0806	-9.6123	-11.9306	-13.5362	-12.3900
5	-0.4832	-1.2658	-1.7747	-2.0402	0.0689	0.0689	2.2396
6	-1.1337	-1.2382	-1.7778	-1.8343	-0.7618	1.4313	8.5811
7	-0.5355	-2.5887	-7.6348	-14.3862	-22.5064	-31.0382	-36.4596
8	-0.7278	-2.8488	-7.7136	-14.6743	-22.4579	-31.1519	-36.7507
Mean $\pm$ SE	-1.3265 $\pm$ 0.3927	-2.8849 $\pm$ 0.8115	-4.4384 $\pm$ 1.3116	-6.6459 $\pm$ 2.2804	-8.2084 $\pm$ 3.7872	-9.9375 $\pm$ 5.2961	-9.3222 $\pm$ 6.6272

ตารางที่ 31 แสดงผลของตัวทำละลาย (0.1% tween60) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาวที่แยกออกจากกาย

n	% Contraction						
	10 $\mu$ l	10 $\mu$ l	10 $\mu$ l	10 $\mu$ l	10 $\mu$ l	10 $\mu$ l	10 $\mu$ l
1	0.3396	-1.0266	0.4014	2.0531	2.7246	1.8679	1.0651
2	0.1283	0.1023	1.2850	2.0839	1.6830	1.4321	2.0407
3	1.0470	1.2930	4.1987	5.7437	4.4446	3.3300	4.1218
4	0.0683	0.0423	1.2250	2.0239	1.6230	1.3721	1.9807
5	0.9930	1.2390	4.1447	5.6897	4.3906	3.2760	4.0678
6	0.0803	0.0543	1.2370	2.0359	1.6350	1.3841	1.9927
7	0.9920	1.2380	4.1437	5.6887	4.3896	3.2750	4.0668
8	0.9960	1.2420	4.1477	5.6927	4.3936	3.2790	4.0708
Mean $\pm$ SE	0.5806 $\pm$	0.5230 $\pm$	2.5979 $\pm$	3.8765 $\pm$	3.1605 $\pm$	2.4020 $\pm$	2.9258 $\pm$
	0.1639	0.3036	0.5980	0.6907	0.4866	0.3401	0.4503

ตารางที่ 32 แสดงผลของ NE แบบสะสมขนาด ( $1 \times 10^{-9}$ - $1 \times 10^{-5}$  M) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาวที่แยกออกจากกาย

n	% Contraction				
	$1 \times 10^{-8}$ M	$1 \times 10^{-7}$ M	$1 \times 10^{-6}$ M	$1 \times 10^{-5}$ M	$1 \times 10^{-4}$ M
1	13.4420	71.8496	89.1617	95.3939	100.0000
2	18.9760	78.1885	90.8822	96.2212	100.0000
3	38.0110	79.5948	98.1960	107.9213	100.0000
4	29.3530	63.4360	84.4275	96.7915	100.0000
5	42.8290	72.3902	89.7535	100.5046	100.0000
6	30.7380	55.6651	74.1316	88.7684	100.0000
7	40.2310	60.9435	79.2674	94.7054	100.0000
8	28.6700	54.9891	74.9263	89.3136	100.0000
Mean $\pm$ SE	30.2813 $\pm$	67.1321 $\pm$	85.0933 $\pm$	96.2025 $\pm$	100.0000 $\pm$
	3.6135	3.4287	2.9921	2.1622	0.0000

ตารางที่ 33 แสดงผลของ NE แบบสะสมขนาด ( $1 \times 10^{-9}$ - $1 \times 10^{-5}$  M) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาวที่แยกออกจากกาย เมื่อได้รับ prazosin ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-8}$  M

n	% Contraction				
	$1 \times 10^{-8}$ M	$1 \times 10^{-7}$ M	$1 \times 10^{-6}$ M	$1 \times 10^{-5}$ M	$1 \times 10^{-4}$ M
1	-4.4661	-8.8003	-9.2095	13.4201	21.7150
2	-6.1480	-11.6270	-10.2421	17.8655	19.0720
3	-2.2459	-2.4840	-0.0412	6.2889	5.7418
4	-0.0799	1.8719	21.7868	32.2128	30.1682
5	-8.1066	-8.9080	17.2031	37.3365	46.8271
6	-10.0504	-7.3656	23.2493	41.5924	48.6318
7	-25.4879	-30.2016	41.3190	105.9574	134.7557
8	-0.8966	-3.2422	4.7713	52.5297	57.8727
Mean $\pm$ SE	-7.1852 $\pm$ 2.8876	-8.8446 $\pm$ 3.4141	11.1046 $\pm$ 6.3308	38.4004 $\pm$ 11.0922	45.5980 $\pm$ 14.1491

ตารางที่ 34 แสดงผลของ NE แบบสะสมขนาด ( $1 \times 10^{-9}$ - $1 \times 10^{-5}$  M) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาวที่แยกออกจากกาย เมื่อได้รับ prazosin ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-7}$  M

n	% Contraction				
	$1 \times 10^{-8}$ M	$1 \times 10^{-7}$ M	$1 \times 10^{-6}$ M	$1 \times 10^{-5}$ M	$1 \times 10^{-4}$ M
1	-0.2115	-2.7906	-3.9717	-5.0758	1.0684
2	-2.5283	-5.8957	-7.3107	-7.0721	-1.3409
3	-9.1896	-7.2459	-7.0536	5.6868	19.2239
4	-5.4818	-10.0287	-10.0179	0.7794	17.8185
5	-6.3870	-11.6174	-9.9064	9.0098	21.0777
6	-5.5843	-10.7265	-10.8188	0.0687	17.2443
7	0.5613	1.1290	3.4188	3.9355	1.6903
8	-6.3870	-11.6174	-9.9064	9.0098	21.0777
Mean $\pm$ SE	-4.4010 $\pm$ 1.1883	-7.3492 $\pm$ 1.6356	-6.9458 $\pm$ 1.6817	2.0427 $\pm$ 2.1263	12.2325 $\pm$ 3.4890

ตารางที่ 35 แสดงผลของสารละลายของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่แบบ  
 สะสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$ - $3.2 \times 10^{-3}$  %) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนู  
 ขาวที่แยกออกจากกาย

n	% Contraction						
	$5 \times 10^{-5}$ %	$1 \times 10^{-4}$ %	$2 \times 10^{-4}$ %	$4 \times 10^{-4}$ %	$8 \times 10^{-4}$ %	$1.6 \times 10^{-3}$ %	$3.2 \times 10^{-3}$ %
1	0.3076	0.8570	2.7604	3.6036	5.6032	19.8720	72.6132
2	0.4799	1.6590	3.4634	4.2093	7.1846	18.7923	83.7387
3	3.8027	29.4574	46.6987	57.0536	67.6168	73.0907	51.5957
4	-3.0560	3.9136	19.4555	28.4978	37.2434	39.2402	39.2229
5	-2.7920	-0.7297	13.9800	25.4963	34.3578	39.2059	39.2510
6	2.1460	0.9461	2.6623	2.3422	13.7645	38.2561	47.6333
7	1.5344	6.0918	11.4035	17.6639	26.0043	24.7214	21.2784
8	4.1362	7.2116	12.1387	17.4984	24.5667	28.8903	20.9154
Mean $\pm$ SE	0.8199 $\pm$	6.1758 $\pm$	14.0703 $\pm$	19.5456 $\pm$	27.0426 $\pm$	35.2586 $\pm$	47.0311 $\pm$
	0.9506	3.4640	5.1322	6.4302	7.1231	6.1690	7.8942

ตารางที่ 36 แสดงผลของสารละลายของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่แบบ  
 สะสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$ - $3.2 \times 10^{-3}$  %) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนู  
 ขาวที่แยกออกจากกาย เมื่อได้รับ prazosin ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-8}$  M

n	% Contraction						
	$5 \times 10^{-5}$ %	$1 \times 10^{-4}$ %	$2 \times 10^{-4}$ %	$4 \times 10^{-4}$ %	$8 \times 10^{-4}$ %	$1.6 \times 10^{-3}$ %	$3.2 \times 10^{-3}$ %
1	-0.1296	-2.2569	-0.1238	0.2063	2.7342	5.0413	6.4172
2	1.0188	1.7289	-0.6406	1.0111	0.9880	4.2837	7.2862
3	-0.4961	-2.8585	-3.5363	-2.6941	-2.4979	-1.2230	-0.7413
4	-0.1922	3.0441	0.6688	1.5297	5.5654	6.7646	8.7017
5	0.7331	-1.2257	-1.9177	-3.0818	-2.1054	-0.2580	-1.1612
6	-12.0555	-14.9380	6.9119	37.4258	55.2763	65.6182	42.2135
7	-14.9351	-15.0552	7.8690	38.4479	56.4775	68.6354	44.1740
8	-12.1276	-15.7761	35.4433	52.8810	65.0693	42.4454	27.1983
Mean $\pm$ SE	-4.7730 $\pm$	-5.9172 $\pm$	5.5843 $\pm$	15.7157 $\pm$	22.6884 $\pm$	23.9134 $\pm$	16.7610 $\pm$
	2.4462	2.8209	4.4990	8.1500	10.6998	10.6356	6.5431



ตารางที่ 37 แสดงผลของสารละลายของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่แบบ  
 สะสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$ - $3.2 \times 10^{-3}$  %) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนู  
 ขาวที่แยกออกจากกาย เมื่อได้รับ prazosin ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-7}$  M

n	% Contraction						
	$5 \times 10^{-5}$ %	$1 \times 10^{-4}$ %	$2 \times 10^{-4}$ %	$4 \times 10^{-4}$ %	$8 \times 10^{-4}$ %	$1.6 \times 10^{-3}$ %	$3.2 \times 10^{-3}$ %
1	-0.1209	-2.1039	-0.1154	0.1923	2.5489	4.6995	5.9822
2	0.4744	-1.6261	0.3921	0.7459	3.7020	5.8464	7.4615
3	0.2742	0.7773	0.5829	0.7643	1.3149	2.6362	2.2432
4	1.3233	-0.0693	0.2556	0.3942	1.1436	2.2936	1.8778
5	0.5559	0.7748	0.7834	1.3693	2.8308	2.4252	2.6376
6	0.5559	0.7748	0.7834	1.3693	2.8308	2.4252	2.6376
7	0.1276	-0.2105	-1.0397	-0.4210	4.0120	1.2821	2.0475
8	1.3233	-0.0693	0.2556	0.3942	1.1436	2.2936	1.8778
Mean $\pm$ SE	0.5642 $\pm$	-0.2191 $\pm$	0.2372 $\pm$	0.6010 $\pm$	2.4408 $\pm$	2.9877 $\pm$	3.3457 $\pm$
	0.1844	0.3906	0.2111	0.2123	0.4011	0.5300	0.7572

ตารางที่ 38 แสดงผลของสารละลายของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่แบบ  
 สะสมขนาด ( $5 \times 10^{-5}$ - $3.2 \times 10^{-3}$  %) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนู  
 ขาวที่แยกออกจากกายในสารละลาย Calcium free Krebs-Henseleit solution

n	% Contraction						
	$5 \times 10^{-5}$ %	$1 \times 10^{-4}$ %	$2 \times 10^{-4}$ %	$4 \times 10^{-4}$ %	$8 \times 10^{-4}$ %	$1.6 \times 10^{-3}$ %	$3.2 \times 10^{-3}$ %
1	1.2005	1.1223	4.1456	4.9060	7.1741	9.5776	9.0412
2	-0.5286	-0.0286	0.7864	1.7968	1.3176	2.5546	3.1613
3	1.1171	2.5103	4.2342	4.7133	7.7808	10.3120	9.8172
4	-0.3099	0.5390	1.5546	2.0338	2.3540	2.3671	1.9062
5	1.0468	2.4113	2.1614	4.0154	5.3461	7.2288	8.5855
6	0.0130	1.0338	1.9739	2.0025	3.3800	4.7966	6.7288
7	1.1067	3.5779	1.5598	3.4399	4.1977	7.1871	8.6818
8	-0.1771	0.7213	1.5702	1.5520	2.5936	5.4372	6.8694
Mean $\pm$ SE	0.4336 $\pm$	1.4859 $\pm$	2.2483 $\pm$	3.0575 $\pm$	4.2680 $\pm$	6.1826 $\pm$	6.8489 $\pm$
	0.2643	0.4308	0.4468	0.4862	0.8228	1.0427	1.0180

ตารางที่ 39 แสดงผลของสารละลายของน้ำมันระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นหัสศคุณใหญ่แบบ  
 สละขนาด ( $5 \times 10^{-5}$ - $3.2 \times 10^{-3}$  %) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนู  
 ขาวที่แยกออกจากกาย เมื่อได้รับ Verapamil ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-7}$  M

n	% Contraction						
	$5 \times 10^{-5}$ %	$1 \times 10^{-4}$ %	$2 \times 10^{-4}$ %	$4 \times 10^{-4}$ %	$8 \times 10^{-4}$ %	$1.6 \times 10^{-3}$ %	$3.2 \times 10^{-3}$ %
1	1.2005	1.1223	4.1456	4.9060	7.1741	9.5776	9.0412
2	-3.2990	0.3951	0.8485	1.1119	0.2245	1.0644	2.3318
3	-0.0693	-0.4180	0.2881	0.7819	-0.2859	0.6801	1.9319
4	-0.0107	-0.4271	0.3777	0.7919	-0.3713	0.5365	1.8822
5	-0.0693	-0.4180	0.2881	0.7819	-0.2859	0.6801	1.9319
6	-2.0761	-1.3518	0.9882	5.7649	7.0522	7.2516	5.5215
7	-2.0761	-1.3518	0.9882	5.7649	7.0522	7.2516	5.5215
8	-0.0107	-0.4271	0.3777	0.7919	-0.3713	0.5365	1.8822
Mean $\pm$ SE	-0.8013 $\pm$	-0.3595 $\pm$	1.0378 $\pm$	2.5869 $\pm$	2.5236 $\pm$	3.4473 $\pm$	3.7555 $\pm$
	0.4647	0.2226	0.1190	0.8998	1.3320	1.2003	0.6479



NO.090/2001

## Study Protocol and Consent Form Approval

The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand has approved the following study to be carried out according to the protocol and Informed consent dated and/or amended as follows:

**Study Title** : effects of volatile oil from the leaves of clausena anisata hook on smooth muscle contraction

**Study Code** :-

**Centre** : Chulalongkorn University

**Principal Investigator** : Parpak Srikiticoolchai

**Protocol Date** : May 2, 2001

**Amendment (s) Included** :-

**Amendment (s) Date (s)** :-

A list of the Ethics Committee members (names and positions) present at the Ethics Committee meeting on the date of approval of this study has been attached.

This Study Protocol Approval Form will be forwarded to the Principal Investigator.

**Chairman of Ethics Committee** : .....  .....

(Signature)

Professor Dr. Anek Aribarg

**Associate Dean for Research Affairs** : .....  .....

(Signature)

Associate Professor Dr. Tada Sueblinvong

**Date of Approval** : June 29, 2001

## ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นายประภาค ศรีกิติกุลชัย เกิดเมื่อวันที่ 12 สิงหาคม 2520 ที่จังหวัดลพบุรี สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต (ชีววิทยา) คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ปีการศึกษา 2541 เข้าศึกษาต่อหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เภสัชวิทยา) ที่จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อ พ.ศ. 2542



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย