หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

อภิปรายและสรุปผลการทดลอง

ในการวิจัยครั้งนี้ ได้ศึกษาฤทธิ์เบื้องต้นของ 14-ดีออกซี-11, 12-ไดดีไฮโดรแอนโดรกราโฟไลด์ ซึ่งเป็นสารบริสุทธิ์ตัวที่ 2 ที่สกัดได้จากสมุนไพรฟ้าทะลายโจรในประเทศไทย โดยทำการทดลองในลำไส้เล็กส่วนปลายที่แยกจากตัวกระต่าย, หนูขาว และหนูตะเภา ตามลำดับ ศึกษาถึงผลของสารต่อการลดแรงหดเกร็งตัวของลำไส้เนื่องจากมีรายงานสรรพคุณของฟ้าทะลายโจรในแง่รักษาโรคบิดและโรคท้องร่วง (Shamsuzzoha, 1978; ปัญจางค์ ธนังกูล และคณะ,2528, สำนักงานคณะกรรมการสาธารณสุขมูลฐาน, 2529) ทำให้คาดว่า 14-ดีออกซี-11, 12-ไดดีไฮโดรแอนโดรกราโฟไลด์ น่าจะเป็นสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ช่วยรักษาโรคอุจจาระร่วงได้

ผลการศึกษาเบื้องต้นพบว่า 14-ดีออกซี-11, 12-ไดดีไฮโดรแอนโดรกราโฟไลด์ สามารถลดแรงหดเกร็งที่เกิดขึ้นเองของลำไส้เล็กที่แยกจากตัวกระต่าย โดยลดแรงหดเกร็งได้มากขึ้นตามขนาดความเข้มข้นของสารที่เพิ่มขึ้น (รูป 6,7,8) การออกฤทธิ์จะมีผลต่อความแรงของการหดตัวแต่ไม่มีผลต่ออัตราการบีบตัว นอกจากนี้ยังสามารถลดการหดเกร็งของลำไส้เล็กหนูขาวที่เกิดจากการกระตุ้นด้วยคาร์บาคอลและแบเรียมคลอไรด์ ลดการหดเกร็งของลำไส้เล็กหนูตะเภา ภาวะที่ถูกกระตุ้นด้วยอะเซทติลโคลีน, เซอโรโตนิน, แบเรียมคลอไรด์ และแคลเซียมคลอไรด์ในสารละลายดีโปลาไรด์ด้วยโปแตสเซียม รวมทั้งภาวะที่เกิดจากการกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้าได้อีกด้วย

ผลการทดลองดังกล่าวบ่งชี้ให้เห็นว่า 14-ดีออกซี-11, 12-ไดดีไฮโดรแอนโดรกราโฟไลด์ สามารถลดแรงหดเกร็งของลำไส้ได้ทั้งในสภาวะที่เกิดขึ้นเองหรือถูกกระตุ้นด้วยสารต่าง ๆ

เพื่อที่จะศึกษาถึงผลของ 14-ดีออกซี-11, 12-ไดดีไฮโดรแอนโดรกราโฟไลด์ ในการลดแรงหดเกร็งของกล้ามเนื้อเรียบระบบทางเดินอาหาร จึงได้ทำการศึกษาในลำไส้เล็กที่แยกออกมาจากตัวสัตว์ทดลองเพื่อตัดปัจจัยภายนอก อันได้แก่การควบคุมโดยระบบประสาทและฮอร์โมน และเพื่อที่จะศึกษาเกี่ยวกับ drug receptor ของเนื้อเยื่อนั้น ๆ (Kenakin, 1984)

หลังจากที่ให้ 14-ดีออกซี-11, 12-ไดดีไฮโดรแอนโดรกราโฟไลด์ลงใน organ bath ในลำไส้เล็กหนูขาวหรือหนูตะเภาที่ถูกดึงภายใต้แรงตึงที่เหมาะสม พบว่าไม่สามารถทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในแรงตึงของกล้ามเนื้อเรียบของลำไส้ ดังนั้นจึงต้องให้ตัวกระตุ้น (agonist) กระตุ้นให้เกิดการหดเกร็งของลำไส้ก่อนแล้วจึงให้สารเพื่อศึกษาการออกฤทธิ์ของสารที่มีต่อการหดตัวของลำไส้ดังกล่าว การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบเกิดจากการเพิ่มความสามารถในการซึมผ่านผนังเซลของโซเดียมและแคลเซียม ซึ่งมีความสำคัญอย่างมากต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ ทั้งที่สามารถสร้าง action potential ได้เอง หรือไม่สามารถสร้าง action potential ได้ (Bolton, 1979a, b) โดยที่ภาวะพักกล้ามเนื้อเรียบจะมีแคลเซียมอิสระในไซโตปลาสซึม (cytoplasm) ประมาณ 10^{-7} โมล (Smith et al, 1983) เมื่อถูกกระตุ้นจะทำให้แคลเซียมภายนอกเซลผ่านผนังเซลเข้าสู่ภายในเซลโดยผ่าน receptor-operated calcium channel หรืออาจจะเกิดการดีโปลาไรด์ที่ผนังเซลแล้วกระตุ้นให้ potential-operated calcium channel เปิด แคลเซียมจะทำหน้าที่เป็นตัวกลาง (mediator) ที่สำคัญในการเกิดการหดตัว (excitation-contraction; E-C coupling) (Bolton, 1979a; Somlyo, 1985).

การหดเกร็งตัวของลำไส้เล็กหนูขาวและหนูตะเภาสามารถกระตุ้นให้เกิดขึ้นได้โดยสารต่าง ๆ ได้แก่ อะเซทติลโคลีน, คาร์บาคอล, เซอโรโตนิน, แบเรียมคลอไรด์, โปแตสเซียมคลอไรด์ และ แคลเซียมคลอไรด์ การศึกษาในครั้งนี้ได้ทำการกระตุ้นลำไส้ให้หดตัวด้วยสารกระตุ้นการหดเกร็งต่าง ๆ แล้วจึงทำการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการหดเกร็งของ 14-ดีออกซี-11, 12-ไดดีไฮโดรแอนโดรกราโฟไลด์ ต่อสารกระตุ้นดังกล่าว เพื่อนำมาเป็นข้อมูลพื้นฐานพิจารณาถึงกลไกการออกฤทธิ์ต่อไป

ผลการทดลองพบว่า 14-ดีออกซี-11, 12-ไดดีไฮโดรแอนโดรกราโฟไลด์ สามารถยับยั้งฤทธิ์การหดเกร็งของคาร์บาคอลและอะเซทติลโคลีนในหนูขาวและหนูตะเภาได้ตามลำดับ (รูป 9, 11) คาร์บาคอลเป็นสารกระตุ้นให้เกิดการหดเกร็งคล้ายคลึงกับอะเซทติลโคลีน กลไกการออกฤทธิ์คาดว่ามี 2 ทางด้วยกัน คือฤทธิ์ทางตรง ออกฤทธิ์โดยรวมตัวกับ muscarinic receptor ทำให้กล้ามเนื้อเรียบเกิดการหดตัว ฤทธิ์ทางอ้อมจะไปออกฤทธิ์กระตุ้นปลายประสาท cholinergic nerve fiber ให้มีการหลั่งอะเซทติลโคลีน แล้วไปทำให้กล้ามเนื้อเกิดการหดตัวตามมา (Henderson, et al 1968) การหดตัวภาวะถูกกระตุ้นด้วยคาร์บาคอลมี

รายงานว่าเกิดจากแคลเซียม 3 แหล่งด้วยกันคือ 1) inward calcium current of spike 2) voltage-dependent calcium channel และ 3) internal calcium store (Brading et al, 1980)

สำหรับอะเซทติลโคลีนมีรายงานถึงกลไกการออกฤทธิ์กระตุ้นให้กล้ามเนื้อเกิดการหดตัวได้ 2 ทาง คือ ทางตรงและทางอ้อม ฤทธิ์ทางตรงมีรายงานว่า denervated longitudinal muscle strip ของลำไส้เล็กหนูตะเภา สามารถตอบสนองต่ออะเซทติลโคลีนเกิดการหดตัวได้ โดยไม่ได้ถูกกระตุ้นผ่านปลายประสาท (nerve fiber) (Bolton, 1979; Day 1963; Paton & Aboo Zar, 1968) อะเซทติลโคลีนออกฤทธิ์ทางตรงกระทำโดยไปรวมตัวกับอะเซทติลโคลีนรีเซปเตอร์ที่ผนังเซลของปลายประสาท ทำให้เกิดดีโปลาไรเซชัน ผนังเซลยอมให้โซเดียมและแคลเซียมไอออนเคลื่อนเข้าในเซลล์ เป็นผลให้มีการหดตัวเกิดขึ้น (guyton, 1981) สำหรับฤทธิ์ทางอ้อมอะเซทติลโคลีนออกฤทธิ์ไปกระตุ้น myenteric nerve plexus ทำให้หลั่งอะเซทติลโคลีนออกมามีผลกระตุ้นให้กล้ามเนื้อเกิดการหดตัวได้ (Paton, 1955; Day & Vane, 1963; Henderson et al, 1968; Chiou, 1973) มีรายงานพบว่าเมื่อกระตุ้นกล้ามเนื้อลำไส้เล็กหนูตะเภาด้วยกระแสไฟฟ้าแบบ coaxial stimulation มีผลทำให้หลั่งอะเซทติลโคลีนจากปลายประสาท postganglionic neuron เกิด twitch response ได้ (Paton, 1955; Fosbraey, 1980) (รูป 12, 13) หรือเมื่อทำให้เกิด anoxia & cooling มีผลทำให้เนื้อเยื่อเซลประสาทหยุดทำงาน เป็นการยืนยันว่าอะเซทติลโคลีนมีฤทธิ์ทางอ้อมผ่านทางกระแสประสาท โดยที่อะเซทติลโคลีนทำให้เกิดการหดตัวได้ต้องอาศัยแคลเซียมไอออน (Takayanagi, 1977; Bolton, 1979; Brading 1980) ในกล้ามเนื้อลำไส้เล็กหนูตะเภาพบว่าการออกฤทธิ์โดยตรงของอะเซทติลโคลีน เป็นบทบาทสำคัญในการกระตุ้นให้กล้ามเนื้อหดตัว โดยมีกลไกการออกฤทธิ์ที่เป็นไปได้คือ 1) เพิ่ม membrane permeability ต่อแคลเซียม เป็นผลให้ receptor-operated calcium channel เปิด ทำให้แคลเซียมจากภายนอกเซลเคลื่อนเข้าสู่ภายในเซล เมื่อแคลเซียมในเซลเพิ่มมากขึ้น จึงทำให้เกิดการหดตัวได้ (Bolton, 1979a, b) 2) เปลี่ยนแปลง discharge frequency ของ action potential เพิ่มความถี่ของการเกิด action potential ทำให้กล้ามเนื้อหดตัวถี่และแรงขึ้น (Bolton, 1979a, b; Brading et al, 1980) 3) released bound calcium

ผลการทดลองพบว่า 14-ดีออกซี-11, 12-ไดดีไฮโดรแอนโดรกราโฟไลด์ ยับยั้งฤทธิ์ของคาร์บาคอลและอะเซทติลโคลีนได้ในลักษณะ non-competitive antagonist ซึ่งแตกต่างไปจากฤทธิ์ของอะโทรปีน คือ ไม่ได้ออกฤทธิ์ที่ตัวรับสัมผัส (receptor) เดียวกัน (muscarinic receptor) คาดว่าการออกฤทธิ์น่าจะเป็นที่จุดใดจุดหนึ่งของกลไกการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ

ผลต่อแบเรียมคลอไรด์แสดงผลการทดลองในรูปที่ 10, 15 พบว่า 14-ดีออกซี-11, 12-ไดดีไฮโดรแอนโดรกราโฟไลด์ สามารถยับยั้งฤทธิ์การหดเกร็งของลำไส้เล็กหนูขาวและหนูตะเภา ภาวะที่เกิดจากการกระตุ้นด้วยแบเรียมคลอไรด์ได้ในลักษณะเป็นแบบ non-competitive antagonist เมื่อพิจารณาถึงกลไกการออกฤทธิ์ของแบเรียมคลอไรด์ในการกระตุ้นให้ลำไส้หดตัวมีรายงานว่า Ba^{2+} สามารถออกฤทธิ์กระตุ้น innervated longitudinal muscle strip ได้มากกว่า denervated strip ทำให้คาดว่าแบเรียมคลอไรด์น่าจะออกฤทธิ์กระตุ้นปลายประสาท (nerve plexus) แล้วทำให้มีการหลั่งอะเซทติลโคลีนซึ่งเป็นสารที่ทำให้เกิดการหดเกร็งของกล้ามเนื้ออีกทีหนึ่ง เป็นการออกฤทธิ์โดยทางอ้อมของแบเรียมคลอไรด์ (Paton & Aboo Zar, 1968) ต่อมามีผลการทดลองโต้แย้งว่าแบเรียมคลอไรด์ไม่ได้ออกฤทธิ์ผ่านทางอะเซทติลโคลีนที่หลั่งจากปลายประสาท โดยพบว่าอะโทรปีนซึ่งเป็นตัวยับยั้ง (potent inhibitor) โดยตรงต่ออะเซทติลโคลีนรีเซปเตอร์ไม่สามารถยับยั้งผลการหดเกร็งตัวของแบเรียมคลอไรด์ได้ (Antonio, 1973; Clement, 1981) คาดว่าแบเรียมออกฤทธิ์เกี่ยวข้องกับ membrane bound calcium มากกว่า เนื่องจากพบว่า botulinum toxin (ยับยั้งการหลั่งอะเซทติลโคลีน), tetrodotoxin (ยับยั้งการนำกระแสประสาท), hemicholinium (ยับยั้งการสังเคราะห์อะเซทติลโคลีน) และ black widow spider venom (ลดสารสื่อประสาทใน presynaptic neuron) ไม่สามารถยับยั้งฤทธิ์ของแบเรียมคลอไรด์ได้ (Clement, 1981) สำหรับในลำไส้เล็กหนูขาวมีรายงานว่า แบเรียมคลอไรด์ออกฤทธิ์โดยตรงต่อกล้ามเนื้อเรียบของลำไส้ (Henderson et al, 1968) ดังนั้นแบเรียมคลอไรด์น่าจะออกฤทธิ์โดยตรงที่กล้ามเนื้อเรียบของลำไส้ โดย Ba^{2+} จะทำให้ 1) เกิด prolongation of depolarization ของผนังเซลล์ของกล้ามเนื้อเรียบ (Suzuki & Ebashi, 1961) 2) open voltage dependent calcium channel เป็นผลให้แคลเซียมจากภายนอกเซลล์ และ membrane bound calcium เคลื่อนเข้าสู่ภายในเซลล์ทำให้แคลเซียมในเซลล์มากขึ้นทำให้เกิดการหดตัวได้

(Antonio, 1973; Karaki et al, 1986) 3) Ba^{2+} มีผล release internal calcium ทำให้แคลเซียมในเซลล์มากขึ้น (Yukisada, 1961; Clement, 1981) และ Ba^{2+} อาจมีผลโดยตรงต่อ actomyosin ได้อีกด้วย สรุปได้ว่าการออกฤทธิ์โดยตรงคือไปออกฤทธิ์ที่กล้ามเนื้อเรียบของลำไส้ โดย Ba^{2+} จะทำให้มีการปลอดปล่อย Ca^{2+} จากผนังเซลล์ของกล้ามเนื้อ ซึ่งในภาวะปกติ Ca^{2+} เหล่านี้ส่วนใหญ่จะรวมตัวกับผนังเซลล์และต้องอาศัย Mg^{2+} ร่วมด้วย (Antonio, 1973) นอกจากนี้ยังทำให้แคลเซียมจากภายนอกเซลล์ไหลเข้าสู่เซลล์กล้ามเนื้อเพิ่มขึ้นด้วย ทำให้แคลเซียมอิสระภายในเซลล์เพิ่มขึ้น เป็นผลให้เกิดการหดตัวขึ้นได้

14-ดีออกซี-11, 12-ไดดีไฮโดรแอนโดรกราโฟไลด์ สามารถยับยั้งฤทธิ์ของแบเรียมคลอไรด์แบบ non-competitive antagonist คือไม่ได้ไปออกฤทธิ์แย่งที่รีเซปเตอร์เดียวกัน โดยพบว่าไม่มีเดิร์ฟใดขนานกับกลุ่มควบคุม ผลของ 14-ดีออกซี-11, 12-ไดดีไฮโดรแอนโดรกราโฟไลด์ ให้ผลคล้ายคลึงกับผลของเวอราปามิล คาดว่าอาจมีผลเช่นเดียวกับเวอราปามิลคือไปยับยั้งแคลเซียมที่เคลื่อนผ่าน inward current channel เป็นผลให้ลดขนาดของ action potential และยับยั้งการเกิด action potential (Bolton, 1979)

ผลต่อเซอโรโตนิน ผลการทดลองพบว่า 14-ดีออกซี-11, 12-ไดดีไฮโดร - แอนโดรกราโฟไลด์สามารถยับยั้งฤทธิ์หดเกร็งตัวของเซอโรโตนินในลำไส้เล็กหนูตะเภาได้ดังแสดงในรูปที่ 14 ในลักษณะเป็นแบบ non-competitive antogonist มีรายงานว่าตำแหน่งการออกฤทธิ์ของเซอโรโตนินที่ลำไส้มีหลายตำแหน่งคือ 1) ออกฤทธิ์โดยตรงต่อกล้ามเนื้อเรียบ 2) ออกฤทธิ์ที่ cholinergic intramural nerve 3) ออกฤทธิ์ที่ intramural excitatory non-cholinergic nerves 4) ออกฤทธิ์ที่ intramural inhibitory non-cholinergic non-adrenergic nerves (purinergic nerves) (Gonella, 1981) สำหรับกลไกการออกฤทธิ์ของเซอโรโตนินในการกระตุ้นลำไส้ให้หดตัวนั้นมีรายงานว่าเป็นได้ 2 ทางด้วยกัน (Costa & Furness, 1979; Henderson et al, 1968; Van Den Broukce, 1980) 1) การออกฤทธิ์ทางตรงต่อกล้ามเนื้อเรียบ พบว่ามีบทบาทเป็นเพียงส่วนน้อยในการกระตุ้นให้เกิดการหดตัว 2) การออกฤทธิ์โดยทางอ้อมโดยการกระตุ้น cholinergic และ non-cholinergic excitatory nerve มีผู้ทำการศึกษาพบว่ารีเซปเตอร์ของเซอโรโตนินที่ลำไส้เล็กหนูตะเภามี 2 ชนิดด้วยกันคือ

M-receptor เป็นรีเซปเตอร์ที่พบอยู่ที่ nerve fiber และ D-receptor เป็นรีเซปเตอร์ที่อยู่ที่กล้ามเนื้อเรียบ (muscle fiber) (Gaddum & Picarelli, 1957) การออกฤทธิ์โดยตรงต่อกล้ามเนื้อเรียบเป็นการออกฤทธิ์ที่ D-receptor บนผนังเซลล์ของกล้ามเนื้อโดยเซอโรโตนินไปรวมตัวกับรีเซปเตอร์ ทำให้มีการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} ผ่านผนังเซลล์เข้าสู่กล้ามเนื้อ (Wolley, 1960) หรือมีการเคลื่อนย้ายของ Ca^{2+} จากแหล่งเก็บในเซลล์ทำให้มีแคลเซียมไอออนอิสระในเซลล์เพิ่มมากขึ้น เป็นผลให้เกิด coupling actomyosin เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้ การออกฤทธิ์โดยทางอ้อมเป็นการออกฤทธิ์โดยผ่านทาง M-receptor ในเนื้อเยื่อเซลล์ประสาท โดยพบว่าเซอโรโตนินจะออกฤทธิ์ทำให้เกิดการหดเกร็งของลำไส้เล็กหนูตะเภา ส่วนใหญ่ผ่านทาง M-receptor (Day & Van, 1963; Paton & Aboo Zar, 1968) โดยออกฤทธิ์จับกับรีเซปเตอร์ที่ post ganglionic membrane ของ cholinergic intramural ganglion cell ทำให้มีการหลั่งอะเซทติลโคลีนจากปลายประสาท อะเซทติลโคลีนที่ถูกปล่อยออกมานี้จะทำให้กล้ามเนื้อเรียบเกิดการหดตัวอีกทีหนึ่ง (Henderson et al, 1968) ส่วนการออกฤทธิ์ของเซอโรโตนินที่ intramural excitatory non-cholinergic nerves และ purinergic nerves ยังไม่มีข้อสรุปที่แน่นอน

ผลของ 14-ดีออกซี-11, 12-ไดดีไฮโดรแอนโดรกราโฟไลด์ สามารถยับยั้งฤทธิ์ของเซอโรโตนิน แบบ non-competitive antagonist ผลที่ได้คล้ายคลึงกับไซโปรเฮปตาดีน และไม่มีเดิร์ฟใดขนานกับกลุ่มควบคุม คาดว่าการออกฤทธิ์น่าจะเป็นที่จุดใดจุดหนึ่งของกลไกการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ

ผลต่อแคลเซียมคลอไรด์ในสารละลายดีโปลาไรด์ด้วยโปแตสเซียม ในการศึกษาฤทธิ์ของ 14-ดีออกซี-11, 12-ไดดีไฮโดรแอนโดรกราโฟไลด์ในการยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็กหนูตะเภาที่กระตุ้นการหดตัวด้วยแคลเซียมคลอไรด์ ในสารละลายดีโปลาไรด์ด้วยโปแตสเซียม (2 mM) ที่ปราศจากแคลเซียมพบว่า สามารถลดการหดเกร็งของลำไส้ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รูป 16, 17) ภาวะโปแตสเซียมสูงจะมีผลต่อกล้ามเนื้อเรียบซึ่งจะเพิ่มความสามารถของแคลเซียมในการซึมผ่านผนังเซลล์ที่ถูกดีโปลาไรด์ทำให้แคลเซียมภายนอกเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์มากขึ้น เนื่องจาก high K^+ จะลด K^+ gradient ระหว่าง membrane ทำให้ลด membrane potential และทำให้เกิด depolarization เกิดขึ้น

ซึ่งมีผลทำให้ potential dependent ion channel เปิด มีผลให้ Na^+ และ Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์เคลื่อนเข้าสู่ภายในเซลล์ทำให้ Ca^{2+} ภายในเซลล์เพิ่มขึ้น ซึ่งแคลเซียมจำนวนนี้จะกระตุ้นให้มีการปลดปล่อยแคลเซียมจากผนังเซลล์หรือจากแหล่งสะสมแคลเซียมภายในเซลล์ (Weiss, 1975) การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในภาวะนี้จะขึ้นกับระดับแคลเซียมภายนอกเซลล์ โดยการหดตัวจะลดลงถ้ามีการลดระดับแคลเซียมภายนอกเซลล์และจะไม่มีการหดตัวเกิดขึ้นเลยถ้าปราศจาก Ca^{2+} ดังนั้นในการทดลองนี้การหดตัวของลำไส้ที่เกิดขึ้นหลังจากให้แคลเซียมคลอไรด์จึงเป็นผลจากการเพิ่มแคลเซียมภายนอกเซลล์นั่นเอง

ผลของ 14-ดีออกซี-11, 12-ไดดีไฮโดรแอนโดรกราโฟไลด์ พบว่าสามารถลดการหดเกร็งของลำไส้ได้ตามขนาดความเข้มข้นของสารที่ให้ อาจแสดงถึงการออกฤทธิ์โดยไปยับยั้งการผ่านของแคลเซียมจากภายนอกเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์โดยทาง potential dependent calcium channel

เนื่องจากได้ใช้ absolute ethanol เป็นตัวทำละลาย จึงต้องทำการทดสอบผลของเอทธานอลเปรียบเทียบด้วย มีรายงานผลการศึกษาพบว่า เอทธานอลสามารถลดแรงหดเกร็งของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กหนูตะเภาในภาวะที่ถูกกระตุ้นด้วยอะเซทติลโคลีน, โปแตสเซียมคลอไรด์ และแบเรียมคลอไรด์ และมีผลลด twitch response ที่เกิดจากการกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้า แต่ไม่มีผลต่อ binding ที่ muscarinic receptor คาดว่าเอทธานอลน่าจะมีผลยับยั้งกระบวนการหดตัวภายหลังการเกิด receptor activation (Clement, 1980) จากผลการทดลองพบว่า เอทธานอลสามารถลดแรงหดเกร็งของลำไส้ได้ แต่เมื่อทดสอบดูค่าทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างจากภาวะควบคุมก่อนให้เอทธานอล สำหรับ 14-ดีออกซี-11, 12-ไดดีไฮโดรแอนโดรกราโฟไลด์ สามารถลดแรงหดเกร็งของลำไส้ได้มากกว่าเอทธานอลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เป็นการบ่งชี้ให้เห็นว่าผลลดแรงหดเกร็งของลำไส้เป็นผลจากการออกฤทธิ์ของ 14-ดีออกซี-11, 12-ไดดีไฮโดรแอนโดรกราโฟไลด์ไม่ใช่ผลจากเอทธานอล

สรุปและข้อเสนอแนะ

การยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ อาจเกิดได้เนื่องจากกลไกที่ต่างกัน 2 ประการคือ 1) neurotropic โดยไปออกฤทธิ์ 1.1) ยับยั้งการหลั่งของสารสื่อประสาทจากปลายประสาท ซึ่งสารสื่อประสาทที่สำคัญในลำไส้เล็กได้แก่อะเซทติลโคลีน 1.2) การยับยั้งที่บริเวณรีเซปเตอร์เฉพาะของผนังเซลล์ โดยที่ผนังเซลล์ของลำไส้เล็กหนูขาวและหนูตะเภา มีรีเซปเตอร์เฉพาะหลายชนิดได้แก่ อะเซทติลโคลีน (Ach), เซอโรโตนิน (5-HT), ฮีสตามีน (His) (Henderson et al; 1968) 2) musculotropic โดยออกฤทธิ์ทำให้ 2.1) การเกิด Stabilization ของผนังเซลล์ โดยลดการนำกระแสประสาทที่ผนังเซลล์ของโซเดียม 2.2) เกี่ยวข้องกับแคลเซียมอิสระในช่วงของการเข้าสู่เซลล์หรือช่วงต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการหดตัว 2.3 เกี่ยวข้องกับการควบคุมการทำงานของโปรทีนที่มีส่วนในการเกิดการหดตัวและคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ เช่น troponin, tropomyosin 2.4) ยับยั้งการทำงานของ actomyosin ATPase หรือ/และกระบวนการที่เกี่ยวข้องกับ chemomechanical transduction (Malagodi, 1974; Van Den Broucke 1980) ผลการศึกษาฤทธิ์เบื้องต้นของ 14-ดีออกซี-11, 12-ไดดีไฮโดรแอนโดรกราโฟไลด์ต่อกล้ามเนื้อเรียบของระบบทางเดินอาหารได้แก่ ลำไส้เล็กกระต่าย ซึ่งสามารถหดตัวได้เอง ลำไส้เล็กหนูขาวและหนูตะเภาภาวะที่กระตุ้นให้หดตัวด้วยสารกระตุ้นต่าง ๆ ได้แก่ คาร์บาคอล, อะเซทติลโคลีน, เซอโรโตนิน, แบเรียมคลอไรด์, โปแตสเซียมคลอไรด์, และแคลเซียมคลอไรด์ โดยที่ตัวกระตุ้นต่าง ๆ เหล่านี้บางส่วนจะทำหน้าที่เป็นตัวกระตุ้นเฉพาะของลำไส้เล็กหนูขาวและหนูตะเภา 14-ดีออกซี-11, 12-ไดดีไฮโดรแอนโดรกราโฟไลด์สามารถยับยั้งการหดตัวที่เกิดขึ้นได้ทั้งหมดแบบ non-specific และ non-competitive สารที่ทำให้เกิดการคลายตัวของกล้ามเนื้อที่ถูกกระตุ้นให้หดตัวด้วยตัวกระตุ้นต่าง ๆ แบบ non-competitive spasmolytics (non-specific spasmolytics, musculotropic spasmolytics หรือ antispasmodics) จะไม่ออกฤทธิ์โดยตรงต่อรีเซปเตอร์ของตัวกระตุ้นนั้น ๆ (แตกต่างกับการยับยั้งการหดตัวแบบ competitive) แต่จะเกี่ยวข้องกับกระบวนการร่วมกันที่จะทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อ การที่เรียกสารยับยั้งการหดตัวแบบนี้ได้อีกชื่อว่า musculotropic spasmolytics แสดงให้เห็นว่าสารเหล่านี้ไม่มีส่วนเกี่ยวข้องกับสารสื่อประสาท แต่จะเกี่ยวข้องกับกระบวนการหดตัวของเซลล์กล้ามเนื้อ (Simonis, 1971) ผลจากการทดลองบ่งชี้ว่า 14-ดีออกซี-11, 12-ไดดีไฮโดรแอน-โดรกราโฟไลด์ สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในระบบทางเดินอาหาร (spasmolytic

property) ทั้งในสภาวะที่ถูกกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้าแบบ coaxial stimulation และภาวะที่ถูกกระตุ้นด้วยสารกระตุ้นการหดเกร็งต่าง ๆ ด้วยกลไกการออกฤทธิ์ที่แตกต่างกัน ผลที่ได้ดังกล่าวเป็นข้อบ่งชี้ให้เห็นว่า 14-ดีออกซี-11, 12-ไดดีไฮโดรแอนโดรกราโฟไลด์ออกฤทธิ์ลดการหดเกร็งแบบไม่เฉพาะเจาะจง (unspecific antagonist) เมื่อพิจารณาถึง log dose-response curve ก่อนและหลังให้สารนี้ พบว่าไม่มีเคิร์ฟใดเลยขนานกับกลุ่มควบคุม เป็นข้อบ่งชี้เพิ่มเติมว่า 14-ดีออกซี-11, 12-ไดดีไฮโดรแอนโดรกราโฟไลด์ออกฤทธิ์เป็นแบบ non-competitive antagonism ไม่ได้ไปแย่งที่จับที่รีเซปเตอร์เดียวกับ กลไกการออกฤทธิ์ดูเหมือนจะคล้ายคลึงกับ spasmolytic agent โดยไปรบกวนกระบวนการที่เกี่ยวข้องกับการหดตัวโดยตรงของกล้ามเนื้อเป็นแบบ musculotropic

จากผลการทดลองทั้งหมดกล่าวได้ว่า 14-ดีออกซี-11, 12-ไดดีไฮโดรแอนโดรกราโฟไลด์มีฤทธิ์เป็นสารยับยั้งการหดเกร็งในลำไส้ (antispasmodic activity) ฤทธิ์ยับยั้งไม่มีความจำเพาะต่อตัวรับสัมผัส คือออกฤทธิ์ต้านการหดเกร็ง โดยไม่ได้แย่งที่จับตัวรับสัมผัสเดียวกัน (non-competitive antagonism) ผลที่ได้ดังกล่าวจึงมีแนวโน้มจะนำ 14-ดีออกซี-11, 12-ไดดีไฮโดรแอนโดรกราโฟไลด์ไปใช้เป็นยารักษาโรคบิดและโรคท้องร่วง เพราะมีฤทธิ์ลดการเคลื่อนไหวของลำไส้ และได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ลดการหดเกร็งของ 14-ดีออกซี-11, 12-ไดดีไฮโดรแอนโดรกราโฟลได์ และแอนโดรกราโฟไลด์ซึ่งเป็นสารบริสุทธิ์ตัวแรกที่สกัดได้จากใบฟ้าทะลายโจร (เพชรรัตน์ พงศ์จรรยากุล, 2530) พบว่า 14-ดีออกซี-11, 12-ไดดีไฮโดรแอนโดรกราโฟไลด์ สามารถลดแรงหดเกร็งของลำไส้เล็กหนูตะเภาภาวะที่ถูกกระตุ้นด้วยอะเซทติลโคลีน, แบเรียมคลอไรด์ ได้มากกว่าแอนโดรกราโฟไลด์ โดยเปรียบเทียบค่า pD_2' ของสารดังกล่าว พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ทำให้คาดว่า 14-ดีออกซี-11, 12-ไดดีไฮโดรแอนโดรกราโฟไลด์ น่าจะเป็นสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ช่วยลดการเคลื่อนไหวของลำไส้ ร่วมกับแอนโดรกราโฟไลด์ในการรักษาโรคบิดและโรคท้องร่วง รวมทั้งได้มีรายงานว่าสารสกัดจากสมุนไพรฟ้าทะลายโจรสามารถทำลายเชื้อซึ่งเป็นสาเหตุของโรคได้ด้วย ข้อมูลต่างๆ ที่ได้จากการวิจัยนี้ทำให้ทราบถึงฤทธิ์ของ 14-ดีออกซี-11, 12-ไดดีไฮโดรแอนโดรกราโฟไลด์ที่มีต่อระบบทางเดินอาหารในลำไส้เล็กของกระต่าย, หนูขาว และหนูตะเภา ซึ่งคงจะเป็นข้อมูลสำคัญเพียงบางส่วนในการนำไปพิจารณาถึงความเป็นไปได้ที่จะนำสารสกัดบริสุทธิ์จากต้นฟ้าทะลายโจรซึ่งเป็นพืชที่พบทั่วไปในประเทศมาใช้

ประโยชน์ในทางการแพทย์ ดังนั้นการศึกษาถึงกลไกการออกฤทธิ์ที่แน่ชัดจึงเป็นสิ่งจำเป็น เพื่อนำข้อมูลที่ได้มาพิจารณาถึงการใช้ยาต่อไปในอนาคต

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย