

การศึกษาผลของ CU 763-15-13, CU 18-05 และ CU 18-06
ต่อกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร



นางสาว พิชญา หลายวิจิตร

สถาบันวิทยบริการ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเภสัชวิทยา ภาควิชาเภสัชวิทยา


คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2543

ISBN 974-13-1002-1

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EFFECTS OF CU 763-15-13, CU 18-05 AND CU 18-06 ON SMOOTH MUSCLE
OF ISOLATED PORCINE CORONARY ARTERY



MISS PICHAYA LAIWICHIT

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

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

Department of Pharmacology
Faculty of Pharmaceutical Sciences

Chulalongkorn University

Academic Year 2000

ISBN 974-13-1002-1

พิกฐานุหลายววจจร : การศกษาผลของ CU 763-15-13, CU 18-05 และ CU 18-06 ตอ กล้ามเนือของหลอดเลือดจากหัวใจสุกร. (EFFECTS OF CU 763-15-13, CU 18-05 AND CU 18-06 ON SMOOTH MUSCLE OF ISOLATED PORCINE CORONARY ARTERY) อ. ที่ปรกษา : รศ.ดร.ประสาน ธรรมอนุปรณ, อ. ที่ปรกษารวม : ผศ.ดร. ชานาญ ภัทรพานิช 145 หนา. ISBN 974-13-1002-1.

การศกษาผลทางเภสัชวิทยาของสารซึ่งถูกสังเคราะหขึ้นมาใหม 3 ชนิด คือ CU 763-15-13, CU 18-05 และ CU 18-06 ตอการหดเกร็งของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดหัวใจสุกร พบว่า สารทั้งสามชนิดสามารถลดการหดเกร็งของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด ที่กระตุ้นด้วย Ach, 5-HT และ histamine ในสารละลาย Krebs Henseleit solution (KHS) ได้ แต่สาร CU 18-05 และ CU 18-06 ไม่มีผลลดการหดเกร็งกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดที่กระตุ้นด้วย Ach และยังพบว่า สารทั้ง 2 นี้สามารถลดการหดเกร็งของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดที่กระตุ้นด้วย $CaCl_2$ และ $BaCl_2$ ในสารละลาย high potassium depolarizing และ Ca^{2+}, HCO_3^- -free KHS ได้ตามลำดับ และในการศกษาครั้งนี้ยังได้ทำการทดสอบผลของสารทั้งสามชนิดนี้ตอการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดในสภาวะที่ปราศจากแคลเซียมในสารละลายด้วย โดยศกษาผลของ histamine และ caffeine ตอการปลดปล่อยแคลเซียมจาก SR พบว่า สารทั้งสามนี้มีผลลดฤทธิ์ของ histamine ได้ อย่างชัดเจนซึ่งต่างจาก caffeine ดังนั้นจากผลการศกษาดังกล่าวมาทั้งหมดนี้ จึงอาจเสนอได้ว่า CU 763-15-13, CU 18-05 และ CU 18-06 น่าจะมีผลรบกวนการเกิด Ca^{2+} influx และการเกิด Ca^{2+} release ได้ โดยผ่านกลไกทาง POC และ ROC แบบไม่เฉพาะเจาะจง ทั้งในสภาวะปกติ และในสภาวะที่ปราศจากแคลเซียมภายนอกเซลล์ได้

สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา	เภสัชวิทยา	ลายมือชื่อนิสิต.....
สาขาวิชา	เภสัชวิทยา	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรกษา.....
ปีการศึกษา	2543	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรกษารวม.....

427 65790 33 : MAJOR PHARMACOLOGY

KEY WORD: PORCINE CORONARY / Ach / 5-HT / histamine / caffeine

PICHAYA LAIWICHIT : EFFECTS OF CU 763-15-13, CU 18-05 AND CU 18-06
ON SMOOTH MUSCLE OF ISOLATED PORCINE CORONARY ARTERIES.
THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. PRASAN DHUMMA-UPAKORN Ph.D.,
THESIS COADVISOR : ASSIST. PROF. CHAMNAN PATARAPANICH, Ph.D.,
145pp. ISBN 974-13-1002-1.

The pharmacological effects of three new compounds CU 763-15-13, CU 18-05 and CU 18-06 were studied in isolated porcine coronary arteries. These compounds reduced contraction induced by Ach, 5-HT and histamine but CU 18-05 and CU 18-06 did not reduce contraction induced by Ach in Krebs Henseleit solution (KHS). CU 18-05 and CU 18-06 reduced contraction induced by CaCl_2 and BaCl_2 in high potassium depolarizing solution and Ca^{2+} , HCO_3^- -free KHS respectively. Also studies in calcium free medium solution, these three compounds reduced histamine-induced contraction but not reduce caffeine induction. These suggested that the inhibitory effects of CU 763-15-13, CU 18-05 and CU 18-06 may involve the interfering of Ca^{2+} influx and Ca^{2+} release via POC and non specific ROC in normal KHS and Ca^{2+} free KHS

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Department	Pharmacology	Student's signature.....
Field of study	Pharmacology	Advisor's signature.....
Academic year	2000	Co-advisor's signature.....

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ประสาน ธรรมอุปกรณ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำตลอดจนความช่วยเหลือทำให้วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ศิริภรณ์ พุ่งวิทยา หัวหน้าภาคเภสัชวิทยา ที่กรุณาอำนวยความสะดวกเกี่ยวกับสถานที่, อุปกรณ์ และเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย และกรุณาเป็นประธานการสอบวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชำนาญ ภัทรพานิช , นายวิสุจน์ วิจิตรนิเทศ และนายสมยศ วิจิตรเอกทัศน์ ที่ได้กรุณาให้สารสังเคราะห์ CU 763-15-13, CU 18-05 และ CU 18-06 ที่ใช้ในการวิจัยนี้

ขอขอบคุณ นายภาณุ และ นายพนิต หลายวิจิตร น้องชายและพี่ชายของข้าพเจ้า ที่ได้ช่วยในการเก็บหลอดเลือดหัวใจมาทำการศึกษาลดการวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่กรุณาให้ทุนอุดหนุนการทำวิทยานิพนธ์นี้

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านทั้งในภาคและนอกภาควิชาเภสัชวิทยา ที่ได้ให้ความรู้ตลอดการศึกษาในระดับมหาบัณฑิต

ขอขอบพระคุณบิดาและมารดาของข้าพเจ้าที่ให้อำนาจใจในการทำวิจัยจนสำเร็จไปด้วยดี และขอขอบคุณทุกท่านที่ได้มีส่วนช่วยเหลือในความสำเร็จของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

พิชญา หลายวิจิตร

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญรูปภาพ.....	ญ
สารบัญกราฟ.....	ฐ
สารบัญตาราง.....	ฒ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ.....	ด
บทที่ 1 บทนำ	
-บทนำ.....	1
-วัตถุประสงค์.....	4
-ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย.....	5
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
แนวเหตุผลและทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง.....	6
-ความสัมพันธ์ของแคลเซียมต่อการหดและคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....	6
-การเพิ่มขึ้นของแคลเซียมอิสระภายในเซลล์.....	6
-กลไกที่เกี่ยวข้องต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณแคลเซียมอิสระภายในเซลล์.....	12
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	
-สัตว์ทดลอง เครื่องมือ และสารเคมี.....	21
-วิธีดำเนินการวิจัย.....	23
1.วิธีการเก็บหลอดเลือดที่แยกจากหัวใจสุกร	
1.1 การเตรียมหลอดเลือดเพื่อนำมาทดลองโดยเตรียมแบบที่ยังมีเยื่อหลอดเลือด (endothelium)สมบูรณ์อยู่ตามปกติ.....	23
1.2 การเตรียมหลอดเลือดที่ปราศจากเยื่อหลอดเลือด (De-endothelium).....	25
2. ขั้นตอนการทำวิจัย	
2.1 การศึกษาผลของสารทดสอบ เมื่อได้รับสารมาตรฐานกระตุ้นการหดตัวของแบบสะสม ที่มีกลไกผ่านทาง ROC (Ach,5-HT และ histamine).....	26

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.2 การศึกษาผลของสารทดสอบ เมื่อได้รับสารมาตรฐานกระตุ้นการหดตัวแบบสะสม ที่มีกลไกผ่านทาง VOC (CaCl_2 และ BaCl_2).....	28
2.3 การศึกษาผลของสารทดสอบ ในสภาวะที่ไม่มีผลของ Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์ (histamine และ caffeine).....	29
-การวิเคราะห์ข้อมูล.....	32
บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล	
ผลการทดลอง.....	34
1. ผลการกระตุ้นด้วย Ach ในสารละลาย Krebs Henseleit	
1.1 ผลของ CU 763-15-13.....	34
1.2 ผลของ CU 18-05.....	40
1.3 ผลของ CU 18-06.....	40
1.4 ผลของ DMSO.....	45
2. ผลการกระตุ้นด้วย 5-HT ในสารละลาย Krebs Henseleit	
2.1 ผลของ CU 763-15-13.....	45
2.2 ผลของ CU 18-05.....	50
2.3 ผลของ CU 18-06.....	50
3. ผลการกระตุ้นด้วย histamine ในสารละลาย Krebs Henseleit	
3.1 ผลของ CU 763-15-13.....	55
3.2 ผลของ CU 18-05.....	61
3.3 ผลของ CU 18-06.....	61
4. ผลการกระตุ้นด้วย CaCl_2 ในสารละลาย high potassium depolarizing	
4.1 ผลของ CU 18-05.....	69
4.2 ผลของ CU 18-06.....	73
5. ผลการกระตุ้นด้วย BaCl_2 ในสารละลาย $\text{Ca}^{2+}, \text{HCO}_3^-$ -free KHS	
5.1 ผลของ CU 18-05.....	78
5.2 ผลของ CU 18-06.....	78

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

6. ผลการกระตุ้นด้วย histamine ในสารละลาย Ca^{2+} free KHS	
6.1 ผลของ CU 763-15-13.....	82
6.2 ผลของ CU 18-05.....	86
6.3 ผลของ CU 18-06.....	86
7. ผลการกระตุ้นด้วย caffeine ในสารละลาย Ca^{2+} free KHS	
7.1 ผลของ CU 763-15-13.....	91
7.2 ผลของ CU 18-05.....	94
7.3 ผลของ CU 18-06.....	94
บทที่ 5 อภิปรายและสรุปผลการทดลอง	
1. ผลของสารทดสอบต่อการกระตุ้นหลอดเลือดหัวใจสุกรด้วย Ach, 5-HT และ histamine.....	99
2. ผลของสารทดสอบต่อการกระตุ้นหลอดเลือดหัวใจสุกรด้วย CaCl_2 และ BaCl_2	104
3. ผลของสารทดสอบต่อการกระตุ้นหลอดเลือดหัวใจสุกรด้วย histamine และ caffeine ในสภาวะที่ปราศจากแคลเซียมภายนอกเซลล์.....	106
-สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....	108
รายการอ้างอิง.....	110
ภาคผนวก.....	118
ประวัติผู้เขียน.....	145

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูปภาพ

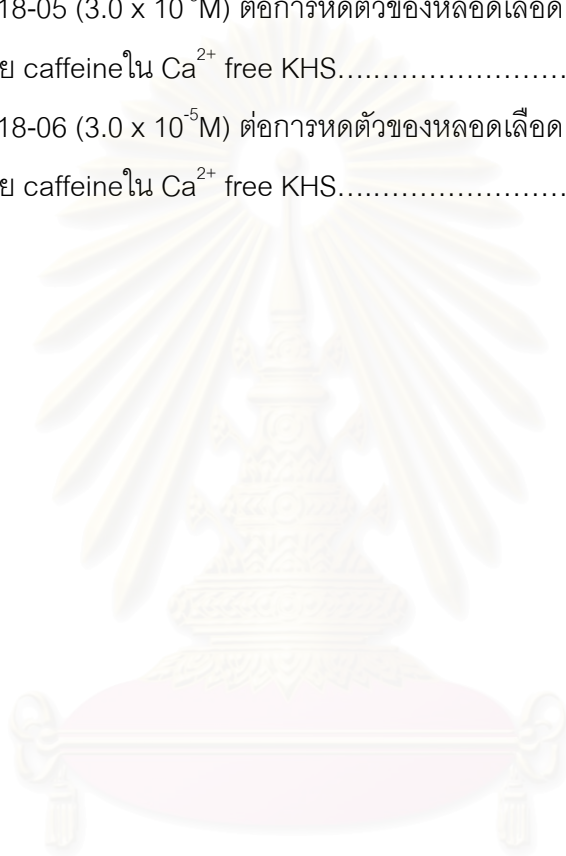
รูปภาพที่	หน้า
1. แสดงสูตรโครงสร้างของ CU 763-15-13, CU 18-05 และ CU 18-06.....	1
2. แสดงกลไกที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มขึ้นของแคลเซียมอิสระภายในเซลล์.....	7
3. แสดงการเคลื่อนที่ของแคลเซียมจากภายนอกผ่านเข้าสู่ภายในเซลล์ทาง slow channel [POC (S)] แล้วไปมีผลต่อการปลดปล่อยแคลเซียมจาก SR.....	8
4. แสดงการหดและคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....	13
5. แสดงความสัมพันธ์ของการเคลื่อนที่ของแคลเซียมที่ตำแหน่งต่างๆซึ่งเกี่ยวข้องกับการกระตุ้นผ่านทาง adenylate cyclase cascade.....	14
6. แสดงการเคลื่อนที่ของแคลเซียม ซึ่งเกี่ยวข้องกับการกระตุ้นผ่านทาง phosphoinositol cascade.....	16
7. แสดงการเคลื่อนที่ของแคลเซียม ซึ่งเกี่ยวข้องกับการกระตุ้นผ่านทาง guanylate cyclase cascade.....	17
8. แสดงความสัมพันธ์ของปริมาณ cGMP ที่มีผลต่อ K ⁺ channel ในกล้ามเนื้อเรียบ และผลที่เกิดขึ้นทั้งหมดในการทำให้เกิดการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....	18
9. แสดงกลไกที่เกิดขึ้นจากความสัมพันธ์ของ Nitric oxide และ cGMP ที่มีผลต่อการคลายตัวของหลอดเลือด.....	20
10. แสดงเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง isolate organ bath.....	22
11. แสดงตำแหน่งของหลอดเลือดแดงที่แยกจากหัวใจสุกร.....	24
12. แสดงผลของ CU 763-15-13 (2.5×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย Ach แบบสะสม.....	35
13. แสดงผลของ CU 763-15-13 (1.0×10^{-5} M และ 2.5×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกรเมื่อกระตุ้นด้วย Ach แบบสะสม.....	36
14. แสดงผลของ CU 18-05 (2.5×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย Ach แบบสะสม.....	41
15. แสดงผลของ CU 18-06 (2.5×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย Ach แบบสะสม.....	43
16. แสดงผลของ DMSO ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย Ach แบบสะสม.....	46
17. แสดงผลของ CU 763-15-13 (1.0×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย 5-HT แบบสะสม.....	48

สารบัญรูปภาพ(ต่อ)

รูปภาพที่	หน้า
18. แสดงผลของ CU 18-05 ($2.5 \times 10^{-5}M$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย 5-HT แบบสะสม.....	51
19. แสดงผลของ CU 18-06 ($2.5 \times 10^{-5}M$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย 5-HT แบบสะสม.....	53
20. แสดงผลของ CU 763-15-13 ($1.0 \times 10^{-5}M$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดง จากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine แบบสะสม.....	56
21. แสดงผลของ CU 18-05 ($1.0 \times 10^{-5}M$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine แบบสะสม.....	57
22. แสดงผลของ CU 18-06($1.0 \times 10^{-5}M$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine แบบสะสม.....	62
23. แสดงผลของ CU 763-15-13 ($2.5 \times 10^{-5}M$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจาก หัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine แบบสะสม.....	63
24. แสดงผลของ CU 18-05 ($2.5 \times 10^{-5}M$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine แบบสะสม.....	67
25. แสดงผลของ CU 18-06 ($2.5 \times 10^{-5}M$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine แบบสะสม.....	68
26. แสดงผลของ CU 18-05 ($2.0 \times 10^{-5}M$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย $CaCl_2$ แบบสะสม ในสารละลาย high K^+ depolarizing.....	74
27. แสดงผลของ CU 18-06 ($2.0 \times 10^{-5}M$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย $CaCl_2$ แบบสะสมในสารละลาย high K^+ depolarizing.....	76
28. แสดงผลของ CU 18-05 ($2.0 \times 10^{-5}M$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย $BaCl_2$ แบบสะสมในสารละลาย Ca^{2+} , HCO_3^- -free KHS.....	79
29. แสดงผลของ CU 18-06 ($2.0 \times 10^{-5}M$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย $BaCl_2$ แบบสะสมในสารละลาย Ca^{2+} , HCO_3^- -free KHS.....	81
30. แสดงผล CU 763-15-13 ($3.0 \times 10^{-5}M$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine ใน Ca^{2+} free KHS.....	84
31. แสดงผล CU 18-05 ($3.0 \times 10^{-5}M$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine ใน Ca^{2+} free KHS.....	87

สารบัญรูปภาพ(ต่อ)

รูปภาพที่	หน้า
32. แสดงผล CU 18-06 ($3.0 \times 10^{-5}M$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine ใน Ca^{2+} free KHS	89
33. แสดงผล CU 763-15-13 ($3.0 \times 10^{-5}M$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย caffeine ใน Ca^{2+} free KHS.....	92
34. แสดงผล CU 18-05 ($3.0 \times 10^{-5}M$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย caffeine ใน Ca^{2+} free KHS.....	95
35. แสดงผล CU 18-06 ($3.0 \times 10^{-5}M$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย caffeine ใน Ca^{2+} free KHS.....	97



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญกราฟ

กราฟที่	หน้า
1. ผลของ CU 763-15-13 ($1.0 \times 10^{-5}M$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย Ach แบบสะสม.....	37
2. ผลของ CU 763-15-13 ($2.5 \times 10^{-5}M$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย Ach แบบสะสม.....	38
3. ผลของ DMSO และ CU 763-15-13 ($1.0 \times 10^{-5}M$ และ $2.5 \times 10^{-5}M$) ต่อการหดตัว ของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย Ach แบบสะสม.....	39
4. ผลของ CU 18-05 ($2.5 \times 10^{-5}M$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย Ach แบบสะสม.....	42
5. ผลของ CU 18-06 ($2.5 \times 10^{-5}M$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย Ach แบบสะสม.....	44
6. ผลของ DMSO ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย Ach แบบสะสม.....	47
7. ผลของ CU 763-15-13 ($1.0 \times 10^{-5}M$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย 5-HT แบบสะสม.....	49
8. ผลของ CU 18-05 ($2.5 \times 10^{-5}M$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย 5-HT แบบสะสม.....	52
9. ผลของ CU 18-06 ($2.5 \times 10^{-5}M$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย 5-HT แบบสะสม.....	54
10. ผลของ CU 763-15-13 ($1.0 \times 10^{-5}M$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine แบบสะสม.....	58
11. ผลของ CU 763-15-13 ($2.5 \times 10^{-5}M$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine แบบสะสม.....	59
12. ผลของ CU 763-15-13 ($1.0 \times 10^{-5}M$ และ $2.5 \times 10^{-5}M$) ต่อการหดตัวของ หลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine แบบสะสม.....	60
13. ผลของ CU 18-05 ($1.0 \times 10^{-5}M$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine แบบสะสม.....	64
14. ผลของ CU 18-05 ($2.5 \times 10^{-5}M$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine แบบสะสม.....	65

สารบัญกราฟ(ต่อ)

กราฟที่	หน้า
15. ผลของ CU 18-05 (1.0×10^{-5} M และ 2.5×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine แบบสะสม.....	66
16. ผลของ CU 18-06 (1.0×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine แบบสะสม.....	70
17. ผลของ CU 18-06 (2.5×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine แบบสะสม.....	71
18. ผลของ CU 18-06 (1.0×10^{-5} M และ 2.5×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine แบบสะสม.....	72
19. ผลของ CU 18-05 (2.0×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบสะสม ในสารละลาย high K^+ depolarizing.....	75
20. ผลของ CU 18-06 (2.0×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบสะสม ในสารละลาย high K^+ depolarizing.....	77
21. ผลของ CU 18-05 (2.0×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย BaCl_2 แบบสะสม ในสารละลาย $\text{Ca}^{2+}, \text{HCO}_3^-$ -free KHS.....	80
22. ผลของ CU 18-06 (2.0×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย BaCl_2 แบบสะสม ในสารละลาย $\text{Ca}^{2+}, \text{HCO}_3^-$ -free KHS.....	83
23. ผลของ CU 763-15-13 (3.0×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine ในสารละลาย Ca^{2+} free KHS.....	85
24. ผลของ CU 18-05 (3.0×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine ในสารละลาย Ca^{2+} free KHS.....	88
25. ผลของ CU 18-06 (3.0×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine ในสารละลาย Ca^{2+} free KHS.....	90
26. ผลของ CU 763-15-13 (3.0×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย caffeine ในสารละลาย Ca^{2+} free KHS.....	93
27. ผลของ CU 18-05 (3.0×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย caffeine ในสารละลาย Ca^{2+} free KHS.....	96
28. ผลของ CU 18-06 (3.0×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย caffeine ในสารละลาย Ca^{2+} free KHS.....	98

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1. แสดงผลของ CU 763-15-13, CU 18-05 และ CU 18-06 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ เมื่อกระตุ้นการหดตัวด้วยสารกระตุ้นชนิดต่างๆที่สภาวะต่างๆกัน.....	119
2. แสดงส่วนประกอบของสารละลาย standard physiological ที่ใช้ในการทดลอง.....	120
3. แสดงข้อมูลของ DMSO ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย Ach.....	121
4. แสดงข้อมูลของ CU 763-15-13 (1.0×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดง จากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย Ach.....	122
5. แสดงข้อมูลของ CU 763-15-13 (2.5×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดง จากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย Ach.....	123
6. แสดงข้อมูลของ CU 18-05 (2.5×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดง จากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย Ach.....	124
7. แสดงข้อมูลของ CU 18-06 (2.5×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดง จากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย Ach.....	125
8. แสดงข้อมูลของ CU 763-15-13 (1.0×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดง จากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย 5-HT.....	126
9. แสดงข้อมูลของ CU 18-05 (2.5×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดง จากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย 5-HT.....	127
10. แสดงข้อมูลของ CU 18-06 (2.5×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดง จากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย 5-HT.....	128
11. แสดงข้อมูลของ CU 763-15-13 (1.0×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดง จากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine.....	129
12. แสดงข้อมูลของ CU 763-15-13 (2.5×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดง จากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine.....	130
13. แสดงข้อมูลของ CU 18-05 (1.0×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดง จากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine.....	131
14. แสดงข้อมูลของ CU 18-05 (2.5×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดง จากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine.....	132
15. แสดงข้อมูลของ CU 18-06 (1.0×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดง จากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine.....	133

สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่	หน้า
16. แสดงข้อมูลของ CU 18-06 (2.5×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดง จากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine.....	134
17. แสดงข้อมูลของ CU 18-05 (2.0×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดง จากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย CaCl_2 ในสารละลาย high K^+ depolarizing.....	135
18. แสดงข้อมูลของ CU 18-06 (2.0×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดง จากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย CaCl_2 ในสารละลาย high K^+ depolarizing.....	136
19. แสดงข้อมูลของ CU 18-05 (2.0×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดง จากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย BaCl_2 ในสารละลาย Ca^{2+} , HCO_3^- -free KHS.....	137
20. แสดงข้อมูลของ CU 18-06 (2.0×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดง จากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย BaCl_2 ในสารละลาย Ca^{2+} , HCO_3^- -free KHS.....	138
21. แสดงข้อมูลของ CU 763-15-13 (3.0×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดง จากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine ในสารละลาย Ca^{2+} free KHS.....	139
22. แสดงข้อมูลของ CU 18-05 (3.0×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดง จากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine ในสารละลาย Ca^{2+} free KHS.....	140
23. แสดงข้อมูลของ CU 18-06 (3.0×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดง จากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine ในสารละลาย Ca^{2+} free KHS.....	141
24. แสดงข้อมูลของ CU 763-15-13 (3.0×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดง จากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย caffeine ในสารละลาย Ca^{2+} free KHS.....	142
25. แสดงข้อมูลของ CU 18-05 (3.0×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดง จากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย caffeine ในสารละลาย Ca^{2+} free KHS.....	143
26. แสดงข้อมูลของ CU 18-06 (3.0×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดง จากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย caffeine ในสารละลาย Ca^{2+} free KHS.....	144

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

Ach	acetylcholine
ATP	adrenosine 5 – triphosphate
Ba^{2+}	barium ion
$BaCl_2$	barium chloride
Ca^{2+}	calcium ion
$CaCl_2$	calcium chloride
CaM	calcium – calmodulin complex
CaMK II	calmodulin – kinase II
cAMP	cyclic adrenosine –3, 5 monophosphate
cGMP	cyclic guanosine –3, 5 monophosphate
CICR	calcium – induced calcium release
Cl^-	chloride ion
DAG	diacylglycerol
DMSO	dimethylsulfoxide
EDRF	endothelium derived relaxing factor
GTP	guaine – triphosphate
5-HT	5-hydroxytryptamine
IP_3	inositol 1, 4, 5 – triphosphate
K^+	potassium ion
KCl	potassium chloride
KHS	Krebs henseleit solution
lt.	litre
M	molar
MLC	myosin light chain
MLCK	myosin light chain kinase
mM	milimolar
Na^+	sodium ion
NE	norepinephine
NO	nitric oxide

PIP ₂	phosphatidylinositol –4, 5 bisphosphate
PKC	protein kinase C
PLC	phospholipase C
PPase	MLC phosphatase
POC	potential – operated calcium channel
ROC	receptor - operated calcium channel
S.E.	standard error of mean
SR	sarcoplasmic reticulum
VOC	voltage – operated calcium channel



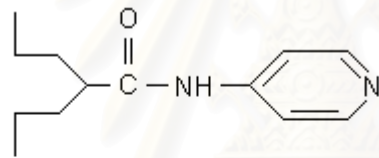
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

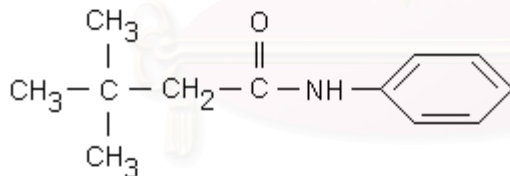
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

จากการศึกษาทางเภสัชวิทยาของสารต้นแบบ CU 763-10-01 ซึ่งได้ถูกพัฒนาขึ้นมาโดย ชำนาญ ภัทรพานิช และ เฉลิมเกียรติ สงคราม ภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สารดังกล่าวเกิดจากการรวมของยา Valproic acid เข้ากับ pyridoxine (vitamine B₆) เพื่อวัตถุประสงค์ในการต้านชัก แต่จากการทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาพบว่าสารดังกล่าวสามารถลดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้ จึงนำมาสังเคราะห์ได้สารใหม่ขึ้นอีกหลายชนิดโดย ลือลักษณ์ ล้อมลิ้ม ภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และสารที่สังเคราะห์ได้หนึ่งในนั้นคือ CU 763-15-13 (รูปที่ 1) ซึ่งคาดว่าน่าจะมีฤทธิ์ในการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้ จึงได้มีการนำมาศึกษาทดสอบผลทางเภสัชวิทยา



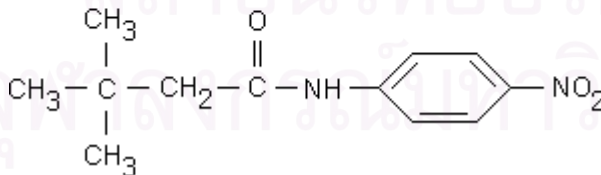
CU 763-15-13

MW = 200



CU 18-05

MW = 191.24



CU 18-06

MW = 237.24

รูปที่ 1 แสดงสูตรโครงสร้างของ CU 763-15-13, CU 18-05 และ CU 18-06

การศึกษาทางเภสัชวิทยาเบื้องต้นของ CU 763-15-13 เมื่อเปรียบเทียบกับ papaverine โดย กุลยา สายชุ่มอินทร์,(2541) พบว่า CU 763-15-13 สามารถยับยั้งการหดตัวที่เกิดขึ้นเอง(spontaneous contraction)ของลำไส้เล็กส่วนต้นกระต่าย ที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย Ach, BaCl₂ และ KCl โดยการยับยั้งเป็นไปตามความเข้มข้น (dose dependent) นอกจากนี้ยังมีผลยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว ที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย NE, 5-HT, BaCl₂ และ KCl ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เช่นเดียวกับ papaverine เมื่อนำสารทดสอบดังกล่าวมาทดสอบฤทธิ์ในท่อนาสุจิหนูขาวและหลอดเลือดแดงใหญ่กระต่าย สามารถยับยั้งได้เมื่อกระตุ้นด้วย 5-HT, BaCl₂ และ KCl แต่ไม่มีผลยับยั้งในการกระตุ้นด้วย NE ในขณะที่ papaverine สามารถยับยั้งได้ และในสารละลาย Krebs Henseleit ที่ปราศจากแคลเซียม CU 763-15-13 สามารถยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาวเมื่อกระตุ้นด้วย NE และ KCl ส่วนในสารละลาย high potassium depolarization เมื่อกระตุ้นด้วย CaCl₂ แบบความเข้มข้นสะสม พบว่า CU 763-15-13 สามารถยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาวได้ โดยสามารถเลื่อนกราฟ contraction response ได้ และการยับยั้งเป็นไปตามขนาดความเข้มข้น ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับ papaverine จากการทดลองได้เสนอว่า CU 763-15-13 ออกฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบผ่านกลไกทั้งทาง receptor – operated calcium channel (ROC) และ Voltage – operated calcium channel (VOC) และยังมีผลรบกวนการปลดปล่อยของแคลเซียมจากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์

โดย อุ่นเรือน แก้วพินิจ, (2541) ได้ศึกษาผลของ CU 763-15-13 ต่ออัตราการหายใจ พบว่า สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งการขนส่งอิเล็กตรอนในลูกโซ่การหายใจที่ complex I ซึ่งเป็นผลให้ความสามารถในการสังเคราะห์ ATP ของไมโทคอนเดรียลดลง CU 763-15-13 ไม่มีผลต่อการทำงานของ ATPase activity แต่สารทดสอบนี้สามารถยับยั้งการกระตุ้นการหายใจด้วยแคลเซียมของ ไมโทคอนเดรีย และ ยังสามารถกระตุ้นให้เกิด lipid peroxidation ได้

จากการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของ CU 763-15-13 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะหนูขาว โดย คณิตา ยิ้มศรีใส,(2542) ก็พบว่า CU 763-15-13 มีผลลดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหนูขาวได้ เมื่อกระตุ้นด้วย 5-HT, Ach, CaCl₂, BaCl₂, และ TEA ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยได้เสนอไว้ว่าการยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหาร อาจเกิดผ่านทาง receptor-operated calcium channel (ROC), voltage-dependent calcium channel (VOC) และ K⁺ channel นอกจากนี้ยังมีผลต่อการปลดปล่อยแคลเซียมจากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์อีกด้วย

จากสาร CU 763-15-13 ที่ได้จากการพัฒนาอนุพันธ์ของ Valproic acid ให้มีโครงสร้างเป็นเอไมด์ ซึ่งมีผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ จากนั้นได้มีการพัฒนาโครงสร้างต่อมา โดย ชำนาญ ภัทรพานิช และคณะ โดยมีการเปลี่ยนโครงสร้างหลักจาก pyridine derivative มาเป็น aniline derivative ทำให้ได้สารใหม่ขึ้นมา คือ CU 18-05 และ CU 18-06 (ดังรูปที่ 1) คาดว่าสารทั้งสองน่าจะลดผลการหดตัวของหัวใจ และ การเกิดออกซิเดทีฟฟอสฟอริลเลชันของไมโทคอนเดรียลงได้

จากการศึกษาเบื้องต้นทางเภสัชวิทยา โดย วิสุจน์ วิจิตรนิเทศ และ สมยศ วิจิตรเอกพันธ์,(2542) พบว่าทั้ง CU 18-05 และ CU 18-06 มีผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ โดย CU 18-05 มีผลลดการหดตัวของลำไส้กระต่ายที่กระตุ้นด้วย TEA และ Ach แต่ให้ผลน้อยกว่า CU 18-06 และในการศึกษาผลต่อหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว พบว่า CU 18-05 ไม่มีผล ต่อการหดตัวเมื่อกระตุ้นด้วย TEA และมีผลน้อยมากต่อการกระตุ้นด้วย NE ในขณะที่ CU 18-06 จะมีผลลดการหดตัวจากการกระตุ้นด้วย TEA และ NE ได้สูงมาก นอกจากนี้ยังพบว่า CU 18-06 สามารถลดการหดตัวจากการกระตุ้นด้วย NE ต่อท่อนำอสุจิหนูขาวได้บ้าง แต่ไม่พบผลเปลี่ยนแปลงนี้เลยเมื่อให้ CU 18-05

จากข้อมูลที่ได้กล่าวมาข้างต้น จะเห็นว่า ยังมีได้มีการศึกษาฤทธิ์ของ CU 763-15-13, CU 18-05 และ CU 18-06 ต่อหลอดเลือดหัวใจ ซึ่งหลอดเลือดหัวใจนั้นเป็นอวัยวะที่น่าสนใจ เนื่องจากพบว่า การตอบสนองของสารบางชนิด จะให้ผลตรงกันข้ามกับหลอดเลือดที่บริเวณอื่นๆ เพราะที่หลอดเลือดหัวใจนั้นมีลักษณะจำเพาะบางอย่างของ receptor ที่แตกต่างจากหลอดเลือดที่อื่นๆ และจากการศึกษาของ อรรถ อิงคานูวัฒน์,(2535) ได้เสนอไว้ว่า การให้ Ach ไปกระตุ้นที่หลอดเลือดหัวใจแล้วสามารถทำให้เกิดการหดตัวขึ้นนั้นเป็นเพราะที่หลอดเลือดหัวใจน่าจะมีปริมาณของ masicarinic receptor ที่อยู่บนเยื่อหลอดเลือดน้อยกว่าหลอดเลือดชนิดอื่นๆ ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของหลอดเลือดหัวใจสุกร โดยปกติการกระตุ้นด้วย Ach ในหลอดเลือด aorta และหลอดเลือดจากที่อื่นๆ ของสุกร ยกเว้นหลอดเลือดหัวใจสุกร(porcine coronary artery) จะทำให้เกิดการคลายตัวได้โดยอาศัยเยื่อหลอดเลือด(endothelium) [Graser, Leisner และ Teiedt, 1986] นอกจากนี้ยังพบว่ามีความแตกต่างของปริมาณของ receptor subtype โดยที่หลอดเลือดหัวใจ นั้นจะมี β_1 -type ที่เด่น ผลนี้ตรงกับการศึกษาของ อรรถ อิงคานูวัฒน์,(2535) ที่พบว่า propranolol (non – selective beta adrenergic antagonist) สามารถยับยั้งฤทธิ์การคลายตัวของ noradrenaline(NA) ในหลอดเลือดหัวใจ ได้ดีกว่า prazosin (alpha –1 adrenergic antagonist) และ yohimbin (alpha –2 adrenergic antagonist) ส่วนในหลอดเลือด aorta นั้นพบว่ามี α - receptor ที่เด่น [Hof และ Vuoreles, 1983] ทำให้เกิดการตอบสนองที่แตกต่างกันเมื่อได้รับการกระตุ้นด้วย NA คือที่หลอดเลือดหัวใจ

ทำให้เกิดผลในการคลายตัวของหลอดเลือดได้จากการกระตุ้นที่ β_1 -receptor ส่วนหลอดเลือด aorta นั้น พบว่าสามารถทำให้เกิดการหดตัวของหลอดเลือดจากการกระตุ้นที่ α -receptor ได้ จากข้อมูลทั้งหมดที่กล่าวมา ทำให้พอสรุปได้ถึงความแตกต่างของหลอดเลือดที่หัวใจกับหลอดเลือดที่บริเวณอื่นๆ ได้ และเหตุผลนี้เองที่เป็นจุดที่น่าสนใจ ในการนำมาทำการศึกษารวบรวมผลของการให้สารทดสอบทั้ง 3 ชนิด (CU 763-15-13, CU18-05 และ CU18-06) ในหลอดเลือดหัวใจ เพื่อนำมาเปรียบเทียบกับหลอดเลือดที่อื่นๆ และอวัยวะที่บริเวณต่างๆ ที่ได้เคยมีการศึกษามาก่อน ดังที่ได้กล่าวไว้ข้างต้น โดยในการศึกษาครั้งนี้จะเลือกใช้หลอดเลือด coronary ของหัวใจสุกร มาทำการทดสอบ เนื่องจากสุกรนั้นมีการตอบสนองต่อสารสื่อประสาท และสารอื่นๆ ใกล้เคียงกับมนุษย์ [Ngai, Rath และ Pual, 1989] และยังเป็นการช่วยลดปัญหาทางด้านจริยธรรมอีกด้วย ดังนั้นในการศึกษาผลของสารทดสอบทั้ง 3 ชนิดนี้ จึงน่าที่จะมีประโยชน์สำหรับที่จะเป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อนำไปใช้ เป็นแนวทางในการศึกษาและพัฒนาสูตรโครงสร้างของสารให้ดีขึ้นต่อไป

สมมติฐานของการวิจัย (Hypothesis)

1. สาร CU 763-15-13 , CU 18-05 และ CU 18-06 มีผลในการคลายหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร
2. การออกฤทธิ์ ของ CU 763-15-13 , CU 18-05 และ CU 18-06 มีผลต่อการเคลื่อนที่ของแคลเซียมจากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ และมีผลต่อการปลดปล่อยของแคลเซียมภายในเซลล์จาก SR

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของ CU 763-15-13, CU 18-05 และ CU 18-06 ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย Acetylcholine, Serotonin, Histamine, BaCl₂ และ CaCl₂
2. เพื่อศึกษาถึงตำแหน่งในการออกฤทธิ์ ของ CU 763-15-13, CU 18-05 และ CU 18-06 โดยศึกษาเปรียบเทียบทั้งในสภาวะที่ปกติ(มีแคลเซียมอยู่ภายนอกเซลล์) และในสภาวะที่ไม่มีแคลเซียมอยู่ภายนอกเซลล์

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการทำวิทยานิพนธ์

1. ทำให้ทราบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของ CU 763-15-13 ,CU 18-05 และ CU 18-06 ต่อหลอดเลือดแดงของหัวใจสุกร ว่าให้ผลแตกต่างกันอย่างไร เมื่อได้รับตัวกระตุ้นชนิดต่างๆ
2. ทำให้ทราบกลไกการออกฤทธิ์ของ CU 763-15-13 ,CU 18-05 และ CU 18-06 ว่าเกี่ยวข้องกับอะไรที่ตำแหน่งใดบ้าง
3. ทำให้ทราบถึงผลของ CU 763-15-13 ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงหัวใจสุกรว่าแตกต่างจากอวัยวะอื่นๆ ที่ได้เคยมีการศึกษามาแล้วอย่างไร และทำให้ทราบถึงข้อมูลพื้นฐานของ CU 18-05 และ CU 18-06 เพื่อนำไปใช้ในการศึกษา และพัฒนาสูตรโครงสร้างของสารให้ดีขึ้นต่อไป



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

แนวเหตุผลและทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

ความสัมพันธ์ของแคลเซียมต่อการหดและคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ

การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ มีความเกี่ยวข้องกับแคลเซียม โดยแคลเซียม จะเป็นตัวการสำคัญในการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ myosin light chain kinase (MLCK) หรือ protein kinase ชนิดอื่นๆ ทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบขึ้น ซึ่งปริมาณของแคลเซียมอิสระภายในเซลล์นั้นจะได้มาจาก แคลเซียมจากภายนอกเซลล์เคลื่อนที่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ นอกจากนี้ยังมีการปลดปล่อยแคลเซียมอิสระออกมาจากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์ หรือ SR (Sarcoplasmic reticulum) [Yamanoue และคณะ, 1994] และปริมาณแคลเซียมอิสระ จะไปมีผลต่อ contractile protein ทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบขึ้นได้ ส่วนการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบนั้น เกิดจากการที่ความเข้มข้นของแคลเซียมอิสระภายในเซลล์ลดลงทำให้ไม่สามารถกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ MLCK ได้ ทำให้เกิดการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบขึ้นได้ [Hirano และคณะ, 1991]

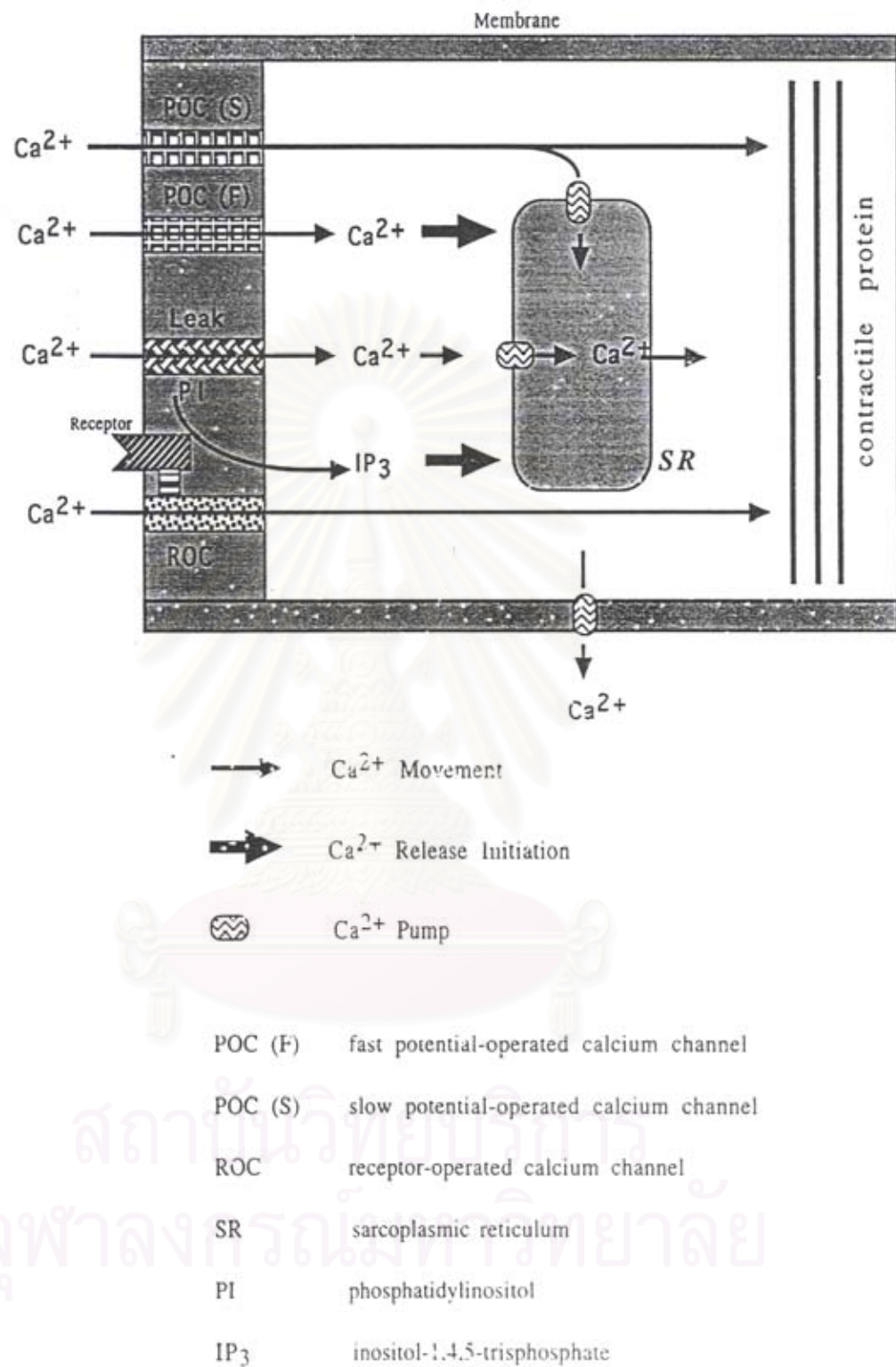
การเพิ่มขึ้นของแคลเซียมอิสระภายในเซลล์ เกิดได้ดังนี้

1. เกิดจากแคลเซียมจากภายนอกเซลล์เคลื่อนที่เข้ามาสู่ภายในเซลล์ (รูปที่ 2)

1.1 แคลเซียมผ่านเข้ามาในสภาวะพัก (resting influx) หรือ leak mechanism ซึ่งแคลเซียมที่ผ่านเข้าเซลล์โดยกลไกนี้ จะถูกเก็บสะสมไว้ในแหล่งเก็บสะสมแคลเซียมภายในเซลล์ (SR) (รูปที่ 2) ซึ่งวิธีการนี้จะไม่ทำให้ Ca^{2+} อิสระภายในเซลล์เพิ่มขึ้นโดยตรง

1.2 แคลเซียมผ่านเข้าเซลล์ทาง potential (voltage) - operated calcium channel (POC หรือ VOC) โดยเมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงของศักย์ไฟฟ้าแล้วทำให้เกิด action potential ที่เยื่อหุ้มเซลล์ขึ้น แล้วส่งผลให้เกิด depolarization ขึ้น ทำให้ VOC เปิดออก แล้วจึงเกิดการเคลื่อนที่ของแคลเซียมจากภายนอกเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์ ผ่านทาง Ca^{2+} channel ขึ้นได้ โดยแคลเซียมจะเกิดการแลกเปลี่ยนกับโปแตสเซียมภายในเซลล์ ดังนั้นในสภาวะที่มีปริมาณของโปแตสเซียมสูงๆ จึงยังสามารถกระตุ้นการเปิดของ VOC ได้มากขึ้น ทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบมากขึ้นด้วย [Itoh และคณะ, 1981; Han และคณะ, 1995]

POC นั้นสามารถจะแบ่งได้เป็น 2 ชนิด คือ slow potential-operated calcium channel [POC(S)] และ fast potential-operated calcium channel [POC(F)] โดยพบว่า POC(S) จะมีการเคลื่อนที่เข้ามาภายในเซลล์ทาง T tubule (transverse tubules) (รูปที่ 3) เมื่อ



รูปที่ 2 แสดงกลไกที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มขึ้นของแคลเซียมอิสระภายในเซลล์

[Karaki และ Weiss, 1988]

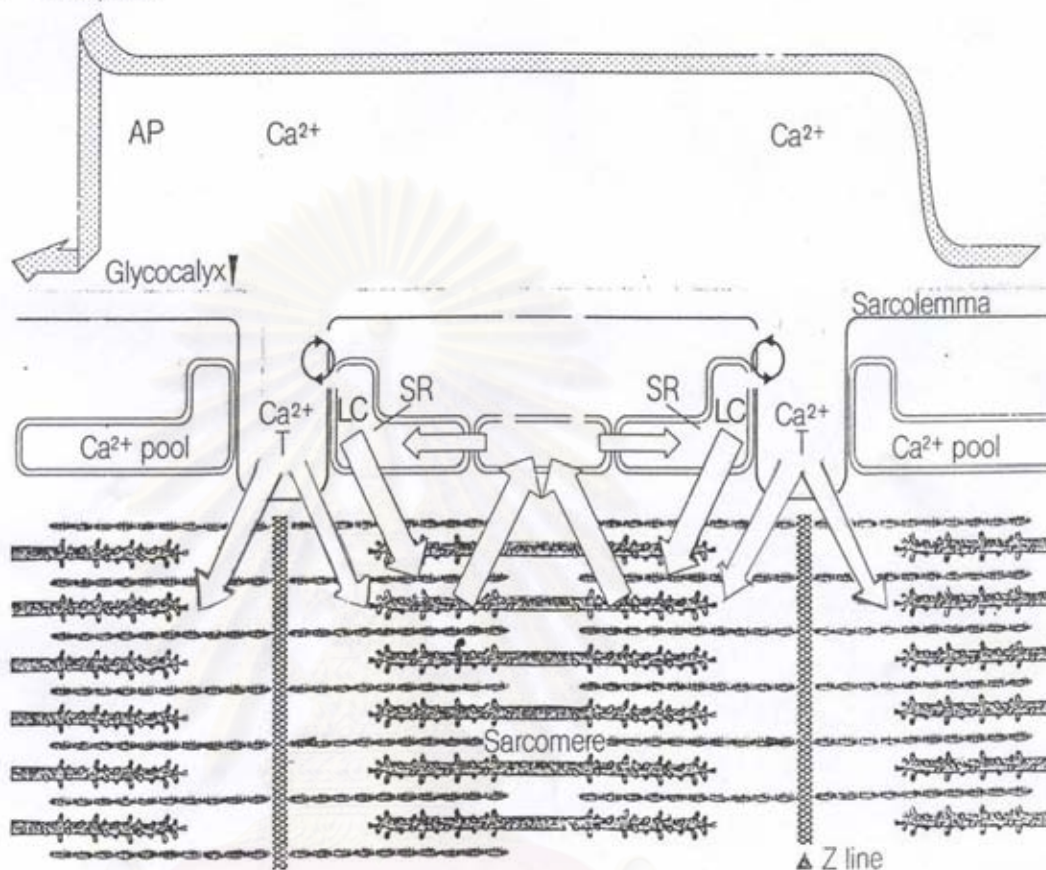
The staggered system of Ca^{2+} transport associated with electromechanical coupling in the myocardium of warmblooded animals.

LC = lateral cisterna
AP = action potential

SR = sarcoplasmic reticulum (longitudinal system)

T = transverse tubular system

The cell membrane of a myocardial cell consists of the basement membrane, glycocalyx and sarcolemma.



สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 3 แสดงการเคลื่อนที่ของแคลเซียมจากภายนอกผ่านเข้าสู่เซลล์ทาง slow channel [POC(s)] แล้วไปมีผลต่อการปลดปล่อยแคลเซียมจาก SR [Lossnitzer, Pfennigsdorf และ Brauer.]

มีแคลเซียมผ่านเข้ามาทาง T tubule นี้ จะมีส่วนหนึ่งที่ถูกปั๊มเข้าไปเก็บสะสมไว้ในแหล่งเก็บสะสม แคลเซียม(SR) และมีบางส่วนที่ไปมีผลในการกระตุ้นที่ contractile protein โดยตรง (รูปที่ 2) ดังนั้นที่ POC(S) จึงมีบทบาทสำคัญต่อการหดและคลายตัวของกล้ามเนื้อโดยตรง ซึ่งต่างจาก POC(F) ที่จะไม่มีส่วนต่อ contractile protein โดยตรง (รูปที่ 2) แต่จะพบว่า การผ่านเข้ามาของ Ca^{2+} ทาง POC(F) จะมีปริมาณที่มากกว่าทาง POC(S) และจะถูกนำเข้ามาเก็บไว้ใน SR ดังนั้นที่ POC(F) จึงเป็นแหล่งรับ Ca^{2+} จากภายนอกเข้ามาเก็บสะสมไว้ใน SR [Karaki และ Weiss, 1988]

1.3 แคลเซียมผ่านเข้าเซลล์ทาง receptor - operated calcium channel (ROC) โดยเมื่อมีสารกระตุ้นที่จำเพาะเจาะจงต่อ receptor นั้น จะส่งผลให้ ROC เปิดออก ทำให้แคลเซียมจากภายนอกเซลล์เคลื่อนที่เข้าสู่ภายในเซลล์ได้ โดยผ่านทาง Ca^{2+} channel นอกจากผลการกระตุ้นการเพิ่มของแคลเซียมจากภายนอกเซลล์แล้ว ยังพบว่าเมื่อมีการกระตุ้นที่ receptor ที่จำเพาะเจาะจงก็อาจมีผลเพิ่มแคลเซียมจากภายในได้โดยการเร่งการปลดปล่อยแคลเซียมจาก SR ซึ่งเป็นผลมาจากการเพิ่มขึ้นของปริมาณ IP_3 (inositol-1,4,5-triphosphate) จากการกระตุ้น phospholipase C ซึ่งจะได้กล่าวถึงรายละเอียดต่อไปในหัวข้อของกลไกที่เกี่ยวข้องต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณแคลเซียมอิสระภายในเซลล์

2. เกิดจากการปลดปล่อยของแคลเซียมจากแหล่งเก็บสะสมแคลเซียมภายในเซลล์ (SR) โดยสามารถเกิดได้ 3 กลไก คือ

2.1 calcium - induced calcium release (CICR) เกิดจาก แคลเซียมภายนอกเซลล์เคลื่อนที่ผ่าน POC(S) ดังที่ได้กล่าวข้างต้น จากนั้นปริมาณ Ca^{2+} ที่ผ่านเข้ามานี้จะไปมีผลกระตุ้นให้มีการปลดปล่อยแคลเซียมจากแหล่งเก็บสะสมแคลเซียม (SR) (รูปที่ 3) [Lossnitzer, Pfennigsdorf และ Brauer, 1983; Ito และคณะ, 1986; Abe, Karaki และ Endoh, 1996]

2.2 จากการกระตุ้น โดย caffeine ซึ่งสามารถกระตุ้นให้มีการปลดปล่อยแคลเซียมจาก SR ได้ โดยมีความเกี่ยวข้องกับ ryanodine receptor [Kawakami และคณะ, 1998] นอกจากนี้ยังพบอีกว่า caffeine นอกเหนือจากการเพิ่มการปลดปล่อยของแคลเซียมอิสระจาก SR แล้วยังมีผลต่อการเพิ่ม Ca^{2+} influx ผ่านทาง POC ได้อีกด้วย [Chen และคณะ, 1996]

2.3 จากการกระตุ้นที่ receptor ที่จำเพาะเจาะจงแล้วเกิดการเปลี่ยนแปลงทำให้มี IP_3 (inositol-1,4,5-triphosphate) เพิ่มมากขึ้น ส่งผลกระตุ้นการปลดปล่อยแคลเซียมจาก SR ได้มากขึ้นด้วย [Berridge, 1993]

3. เกิดจากสาเหตุอื่นๆ จากการศึกษที่ผ่านมาพบว่า การเพิ่มขึ้นของแคลเซียมนี้ นอกจากมาจากผลจากภายนอกเซลล์และภายในเซลล์ดังที่กล่าวมาแล้ว ยังมีผลจากสาเหตุอื่นๆ อีกที่สามารถเปลี่ยนแปลงปริมาณแคลเซียมอิสระภายในเซลล์ ซึ่งพอจะแบ่งออกได้เป็น กลุ่มของ voltage-dependent ion channels โดยจะรวมถึงพวกอิชออนต่างๆ เช่น Ba^{2+} ที่สามารถส่งผลให้มีการเพิ่มการเข้าของแคลเซียมผ่านทาง Ca^{2+} channel หรือ กระตุ้นการปลดปล่อยของแคลเซียมจาก SR ทำให้มีการเพิ่มขึ้นของแคลเซียมอิสระภายในเซลล์ และกลุ่มที่สำคัญอีกกลุ่มก็คือ พวก non channel ต่างๆ ซึ่งได้แก่ Ca^{2+} ATPase, Na^+/Ca^{2+} exchanger, บทบาทการทำงานของ SR และ mitochondria, รวมทั้งเรื่อง sensitivity ของ contractile protein โดยจะพบว่าสิ่งต่างๆ เหล่านี้ล้วนแล้วมีผลต่อการเพิ่มหรือลดปริมาณแคลเซียมอิสระภายในเซลล์ได้ทั้งสิ้น [Spedding และ Paoletti, 1992] โดยจะขอกล่าวถึงกลไกที่อาจจะเกิดขึ้นได้บ้างจากสาเหตุต่างๆ ดังนี้

3.1 เกี่ยวข้องกับ ion channel อื่นๆ

การเกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ นอกจากจะขึ้นอยู่กับปริมาณของ แคลเซียมแล้ว ยังขึ้นอยู่กับปริมาณของ โปแตสเซียม, โซเดียม และ คลอไรด์ อีกด้วย เนื่องจากเซลล์กล้ามเนื้อเรียบปกตินั้นจะประกอบไปด้วย ionic channel ต่างๆ มากมายได้แก่ Ca^{2+} channel, K^+ channel, Na^+ channel และ Cl^- channel ซึ่งถ้ามีผลเกิดการเปลี่ยนแปลงที่ ionic channel ต่างๆ เหล่านี้ก็จะส่งผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้ เช่น ในภาวะที่มีการกระตุ้นที่ K^+ channel จะเกิดมีการเคลื่อนที่ออกของปริมาณโปแตสเซียมจากภายในเซลล์ออกสู่ภายนอกเซลล์จำนวนมากจนทำให้เกิดภาวะ hyperpolarization ขึ้น ซึ่งจะสามารถไปยับยั้งที่ voltage-dependent Ca^{2+} channel ได้ และส่งผลให้เกิดการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้ [Nelson และคณะ, 1990; Gollasch และคณะ, 1992; Nelson และ Quayle, 1995; Bychkov และคณะ, 1997] นอกจากนี้ยังพบว่าภาวะ hyperpolarization จากการเปิดของ K^+ channel จะมีผลในการลด Ca^{2+} influx และยังมีผลในการยับยั้งการกระตุ้นของ agonist ในการปลดปล่อย Ca^{2+} จาก SR ภายในเซลล์ ได้อีกด้วย [Khan และคณะ, 1998] และยังพบอีกด้วยว่าภาวะ hyperpolarization นั้นมีความสัมพันธ์กับ Cl^- channel เช่นเดียวกัน คือเมื่อมีการเปิด Cl^- channel จะมีปริมาณของคลอไรด์ไหลเข้าสู่ภายในเซลล์จำนวนมาก ทำให้ค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าที่เยื่อหุ้มเซลล์นั้นยิ่งมีมากขึ้น เมื่อเทียบกับภายนอกเซลล์ซึ่งมีปริมาณของโปแตสเซียมอยู่เป็นจำนวนมาก และในทางกลับกันเมื่อมีการยับยั้งการเกิด K^+ efflux หรือ Cl^- influx ก็จะทำให้เกิดผลเพิ่มปริมาณแคลเซียมอิสระ ภายในเซลล์ และมีผลเพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้ [Akbarali และ Giles, 1993] ส่วนผลของ Na^+ channel ต่อปริมาณแคลเซียมอิสระภายในเซลล์ อาจเกิด

ได้จากการ reverse ของ $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger โดยจะพบว่าเมื่อมีการกระตุ้นที่ Na^+ channel จะมีการไหลเข้าของปริมาณโซเดียมเข้าสู่เซลล์เป็นจำนวนมาก ทำให้ไม่สามารถเกิดการแลกเปลี่ยนระหว่าง Na^+ เข้าสู่เซลล์ กับ Ca^{2+} ออกนอกเซลล์ได้ตามปกติจึงทำให้เกิดการแลกเปลี่ยนกันในทางตรงกันข้ามแทนคือมีการแลกเปลี่ยนแคลเซียมเข้าสู่เซลล์ และโซเดียมที่มีอยู่มากภายในเซลล์ออกไป ทำให้เพิ่ม Ca^{2+} influx ได้มากขึ้น ส่งผลให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้ [Goldhaber, 1996; Maddford และ Pierce, 1997; Arakawa และคณะ, 1999]

3.2 เกี่ยวข้องกับ Ca^{2+} ATPase pump

โดยปกติถ้ามีการกระตุ้นที่ Ca^{2+} ATPase pump จะมีผลทำให้เพิ่มการสะสมของแคลเซียมเข้าไปเก็บไว้ใน SR หรือมีการเร่งการบีบ แคลเซียมออกสู่ภายนอกเซลล์ ซึ่งทั้ง 2 กระบวนการนี้จะมีผลทำให้ลดปริมาณแคลเซียมภายในเซลล์ลงได้

3.3 เกี่ยวข้องกับ $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger และ Na^+-K^+ ATPase pump

พบว่าเมื่อมีภาวะที่มีโซเดียมค้างภายในเซลล์ อาจเนื่องมาจาก การกระตุ้นที่ Na^+ channel ดังที่ได้กล่าวมาแล้วในหัวข้อที่ 3.1 ทำให้เกิดการ reverse ของ $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger นอกจากนี้ยังพบว่าสารในกลุ่ม digitalis glycoside และ Ouabain ที่มีผลในการยับยั้ง Na^+-K^+ ATPase pump ในการบีบ Na^+ ออกนอกเซลล์ สามารถทำให้เกิดการเพิ่มปริมาณโซเดียมภายในเซลล์ได้เช่นกัน ก็จะมีผลเพิ่ม Ca^{2+} influx เข้าสู่ภายในเซลล์ได้ [Kim และ Akera, 1987; Hamlym และคณะ, 1991] โดยผ่านทาง reverse ที่ $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger เช่นกัน ทำให้สามารถเพิ่มปริมาณแคลเซียมอิสระภายในเซลล์ และมีผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้

3.4 เกี่ยวข้องกับแหล่งการสร้างพลังงาน(ATP)

ATP เป็นแหล่งพลังงานสำคัญ ในการกระตุ้น Ca^{2+} ATPase pump และ Na^+-K^+ ATPase pump ให้ทำหน้าที่ได้ตามปกติ ดังนั้น ถ้าขาด ATP ก็จะมีผลทำให้ Ca^{2+} ATPase pump ไม่สามารถบีบแคลเซียมเข้าไปเก็บไว้ใน SR ได้ตามปกติ และถ้ามีผลในการยับยั้งการทำงานของ Na^+-K^+ ATPase pump เหมือนกับสารพวก cardiac glycosides ดังที่กล่าวมาแล้วในหัวข้อที่ 3.3 ผลต่างๆเหล่านี้ล้วนแล้วแต่ทำให้มีการเพิ่มปริมาณแคลเซียมอิสระภายในเซลล์ทั้งสิ้น นอกจากนี้ยังพบว่า ATP นั้นมีความสำคัญต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ โดยจะทำให้เกิดการ phosphorylated myosin ในการกระตุ้น contractile protein ทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้

3.5 เกี่ยวข้องกับ Ca^{2+} sensitivity

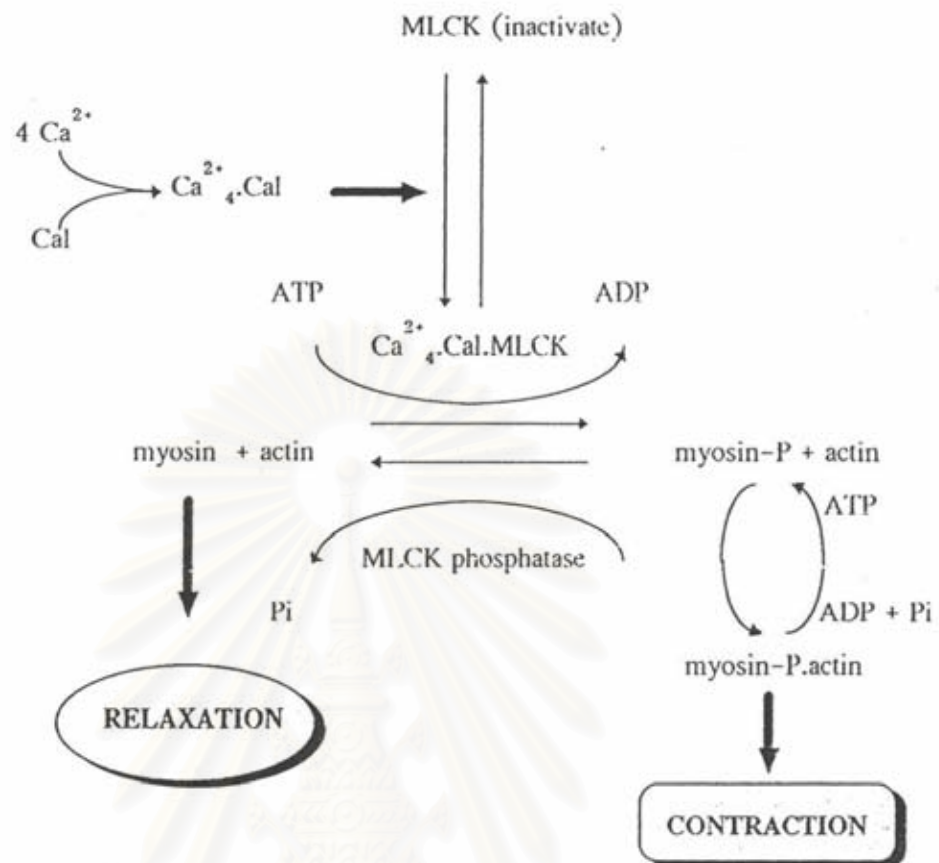
โดยปกติ กลไกการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ จะเกิดขึ้นได้ เมื่อมีปริมาณแคลเซียมอิสระภายในเซลล์มาจับกับ calmodulin เกิดเป็น calcium-calmodulin complex ขึ้น และจะใช้พลังงาน ATP เพื่อให้เกิดการกระตุ้นเอนไซม์ myosin light chain kinase (MLCK) [Kamm และ Stull, 1985; Hirano และคณะ, 1991] ให้เกิดการ phosphorylation ได้เป็น phosphorylated myosin (myosin P) ซึ่งจะสามารถเกิดปฏิกิริยา จับกับ actin ทำให้เกิดการหดตัวของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบได้ และในทางกลับกัน เมื่อมีแคลเซียมอิสระภายในเซลล์ลดลง จะทำให้ calmodulin แยกตัวหลุดออกจาก calcium-calmodulin complex และจะมีผลในการกระตุ้น เอนไซม์ phosphatase ทำให้เกิด dephosphorylation ของ myosin light chain ซึ่งในภาวะนี้ myosin จะไม่สามารถทำปฏิกิริยากับ actin ได้ ทำให้เกิดการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบขึ้นได้ ดังนั้น ถ้ามีการเปลี่ยนแปลงต่อกลไกต่างๆ เหล่านี้ก็จะมีผลในการเพิ่มการหดหรือคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ [Murphy, 1993] (รูปที่ 4) ซึ่งเกี่ยวข้องกับ Ca^{2+} sensitivity ของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบชนิดนั้นๆ นอกจากนี้ยังมีรายงานถึงผลของการเพิ่มปริมาณของ cAMP และ cGMP ว่ามีผลต่อการลด Ca^{2+} sensitivity อีกด้วย [Adelstein และคณะ, 1978; Abe, Kanaide และ Nakamura, 1990]

กลไกที่เกี่ยวข้องต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณแคลเซียมอิสระภายในเซลล์มีดังนี้

ดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้นถึงผลของแคลเซียมอิสระภายในเซลล์ที่เพิ่มขึ้นนั้นบางส่วนเกิดโดยผ่านกลไกของ ROC กล่าวคือ เมื่อมีสารต่างๆ เช่น catecholamine, acetylcholine, histamine, serotonin ฯลฯ มาจับกับ receptor จะให้ผลเกิดการเปลี่ยนแปลงที่แตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของ receptor นั้นๆ ดังนี้ [Bolton, 1979; Karaki และคณะ, 1997]

1. ถ้าเป็น G – protein coupled receptor จะเกิดผลผ่าน adenylate cyclase cascade และ phosphoinositol cascade [Miller-Hance และคณะ, 1988; Gaul และคณะ, 1998; Calderone และ Martinotti, 2000] โดย

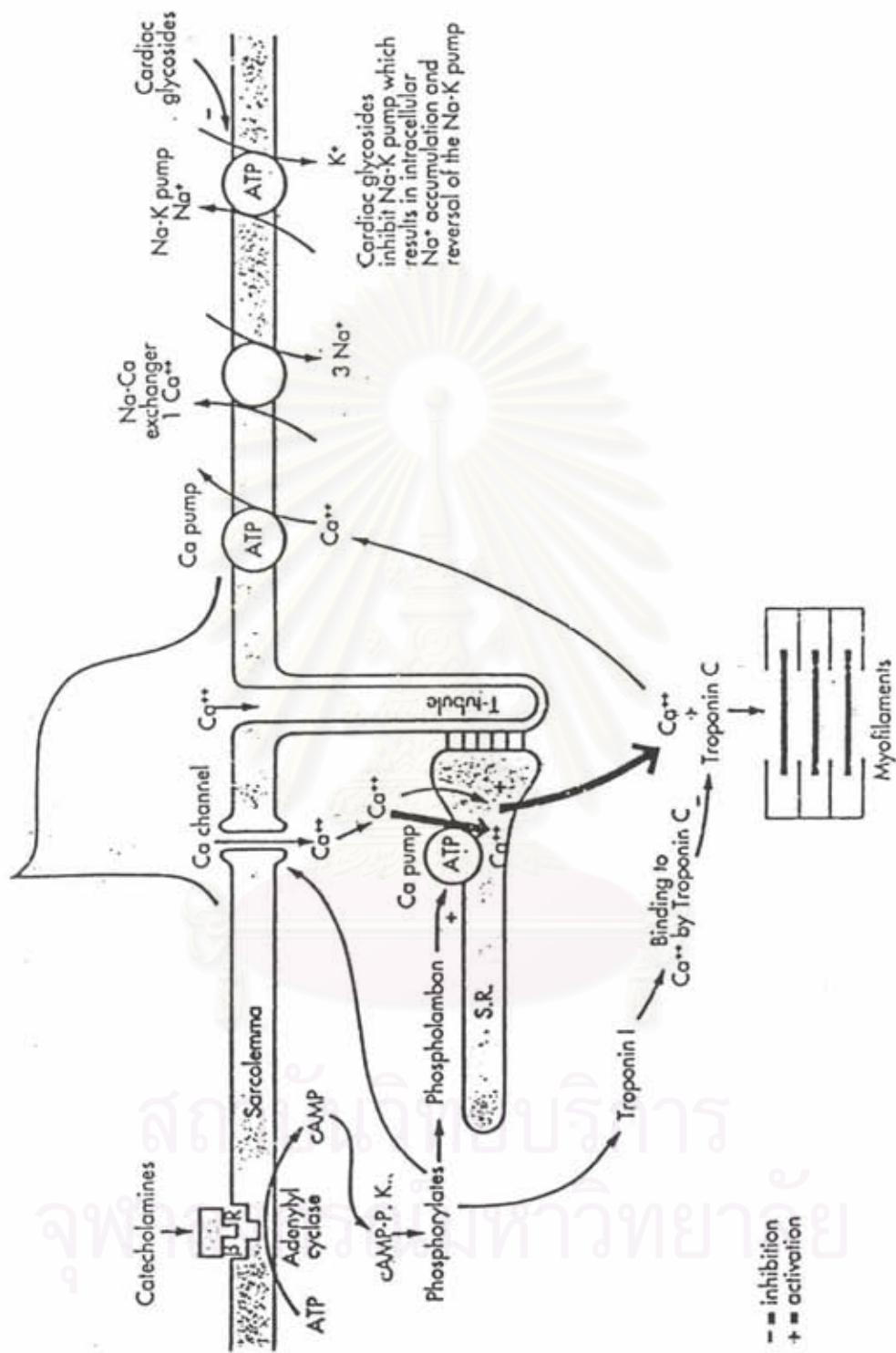
ถ้าการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นโดยผ่าน adenylyl cyclase (รูปที่ 5) หากมีการจับของสารที่ receptor จะทำให้เกิดการกระตุ้นให้เอนไซม์ adenylyl cyclase ทำหน้าที่ในการเปลี่ยน adenosine-5-triphosphate (ATP) ให้เป็น cyclic adenosine-3,5-monophosphate (cAMP) แล้ว cAMP จะไปกระตุ้น ให้ protein kinase A เกิด phosphorylate ขึ้น แล้วเกิดการเปลี่ยนแปลงหลายประการ คือ สามารถกระตุ้น Ca^{2+} channel แล้วทำให้เกิดการเคลื่อนของแคลเซียมจากภายนอกเซลล์เข้าสู่ ภายในเซลล์ผ่านทาง Ca^{2+} channel ได้ ทำให้มีการเก็บสะสมแคลเซียม



อธิบายคำย่อ

Ca^{2+}	= calcium ion
Cal	= calmodulin
MLCK	= myosin light chain kinase
myosin-P	= phosphorylated myosin
ATP	= adenosine triphosphate
ADP	= adenosine diphosphate
Pi	= gamma phosphate group

รูปที่ 4 แสดงการหดและคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ [Murphy, 1993]



รูปที่ 5 แสดงความสัมพันธ์ของการเคลื่อนไหวของแคลเซียมที่ตำแหน่งต่างๆที่เกี่ยวข้องกับการกระตุ้นที่ผ่านทาง adenylylate cyclase cascade [Berne & Levy, 1993]

ที่เคลื่อนเข้ามาใน SR ได้โดยเกิด phosphorylate ATP ทำให้ Ca^{2+} ATPase pump ทำหน้าที่เร่งการเก็บแคลเซียมเข้ามาไว้ใน SR และยังมีผลต่อ contractile proteins ทำให้ลดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้

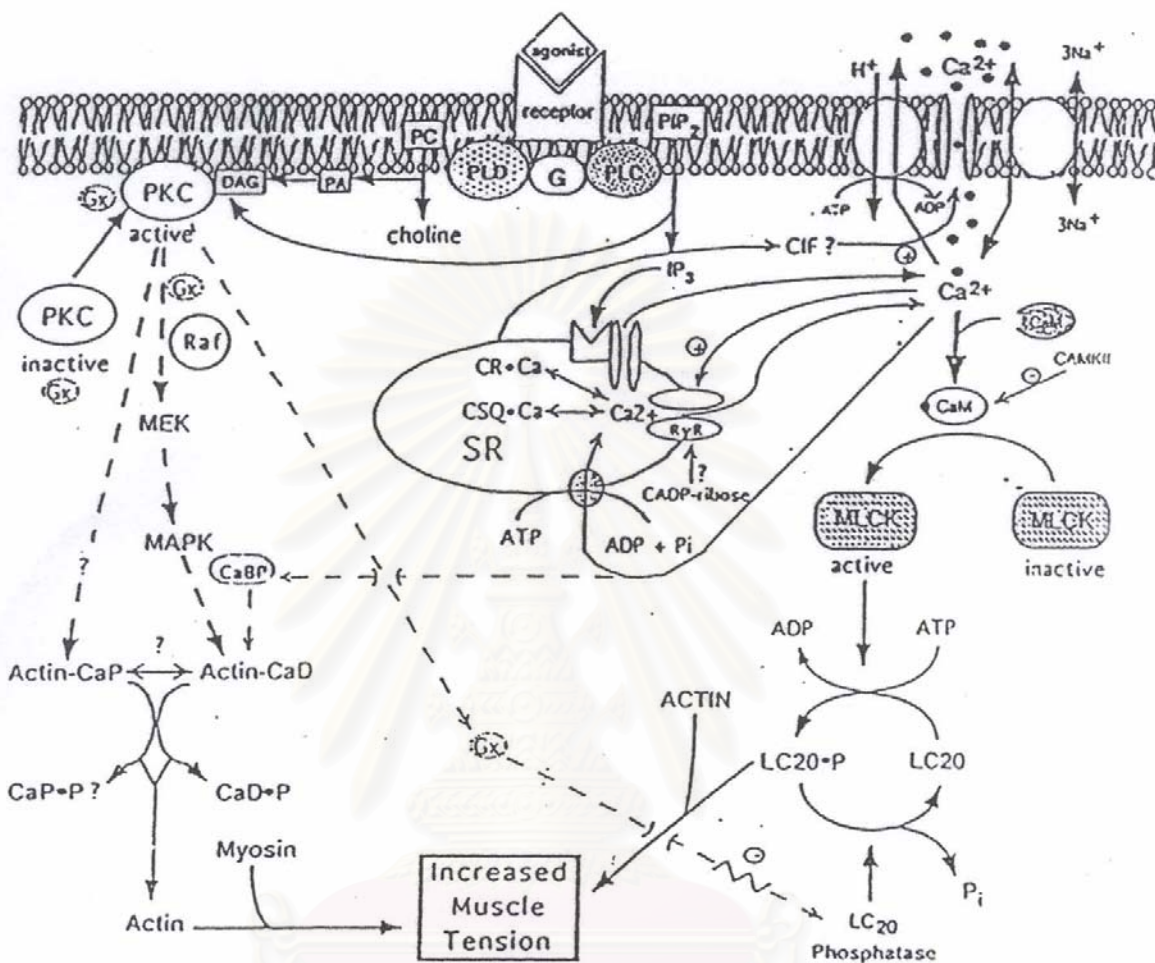
หากการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นโดยผ่าน phospholipase C (รูปที่ 6) เมื่อมีการจับของสารที่ receptor จะเกิดผลกระตุ้นให้เอนไซม์ phospholipase C ทำหน้าที่ในการ hydrolyse phosphatidylinositol-4,5-biphosphate (PIP_2) ได้เป็น diacylglycerol (DAG) และ inositol-1,4,5-triphosphate (IP_3) ซึ่ง DAG นั้นจะไปกระตุ้น protein kinase C เกิดการเปลี่ยนแปลงต่างๆ ขึ้นภายในเซลล์ แล้วส่งผลต่อ tension ของกล้ามเนื้อเรียบด้วย ส่วน IP_3 ก็มีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นการปลดปล่อยแคลเซียมจาก SR ออกมา ทำให้มีการเพิ่มของแคลเซียมอิสระภายในเซลล์ ส่งผลต่อ contractile protein เกิดผลเพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบขึ้นได้ [Horowitz และคณะ, 1996]

2. ถ้าเป็น receptor ที่ไม่ได้ couple อยู่กับ G - protein การเปลี่ยนแปลงจะเกิดผ่านทาง guanylyl cyclase โดยเมื่อมีการกระตุ้นที่ receptor จะเกิดผลในการกระตุ้นเอนไซม์ guanylyl cyclase ให้ทำหน้าที่เปลี่ยน guanine-triphosphate (GTP) ให้เป็น cyclic-guanine monophosphate (cGMP) แล้วจะไปกระตุ้น protein kinase G ต่อไป ทำให้เกิดผลลดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ [Abe, Kanaide และ Nakamura, 1990] โดยจะเกิดการเปลี่ยนแปลงได้ 3 ประการหลัก [Collin, 1991] (รูปที่ 7) คือ

1. เกิดการยับยั้งการเคลื่อนที่ของ แคลเซียมจากภายนอกเข้าสู่เซลล์ทาง Ca^{2+} channel
2. เกิดการยับยั้งการปลดปล่อยของ แคลเซียมออกจาก SR
3. เกิดผลโดยตรงที่ contractile proteins โดยการไปยับยั้งการจับกันของ actin และ myosin

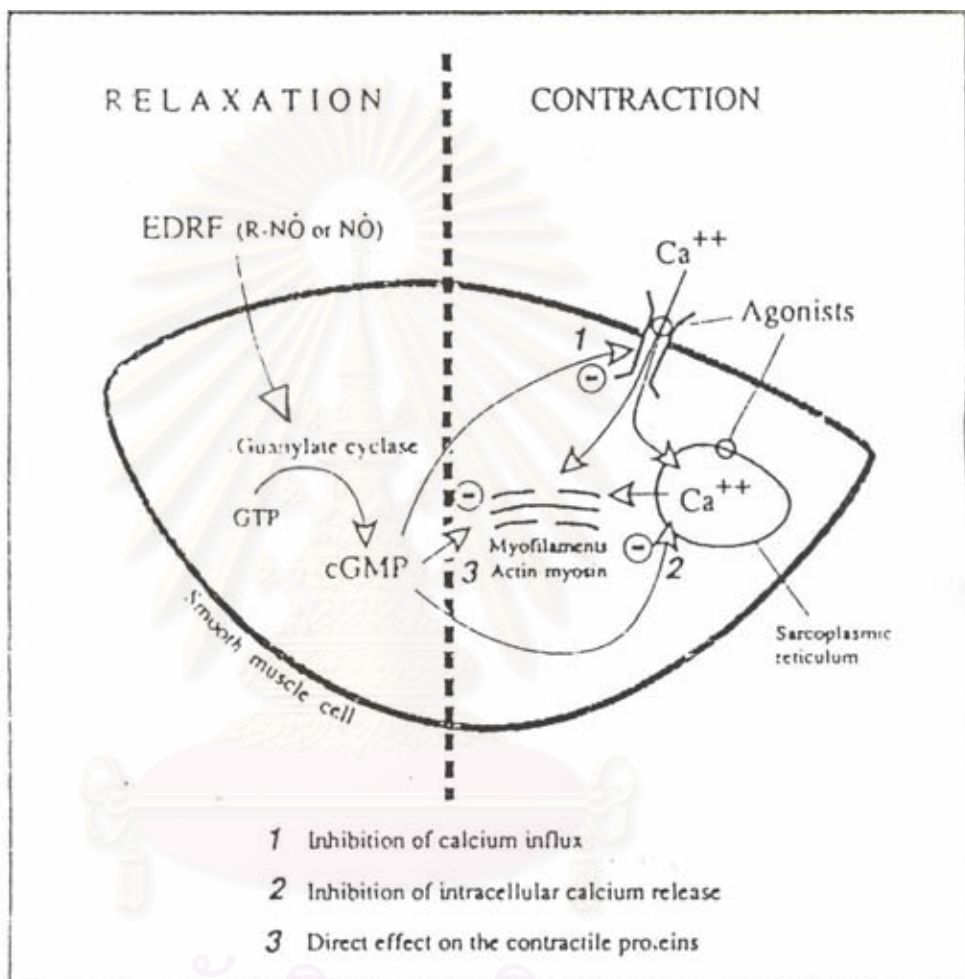
นอกจากนี้ ยังพบว่า cGMP มีผลต่อ K^+ channel โดยสามารถกระตุ้นให้มีการเปิด K^+ channel (รูปที่ 8) การเพิ่มขึ้นของ cGMP เกี่ยวข้องกับ nitric oxide (NO) และถือว่าเป็นสารจำพวก endothelium derived relaxing factor (EDRF) [Furchgott, 1984; Park และคณะ, 2000; Yamaki และคณะ, 2000] ซึ่งหลังจาก endothelium ที่บุอยู่ที่ผนังหลอดเลือด

nitric oxide (NO) จะมีผลไปกระตุ้น guanylate cyclase (GC) ทำให้เกิดการเพิ่มของ cGMP การทำให้มีผลเพิ่มการเคลื่อนที่ของ K^+ จากภายในเซลล์สู่ภายนอกเซลล์ได้มากขึ้นส่งผลให้เกิดภาวะ hyperpolarization ขึ้น แล้วไปมีผลต่อ voltage gated calcium channel ทำให้แคลเซียมเคลื่อนเข้ามาในเซลล์ลดน้อยลง จึงสามารถลดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ



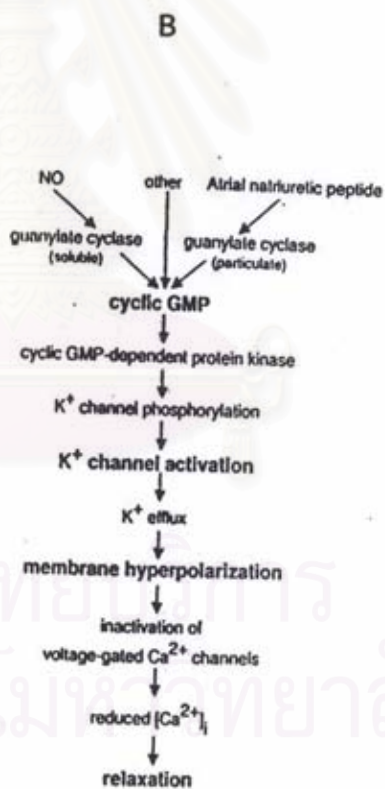
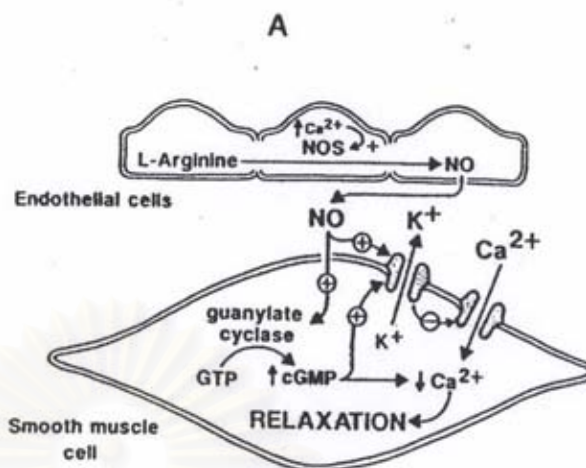
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 6 แสดงการเคลื่อนที่ของแคลเซียม ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับการกระตุ้นผ่านทาง phosphoinositol cascade [Horowitz และคณะ, 1996]



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 7 แสดงการเคลื่อนที่ของแคลเซียม ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับการกระตุ้นผ่านทาง guanylate cyclase cascade [Collins, 1991]

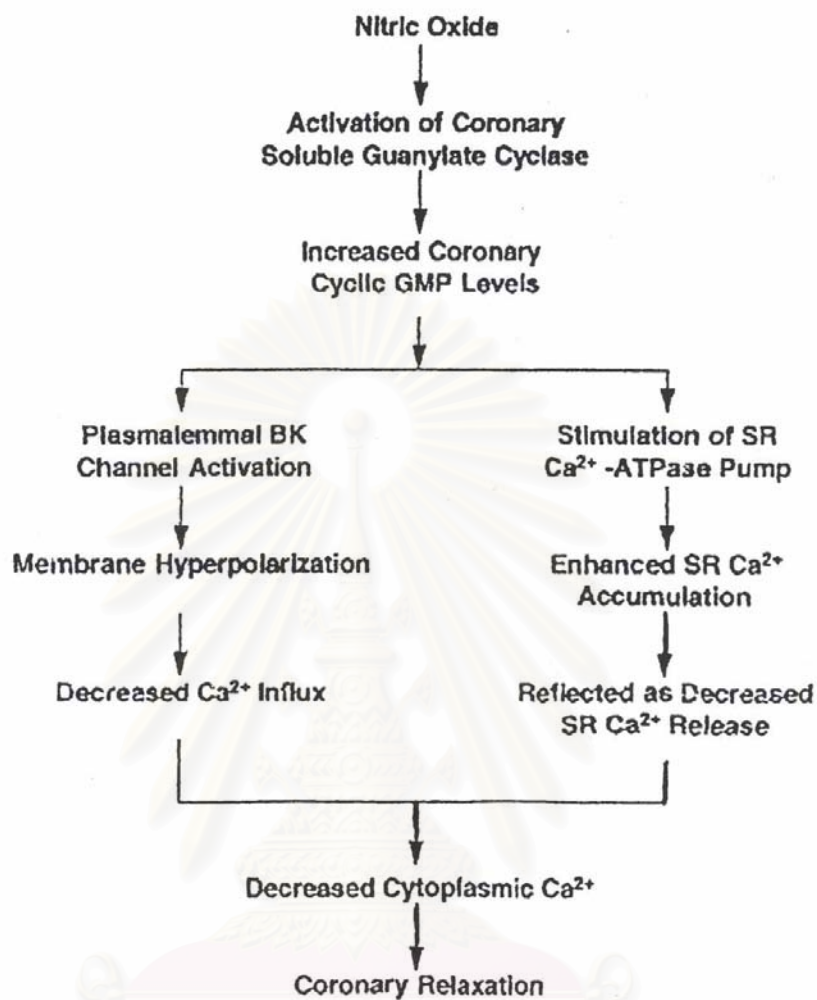


รูปที่ 8 A: แสดงความสัมพันธ์ของปริมาณ cGMP ที่มีผลต่อ K⁺ channel ในกล้ามเนื้อเรียบ
 B: แสดงผลที่เกิดขึ้นทั้งหมด ในการทำให้เกิดการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ
 [Vanhoutte, 1996]

ได้อีกทางหนึ่ง [Suthamnatpong และคณะ,1993; Suthamnatpong และคณะ,1994; Vanhoutte, 1996] และ นอกจากนี้ NO ยังมีผลในการกระตุ้น Ca^{2+} ATPase pump ทำให้เพิ่มการปั๊มแคลเซียมเข้าไปเก็บสะสมไว้ใน SR ส่งผลให้มีการลดการปลดปล่อยแคลเซียมจาก SR จะเห็นว่าทั้ง 2 ทางที่กล่าวมานี้ล้วนแต่มีผลในการลดลงของปริมาณแคลเซียมอิสระใน cytoplasm ทำให้เกิดการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้ทั้งสิ้น [Khan,Higdon และ Meisher, 1998] (รูปที่ 9)



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 9 แสดงกลไกที่เกิดขึ้นจากความสัมพันธ์ของ Nitric oxide (NO) และ cGMP ที่มีผลต่อการคลายตัวของหลอดเลือด coronary [Khan, Higdon และ Meisheri, 1998]

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

สัตว์ทดลอง เครื่องมือ และสารเคมี

1. สัตว์ทดลอง

ใช้หลอดเลือดหัวใจของสุกรน้ำหนักประมาณ 90-100 กิโลกรัม(kg) จากโรงฆ่าสัตว์ บางแค กรุงเทพมหานคร

2. เครื่องมือ

2.1 organ bath แบบ double walled Harvard type ประกอบด้วย หลอดแก้ว 2 ชั้น ชั้นในบรรจุสารละลายที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตของเนื้อเยื่อ (Physiological solution) ที่มีความจุ 15 มิลลิลิตร และมีช่องเปิดแก๊ส carbogen (95%O₂ + 5%CO₂) ผ่านตลอด ส่วนชั้นนอกมีน้ำไหลเวียนซึ่งส่งมาจาก water bath โดยมี thermoregulating water pump ทำหน้าที่ ควบคุมอุณหภูมิของหลอดแก้วชั้นในให้คงที่ตลอดเวลาทำการทดลอง (รูปที่ 10)

2.2 water bath ชนิด Thermo bath model SCBI พร้อม thermoregulating water pump model 2E – NY ของ บริษัท Little giant pump

2.3 เครื่องวัดการหดเกร็งของเนื้อเยื่อ isometric transducer ของ บริษัท Harvard

2.4 เครื่องบันทึกผลการทดลอง Universal Oscillograph ของ Washington 400 MD 2C Oscillograph Bioscience Sheerness, Kent U.K.

2.5 เครื่องบันทึกผลการทดลองพร้อมขยายสัญญาณไฟฟ้า Kipp และ Zonen type : BD 112, Holland

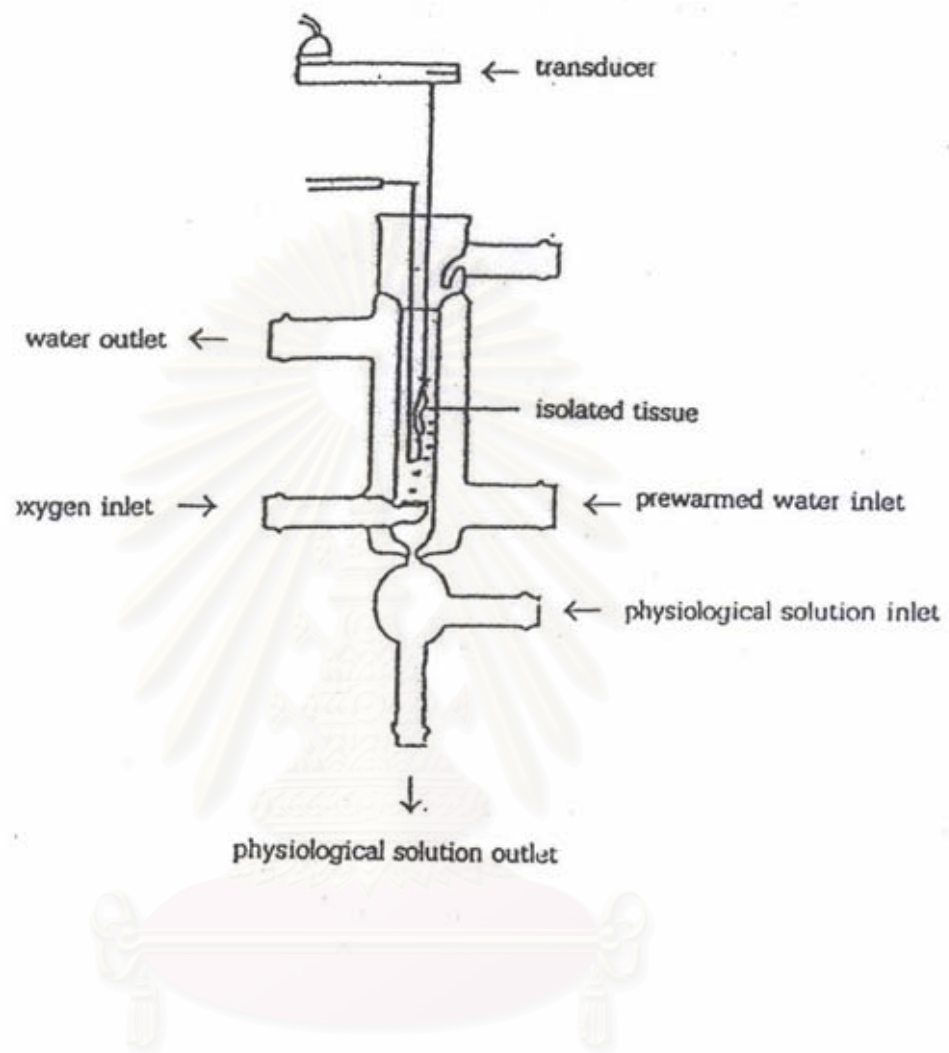
2.6 เครื่องชั่งละเอียด Mettler AJ 180

2.7 ชุดเครื่องมือตัดเล็ก

3. สารเคมี

3.1 สารมาตรฐานกระตุ้นการหดตัว

- acetylcholine chloride (Sigma,U.S.A.)
- 5-hydroxytryptamine creatinine sulfate complex (Sigma, U.S.A.)
- histamine (Sigma, U.S.A.)
- barium chloride (May และ Baker)
- calcium chloride (Sigma,U.S.A.)



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 10 แสดงเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง isolate organ bath

- potassium chloride (Sigma, U.S.A.)
- caffeine anhydrous (Sigma, U.S.A.)

3.2 สารทดสอบ

- CU 763-15-13 เป็นสารที่สังเคราะห์โดย ลีอลักษณ์ ล้อมลิ้ม ภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- CU 18-05 เป็นสารที่สังเคราะห์โดย วิสุจน์ วิจิตรนิเทศ และ สมยศ วิจิตรเอกพันธ์ ภาควิชา เภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- CU 18-06 เป็นสารที่สังเคราะห์โดย วิสุจน์ วิจิตรนิเทศ และ สมยศ วิจิตรเอกพันธ์ ภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.3 สารเคมีที่ใช้เป็นตัวทำละลายสารทดลอง

- Dimethylsulfoxide (DMSO) (Sigma, U.S.A.)

3.4 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียม standard physiological ดังตารางที่ 2

4. แก๊ซ

carbogen (95%O₂ + 5%CO₂) ของบริษัท Thai Industrial Gas (TIG)

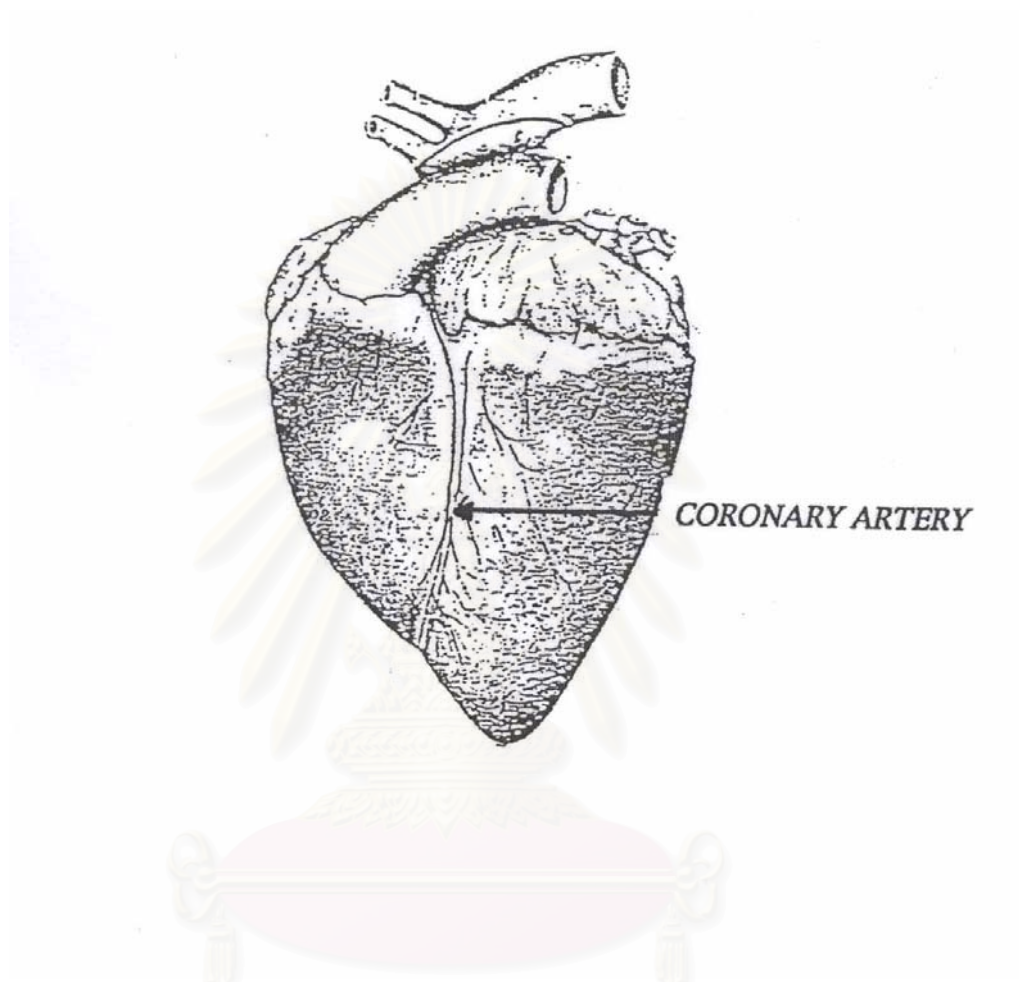
วิธีดำเนินการวิจัย

1. วิธีการเก็บหลอดเลือดที่แยกจากหัวใจสุกร

เลาะหลอดเลือดแดงหัวใจสุกร ส่วน coronary artery (รูปที่ 11) ที่เป็นเส้นเลือดใหญ่ที่ใช้เลี้ยงหัวใจ โดยใช้มีดผ่าตัดกรีดด้านข้างหลอดเลือด ระวังไม่ให้หลอดเลือดฉีกขาด หรือ ถูกดึงมากเกินไป ค่อยๆ เลาะจนได้ความยาวประมาณ 4-5 เซนติเมตร นำมาแช่ลงใน flask ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่บรรจุสารละลาย Krebs-Henseleit ซึ่งมี pH ~ 7.35 - 7.45 อยู่ และได้ผ่านก๊าซ Carbogen (O₂ 95% + CO₂ 5%) มาแล้วนาน 20 นาที จากนั้นเก็บหลอดเลือดดังกล่าวไว้ในกระติกน้ำแข็งที่อุณหภูมิประมาณ 3-4 องศาเซลเซียส(°C)

1.1 การเตรียมหลอดเลือดเพื่อนำมาทำการทดลอง โดยเตรียมแบบที่ยังมีเยื่อหลอดเลือด (endothelium) สมบูรณ์อยู่ตามปกติ

นำหลอดเลือดที่แยกจากหัวใจ ซึ่งเก็บไว้ในอุณหภูมิ 3-4 องศาเซลเซียส ออกมาทำการตัดเนื้อเยื่อเกี่ยวพันออกให้หมด โดยทำใน petri dish ซึ่งบรรจุ สารละลาย Krebs-Henseleit และมีแก๊ซ carbogen ผ่านอยู่ตลอดเวลา หลังจากนั้นก็ตัดหลอดเลือดที่ได้เป็นแบบเกลียว



สถาบันวิทยบริการ
รูปที่ 11 แสดงตำแหน่งของหลอดเลือดแดงที่แยกจากหัวใจสุกร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

(spiral) ความยาวประมาณ 1.5-2.0 เซนติเมตร แล้วใช้ด้ายผูกปลายทั้งสองข้าง ปลายข้างหนึ่งผูกติดกับแท่งพลาสติก แล้วนำไปแขวนไว้ใน organ bath chamber ซึ่งบรรจุสารละลาย Krebs-Henseleit ที่มีแก๊ส carbogen ผ่านอยู่ตลอดเวลาและควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ ประมาณ 37 องศาเซลเซียส ส่วนปลายอีกข้างที่เหลือ นำมาแขวนกับ isometric transducer ซึ่งต่อเข้ากับเครื่องขยายสัญญาณ(bridge amplifier) และเครื่องบันทึกผลตามลำดับ จากนั้นทำการปรับ sensitivity ของเครื่อง โดยให้ความตึงขณะพัก (resting tension) อยู่ในช่วงประมาณ 0.5-1.0 กรัม ทำการ incubate หลอดเลือดที่แขวนแล้วนี้ ประมาณ 90-120 นาที โดยในช่วงที่ทำการ incubate หลอดเลือดอยู่นี้จะต้องคอยเปลี่ยน สารละลาย Krebs-Henseleit ภายใน chamber ทุกๆ 15 นาที จนกระทั่งหลอดเลือดมีความตึงที่คงที่ โดยสังเกตได้จาก baseline ที่บันทึกไว้เป็น เส้นตรงแล้ว จึงเริ่มทำการทดลองได้

1.2 การเตรียมหลอดเลือดที่ปราศจากเยื่อบุหลอดเลือด (De-endothelium)

นำหลอดเลือดที่เก็บได้ มาทำการตัด เป็นแบบเกลียว (spiral) เช่นเดียวกับการเตรียมหลอดเลือดแบบที่ยังมีเยื่อบุหลอดเลือดอยู่ แต่พอหลังจากตัดหลอดเลือดเป็นเกลียวเรียบร้อยแล้ว จากนั้นนำไม้พันสำลีมาขูดผนังด้านในของหลอดเลือดออกเบาๆ หลายๆ ครั้ง เพื่อให้เยื่อผนังด้านในหลอดเลือดลอกหลุดออกให้หมด จนไม่มีอิทธิพลของเยื่อบุหลอดเลือดเหลืออยู่อีกเลย แล้วจึงทำการผูกปลายหลอดเลือดที่เตรียมได้ทั้งสองข้าง จากนั้นก็นำไปแขวนไว้ใน organ bath chamber แล้วทำการ incubate หลอดเลือดที่แขวนแล้วนี้ ประมาณ 90-120 นาที โดยในช่วงที่ทำการ incubate หลอดเลือดอยู่นี้จะต้องคอยเปลี่ยน สารละลาย Krebs-Henseleit ภายใน chamber ทุกๆ 15 นาที จนกระทั่งหลอดเลือดมีความตึงที่คงที่ โดยสังเกตได้จาก baseline ที่บันทึกไว้เป็น เส้นตรงแล้ว จึงเริ่มทำการทดลองได้

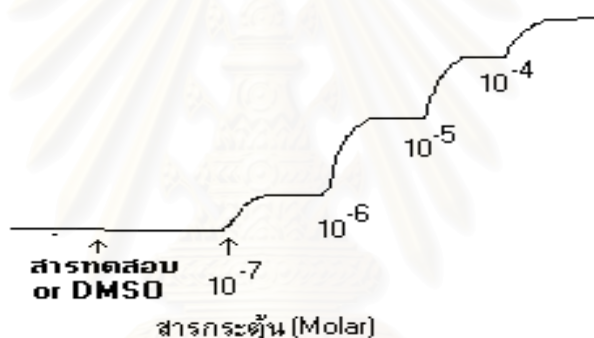
ก่อนจะเริ่มทำการทดลองจะทำการทดสอบเพื่อยืนยันว่าไม่มีผลของ endothelium ต่อการกระตุ้นแล้ว โดยจะใช้สาร Ach ขนาดความเข้มข้น 1×10^{-6} โมลาร์ และ Ca^{2+} - ionophore A23187 [Furchgott และ Zawadzki, 1980] เป็นตัวทดสอบ โดยหลอดเลือดที่ยังมีเยื่อบุหลอดเลือดอยู่ จะเกิดการคลายตัวเมื่อให้สารทดสอบดังกล่าว แต่ถ้าปราศจากเยื่อบุหลอดเลือด การคลายตัวเมื่อให้สารทดสอบดังกล่าวจะไม่เกิดขึ้น

2. ขั้นตอนการทำวิจัย

2.1 การศึกษาผลของสารทดสอบต่อหลอดเลือดหัวใจสุกร เมื่อได้รับสารมาตรฐานกระตุ้นการหดตัวของแบบสะสม (cumulative dose-response curve) ที่มีกลไกผ่านทาง receptor-operated calcium channel (ROC)

2.1.1 การศึกษาผลของการทดสอบ (CU 763-15-13 , CU 18-05 และ CU 18-06) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วย Ach แบบสะสม (cumulative dose-response curve)

หลังจาก incubate จนถึงความตึงคงที่แล้ว ให้ Ach แบบสะสม (cumulative dose-response curve) ที่ขนาดความเข้มข้นตั้งแต่ 1×10^{-7} - 1×10^{-4} โมลาร์ ตามลำดับ ดังภาพที่แสดงการให้แบบสะสม (cumulative dose-response curve) ดังนี้



โดย การทดลองในแต่ละครั้ง จะแบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 2 กลุ่ม ดังนี้

1. กลุ่มควบคุม จะได้รับสารกระตุ้น Ach ที่ความเข้มข้นต่ำที่สุดเข้าไปก่อน แล้วจึงให้ที่ความเข้มข้นที่สูงขึ้นถัดมาเรื่อยๆ จนกระทั่งถึง ความเข้มข้นที่สูงที่สุด ตามลำดับ

2. กลุ่มทดลอง จะได้รับสารทดสอบ (CU 763-15-13, CU 18-05 และ CU 18-06) เข้าไปก่อน ประมาณ 10 นาที จากนั้นจึงให้ สารกระตุ้น Ach ที่ความเข้มข้นต่ำที่สุดก่อน แล้วเพิ่มความเข้มข้นให้สูงขึ้นเรื่อยๆ จนกระทั่งถึง ความเข้มข้นที่สูงที่สุด ตามลำดับ เช่นเดียวกับกลุ่มควบคุม

ในการทดลองแต่ละครั้งนั้น จะเริ่มทำการทดลองในกลุ่มควบคุมก่อน หลังจากนั้นก็จะล้างสารละลายเดิมออกด้วยสารละลาย Krebs-Henseleit หลายๆ ครั้ง แล้วก็ทำการ incubate หลอดเลือดต่อมานานประมาณ 30-60 นาทีโดยในช่วงที่ทำการ incubate หลอดเลือดอยู่นี้ จะต้องคอยเปลี่ยน สารละลาย Krebs-Henseleit ภายใน chamber ทุกๆ 15 นาที จนกระทั่ง

หลอดเลือดมีความตึงที่คงที่ โดยสังเกตได้จาก baseline ที่บันทึกไว้เป็น เส้นตรงแล้ว จึงเริ่มทำการทดลองได้ ในกลุ่มทดลองต่อไป โดยในกลุ่มทดลองนี้ เราจะให้สารทดสอบชนิดต่างๆ ดังนี้

1. CU 763-15-13 ที่ขนาดความเข้มข้น 2.5×10^{-5} โมลาร์
2. CU 763-15-13 ที่ขนาดความเข้มข้น 1.0×10^{-5} โมลาร์
3. CU 18-05 ที่ขนาดความเข้มข้น 2.5×10^{-5} โมลาร์
4. CU 18-06 ที่ขนาดความเข้มข้น 2.5×10^{-5} โมลาร์
5. DMSO (ตัวทำละลายสารทดสอบ)

2.1.2 การศึกษาผลของการทดสอบ (CU 763-15-13 , CU 18-05 และ CU 18-06) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วย 5-HT แบบสะสม (cumulative dose-response curve)

หลังจาก incubate จนได้ความตึงที่คงที่แล้ว ก็ให้ 5-HT แบบสะสม (cumulative dose-response curve) ที่ขนาดความเข้มข้นตั้งแต่ 1×10^{-8} - 1×10^{-5} โมลาร์ ตามลำดับ

โดยในการทดลอง จะแบ่งเป็น 2 กลุ่มการทดลอง เช่นเดียวกับ 2.1.1 และสารทดสอบที่ใช้ในกลุ่มทดลองมีดังนี้

1. CU 763-15-13 ที่ขนาดความเข้มข้น 1.0×10^{-5} โมลาร์
2. CU 18-05 ที่ขนาดความเข้มข้น 2.5×10^{-5} โมลาร์
3. CU 18-06 ที่ขนาดความเข้มข้น 2.5×10^{-5} โมลาร์

2.1.3 การศึกษาผลของการทดสอบ (CU 763-15-13 , CU 18-05 และ CU 18-06) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วย histamine แบบสะสม (cumulative dose-response curve)

หลังจาก incubate จนได้ความตึงที่คงที่แล้ว ก็ให้ histamine แบบสะสม (cumulative dose-response curve) ที่ขนาดความเข้มข้นตั้งแต่ 1×10^{-7} - 1×10^{-4} โมลาร์ ตามลำดับ

โดยในการทดลอง จะแบ่งเป็น 2 กลุ่มการทดลอง เช่นเดียวกับ 2.1.1 และ 2.1.2 ส่วนสารทดสอบที่ใช้ในกลุ่มทดลองมีดังนี้

1. CU 763-15-13 ที่ขนาดความเข้มข้น 2.5×10^{-5} โมลาร์
2. CU 763-15-13 ที่ขนาดความเข้มข้น 1.0×10^{-5} โมลาร์
3. CU 18-05 ที่ขนาดความเข้มข้น 2.5×10^{-5} โมลาร์
4. CU 18-05 ที่ขนาดความเข้มข้น 1.0×10^{-5} โมลาร์

5. CU 18-06 ที่ขนาดความเข้มข้น 2.5×10^{-5} โมลาร์

6. CU 18-06 ที่ขนาดความเข้มข้น 1.0×10^{-5} โมลาร์

2.2 การศึกษาผลของสารทดสอบ เมื่อได้รับสารมาตรฐานกระตุ้นการหดตัวแบบสะสม (cumulative dose-response curve) ที่มีกลไกผ่านทาง potential (voltage) - operated calcium channel (POC หรือ VOC)

2.2.1 การศึกษาผลของสารทดสอบ (CU 18-05 และ CU 18-06) เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบสะสม ในสารละลาย high potassium depolarizing ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร (ไม่ได้ทำการทดสอบใน CU 763-15-13 เนื่องจากได้เคยมีการทำการศึกษามาแล้วพบว่าไม่มีผลลดการกระตุ้นได้)

หลังจากที่แขวนหลอดเลือด และ incubate ด้วยสารละลาย Ca^{2+} -free Krebs Henseleit จนมีความตึงคั่งที่แล้ว จึงเปลี่ยนสารละลายเป็น potassium depolarizing และ incubate ต่อจนมีความตึงคั่งที่ หลังจากนั้นเริ่มให้สารละลาย CaCl_2 แบบสะสม (cumulative dose-response curve) ที่ขนาดความเข้มข้นตั้งแต่ 0.5×10^{-4} , 1.0×10^{-4} , 2.0×10^{-4} , 4.0×10^{-4} และ 6.0×10^{-4} ตามลำดับ บันทึกผลที่ได้ไว้เป็น กลุ่มควบคุม (เช่นเดียวกับ หัวข้อที่ 2.1)

หลังจากนั้นก็ล้างสารละลายเดิมออกโดยใช้สารละลาย Ca^{2+} -free Krebs Henseleit ประมาณ 3-4 ครั้ง แล้วจึง incubate หลอดเลือดต่อไป ประมาณ 30-45 นาที ระหว่างนี้ต้องคอยเปลี่ยนสารละลาย Ca^{2+} -free Krebs Henseleit ทุกๆ 15 นาที รอจนได้ base line ที่คงที่ตามเดิม แล้วจึงเริ่มทำการทดลองต่อในกลุ่มทดลอง โดยเปลี่ยนสารละลายเป็น potassium depolarizing และ incubate ต่อจนมีความตึงคั่งที่ จากนั้นให้สารทดสอบ (CU 18-05 หรือ CU 18-06 ที่ขนาดความเข้มข้น 2.0×10^{-5} โมลาร์) เข้าไปก่อนประมาณ 10 นาที แล้วจึงให้สารละลาย CaCl_2 แบบสะสม (cumulative dose-response curve) ที่ขนาดความเข้มข้นที่ใช้เท่ากับที่ใช้ในกลุ่มควบคุม บันทึกผลที่ได้ไว้เปรียบเทียบกับระหว่าง กลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง

2.2.2 การศึกษาผลของสารทดสอบ (CU 18-05 และ CU 18-06) เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วย BaCl_2 แบบสะสม ในสารละลาย Ca^{2+} , HCO_3^- -free Krebs Henseleit ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร (ไม่ได้ทำการทดสอบใน CU 763-15-13 เนื่องจากได้เคยมีการทำการศึกษามาแล้วพบว่าไม่มีผลลดการกระตุ้นได้)

หลังจากที่แขวนหลอดเลือด และ incubate ด้วยสารละลาย Krebs Henseleit จนมีความตึงคั่งที่แล้ว จึงเปลี่ยนสารละลายเป็น Ca^{2+} , HCO_3^- - free Krebs Henseleit และ incubate ต่อจนมีความตึงคั่งที่ หลังจากนั้นก็เริ่มให้สารละลาย BaCl_2 แบบสะสม (cumulative dose-response curve) ที่ขนาดความเข้มข้นตั้งแต่ 1.0×10^{-4} , 2.0×10^{-4} , 4.0×10^{-4} , 6.0×10^{-4} และ 8.0×10^{-4} ตามลำดับ บันทึกผลที่ได้ไว้เป็น กลุ่มควบคุม (เช่นเดียวกับหัวข้อที่ 2.1)

หลังจากนั้นก็ล้างสารละลายเดิมออกโดยใช้สารละลาย Krebs Henseleit ประมาณ 3-4 ครั้ง แล้วจึง incubate หลอดเลือดต่อไป ประมาณ 30-45 นาที ระหว่างนี้ต้องคอยเปลี่ยนสารละลาย Krebs Henseleit ทุกๆ 15 นาที รอจนได้ base line ที่คงที่ตามเดิม แล้วจึงเริ่มทำการทดลองต่อในกลุ่มทดลอง โดยเปลี่ยนสารละลายเป็น Ca^{2+} , HCO_3^- - free Krebs Henseleit และ incubate ต่อจนมีความตึงคั่งที่ จากนั้นก็ให้สารทดสอบ (CU 18-05 หรือ CU 18-06 ที่ขนาดความเข้มข้น 2.0×10^{-5} โมลาร์) เข้าไปก่อนประมาณ 10 นาที แล้วจึงให้ สารละลาย BaCl_2 แบบสะสม (cumulative dose-response curve) ที่ขนาดความเข้มข้นเท่ากับที่ใช้ในกลุ่มควบคุม บันทึกผลที่ได้ไว้เปรียบเทียบกับระหว่าง กลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง

2.3 การศึกษาผลของสารทดสอบ (CU 763-15-13, CU 18-05 และ CU 18-06) ในสภาวะที่ไม่มีผลของ Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์โดยใช้สารกระตุ้นการหดตัว คือ histamine (0.5×10^{-4} M) และ caffeine (1×10^{-3} M) เพื่อดูผลต่อการเปลี่ยนแปลงของการปลดปล่อย Ca^{2+} จากภายในเซลล์ [Hirano และคณะ, 1991; Aoki และคณะ, 1994]

2.3.1 การศึกษาผลของสารทดสอบ (CU 763-15-13, CU 18-05 และ CU 18-06) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วย histamine ในครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ในสารละลาย Ca^{2+} -free Krebs Henseleit

เตรียมหลอดเลือดที่ปราศจากเยื่อหลอดเลือด (De-endothelium) ตามวิธีการเตรียมที่กล่าวไว้ในหัวข้อ 1.2 หลังจากแขวนหลอดเลือด และ incubate ด้วยสารละลาย Krebs Henseleit นานประมาณ 90-120 นาที ระหว่างนี้ต้องคอยเปลี่ยนสารละลาย Krebs Henseleit ทุกๆ 15 นาที รอจนมีความตึงคั่งที่แล้ว จึงเริ่มทำการทดลองในกลุ่มควบคุมก่อน (ตั้งแผนภาพแสดงการทดลองการกระตุ้นด้วย histamine) โดยให้สารละลาย high potassium depolarizing ที่ขนาดความเข้มข้น 1.18×10^{-4} โมลาร์ เข้าไปก่อน จนการหดตัวของหลอดเลือดเริ่มคั่งที่ จึงล้างสารละลาย high potassium depolarizing ออก จากนั้นเปลี่ยนเป็น

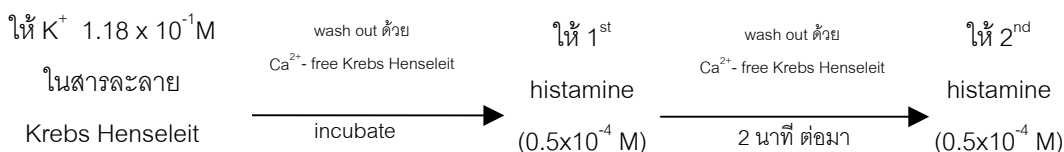
สารละลาย Ca^{2+} -free Krebs Henseleit แล้ว รอจนหลอดเลือดค่อยๆคลายตัวลงจนถึงระดับความตึงที่คงที่ โดยจะคอยเปลี่ยนสารละลาย ทุกๆ 10 นาที หลังจากที่ได้ baseline ที่คงที่ ตามเดิมแล้ว จึงเริ่มให้การกระตุ้นด้วย histamine ในครั้งที่ 1 ที่ขนาดความเข้มข้น 0.5×10^{-4} โมลาร์ เมื่อเกิดการหดตัวได้สูงสุด แล้วเริ่มจะคลายตัว ก็จะทำการล้างสารละลายเดิมออกด้วยสารละลาย Ca^{2+} -free Krebs Henseleit แล้วก็รอจนหลอดเลือดคลายตัวจนมีความตึงคงที่ประมาณ 2-3 นาที จึงเริ่มให้ การกระตุ้นด้วย histamine ในครั้งที่ 2 ที่ขนาดความเข้มข้น 0.5×10^{-4} โมลาร์ ต่อไป แล้วบันทึกผลที่ได้ไว้เป็นกลุ่มควบคุม

หลังจากเสร็จการทดลองในกลุ่มควบคุมแล้ว ก็ทำการล้างด้วยสารละลายเดิมออกด้วยสารละลาย Krebs Henseleit หลายๆ ครั้ง แล้วจึง incubate หลอดเลือดต่อ นานประมาณ 30-45 นาที โดยคอยเปลี่ยนสารละลาย Krebs Henseleit ทุกๆ 15 นาที จนได้หลอดเลือดที่มีความตึงคงที่แล้วจึงเริ่มทำการทดลองในกลุ่มทดลองต่อไป โดยในกลุ่มทดลองจะให้สารละลาย high potassium depolarizing ที่ขนาดความเข้มข้น 1.18×10^{-1} โมลาร์ เข้าไปก่อน จนการหดตัวของหลอดเลือดเริ่มคงที่ จึงล้างสารละลาย high potassium depolarizing ออก โดยเปลี่ยนเป็นสารละลาย Ca^{2+} -free Krebs Henseleit แล้ว รอจนหลอดเลือดค่อยๆคลายตัวลงจนถึงระดับความตึงที่คงที่ โดยจะคอยเปลี่ยนสารละลาย ทุกๆ 10 นาที หลังจากที่ได้ baseline ที่คงที่ ตามเดิมแล้ว จึงให้สารทดสอบ (CU 763-15-13 หรือ CU 18-05 หรือ CU 18-06) ที่ขนาดความเข้มข้น 3×10^{-5} โมลาร์ เข้าไปก่อนประมาณ 10 นาที แล้วจึงทำการกระตุ้นด้วย histamine ในครั้งที่ 1 และ ครั้งที่ 2 เหมือนกับในกลุ่มควบคุม ทำการบันทึกผลที่ได้ไว้เป็นกลุ่มทดลอง แล้วนำมาวิเคราะห์เปรียบเทียบกัน ระหว่าง 2 กลุ่มการทดลอง

แผนภาพแสดงการทดลองการให้การกระตุ้นด้วย histamine ใน 2 กลุ่มการทดลองดังนี้

กลุ่มควบคุม

หลังจากที่เขavnหลอดเลือด และ incubate ด้วยสารละลาย Krebs Henseleit จนมีความตึงคงที่



กลุ่มทดลอง

หลังจากทำกลุ่มควบคุมเสร็จแล้วก็ incubate ด้วยสารละลาย Krebs Henseleit จนมีความตึงคางที่ แล้วจึงเริ่มทำกลุ่มทดลองซ้ำอีกครั้งโดยให้สารทดสอบเข้าไปก่อนที่จะได้รับการกระตุ้นด้วย histamine ประมาณ 10 นาที



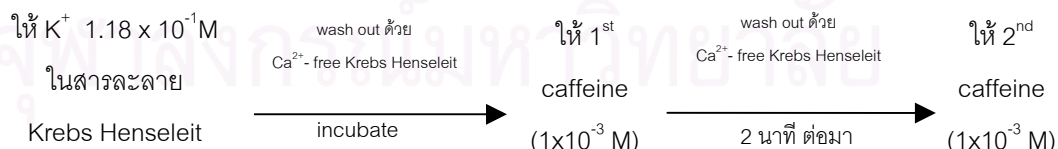
2.3.2 การศึกษาผลของสารทดสอบ (CU 763-15-13 , CU 18-05 และ CU 18-06) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วย caffeine ในครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ในสารละลาย Ca^{2+} -free Krebs Henseleit

วิธีทำการทดลองเหมือนการศึกษาใน หัวข้อ 2.3.1 แต่เปลี่ยนสารกระตุ้นที่ใช้จาก histamine มาเป็น caffeine ที่ขนาดความเข้มข้น 1×10^{-3} โมลาร์ แทน ดังแสดงไว้ในแผนภาพการทดลองการกระตุ้นด้วย caffeine ซึ่งได้แสดงการทดลองไว้ใน 2 กลุ่มการทดลองได้แก่ กลุ่มควบคุม และ กลุ่มการทดลอง โดยจะทำการทดลองในกลุ่มควบคุมก่อนแล้วจึงค่อยทำการทดลองในกลุ่มทดลองต่อไป เช่นเดียวกับการกระตุ้นด้วย histamine

แผนภาพแสดงการทดลองการให้การกระตุ้นด้วย caffeine ใน 2 กลุ่มการทดลองดังนี้

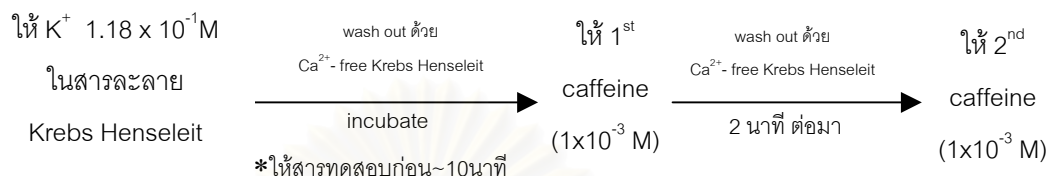
กลุ่มควบคุม

หลังจากที่แขวนหลอดเลือด และ incubate ด้วยสารละลาย Krebs Henseleit จนมีความตึงคางที่



กลุ่มทดลอง

หลังจากทำกลุ่มควบคุมเสร็จแล้วก็ incubate ด้วยสารละลาย Krebs Henseleit จนมีความตึงคงที่แล้วจึงเริ่มทำกลุ่มทดลองซ้ำอีกครั้งโดยให้สารทดสอบเข้าไปก่อนได้รับการกระตุ้นด้วย caffeine ประมาณ 10 นาที



จะศึกษาเปรียบเทียบความแตกต่างจากการได้รับการกระตุ้นในครั้งที่ 1 และ ในครั้งที่ 2 ระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารทดสอบ (กลุ่มทดลอง) และไม่ได้รับ (กลุ่มควบคุม) ว่ามีผลเปลี่ยนแปลงแตกต่างกันอย่างไร

การวิเคราะห์ข้อมูล (Data analysis)

ผลการทดลองรายงานเป็น ค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (mean \pm standard error of mean) การวิเคราะห์ข้อมูลเปรียบเทียบแตกต่างระหว่างกลุ่มควบคุม และกลุ่มทดลองใช้ student 's pair t-test โดยพิจารณาความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P < 0.05$)

การคำนวณค่า drug parameter ใช้วิธีของ Van – Rossum และคณะ, 1963 โดยค่า logarithm ของ affinity ของ competitive antagonist แสดงในรูป pA_2 และ ส่วนของ non – competitive antagonist แสดงในรูป pD_2' คำนวณจากสมการได้ดังนี้

$$pA_2 = -\log[B] + \log ([A_B]/[A_0] - 1)$$

เมื่อ [B] คือขนาดความเข้มข้นของ competitive antagonist ในหน่วยโมลาร์

$[A_B]$ และ $[A_0]$ คือขนาดความเข้มข้นของ agonist ในหน่วยโมลาร์ที่ทำให้เกิด 50% response เมื่อมีและไม่มี antagonist ตามลำดับ

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

เมื่อ [B] คือขนาดความเข้มข้นของ non-competitive antagonist ในหน่วยโมลาร์
 [E_{AM}] และ [E_{AMB}] คือค่าการหดตัวสูงสุด (maximum contraction) ที่เกิดจาก
 ตัวกระตุ้นเมื่อไม่มีหรือมีสารยับยั้งอยู่ด้วย ตามลำดับ



สถาบันวิทยบริการ
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

ผลการทดลอง

1. ผลของสารทดสอบ (CU 763-15-13, CU18-05 และ CU 18-06) และสารละลายที่ใช้ในการละลายสารทดสอบ(DMSO) เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วยสารกระตุ้นมาตรฐาน Ach

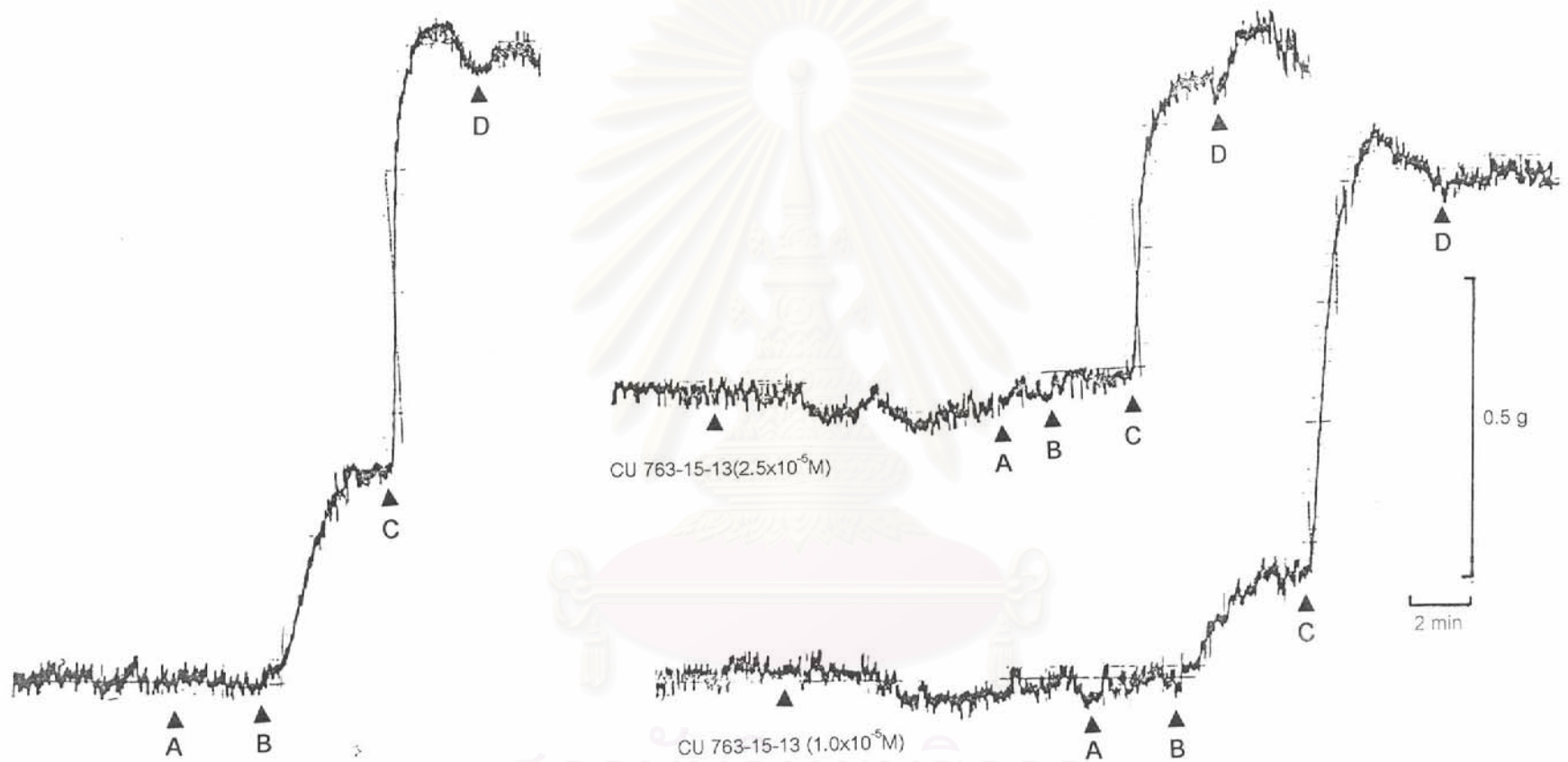
1.1 ผลของ CU 763-15-13 ต่อการกระตุ้นการหดตัวของ Ach

เมื่อให้สาร Ach แบบสะสมขนาดความเข้มข้นระหว่าง 1×10^{-7} - 1×10^{-4} โมลาร์ แก่กล้ามเนื้อหลอดเลือดหัวใจทั้งกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง พบว่าสามารถทำให้หลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกรหดตัวได้มากขึ้นตามขนาดของความเข้มข้นที่ให้เพิ่มเข้าไป จนกระทั่งสามารถหดตัวได้สูงมากที่สุดเมื่อได้รับการกระตุ้นด้วย Ach ที่ขนาดความเข้มข้น 1×10^{-5} หรือ 1×10^{-4} โมลาร์เพิ่มเข้าไปแบบสะสม และจะคิดเป็น 100% contraction (maximum contraction) เมื่อนำค่าการหดตัวของกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมมาเปรียบเทียบกัน พบว่าในกลุ่มทดลองซึ่งได้ให้สาร CU 763-15-13 เข้าไปก่อนที่จะได้รับการกระตุ้นด้วย Ach แบบสะสมนั้น มีค่า maximum contraction และค่าการหดตัวที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วย Ach แบบสะสมลดลง เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งได้รับ Ach แต่เพียงอย่างเดียว (รูปที่ 12) แสดงว่าสาร CU 763-15-13 นั้นมีผลในการลดการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อได้รับการกระตุ้นจาก Ach โดยพบว่าผลในการลดลงของการหดตัวนี้จะแปรผันไปตามความเข้มข้นของ สาร CU 763-15-13 ที่เพิ่มขึ้นด้วย (รูปที่ 13) จะเห็นว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสาร CU 763-15-13 จาก 1×10^{-5} โมลาร์มาเป็น 2.5×10^{-5} โมลาร์ แล้วจะทำให้การลดการหดตัวของหลอดเลือดเมื่อถูกกระตุ้นด้วย Ach นั้นเพิ่มมากขึ้นด้วยตามขนาดของความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น

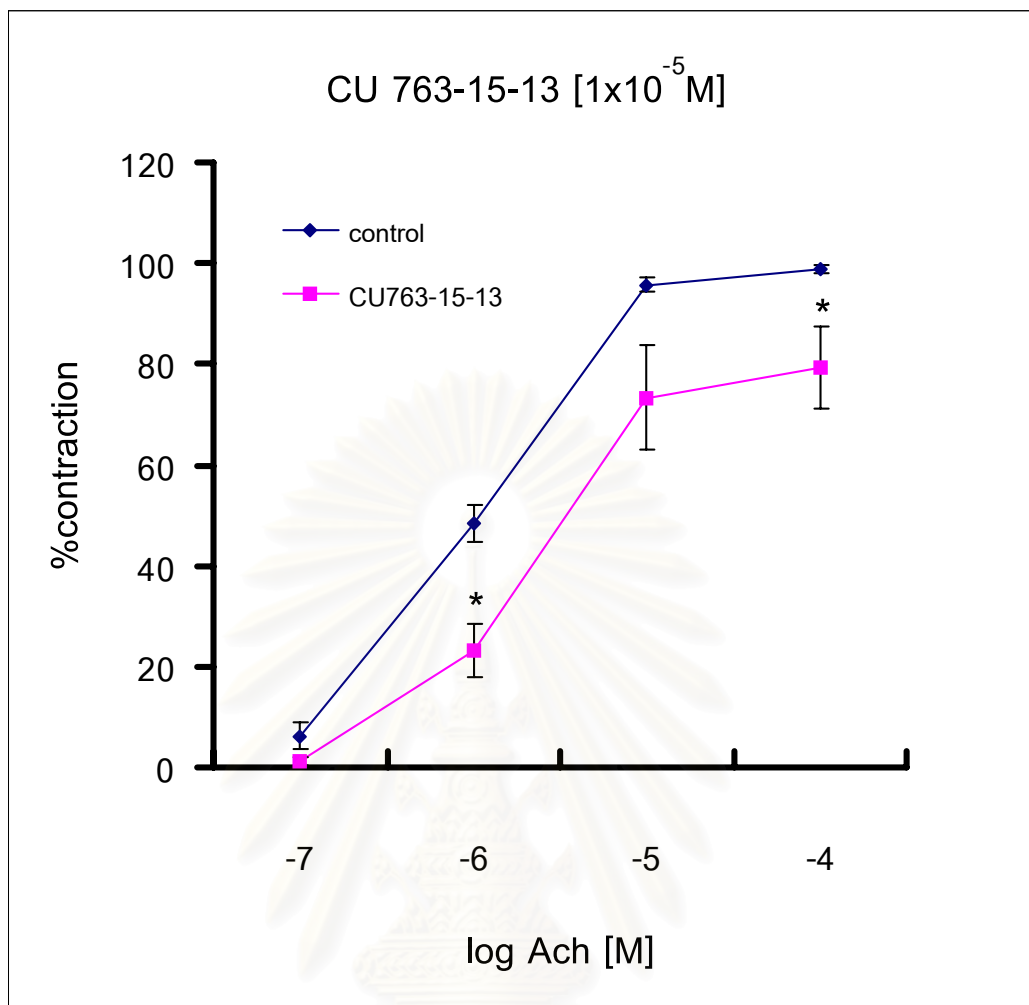
สาร CU 763-15-13 ที่ขนาดความเข้มข้น 1×10^{-5} โมลาร์ สามารถลดการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย Ach โดยสามารถลดค่า maximum contraction ลงเหลือ $79.32 \pm 8.32\%$ ซึ่งมีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (กราฟที่ 1) และสาร CU 763-15-13 ที่ขนาดความเข้มข้น 2.5×10^{-5} โมลาร์ ก็สามารถลดการหดตัวของหลอดเลือดแดงที่หัวใจสุกรเมื่อกระตุ้นด้วย Ach โดยสามารถลดค่า maximum contraction ลงเหลือ $59.02 \pm 7.35\%$ ซึ่งมีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ได้เช่นกัน (กราฟที่ 2) ซึ่งจะเห็นว่าผลการลดการหดตัวนั้นแปรผันไปตามความเข้มข้น (กราฟที่ 3) และพบว่าสาร CU 763-15-13 สามารถลดการหดตัวเมื่อถูกกระตุ้นด้วย Ach ได้แบบ noncompetitive antagonism โดยสามารถคำนวณค่า drug parameter ตามวิธีของ



รูปที่ 12 แสดงผลของ CU 763-15-13 ($2.5 \times 10^{-5} M$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย Ach แบบสะสมขนาดความเข้มข้น $A=10^{-7}$, $B=10^{-6}$, $C=10^{-5}$ และ $D=10^{-4}$ โมลาร์ [M]



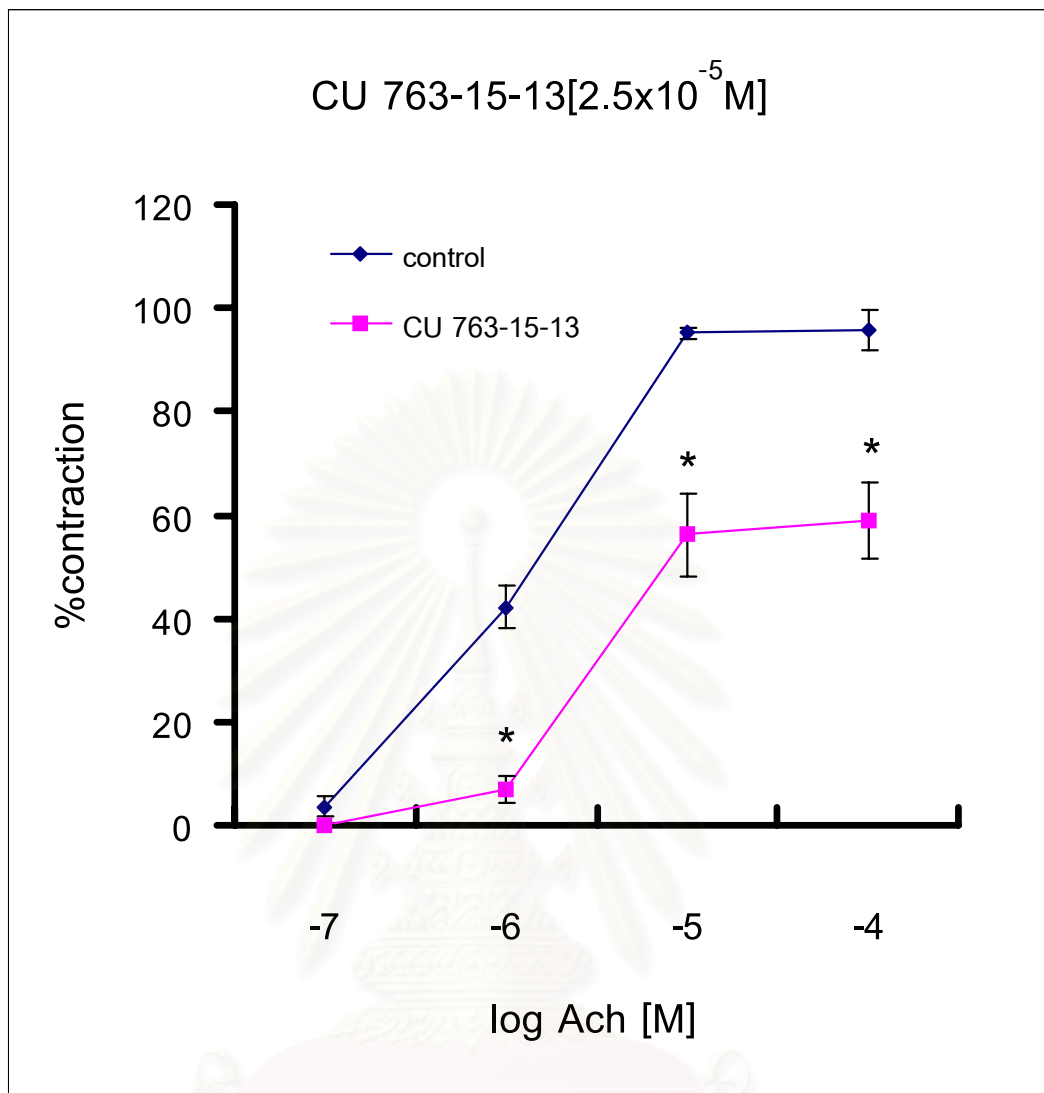
รูปที่ 13 แสดงผลของ CU 763-15-13 ($1.0 \times 10^{-5} \text{M}$ และ $2.5 \times 10^{-5} \text{M}$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย Ach แบบสะสม ขนาดความเข้มข้น $A=10^{-7}$, $B=10^{-6}$, $C=10^{-5}$ และ $D=10^{-4}$ โมลาร์ [M]



กราฟที่ 1 ผลของ CU 763-15-13 (1×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย Ach แบบสะสม (n=9)

กราฟแสดงค่า mean \pm S.E

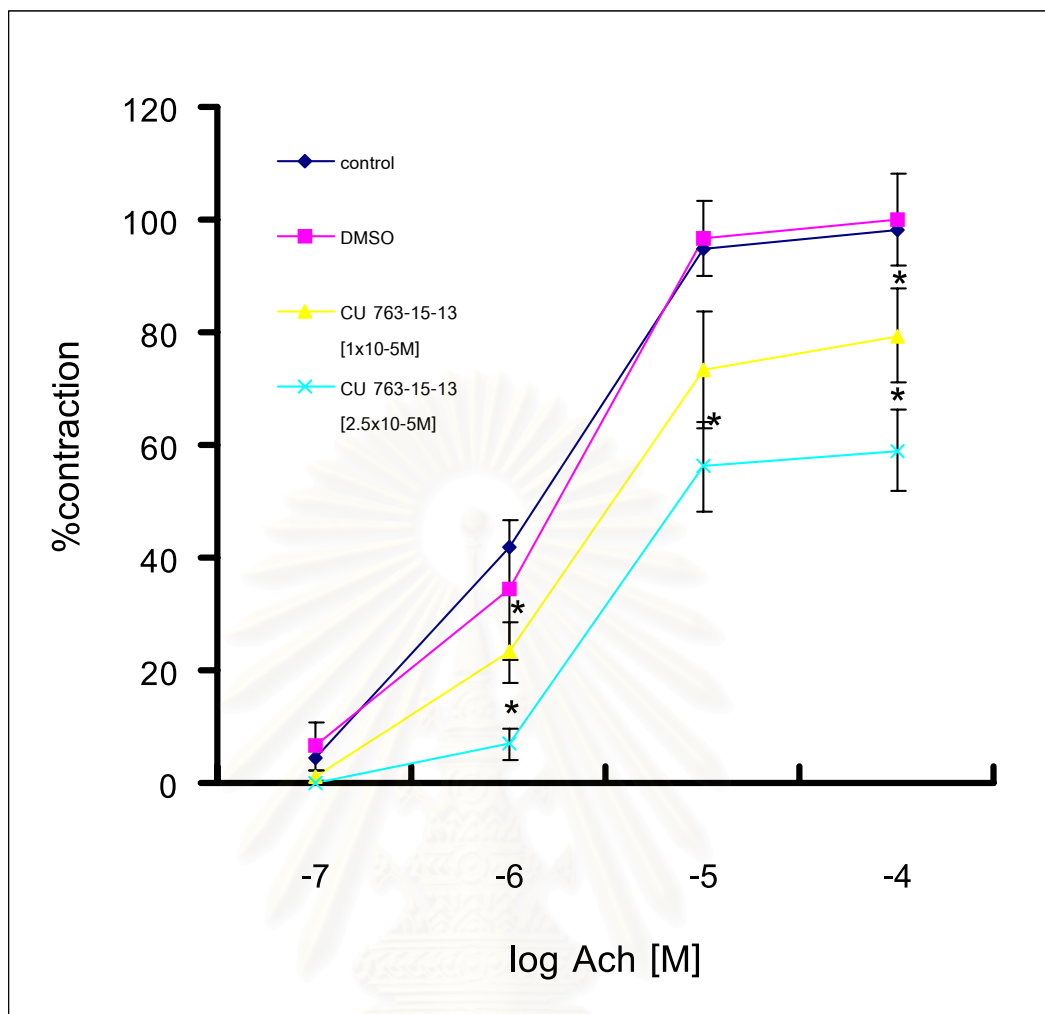
* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



กราฟที่ 2 ผลของ CU 763-15-13 (2×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย Ach แบบสะสม (n=11)

กราฟแสดงค่า mean \pm S.E

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



กราฟที่ 3 ผลของ DMSO และ CU 763-15-13 ($1 \times 10^{-5} \text{M}$ และ $2.5 \times 10^{-5} \text{M}$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย Ach แบบสะสม กราฟแสดงค่า mean \pm S.E

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

Van Rossum (1963) ได้ค่า pD'_2 ของสาร CU 763-15-13 ที่ขนาดความเข้มข้น 1×10^{-5} โมลาร์ เท่ากับ 4.82 ± 0.33 และที่ขนาดความเข้มข้น 2.5×10^{-5} โมลาร์ เท่ากับ 4.4 ± 0.44

1.2 ผลของสาร CU 18-05 ต่อการกระตุ้นการหดตัวของ Ach

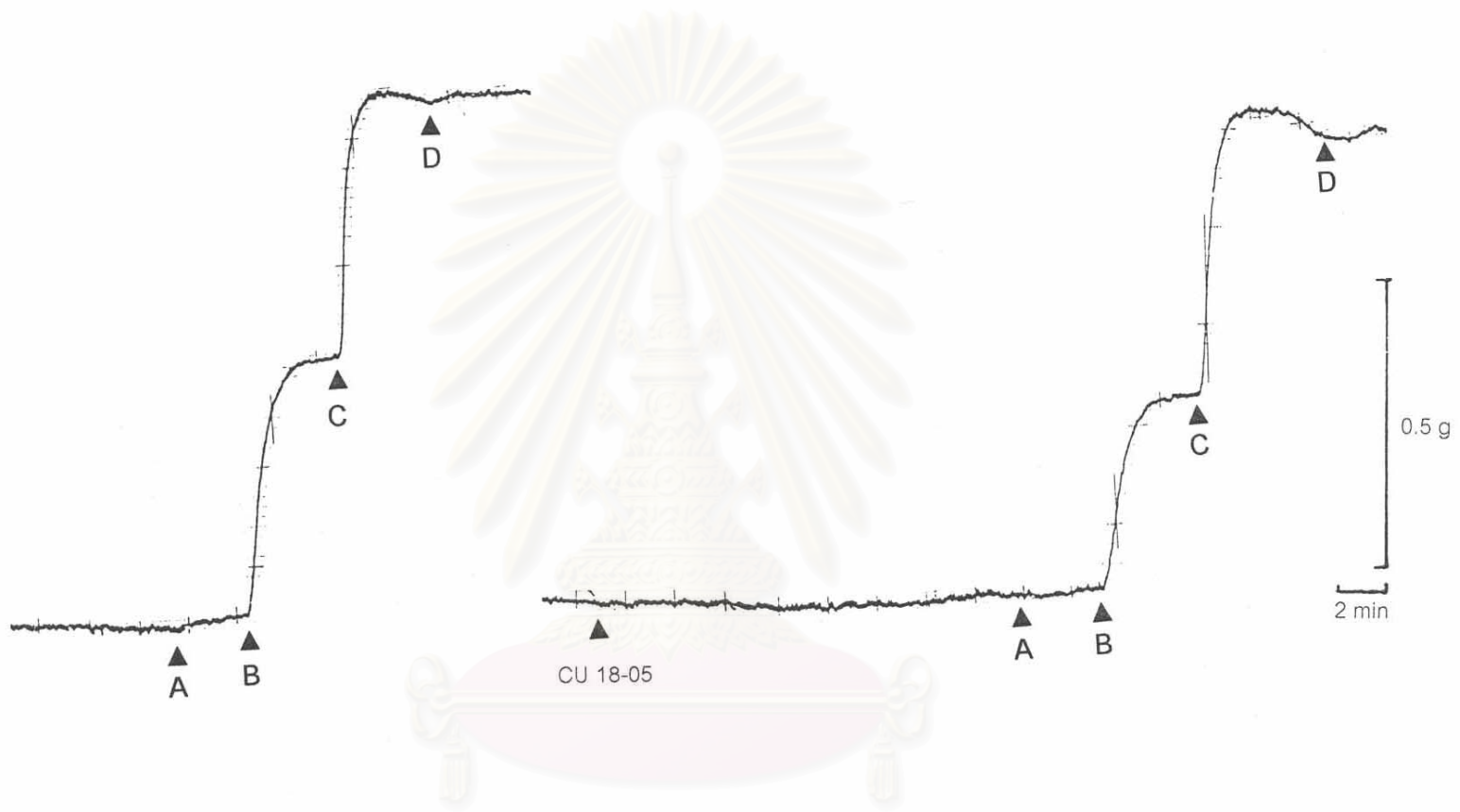
เมื่อให้สาร Ach เช่นเดียวกับหัวข้อที่ 1.1 และเมื่อนำค่าการหดตัวของกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมมาเปรียบเทียบกัน พบว่าในกลุ่มทดลองซึ่งได้ให้สาร CU 18-05 ที่ขนาดความเข้มข้น 2.5×10^{-5} โมลาร์ เข้าไปก่อนที่จะได้รับการกระตุ้นด้วย Ach แบบสะสมนั้นพบว่าผลในการลดค่า maximum contraction ไม่ชัดเจนซึ่งต่างจากผลของสาร CU 763-15-13 (รูปที่ 14) จะพบว่าที่ขนาดความเข้มข้นของ Ach เท่ากับ 1×10^{-6} โมลาร์นั้นจะมีความแตกต่างไปจากกลุ่มควบคุมในการลดการหดตัวของหลอดเลือดได้มากที่สุดเมื่อเทียบกับความเข้มข้นอื่นๆ (กราฟที่ 4)

สาร CU 18-05 ที่ขนาดความเข้มข้น 2.5×10^{-5} โมลาร์ นั้นพบว่าไม่สามารถลดการหดตัวของหลอดเลือดหัวใจสุกร ที่ maximum contraction เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วย Ach แบบสะสมได้ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่มีผลในการลดการหดตัวได้บ้าง เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วย Ach แบบสะสม ที่ขนาดความเข้มข้น 1×10^{-6} และ 1×10^{-5} โมลาร์ ซึ่งพบว่าที่ขนาดความเข้มข้น 1×10^{-6} โมลาร์ นั้นสาร CU 18-05 ที่ขนาดความเข้มข้น 2.5×10^{-5} โมลาร์ สามารถลดการหดตัวของหลอดเลือดลงได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (กราฟที่ 4)

1.3 ผลของสาร CU 18-06 ต่อการกระตุ้นการหดตัวของ Ach

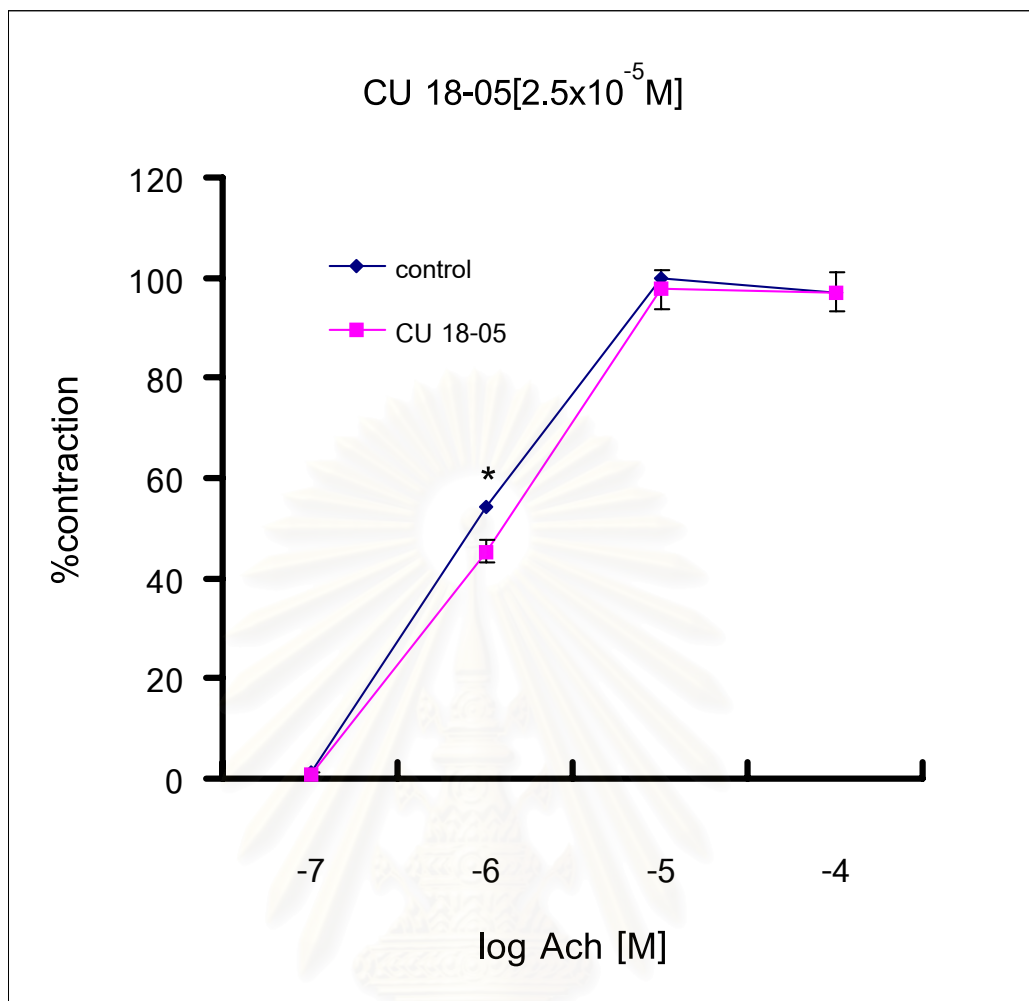
เมื่อให้สาร Ach เช่นเดียวกับหัวข้อที่ 1.1 และเมื่อนำค่าการหดตัวของกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมมาเปรียบเทียบกัน พบว่าในกลุ่มทดลองซึ่งได้ให้สาร CU 18-06 ที่ขนาดความเข้มข้น 2.5×10^{-5} โมลาร์ เข้าไปก่อนที่จะได้รับการกระตุ้นด้วย Ach แบบสะสมนั้นพบว่าผลในการลดค่า maximum contraction ลงไม่ชัดเจนเช่นเดียวกับสาร CU 18-05 จะเห็นว่าผลของกลุ่มทดลองที่มีสารทดสอบ และผลของกลุ่มควบคุมมีความใกล้เคียงกัน (รูปที่ 15) จะพบว่าที่ขนาดความเข้มข้นของ Ach เท่ากับ 1×10^{-6} โมลาร์นั้นจะเห็นความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมในการลดการหดตัวของหลอดเลือดได้มากที่สุดเมื่อเทียบกับความเข้มข้นอื่นๆ (กราฟที่ 5)

สาร CU 18-06 ที่ขนาดความเข้มข้น 2.5×10^{-5} โมลาร์ นั้นพบว่าไม่สามารถลดการหดตัวของหลอดเลือดหัวใจสุกร ที่ maximum contraction เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วย Ach แบบสะสมได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่มีผลในการลดการหดตัวได้บ้าง เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วย Ach แบบสะสม ที่ขนาดความเข้มข้น 1×10^{-6} และ 1×10^{-5} โมลาร์ เช่นเดียวกับสาร CU 18-05 แต่พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รูปที่ 15 และ กราฟที่ 5)



รูปที่ 14 แสดงผลของ CU 18-05 ($2.5 \times 10^{-5} M$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย Ach แบบสะสมขนาดความเข้มข้น $A=10^{-7}$, $B=10^{-6}$, $C=10^{-5}$ และ $D=10^{-4}$ โมลาร์ [M]

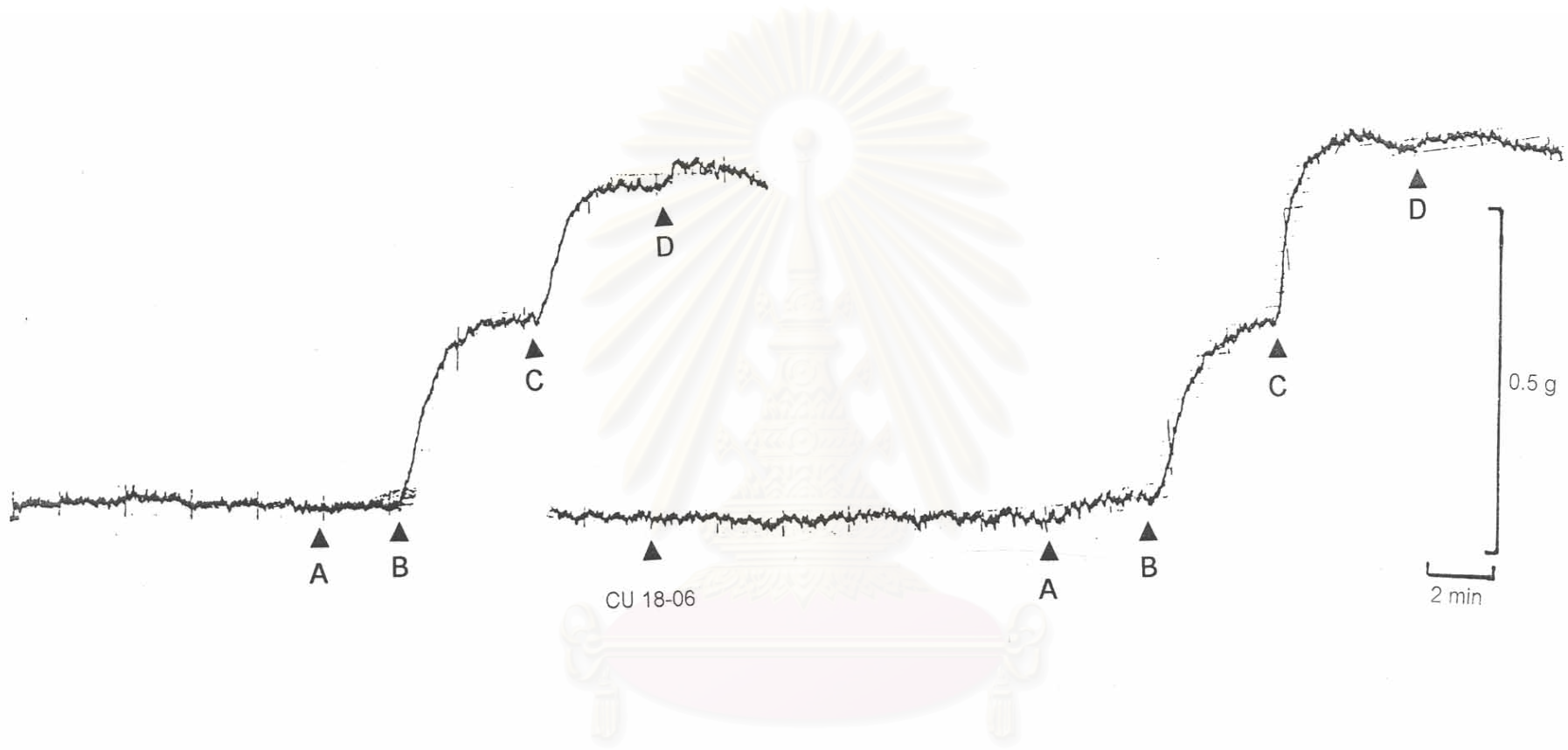
สงวนลิขสิทธิ์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



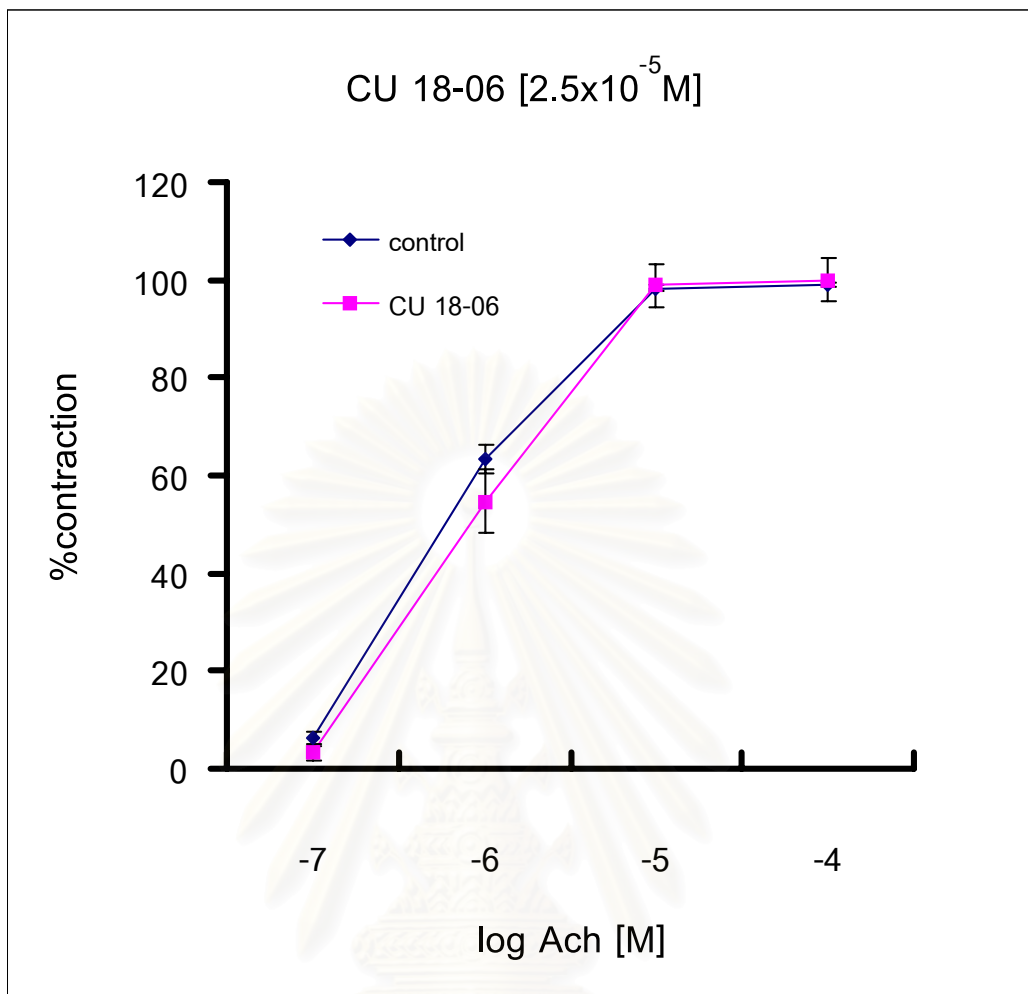
กราฟที่ 4 ผลของ CU 18-05 (2.5×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจาก หัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย Ach แบบสะสม (n=8)

กราฟแสดงค่า mean \pm S.E

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



รูปที่ 15 แสดงผลของ CU 18-06 ($2.5 \times 10^{-5} \text{M}$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย Ach แบบสะสมขนาดความเข้มข้น $A=10^{-7}$, $B=10^{-6}$, $C=10^{-5}$ และ $D=10^{-4}$ โมลาร์ [M]



กราฟที่ 5 ผลของ CU 18-06 (2.5×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย Ach แบบสะสม (n=11)

กราฟแสดงค่า mean \pm S.E

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

1.4 ผลของสาร DMSO ต่อการกระตุ้นการหดตัวด้วย Ach

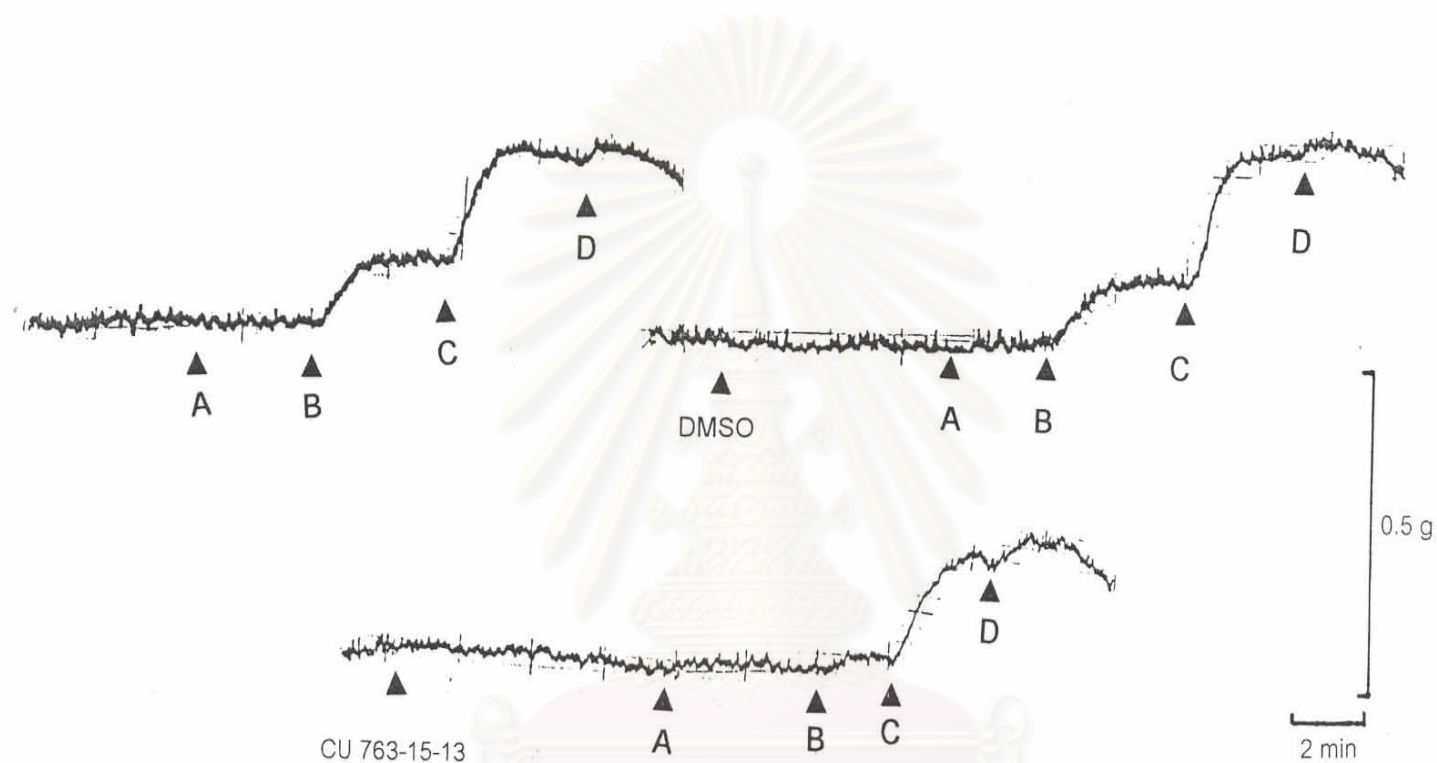
เมื่อให้สาร Ach แบบสะสมเหมือนกับการทดลองเมื่อได้รับสารทดสอบเข้าไป พบว่าการให้สาร DMSO ปริมาณเท่ากับที่ใช้ในการละลายสารทดสอบที่ขนาดความเข้มข้น 2.5×10^{-5} โมลาร์นั้น ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงการหดตัวเมื่อได้รับการกระตุ้นด้วย Ach โดยพบว่าไม่มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับสาร DMSO (รูปที่ 16 และ กราฟที่ 6) และในกลุ่มของ DMSO เมื่อเทียบกับกลุ่มทดลองที่ได้รับสารทดสอบ CU 763-15-13 ขนาดความเข้มข้น 2.5×10^{-5} โมลาร์ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ซึ่งใกล้เคียงกับการเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุม (ที่ไม่ได้ให้ DMSO) กับกลุ่มทดลองที่ได้รับสาร CU 763-15-13 (รูปที่ 16 และ กราฟที่ 3)

2. ผลของสารทดสอบ (CU 763-15-13, CU 18-05 และ CU 18-06) เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วยสารกระตุ้นมาตรฐานการหดตัว 5-HT

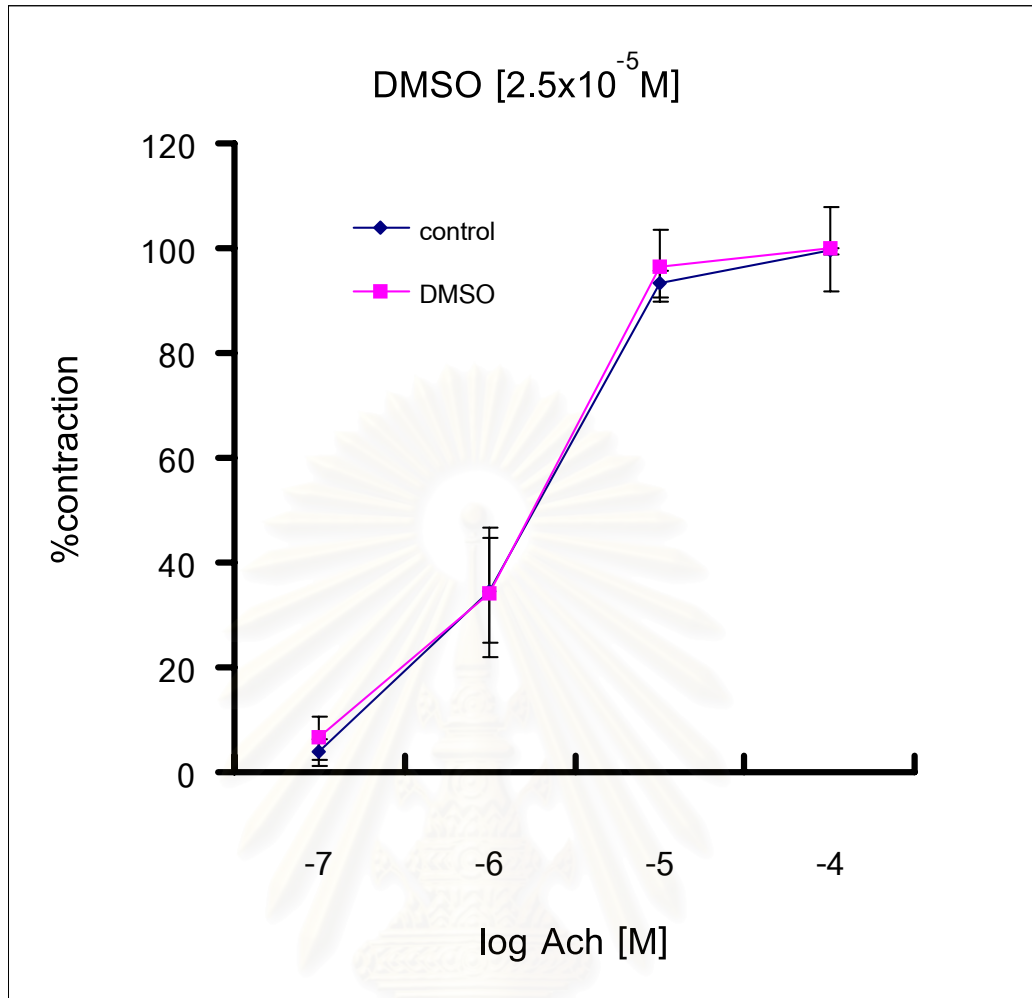
2.1 ผลของ CU 763-15-13 ต่อการกระตุ้นการหดตัวด้วย 5-HT

เมื่อให้สาร 5-HT แบบสะสมขนาดความเข้มข้นระหว่าง 1×10^{-8} - 1×10^{-5} โมลาร์ เช่นเดียวกับการให้ Ach ในหัวข้อที่ 1.1 พบว่าสามารถทำให้หลอดเลือดแดงหัวใจสุกรหดตัวได้และสามารถเกิดการหดตัวได้สูงมากที่สุดเมื่อได้รับการกระตุ้นจาก 5-HT ที่ขนาดความเข้มข้น 1×10^{-5} โมลาร์เพิ่มเข้าไปแบบสะสม และจะคิดเป็น 100% contraction (maximum contraction) และเมื่อนำค่าการหดตัวของกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมมาเปรียบเทียบกัน พบว่าในกลุ่มทดลองซึ่งได้ให้สาร CU 763-15-13 เข้าไปก่อนที่จะได้รับการกระตุ้นด้วย 5-HT แบบสะสมนั้น มีค่า maximum contraction และค่าการหดตัวที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วย 5-HT แบบสะสมลดลง เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งได้รับ 5-HT แต่เพียงอย่างเดียว (รูปที่ 17) แสดงว่าสาร CU 763-15-13 นั้นมีผลในการลดการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อได้รับการกระตุ้นจาก 5-HT

สาร CU 763-15-13 ที่ขนาดความเข้มข้น 1×10^{-5} โมลาร์ สามารถลดการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย 5-HT โดยสามารถลดค่า maximum contraction ลงเหลือ $47.71 \pm 14.59\%$ ที่ขนาดความเข้มข้นของ 5-HT เท่ากับ 1×10^{-5} โมลาร์ ซึ่งมีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (กราฟที่ 7) และที่ขนาดความเข้มข้นของ 5-HT เท่ากับ 1×10^{-6} โมลาร์ ก็ยังสามารถลดการหดตัวได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ด้วยเช่นกัน ส่วนที่ขนาดความเข้มข้นอื่นๆ ของ 5-HT นั้นก็สามารถลดค่าการหดตัวของหลอดเลือดแดงได้เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมแต่พบว่าไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ



รูปที่ 16 แสดงผลของ DMSO ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย Ach แบบสะสมขนาดความเข้มข้น $A=10^{-7}$, $B=10^{-6}$, $C=10^{-5}$ และ $D=10^{-4}$ โมลาร์ [M]

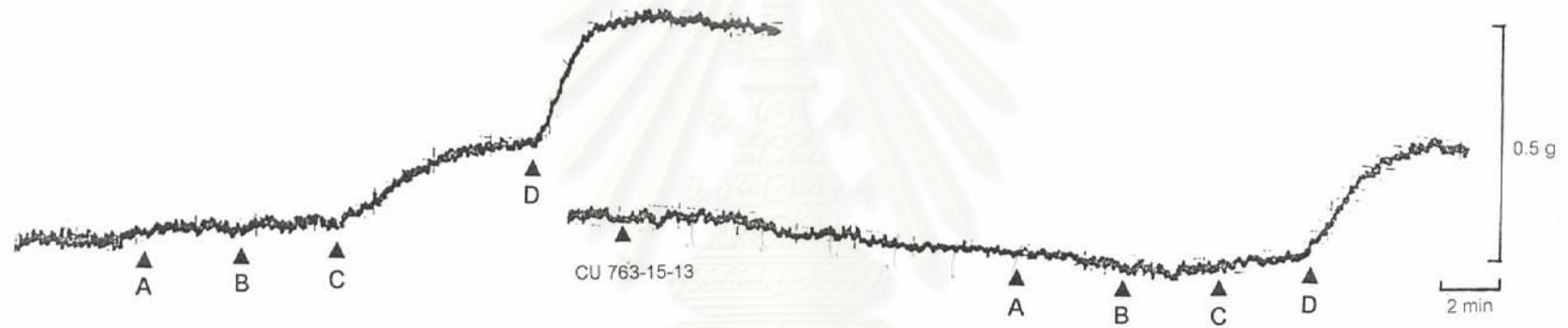


กราฟที่ 6 ผลของ DMSO ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อ

กระตุ้นด้วย Ach แบบสะสม (n=6)

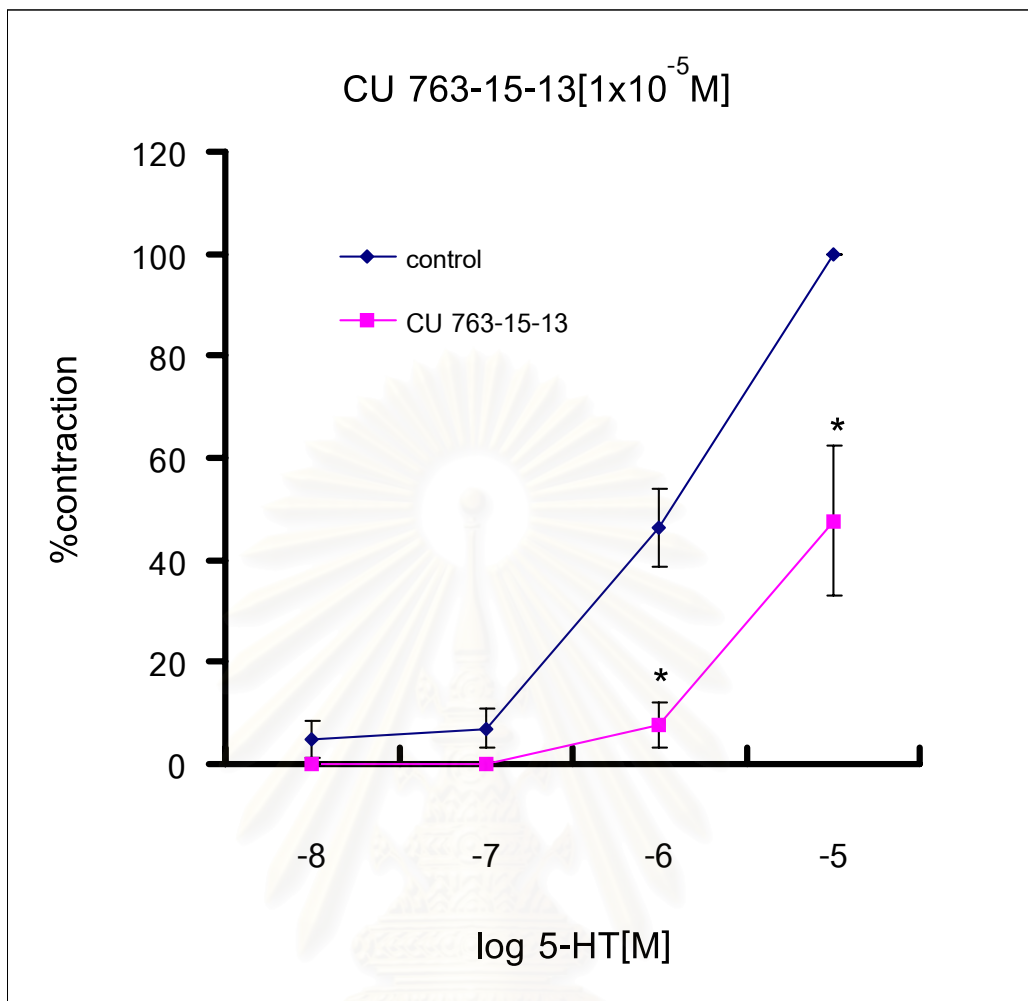
กราฟแสดงค่า mean \pm S.E

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



รูปที่ 17 แสดงผลของ CU 763-15-13 ($1.0 \times 10^{-5} M$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย 5-HT แบบสะสมขนาดความเข้มข้น $A=10^{-6}$, $B=10^{-7}$, $C=10^{-6}$ และ $D=10^{-5}$ โมลาร์ [M]

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



กราฟที่ 7 ผลของ CU 763-15-13 (1×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย 5-HT แบบสะสม (n=8)

กราฟแสดงค่า mean \pm S.E

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

2.2 ผลของ CU 18-05 ต่อการกระตุ้นการหดตัวของ 5-HT

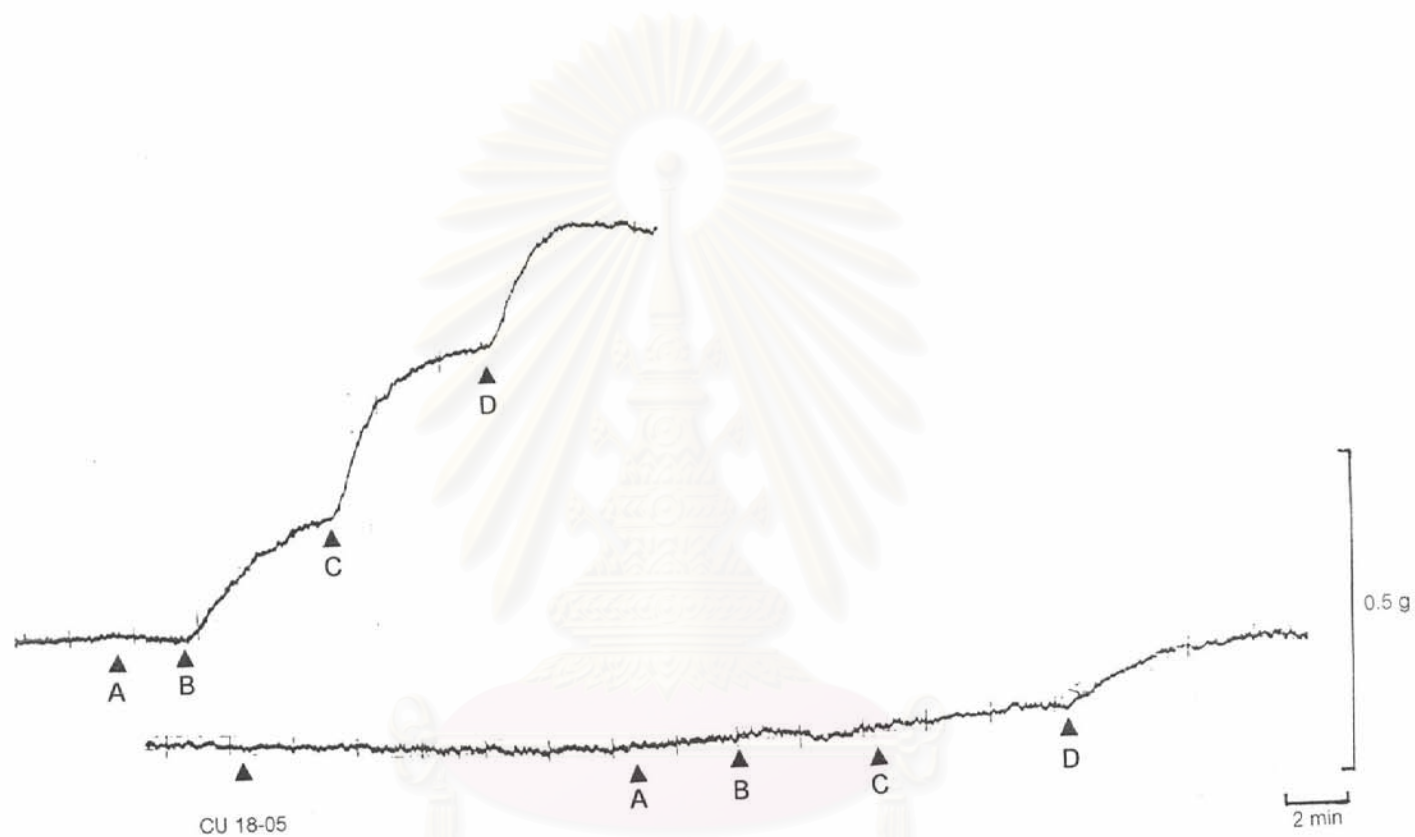
เมื่อให้สาร 5-HT เช่นเดียวกับหัวข้อที่ 2.1 และเมื่อนำค่าการหดตัวของกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมมาเปรียบเทียบกัน พบว่าในกลุ่มทดลองซึ่งได้ให้สาร CU 18-05 เข้าไปก่อนที่จะได้รับการกระตุ้นด้วย 5-HT แบบสะสมนั้น มีค่า maximum contraction และค่าการหดตัวที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วย 5-HT แบบสะสมลดลง เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งได้รับ 5-HT แต่เพียงอย่างเดียว (รูปที่ 18) แสดงว่าสาร CU 18-05 นั้นมีผลในการลดการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อได้รับการกระตุ้นจาก 5-HT

สาร CU 18-05 ที่ขนาดความเข้มข้น 2.5×10^{-5} โมลาร์ สามารถลดการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย 5-HT โดยสามารถลดค่า maximum contraction ลงเหลือ $39.24 \pm 8.44\%$ ที่ขนาดความเข้มข้นของ 5-HT เท่ากับ 1×10^{-5} โมลาร์ ซึ่งมีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (กราฟที่ 8) ส่วนที่ขนาดความเข้มข้นอื่นๆ ของ 5-HT นั้นก็สามารถลดค่าการหดตัวของหลอดเลือดแดงได้เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมแต่พบว่าไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

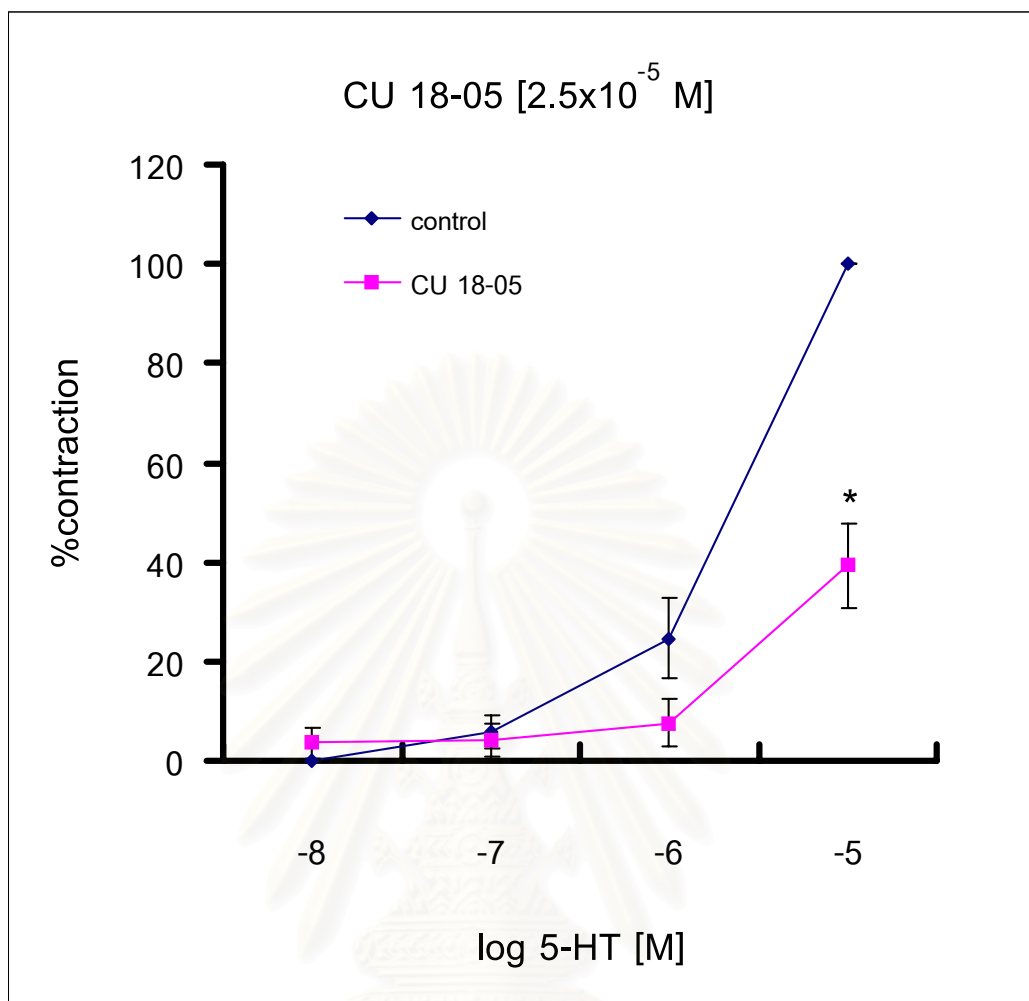
2.3 ผลของ CU 18-06 ต่อการกระตุ้นการหดตัวของ 5-HT

เมื่อให้สาร 5-HT เช่นเดียวกับหัวข้อที่ 2.1 และเมื่อนำค่าการหดตัวของกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมมาเปรียบเทียบกัน พบว่าในกลุ่มทดลองซึ่งได้ให้สาร CU 18-06 เข้าไปก่อนที่จะได้รับการกระตุ้นด้วย 5-HT แบบสะสมนั้น มีค่า maximum contraction และค่าการหดตัวที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วย 5-HT แบบสะสมลดลง เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งได้รับ 5-HT แต่เพียงอย่างเดียว (รูปที่ 19) แสดงว่าสาร CU 18-06 นั้นมีผลในการลดการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อได้รับการกระตุ้นจาก 5-HT

สาร CU 18-06 ที่ขนาดความเข้มข้น 2.5×10^{-5} โมลาร์ สามารถลดการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย 5-HT โดยสามารถลดค่า maximum contraction ลงเหลือ $64.57 \pm 12.6\%$ ที่ขนาดความเข้มข้นของ 5-HT เท่ากับ 1×10^{-5} โมลาร์ ซึ่งมีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (กราฟที่ 9) และที่ขนาดความเข้มข้นของ 5-HT เท่ากับ 1×10^{-6} โมลาร์ ก็ยังสามารถลดการหดตัวได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ด้วยเช่นกัน ส่วนที่ขนาดความเข้มข้นอื่นๆ ของ 5-HT นั้นก็สามารถลดค่าการหดตัวของหลอดเลือดแดงได้เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมแต่พบว่าไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ



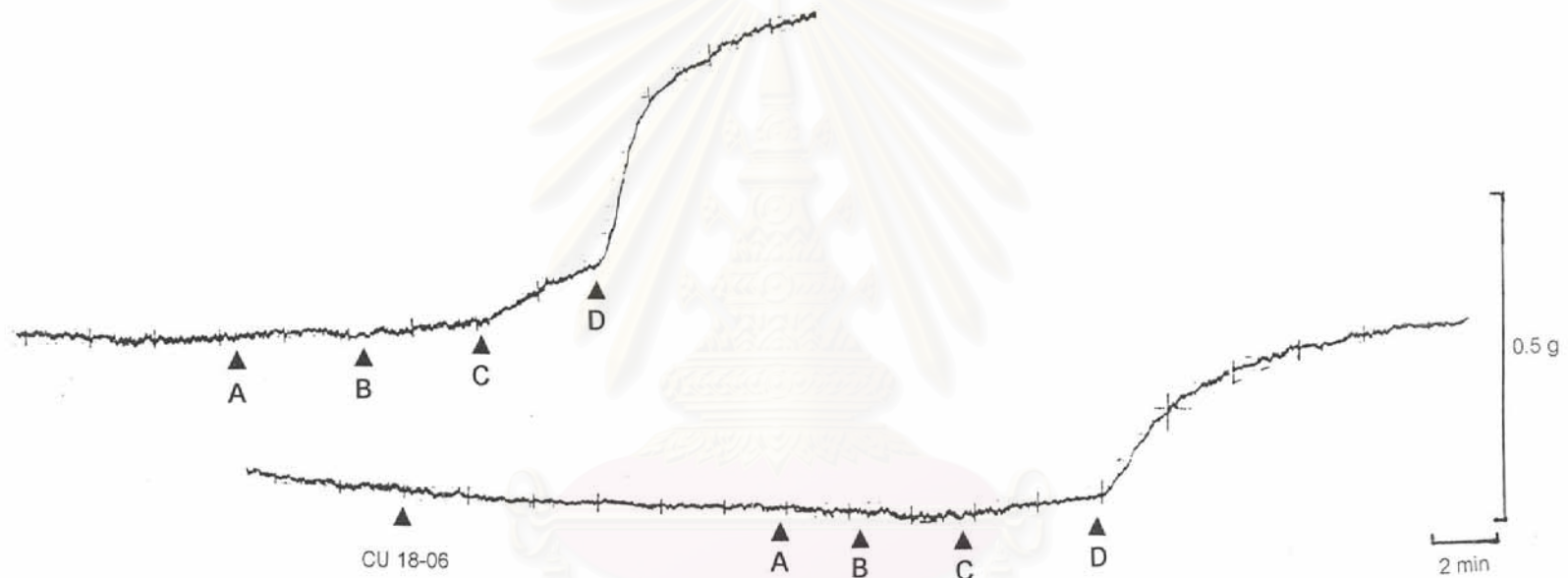
รูปที่ 18 แสดงผลของ CU 18-05 (2.5×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย 5-HT แบบสะสมขนาดความเข้มข้น $A=10^{-8}$, $B=10^{-7}$, $C=10^{-6}$ และ $D=10^{-5}$ โมลาร์ [M]



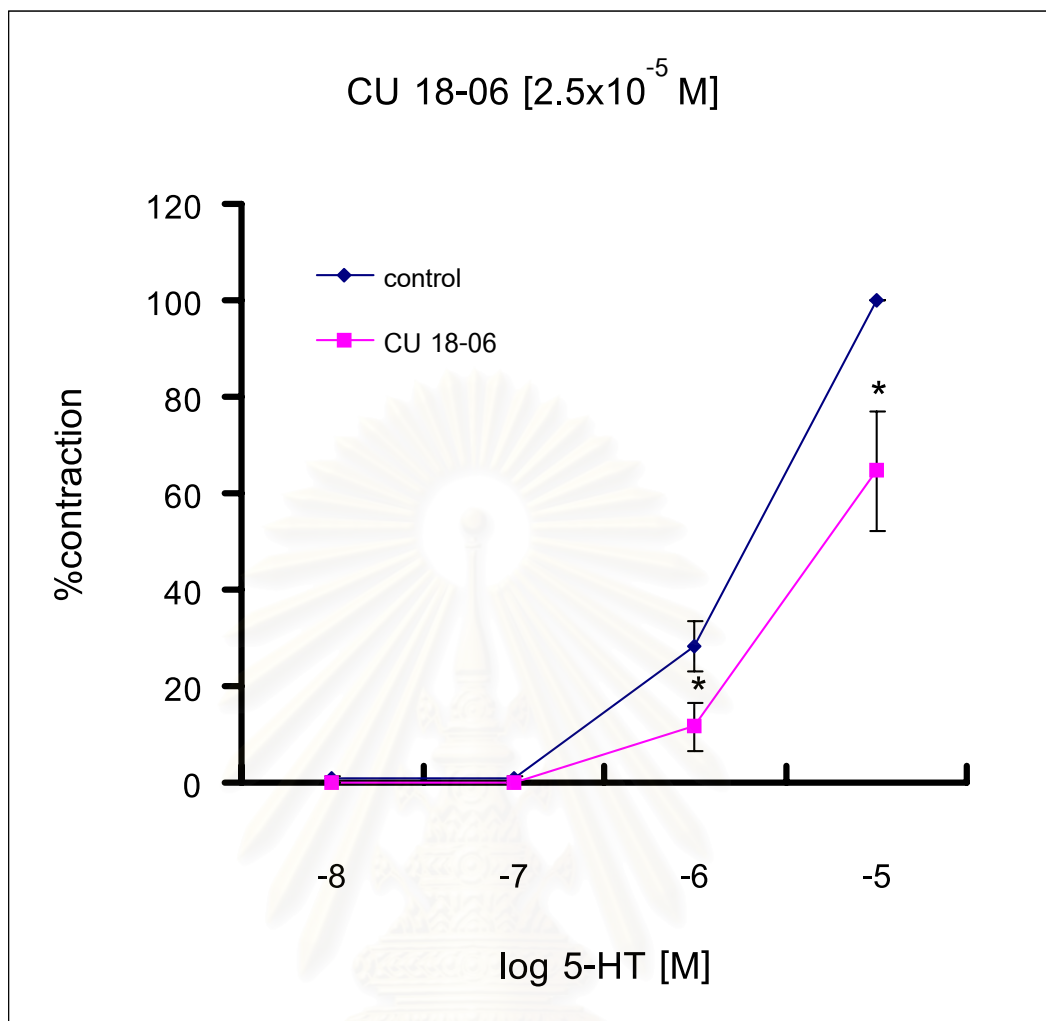
กราฟที่ 8 ผลของ CU 18-05 (2.5×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย 5-HT แบบสะสม (n=8)

กราฟแสดงค่า mean \pm S.E

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



รูปที่ 19 แสดงผลของ CU 18-06 ($2.5 \times 10^{-5} \text{ M}$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย 5-HT แบบสะสมขนาดความเข้มข้น $A=10^{-8}$, $B=10^{-7}$, $C=10^{-6}$ และ $D=10^{-5}$ โมลาร์ [M]



กราฟที่ 9 ผลของ CU 18-06 (2.5×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจาก หัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย 5-HT แบบสะสม (n=9)

กราฟแสดงค่า mean \pm S.E

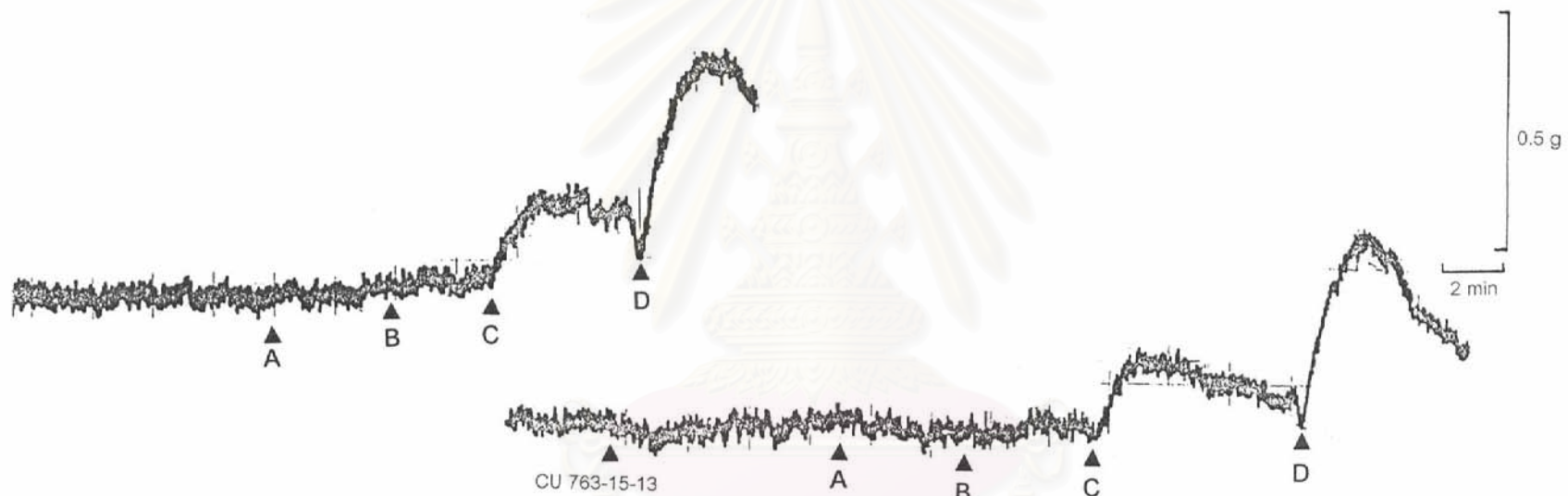
* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

3. ผลของสารทดสอบ (CU 763-15-13, CU18-05 และ CU 18-06) เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วยสารกระตุ้นมาตรฐานการหดตัว histamine

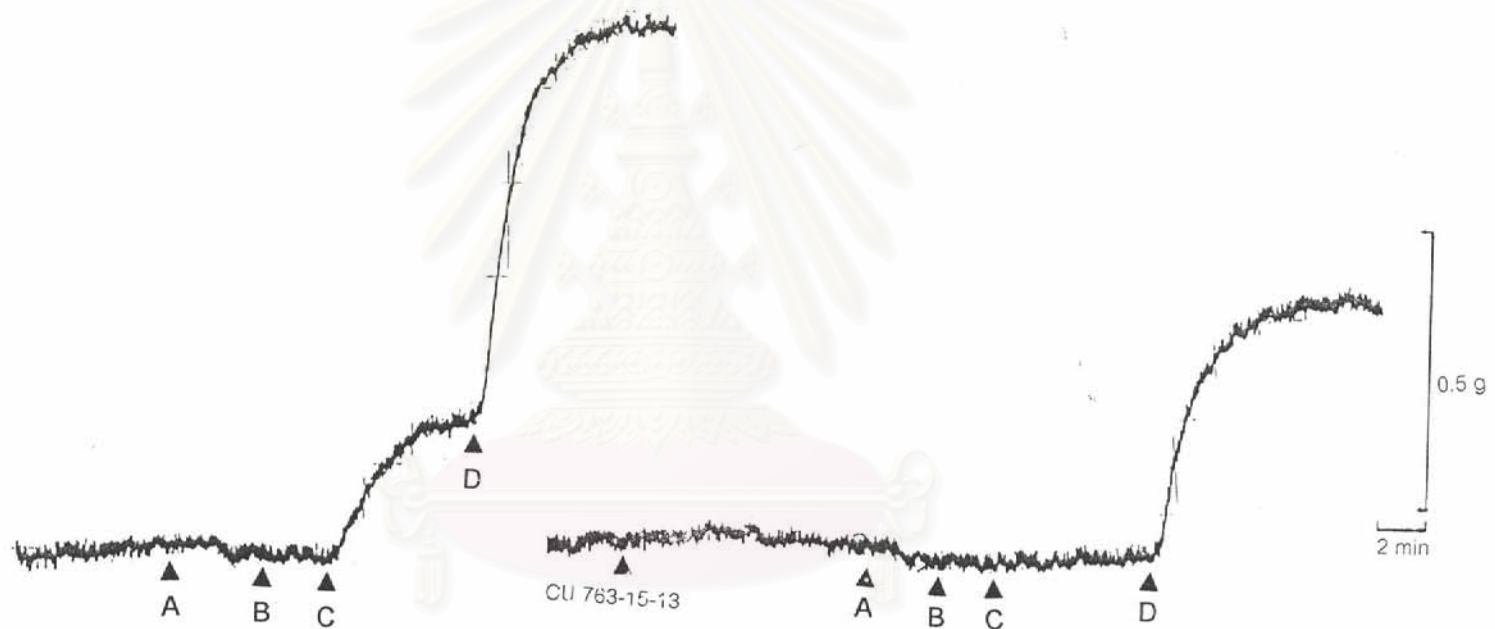
3.1 ผลของ CU 763-15-13 ต่อการกระตุ้นการหดตัวด้วย histamine

เมื่อให้สาร histamine แบบสะสมขนาดความเข้มข้น 1×10^{-7} - 1×10^{-4} โมลาร์ เช่นเดียวกับการให้ Ach ในหัวข้อที่ 1.1 พบว่าสามารถทำให้หลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกรหดตัวได้จนกระทั่งสามารถเกิดการหดตัวได้สูงมากที่สุดเมื่อได้รับการกระตุ้นจาก histamine ที่ขนาดความเข้มข้น 1×10^{-4} โมลาร์เพิ่มเข้าไปแบบสะสม และจะคิดเป็น 100% contraction (maximum contraction) และเมื่อนำค่าการหดตัวของกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมมาเปรียบเทียบกัน พบว่าในกลุ่มทดลองซึ่งได้ให้สาร CU 763-15-13 เข้าไปก่อนที่จะได้รับการกระตุ้นด้วย histamine แบบสะสมนั้น มีค่า maximum contraction และค่าการหดตัวที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วย histamine แบบสะสมลดลง เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งได้รับการกระตุ้นด้วย histamine แต่เพียงอย่างเดียว (รูปที่ 20,21) แสดงว่าสาร CU 763-15-13 นั้นมีผลในการลดการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อได้รับการกระตุ้นจาก histamine โดยพบว่าผลในการลดลงของการหดตัวนี้จะแปรผันไปตามความเข้มข้นของ สาร CU 763-15-13 ที่เพิ่มขึ้นด้วย จะเห็นว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสาร CU 763-15-13 จาก 1×10^{-5} โมลาร์มาเป็น 2.5×10^{-5} โมลาร์ แล้วจะทำให้การลดการหดตัวของหลอดเลือดเมื่อถูกกระตุ้นด้วย histamine นั้นเพิ่มมากขึ้นด้วยตามขนาดของความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น

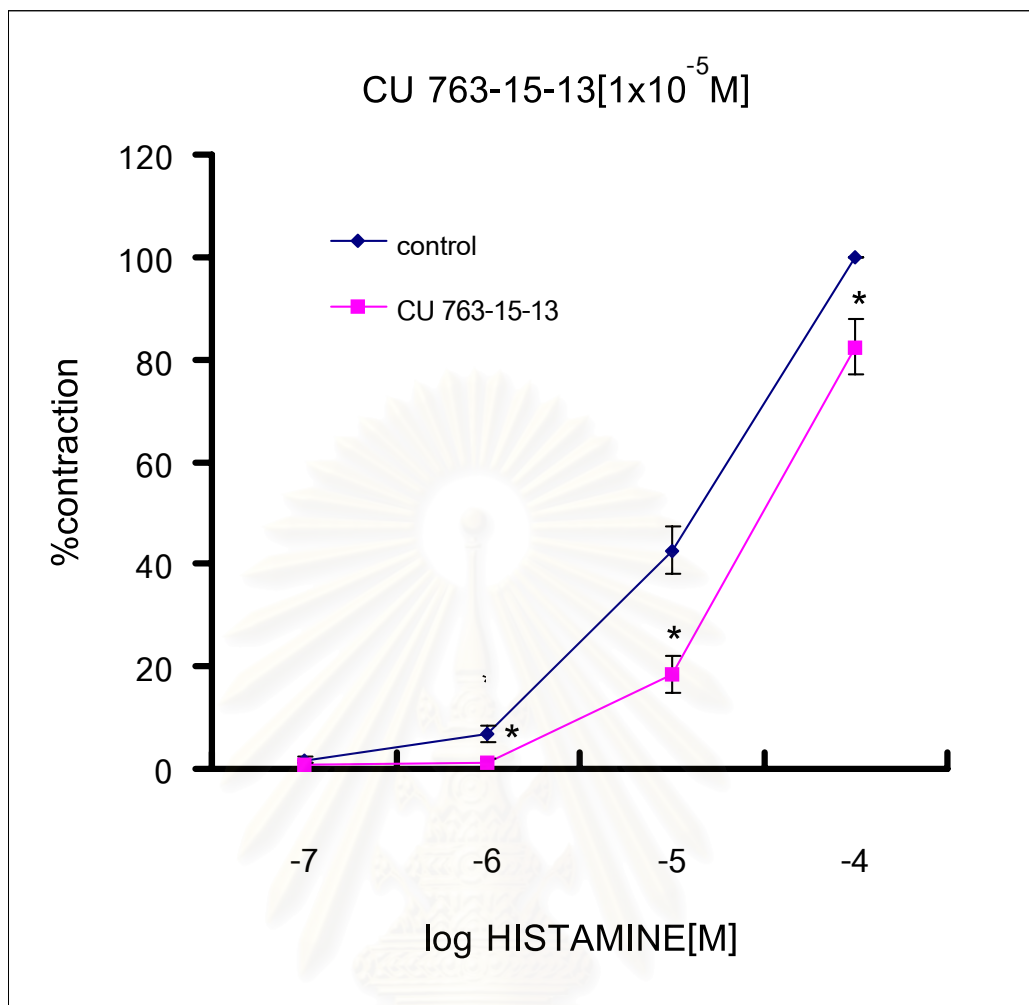
สาร CU 763-15-13 ที่ขนาดความเข้มข้น 1×10^{-5} โมลาร์ สามารถลดการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine โดยสามารถลดค่า maximum contraction ลงเหลือ $82.45 \pm 5.38\%$ ซึ่งมีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (กราฟที่ 10) และสาร CU 763-15-13 ที่ขนาดความเข้มข้น 2.5×10^{-5} โมลาร์ ก็สามารถลดการหดตัวของหลอดเลือดแดงที่หัวใจสุกรเมื่อกระตุ้นด้วย histamine โดยสามารถลดค่า maximum contraction ลงเหลือ $62.52 \pm 7.41\%$ ซึ่งมีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ได้เช่นกัน (กราฟที่ 11) ซึ่งจะเห็นว่าผลการลดการหดตัวนั้นแปรผันไปตามความเข้มข้น (กราฟที่ 12) และพบว่าสาร CU 763-15-13 สามารถลดการหดตัวเมื่อถูกกระตุ้นด้วย histamine ได้แบบ noncompetitive antagonism โดยสามารถคำนวณค่า drug parameter ตามวิธีของ Van Rossum (1963) ได้ค่า pD'_2 ของสาร CU 763-15-13 ที่ขนาดความเข้มข้น 1×10^{-5} โมลาร์ เท่ากับ 4.37 ± 0.37 และที่ขนาดความเข้มข้น 2.5×10^{-5} โมลาร์ เท่ากับ 4.27 ± 0.16



รูปที่ 20 แสดงผลของ CU 763-15-13 ($1.0 \times 10^{-5} M$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine แบบสะสมขนาดความเข้มข้น A= 10^{-7} , B= 10^{-6} , C= 10^{-5} และ D= 10^{-4} โมลาร์ [M]



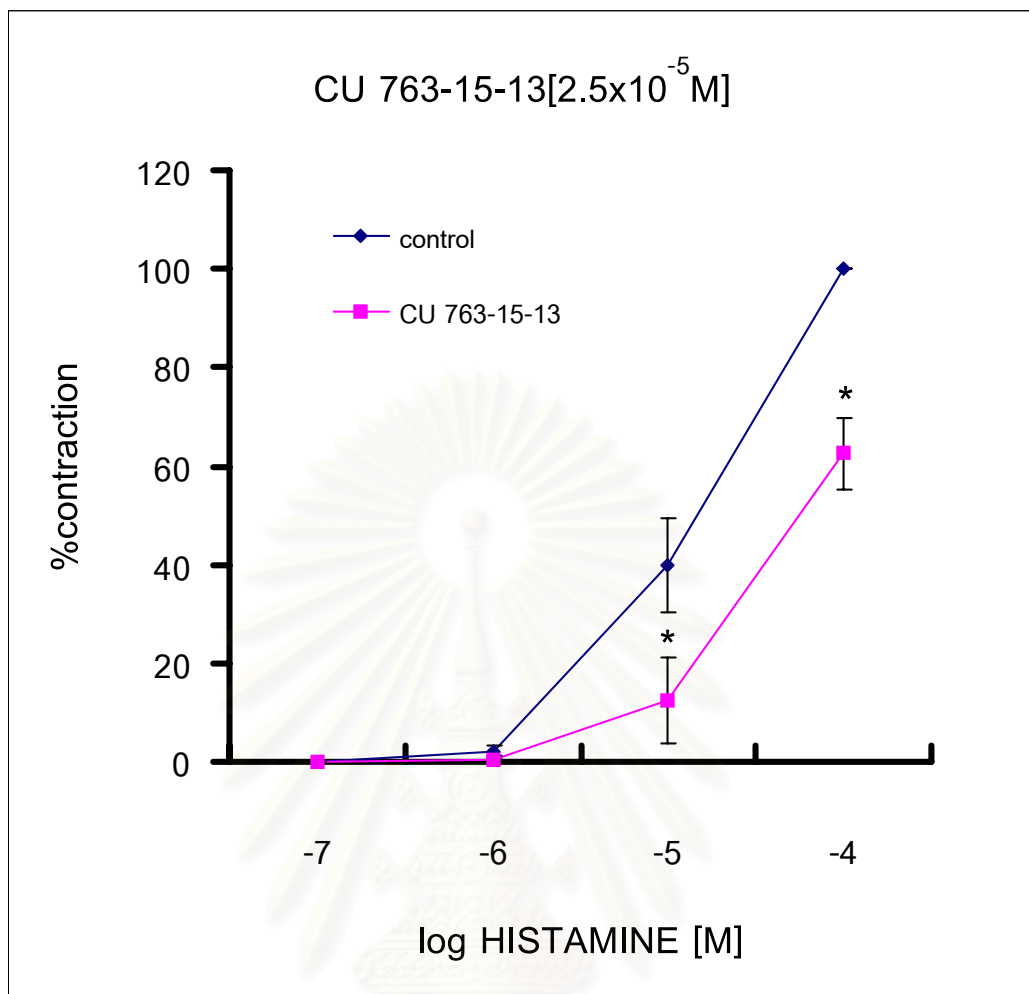
รูปที่ 21 แสดงผลของ CU 763-15-13 ($2.5 \times 10^{-5} M$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine แบบสะสมขนาดความเข้มข้น A= 10^{-7} , B= 10^{-6} , C= 10^{-5} และ D= 10^{-4} โมลาร์ [M]



กราฟที่ 10 ผลของ CU 763-15-13 (1×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine แบบสะสม (n=8)

กราฟแสดงค่า mean \pm S.E

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

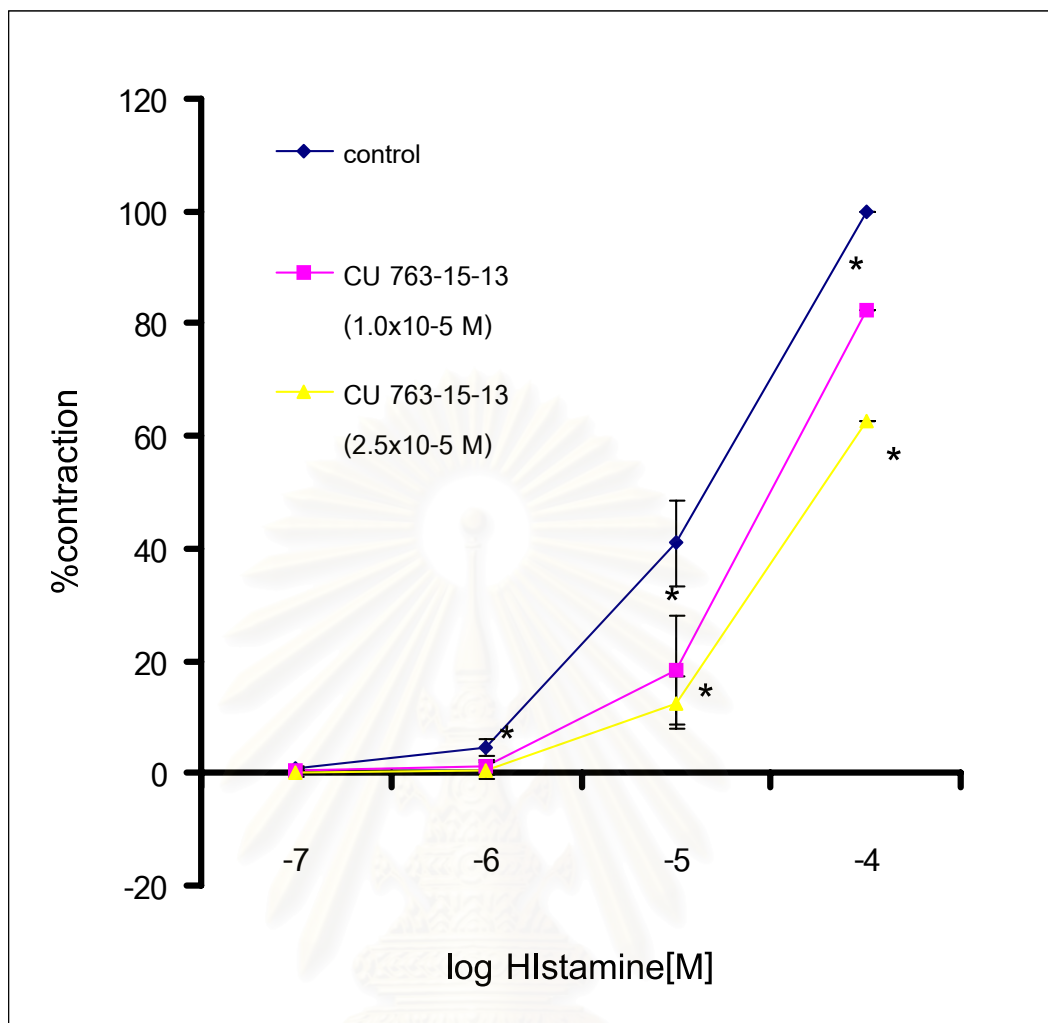


กราฟที่ 11 ผลของ CU 763-15-13 (2.5×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจาก

หัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine แบบสะสม (n=5)

กราฟแสดงค่า mean \pm S.E

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



กราฟที่ 12 ผลของ CU 763-15-13 (1×10^{-5} M และ 2.5×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine แบบสะสม
 กราฟแสดงค่า mean \pm S.E
 * แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

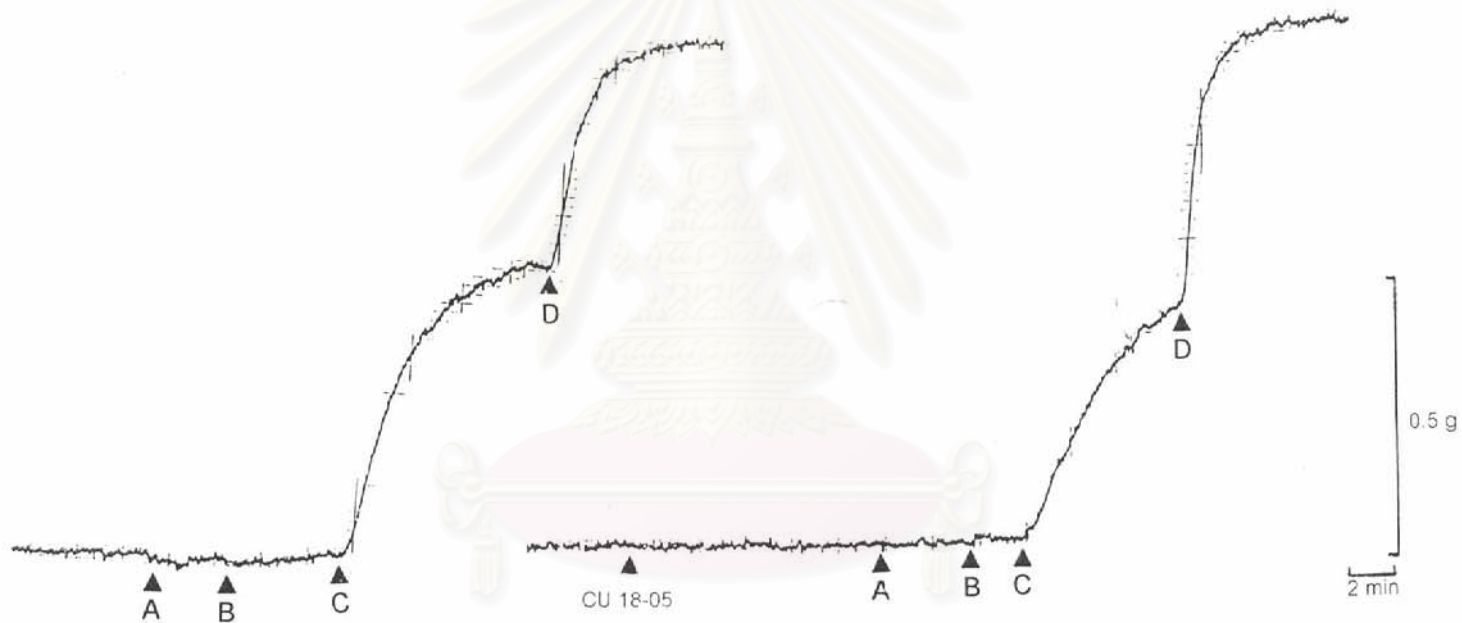
3.2 ผลของ CU 18-05 ต่อการกระตุ้นการหดตัวของ histamine

เมื่อให้สาร histamine เช่นเดียวกับหัวข้อที่ 3.2 และเมื่อนำค่าการหดตัวของกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมมาเปรียบเทียบกัน พบว่าในกลุ่มทดลองซึ่งได้ให้สาร CU 18-05 เข้าไปก่อนที่จะได้รับการกระตุ้นด้วย histamine แบบสะสมนั้น มีค่า maximum contraction และค่าการหดตัวที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วย histamine แบบสะสมลดลง เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งได้รับการกระตุ้นด้วย histamine แต่เพียงอย่างเดียว (รูปที่ 22,23) แสดงว่าสาร CU 18-05 นั้นมีผลในการลดการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อได้รับการกระตุ้นจาก histamine โดยพบว่าผลในการลดลงของการหดตัวนี้จะแปรผันไปตามความเข้มข้นของ สาร CU 18-05 ที่เพิ่มขึ้นด้วย จะเห็นว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสาร CU 18-05 จาก 1×10^{-5} โมลาร์ มาเป็น 2.5×10^{-5} โมลาร์ แล้วจะทำให้การลดการหดตัวของหลอดเลือดเมื่อถูกกระตุ้นด้วย histamine นั้นเพิ่มมากขึ้นด้วยตามขนาดของความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น

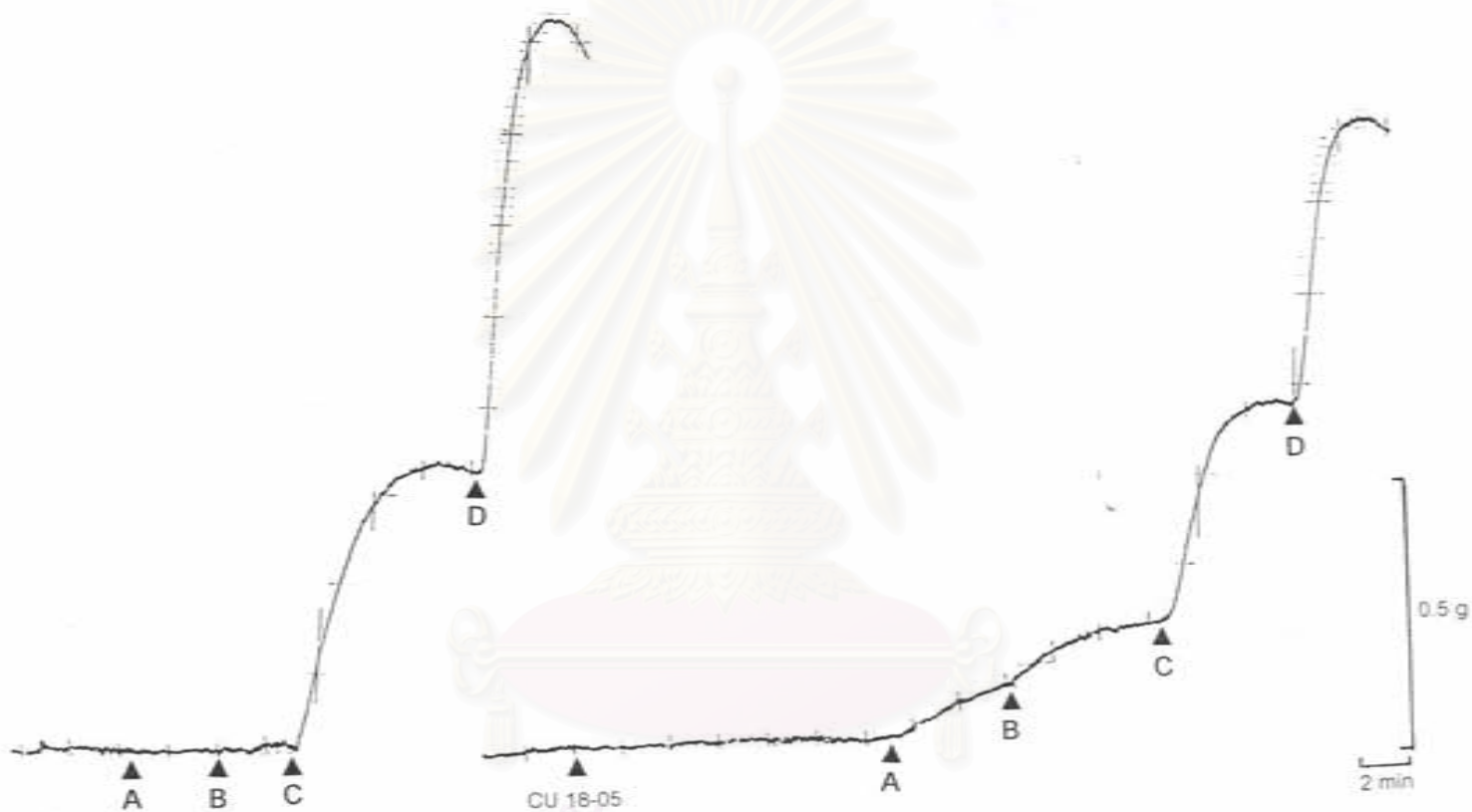
สาร CU 18-05 ที่ขนาดความเข้มข้น 1×10^{-5} โมลาร์ สามารถลดการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine โดยสามารถลดค่า maximum contraction ลงเหลือ $85.53 \pm 8.02\%$ ซึ่งมีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (กราฟที่ 13) และสาร CU 18-05 ที่ขนาดความเข้มข้น 2.5×10^{-5} โมลาร์ ก็สามารถลดการหดตัวของหลอดเลือดแดงที่หัวใจสุกรเมื่อกระตุ้นด้วย histamine โดยสามารถลดค่า maximum contraction ลงเหลือ $84.85 \pm 2.21\%$ ซึ่งมีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ได้เช่นกัน (กราฟที่ 14) ซึ่งจะเห็นว่าผลการลดการหดตัวนั้นแปรผันไปตามความเข้มข้น (กราฟที่ 15) และพบว่าสาร CU 18-05 สามารถลดการหดตัวเมื่อถูกกระตุ้นด้วย histamine ได้แบบ noncompetitive antagonism โดยสามารถคำนวณค่า drug parameter ตามวิธีของ Van Rossum (1963) ได้ค่า pD'_2 ของสาร CU 18-05 ที่ขนาดความเข้มข้น 1×10^{-5} โมลาร์ เท่ากับ 4.34 ± 0.32 และที่ขนาดความเข้มข้น 2.5×10^{-5} โมลาร์ เท่ากับ 3.83 ± 0.15

3.3 ผลของ CU 18-06 ต่อการกระตุ้นการหดตัวของ histamine

เมื่อให้สาร histamine เช่นเดียวกับหัวข้อที่ 3.2 และเมื่อนำค่าการหดตัวของกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมมาเปรียบเทียบกัน พบว่า ในกลุ่มทดลองซึ่งได้ให้สาร CU 18-06 เข้าไปก่อนที่จะได้รับการกระตุ้นด้วย histamine แบบสะสมนั้น มีค่า maximum contraction และค่าการหดตัวที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วย histamine แบบสะสมลดลง เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งได้รับการกระตุ้นด้วย histamine แต่เพียงอย่างเดียว (รูปที่ 24,25) แสดงว่าสาร CU 18-06 นั้นมีผลในการลดการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อได้รับการ

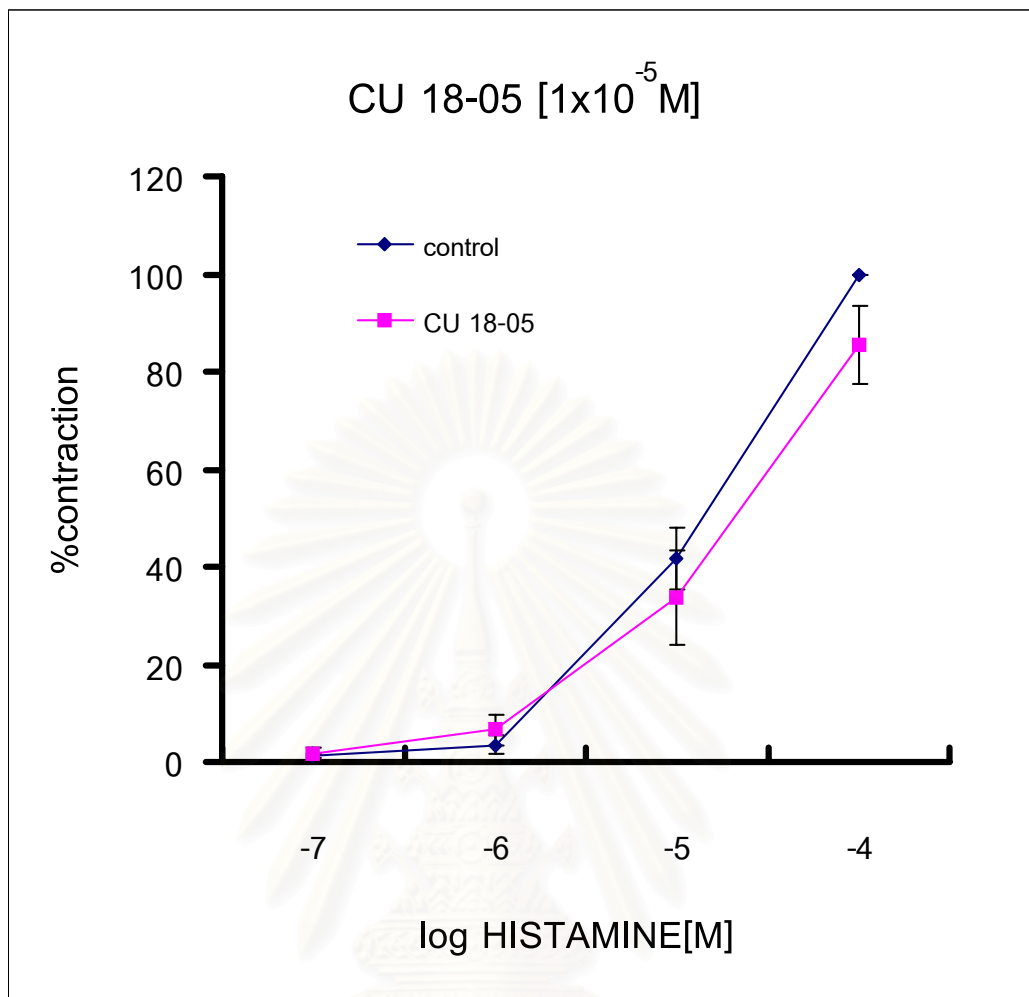


รูปที่ 22 แสดงผลของ CU 18-05 ($1.0 \times 10^{-5} \text{M}$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine แบบสะสมขนาดความเข้มข้น $A=10^{-7}$, $B=10^{-6}$, $C=10^{-5}$ และ $D=10^{-4}$ โมลาร์ [M]



รูปที่ 23 แสดงผลของ CU 18-05 ($2.5 \times 10^{-5} M$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากรังไข่สุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine แบบสะสมขนาดความเข้มข้น $A=10^{-7}$, $B=10^{-6}$, $C=10^{-5}$ และ $D=10^{-4}$ โมลาร์ [M]

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

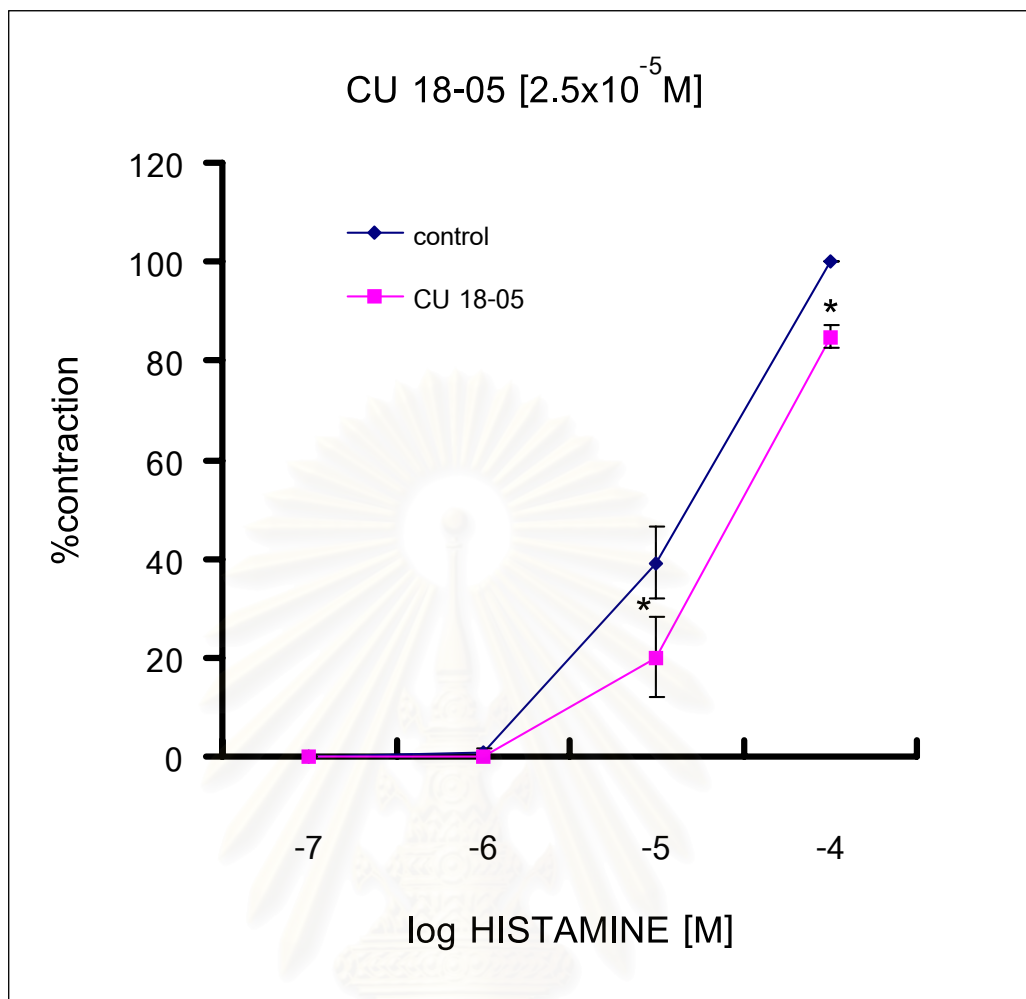


กราฟที่ 13 ผลของ CU 18-05 (1×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจาก

หัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine แบบสะสม (n=8)

กราฟแสดงค่า mean \pm S.E

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



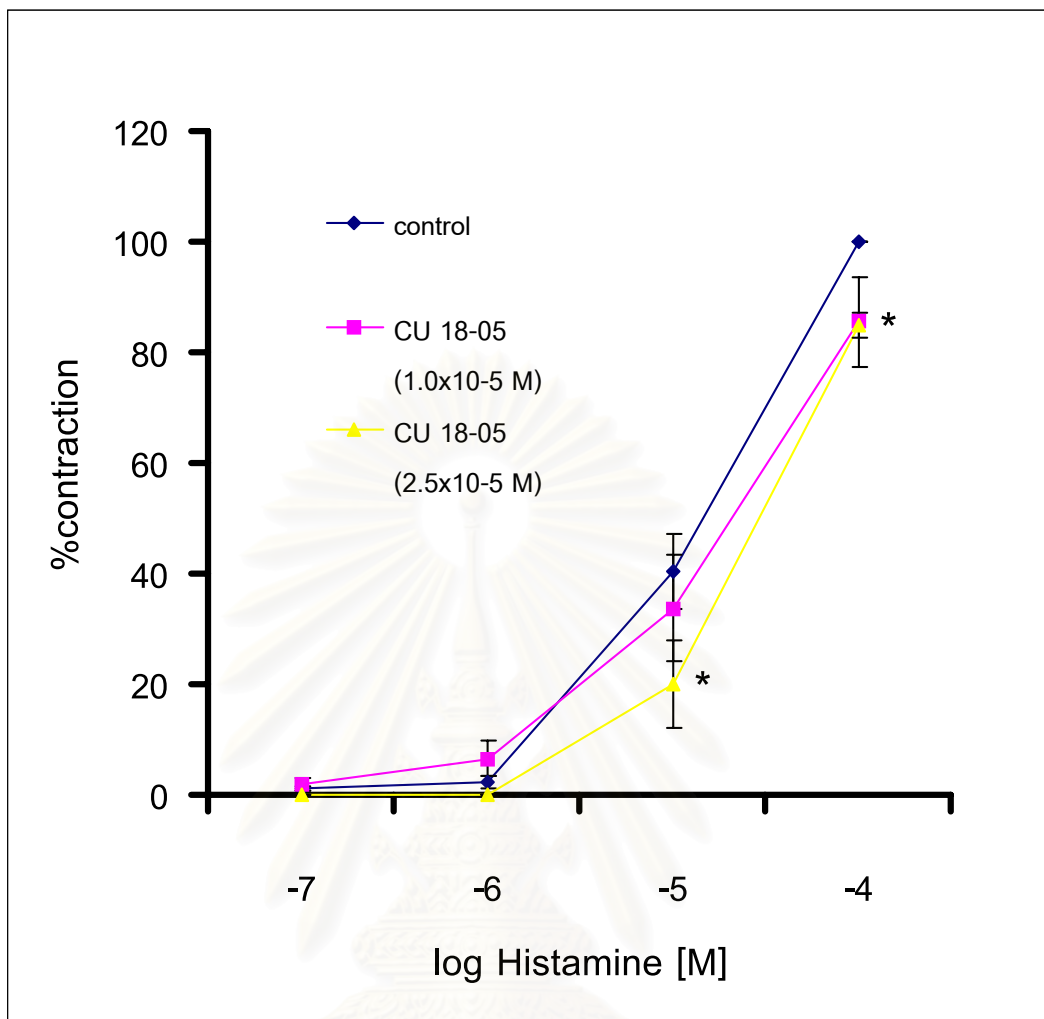
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กราฟที่ 14 ผลของ CU 18-05 (2.5×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจาก

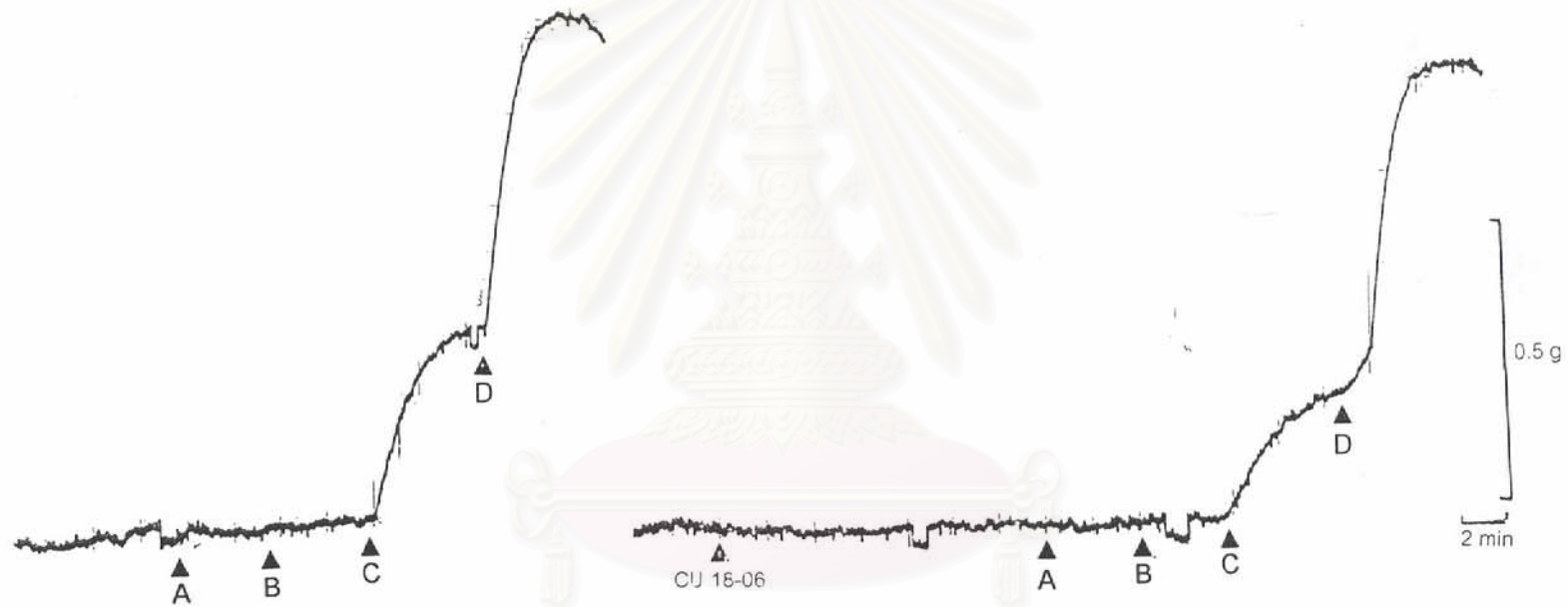
หัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine แบบสะสม (n=5)

กราฟแสดงค่า mean \pm S.E

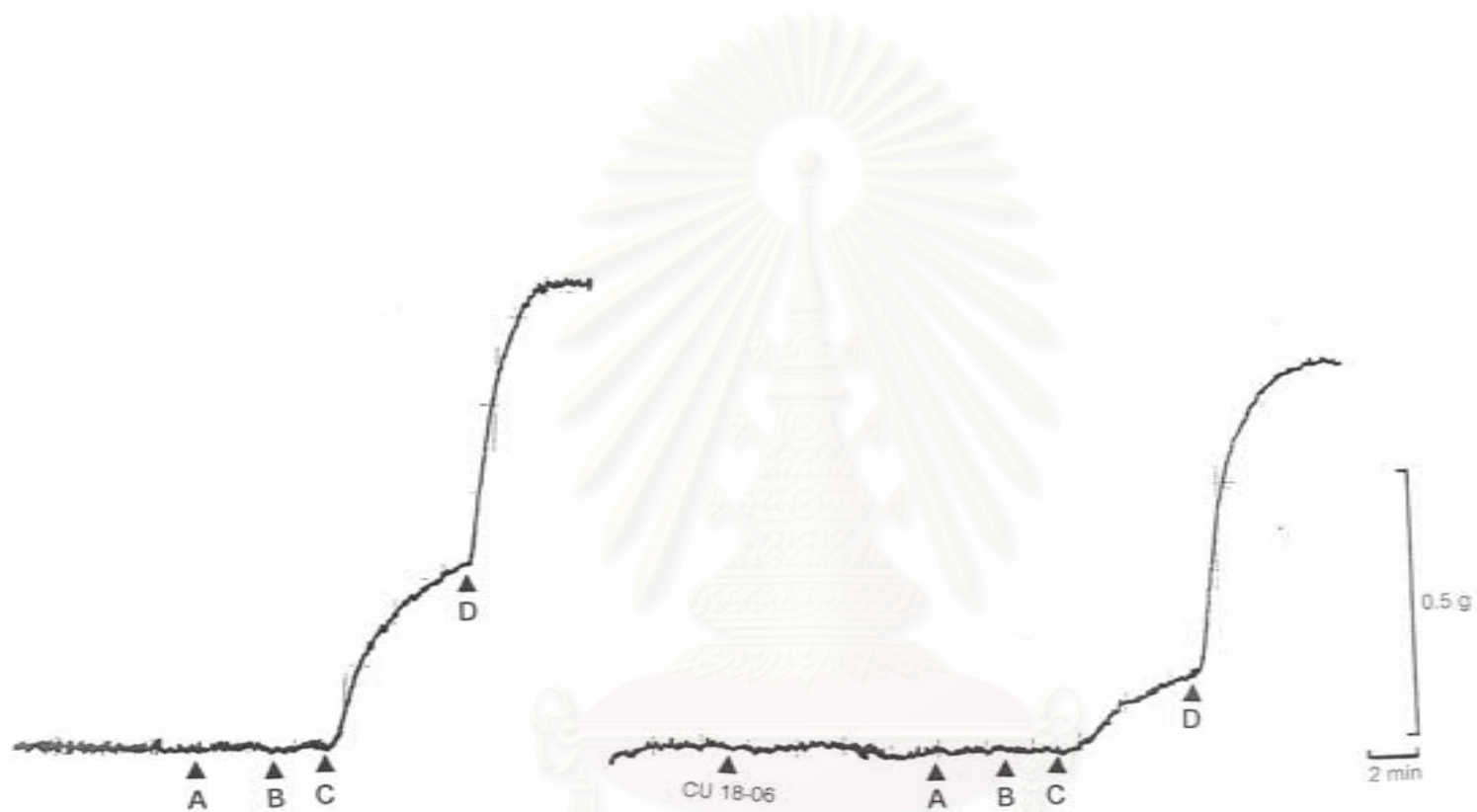
* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



กราฟที่ 15 ผลของ CU 18-05 ($1 \times 10^{-5} \text{ M}$ และ $2.5 \times 10^{-5} \text{ M}$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine แบบสะสม
 กราฟแสดงค่า mean \pm S.E
 * แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



รูปที่ 24 แสดงผลของ CU 18-06 ($1.0 \times 10^{-5} \text{M}$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine แบบสะสมขนาดความเข้มข้น $A=10^{-7}$, $B=10^{-6}$, $C=10^{-5}$ และ $D=10^{-4}$ โมลาร์ [M]



รูปที่ 25 แสดงผลของ CU 18-06 ($2.5 \times 10^{-6} M$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine แบบสะสมขนาดความเข้มข้น $A=10^{-7}$, $B=10^{-6}$, $C=10^{-5}$ และ $D=10^{-4}$ โมลาร์ [M]

สงวนลิขสิทธิ์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กระตุ้นจาก histamine โดยพบว่าผลในการลดลงของการหดตัวนี้จะแปรผันไปตามความเข้มข้นของ สาร CU 18-06 ที่เพิ่มขึ้นด้วย จะเห็นว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสาร CU 18-06 จาก 1×10^{-5} โมลาร์มาเป็น 2.5×10^{-5} โมลาร์ แล้วจะทำให้การลดการหดตัวของหลอดเลือดเมื่อถูกกระตุ้นด้วย histamine นั้นเพิ่มมากขึ้นด้วยตามขนาดของความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น

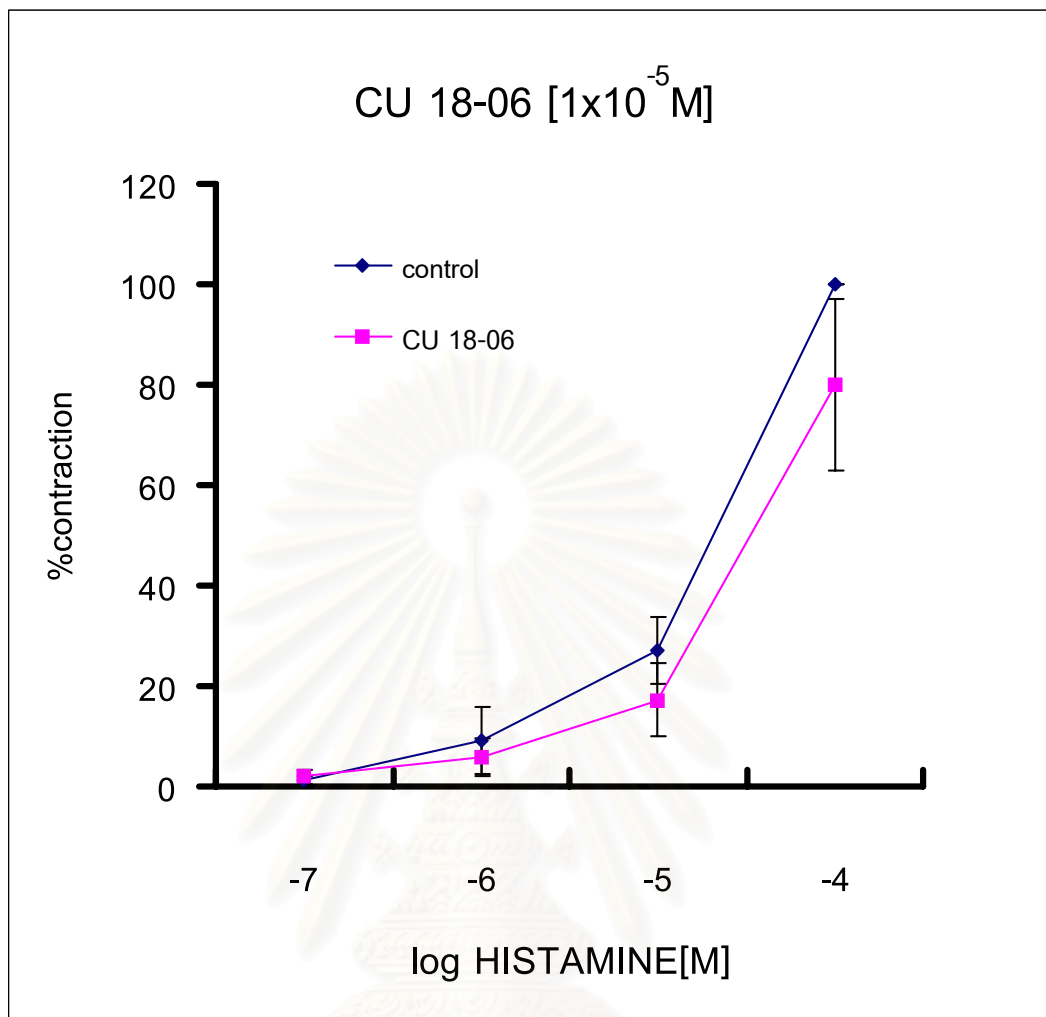
สาร CU 18-06 ที่ขนาดความเข้มข้น 1×10^{-5} โมลาร์ สามารถลดการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine โดยสามารถลดค่า maximum contraction ลงเหลือ $80.04 \pm 17.10\%$ ซึ่งมีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (กราฟที่ 16) และสาร CU 18-06 ที่ขนาดความเข้มข้น 2.5×10^{-5} โมลาร์ ก็สามารถลดการหดตัวของหลอดเลือดแดงที่หัวใจสุกรเมื่อกระตุ้นด้วย histamine โดยสามารถลดค่า maximum contraction ลงเหลือ $69.67 \pm 10.09\%$ ซึ่งมีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ได้เช่นกัน (กราฟที่ 17) ซึ่งจะเห็นว่าผลการลดการหดตัวนั้นแปรผันไปตามความเข้มข้น (กราฟที่ 18) และพบว่าสาร CU 18-06 สามารถลดการหดตัวเมื่อถูกกระตุ้นด้วย histamine ได้แบบ noncompetitive antagonism โดยสามารถคำนวณค่า drug parameter ตามวิธีของ Van Rossum (1963) ได้ค่า pD'_2 ของสาร CU 18-06 ที่ขนาดความเข้มข้น 1×10^{-5} โมลาร์ เท่ากับ 4.49 ± 0.5 และที่ขนาดความเข้มข้น 2.5×10^{-5} โมลาร์ เท่ากับ 4.15 ± 0.47

4. ผลของสารทดสอบ (CU 18-05 และ CU 18-06) เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วย $CaCl_2$ ในสารละลาย high K^+ depolarizing

4.1 ผลของสาร CU 18-05 ต่อการกระตุ้นการหดตัวด้วย $CaCl_2$ ในสารละลาย high K^+ depolarizing

เมื่อให้สาร $CaCl_2$ แบบสะสมที่ขนาดความเข้มข้น 0.5×10^{-4} , 1×10^{-4} , 2×10^{-4} , 4×10^{-4} และ 6×10^{-4} โมลาร์ ตามลำดับ พบว่าสามารถทำให้หลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกรหดตัวได้มากขึ้นตามขนาดของความเข้มข้นที่ให้เพิ่มเข้าไปจนกระทั่งสามารถเกิดการหดตัวได้สูงมากที่สุดเมื่อได้รับการกระตุ้นจาก $CaCl_2$ ที่ขนาดความเข้มข้น 6×10^{-4} โมลาร์เพิ่มเข้าไปแบบสะสม และจะคิดเป็น 100% contraction (maximum contraction) เช่น

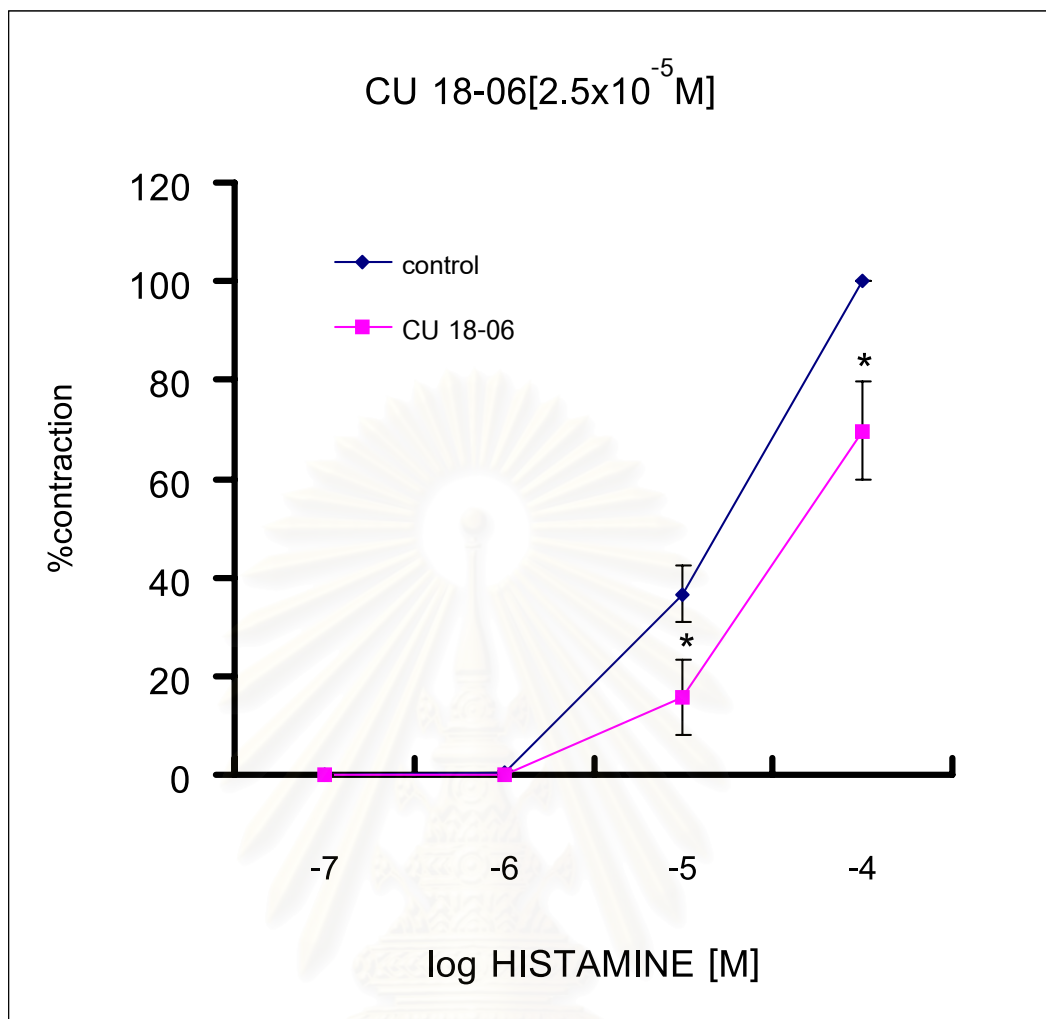
เดียวกับการกระตุ้นด้วย Ach ในหัวข้อที่ 1.1 และเมื่อนำค่าการหดตัวของกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมมาเปรียบเทียบกัน พบว่าในกลุ่มทดลองซึ่งได้ให้สาร CU 18-05 ที่ขนาดความเข้มข้น 2.0×10^{-5} โมลาร์ เข้าไปก่อน ที่จะได้รับการกระตุ้นด้วย $CaCl_2$ แบบสะสม นั้นพบว่า มีค่า maximum contraction และค่าการหดตัวที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วย



กราฟที่ 16 ผลของ CU 18-06 (1×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine แบบสะสม (n=8)

กราฟแสดงค่า mean \pm S.E

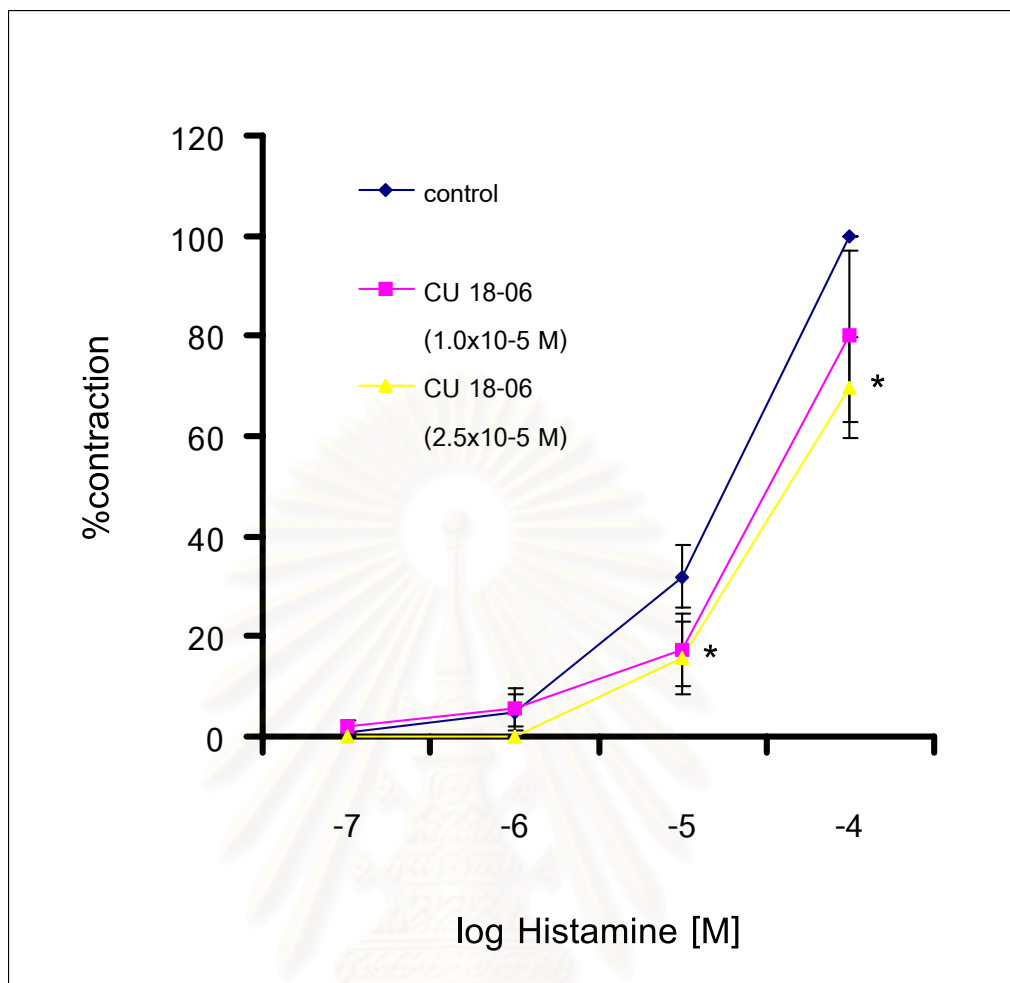
* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



กราฟที่ 17 ผลของ CU 18-06 (2.5×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจาก หัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine แบบสะสม (n=5)

กราฟแสดงค่า mean \pm S.E

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



กราฟที่ 18 ผลของ CU 18-06 ($1 \times 10^{-5} \text{ M}$ และ $2.5 \times 10^{-5} \text{ M}$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine แบบสะสม

กราฟแสดงค่า mean \pm S.E

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

CaCl₂ แบบสะสม ลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งได้รับการกระตุ้นด้วย CaCl₂ แบบสะสม แต่เพียงอย่างเดียว (รูปที่ 26)

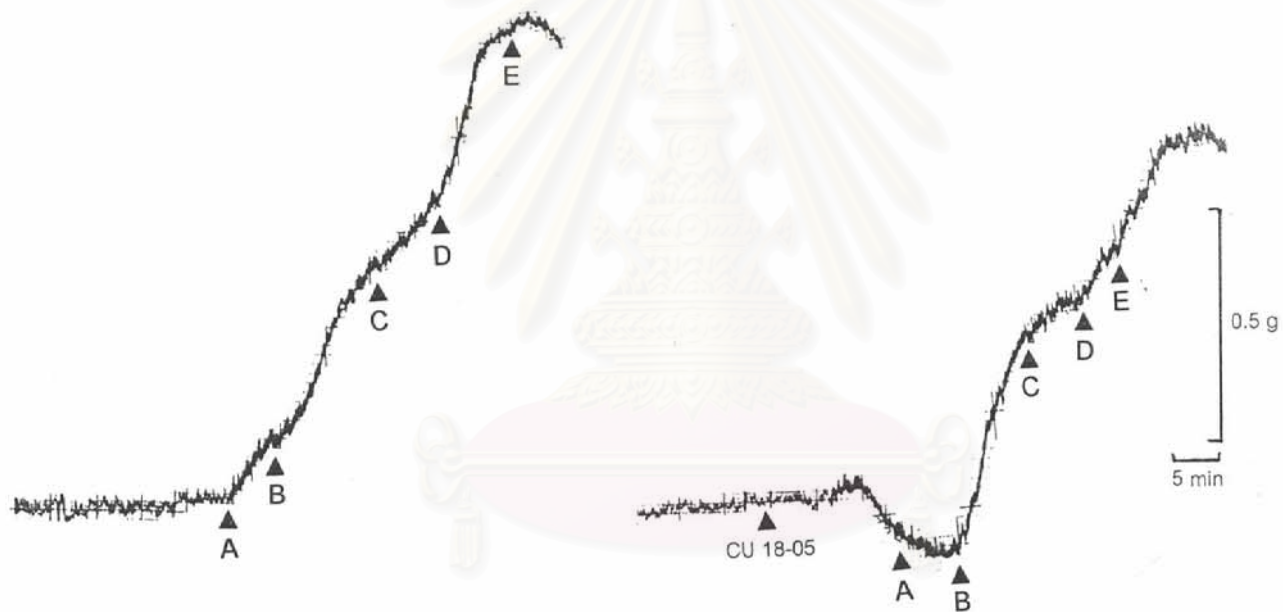
สาร CU 18-05 ที่ขนาดความเข้มข้น 2.0×10^{-5} โมลาร์ สามารถลดการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร CaCl₂ แบบสะสม โดยสามารถลดค่า maximum contraction ลงเหลือ $75.12 \pm 7.98\%$ ที่ขนาดความเข้มข้นของ CaCl₂ แบบสะสม เท่ากับ 6×10^{-4} โมลาร์ ซึ่งมีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (กราฟที่ 19) และที่ความเข้มข้นอื่นๆ ของ CaCl₂ แบบสะสม ได้แก่ ที่ขนาดความเข้มข้น 1×10^{-4} , 2×10^{-4} และ 4×10^{-4} โมลาร์ พบว่าสามารถลดการหดตัวของหลอดเลือดได้ ซึ่งมีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เช่นกัน (กราฟที่ 19)

4.2 ผลของสาร CU 18-06 ต่อการกระตุ้นการหดตัวด้วย CaCl₂ ในสารละลาย high K⁺ depolarizing

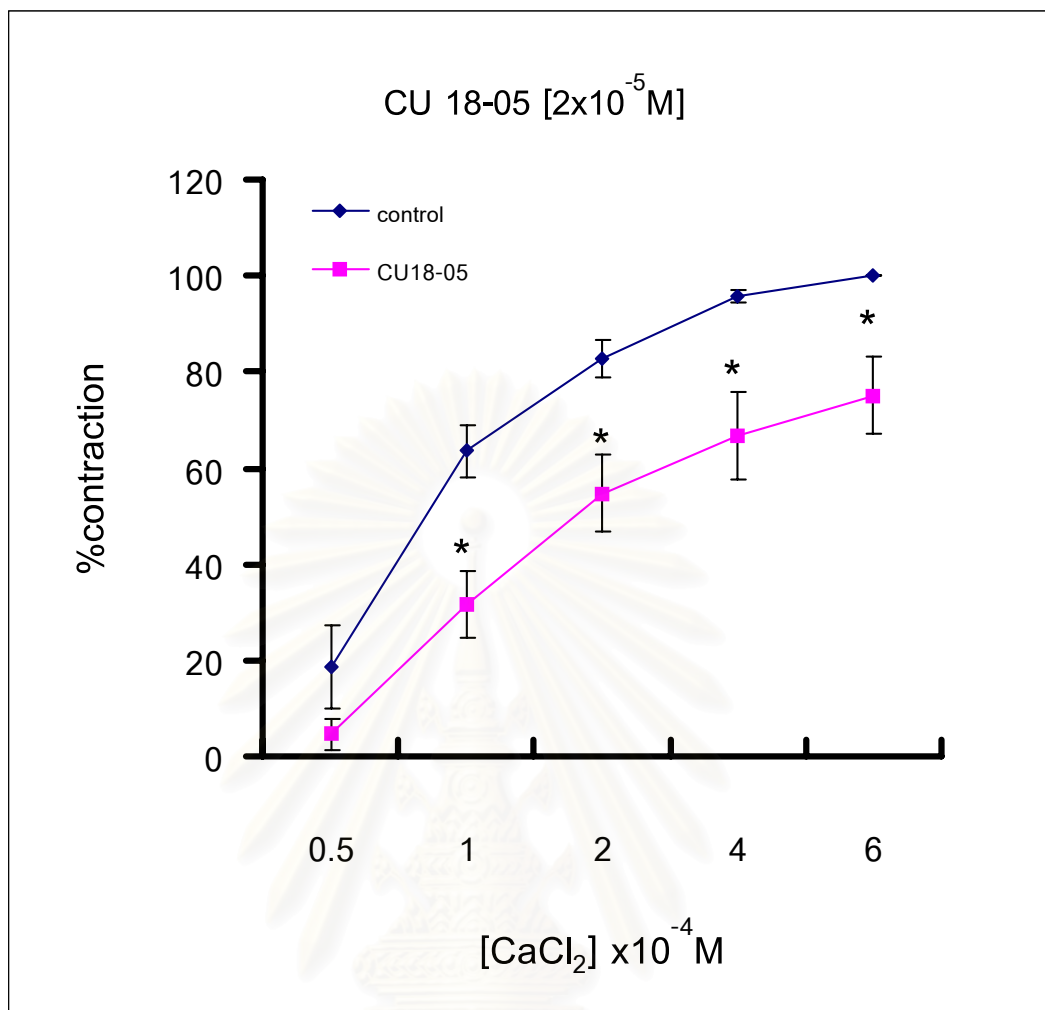
เมื่อให้สาร CaCl₂ เช่นเดียวกับหัวข้อที่ 4.1 และเมื่อนำค่าการหดตัวของกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมมาเปรียบเทียบกัน พบว่าในกลุ่มทดลองซึ่งได้ให้สาร CU 18-06 ที่ขนาดความเข้มข้น 2.0×10^{-5} โมลาร์ เข้าไปก่อนที่จะได้รับการกระตุ้นด้วย CaCl₂ แบบสะสม นั้นพบว่า มีค่า maximum contraction และค่าการหดตัวที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วย CaCl₂ แบบสะสม ลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งได้รับการกระตุ้นด้วย CaCl₂ แบบสะสม แต่เพียงอย่างเดียว (รูปที่ 27)

สาร CU 18-06 ที่ขนาดความเข้มข้น 2.0×10^{-5} โมลาร์ สามารถลดการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร CaCl₂ แบบสะสม โดยสามารถลดค่า maximum contraction ลงเหลือ $62.53 \pm 4.27\%$ ที่ขนาดความเข้มข้นของ CaCl₂ แบบสะสม เท่ากับ 6×10^{-4} โมลาร์ ซึ่งมีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (กราฟที่ 20) และที่ความเข้มข้นอื่นๆ ของ CaCl₂ แบบสะสม ได้แก่ ที่ขนาดความเข้มข้น 0.5×10^{-4} , 2×10^{-4} และ 4×10^{-4} โมลาร์ ก็พบว่าสามารถลดการหดตัวของหลอดเลือดได้ ซึ่งมีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เช่นกัน (กราฟที่ 20)

5. ผลของสารทดสอบ (CU 18-05 และ CU 18-06) เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วย BaCl₂ ในสารละลาย Ca²⁺, HCO₃⁻- free Krebs Henseleit



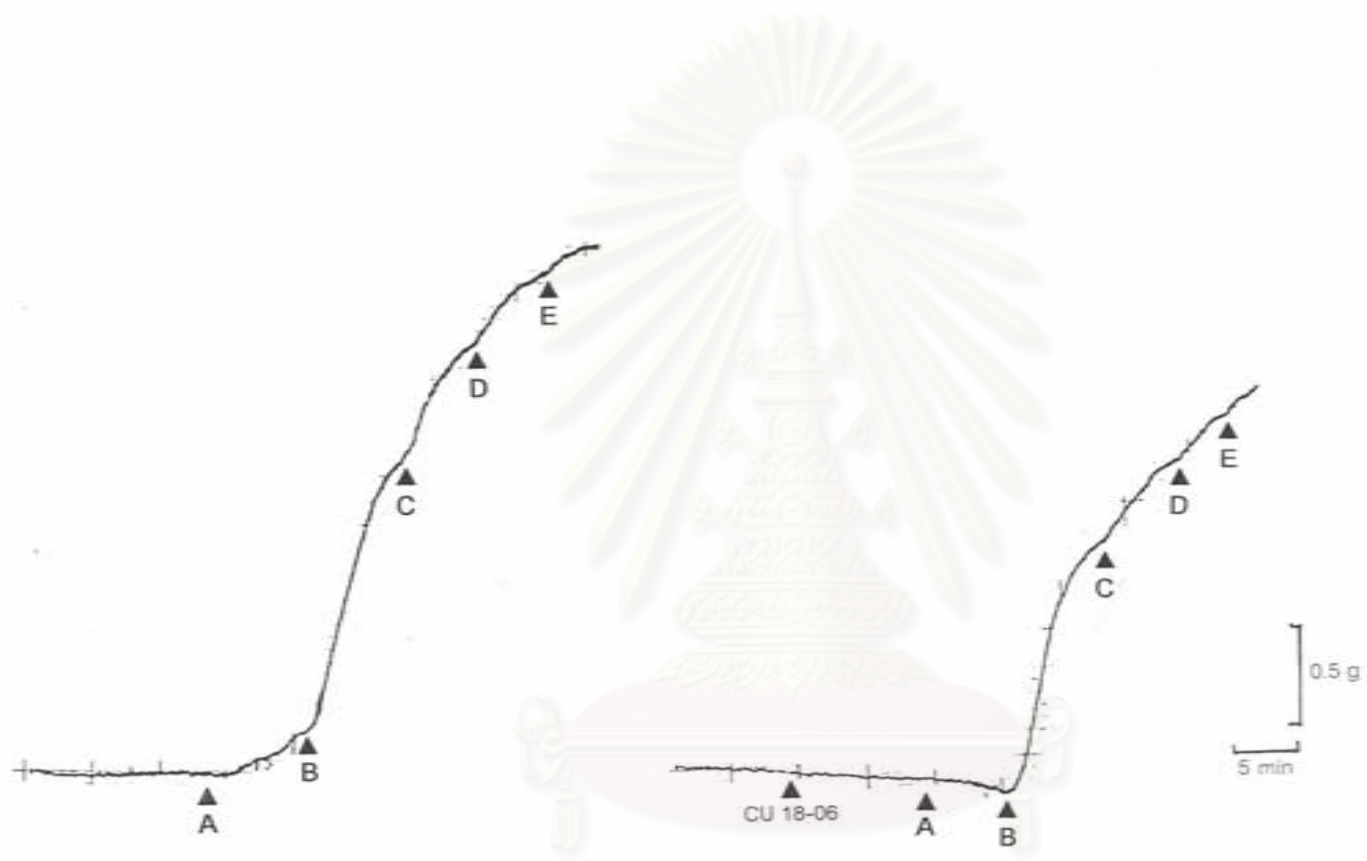
รูปที่ 26 แสดงผลของ CU 18-05 ($2.0 \times 10^{-5} \text{ M}$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบสะสมขนาดความเข้มข้น $A=0.5 \times 10^{-4}$, $B=1 \times 10^{-4}$, $C=2 \times 10^{-4}$, $D=4 \times 10^{-4}$ และ $E=6 \times 10^{-4}$ โมลาร์ [M] ในสารละลาย high K^+ depolarizing



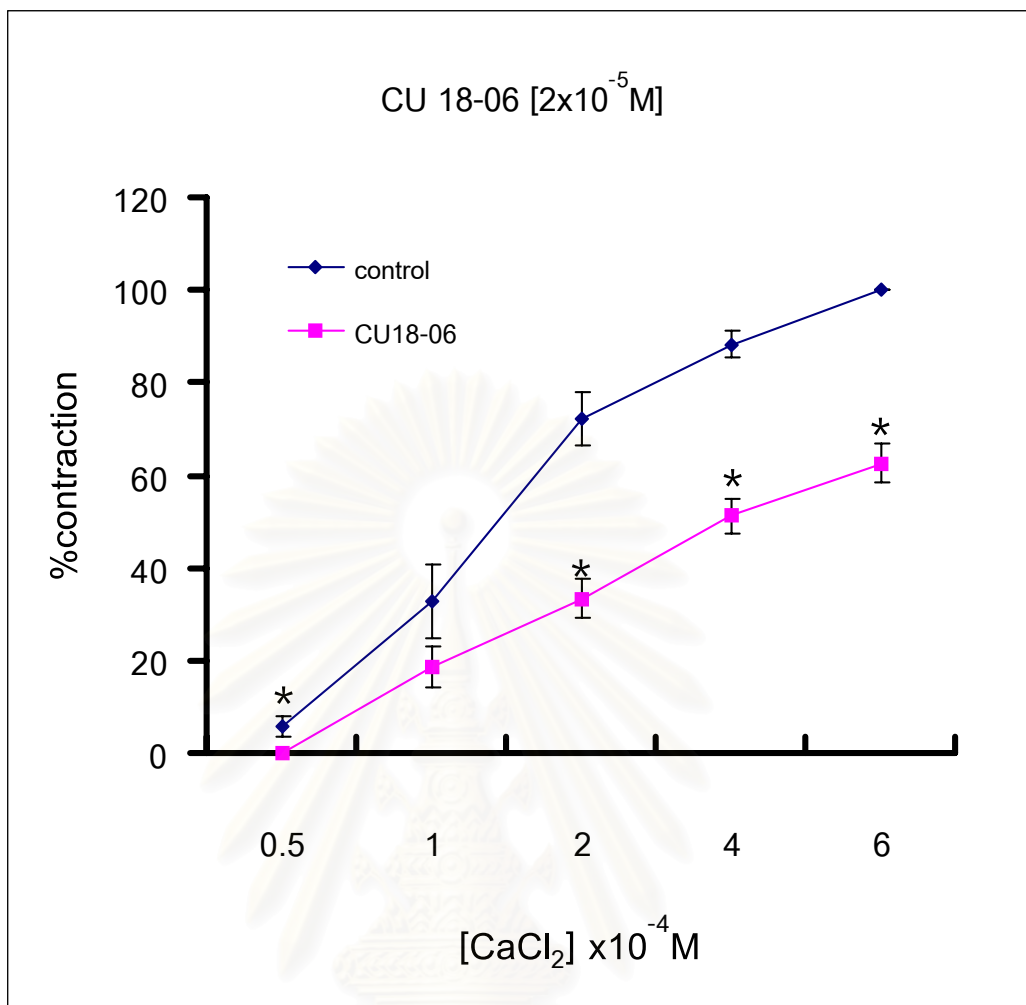
กราฟที่ 19 ผลของ CU 18-05 (2.0×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบสะสม ในสารละลาย high K^+ depolarizing (n=8)

กราฟแสดงค่า mean \pm S.E

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



รูปที่ 27 แสดงผลของ CU 18-06 ($2.0 \times 10^{-5} M$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย $CaCl_2$ แบบสะสมขนาดความเข้มข้น $A=0.5 \times 10^{-4}$, $B=1 \times 10^{-4}$, $C=2 \times 10^{-4}$, $D=4 \times 10^{-4}$ และ $E=6 \times 10^{-4}$ โมลาร์ [M] ในสารละลาย high K^+ depolarizing



กราฟที่ 20 ผลของ CU 18-06 (2.0×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบสะสม ในสารละลาย high K^+ depolarizing (n=8)

กราฟแสดงค่า mean \pm S.E

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

5.1 ผลของสาร CU 18-05 ต่อการกระตุ้นการหดตัวด้วย BaCl_2 ในสารละลาย Ca^{2+} , HCO_3^- -free Krebs Henseleit

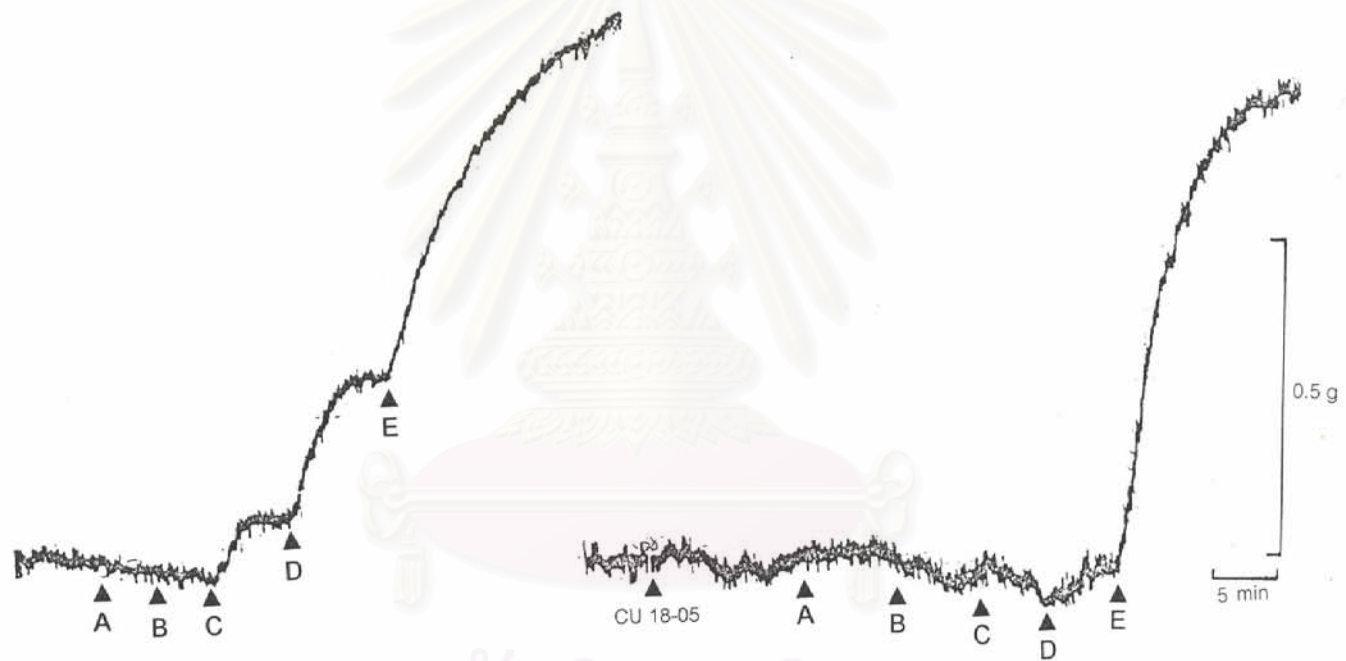
เมื่อให้สาร BaCl_2 แบบสะสม ที่ขนาดความเข้มข้นตั้งแต่ 1×10^{-4} , 2×10^{-4} , 4×10^{-4} , 6×10^{-4} และ 8×10^{-4} โมลาร์ ตามลำดับ พบว่า สามารถทำให้หลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกรหดตัวได้มากขึ้นตามขนาดของความเข้มข้นที่ให้เพิ่มเข้าไป จนกระทั่งสามารถเกิดการหดตัวได้สูงมากที่สุดเมื่อได้รับการกระตุ้นจาก BaCl_2 ที่ขนาดความเข้มข้น 8×10^{-4} โมลาร์เพิ่มเข้าไปแบบสะสม และจะคิดเป็น 100% contraction (maximum contraction) เช่นเดียวกับการกระตุ้นด้วย Ach ในหัวข้อที่ 1.1 และเมื่อนำค่าการหดตัวของกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมมาเปรียบเทียบกัน พบว่าในกลุ่มทดลองซึ่งได้ให้สาร CU 18-05 ที่ขนาดความเข้มข้น 2.0×10^{-5} โมลาร์ เข้าไปก่อนที่จะได้รับการกระตุ้นด้วย BaCl_2 แบบสะสม นั้นพบว่า มีค่า maximum contraction และค่าการหดตัวที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วย BaCl_2 แบบสะสม ลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งได้รับการกระตุ้นด้วย BaCl_2 แบบสะสม แต่เพียงอย่างเดียว (รูปที่ 28)

สาร CU 18-05 ที่ขนาดความเข้มข้น 2.0×10^{-5} โมลาร์ สามารถลดการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร BaCl_2 แบบสะสม โดยสามารถลดค่า maximum contraction ลงเหลือ $78.39 \pm 7.10\%$ ที่ขนาดความเข้มข้นของ BaCl_2 แบบสะสม เท่ากับ 8×10^{-4} โมลาร์ ซึ่งมีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (กราฟที่ 21) และที่ความเข้มข้นอื่นๆ ของ BaCl_2 แบบสะสม ได้แก่ ที่ขนาดความเข้มข้น 4×10^{-4} และ 6×10^{-4} โมลาร์ ก็พบว่าสามารถลดการหดตัวของหลอดเลือดได้ ซึ่งมีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เช่นกัน (กราฟที่ 21)

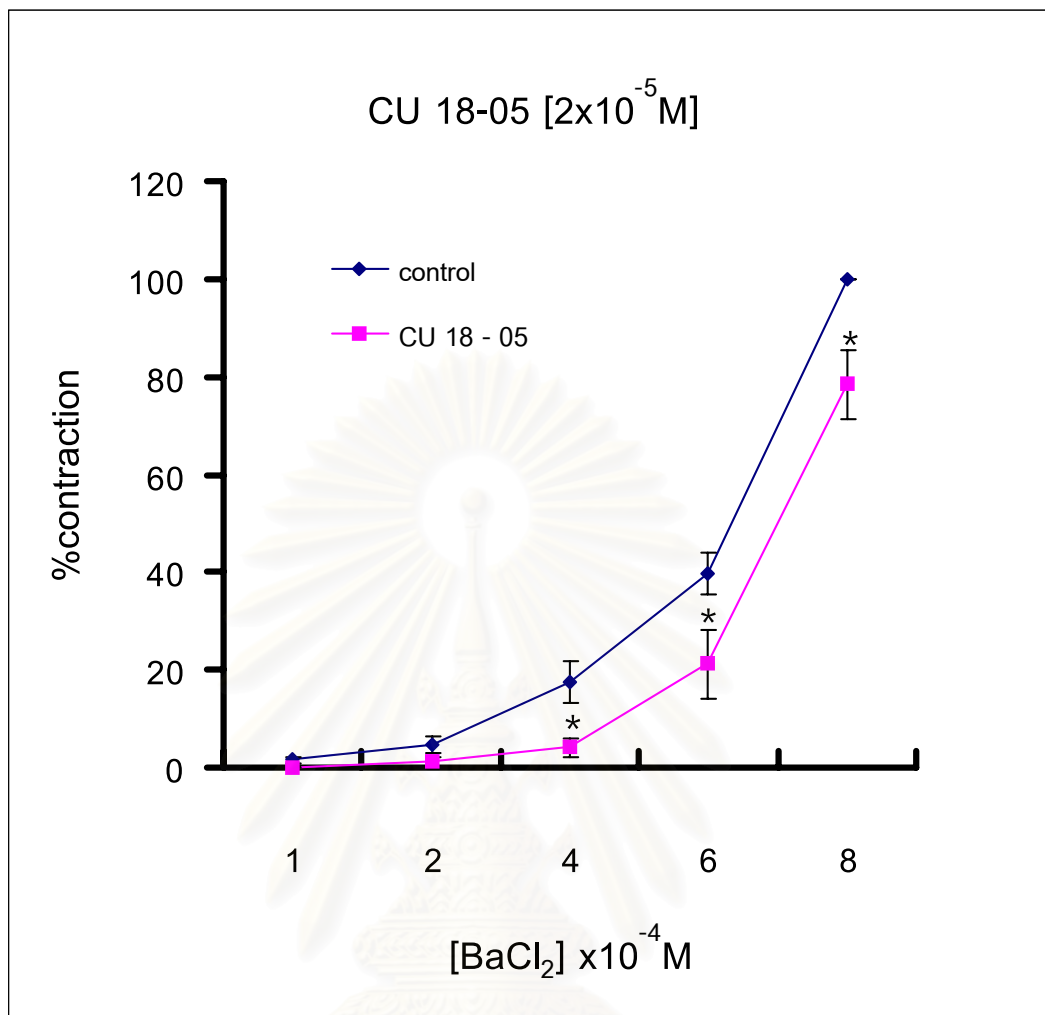
5.2 ผลของสาร CU 18-06 ต่อการกระตุ้นการหดตัวด้วย BaCl_2 ในสารละลาย Ca^{2+} , HCO_3^- -free Krebs Henseleit

เมื่อให้สาร BaCl_2 เช่นเดียวกับหัวข้อที่ 5.1 และเมื่อนำค่าการหดตัวของกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมมาเปรียบเทียบกัน พบว่า ในกลุ่มทดลองซึ่งได้ให้สาร CU 18-06 ที่ขนาดความเข้มข้น 2.0×10^{-5} โมลาร์ เข้าไปก่อนที่จะได้รับการกระตุ้นด้วย BaCl_2 แบบสะสม นั้นพบว่า มีค่า maximum contraction และค่าการหดตัวที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วย BaCl_2 แบบสะสม ลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งได้รับการกระตุ้นด้วย BaCl_2 แบบสะสม แต่เพียงอย่างเดียว (รูปที่ 29)

สาร CU 18-06 ที่ขนาดความเข้มข้น 2.0×10^{-5} โมลาร์ สามารถลดการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร BaCl_2 แบบสะสม โดยสามารถลดค่า maximum contraction ลงเหลือ $57.79 \pm 13.97\%$ ที่ขนาดความเข้มข้นของ BaCl_2 แบบสะสม เท่ากับ 8×10^{-4} โมลาร์ ซึ่งมี



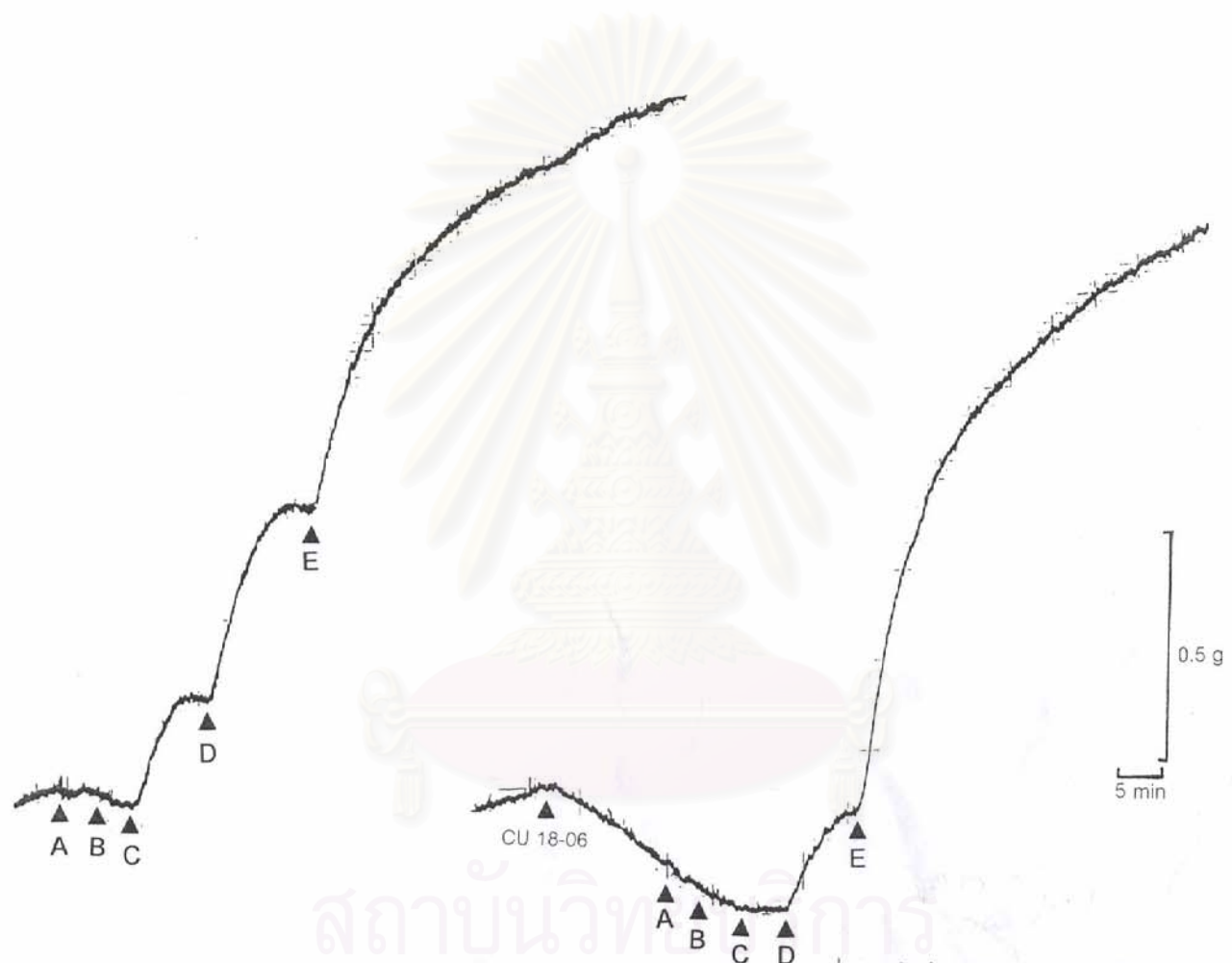
รูปที่ 28 แสดงผลของ CU 18-05 ($2.0 \times 10^{-5} M$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย $BaCl_2$ แบบสะสมขนาดความเข้มข้น $A=1 \times 10^{-4}$, $B=2 \times 10^{-4}$, $C=4 \times 10^{-4}$, $D=6 \times 10^{-4}$ และ $E=8 \times 10^{-4}$ โมลาร์ [M] ในสารละลาย Ca^{2+} , HCO_3^- -free Krebs Henseleit



กราฟที่ 21 ผลของ CU 18-05 (2.0×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจาก หัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย BaCl_2 แบบสะสม ในสารละลาย Ca^{2+} , HCO_3^- free Krebs Henseleit (n=8)

กราฟแสดงค่า mean \pm S.E

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



รูปที่ 29 แสดงผลของ CU 18-06 ($2.0 \times 10^{-5} M$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย $BaCl_2$ แบบสะสมขนาดความเข้มข้น $A=1 \times 10^{-4}$, $B=2 \times 10^{-4}$, $C=4 \times 10^{-4}$, $D=6 \times 10^{-4}$ และ $E=8 \times 10^{-4}$ โมลาร์ [M] ในสารละลาย Ca^{2+} , HCO_3^- -free Krebs Henseleit

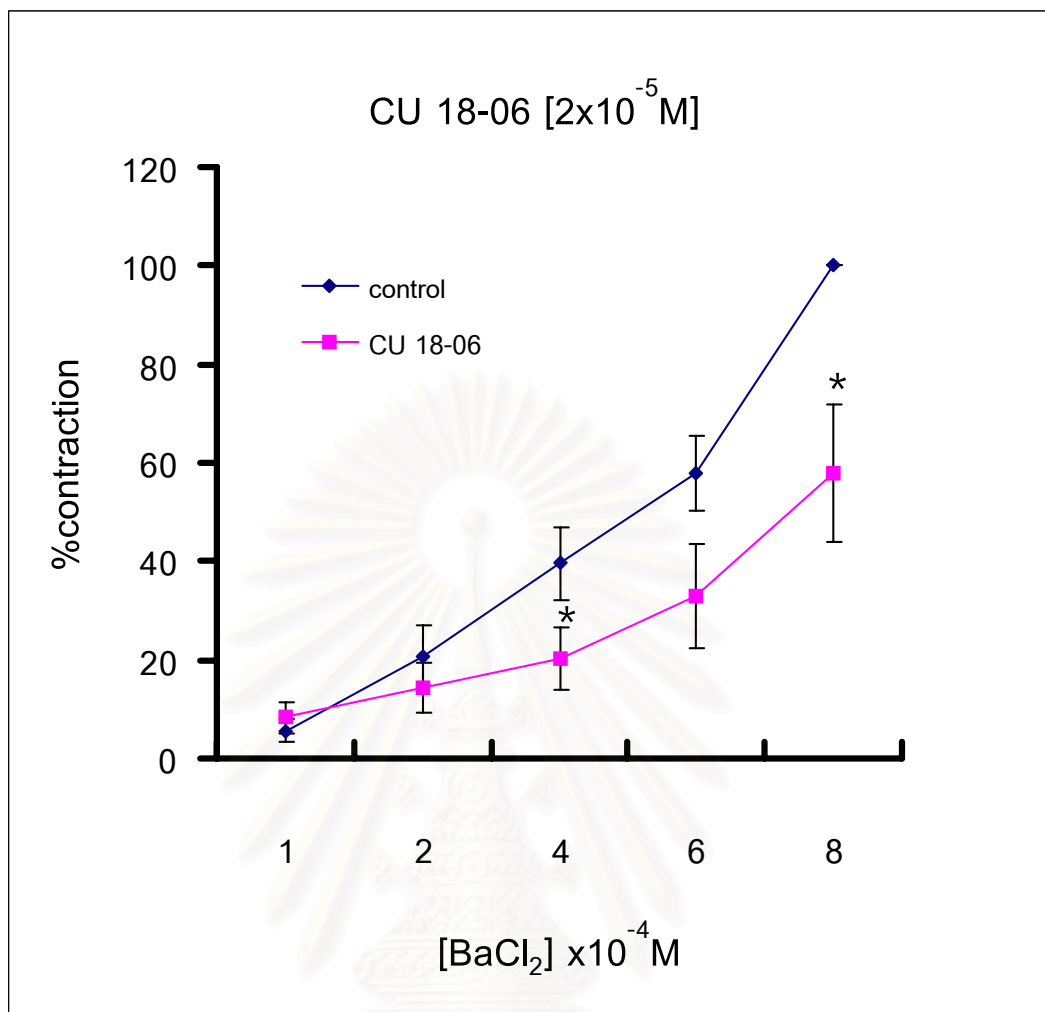
ความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($p < 0.05$) (กราฟที่ 22) และที่ขนาดความเข้มข้นของ BaCl₂แบบสะสม เท่ากับ 4×10^{-4} โมลาร์ ก็พบว่าสามารถลดการหดตัวของหลอดเลือดได้ ซึ่งมีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เช่นกัน (กราฟที่ 22)

6.ผลของสารทดสอบ (CU 763-15-13, CU 18-05 และ CU 18-06) เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วย histamine ในสารละลาย Ca²⁺ free Krebs Henseleit

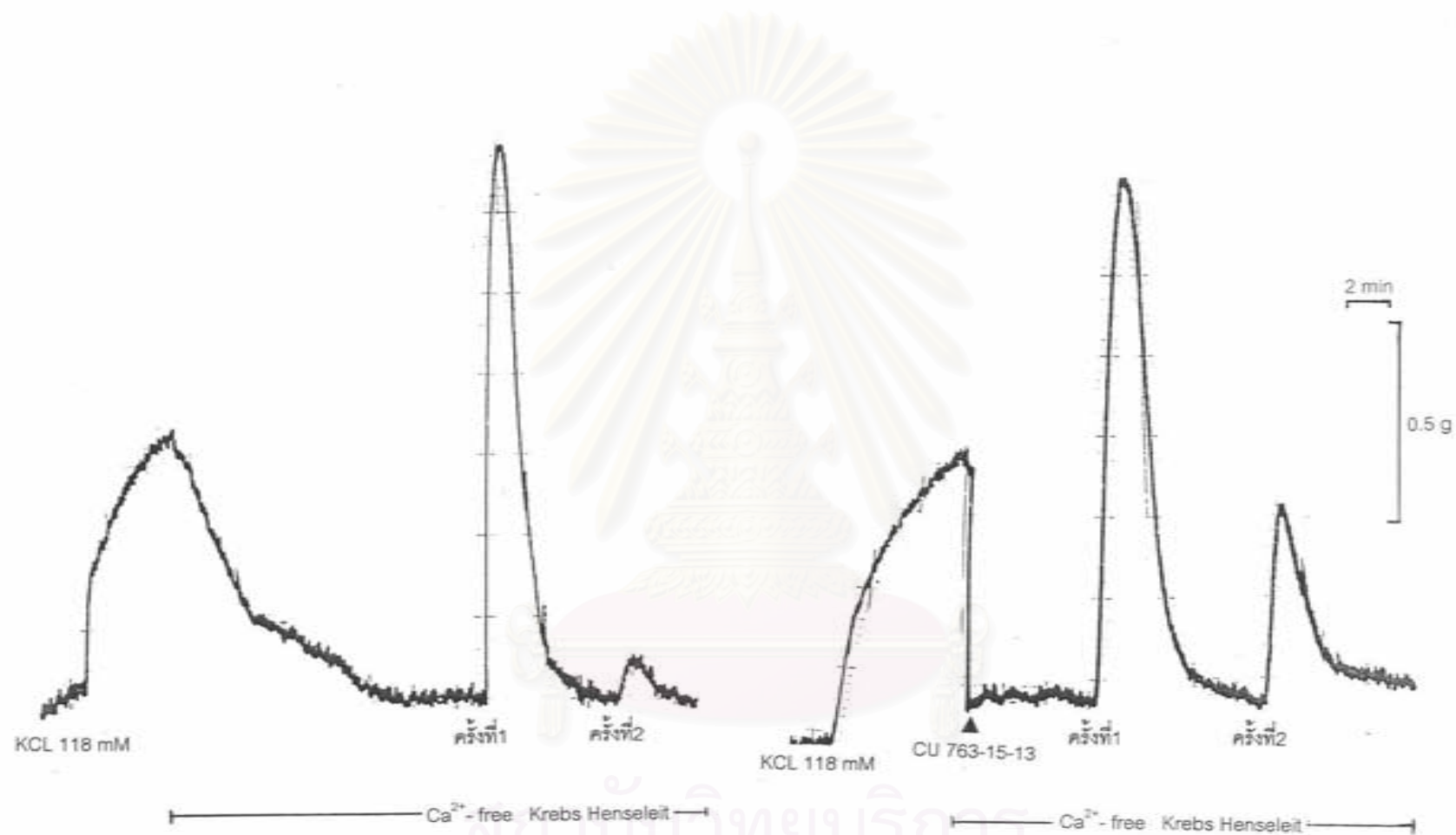
6.1 ผลของสาร CU 763-15-13 ต่อการกระตุ้นการหดตัวด้วย histamine ครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ในสารละลาย Ca²⁺ free Krebs Henseleit

เมื่อให้สารละลาย KCl ที่ขนาดความเข้มข้น 1.18×10^{-1} โมลาร์ ในสารละลาย Krebs Henseleit ทั้งในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง พบว่าหลอดเลือดสามารถเกิดการหดตัวได้ จนกระทั่งเกิดการหดตัวที่คงที่ จากนั้นเปลี่ยนสารละลายมาเป็น Ca²⁺ free Krebs Henseleit แล้ว incubate จนความตึงคงที่ จึงเริ่มให้การกระตุ้นด้วย histamine ที่ขนาดความเข้มข้น 0.5×10^{-4} โมลาร์ ในครั้งที่ 1 พบว่าสามารถเกิดการหดตัวได้ (รูปที่ 30) เมื่อหลอดเลือดเริ่มคลายตัวลง ก็ล้างด้วยด้วยสารละลาย Ca²⁺ free Krebs Henseleit เมื่อได้ความตึงคงที่อีกครั้งจึงให้การกระตุ้นด้วย histamine ที่ขนาดความเข้มข้น 0.5×10^{-4} โมลาร์ ในครั้งที่ 2 พบว่าสามารถเกิดการหดตัวได้น้อยมากเมื่อเทียบกับการกระตุ้นด้วย histamine ในครั้งที่ 1 (รูปที่ 30) แสดงว่า เมื่อให้การกระตุ้นในครั้งที่ 1 แล้วทำให้มีปริมาณ Ca²⁺ ใน SR เหลืออยู่น้อยลงจนทำให้การกระตุ้นในครั้งที่ 2 เกิดการหดตัวได้น้อยกว่าในครั้งที่ 1 และเมื่อเปรียบเทียบค่าการหดตัวระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง พบว่าการกระตุ้นด้วย histamine ในครั้งที่ 1 ของกลุ่มควบคุม มีค่าการหดตัวสูงสุด (maximum contraction) โดยจะคิดเป็น 100% contraction และในกลุ่มทดลองที่ได้รับสาร CU 763-15-13 ที่ขนาดความเข้มข้น 3.0×10^{-5} โมลาร์ เข้าไปก่อนประมาณ 10 นาทีที่จะได้รับการกระตุ้นด้วย histamine นั้น พบว่าในการกระตุ้นด้วย histamine ในครั้งที่ 1 สามารถทำให้เกิดการหดตัวได้ลดลงเมื่อเทียบกับการกระตุ้น histamine ในครั้งที่ 1 ของกลุ่มควบคุม ซึ่งจะแตกต่างจากการกระตุ้น histamine ในครั้งที่ 2 ที่สามารถเกิดการหดตัวได้สูงขึ้น เมื่อเทียบกับการกระตุ้น histamine ในครั้งที่ 2 ของกลุ่มควบคุม (รูปที่ 30)

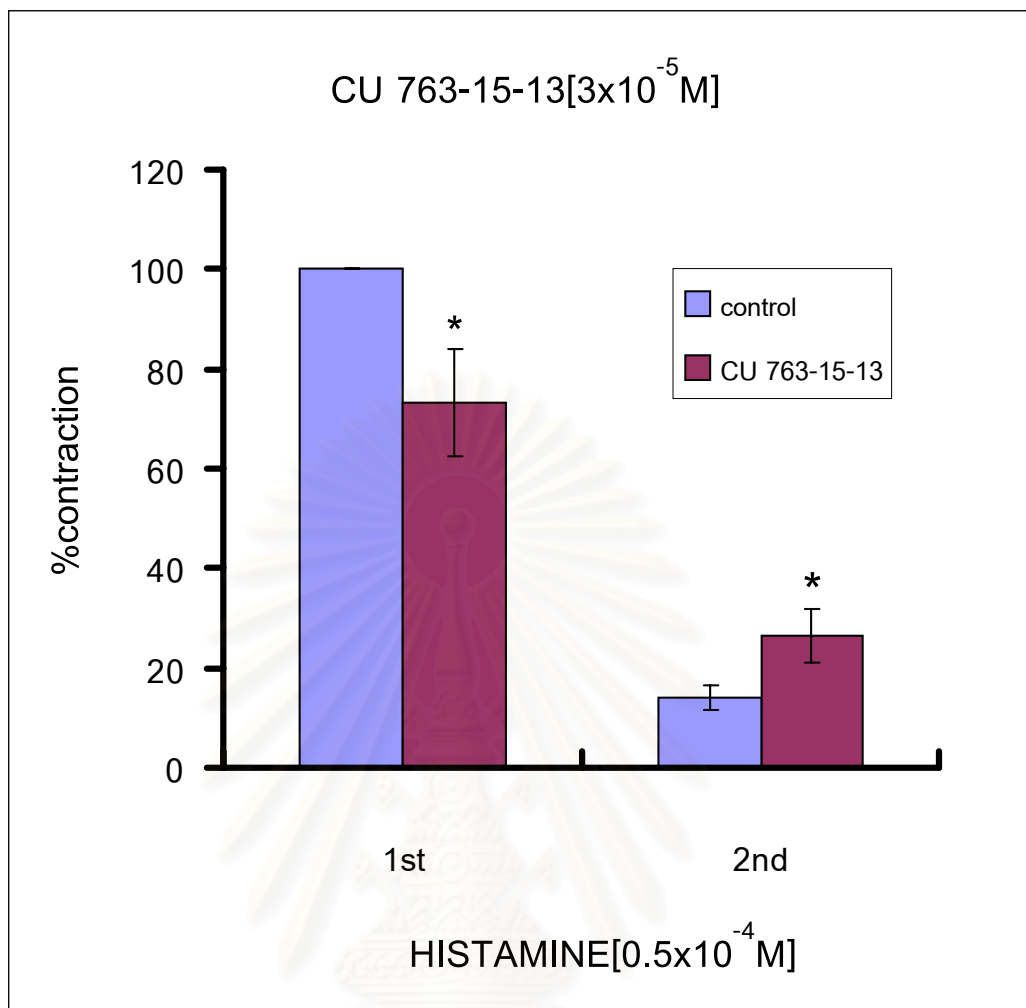
จากผลดังกล่าว แสดงว่าสาร CU 763-15-13 ที่ขนาดความเข้มข้น 3.0×10^{-5} โมลาร์ นั้นมีผลในการลดการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine ที่ขนาดความเข้มข้น 0.5×10^{-4} โมลาร์ ในครั้งที่ 1 ลงเหลือ $73.24 \pm 10.6\%$ ซึ่งมีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (กราฟที่ 23) นั้นส่วนในการกระตุ้นด้วย



กราฟที่ 22 ผลของ CU 18-06 (2.0×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจาก หัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย BaCl₂ แบบสะสม ในสารละลาย Ca²⁺, HCO₃⁻ free Krebs Henseleit (n=8)
 กราฟแสดงค่า mean ± S.E
 * แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)



รูปที่ 30 แสดงผลของ CU 763-15-13 ($3.0 \times 10^{-5} \text{ M}$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine ขนาดความเข้มข้น ($0.5 \times 10^{-4} \text{ M}$) ในครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ในสารละลาย Ca^{2+} -free Krebs Henseleit



กราฟที่ 23 ผลของ CU 763-15-13 (3.0×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine ในครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ในสารละลาย Ca^{2+} - free Krebs Henseleit (n=10)

กราฟแสดงค่า mean \pm S.E

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

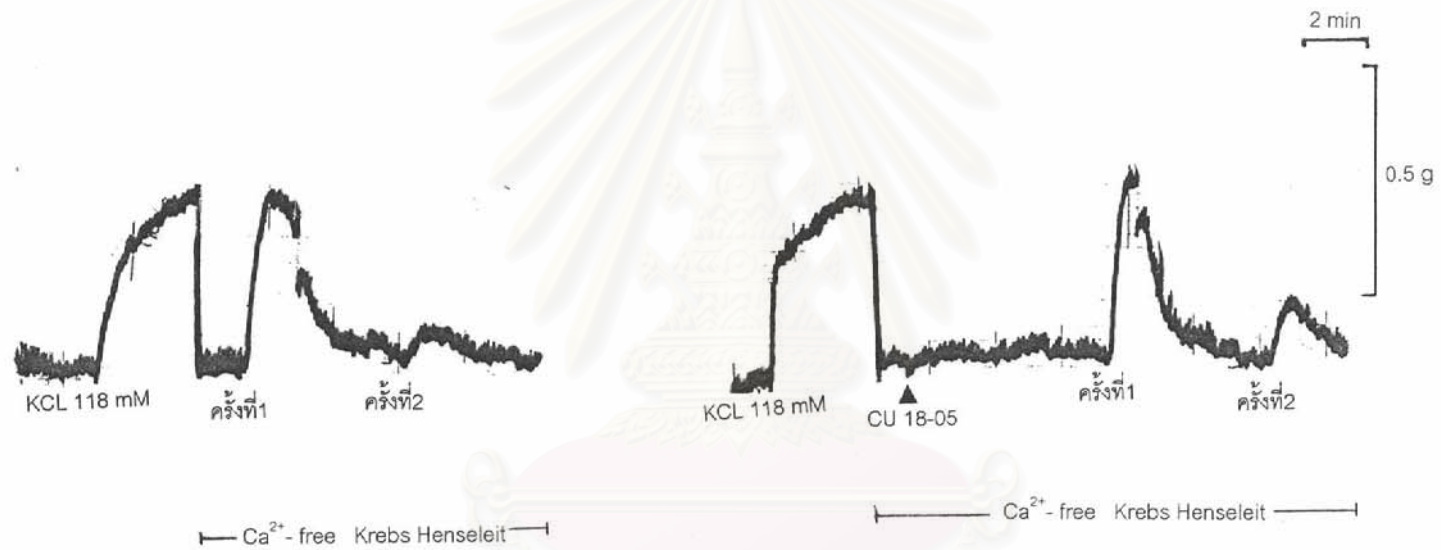
histamine ที่ขนาดความเข้มข้น 0.5×10^{-4} โมลาร์ ในครั้งที่ 2 นั้นพบว่าสาร CU 763-15-13 ที่ขนาดความเข้มข้น 3.0×10^{-5} โมลาร์ มีผลในการเพิ่มการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกรได้มากขึ้นเมื่อเทียบกับการกระตุ้นในครั้งที่ 2 ของกลุ่มควบคุมจาก $14.01 \pm 2.43\%$ มาเป็น $26.51 \pm 5.53\%$ ซึ่งพบว่ามีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (กราฟที่ 23)

6.2 ผลของสาร CU 18-05 ต่อการกระตุ้นการหดตัวด้วย histamine ครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ในสารละลาย Ca^{2+} free Krebs Henseleit

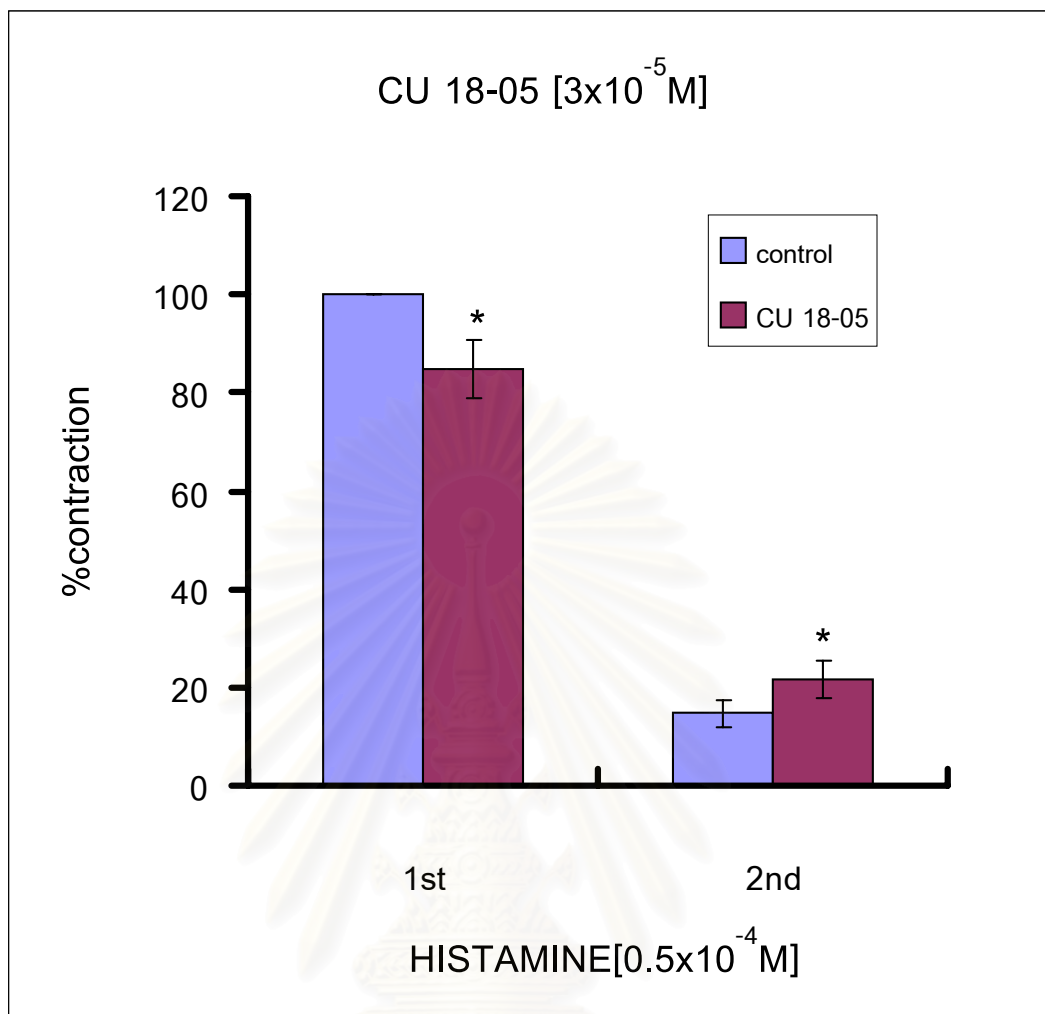
เมื่อให้สารกระตุ้นตามวิธีการเดียวกับหัวข้อที่ 6.1 พบว่าหลอดเลือดสามารถเกิดการหดตัวได้เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วย histamine ที่ขนาดความเข้มข้น 0.5×10^{-4} โมลาร์ ในครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 เช่นเดียวกับผลของ CU 763-15-13 (รูปที่ 31) แสดงว่า สาร CU 18-05 ที่ขนาดความเข้มข้น 3.0×10^{-5} โมลาร์ นั้นมีผลในการลดการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกรเมื่อกระตุ้นด้วย histamine ที่ขนาดความเข้มข้น 0.5×10^{-4} โมลาร์ ในครั้งที่ 1 ลงเหลือ $84.83 \pm 5.95\%$ ซึ่งมีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (กราฟที่ 24) และในการกระตุ้นด้วย histamine ที่ขนาดความเข้มข้น 0.5×10^{-4} โมลาร์ ในครั้งที่ 2 นั้นพบว่าสาร CU 18-05 ที่ขนาดความเข้มข้น 3.0×10^{-5} โมลาร์ มีผลในการเพิ่มการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกรได้มากขึ้นเมื่อเทียบกับการกระตุ้นในครั้งที่ 2 ของกลุ่มควบคุมจาก $14.72 \pm 2.8\%$ มาเป็น $21.64 \pm 3.99\%$ ซึ่งพบว่ามีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (กราฟที่ 24)

6.3 ผลของสาร CU 18-06 ต่อการกระตุ้นการหดตัวด้วย histamine ครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ในสารละลาย Ca^{2+} free Krebs Henseleit

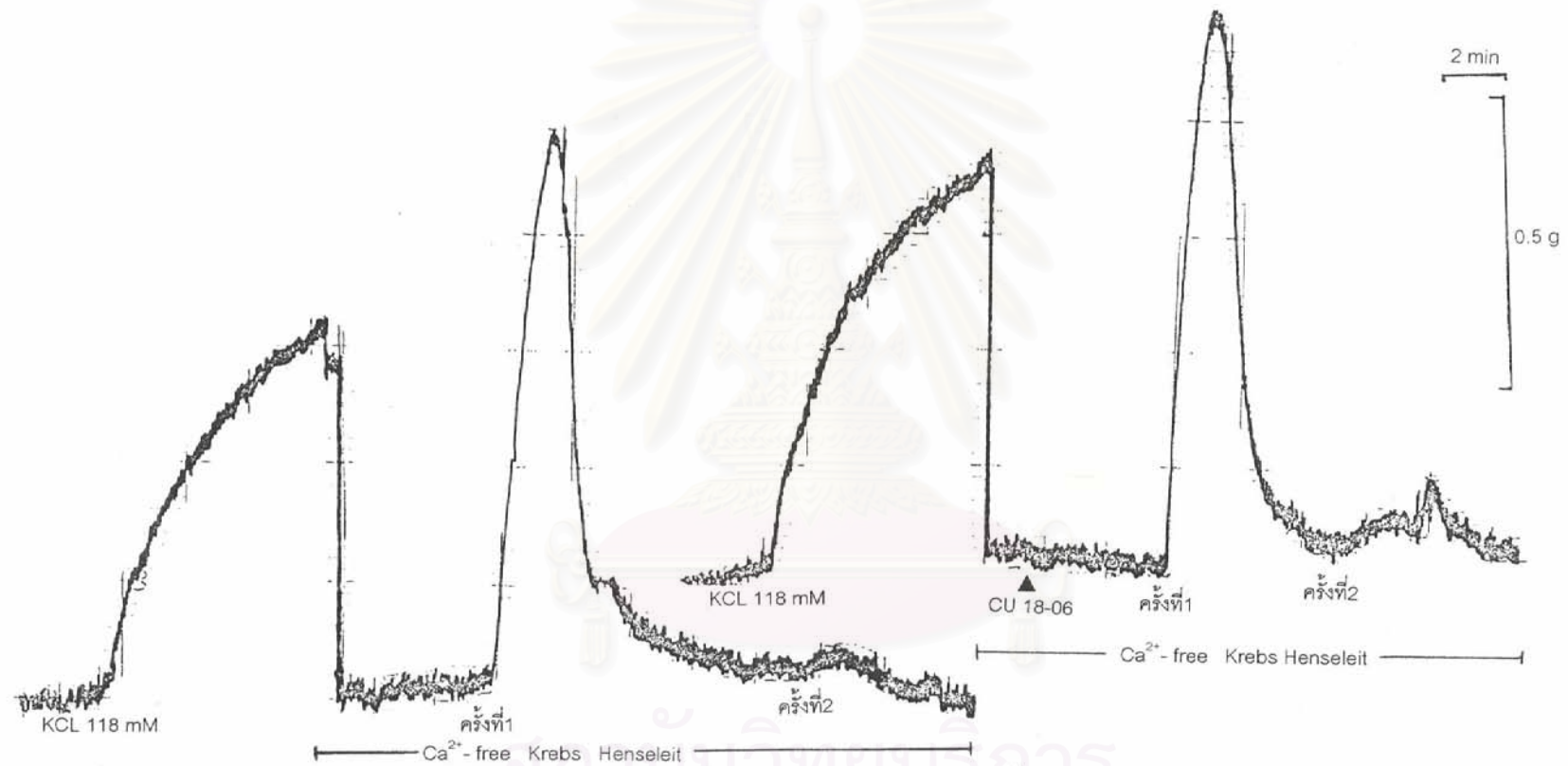
เมื่อให้สารกระตุ้นตามวิธีการเดียวกับหัวข้อที่ 6.1 พบว่าหลอดเลือดสามารถเกิดการหดตัวได้เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วย histamine ที่ขนาดความเข้มข้น 0.5×10^{-4} โมลาร์ ในครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 เช่นเดียวกับผลของ CU 763-15-13 (รูปที่ 32) แสดงว่า สาร CU 18-06 ที่ขนาดความเข้มข้น 3.0×10^{-5} โมลาร์ นั้นมีผลในการลดการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกรเมื่อกระตุ้นด้วย histamine ที่ขนาดความเข้มข้น 0.5×10^{-4} โมลาร์ ในครั้งที่ 1 ลงเหลือ $75.41 \pm 10.44\%$ ซึ่งมีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (กราฟที่ 25) และในการกระตุ้นด้วย histamine ที่ขนาดความเข้มข้น 0.5×10^{-4} โมลาร์ ในครั้งที่ 2 นั้นพบว่าสาร CU 18-06 ที่ขนาดความเข้มข้น 3.0×10^{-5} โมลาร์ มีผลในการเพิ่มการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกรได้มากขึ้นเมื่อเทียบกับการกระตุ้นในครั้งที่ 2 ของกลุ่มควบคุมจาก



รูปที่ 31 แสดงผลของ CU 18-05 ($3.0 \times 10^{-5} \text{ M}$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine ขนาดความเข้มข้น ($0.5 \times 10^{-4} \text{ M}$) ในครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ในสารละลาย Ca^{2+} -free Krebs Henseleit

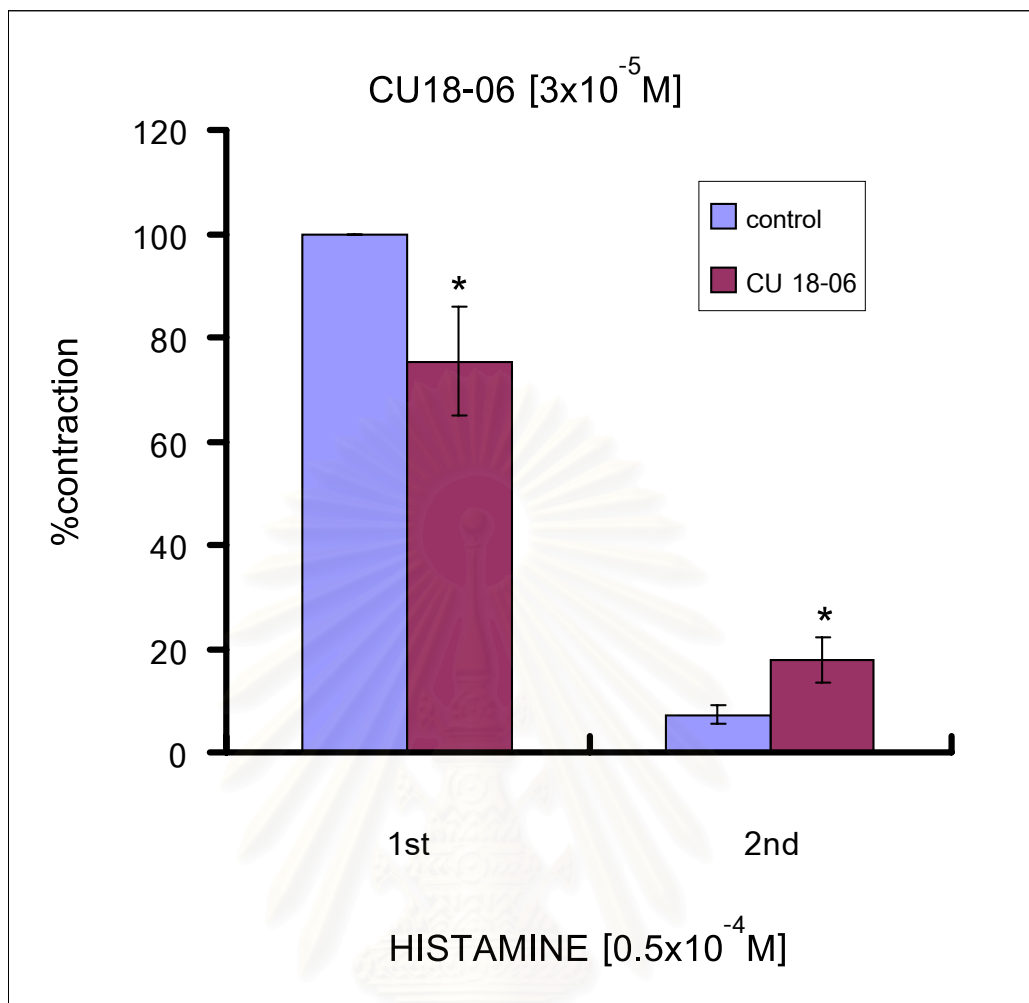


กราฟที่ 24 ผลของ CU 18-05 (3.0×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine ในครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ในสารละลาย Ca^{2+} - free Krebs Henseleit (n=10)
 กราฟแสดงค่า mean \pm S.E
 * แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



รูปที่ 32 แสดงผลของ CU 18-06 ($3.0 \times 10^{-5} \text{ M}$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine ขนาดความเข้มข้น ($0.5 \times 10^{-4} \text{ M}$) ในครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ในสารละลาย Ca^{2+} -free Krebs Henseleit

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



กราฟที่ 25 ผลของ CU 18-06 (3.0×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine ในครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ในสารละลาย Ca^{2+} - free Krebs Henseleit (n=10)

กราฟแสดงค่า mean \pm S.E

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

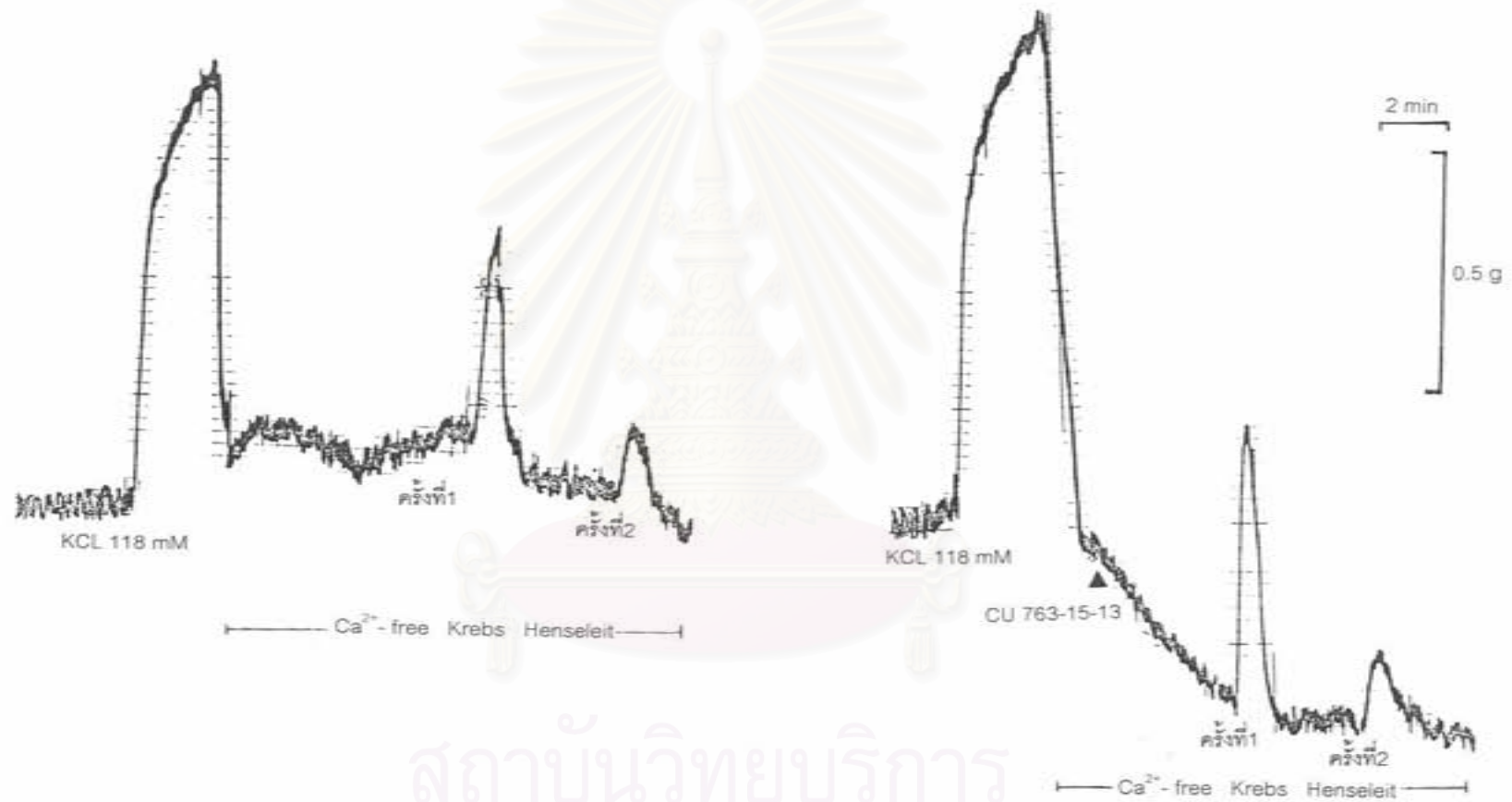
7.28±1.68% มาเป็น 17.75±4.33% ซึ่งพบว่ามีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (กราฟที่ 25)

7. ผลของสารทดสอบ (CU 763-15-13, CU 18-05 และ CU 18-06) เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วย caffeine ในสารละลาย Ca^{2+} free Krebs Henseleit

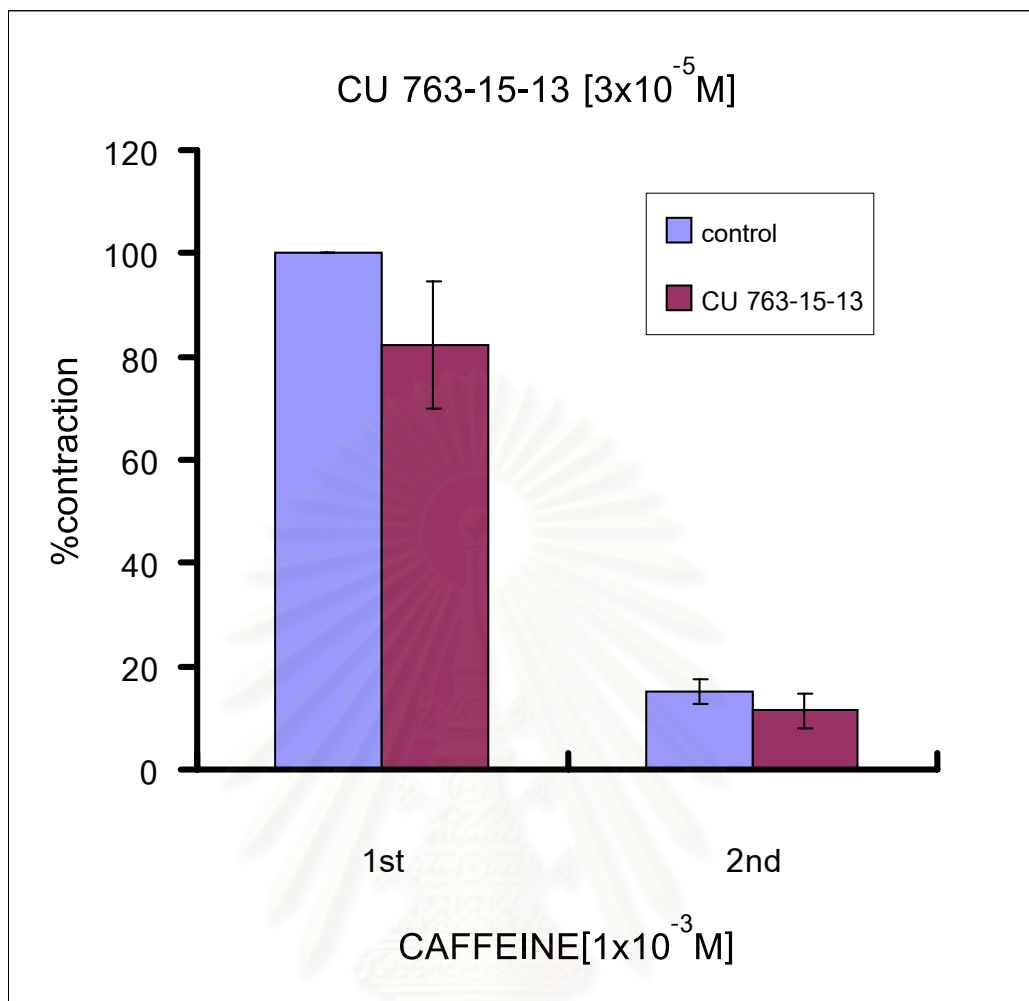
7.1 ผลของสาร CU 763-15-13 ต่อการกระตุ้นการหดตัวของ caffeine ครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ในสารละลาย Ca^{2+} free Krebs Henseleit

เมื่อให้สารละลาย KCl ที่ขนาดความเข้มข้น 1.18×10^{-1} โมลาร์ ในสารละลาย Krebs Henseleit ทั้งในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง พบว่าหลอดเลือดสามารถเกิดการหดตัวได้จนกระทั่งเกิดการหดตัวที่คงที่ จากนั้นเปลี่ยนสารละลายมาเป็น Ca^{2+} free Krebs Henseleit แล้ว incubate จนความตึงคงที่ จึงเริ่มให้การกระตุ้นด้วย caffeine ที่ขนาดความเข้มข้น 1×10^{-3} โมลาร์ ในครั้งที่ 1 พบว่าสามารถเกิดการหดตัวได้ (รูปที่ 33) เมื่อหลอดเลือดเริ่มคลายตัวลง ก็ล้างด้วยด้วยสารละลาย Ca^{2+} free Krebs Henseleit เมื่อได้ความตึงคงที่อีกครั้งจึงให้การกระตุ้นด้วย caffeine ที่ขนาดความเข้มข้น 1×10^{-3} โมลาร์ ในครั้งที่ 2 พบว่าสามารถเกิดการหดตัวได้น้อยมากเมื่อเทียบกับการกระตุ้นด้วย caffeine ในครั้งที่ 1 (รูปที่ 33) แสดงว่า เมื่อให้การกระตุ้นในครั้งที่ 1 แล้วทำให้มีปริมาณ Ca^{2+} ใน SR เหลืออยู่น้อยลงจนทำให้การกระตุ้นในครั้งที่ 2 เกิดการหดตัวได้น้อยกว่าในครั้งที่ 1 และเมื่อเปรียบเทียบค่าการหดตัวระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง พบว่าการกระตุ้นด้วย caffeine ในครั้งที่ 1 ของกลุ่มควบคุม มีค่าการหดตัวสูงสุด (maximum contraction) โดยจะคิดเป็น 100% contraction และในกลุ่มทดลองที่ได้รับสาร CU 763-15-13 ที่ขนาดความเข้มข้น 3.0×10^{-5} โมลาร์ เข้าไปก่อนประมาณ 10 นาทีที่จะได้รับการกระตุ้นด้วย caffeine นั้น พบว่าในการกระตุ้นด้วย caffeine ในครั้งที่ 1 สามารถทำให้เกิดการหดตัวได้ลดลงเมื่อเทียบกับการกระตุ้นด้วย caffeine ในครั้งที่ 1 ของกลุ่มควบคุม เช่นเดียวกับการกระตุ้นด้วย histamine ในครั้งที่ 1 แต่ผลของการลดการหดตัวนี้จะมีค่าน้อยกว่าการกระตุ้นด้วย histamine และในการกระตุ้นด้วย caffeine ในครั้งที่ 2 นั้นให้ผลแตกต่างจากการกระตุ้นด้วย histamine ในครั้งที่ 2 เนื่องจากไม่สามารถเพิ่มการหดตัวเมื่อเทียบกับการกระตุ้นด้วย caffeine ในครั้งที่ 2 ของกลุ่มควบคุมได้ (รูปที่ 33)

จากผลดังกล่าว แสดงว่า สาร CU 763-15-13 ที่ขนาดความเข้มข้น 3.0×10^{-5} โมลาร์ นั้นมีผลในการลดการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย caffeine ที่ขนาดความเข้มข้น 1×10^{-3} โมลาร์ ในครั้งที่ 1 แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (กราฟที่ 26) นั้นส่วนในการกระตุ้นด้วย caffeine ที่ขนาดความเข้มข้น 1×10^{-3} โมลาร์ ใน



รูปที่ 33 แสดงผลของ CU 763-15-13 ($3.0 \times 10^{-5} M$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย caffeine ขนาดความเข้มข้น ($1 \times 10^{-3} M$) ในครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ในสารละลาย Ca^{2+} -free Krebs Henseleit



กราฟที่ 26 ผลของ CU 763-15-13 ($3.0 \times 10^{-5} \text{M}$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย Caffeine ในครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ในสารละลาย Ca^{2+} - free Krebs Henseleit (n=7)

กราฟแสดงค่า mean \pm S.E

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

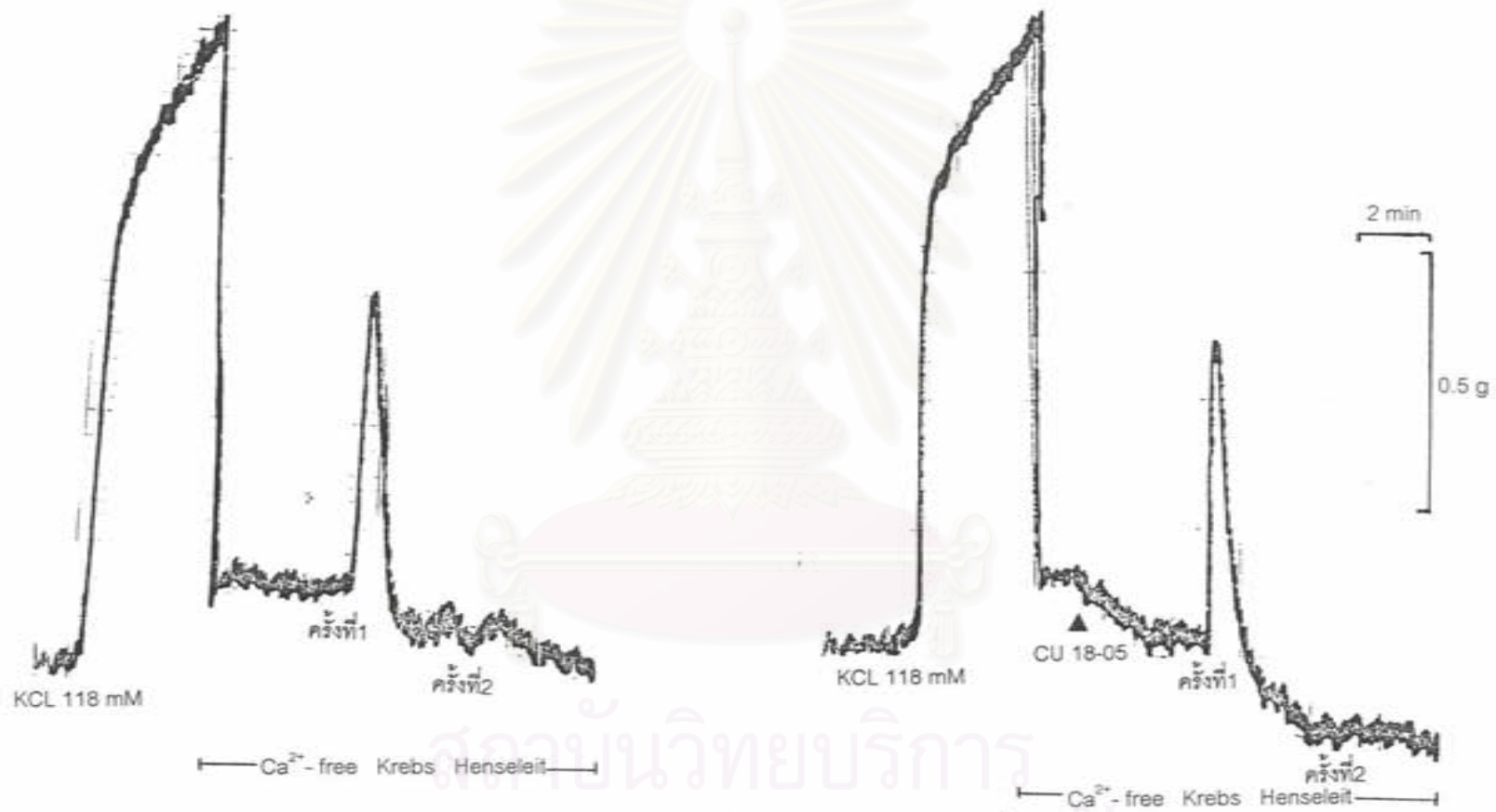
ครั้งที่ 2 นั้นพบว่าสาร CU 763-15-13 ที่ขนาดความเข้มข้น 3.0×10^{-5} ไมลาร์ ไม่มีผลในการเพิ่มการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกรเมื่อเทียบการกระตุ้นในครั้งที่ 2 ของกลุ่มควบคุม (กราฟที่ 26)

7.2 ผลของสาร CU 18-05 ต่อการกระตุ้นการหดตัวด้วย caffeine ครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ในสารละลาย Ca^{2+} free Krebs Henseleit

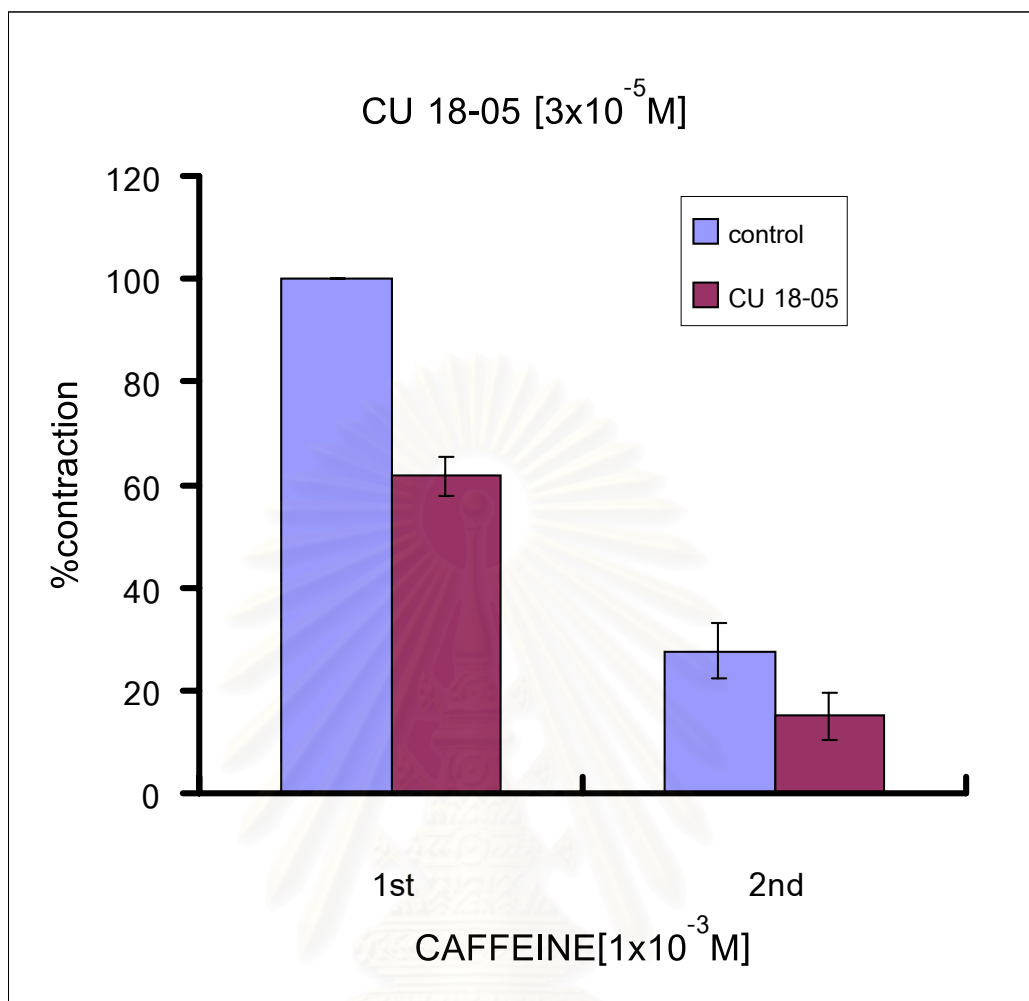
เมื่อให้สารกระตุ้นตามวิธีการเดียวกับหัวข้อที่ 7.1 พบว่าหลอดเลือดสามารถเกิดการหดตัวได้เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วย caffeine ที่ขนาดความเข้มข้น 1×10^{-3} ไมลาร์ ในครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 เช่นเดียวกับผลของ CU 763-15-13 (รูปที่ 34) แสดงว่า สาร CU 18-05 ที่ขนาดความเข้มข้น 3.0×10^{-5} ไมลาร์ นั้นมีผลในการลดการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย caffeine ที่ขนาดความเข้มข้น 1×10^{-3} ไมลาร์ ในครั้งที่ 1 แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (กราฟที่ 27) และในการกระตุ้นด้วย caffeine ที่ขนาดความเข้มข้น 1×10^{-3} ไมลาร์ ในครั้งที่ 2 นั้นพบว่าสาร CU 18-05 ที่ขนาดความเข้มข้น 3.0×10^{-5} ไมลาร์ ไม่มีผลในการเพิ่มการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกรเมื่อเทียบกับการกระตุ้นในครั้งที่ 2 ของกลุ่มควบคุม (กราฟที่ 27)

7.3 ผลของสาร CU 18-06 ต่อการกระตุ้นการหดตัวด้วย caffeine ครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ในสารละลาย Ca^{2+} free Krebs Henseleit

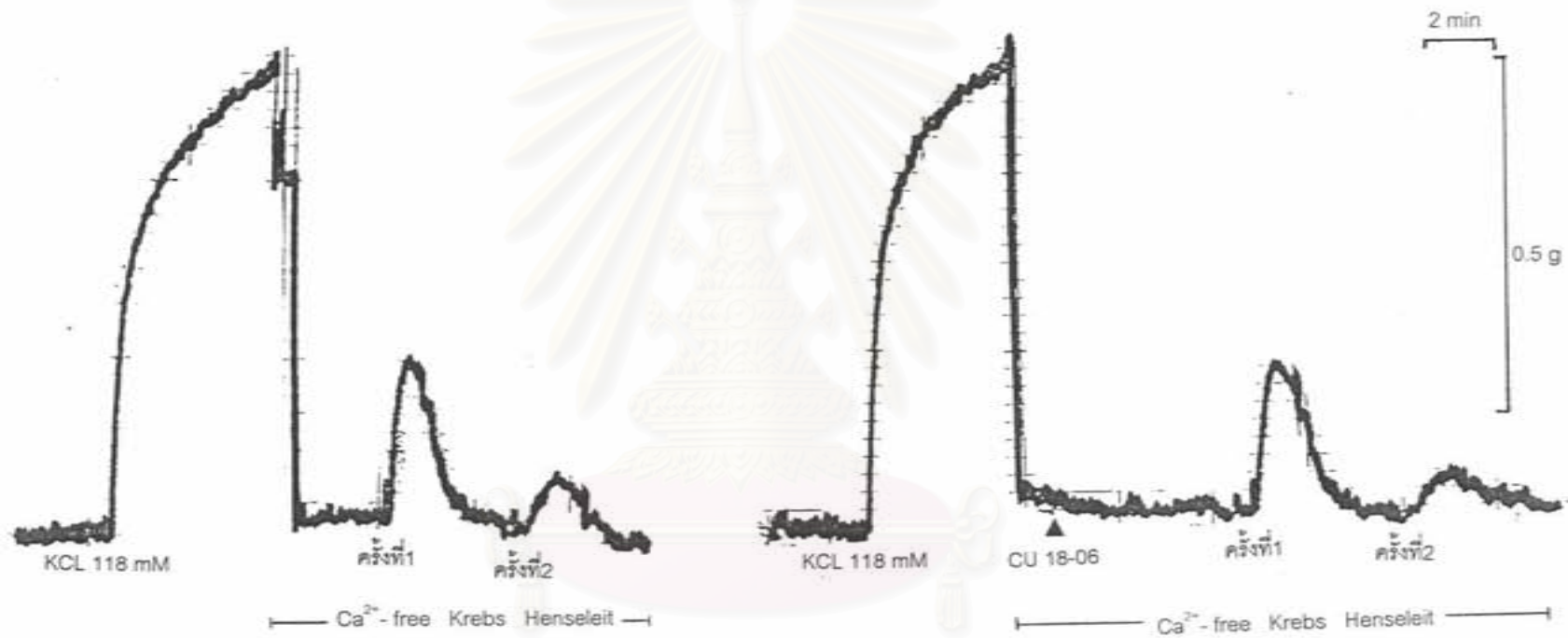
เมื่อให้สารกระตุ้นตามวิธีการเดียวกับหัวข้อที่ 7.1 พบว่าหลอดเลือดสามารถเกิดการหดตัวได้เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วย caffeine ที่ขนาดความเข้มข้น 1×10^{-3} ไมลาร์ ในครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 เช่นเดียวกับผลของ CU 763-15-13 (รูปที่ 35) แสดงว่า สาร CU 18-06 ที่ขนาดความเข้มข้น 3.0×10^{-5} ไมลาร์ นั้นมีผลในการลดการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย caffeine ที่ขนาดความเข้มข้น 1×10^{-3} ไมลาร์ ในครั้งที่ 1 แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (กราฟที่ 28) และในการกระตุ้นด้วย caffeine ที่ขนาดความเข้มข้น 1×10^{-3} ไมลาร์ ในครั้งที่ 2 นั้นพบว่าสาร CU 18-06 ที่ขนาดความเข้มข้น 3.0×10^{-5} ไมลาร์ ไม่มีผลในการเพิ่มการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกรเมื่อเทียบกับการกระตุ้นในครั้งที่ 2 ของกลุ่มควบคุม (กราฟที่ 28)



รูปที่ 34 แสดงผลของ CU 18-05 ($3.0 \times 10^{-5} M$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย caffeine ขนาดความเข้มข้น ($1 \times 10^{-3} M$) ในครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ในสารละลาย Ca^{2+} -free Krebs Henseleit



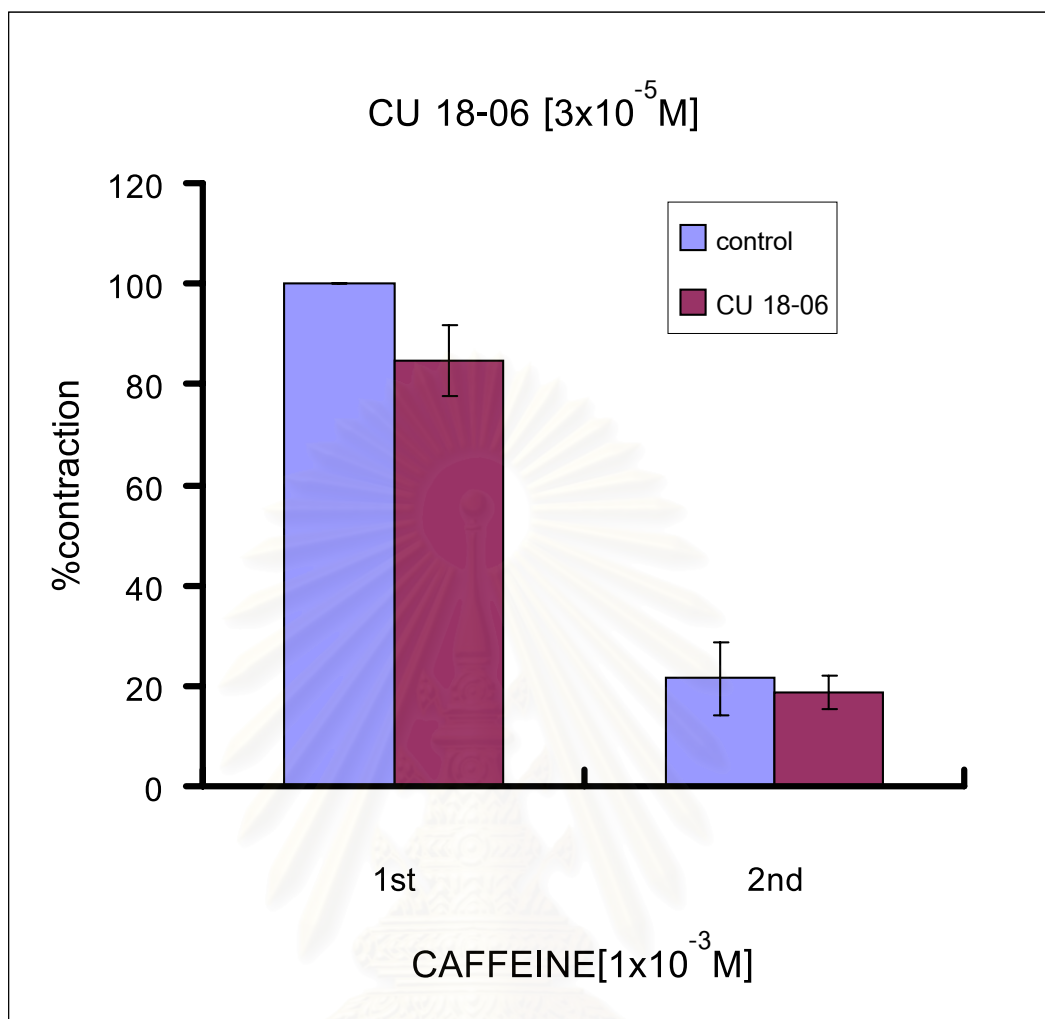
กราฟที่ 27 ผลของ CU 18-05 (3.0×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย Caffeine ในครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ในสารละลาย Ca^{2+} - free Krebs Henseleit (n=7)
 กราฟแสดงค่า mean \pm S.E
 * แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



รูปที่ 35 แสดงผลของ CU 18-06 ($3.0 \times 10^{-5} \text{ M}$) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย caffeine ขนาดความเข้มข้น ($1 \times 10^{-3} \text{ M}$) ในครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ในสารละลาย Ca²⁺-free Krebs Henseleit

สถาบันวิทยบริการ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี



กราฟที่ 28 ผลของ CU 18-06 (3.0×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย Caffeine ในครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ในสารละลาย Ca^{2+} - free Krebs Henseleit (n=7)

กราฟแสดงค่า mean \pm S.E

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

บทที่ 5

อภิปรายและสรุปผลการทดลอง

1. ผลของสารทดสอบ (CU 763 15 13, CU 18-05 และ CU 18-06) ต่อการกระตุ้นหลอดเลือดหัวใจสุกรด้วย Ach, 5-HT และ histamine

การหดตัวของหลอดเลือดหัวใจสุกรเมื่อกระตุ้นด้วย Ach

จากการศึกษาที่ผ่านมา ทำให้ทราบว่า การกระตุ้นด้วย Ach นั้น สามารถทำให้หลอดเลือดหัวใจเกิดการหดตัวได้ ซึ่งมีความแตกต่างจากหลอดเลือดที่อวัยวะอื่นๆ ที่มีผลทำให้เกิดการคลายตัว และพบว่า การคลายตัวของหลอดเลือดเมื่อได้รับการกระตุ้นด้วย Ach นั้น ต้องอาศัยเยื่อบุหลอดเลือด (endothelium) ที่จะทำให้เกิดการหลั่งสาร endothelium derived relaxing factor (EDRF) ซึ่งมีคุณสมบัติคล้ายคลึงกับ Nitric oxide (NO) ที่มีอยู่ในร่างกายโดยทั่วไปอยู่แล้ว ช่วยในการคลายตัวของหลอดเลือด [Park และคณะ, 2000] ดังนั้น ถ้ามีการทำลายของเยื่อบุหลอดเลือด จะทำให้การกระตุ้นด้วย Ach นั้นเปลี่ยนจากการคลายตัว เป็นไปมีผลในการหดตัวขึ้นแทน จากผลการกระตุ้นที่ muscarinic receptor ในกล้ามเนื้อเรียบโดยตรง ซึ่งจะให้ผลในทางตรงกันข้ามกับการกระตุ้นที่ muscarinic receptor ของเยื่อบุหลอดเลือด [อรชร อิงคานูวัฒน์, 2535] และผลดังกล่าวนี้ก็เป็นเหตุผลที่สามารถอธิบายถึงลักษณะเฉพาะของหลอดเลือดหัวใจสุกร ว่าทำไมหลอดเลือดหัวใจสุกรจึงสามารถเกิดการหดตัวได้เป็นปกติเมื่อถูกกระตุ้นด้วย Ach เนื่องจากคาดว่าน่าจะมีปริมาณของ muscarinic receptor ที่เยื่อบุหลอดเลือดหัวใจน้อยกว่าหลอดเลือดที่บริเวณอื่นๆ ทำให้เห็นผลในการกระตุ้นที่ muscarinic receptor ของกล้ามเนื้อเรียบโดยตรง และถ้ายังมีการถูกทำลายเยื่อบุหลอดเลือด ก็จะทำให้มีแนวโน้มในการหดตัวได้รุนแรงมากขึ้นด้วย [อรชร อิงคานูวัฒน์, 2535]

การหดตัวของหลอดเลือดหัวใจสุกร ที่ถูกกระตุ้นด้วย Ach นั้น เชื่อว่าเกิดผ่านทาง muscarinic receptor เนื่องจากสามารถยับยั้งการกระตุ้นได้ด้วย Atropine (Muscarinic Antagonist) [Ito, Kitamura และ Kuriyama, 1979] และในปัจจุบัน muscarinic receptor สามารถแบ่งได้ 5 subtype ได้แก่ M₁, M₂, M₃, M₄ และ M₅ subtype ตามลำดับ โดย M₁-subtype จะพบที่เซลล์ประสาท, M₂-subtype จะพบที่ศีรษะและสมองส่วน cerebellum, M₃-subtype จะพบที่กล้ามเนื้อเรียบและต่อมต่างๆ M₄ และ M₅-subtype นั้นจะพบในสมองหนูขาว (Richards, 1991) ดังนั้นการกระตุ้นที่หลอดเลือดหัวใจ ซึ่งเป็นกล้ามเนื้อเรียบนั้นจึงน่าจะผ่านทาง M₃-subtype โดยกลไกที่เกี่ยวข้องในการกระตุ้นด้วย Ach จะเกิดจากการกระตุ้นผ่านทาง receptor – operated calcium channel (ROC) โดยจะมีผลทำให้แคลเซียมอิสระภายในเซลล์ เพิ่มขึ้นได้จาก

การกระตุ้นของปริมาณ cAMP ที่เพิ่มขึ้น แล้วไปมีผลในการกระตุ้นการเคลื่อนที่เข้าของแคลเซียมจากภายนอกเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์ได้มากขึ้น และยังมีผลจากการเพิ่มขึ้นของปริมาณ IP_3 ทำให้สามารถกระตุ้นการปลดปล่อยแคลเซียมจากแหล่งสะสมแคลเซียมภายในเซลล์ (SR) ออกมาได้มากขึ้นอีกด้วย [Bolton, 1979; Harden และคณะ, 1986; Eglon และคณะ, 1994]

จากการทดลองพบว่า CU 763 15-13 สามารถยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดหัวใจสุกร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย Ach ได้ โดยให้ผลเช่นเดียวกับที่ได้ทำการศึกษาผลของเอกซาร์ CU 763-15-13 ต่ออวัยวะอื่นๆ มาแล้ว ดังแสดงในตารางที่ 1 ทั้งในลำไส้กระต่าย และกระเพาะอาหารหนูขาว [กุลยา สายชุ่มอินทร์, 2541; คณิตา ยิ้มศรีใส, 2542] แสดงว่าสาร CU 763-15-13 น่าที่จะสามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในหลายๆ อวัยวะได้ โดยผ่านทาง muscarinic receptor ได้ และกลไกในการยับยั้งอาจจะเกี่ยวข้องกับกลไกการลดการกระตุ้นการทำงานของ phospholipase C (PLC) ส่งผลให้ปริมาณ IP_3 น้อยลง จึงทำให้การปลดปล่อยแคลเซียมจากแหล่งเก็บสะสม (SR) ลดลง หรืออาจจะลดการกระตุ้นการทำงานของ Adenylate cyclase ทำให้ลดปริมาณของ cAMP ลง และมีผลในการลดการเคลื่อนที่เข้าของ Ca^{2+} จากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ผ่านทาง Ca^{2+} channel ซึ่งทั้ง 2 กลไกนี้มีผลทำให้เกิดการลดลงของปริมาณแคลเซียมอิสระภายในเซลล์ลง ดังนั้นจึงทำให้สามารถยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดได้ โดยผลของสาร CU 763-15-13 นี้ อาจจะเกี่ยวข้องกับกลไกใดกลไกหนึ่งหรือทั้ง 2 กลไกเลยก็ได้ ส่วนสาร CU 18-05 และ CU 18-06 นั้นพบว่าให้ผลใกล้เคียงกัน คือ ไม่สามารถยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย Ach แสดงว่าสารทดสอบทั้ง 2 นี้ อาจจะไม่มียกลไกในการยับยั้งการหดตัวผ่านทาง muscarinic receptor ก็ได้ จึงไม่สามารถลดปริมาณแคลเซียมที่เพิ่มขึ้นจากการกระตุ้นด้วย Ach ผ่านทาง ROC ลงได้

การหดตัวของหลอดเลือดหัวใจสุกรเมื่อกระตุ้นด้วย 5-HT

การกระตุ้นด้วย 5-HT นั้น ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงได้หลายอย่าง ขึ้นอยู่กับบริเวณนั้นว่าจะพบ receptor subtype ชนิดไหน ซึ่งในปัจจุบันสามารถแบ่งได้เป็น 7 ชนิด คือ 5-HT₁ subtype (ซึ่งสามารถแบ่งย่อยได้เป็น 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{1D}, 5-HT_{1E} และ 5-HT_{1-like}), 5-HT₂ subtype (ซึ่งสามารถแบ่งย่อยได้เป็น 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} และ 5-HT_{2C}) , 5-HT₃ subtype, 5-HT₄ subtype, 5-HT₅ subtype (ซึ่งสามารถแบ่งย่อยได้เป็น 5-HT_{5A} และ 5-HT_{5B}) , 5-HT₆ subtype และ 5-HT₇ subtype [Zifa และ Fillion, 1992 ; Peroutka, 1993] โดยแต่ละชนิดพบในบริเวณที่แตกต่างกันไป และให้ผลในการกระตุ้นที่แตกต่างกันออกไปด้วย ส่วน subtype ที่มีความเกี่ยวข้องกับหลอดเลือดและกล้ามเนื้อเรียบนั้น มีอยู่ด้วยกัน 2 subtype ได้แก่ 5-HT_{1B} - receptor ซึ่งเมื่อได้รับการกระตุ้นจะทำให้สามารถลดปริมาณ cAMP

ลง ทำให้มีผลเพิ่ม Ca^{2+} sensitivity และทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อได้มากขึ้น [Abe, Kanaide และ Nakamura, 1990] และอีก subtype หนึ่งที่เกี่ยวข้องกับกล้ามเนื้อเรียบ ก็คือ $5-HT_2$ receptor ซึ่งพบว่าที่หลอดเลือดหัวใจสุกรนั้นสามารถทำให้เกิดการหดตัวเมื่อกระตุ้นด้วย $5-HT$ ผ่านทาง receptor subtype ชนิดนี้ด้วย [Cushing และ Cohen, 1992] และเมื่อได้รับการกระตุ้น จะทำให้เกิดการเพิ่มปริมาณของ IP_3 และ DAG ส่งผลให้ปริมาณแคลเซียมอิสระภายในเซลล์เพิ่มสูงขึ้น จากการกระตุ้นการปลดปล่อยแคลเซียมจากแหล่งเก็บสะสมแคลเซียมภายในเซลล์ (SR) ทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้ [Berridge, 1993 ; Hoyer, 1994] และผลของการเพิ่มปริมาณ DAG ยังมีผลในการกระตุ้น Protein kinase C (PKC) ทำให้สามารถเพิ่ม tension ของกล้ามเนื้อเรียบได้อีกทางหนึ่งด้วย [Itoh, Kubota และ Kuriyama, 1988 ; Nishimura และ Van Breeman, 1989]

จากการทดลอง พบว่า สารทดสอบทั้ง 3 ชนิด (CU 763-15-13, CU 18-05 และ CU 18-06) สามารถยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดหัวใจสุกร เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $5-HT$ ผ่านทาง receptor - operated calcium channel (ROC) ที่ $5-HT_2$ receptor ได้ ทำให้สามารถลดการกระตุ้นการทำงานของ phospholipase C (PLC) ส่งผลให้ปริมาณ IP_3 และ DAG น้อยลง จึงลดการปลดปล่อยแคลเซียมจาก SR และลด tension ลงได้ และเมื่อเปรียบเทียบความแรงของฤทธิ์ในการยับยั้งการหดตัวของสารทดสอบทั้ง 3 ชนิด จะพบว่า สาร CU 18-05 และ CU 18-06 มีความแรงใกล้เคียงกัน แต่พบว่า CU 763-15-13 จะมีความแรงสูงสุด เนื่องจากสามารถให้ผลในการยับยั้งได้ใกล้เคียงกับ CU 18-05 และ CU 18-06 ทั้งที่ใช้ขนาดความเข้มข้นที่ต่ำกว่า (CU 763-15-13 = 1×10^{-5} M, CU 18-05 = 2.5×10^{-5} M และ CU 18-06 = 2.5×10^{-5} M) นอกจากนี้ยังพบว่าผลของสาร CU 763-15-13 สอดคล้องตรงกับการศึกษาที่ผ่านมาในการยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว หลอดเลือดแดงใหญ่กระต่าย หลอดเลือดสายสะดือมนุษย์ กระเพาะอาหารหนูขาว และ ท่อน้ำอสุจิหนูขาว ดังแสดงในตารางที่ 1 ซึ่งอาจจะมีกลไกการยับยั้งแตกต่างกันไปในแต่ละชนิดของสายพันธุ์สัตว์ที่ใช้ และอวัยวะที่ใช้ในการทำการศึกษาดังนี้ ดังที่ทราบมาแล้วว่าความแตกต่างของสายพันธุ์ (species) นั้น ทำให้เกิดลักษณะเฉพาะบางอย่างของ receptor ขึ้นได้ และยังสามารถส่งผลกระทบต่อขนาดของ affinity ต่อ agonist และ antagonist ที่แตกต่างกันไปด้วยโดยพบว่า หลอดเลือด coronary ของหัวใจสุกรนั้น จะเกิดการหดตัวได้ เมื่อกระตุ้นด้วย $5-HT$ ผ่านทาง $5-HT_2$ receptor ซึ่งจะ insensitive ต่อ ketaserine ที่เป็น antagonism แต่ในหลอดเลือด coronary ของสุนัขนั้นจะเกิดการหดตัวเมื่อได้รับการกระตุ้นด้วย $5-HT$ โดยผ่านทาง $5-HT_{1D}$ receptor ซึ่งจะสามารถถูกยับยั้งได้ดีเมื่อให้ ketaserine เข้าไป block ที่ receptor ดังกล่าว [Cushing และ Cohen, 1992] ซึ่งผลของการกระตุ้นของทั้ง 2 receptor subtype นี้ จะทำให้หลอดเลือด Coronary หดตัวได้เหมือนกัน แต่มีกลไกที่ต่างกัน และจากการศึกษาของ Connor,

Feniuk และ Humphrey (1989) ก็ได้อธิบายไว้ว่า การหดตัวของหลอดเลือด coronary ของมนุษย์ นั้น เกิดผ่านการกระตุ้นทั้งจาก 5-HT₂ receptor และ 5-HT_{1D} receptor ซึ่งยิ่งทำให้สามารถบอกได้ถึงความแตกต่างของสายพันธุ์ ที่อาจส่งผลต่อการกระตุ้นด้วยกลไกที่แตกต่างกันไปได้ แม้จะเป็นหลอดเลือดชนิดเดียวกันก็ตาม โดยขึ้นอยู่กับ affinity และชนิดของ receptor subtype ที่บริเวณนั้นๆ และถ้าพบว่าเป็นหลอดเลือดที่ต่างชนิด หรืออวัยวะต่างกันไปแล้วก็จะยิ่งทำให้เกิดความแตกต่างของกลไกการกระตุ้นได้ชัดเจนมากยิ่งขึ้น โดยพบว่าหลอดเลือด coronary ของสุกร จะมี affinity ต่อ 5-HT₂ receptor antagonist (ketaserine และ LY 53857) ได้ต่ำกว่าหลอดเลือดดำของหนู [Cohen, Fuller และ Wiley, 1981] ในการศึกษาที่ผ่านมามีตารางที่ 1 ได้เคยศึกษาผลของสาร CU 763-15-13 ในกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดหลายชนิดในหลายสายพันธุ์ และในกล้ามเนื้อเรียบของหลายอวัยวะทั้งจากกระเพาะอาหารหนูขาว และท่อนำสุจิหนูขาว ทำให้เกิดกลไกการกระตุ้นด้วย 5-HT ในการหดตัวแตกต่างกันไปตามชนิดของ receptor subtype ที่พบบริเวณนั้นๆ ดังนั้นจึงสามารถจะเสนอได้ว่า สาร CU 763-15-13 นั้นมีฤทธิ์ในการยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในหลายๆ อวัยวะ อย่างไม่เฉพาะเจาะจง โดยมีผลยับยั้งผ่านทาง receptor – operated calcium channel (ROC) ได้หลายกลไกขึ้นอยู่กับชนิดของ receptor subtype ที่บริเวณนั้นๆ คือถ้าเป็นที่หลอดเลือด และกระเพาะอาหาร ก็น่าจะยับยั้งผ่านทาง 5-HT₂ receptor ทำให้ไม่สามารถกระตุ้นการทำงานของ phospholipase C (PLC) ได้ ส่งผลให้มีปริมาณ IP₃ ลดลง ความสามารถในการกระตุ้นการปลดปล่อยแคลเซียมออกมาจาก SR ก็จะมีน้อยลงด้วย และถ้าเป็นการยับยั้งที่ท่อนำสุจิหนูขาวก็จะยับยั้งผ่านทาง 5-HT₁ receptor ทำให้เกิดปริมาณ cAMP มากขึ้น จากการกระตุ้นการทำงานของ adenylate cyclase จะเห็นได้ว่าการยับยั้งการหดตัว เมื่อกระตุ้นด้วย 5-HT ของ CU 763-15-13 นั้น ค่อนข้างจะให้ผลการยับยั้งที่ชัดเจนและครอบคลุมกล้ามเนื้อเรียบในหลายๆ อวัยวะ ที่มีชนิดของ 5-HT subtype ที่แตกต่างกันไป แสดงว่า CU 763-15-13 นั้นน่าจะมีความสามารถลดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่กระตุ้นด้วย 5-HT ได้ในหลายๆ กลไก ดังที่กล่าวไปแล้ว แต่สำหรับสาร CU 18-05 และ CU 18-06 นั้น ยังไม่ได้มีการศึกษาเกี่ยวกับการยับยั้งการกระตุ้นด้วย 5-HT ในอวัยวะอื่นเลย จึงมีเฉพาะข้อมูลจากการศึกษาผลในหลอดเลือดหัวใจสุกรเท่านั้น ซึ่งก็แสดงให้เห็นว่าสามารถลดการหดตัวจากการกระตุ้นด้วย 5-HT ผ่านทาง ROC ได้เช่นกัน โดยอาจจะมีการไปผ่านทาง 5-HT₂ receptor ดังที่ได้กล่าวไปแล้วแต่ในรายละเอียดอื่นๆ ที่อาจจะมีความเกี่ยวข้อง ยังไม่ทราบแน่ชัด คงจะต้องทำการศึกษาเพิ่มเติมในอวัยวะอื่นๆ อีกต่อไป

การหดตัวของหลอดเลือดหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine

การกระตุ้นด้วย histamine นั้นสามารถทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ โดยผ่านกลไกหลัก 2 ประการคือ การเพิ่มการปลดปล่อยของแคลเซียมจากแหล่งเก็บสะสม (SR) และการเพิ่มปริมาณแคลเซียมจากภายนอกเซลล์เคลื่อนเข้าสู่ภายในเซลล์ผ่านทาง Ca^{2+} channel [Hirano และคณะ, 1990] ซึ่งทั้ง 2 กลไกนี้ มีผลทำให้แคลเซียมอิสระภายในเซลล์เพิ่มสูงขึ้น และส่งผลให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้ โดยสามารถจะอธิบายถึงลักษณะของการหดตัว เมื่อเกิดการกระตุ้นด้วย histamine ได้เป็น 2 ลักษณะ คือ ในช่วง phase ที่ 1 ของการหดตัว จะเกิดจากกลไกการกระตุ้นการปลดปล่อยแคลเซียมจากแหล่งเก็บสะสม (SR) ของ IP_3 ทำให้เห็นการหดตัวที่เร็วและแรง จนกระทั่งเกิดการหดตัวได้สูงที่สุด ก็จะเริ่มเกิดการหดตัวครั้งที่ขึ้น ซึ่งช่วงนี้เองที่เรียกเป็นการหดตัวใน phase ที่ 2 ซึ่งจะเกิดการหดตัวที่คงที่ค้างไว้ระยะหนึ่งก่อนจะเริ่มเกิดการคลายตัวลง ซึ่งกลไกใน phase ที่ 2 นี้จะเกิดจาก Ca^{2+} influx จากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ ซึ่งกลไกทั้ง 2 phase ที่กล่าวมานี้ จะเป็นผลจากการกระตุ้นผ่านทาง G-protein coupling receptor ซึ่งได้มีการกล่าวรายละเอียดในบทที่ 2 [Nishimura, Kolber และ Van Breemen, 1988 ; Kitazawa และคณะ, 1989] ในปัจจุบันเราสามารถแบ่ง histamine receptor ได้เป็น 3 ชนิด คือ H_1 receptor จะพบที่บริเวณเซลล์เยื่อบุหลอดเลือด และเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ, H_2 receptor จะพบที่บริเวณเยื่อเมือกกระเพาะอาหาร เซลล์กล้ามเนื้อหัวใจ เซลล์ของระบบภูมิคุ้มกันบางชนิด และเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ และ H_3 receptor จะพบที่บริเวณของระบบประสาทส่วนกลาง ซึ่งในแต่ละชนิดจะมีกลไกการกระตุ้นที่แตกต่างกันไป โดยที่พบในกล้ามเนื้อเรียบนั้น ผลที่ทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ จะเกิดจากการกระตุ้นที่ H_1 - receptor และผลในการกระตุ้นที่ H_2 - receptor จะทำให้เกิดการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้ ซึ่งจะพบว่าให้ผลการกระตุ้นในทางตรงข้ามกัน และยังมี affinity ของแต่ละ receptor ต่อตัวกระตุ้น แตกต่างกันไปด้วย โดยขึ้นกับชนิดของตัวกระตุ้นนั้นๆ เป็นสำคัญ [ยุพิน สังวรินทะ และคณะ, 2531] ซึ่งกลไกในการทำให้เกิดการหดตัวจากการกระตุ้นที่ H_1 - receptor นั้นเกิดจากการกระตุ้นที่ phospholipase C (PLC) ทำให้มีการเพิ่มปริมาณ IP_3 และ DAG ขึ้น มีผลเกิดการกระตุ้นการปลดปล่อยแคลเซียมจาก SR ได้ และผลจากการเพิ่มปริมาณ DAG ยังมีผลในการกระตุ้น protein kinase C (PKC) ทำให้สามารถเพิ่ม tension ของกล้ามเนื้อเรียบ มีผลทำให้เกิดการหดตัวเพิ่มขึ้นด้วย [Itoh, Kubota และ Kuriyama, 1988 ; Nishimura และ Van Breemen, 1989] และกลไกที่ทำให้เกิดการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่เกิดจากการกระตุ้นที่ H_2 - receptor นั้น เกิดการกระตุ้นการทำงานของ adenylate cyclase ทำให้มีปริมาณ cAMP เพิ่มมากขึ้น เป็นผลทำให้สามารถยับยั้งการจับกันของ contractile protein ทำให้เกิดการคลายตัวขึ้นได้ [Berne และ Levy, 1993]

จากการทดลอง พบว่า สารทดสอบทั้ง 3 ชนิด (CU 763-15-13, CU 18-05 และ CU 18-06) สามารถยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดหัวใจสุกรจากการกระตุ้นด้วย histamine ได้ โดยพบว่า สาร CU 763-15-13 มีความแรงในการยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดได้สูงที่สุด เนื่องจากที่ขนาดความเข้มข้นของ CU 763-15-13 เท่ากับ 1×10^{-5} โมลาร์ สามารถยับยั้งการหดตัวได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่ที่ขนาดความเข้มข้นที่เท่ากันของสารทดสอบอีก 2 ชนิด (CU 18-05 และ CU 18-06) นั้น ไม่สามารถยับยั้งการหดตัวได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่า CU 763-15-13 มีฤทธิ์ในการยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดได้สูงที่สุด เมื่อเทียบกับ CU 18-05 และ CU 18-06 และยังพบว่าฤทธิ์ในการยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดของสารทดสอบทั้ง 3 ชนิดนี้ จะแปรผันไปตามขนาดความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นด้วยโดยจะพบว่าที่ขนาดความเข้มข้นเท่ากับ 2.5×10^{-5} โมลาร์ จะมีผลในการยับยั้งการหดตัวได้มากกว่าที่ขนาดความเข้มข้น 1×10^{-5} โมลาร์ ซึ่งจากการทดลอง ผลในการหดตัวของหลอดเลือดหัวใจของสารทดสอบทั้ง 3 ชนิด ที่ความเข้มข้น 2.5×10^{-5} โมลาร์ นั้นมีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แสดงว่าสารทั้ง 3 ชนิดมีฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือด เมื่อกระตุ้นด้วย histamine โดยกลไกที่เกี่ยวข้อง ยังไม่ทราบแน่ชัด แต่น่าจะเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงผ่านทาง Receptor – operated calcium channel (ROC) ซึ่งอาจจะไปมีผลในการลดการกระตุ้นที่ H_1 - receptor หรือไปมีผลเพิ่มการกระตุ้นที่ H_2 - receptor ก็ได้ โดยถ้าสารทดสอบสามารถยับยั้งการกระตุ้นที่ H_1 - receptor ก็จะทำให้สามารถลดการกระตุ้น phospholipase C (PLC) มีผลทำให้ปริมาณ IP_3 และ DAG น้อยลงและมีผลต่อการปลดปล่อยแคลเซียมจาก SR น้อยลงด้วย จึงมีผลลดปริมาณแคลเซียมอิสระภายในเซลล์ลงตามมา หรือถ้าสารทดสอบมีผลสามารถกระตุ้นที่ H_2 - receptor ได้ ก็อาจจะทำให้เกิดการกระตุ้นการทำงานของ adenylate cyclase ได้ จึงสามารถเพิ่มปริมาณ cAMP ให้มากขึ้นและไปมีผลต่อ contractile protien ทำให้เกิดการคลายตัวของหลอดเลือดได้ดังที่กล่าวไปแล้ว ดังนั้นเราจึงอาจกล่าวได้ว่า สารทดสอบทั้ง 3 ชนิด มีผลยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดหัวใจได้ โดยผ่านกลไกทาง ROC แต่จะเกี่ยวข้องกับการกระตุ้นชนิดไหนบ้างนั้นยังไม่สามารถสรุปได้แน่ชัด

2. ผลของสารทดสอบ (CU 18-05 และ CU 18-06) ต่อการกระตุ้นหลอดเลือดหัวใจสุกรด้วย $CaCl_2$ และ $BaCl_2$

การหดตัวของหลอดเลือดหัวใจสุกรเมื่อกระตุ้นด้วย $CaCl_2$ ในสารละลาย high potassium depolarizing

การให้สารละลาย $CaCl_2$ ในสารละลาย high potassium เพื่อจะดูผลต่อการเพิ่มขึ้นของปริมาณแคลเซียมอิสระภายในเซลล์ ผ่านทาง potential (voltage) – operated

calcium channel (POC หรือ VOC) โดยเมื่อให้สารละลาย high potassium เข้าไปนั้น จะทำให้ความตึงของหลอดเลือดเกิดการเปลี่ยนแปลง มีการหดตัวสูงขึ้นเล็กน้อยแล้วหลังจากนั้นก็จะมี ความตึงคงที่ ซึ่งสามารถอธิบายการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นได้ว่า เกิดจากการ depolarization ขึ้น เนื่องจาก ปริมาณ K^+ ion ที่เพิ่มขึ้นทำให้เกิดการเคลื่อนที่ของ K^+ จากภายนอกเซลล์เข้าสู่ภายใน เซลล์ ส่งผลให้ค่าศักย์ไฟฟ้าที่เยื่อหุ้มเซลล์มีค่าเป็นบวกมากขึ้น และค่าความต่างศักย์ระหว่างเซลล์ จึงมีค่าลดลง เกิดการเปิดของ Ca^{2+} channel ขึ้น [Bolton, 1979 ; Karaki และคณะ, 1997] จากนั้นจะมีผลทำให้แคลเซียมจากภายนอกเซลล์ สามารถเคลื่อนเข้าสู่ภายในเซลล์ได้ โดยผ่านทาง POC นี้ แต่ในสภาวะของสารละลาย high potassium นี้ ปกติจะไม่มีปริมาณของ Ca^{2+} อยู่ในสารละลายภายนอกเซลล์อยู่แล้ว ดังนั้น เราจึงให้สารละลาย $CaCl_2$ เข้าไปแบบสะสม (cumulative dose response) ในสารละลาย high potassium จึงมีปริมาณแคลเซียม อยู่ภายนอกเซลล์ และสามารถเคลื่อนเข้าสู่ในเซลล์ได้โดยผ่านทาง POC แล้วทำให้เกิดการหดตัวของหลอดเลือดขึ้นได้มากขึ้นเรื่อยๆ ตามขนาดของ $CaCl_2$ ที่ให้เพิ่มเข้าไปแบบสะสม

จากการทดลองพบว่า CU 18-05 และ CU 18-06 สามารถยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดหัวใจสุกรที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย $CaCl_2$ ในสภาวะ high potassium depolarizing ได้ แสดงว่า สาร CU 18-05 และ CU 18-06 สามารถยับยั้งการเพิ่มขึ้นของปริมาณแคลเซียมอิสระภายในเซลล์ได้โดยยับยั้งผ่านกลไกทาง POC ซึ่งอาจจะมีผลต่อ Ca^{2+} channel โดยตรงหรืออาจ จะเกิดจากหลายๆ กลไกร่วมกันก็ได้ ซึ่งกลไกการเกิดขึ้นจริงๆ นั้น ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด

การหดตัวของหลอดเลือดหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย $BaCl_2$ ในสารละลาย Ca^{2+} , HCO_3^- - free Krebs Henseleit

จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า Ba^{2+} สามารถทำให้หลอดเลือดหดตัวโดยผ่านกลไกทาง POC ได้ เนื่องจาก Ba^{2+} จะสามารถทำให้เกิด depolarization ที่เยื่อหุ้มเซลล์ของกล้ามเนื้อเรียบได้ แล้วมีผลให้เกิดการกระตุ้นผ่าน POC ทำให้เกิดการเพิ่มการเคลื่อนที่เข้าของแคลเซียมจากภายนอกเซลล์ เข้าสู่ภายในเซลล์ได้ นอกจากนี้ยังพบว่า Ba^{2+} เองก็ยังสามารถเคลื่อนที่ผ่านเข้าสู่เซลล์ทาง Ca^{2+} channel ได้ โดยพบว่า Ba^{2+} จะมี affinity ต่อ Ca^{2+} channel ได้ดีกว่า Ca^{2+} [Spedding และ Paoletti ; , 1992] การที่ $BaCl_2$ สามารถทำให้เกิด depolarize ขึ้น แล้วมีผลทำให้ POC เปิดออกนี่จะเป็นวิธีการที่ทำให้ปริมาณแคลเซียมอิสระภายในเซลล์เพิ่มขึ้นได้โดยสามารถเพิ่มการเคลื่อนที่เข้าของแคลเซียมจากภายนอกเซลล์ และยังสามารถกระตุ้นการปลดปล่อยของแคลเซียมจากแหล่งเก็บสะสมแคลเซียม (SR) ภายในเซลล์ได้อีกด้วย โดยอาจจะเกี่ยวข้องกับกลไกของ calcium – induce calcium release (CICR) [Ito และคณะ, 1986 ; Abe, Karaki และ Endoh, 1996] ซึ่งผลดังกล่าวที่เกิดขึ้นต้องอาศัยแคลเซียมจากภายนอกเซลล์ในการ

กระตุ้น แต่จากการทดลองนี้จะให้ BaCl_2 แบบสะสม แต่หลอดเลือดหัวใจในสารละลาย $\text{Ca}^{2+}, \text{HCO}_3^-$ free Krebs Henseleit ซึ่งเป็นภาวะที่ไม่มีแคลเซียมอยู่ภายนอกเซลล์ ดังนั้นการหดตัวของหลอดเลือดที่เกิดขึ้น จะต้องเกิดจากผลของการกระตุ้นจาก BaCl_2 ผ่านทาง POC โดยอาจจะไปมีในการกระตุ้นการปลดปล่อยของแคลเซียมจากแหล่งเก็บสะสมแคลเซียม (SR) ภายในเซลล์ หรืออาจจะเป็นผลจากการกระตุ้นที่เกิดจาก Ba^{2+} โดยตรง ทำให้เกิดการหดตัวของหลอดเลือดได้ ดังที่เคยมีการศึกษาที่ผ่านมาว่า Ba^{2+} สามารถทำให้หลอดเลือดของกระต่ายหดตัวได้โดยปราศจาก Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์และแหล่งเก็บสะสมแคลเซียมจากภายในเซลล์ (SR) แล้ว [Karaki, Satake และ Shibata, 1986]

จากการทดลองพบว่า CU 18-05 และ CU 18-06 สามารถยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดหัวใจสุกรที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย BaCl_2 ในสารละลาย $\text{Ca}^{2+}, \text{HCO}_3^-$ free Krebs Henseleit ได้ แสดงว่าสาร CU 18-05 และ CU 18-06 น่าจะสามารถยับยั้งการเพิ่มขึ้นของปริมาณ Ba^{2+} ภายในเซลล์ ผ่านทาง POC ที่มีผลทำให้เกิดการหดตัวได้ ซึ่งอาจจะผ่านทางกลไกใดกลไกหนึ่ง หรือหลายๆ กลไกร่วมกัน ดังที่ได้กล่าวไปแล้ว โดยไม่มีผลของแคลเซียมจากภายนอกเซลล์มาเกี่ยวข้องด้วย

3. ผลของสารทดสอบ (CU 763-15-13, CU 18-05 และ CU 18-06) ต่อการกระตุ้นหลอดเลือดหัวใจ ด้วย histamine และ caffeine ในสภาวะที่ปราศจากแคลเซียมภายนอกเซลล์

จากการศึกษา Aoki และคณะ (1994) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ของ papaverine ต่อการหดตัวของหลอดเลือดหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine และ caffeine ในสารละลาย Ca^{2+} free Krebs Henseleit เนื่องจากต้องการจะดูฤทธิ์ของ papaverine ว่าสามารถจะยับยั้งการปลดปล่อยของ Ca^{2+} จากแหล่งเก็บสะสมแคลเซียมภายในเซลล์ (SR) โดยการกระตุ้นด้วย histamine และ caffeine ได้หรือไม่ ซึ่งจากการศึกษาพบว่า histamine และ caffeine มีผลในการกระตุ้นให้เกิด Ca^{2+} อิสระภายในเซลล์ได้ โดยผ่านกลไกหลัก 2 ประการ คือ สามารถเพิ่มการปลดปล่อยของ Ca^{2+} อิสระภายในเซลล์ และสามารถเพิ่มการเข้าของ Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์ผ่านทาง Ca^{2+} channel ได้ [Hirano และคณะ, 1990; Chen และคณะ, 1996] และจากการทดลองจะทำในภาวะที่ปราศจากแคลเซียมจากภายนอกเซลล์ ดังนั้นจึงไม่สามารถเกิดผ่านกลไกที่ต้องอาศัยแคลเซียมจากภายนอกเซลล์ ผ่านทาง Ca^{2+} channel ได้ คงจะเกิดได้แต่กลไกที่ต้องอาศัย Ca^{2+} ภายในเซลล์เท่านั้น ซึ่งกลไกที่เกิดขึ้นจะมีความเกี่ยวข้องกับการปลดปล่อยแคลเซียมจากแหล่งเก็บสะสม SR เป็นหลัก จึงสามารถนำมาใช้ในการทดสอบฤทธิ์ของสารทดสอบว่ามีผลต่อการเปลี่ยนแปลงการปลดปล่อยของแคลเซียมภายในเซลล์ ซึ่งไม่เกี่ยวข้องกับกลไกการเคลื่อนที่เข้า

ผ่านทาง Ca^{2+} channel ได้ นอกจากนี้ยังมีรายงานพบว่า การกระตุ้นการปลดปล่อยของ Ca^{2+} จากแหล่งเก็บสะสมแคลเซียม (SR) ด้วย histamine นั้นจะเกิดการกระตุ้นที่คนละตำแหน่งจากการกระตุ้นด้วย caffeine [Matsumoto และคณะ, 1990] ซึ่งทำให้สามารถแบ่งกลไกการกระตุ้นการปลดปล่อยแคลเซียมจาก SR ได้ เป็น 2 แบบ คือ การกระตุ้นจาก histamine และจาก caffeine ซึ่งจากการทดลองของ Aoki และคณะ (1994) นั้น ได้สรุปไว้ว่า papaverine นั้นมีผลยับยั้งการปลดปล่อย Ca^{2+} จาก SR ด้วยกลไกการกระตุ้นด้วย histamine ได้ แต่ไม่มีผลยับยั้งการปลดปล่อย Ca^{2+} จากการกระตุ้นด้วย caffeine

จากการทดลอง พบว่า สารทั้ง 3 ชนิด (CU 763-15-13, CU 18-05 และ CU 18-06) มีผลสามารถยับยั้งการปลดปล่อยแคลเซียมจากแหล่งเก็บสะสม SR ได้ โดยพบว่าสามารถลดการกระตุ้นการหดตัวของหลอดเลือดจาก histamine ลงได้ ในการกระตุ้นครั้งที่ 1 ทำให้มีปริมาณแคลเซียมในแหล่งเก็บสะสมเหลืออยู่มากพอที่จะทำให้การกระตุ้นในครั้งที่ 2 ซึ่งไม่มีผลของสารทดสอบอยู่แล้ว นั้นสามารถเห็นผลการหดตัว เมื่อได้รับการกระตุ้นได้มากและชัดเจนกว่าในการกระตุ้นครั้งที่ 2 ของกลุ่มควบคุม จะเห็นได้ว่าผลของการยับยั้งการปลดปล่อยแคลเซียมจากแหล่งเก็บสะสมใน SR นั้น จะดูผลในการกระตุ้นครั้งที่ 2 เป็นสำคัญ ว่าสามารถเพิ่มการหดตัวได้มากขึ้นหรือไม่ เพราะถ้าเปรียบเทียบกับผลของการกระตุ้นด้วย caffeine ในลักษณะเดียวกันกับ histamine จะพบว่า ให้ผลในการลดการกระตุ้นการหดตัวของหลอดเลือดในครั้งที่ 1 ได้เช่นเดียวกับ histamine แต่อาจจะลดลงได้ไม่มากพอ เนื่องจากการลดลงของการหดตัวนี้ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ และในการกระตุ้นด้วย caffeine ในครั้งที่ 2 จึงไม่สามารถเห็นผลกระตุ้นที่ชัดเจนว่ามากขึ้นกว่ากลุ่มควบคุมหรือไม่ คงเห็นแต่เพียงว่าสามารถเกิดการหดตัวที่ใกล้เคียงกัน ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เช่นกัน และจากผลดังกล่าวนี้ ทำให้สามารถอธิบายได้ว่า ผลของสารทดสอบทั้ง 3 ชนิดนี้ มีผลในการยับยั้งการปลดปล่อยแคลเซียมจากแหล่งเก็บสะสมแคลเซียมภายในเซลล์ ที่ได้รับการกระตุ้นจาก histamine ได้ ซึ่งอาจจะเกี่ยวข้องกับกระบวนการทำงานของ phospholipase C (PLC) ทำให้มีการสร้าง IP_3 ลดลง จึงทำให้เหลือปริมาณ Ca^{2+} อยู่ในแหล่งเก็บสะสมแคลเซียมภายในเซลล์อยู่มากพอที่จะทำให้เกิดการกระตุ้นได้อีกในครั้งต่อไป เมื่อไม่มีผลของการยับยั้งของสารทดสอบอยู่แล้ว ดังนั้น จึงเกิดการหดตัวในการกระตุ้นครั้งที่ 2 ได้มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P(0.05)$) แต่พบว่า สารทดสอบทั้ง 3 ชนิด ต่อการกระตุ้นด้วย caffeine นั้น สามารถจะลดการกระตุ้นการหดตัวในครั้งที่ 1 ได้ แต่ไม่มากพอ ดังนั้นในการกระตุ้นครั้งที่ 2 เมื่อไม่มีผลของสารทดสอบอยู่แล้ว จึงไม่สามารถเห็นผลการกระตุ้นได้มากกว่ากลุ่มควบคุม แสดงว่าสารทดสอบทั้ง 3 ชนิด ก็น่าจะมีผลลดการกระตุ้นการหดตัวจาก caffeine ได้ ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับการกระตุ้นด้วย histamine แต่จะเกิดผลการยับยั้งที่น้อยกว่า histamine มาก จนไม่สามารถเห็นผลในการกระตุ้นในครั้งที่ 2 ว่าแตกต่างจากกลุ่มควบคุม หรือการลดลงของการหดตัว

เมื่อกระตุ้นด้วย caffeine นั้น อาจจะทำให้การยับยั้งปริมาณ Ca^{2+} ภายในเซลล์จากกลไกอื่น ซึ่งไม่มีผลในการลดการปลดปล่อย Ca^{2+} จากแหล่งเก็บสะสมใน SR ก็ได้ ทำให้การกระตุ้นในครั้งที่ 2 จึงให้ผลเช่นเดียวกับกลุ่มควบคุม ซึ่งกลไกที่เกี่ยวข้องจริงๆ ก็ยังไม่ทราบแน่ชัด แต่จากผลดังกล่าวนี้ก็พอที่จะสรุปได้ว่า ผลของสารทดสอบทั้ง 3 ชนิดนี้ น่าจะไม่มีผลในการยับยั้งการปลดปล่อยแคลเซียม จากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์ (SR) ได้ เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วย caffeine ที่ขนาดความเข้มข้นของสารทดสอบที่เข้าเท่ากับที่ใช้ในการยับยั้งการกระตุ้นด้วย histamine และจากเหตุผลนี้ก็ทำให้พอจะคาดได้ว่า ถ้าใช้สารทดสอบในขนาดความเข้มข้นที่สูงกว่านี้หลายๆ เท่าก็อาจจะทำให้มีผลในการยับยั้งกลไกการกระตุ้นจาก caffeine ได้เช่นกัน ซึ่งอย่างไรก็ตาม เราก็จะสรุปได้ว่า ความแรงของสารทดสอบในการยับยั้งด้วยกลไกการกระตุ้นด้วย histamine นั้น มากกว่า caffeine อย่างชัดเจนแน่นอน

สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ

ผลของ CU 763-15-13, CU 18-05 และ CU 18-06 สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด และกล้ามเนื้อเรียบที่อวัยวะอื่นๆ ได้ โดยสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งผ่านทาง POC ที่เกิดจากการกระตุ้นการหดตัวด้วย $CaCl_2$ ในสารละลาย high potassium depolarizing และการกระตุ้นการหดตัวด้วย $BaCl_2$ ในสารละลาย Ca^{2+}, HCO_3^- free Krebs Henseleit ได้ และพบว่ายังมีผลในการออกฤทธิ์ยับยั้งผ่านทาง ROC ด้วย ซึ่งจะให้ผลแตกต่างกันไป ตามชนิดของสารที่ใช้ในการกระตุ้นการหดตัว คือ เมื่อให้การกระตุ้นด้วย Ach พบว่า สาร CU 763-15-13 นั้น สามารถยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดหัวใจสุกร แต่ผลของสาร CU 18-05 และ CU 18-06 กลับไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งนี้ ซึ่งทำให้น่าจะสรุปได้ว่า สารทั้ง 2 นี้ อาจจะไม่มีการยับยั้งผ่านทาง muscarinic receptor ของหลอดเลือดก็เป็นได้ แต่เราพบว่า ในการกระตุ้นการหดตัวด้วย 5-HT และ histamine นั้น สารทั้ง 3 ชนิดให้ผลไปในทางเดียวกัน คือ สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดหัวใจสุกรได้ และพบว่า สาร CU 763-15-13 นั้นมีความแรงในการออกฤทธิ์ในการยับยั้งได้สูงที่สุด ส่วนในสาร CU 18-05 และ CU 18-06 นั้น ให้ผลในการยับยั้งใกล้เคียงกันเราจึงสามารถบอกถึงความสามารถของสารทดสอบทั้ง 3 ชนิด ในการยับยั้งผ่านทาง ROC ว่าเป็นแบบไม่เฉพาะเจาะจงต่อ receptor และอาจไม่มีผลยับยั้งที่ receptor บางชนิดได้ เช่น muscarinic receptor นอกจากนี้เรายังได้ทำการศึกษาเพิ่มเติม ในสภาวะที่ปราศจากแคลเซียมจากภายนอกเซลล์ จากการกระตุ้นการหดตัวด้วย histamine และ caffeine ทำให้ทราบถึงกลไกการออกฤทธิ์ของสารทดสอบทั้ง 3 ชนิดผ่านทาง ROC ที่มีความเกี่ยวข้องกับ Ca^{2+} จากภายในเซลล์เท่านั้นว่าจะสามารถถูกยับยั้งได้ด้วยสารทดสอบทั้ง 3 ชนิดนี้หรือไม่ และจากผลที่ได้

ก็พอจะสรุปได้ว่า สารทั้ง 3 ชนิด สามารถยับยั้งกลไกการกระตุ้นการหดตัวได้โดยจะเกี่ยวข้องกับ การลดการปลดปล่อย Ca^{2+} จากแหล่งเก็บสะสม SR เมื่อได้รับการกระตุ้นจาก histamine ได้ แต่ ในการกระตุ้นด้วย caffeine นั้น ผลการยับยั้งดังกล่าวยังไม่ชัดเจน เนื่องจากพบว่ากลไกการ กระตุ้นการหดตัวของ histamine และ caffeine จากแคลเซียมที่เกิดขึ้นภายในเซลล์นั้นมีกลไกการ เกิดที่คนละตำแหน่ง ซึ่งมีความแตกต่างกัน [Matsumoto และคณะ, 1990] จึงทำให้ขนาดความ เข้มข้นของสารทดสอบที่ใช้ในการยับยั้งการปลดปล่อยแคลเซียมจากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์ (SR) ที่ถูกกระตุ้นด้วย histamine ไม่สามารถมีผลยับยั้งการกระตุ้นด้วย caffeine ได้ แต่ก็ยังพบว่า สารทดสอบทั้ง 3 ชนิดก็มีผลในลดการหดตัวที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย caffeine ได้บ้าง ซึ่งอาจจะ ยับยั้งผ่านกลไกการปลดปล่อย Ca^{2+} จาก SR หรือ ยับยั้งที่กลไกอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับ Ca^{2+} ภายในเซลล์ก็ได้ ซึ่งคงต้องทำการศึกษาเพิ่มเติมอีก โดยอาจจะเพิ่มขนาดความเข้มข้นของสารทดสอบ ที่ใช้ยับยั้งให้มากกว่าเดิมหลายๆ เท่า เพื่อดูผลในการยับยั้งการปลดปล่อย Ca^{2+} จาก SR ว่า สามารถทำให้การกระตุ้นในครั้งที่ 2 เพิ่มสูงขึ้นได้หรือไม่

จากที่กล่าวมาทั้งหมดนั้น จะพบว่าสารทดสอบทั้ง 3 ชนิด มีผลสามารถยับยั้งการ หดตัวของหลอดเลือดหัวใจสุกรที่เกิดจากการกระตุ้น ผ่านทาง POC และ ROC ได้ ซึ่งผลผ่านทาง ROC พบว่าสามารถยับยั้งที่ G - protein coupled receptor ได้โดยผ่านทาง adenylate cyclase cascade ซึ่งเป็นผลจากการเพิ่มปริมาณ Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์ และผ่านทาง phosphoinosital cascade ซึ่งเป็นผลจากการเพิ่มปริมาณ Ca^{2+} จากภายในเซลล์ที่ทำให้เกิดการ ปลดปล่อย Ca^{2+} จากแหล่งเก็บสะสม SR เป็นหลักได้ (รายละเอียดต่างๆ ของทั้ง 2 กลไกนี้ได้ กล่าวไว้ในบทที่ 2 แล้ว) เราจึงสามารถสรุปได้ว่าผลของสารทดสอบทั้ง 3 ชนิดนี้ มีผลในการคลาย หลอดเลือดหัวใจสุกรได้ โดยผ่านหลายกลไกแบบไม่เฉพาะเจาะจง และผลของ CU 763-15-13 ที่ ได้ เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับสารทดลองที่ผ่านๆ ดังแสดงในตารางที่ 1 ก็พบว่ามีฤทธิ์ในการคลาย ตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้ในหลายๆ อวัยวะ และหลายๆ กลไกแบบไม่เฉพาะเจาะจง ส่วนผลของ CU 18-05 และ CU 18-06 นั้นยังมีการศึกษาอยู่น้อย จึงพอจะบอกได้เพียงว่ามีผลในการคลาย หลอดเลือดหัวใจสุกรได้ ดังกลไกที่กล่าวมาเท่านั้น ซึ่งคงต้องมีการทำการศึกษาต่อเพิ่มเติมใน อวัยวะอื่นๆ ต่อไป

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

- กฤษยา สายชุ่มอินทร์. 2541. ผลของ CU 763-15-13 ต่อการหดตัวของลำไส้เล็ก หลอดเลือดแดงใหญ่ที่แยกจากกระต่ายและหลอดเลือดแดงใหญ่ และ-tonaอสุจิที่แยกจากหนูขาว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต ภาควิชาเภสัชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- คณิดา ยิ้มศรีใส. 2542. การเปรียบเทียบผลของ CU 763-16-04 และ CU 763-15-13 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหนูขาวและผลของ CU 763-16-04 ต่อหลอดเลือดแดงใหญ่กระต่ายที่แยกจากกาย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต ภาควิชาเภสัชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ยุพิน สังวรินทะ,สุภีนันท์ อัญเชิญ, พยงค์ วณิกเกียรติ และ นพมาศ วงศ์วิทย์เดชา. 2539. เภสัชวิทยา. พิมพ์ครั้งที่3. กรุงเทพมหานคร : ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.
- วิสุจน์ วิจิตรนิเทศ และสมยศ วิจิตรเอกพันธ์. 2542. การสังเคราะห์และฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของอนุพันธ์ของเอซิล อะมิโนไพรีดีน. ปริญญาโทปริญญาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- อุ้นเรื่อน แก้วพินิจ. 2541. ผลของ CU 763-15-13 ต่อหน้าที่ทางชีวพลังงานของไมโทคอนเดรียที่แยกจากตับหนูขาว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต สหสาขาวิชาเภสัชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- อรชร อิงคานุวัฒน์. 2535. บทบาทของเยื่อหลอดเลือดต่อการออกฤทธิ์ของสารสื่อประสาทบางชนิดในหลอดเลือดแดงที่แยกจากหัวใจและไตของสุกร. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต สหสาขาวิชาเภสัชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ภาษาอังกฤษ

- Abe, F., Karaki, H. & Endoh, M. 1996. Effect of cyclopiazonic acid and ryanodine on cytosolic calcium and contraction in vascular smooth muscle. British Journal of Pharmacology 118 : 1711-1716.
- Abe, S., Kanaide, H. & Nakamura, M. 1990. Front-surface fluorometry with fura-2 and effects of nitroglycerine on cytosolic calcium concentrations and on tension in the coronary artery of the pig. British Journal of Pharmacology 101 : 545-552.

- Adelstein, R.S., Conti, M.A. & Hathaway, D.R. 1978. Phosphorylation of smooth muscle myosin light chain kinase by the catalytic subunit of adenosine 3':5'-monophosphate-dependent protein kinase. J. Biol. Chem. 253 : 8347-8350.
- Akbarali, H. I. & Giles, W. R. 1993. Ca^{2+} and Ca^{2+} -activate Cl^- currents in rabbit oesophageal smooth muscle. J. Physiol. 460 : 117-133.
- Aoki, H., Nishimura, J., Kobayashi, S., & Kanaide, H. 1994. Relationship between cytosolic calcium concentration and force in the papaverine-induced relaxation of medial strips of pig coronary artery. British Journal of Pharmacology 111 : 489-496.
- Arakawa, J., Hara, A., Xiao, C.Y., Hashizume, H., Ushikubi, F., & Abiko, Y. 1999. Inhibition of Na^+ channel or Na^+/H^+ exchange attenuates the hydrogen peroxide-induced derangements in isolated perfused rat heart. J. Pharm. Pharmacol. 51 : 1049-1058.
- Berne, R.M. & Levy, M.N. 1993. Physiology. 3rd ed. The United State of America : Mosby –Year Book. pp.402-403.
- Berridge, M. J. 1993. Inositol triphosphate and calcium signalling. Nature 361 : 315-325.
- Bolton, T.B. 1979. Mechanism of action of transmitters and other substances on smooth muscle. Physiology Review 59 : 606-718.
- Bychkov, R., Gallasch, M., Riedel, C., Luft, F.C., Haller, H. 1997. Regulation of spontaneous transient outward potassium currents in human coronary arteries. Circulation 95 : 503-510.
- Calderone, V. & Martinotti, E. 2000. Potassium Channels : K_{ATP} and BK_{Ca} in vascular smooth muscle. Pharm. Pharmacol. Commun. 6 : 247-253.
- Chen, T.H., Lee, B., Yang, C. & Walter, H.H. 1996. Effects of caffeine on intracellular calcium release and calcium influx in a clonal β -cell line RINm5F. Life Sciences 58(12) : 983-990.

- Cohen, M.L., Fuller, R.W. & Wiley, K.S. 1981. Evidence for 5-HT₂ receptors mediating contraction in vascular smooth muscle. J. Pharmacol. Exp. Ther. 218 : 421-425.
- Collins, P. 1991. Endothelium - derived relaxing factor. Cardiology in practice. 13(11) : 2-17.
- Connor, J.E., Feniuk, W. & Humphrey, P.P.A. 1989. 5-hydroxytryptamine contracts human coronary arteries predominantly via 5-HT₂ receptor activation. Eur. J. Pharmacol. 161 : 91-94.
- Cushing, D.J. & Cohen, M.L. 1992. Comparison of the serotonin receptors that mediate smooth muscle contraction in canine and porcine coronary artery. J. Pharmacol. Exp. Ther. 261(1) : 856-862.
- Eglen, R.M., Reddy, H., Watson, N. & Challiss, R.A.J. 1994. Muscarinic acetylcholine receptor subtypes in smooth muscle. Trends in Pharmacological Sciences 15 : 114-119.
- Furchgott, R. F. 1984. The role of endothelium in the responses of vascular smooth muscle to drugs. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 24 : 175-197.
- Furchgott, R.F. & Zawadzki, J.V. 1980. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. Nature. 288 : 373-376.
- Ganitkevich, V. Y., & Isenberg, G. 1992. Caffeine-induced release and reuptake of Ca²⁺ by Ca²⁺ stores in myocytes from guinea-pig urinary bladder. J. Physiol. (Lond.) 458 : 99-117.
- Gaul, G., Gierschik, P. & Marme, D. 1988. Pertussis toxin inhibits angiotensin II-mediated phosphatidylinositol breakdown and ADP ribosylates a 40-kD protein in cultured smooth muscle cells. Biochem. Biophys. Res. Commun. 150 : 841-847.
- Goldhaber, J. I. 1996. Free radicals enhance Na⁺/Ca²⁺ exchange in ventricular myocytes. Am. J. Physiol. 271 : H823-H833.

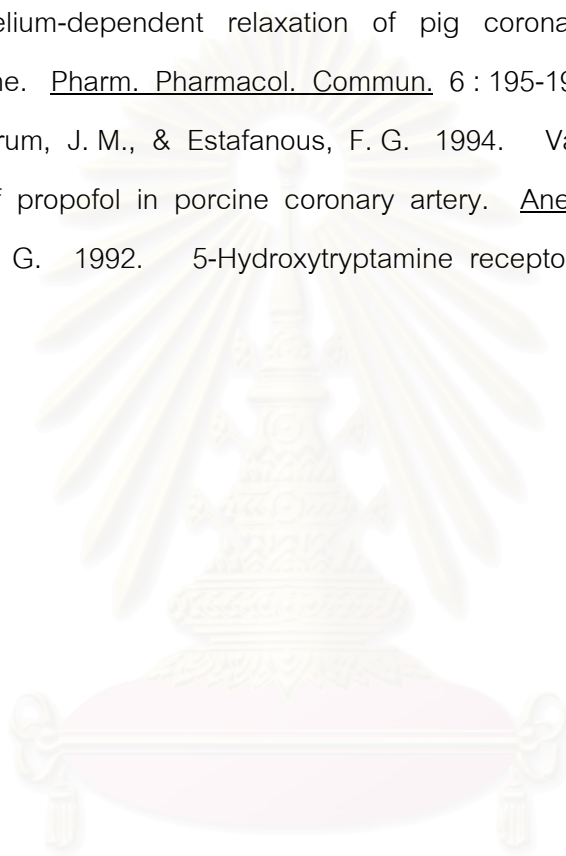
- Gollasch, M., Hescheler, J., Quayle, J., Patlak, J., Nelson, M.T. 1992. Single calcium channel currents from arterial smooth muscle at physiological calcium concentrations. Am. J. Physiol. 263 : C948-C952.
- Graser, T., Leisner, H. & Teiedt, N. 1986. Absence of role of endothelium in the response of isolated porcine coronary arteries to acetylcholine. Circ. Res. 20 : 299-302.
- Hamlyn, J. M., Blaustein, M. P., Bova, S., Du-Charme, D. W., Harris, D. W., Mandel, F., Mathews, W. R., & Ludens, J. H., 1991. Identification and characterization of a ouabain-like compound from human plasma. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81 : 6259-6263.
- Han, S.Z., Karaki, H., Ouchi, Y., Akishita, M. & Orimo, H. 1995. 17β -Estradiol inhibits Ca^{2+} influx and Ca^{2+} release induced by thromboxane A_2 in porcine coronary artery. Circulation 91 : 2619-2626.
- Harden, T.K., Kadowitz, M.J., Langton, P.D. & Wells, P.N. 1986. Characteristics of two biochemical response to stimulation of muscarinic cholinergic receptors. Trends in Pharmacological Sciences Supplement : 14-18.
- Hirano, K., Kanaide, H., Abe, S. & Nakamura, M. 1991. Temporal changes in the calcium-force relation during histamine-induced contractions of strips of the coronary artery of the pig. British Journal of Pharmacology 102 : 27-34.
- Hirano, K., Kanaide, H., Abe, S. & Nakamura, M. 1990. Effects of diltiazem on calcium concentrations in the cytosol and on force of contractions in porcine coronary arterial strips. British Journal of Pharmacology 101 : 273-280.
- Horowitz, A., Kall, I.P., Donaldson, J. & Hill, S.J. 1996. Mechanism of smooth muscle contraction. Physiology Reviews 76 : 967-1003.
- Hoyer, D., Jonti, M.A., Mathaway, D.R. & Scripm, Z.D. 1994. International union of pharmacology classification of receptors for 5-hydroxytryptamine (serotonin). Pharmacological Reviews 46(2) : 157-201.

- Ito, K., Takakura, S., Sato, K. & Sutko, J.L. 1986. Ryanodine inhibits the release of calcium from intracellular stores in guinea pig aortic smooth muscle. Circ. Res. 58 : 730-734.
- Ito, Y., Kitamura, K., & Kuriyama, H. 1979. Effects of acetylcholine and catecholamines on the smooth muscle of porcine coronary artery. J. Physiol. 294 : 595-611.
- Itoh, T., Kajiwara, M., Kitamura K. & Kuriyama, H. 1981. Effects of vasodilator agents on smooth muscle cells of the coronary artery of the pig. British Journal of Pharmacology 74 : 455-468.
- Itoh, T., Kubota, Y. & Kuriyama, H. 1988. Effects of a phorbol ester on acetylcholine-induced Ca^{2+} mobilization and contraction in the porcine coronary artery. J. Physiol. 397 : 401-419.
- Kamm, K.E. & Stull, J. 1985. The function of myosin and myosin light chain kinase phosphorylation in smooth muscle. Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 25 : 593-620.
- Karaki, H., Ozaki, S., Hori, M., Mitsui-Saito, M., Amano, K.I., Harada, K.I., Miyamoto, S., Nakazawa, H., Won, K.J. & Sato, K. 1997. Calcium movement distribution and functions in smooth muscle. Pharmacol. Review 49(2) : 157-230.
- Karaki, H., Satake, N. & Shibata, S. 1986. Mechanism of barium-induced contraction in the vascular smooth muscle of rabbit aorta. British Journal of Pharmacology 88 : 821-826.
- Karaki, H. & Weiss, G.B. 1988. Calcium release in smooth muscle. Life Sciences 42 : 111-122.
- Kawakami, M. & Okabe, E. 1998. Superoxide anion radical-triggered Ca^{2+} release from cardiac sarcoplasmic reticulum through ryanodine receptor Ca^{2+} channel. Molecular pharmacology 53 : 497-503.
- Khan, S. A., Higdon, N. R., & Meisheri, K. D. 1998. Coronary vasorelaxation by nitroglycerine: involvement of plasmalemmal calcium-activated K^+ channels and intracellular Ca^{++} stores. J. Pharmacol. Exp. Ther. 284 : 838-846.

- Kim, M.S., Akera, T. 1987. O₂ free radicals: cause of ischemia-reperfusion injury to cardiac Na⁺-K⁺-ATPase. Am. J. Physiol. 252 : H252- H257.
- Kitazawa, T., Kobayashi, S., Horiuti, K. & Somlyo, A.V. 1989. Receptor-coupled, permeabilized smooth muscle – role of phosphatidylinositol cascade, G-proteins and modulation of the contractile response to Ca²⁺. J. Biol. Chem. 264 : 5339-5342.
- Lossnitzer, K., Pfennigsdorf, G. & Brauer, H. 1983. Myocardium vessels calcium. Mainz : Erasmusdruck GmbH. pp. 22-24.
- Maddaford, T. G. & Pierce, G. N. 1997. Myocardial dysfunction is associated with activation of Na⁺/H⁺ exchange immediately during reperfusion. Am. J. Physiol. 273 : H2232-H2239.
- Matsumoto, T., Kanaide, H., Shogakiuchi, Y. & Nakamura, M. 1990. Characteristics of the histamine-sensitive calcium store in vascular smooth muscle: comparison with norepinephrine or caffeine-sensitive stores. J. Biol. Chem. 256 : 5610-5616.
- Miller-Hance, M. C., Miller, J. R., Wells, J. N., Stull, J. T. & Kamm, K. E. 1988. Biochemical events associated with activation of smooth muscle contraction. J. Biol. Chem. 263 : 13979-13982.
- Murphy, R.A. 1993. Smooth muscle. In R.M. Berna & M.N. Levy. Physiology. 3rd ed. New York : Mosby-Years Book. pp. 309-324.
- Nelson, M.T., Patlak, J.B., Worley, J.F., Standen, N.B. 1990. Calcium channels, potassium channels, and voltage dependence of arterial smooth muscle tone. Am. J. Physiol. 259 : C3-C18.
- Nelson, M.T. & Quayle, J.M. 1995. Physiological roles and properties of potassium channels in arterial smooth muscle. Am. J. Physiol. 268 : C799-C822.
- Ngai, J.H., Roth, P.S. & Pual, R.J. 1989. Effect of endothelium on basal tone and agonist and O₂ sensitivity in porcine coronary artery. J. Pharmacol. and Exper. Ther. 252 : 1053-1059.

- Nishimura, J., Kolber, M. & Van Breemen, C. 1988. Norepinephrine and GTP-r-S increase myofilament Ca^{2+} sensitivity in α -toxin permeabilized arterial smooth muscle. Biochem. Biophys. Res. Commun. 157 : 677-683.
- Nishimura, J. & Van Breemen, C. 1989. Direct regulation of smooth muscle contractile elements by second messengers. Biochem. Biophys. Res. Commun. 163 : 929-935.
- Park, J. I., Shin, C.Y., Lee, Y.W., HUH, I.H. & Sohn, U.D. 2000. Endothelium-dependent sensory non-adrenagic non-cholinergic vasodilatation in rat thoracic aorta : involvement of ATP and a role for NO. J. Pharm. Pharmacol. 52 : 409-416.
- Peroutka, S.J. 1993. 5-Hydroxytryptamine receptors. J. Neurochem. 60 : 408-416.
- Rang, H.P. & Dale, M.M. 1991. Pharmacology 2nd ed. Edinburgh : Churchill Livingstone. pp.125-280.
- Richards, M.H. 1991. Pharmacology and second messenger interactions of cloned muscarinic receptors. Biochemical Pharmacology 42(9) : 1645-1653.
- Spedding, M. & Paoletti, R. 1992. Classification of calcium channels and the sites of action of drugs modifying channel function. Pharmacol. Review 44(3) : 363-376.
- Suematsu, E., Resnick, M. & Morgan, K.G. 1991. Ca^{2+} independent change in phosphorylation of the myosin light chain during relaxation of ferret aorta by vasodilators. J. Physiology 440 : 85-93.
- Suthamnatpong, N., Maehara, T., Kanada, A., Takeuchi, T. & Hata, F. 1993. Dissociation of cyclic GMP level from relaxation of the distal, but not the proximal colon of rats. Japan J. Pharmacol. 62 :387-393.
- Suthamnatpong, N., Hosokawa, M., Takeuchi, T., Hata, F. & Takewaki, T. 1994. Nitric oxide-mediated inhibitory response of rat proximal colon : independence from changes in membrane potential. British Journal of Pharmacology 112 : 676-682.
- Vanhoutte, P.M. 1996. Endothelium – derived hyperpolarizing factor. 1st ed. Amsterdam, Netherlands : Harwood Academic Publishers GmbH. pp. 153-172.

- Van Rossum, J.M., J.A. Th.M. Hurkmans, & C.J.J. Wolters. 1963. Cumulative dose-response curve I. technique for the making of dose response curves in isolated organs and the evaluation of drugs-parameter. Arch. Int. Pharmacodyn. 143 : 299-330.
- Yamaki, F., Tanaka, H.m Shigenobu, K. & Tanaka, Y. 2000. Nitric oxide accounts for endothelium-dependent relaxation of pig coronary artery in response to noradrenaline. Pharm. Pharmacol. Commun. 6 : 195-199.
- Yamanoue, T., Brum, J. M., & Estafanous, F. G. 1994. Vasodilation and mechanism of action of propofol in porcine coronary artery. Anesthesiology 81 : 443-451.
- Zifa, E. & Fillion, G. 1992. 5-Hydroxytryptamine receptors. Pharmacol. Rev. 44 : 401-458.



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารกระตุ้นมาตรฐานการหดตัว	NE	Ach	5-HT	histamine	CaCl ₂ (High K ⁺)	BaCl ₂ (HCO ₃ ⁻ , ca ²⁺ free)	histamine (ca ²⁺ free)	caffeine (ca ²⁺ free)
1. หลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว								
CU 763-15-13	↓		↓					
CU 18-05	↓							
CU 18-06	↓							
2. หลอดเลือดแดงใหญ่กระต่าย								
CU 763-15-13	↔		↓					
3. หลอดเลือดดำและแดงสายสะดือมนุษย์								
CU 763-15-13	↔	↔	↓	↓	↓	↓		
4. กระเพาะอาหารหนูขาว								
CU 763-15-13		↓	↓		↓			
5. ลำไส้เล็กกระต่าย								
CU 763-15-13		↓				↓		
CU 18-05		↓						
CU 18-06		↓						
6. ท่อน้ำอสุจิหนูขาว								
CU 763-15-13	↔		↓					
CU 18-05	↔							
CU 18-06	↓							
7. หลอดเลือดแดงหัวใจสุกร								
CU 763-15-13		↓	↓	↓	↓		↓	↔
CU 18-05		↔	↓	↓	↓	↓	↓	↔
CU 18-06		↔	↓	↓	↓	↓	↓	↔

ตารางที่ 1 แสดงผลของ CU 763-15-13, CU 18-05 และ CU 18-06 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบเมื่อได้รับการกระตุ้นด้วย NE, Ach, 5-HT, histamine, CaCl₂ (High K⁺), BaCl₂ (HCO₃⁻, ca²⁺ free), histamine (ca²⁺ free), caffeine (ca²⁺ free)

ชนิดของสารละลายที่ใช้ องค์ประกอบ (mM/l.)	Krebs-Henseleit	Ca ²⁺ -free KHS	High K ⁺ - depolarizing	Ca ²⁺ and HCO ₃ ⁻ free KHS
Sodium chloride	118.0	118.0	27.0	136.9
potassium chloride	4.7	4.7	100.0	5.4
magnesium chloride	-	2.52	0.54	1.0
magnesium sulfate	1.64	1.64	-	-
calcium chloride	2.52	-	-	-
sodium bicarbonate	24.88	24.88	14.00	-
potassium dibasic- phosphate	1.18	1.18	-	-
glucose	11.10	11.10	11.10	11.10
EGTA	-	0.10	-	0.10
Tris buffer	-	-	-	23.8
Purified water qs.	1 lt.	1 lt.	1 lt.	1 lt.

ตารางที่ 2 แสดงส่วนประกอบของสารละลาย standard physiological ที่ใช้ในการทดลอง

จำนวนการทดลอง (n)	% contraction (Ach)							
	1x10 ⁻⁷ M		1x10 ⁻⁶ M		1x10 ⁻⁵ M		1x10 ⁻⁴ M	
	control	DMSO	control	DMSO	control	DMSO	control	DMSO
1	0.00	0.00	10.34	17.24	100.00	96.55	96.55	89.65
2	0.00	0.00	38.46	23.07	92.30	84.61	100.00	92.30
3	0.00	0.00	44.44	22.22	88.88	88.88	100.00	88.88
4	13.72	21.56	62.74	62.74	98.03	98.03	100.00	109.80
5	8.92	17.85	51.78	80.35	96.42	128.57	100.00	135.71
6	0.00	0.00	0.00	0.00	83.33	83.33	100.00	83.33
Mean	3.77	6.56	34.62	34.27	93.16	96.66	99.42	99.93
S.E	2.46	4.18	9.97	12.47	2.56	6.84	0.57	8.04
P' value	0.176		0.963		0.576		0.951	

ตารางที่ 3 แสดงข้อมูลของ DMSO ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย Ach

จำนวนการทดลอง (n)	% contraction (Ach) ใช้สารทดสอบ [1×10^{-6} M]							
	1×10^{-7} M		1×10^{-6} M		1×10^{-5} M		1×10^{-4} M	
	control	CU 763-15-13	control	CU 763-15-13	control	CU 763-15-13	control	CU 763-15-13
1	0.00	0.00	56.66	26.66	93.33	90.00	100.00	100.00
2	0.00	0.00	44.44	22.22	88.88	88.88	100.00	100.00
3	13.72	0.00	62.74	13.72	98.03	49.01	100.00	52.94
4	8.92	7.14	51.78	50.00	96.42	73.21	100.00	78.57
5	17.39	0.00	52.17	0.00	91.30	4.34	100.00	34.78
6	0.00	0.00	34.48	31.03	93.10	96.55	100.00	100.00
7	16.36	0.00	58.18	9.09	100.00	65.45	100.00	65.45
8	0.00	0.00	32.07	15.09	100.00	83.01	92.72	76.36
9	0.00	4.49	42.69	41.57	100.00	110.11	98.87	107.86
Mean	6.26	1.29	48.35	23.26	95.67	73.39	99.00	79.32
S.E	2.59	0.88	3.54	5.30	1.39	10.48	0.80	8.32
P' value	0.112		0.007		0.063		0.046	

ตารางที่ 4 แสดงข้อมูลของ CU 763-15-13 (1.0×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย Ach

จำนวนการทดลอง (n)	% contraction (Ach)							
	1x10 ⁻⁷ M		1x10 ⁻⁶ M		1x10 ⁻⁵ M		1x10 ⁻⁴ M	
	control	CU 763-15-13	control	CU 763-15-13	control	CU 763-15-13	control	CU 763-15-13
1	0.00	0.00	56.66	20.00	93.33	80.00	100.00	93.33
2	0.00	0.00	20.00	14.28	100.00	91.42	57.14	31.42
3	0.00	0.00	23.07	0.00	92.30	7.69	100.00	30.76
4	0.00	0.00	38.46	7.69	92.30	61.53	100.00	76.92
5	0.00	5.00	44.44	11.11	88.88	66.66	100.00	77.77
6	13.72	0.00	62.74	0.00	98.03	35.29	100.00	37.25
7	8.92	0.00	51.78	0.00	96.42	37.50	100.00	42.85
8	0.00	0.00	34.48	0.00	93.10	65.51	100.00	75.86
9	16.36	0.00	58.18	0.00	100.00	36.36	100.00	40.00
10	0.00	0.00	32.07	0.00	100.00	43.39	96.22	50.94
11	0.00	0.00	42.69	22.47	92.13	92.13	98.87	92.13
Mean	3.54	0.00	42.23	6.86	95.13	56.13	95.65	59.02
S.E	1.90	0.00	4.28	2.65	1.17	7.98	3.86	7.35
P' value	0.092		0.000		0.001		0.000	

ตารางที่ 5 แสดงข้อมูลของ CU 763-15-13 (2.5×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย Ach

จำนวนการทดลอง (n)	% contraction (Ach)							
	1×10^{-7} M		1×10^{-5} M		1×10^{-4} M		1×10^{-3} M	
	control	CU 18-05	control	CU 18-05	control	CU 18-05	control	CU 18-05
1	0.00	1.00	50.00	43.00	100.00	95.00	98.00	95.00
2	1.00	2.00	64.00	45.00	100.00	84.00	95.00	84.00
3	0.00	0.00	47.00	42.00	100.00	100.00	94.00	96.00
4	0.00	0.00	50.00	46.00	100.00	104.00	98.00	104.00
5	0.00	0.00	49.00	38.00	100.00	92.00	98.00	87.00
6	1.00	0.00	64.00	60.00	100.00	121.00	95.00	120.00
7	4.00	4.00	55.00	41.00	100.00	92.00	100.00	95.00
8	4.00	0.00	54.00	48.00	100.00	93.00	98.00	95.00
Mean	1.25	0.87	54.12	45.37	100.00	97.62	97.00	97.00
S.E	0.61	0.51	2.34	2.35	0.00	3.94	0.73	3.91
P' value	0.528		0.003		0.566		1.000	

ตารางที่ 6 แสดงข้อมูลของ CU 18-05 (2.5×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย Ach

จำนวนการทดลอง (n)	% contraction (Ach)							
	1x10 ⁻⁷ M		1x10 ⁻⁶ M		1x10 ⁻⁵ M		1x10 ⁻⁴ M	
	control	CU 18-06	control	CU 18-06	control	CU 18-06	control	CU 18-06
1	4.00	1.00	54.00	42.00	100.00	94.00	98.00	98.00
2	0.00	0.00	60.00	60.00	94.00	81.00	100.00	80.00
3	5.00	3.00	73.00	68.00	97.00	103.00	100.00	103.00
4	0.00	20.00	60.00	90.00	100.00	120.00	100.00	120.00
5	16.00	6.00	74.00	87.00	100.00	126.00	100.00	126.00
6	12.00	5.00	69.00	51.00	95.00	93.00	100.00	95.00
7	10.00	0.00	70.00	42.00	99.00	80.00	100.00	83.00
8	9.00	0.00	47.00	25.00	97.00	88.00	100.00	88.00
9	4.00	0.00	54.00	43.00	100.00	98.00	98.00	102.00
10	7.00	3.00	77.00	66.00	100.00	94.00	99.00	95.00
11	0.00	0.00	61.00	28.00	100.00	111.00	94.00	111.00
Mean	6.09	3.45	63.54	54.72	98.36	98.90	99.00	100.09
S.E	1.59	1.78	2.92	6.52	0.67	4.49	0.55	4.36
P' value	0.320		0.139		0.899		0.814	

ตารางที่ 7 แสดงข้อมูลของ CU 18-06 (2.5×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย Ach

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

จำนวนการทดลอง (n)	% contraction (5-HT)							
	1x10 ⁻⁸ M		1x10 ⁻⁷ M		1x10 ⁻⁶ M		1x10 ⁻⁵ M	
	control	CU 763-15-13	control	CU 763-15-13	control	CU 763-15-13	control	CU 763-15-13
1	0.00	0.00	0.00	0.00	25.00	0.00	100.00	0.00
2	0.00	0.00	0.00	0.00	25.00	6.25	100.00	62.50
3	0.00	0.00	0.00	0.00	84.21	26.30	100.00	63.15
4	0.00	0.00	16.66	0.00	58.33	0.00	100.00	41.66
5	10.00	0.00	10.00	0.00	45.00	0.00	100.00	55.00
6	0.00	0.00	0.00	0.00	66.66	0.00	100.00	0.00
7	0.00	0.00	0.00	0.00	38.46	0.00	100.00	30.76
8	28.57	0.00	28.57	0.00	28.57	28.57	100.00	128.57
Mean	4.28	0.00	6.90	0.00	46.40	7.44	100.00	47.71
S.E	3.61	0.00	3.80	0.00	7.65	4.39	0.00	14.59
P' value	0.224		0.113		0.002		0.009	

ตารางที่ 8 แสดงข้อมูลของ CU 763-15-13 (1.0×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย 5-HT

จำนวนการทดลอง (n)	% contraction (5-HT)							
	1x10 ⁻⁸ M		1x10 ⁻⁷ M		1x10 ⁻⁶ M		1x10 ⁻⁵ M	
	control	CU 18-05	control	CU 18-05	control	CU 18-05	control	CU 18-05
1	0.00	0.00	0.00	0.00	14.28	0.00	100.00	42.85
2	0.00	25.00	0.00	25.00	0.00	37.50	100.00	75.00
3	0.00	0.00	0.00	0.00	10.52	0.00	100.00	57.89
4	0.00	4.16	8.33	8.33	33.33	20.83	100.00	54.16
5	0.00	0.00	25.00	0.00	65.62	3.12	100.00	21.87
6	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	100.00	40.00
7	0.00	0.00	0.00	0.00	33.33	0.00	100.00	22.22
8	0.00	0.00	13.33	0.00	40.00	0.00	100.00	0.00
Mean	0.00	3.64	5.83	4.16	24.63	7.68	100.00	39.24
S.E	0.00	3.09	3.27	3.14	8.00	4.96	0.00	8.44
P' value	0.277		0.749		0.151		0.000	

ตารางที่ 9 แสดงข้อมูลของ CU 18-05 (2.5x10⁻⁵ M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย 5-HT

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

จำนวนการทดลอง (n)	% contraction (5-HT)							
	1x10 ⁻⁷ M		1x10 ⁻⁷ M		1x10 ⁻⁶ M		1x10 ⁻⁵ M	
	control	CU 18-06	control	CU 18-06	control	CU 18-06	control	CU 18-06
1	0.00	0.00	0.00	0.00	10.52	0.00	100.00	47.36
2	0.00	0.00	0.00	0.00	15.78	5.26	100.00	42.10
3	0.00	0.00	0.00	0.00	14.28	42.85	100.00	157.14
4	0.00	0.00	0.00	0.00	26.92	3.84	100.00	69.23
5	0.00	0.00	0.00	0.00	19.04	0.00	100.00	57.14
6	0.00	0.00	0.00	0.00	59.25	25.92	100.00	66.66
7	6.25	0.00	6.25	0.00	43.75	18.75	100.00	75.00
8	0.00	0.00	0.00	0.00	34.61	0.00	100.00	30.76
9	0.00	0.00	0.00	0.00	28.57	7.14	100.00	35.71
Mean	0.69	0.00	0.69	0.00	28.08	11.53	100.00	64.57
S.E	0.69	0.00	0.69	0.00	5.20	4.90	0.00	12.60
P' value	0.347		0.347		0.030		0.023	

ตารางที่ 10 แสดงข้อมูลของ CU 18-06 (2.5x10⁻⁵ M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย 5-HT

จำนวนการทดลอง (n)	% contraction (Histamine) ใช้สารทดสอบ[1×10^{-5} M]							
	1×10^{-7} M		1×10^{-6} M		1×10^{-5} M		1×10^{-4} M	
	control	CU 763-15-13	control	CU 763-15-13	control	CU 763-15-13	control	CU 763-15-13
1	3.70	0.00	11.11	0.00	59.25	0.00	100.00	100.00
2	3.38	0.00	6.77	0.00	46.61	17.79	100.00	83.05
3	3.70	0.00	11.11	0.00	59.25	14.81	100.00	100.00
4	3.38	0.00	6.77	0.00	46.61	31.35	100.00	94.91
5	0.00	5.00	0.83	7.50	25.00	22.50	100.00	68.33
6	0.00	0.00	0.83	0.83	25.00	16.66	100.00	66.66
7	0.00	0.00	12.50	0.00	37.50	12.50	100.00	62.50
8	0.00	0.00	5.26	0.00	42.10	31.57	100.00	84.21
Mean	1.77	0.62	6.89	1.04	42.66	18.39	100.00	82.45
S.E	0.67	0.62	1.59	0.92	4.69	3.65	0.00	5.38
P' value	0.322		0.037		0.01		0.014	

ตารางที่ 11 แสดงข้อมูลของ CU 763-15-13 (1.0×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine

จำนวนการทดลอง (n)	% contraction (Histamine) ใช้สารทดสอบ[2.5×10^{-5} M]							
	1×10^{-7} M		1×10^{-6} M		1×10^{-5} M		1×10^{-4} M	
	control	CU 763-15-13	control	CU 763-15-13	control	CU 763-15-13	control	CU 763-15-13
1	0.00	0.00	0.00	0.00	38.39	0.00	100.00	61.60
2	0.00	0.00	5.55	2.77	69.44	44.44	100.00	79.16
3	0.00	0.00	0.00	0.00	51.78	17.85	100.00	75.00
4	0.00	0.00	0.00	0.00	24.56	0.00	100.00	36.84
5	0.00	0.00	5.00	0.00	15.00	0.00	100.00	60.00
Mean	0.00	0.00	2.11	0.55	39.83	12.45	100.00	62.52
S.E	0.00	0.00	1.29	0.55	9.67	8.71	0.00	7.41
P' value	none		0.200		0.003		0.007	

ตารางที่ 12 แสดงข้อมูลของ CU 763-15-13 (2.5×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine

จำนวนการทดลอง (n)	% contraction (Histamine) ใช้สารทดสอบ[1×10^{-4} M]							
	1×10^{-7} M		1×10^{-6} M		1×10^{-5} M		1×10^{-4} M	
	control	CU 18-05	control	CU 18-05	control	CU 18-05	control	CU 18-05
1	4.00	8.00	12.00	12.00	40.00	16.00	100.00	76.00
2	0.00	0.00	0.00	0.00	9.30	0.00	100.00	81.39
3	0.00	0.00	0.00	0.00	26.00	0.00	100.00	48.00
4	2.73	2.73	6.84	4.10	43.83	36.98	100.00	89.04
5	0.00	0.00	0.00	0.00	59.18	51.02	100.00	83.67
6	0.00	3.89	0.00	10.38	37.66	42.85	100.00	83.11
7	0.00	0.00	0.00	26.08	60.86	80.43	100.00	130.43
8	3.15	0.00	9.47	0.00	57.89	42.10	100.00	92.63
Mean	1.23	1.82	3.53	6.57	41.84	33.67	100.00	85.53
S.E	0.61	1.03	1.79	3.28	6.34	9.66	0.00	8.02
P' value	0.497		0.452		0.168		0.114	

ตารางที่ 13 แสดงข้อมูลของ CU 18-05 (1.0×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine

จำนวนการทดลอง (n)	% contraction (Histamine) ใช้สารทดสอบ[2.5×10^{-5} M]							
	1×10^{-4} M		1×10^{-5} M		1×10^{-6} M		1×10^{-3} M	
	control	CU 18-05	control	CU 18-05	control	CU 18-05	control	CU 18-05
1	0.00	0.00	1.51	0.00	50.00	34.84	100.00	81.81
2	0.00	0.00	0.00	0.00	32.83	7.46	100.00	79.10
3	0.00	0.00	0.00	0.00	38.39	16.07	100.00	90.17
4	0.00	0.00	2.89	0.00	57.97	42.02	100.00	89.85
5	0.00	0.00	0.00	0.00	16.66	0.00	100.00	83.33
Mean	0.00	0.00	0.88	0.00	39.17	20.07	100.00	84.85
S.E	0.00	0.00	0.58	0.00	7.13	7.99	0.00	2.21
P' value	none		0.205		0.001		0.002	

ตารางที่ 14 แสดงข้อมูลของ CU 18-05 (2.5×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine

จำนวนการทดลอง (n)	% contraction (Histamine) ใช้สารทดสอบ[1×10^{-5} M]							
	1×10^{-7} M		1×10^{-5} M		1×10^{-6} M		1×10^{-4} M	
	control	CU 18-06	control	CU 18-06	control	CU 18-06	control	CU 18-06
1	0.00	5.26	0.00	10.52	36.84	26.31	100.00	89.47
2	0.00	0.00	0.00	0.00	27.77	0.00	100.00	77.77
3	8.33	0.00	20.83	0.00	37.50	8.33	100.00	25.00
4	0.00	0.00	0.00	0.00	37.03	24.07	100.00	87.03
5	0.00	0.00	0.00	0.00	10.25	0.00	100.00	84.61
6	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	100.00	0.00
7	0.00	0.00	0.00	4.54	9.09	18.18	100.00	140.90
8	1.69	10.16	52.54	30.50	57.62	61.01	100.00	135.59
Mean	1.25	1.92	9.17	5.69	27.01	17.23	100.00	80.04
S.E	1.03	1.34	6.71	3.78	6.78	7.33	0.00	17.10
P' value	0.706		0.428		0.085		0.282	

ตารางที่ 15 แสดงข้อมูลของ CU 18-06 (1.0×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

จำนวนการทดลอง (n)	% contraction (Histamine) ใช้สารทดสอบ[2.5×10^{-5} M]							
	1×10^{-7} M		1×10^{-6} M		1×10^{-5} M		1×10^{-4} M	
	control	CU 18-06	control	CU 18-06	control	CU 18-06	control	CU 18-06
1	0.00	0.00	0.00	0.00	40.74	14.81	100.00	79.62
2	0.00	0.00	0.00	0.00	50.00	42.18	100.00	93.75
3	0.00	0.00	0.00	0.00	30.00	3.33	100.00	66.66
4	0.00	0.00	2.27	0.00	40.90	18.18	100.00	75.00
5	0.00	0.00	0.00	0.00	16.66	0.00	100.00	33.33
Mean	0.00	0.00	0.45	0.00	36.66	15.70	100.00	69.67
S.E	0.00	0.00	0.45	0.00	5.70	7.44	0.00	10.09
P' value	none		0.374		0.005		0.040	

ตารางที่ 16 แสดงข้อมูลของ CU 18-06 (2.5×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine

จำนวนการทดลอง (n)	%contraction (CaCl ₂)									
	0.5x10 ⁻⁴ M		1x10 ⁻⁴ M		2x10 ⁻⁴ M		4x10 ⁻⁴ M		6x10 ⁻⁴ M	
	control	CU 18-05	control	CU 18-05	control	CU 18-05	control	CU 18-05	control	CU 18-05
1	0.00	0.00	45.45	36.36	78.78	75.75	90.90	84.84	100.00	90.90
2	0.00	0.00	77.94	36.76	96.64	52.94	97.05	63.23	100.00	70.58
3	0.00	0.00	75.00	45.83	95.83	62.50	100.00	95.83	100.00	100.00
4	0.63	0.00	51.26	51.26	77.21	72.15	93.67	81.64	100.00	91.97
5	56.00	0.00	80.00	0.00	90.00	10.00	100.00	20.00	100.00	30.00
6	56.52	26.08	78.26	47.89	82.60	56.52	91.30	60.86	100.00	65.21
7	20.73	10.97	50.00	50.00	78.04	73.17	93.90	84.14	100.00	87.80
8	13.72	0.00	50.98	31.37	62.74	35.29	98.03	43.13	100.00	64.70
Mean	18.45	4.63	63.61	31.65	82.73	54.79	95.60	66.70	100.00	75.12
S.D.	8.68	3.35	5.42	6.75	3.97	7.94	1.29	8.95	0.00	7.98
Pvalue	0.092		0.008		0.018		0.019		0.017	

ตารางที่ 17 แสดงข้อมูลของ CU 18-05 (2.0×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย CaCl₂ ในสารละลาย high K⁺ depolarizing

จำนวนการทดลอง (n)	%contraction (CaCl ₂)									
	0.5x10 ⁻⁴ M		1x10 ⁻⁴ M		2x10 ⁻⁴ M		4x10 ⁻⁴ M		6x10 ⁻⁴ M	
	control	CU 18-06	control	CU 18-06	control	CU 18-06	control	CU 18-06	control	CU 18-06
1	3.33	0.00	16.66	23.33	86.66	40.00	96.66	53.33	100.00	60.00
2	6.97	0.00	58.13	39.53	81.39	53.48	93.02	60.46	100.00	67.44
3	21.21	0.00	57.57	21.21	84.84	36.36	96.96	39.39	100.00	39.39
4	4.87	0.00	7.31	12.19	68.85	26.82	80.48	36.58	100.00	68.29
5	5.00	0.00	6.25	6.25	47.50	21.25	86.25	63.75	100.00	75.00
6	0.00	0.00	27.55	23.62	56.69	41.73	74.01	62.99	100.00	70.07
7	0.00	0.00	58.33	0.00	91.66	16.66	91.66	41.66	100.00	50.00
8	4.67	0.00	30.84	23.36	63.55	30.84	86.91	56.40	100.00	70.09
Mean	5.75	0.00	32.83	18.68	72.26	33.39	88.24	51.19	100.00	62.53
S.E	2.37	0.00	7.96	4.33	5.66	4.23	1.29	3.85	0.00	4.27
P'value	0.046		0.122		0.001		0.000		0.000	

ตารางที่ 18 แสดงข้อมูลของ CU 18-06 (2.0×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย CaCl₂ ในสารละลาย high K⁺ depolarizing

จำนวนการทดลอง (n)	%contraction (BaCl ₂)									
	10 ⁻⁴ M		2x10 ⁻⁴ M		4x10 ⁻⁴ M		6x10 ⁻⁴ M		8x10 ⁻⁴ M	
	control	CU 18-05	control	CU 18-05	control	CU 18-05	control	CU 18-05	control	CU 18-05
1	0.00	0.00	4.83	0.00	9.67	0.00	38.70	29.03	100.00	59.67
2	0.00	1.72	1.72	8.62	15.51	10.34	44.82	24.03	100.00	50.00
3	2.08	0.00	14.58	0.00	41.66	4.16	60.41	60.41	100.00	95.83
4	4.16	0.00	8.33	0.00	18.75	0.00	52.08	12.50	100.00	77.08
5	1.85	0.00	5.55	0.00	14.81	5.55	29.62	14.81	100.00	85.18
6	4.54	0.00	0.00	0.00	9.09	13.63	22.72	36.36	100.00	113.63
7	0.00	0.00	4.25	0.00	25.53	0.00	40.42	0.00	100.00	70.21
8	0.00	0.00	0.00	0.00	4.44	0.00	28.88	0.00	100.00	75.55
Mean	1.56	0.21	4.90	1.07	17.43	4.21	39.70	21.15	100.00	78.39
S.E	0.67	0.21	1.71	1.07	4.14	1.88	4.46	7.12	0.00	7.10
P'value	0.120		0.130		0.020		0.030		0.019	

ตารางที่ 19 แสดงข้อมูลของ CU 18-05 (2.0x10⁻⁵ M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย BaCl₂ ในสารละลาย Ca²⁺,HCO₃⁻-free Krebs Henseleit

จำนวนการทดลอง (n)	%contraction (BaCl ₂)									
	10 ⁻⁴ M		2x10 ⁻⁴ M		4x10 ⁻⁴ M		6x10 ⁻⁴ M		8x10 ⁻⁴ M	
	control	CU 18-06	control	CU 18-06	control	CU 18-06	control	CU 18-06	control	CU 18-06
1	11.11	22.22	33.33	33.33	55.55	33.33	66.66	55.55	100.00	88.88
2	9.09	9.09	36.36	18.18	36.36	27.27	63.63	36.36	100.00	45.45
3	2.38	2.38	4.76	0.00	7.14	2.38	21.42	0.00	100.00	35.71
4	0.00	0.00	9.09	0.00	50.90	0.00	85.45	9.09	100.00	10.00
5	18.75	21.87	34.37	34.37	46.87	40.62	62.50	31.25	100.00	18.75
6	0.00	0.00	0.00	0.00	13.15	0.00	42.10	0.00	100.00	71.05
7	2.56	5.12	5.12	15.38	35.89	43.58	41.02	84.61	100.00	130.76
8	1.47	5.88	44.11	14.70	70.58	19.11	80.88	47.05	100.00	61.76
Mean	5.67	8.32	20.89	14.49	39.55	20.41	57.95	32.98	100.00	57.79
S.E	2.37	3.18	6.26	4.99	7.52	6.33	7.65	10.46	0.00	13.97
Pvalue	0.097		0.188		0.042		0.075		0.019	

ตารางที่ 20 แสดงข้อมูลของ CU 18-06 (2.0×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย BaCl₂ ในสารละลาย Ca²⁺, HCO₃⁻-free Krebs Henseleit

จำนวนการทดลอง (n)	%contraction(histamine)			
	กลุ่มควบคุม(control)		กลุ่มทดลอง(CU 763-15-13)	
	response ครั้งแรก	response ครั้งที่2	response ครั้งแรก	response ครั้งที่2
1	100.00	17.64	23.52	29.41
2	100.00	10.00	60.00	40.00
3	100.00	8.00	132.00	16.00
4	100.00	12.19	78.04	53.65
5	100.00	28.00	108.00	32.00
6	100.00	15.00	71.25	13.75
7	100.00	4.44	48.88	4.44
8	100.00	5.15	64.94	7.21
9	100.00	16.12	40.32	17.74
10	100.00	23.63	105.45	50.90
Mean	100.00	14.01	73.24	26.51
S.E	0.00	2.43	10.60	5.53
P'value	0.033		0.027	

ตารางที่ 21 แสดงข้อมูลของ CU 763-15-13 (3.0×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine (0.5×10^{-4} M) ในสารละลาย Ca^{2+} free Krebs Henseleit

จำนวนการทดลอง (n)	%contraction(histamine)			
	กลุ่มควบคุม(control)		กลุ่มทดลอง(CU 18-05)	
	response ครั้งที่แรก	response ครั้งที่2	response ครั้งที่แรก	response ครั้งที่2
1	100.00	9.52	90.47	9.52
2	100.00	18.18	90.90	27.27
3	100.00	3.33	71.11	4.44
4	100.00	2.14	97.14	9.28
5	100.00	7.35	91.17	20.54
6	100.00	25.80	70.96	25.80
7	100.00	14.80	74.07	11.11
8	100.00	25.80	96.77	32.25
9	100.00	16.66	116.66	41.66
10	100.00	23.63	49.09	34.54
Mean	100.00	14.72	84.83	21.64
S.E	0.00	2.80	5.95	3.99
P'value	0.031		0.028	

ตารางที่ 22 แสดงข้อมูลของ CU 18-05 (3.0×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine (0.5×10^{-4} M) ในสารละลาย ca^{2+} free Krebs Henseleit

จำนวนการทดลอง (n)	%contraction(histamine)			
	กลุ่มควบคุม(control)		กลุ่มทดลอง(CU 18-06)	
	response ครั้งแรก	response ครั้งที่2	response ครั้งแรก	response ครั้งที่2
1	100.00	10.00	40.00	30.00
2	100.00	9.52	28.57	9.52
3	100.00	4.44	102.22	11.11
4	100.00	5.15	62.88	3.09
5	100.00	3.33	50.00	4.44
6	100.00	2.14	81.42	5.71
7	100.00	7.35	97.05	33.82
8	100.00	14.81	55.55	11.11
9	100.00	0.00	130.00	30.00
10	100.00	16.12	106.45	38.70
Mean	100.00	7.28	75.41	17.75
S.E	0.00	1.68	10.44	4.33
P'value	0.043		0.030	

ตารางที่ 23 แสดงข้อมูลของ CU 18-06 (3.0×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย histamine (0.5×10^{-4} M) ในสารละลาย Ca^{2+} -free Krebs Henseleit

จำนวนการทดลอง (n)	%contraction(caffeine)			
	กลุ่มควบคุม(control)		กลุ่มทดลอง(CU 763-15-13)	
	response ครั้งที่แรก	response ครั้งที่2	response ครั้งที่แรก	response ครั้งที่2
1	100.00	12.50	62.50	8.33
2	100.00	10.20	53.06	10.20
3	100.00	13.95	39.53	13.95
4	100.00	12.50	125.00	0.00
5	100.00	23.80	100.00	9.52
6	100.00	9.09	81.81	9.09
7	100.00	23.80	114.28	28.57
Mean	100.00	15.12	82.31	11.38
S.E	0.00	2.32	12.18	3.27
P'value	0.197		0.822	

ตารางที่ 24 แสดงข้อมูลของ CU 763-15-13 (3.0×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย caffeine (1.0×10^{-3} M) ในสารละลาย Ca^{2+} free Krebs Henseleit

จำนวนการทดลอง (n)	%contraction(caffeine)			
	กลุ่มควบคุม(control)		กลุ่มทดลอง(CU 18-05)	
	response ครั้งที่แรก	response ครั้งที่2	response ครั้งที่แรก	response ครั้งที่2
1	100.00	50.00	50.00	33.33
2	100.00	31.25	62.50	25.00
3	100.00	12.50	79.16	8.33
4	100.00	23.80	57.14	19.04
5	100.00	21.66	65.00	16.66
6	100.00	41.66	66.66	0.00
7	100.00	12.12	51.51	3.03
Mean	100.00	27.57	61.71	15.05
S.E	0.00	5.41	3.78	4.54
P'value	0.000		0.050	

ตารางที่ 25 แสดงข้อมูลของ CU 18-05 (3.0×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย caffeine (1.0×10^{-3} M) ในสารละลาย Ca^{2+} free Krebs Henseleit

จำนวนการทดลอง (n)	%contraction(caffeine)			
	กลุ่มควบคุม(control)		กลุ่มทดลอง(CU 18-06)	
	response ครั้งที่แรก	response ครั้งที่2	response ครั้งที่แรก	response ครั้งที่2
1	100.00	27.14	81.42	30.00
2	100.00	30.00	90.00	30.00
3	100.00	17.50	60.00	10.00
4	100.00	12.50	112.50	12.50
5	100.00	9.09	104.54	22.72
6	100.00	41.66	77.77	16.66
7	100.00	12.12	66.66	9.09
Mean	100.00	21.43	84.69	18.71
S.E	0.00	4.49	7.21	3.38
P'value	0.078		0.564	

ตารางที่ 26 แสดงข้อมูลของ CU 18-06 (3.0×10^{-5} M) ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงจากหัวใจสุกร เมื่อกระตุ้นด้วย caffeine (1.0×10^{-3} M) ในสารละลาย Ca^{2+} free Krebs Henseleit

ประวัติผู้เขียน

นางสาวพิชญา หลายวิจิตร เกิดวันที่ 15 กรกฎาคม 2518 ที่จังหวัดชลบุรี สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีเกสัชศาสตรบัณฑิต จากคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ เมื่อปีการศึกษา 2541 หลังจากนั้นได้เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาเภสัชวิทยา ที่คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2542



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย