



บทที่ 4

อภิปรายและสรุปผล

จากการศึกษาผลของสารทำละลาย และสารช่วยละลาย (solubilizer หรือ detergent) ใน isolated organ พบว่ากระเพาะอาหารส่วน fundus ของหนูขาว ลำไส้เล็กส่วนปลาย (ileum) ของหนูตะเภา (GPI) จะถูกยับยั้งด้วยสารเหล่านี้มากกว่าท่อนำอสุจิ (vas deferens) ของหนูถีบจักร และสารทำละลายส่วนมากจะมีผลยับยั้งการหดตัวแบบผันกลับได้ชนิดที่ขึ้นกับขนาดและยับยั้งแบบไม่เฉพาะเจาะจง (non-specific, concentration-dependent reversible inhibition of contractions) สำหรับ DMSO และ PEG 400 ความเข้มข้นสูงจะเพิ่มการหดตัวได้ เมื่อวิธีการกระตุ้นที่ใช้นั้นผ่านทางระบบประสาท เช่นการกระตุ้น GPI ด้วย 5-HT หรือการกระตุ้นด้วยไฟฟ้า ผลยับยั้งของสารทำละลาย เชื่อว่าเกิดจากการไปเปลี่ยนรูปร่าง (configuration) โปรตีนของเซลล์ จนเกิดการเปลี่ยนแปลงการทำงานของโปรตีนเหล่านั้น นอกจากนี้คุณสมบัติที่ชอบไขมัน (lipophilic properties) ของสารทำละลายจะมีผลต่อเยื่อหุ้มเซลล์และเปลี่ยนแปลงการทำงานของโปรตีนโดยทางอ้อมได้อีกด้วย (Brak และ Frey, 1990) เนื่องจากการวิจัยผลของอัลคาลอยด์ (R.) ต่อกล้ามเนื้อเรียบครั้งนี้ใช้สารทำละลายเป็นน้ำกลั่นเพราะสารอัลคาลอยด์ (R.) ที่ได้รับสามารถละลายน้ำได้ดี ประกอบกับการศึกษาที่ใช้ isolated organ model ซึ่งเป็นวิธีที่มีข้อดีที่ไม่ต้องพิจารณาผลของการดูดซึม, การกระจายหรือการขนส่งยา, การเปลี่ยนแปลง และการขับออก (Van Rossum และคณะ, 1963 ; Ariens, Van Rossum และ Simonis, 1957) จึงสรุปได้แน่นอนว่าผลที่ได้จากการศึกษานี้เป็นผลของอัลคาลอยด์ (R.) ต่อกล้ามเนื้อเรียบทางเดินอาหารโดยตรง

กล้ามเนื้อเรียบของอวัยวะต่าง ๆ มีความแตกต่างกันในหลายด้าน คือ รูปร่าง ลักษณะ (physical dimensions) การจัดเรียงเข้าในมัด (bundle) หรือแผ่น (sheets) การตอบสนองต่อชนิดของตัวกระตุ้นที่ต่างกันไป ลักษณะการควบคุมจากเส้น

ประสาท หน้าที (Guyton ,1986) การวิจัยนี้ทำการศึกษากล้ามเนื้อเรียบของกระเพาะอาหาร และลำไส้จากสัตว์ทดลอง 3 ชนิด แม้ว่าจะมีลักษณะรายละเอียดแตกต่างกัน (Greisheimer, และ Wiedeman, 1972) แต่ก็เป็กล้ามเนื้อเรียบประเภทเดียวกัน (Visceral Smooth Muscle) ที่มีการตอบสนองต่อชนิดของสารกระตุ้นที่ใช้คล้ายกัน ผลจากความแตกต่างทางลักษณะ (morphological differens) ที่มีผลต่อการผ่าน การกระจายของสาร เช่น ความหนาแน่นของการเรียงตัวของเซลล์ พื้นที่ผิวสัมผัส เป็นต้น ที่เคยถูกใช้อภิปรายผลโดย Braak และ Frey (1990) ผลที่ได้รับคือความไวของสารแตกต่างกัน แต่ในด้านคุณภาพจะสรุปโดยกว้าง ๆ ได้ว่า ผลของสารต่อกล้ามเนื้อเรียบของทางเดินอาหารเป็นอย่างไร

การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบเกิดจากการเพิ่มของ Ca^{2+} ภายใน cytoplasm ซึ่งอาจเกิดได้โดย

1. เกิด depolarization ของเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้ Potential Operated - Channels (POC_{u}) เปลี่ยนมาอยู่ในภาวะ activated state (หรือ open conformation) เปิดให้ Ca^{2+} จากภายนอกเข้าเซลล์ ในกล้ามเนื้อที่ generate ให้ Action Potential (A.P.) ได้เอง POC_{u} นี้จะเป็นส่วนหนึ่งของกลไกการเกิด A.P. คือเมื่อมี inward current จะเกิด A.P. ขาขึ้น (A.P. upstroke)

2. เกิดจากมีสารกระตุ้น (agonist) การหดตัวไปจับกับ receptor แล้วอาจเกิดการเปลี่ยนแปลงดังนี้ 1.) เพิ่มขนาดและระยะเวลาของ plateau phase ของ A.P. (A.P. ชนิดที่มี plateau phase เกิดขึ้นในกล้ามเนื้อเรียบบางชนิด) ทำให้แรงหดตัวของ phasic phase เพิ่มขึ้น การเปลี่ยนแปลงในข้อนี้เกิดเฉพาะในกล้ามเนื้อที่ generate ให้ Action potential (A.P.) ได้เอง 2.) มีการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมี แล้วเกิดการเปิด Receptor Operated Channels (ROC_{u}) ให้ Ca^{2+} เข้าเซลล์ หรือปล่อย Ca^{2+} ที่จับกับ receptor เป็นผลให้เพิ่ม tension ใน tonic contraction 3.) หลังจากเกิดการเปิด ROC_{u} แล้วจะทำให้เกิด depolarization เป็นผลให้เพิ่มความถี่ของ A.P. และความถี่ของการหดตัวของกล้ามเนื้อชนิด generate ให้ A.P. ได้เองตามมา ส่วนกล้ามเนื้อเรียบที่ปกติไม่ generate ให้ A.P. ก็จะเป็นผลให้เกิดการเพิ่ม P_{cu} และ $[Ca^{2+}]$ ภายในเซลล์ (Somly และ Somly ,1968 ; Bolton, 1979 a ; Guyton ,1986 ;

Hurwitz , 1986)

จากลักษณะการหดตัวที่เกิดขึ้นเองในลำไส้กระต่าย (รูปภาพที่ 6) โดยอาศัยความรู้ในกลไกการหดตัวที่เสนอโดย Bolton, (1979 a) และการเกิด phasic contraction ของลำไส้ (phasic contraction ของลำไส้ เกิดหลังจากมีการเกิด spike potential ซึ่งเกิดเมื่อศักย์ไฟฟ้าของ slow wave ที่เกิดเป็นจังหวะอยู่ตลอดเวลา ขึ้นไปถึงระดับ Threshold) (Guyton , 1986 ; Fiorenza , Yee, และ Zfass, 1987) ลักษณะการหดตัวนี้ น่าจะเกิดจาก Action potential ชนิด spike potential และแรงหดตัวที่มากน้อยสลับกันคล้ายคลื่น อาจสะท้อนการเกิด A.P. ดังกล่าวมากและน้อยสลับกัน การที่ให้สารอัลคาลอยด์ (R.) แล้วไม่มีผลต่อความถี่ของการบีบตัว การสันนิษฐานผลของอัลคาลอยด์ (R.) ในขั้นนี้จะได้อ้างอิง การเสนอผลของ 4-Aminopyridine ที่ทำการศึกษากันเองเดียวกันโดย Gonzalez และ Morales-Aguilera., (1989) คือเป็นไปได้ว่า อัลคาลอยด์ (R.) อาจมีผล 2 อย่าง คือ ผลต่อการควบคุมทางระบบประสาทในลำไส้กระต่าย (jejunal innervation) และผลโดยตรงต่อกล้ามเนื้อเรียบ

อัลคาลอยด์ (R.) มีผลลดการหดตัวจากการกระตุ้นด้วย ACh, Histamine และ Barium chloride และต้านการกระตุ้นจากสารกระตุ้นทั้ง 3 ชนิดด้วย

สารที่มีฤทธิ์ยับยั้งจะคลายกล้ามเนื้อเรียบโดยการไป hyperpolarize เยื่อหุ้มเซลล์ จึงทำให้เกิดการลด (หรือหยุด) การปล่อย A.P. ออกมา ดังนั้นจึงเป็นการลดความถี่ของ A.P. ที่ membrane potential ระดับหนึ่งอีกด้วย หรือโดยการไปรบกวนวิธีการอื่น ๆ ที่ trigger ในกระบวนการเกิด tension ที่ได้กล่าวข้างต้น (Bolton , 1979 a) ซึ่งอาจทำโดย การปรับเปลี่ยนภาวะที่ควบคุมการทำงานของ calcium channels ดังนี้คือ ไปชักนำหรือป้องกันการเปลี่ยนแปลงใน membrane potential ไปเปลี่ยนความเข้มข้นของ Ca^{2+} ภายนอก และ/หรือภายในเซลล์ ไปปรับเปลี่ยนปฏิกิริยาทางชีวเคมีที่เกี่ยวข้องในการทำงานของ calcium channels (เช่น ปฏิกิริยา phosphorylation และ dephosphorylation เป็นต้น), ไปกระตุ้นหรือป้องกันการกระตุ้นของ receptor ที่เยื่อหุ้มเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับ calcium channels (Hurwitz, 1986) ในที่นี้จะได้นิยามด้าน

ต่าง ๆ ตั้งแต่การจับกับ receptor ที่สำคัญดังรายละเอียดต่อไปนี้

สารกระตุ้นให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบแบ่งได้เป็น สารที่ออกฤทธิ์ผ่าน cholinergic action กับสารที่ไม่ออกฤทธิ์ผ่าน cholinergic action และสารที่ออกฤทธิ์ได้ทั้ง 2 ทาง (Henderson, Ariens, และ Simonis, 1968) ในการศึกษานี้ได้ใช้สารกระตุ้นทั้ง 3 ประเภท คือ ACh, Histamine และพวกที่ 3 คือ Barium chloride และ Serotonin

การออกฤทธิ์กระตุ้นของ ACh เกิดได้ 2 ทางคือ 1.) ออกฤทธิ์ทางตรงโดยจับกับ muscarinic receptor ที่กล้ามเนื้อเรียบ แล้วทำให้เกิดการหดตัว (Day และ Vane, 1963) 2.) ออกฤทธิ์ทางอ้อมโดยการกระตุ้น intramural nerve plexus ทำให้หลัง ACh ไปกระตุ้นการหดตัว (Day และ Vane, 1963 ; Chiou, 1973) โดยที่กลไกที่ไปทำให้เกิดการหลัง ACh นี้ไม่เกี่ยวกับการเกิด depolarization ของเยื่อหุ้มเซลล์เช่นที่เกิดโดย nerve action potential แต่อาจเกิดโดยกลไกที่แตกต่างจาก nicotine และ carbachol (Chiou, 1973) เมื่อ ACh ไปจับกับ muscarinic receptor ก่อให้เกิดผลคือ (1.) เพิ่ม membrane permeability ต่อ Ca^{2+} (Durbin และ Jekinson, 1961 ; Chang และ Triggle, 1973 ; Brading และ Sneddon, 1980) มีการเปิด $ROCC$ ให้ Ca^{2+} ภายนอกเข้าเซลล์ (Bolton 1971 ; 1979 a,b) (2.) เกิด depolarization ทำให้ Ca^{2+} เข้าเซลล์ผ่าน $ROCC$ และทำให้เกิด A.P. หรือเพิ่มความถี่ของการให้ A.P. แล้วทำให้กล้ามเนื้อหดตัวถี่ขึ้นและแรงขึ้น (Burgon และ Spero, 1968; Bolton 1979b; Brading At. และ Sneddon ., 1980) จากผลการทดลองในรูปภาพที่ 10 อัลคาลอยด์(R.) สามารถยับยั้งฤทธิ์ของ acetylcholine ได้ในลักษณะ non-competitive antagonism และต่างจากการออกฤทธิ์ของ atropine ซึ่งออกฤทธิ์เป็นแบบ competitive antagonism ในรูปภาพที่ 11 แสดงว่าอัลคาลอยด์(R.) ไม่ออกฤทธิ์โดยการแย่งจับที่ muscarinic receptor

Histamine ออกฤทธิ์ต่อ guinea pig ileum ได้ 2 ทาง คือ 1.) ออกฤทธิ์กระตุ้นโดยตรงที่ H_1 -receptor ของกล้ามเนื้อเรียบ ซึ่งพบมากที่สุด longitudinal

smooth muscle cell ทำให้เกิดการหดตัวแบบ sustained contraction

2.) ออกฤทธิ์ทางอ้อมโดยผ่านการหลั่ง ACh จากการกระตุ้น intrinsic nervous plexus ซึ่งไปมีผลต่อ circular smooth muscle ทำให้เกิดการหดตัวชนิด fast unsustained contraction (Harry, 1963; Bertaccini, 1982; Parsons, 1982) และจากการศึกษาในลำไส้ส่วนอเล็กซ์ของหนูตะเภา (GPI) ของ Day และ Vane (1963) พบว่า Histamine ออกฤทธิ์เกือบทั้งหมดที่กล้ามเนื้อเรียบโดยตรง ซึ่งตรงกับ Henderson ที่พบว่า Histamine มีฤทธิ์ส่วนใหญ่ผ่าน non-cholinergic action เมื่อ Histamine จับกับ receptor จะเกิดการเปลี่ยนแปลงได้ 2 แบบ คือ (1). โดยกลไกที่สัมพันธ์กับ ผลของ regulators ภายนอกเซลล์ต่อ adenylate cyclase (หรือบางทีต่อ guanylate cyclase) ในกรณีนี้จะเกี่ยวข้องกับการตอบสนองผ่าน H_2 -receptor แต่การหดตัวที่ผ่าน H_1 -receptor อาจมีการสะสมของ cGMP ได้ (แต่อาจเป็นผลต่อจากผลที่มีต่อ Ca^{2+}) (2). กลไกที่ผ่าน H_1 -receptor จะเกิดการเปลี่ยนแปลง membrane permeability ต่อไอออนอินทรีย์ ทำให้มีการเคลื่อนของไอออน (เช่น Na^+/Ca^{2+}) เข้าเซลล์ตาม electrochemical gradient เกิดการ breakdown ของ phosphatidyl-inositides (PI) และสร้าง poly-phosphorylated derivatives ของ inositol เช่น inositol trisphosphate (IP_3) ซึ่งอาจมีส่วนควบคุม Ca^{2+} -channel นอกจากนี้ยังทำให้ Ca^{2+} ถูกปล่อยจากแหล่งภายในเซลล์ด้วย แล้วความเข้มข้นของ Ca^{2+} ภายใน cytoplasm จึงควบคุมการหดตัวของกล้ามเนื้อ (Douglas, 1985) นอกจากนี้ยังทำให้เกิด depolarization และเพิ่ม A.P. discharge และทำให้ plateau phase ยาวนานขึ้น แสดงว่า Histamine มีผลต่อ sodium และ potential-sensitive ion channel (Bolton, 1979 a) จากการทดลองพบว่าอัลคาลอยด์ (R.) มีผลยับยั้งและต้านการหดตัวของลำไส้กระต่ายจาก Histamine และลักษณะของ cumulative dose-response curve ใน GPI จากการกระตุ้นด้วย Histamine แสดงว่า อัลคาลอยด์ (R.) ออกฤทธิ์แบบ non-competitive antagonism นั่นคือ อัลคาลอยด์ (R.) ไม่แย่งจับที่ H_1 -receptor โดยตรง

5-HT เป็นสารสื่อประสาท (NT) ที่มีบทบาทสำคัญตัวหนึ่งในการเคลื่อนไหวของทาง

เติมนอาหาร พบใน 1.) chromaffin cell ในชั้น mucosa (Greisheimir, 1972) 2.) ใน myenteric neurons ที่ติดต่อกับ cholinergic neurons และ neurons อื่น เช่น motor neuron หรือ interneuron 3.) ใน neurons ที่ชอบจับและเก็บ amine (amine-handling neuron) ที่มีอยู่ใน submucosal plexus สาร 5-HT ที่หลังจาก enterochromaffin cell อาจกระตุ้น mucosal afferent nerve fibers และกระตุ้น peristaltic reflex แต่มีข้อมูลว่า 5-HT ที่หลังจาก mucosal epithelium จะไม่สามารถเข้าไปกระตุ้น myenteric plexus ได้ เพราะมี intraenteric barrier ขวางกันอยู่ (Costall และ Naylor, 1990) ดังนั้น 5-HT ที่ให้ใน isolated GPI ในการศึกษาที่น่าจะเข้าไปมีผลต่อ myenteric plexus โดยทางอื่น ซึ่งอาจเป็นทาง serosa และการให้ 5-HT ทาง serosa มีข้อมูลว่าได้ผลตรงข้ามกันคือมีทั้ง ยับยั้ง peristaltic reflex และกระตุ้น peristalsis (Gonella, 1981) การออกฤทธิ์ของ 5-HT ในการกระตุ้นการบีบตัวใน GPI มีกลไก 2 อย่างที่แตกต่างกัน คือ 1) ออกฤทธิ์โดยตรงต่อกล้ามเนื้อเรียบ 2) ออกฤทธิ์ทางอ้อมผ่านทางระบบประสาท โดยส่วนใหญ่จะออกฤทธิ์ทางอ้อม เป็นส่วนน้อยที่ออกฤทธิ์โดยตรงต่อกล้ามเนื้อเรียบ (Gaddum, และ Picarelli, 1957; Day และ Vane, 1963; Paton และ Zar, 1967; Henderson และคณะ, 1968; Costa และ Furness, 1979) การออกฤทธิ์ทางอ้อมพบว่า 5-HT กระตุ้น excitatory cholinergic nerve เป็นส่วนใหญ่ และกระตุ้น non-cholinergic excitatory nerve ซึ่งหลังสาร NT ที่ยังไม่ทราบว่าเป็นอะไรเป็นส่วนน้อย นอกจากฤทธิ์กระตุ้น 5-HT ยังสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวใน Colon โดยการกระตุ้น enteric inhibitory nerves ซึ่งพบว่ามี 5-HT receptor อยู่ (Costa และ Furness, 1979) แต่ผลนี้ไม่พบในการศึกษาของ Vermillion, Gillespie, Gooke, และ Wood (1979) การศึกษาผลภายในเซลล์ของ neurons ใน ganglia ที่แยกจาก myenteric plexus ของ GPI โดย Johnson, Katayama, และ North, (1980) พบว่า 5-HT ทำให้ neurons ส่วนมากเกิด depolarization ส่วนน้อยเกิด hyperpolarization แต่ก็มี neurons จำนวนมากที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลง และสรุปว่าการเกิด depolarization จาก 5-HT อาจเนื่องจากการไปทำให้เกิด inactivation ของ membrane potassium conductance และการเกิด depolarization จะเป็นเหตุของการหลั่ง Acetylcholine ส่วนการเกิด

hyperpolarization นั้นเกิดจากการไปทำให้เกิด activation ของ membrane potassium conductance และ hyperpolarization ที่เกิดขึ้น อาจมีส่วนในการยับยั้ง peristaltic reflex ที่เคยพบจากการให้ 5-HT

Receptor ของ 5-HT แบ่งเป็น D-type พบที่กล้ามเนื้อเรียบ และ M-type พบที่เนื้อเยื่อประสาท (Gaddum และ Picarelli, 1957) มีการเสนอว่า M-type ต้องมีอย่างน้อย 3 subtypes เพราะพบค่า affinity constant แตกต่างกัน ต่อ competitive antagonist อันเดียวกัน (Richardson และคณะ, 1986) ขณะนี้พบว่า 5-HT receptor มี 4 subtypes และใน 5-HT₁ receptor ยังแบ่งย่อยได้อีก 5 ชนิด สำหรับ receptor ที่พบใน GI tract มี 1). 5-HT_{1A} อยู่ที่ enteric nerves ซึ่งเสนอว่าเป็น prejunctional receptor ทำหน้าที่เป็น neuronal inhibition เกิดการยับยั้งการหลั่ง NT 2). 5-HT_{1C} อยู่ที่ stomach fundus ทำหน้าที่ในการหดตัว 3). 5-HT_{1P} อยู่ที่ enteric neurons ทำหน้าที่ในการเกิด neuronal depolarization 4). 5-HT₂ อยู่ที่ลำไส้ส่วนอเล็กยม ทำหน้าที่ในการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ และการเกิด neuronal depolarization (บนกล้ามเนื้อเรียบอาจมี 5-HT₁-like receptor ที่ทำหน้าที่คล้ายกล้ามเนื้อ) 5). 5-HT₃ อยู่ที่ enteric nerves ซึ่งเสนอว่าอยู่บน cell bodies ของ ACh neuron หรือ neuron อื่นที่ยังไม่ทราบว่าเป็นอะไร ทำหน้าที่ในการเกิด neuronal depolarization ซึ่งจะทำให้กล้ามเนื้อหดตัวจาก ACh ที่ปล่อยจาก ACh neuron หรือทำให้คลายตัวจาก NT ที่ไม่ทราบว่าเป็นอะไร ที่ปล่อยจากการ depolarize ที่ neuron ของมัน 6). 5-HT₄ อยู่ที่ Ileum โดยเสนอว่าอยู่บน cell bodies ของ ACh neuron ซึ่งอาจทำหน้าที่ในการเกิด neuronal depolarization ในการหดและคลายตัวของ GI tract อาจเกิดจากการกระตุ้นของ 5-HT ในระบบ คานสมดุล ซึ่งเกิดการหดตัวได้จากการกระตุ้นที่ 5-HT₃ และ 5-HT₄-receptor ที่อยู่บน ACh neuron กับการคลายตัวจากการกระตุ้นที่ 5-HT₃ receptor ที่อยู่บน neuron ที่ยังไม่ทราบว่าเป็นอะไร (Costall และ Naylor, 1990)

ผลของอัลคาลอยด์ (R.) ต่อการกระตุ้นการบีบตัวของ GPI เป็นแบบ non-competitive antagonist แสดงว่า อัลคาลอยด์ (R.) ไม่ออกฤทธิ์ไปแย่งจับที่ receptor ของ 5-HT ดังกล่าวแล้ว แต่อาจต้านการหดตัวนี้โดยกลไกอื่น แม้ว่า

การนำ Ca^{2+} เข้าเซลล์โดยการออกฤทธิ์ของ 5-HT เคยมีผู้เสนอว่าเกิดจาก 5-HT-receptor complex ไปจับกับ Ca^{2+} (receptor ของ 5-HT ในที่นี้สรุปว่าเป็น specific lipid) แล้วแพร่ผ่านผนังเซลล์เข้าไปทั้ง complex เมื่อเข้าไปในเซลล์จะถูกย่อยโดย enzyme ให้ได้ Ca^{2+} , 5-HT และ receptor ออกมา (Woolley และ Campbell, 1960) แต่อย่างไรก็ตามหลังจาก 5-HT จับกับ receptor แล้วจะเกิดการเปลี่ยนแปลงใน membrane permeability ของไอออนอินทรีย์ ซึ่งจะมีผลต่อ ion flux (คือมีผลต่อ membrane potential, การ excitability, และ spike activity) หรือเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นภายในเซลล์ของ 2nd messenger เช่น Ca^{2+} หรือ cyclic nucleotide (Douglas, 1985) ทำนองเดียวกับการกระตุ้นด้วยสารอื่น

อัลคาลอยด์ (R.) ลดการหดตัวที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย Barium ทั้งในกล้ามเนื้อเรียบของลำไส้กระต่าย และในกระเพาะอาหารหนูถีบจักร (ภาพที่ 18) ในลักษณะที่ขึ้นกับขนาดให้ ในการออกฤทธิ์ของ Barium มีการศึกษาดังนี้ Henderson และคณะ, 1968 กล่าวว่า Barium จะออกฤทธิ์ผ่าน Cholinergic และ Non-cholinergic part ในอัตราส่วนที่แตกต่างกันไปตามชนิดของอวัยวะ และผลใน GPI พบว่า Barium ออกฤทธิ์ส่วนใหญ่ผ่าน Non-cholinergic action (เพราะผลลดการหดตัวโดย lachesine ซึ่งเป็น anticholinergic drug พบเพียงบางการทดลอง โดยไม่ทำให้ค่าเฉลี่ยการหดตัวเปลี่ยนแปลง) และออกฤทธิ์โดยผ่าน indirect-cholinergic action เป็นส่วนน้อยโดยการออกฤทธิ์นี้ไม่ผ่านการกระตุ้นที่ ganglion (เพราะเมื่อให้ hemicholinium (HC-3) ซึ่งเป็นสารยับยั้งการสังเคราะห์ ACh จะลดการหดตัวได้เฉลี่ย 40%, และไม่พบการลดลงที่ชัดเจนจากการให้ hexamethonium ซึ่งเป็น ganglionic blocker) ข้อมูลที่ว่า Barium ออกฤทธิ์ผ่าน cholinergic action ของ Handerson และคณะ (1968) นี้ถูกแย้งด้วยข้อมูลที่ศึกษาโดย Clement (1981) ซึ่งศึกษาใน GPI เช่นกัน โดยการพบผลตรงข้ามว่า HC-3 ไม่มีผลต่อการหดตัวที่เกิดจาก Barium ในการศึกษาผลของยาต่าง ๆ ต่อ longitudinal strips ของ GPI ปกติเทียบกับ strips ที่นำเอาเส้นประสาทออก พบว่า Barium ทำให้กล้ามเนื้อหดตัวได้มากขึ้นในชั้นที่มีเส้นประสาทอยู่ ในสัดส่วนที่มากกว่ายาากลุ่มที่ออกฤทธิ์ส่วนใหญ่โดยตรงต่อเซลล์กล้ามเนื้อ เช่น Histamine (Paton และ Zar, 1968) แสดงว่า

การออกฤทธิ์ผ่านเส้นประสาทมีความสำคัญต่อการบีบตัวจาก Barium ไม่น้อยกว่าการออกฤทธิ์โดยตรง และจากการศึกษาพบว่า Barium สามารถกระตุ้นการหดตัวในสภาวะที่ไม่มี Ca^{2+} ได้ (แบบ tachyphylactic response) โดยที่ Atropine ไม่สามารถยับยั้งการหดตัวทั้งในสภาวะนี้ (Antonio, Silva และ Yashuda, 1973) และในสภาวะที่มี Ca^{2+} อยู่ในองค์ประกอบของสารละลายที่ใช้ (Clement, 1981) ประกอบกับผลที่ได้จากการทดลองยับยั้งขึ้นตอนต่าง ๆ ที่ ACh ใช้ในการเป็นสารสื่อการหดตัว (Clement, 1981) จึงสรุปว่าการหดตัวจากการกระตุ้นด้วย Barium ไม่เกิดผ่านการหลั่ง ACh (Antonio และคณะ, 1973; Clement, 1981) การศึกษาในกล้ามเนื้อเรียบของ guinea pig taenia coli และ rat portal vein พบว่า Barium จะมีผลต่อ electric activity ของเซลล์คือพบว่า Barium มีผลไปเพิ่มความถี่การปล่อย spike potentials, เพิ่ม force ของ spike, เพิ่มระยะเวลาเกิด A.P, และทำให้ การ depolarization ของเยื่อหุ้มเซลล์ยาวนานขึ้น (Antonio และคณะ, 1973; Uvelius, และ Sigurdsson, 1981) เมื่อเกิด depolarize ที่เยื่อหุ้มเซลล์เป็นผลให้ voltage-dependent Ca^{2+} channels เปิดให้ calcium ที่จับกับเยื่อหุ้มเซลล์หรืออยู่ภายนอกเซลล์เคลื่อนผ่าน calcium channel (ซึ่งยับยั้งได้ด้วย D_{500} , verapamil) นี้เข้าไปในเซลล์ นอกจากนี้ Barium เองอาจเคลื่อนเข้าเซลล์โดยผ่าน calcium channels นี้ (เพราะมีข้อมูลว่า calcium channels นี้มี permeability ต่อ Ba^{2+} ดีกว่า Ca^{2+}) และจะเป็น Cation ที่สำคัญในสภาวะที่ไม่มี calcium ทั้งแหล่งภายนอกและภายในเซลล์ในการทำหน้าที่แทน Ca^{2+} โดยตรงใน contractile machinery หรือไปปลดปล่อยแหล่งของ Ca^{2+} ภายในเซลล์แหล่งอื่นที่ไม่ไวต่อการปลดปล่อยโดย noradrenaline หรือ caffeine หรือไม่นั้นยังไม่ทราบ (Antonio, และคณะ, 1973; Clement, 1981; Karaki, Satake และ Shibata, 1986)

ดังนั้นการที่อัลคาลอยด์ (R.) มีผลยับยั้งการหดตัวจากการกระตุ้นด้วย Barium กลไกที่ อัลคาลอยด์ อาจะออกฤทธิ์ได้คือ ไปยับยั้งการผ่านของ Calcium ผ่าน calcium channel หรือแสดงตัวเป็น calcium antagonist หรือกลไกอื่นซึ่งจะกล่าวต่อไป

สารที่มีคุณสมบัติเป็น calcium - channel blocking agent มีบทบาทสำคัญต่อ

หน้าที่ของทางเดินอาหารโดยเฉพาะในการลดการหดเกร็งของกล้ามเนื้อเรียบ (Castell. , 1985) และการศึกษาแบบ in vivo (ในสุนัข) ก็พบผลของสารกลุ่มนี้ยับยั้งการเคลื่อนไหวของลำไส้ชัดเจน (Ponti , และคณะ, 1989) ประกอบกับการพบว่า ยาที่จัดอยู่ในกลุ่ม calcium antagonists จะยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่ถูกตีโพลาไรซ์ด้วย โปแตสเซียม จากการกระตุ้นด้วยแคลเซียม (Spedding., 1981) การศึกษานี้จึงทำให้กล้ามเนื้อเรียบถูกตีโพลาไรซ์ด้วยโปแตสเซียมด้วย ดังนี้ หลังจากเปลี่ยนสารละลายมาเป็นสารละลายที่มีโปแตสเซียมปริมาณสูงและไม่มีแคลเซียมอยู่ พบว่าในตอนแรกกล้ามเนื้อจะหดตัวทันที หลังจากนั้นแรงหดตัวจะลดลงเรื่อย ๆ (ใน 160 mM KCl จะใช้เวลา 90 นาที) การลดนี้สามารถกระตุ้นให้เกิดการหดตัวได้อีกเมื่อให้ Ca^{2+} ขนาด 10^{-3} M จะทำให้เกิดการหดตัว 2 phase คือเกิด phasic contraction ทันที แล้วจะเปลี่ยนมาอยู่ใน phase ของ tonic contraction คือการค่อย ๆ หดตัวจนถึงระดับสูงสุดจากนั้นจึงลดลงมาช้า ๆ เมื่อหดตัวได้สูงสุดแล้วจึงเริ่มทดสอบฤทธิ์ของสารในการคลายตัว วิธีนี้เป็นวิธีหนึ่งที่น่าสนใจจากวิธีการศึกษาผลโดยดูจากผลต่อ CDR curves ของ $CaCl_2$ เพื่อประเมินผลในการเป็น calcium - antagonist (Spedding , 1981) .

ผลในการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหนูถีบจักรโดย Verapamil พบว่าเกิดอย่างรวดเร็วเช่นเดียวกับ ผลของ Verapamil ในการศึกษา relaxant effect ของ calcium antagonists ใน guinea-pig taenia caeci โดยใช้วิธีการศึกษาต่าง กันแต่มีหลักการคล้ายกัน (Spedding., 1982) ส่วนผลของอัลคาลอยด์นี้ สามารถคลายกล้ามเนื้อได้เช่นกัน แต่มีผลและ potency ต่ำมาก มีลักษณะการคลายตัวที่เกิดช้า ๆ คล้ายกับผลของ calcium antagonist อีกกลุ่มที่มีผลแตกต่างจากกลุ่ม Verapamil คือ กลุ่มที่ประกอบด้วย cinnarizine, flunarizine และ fendiline ซึ่งจะแสดงลักษณะการคลายตัวจากการกระตุ้นให้หดตัวด้วย Ca^{2+} ก่อนได้น้อยและเกิดขึ้นช้า ๆ กินเวลานาน ทั้ง ๆ ที่สามารถแสดงตัวเป็น calcium - antagonist ได้ชัดเจน เช่นเดียวกับกลุ่ม Verapamil เมื่อให้ก่อนการกระตุ้น ในการศึกษาผลต่อ CDR curves (Spedding, 1982) ดังนั้นอัลคาลอยด์ นี้ จึงอาจออกฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบโดยเป็น calcium antagonist

นอกจากนี้ผลของอัลคาลอยด์ขนาด 4.5×10^{-5} โมลาร์ ต่อ CDR curves ของ CaCl_2 พบว่า สามารถเลื่อนเส้นกราฟไปทางขวามือ และลักษณะกราฟขนานกับเส้นกราฟของกลุ่มควบคุม (คล้ายกับลักษณะผลของ Papaverine ที่ศึกษาโดย Tomiyama และคณะ, 1973) ในรูปภาพที่ 25 และจากการเปรียบเทียบเส้นถดถอยในรูปภาพที่ 26 สันนิษฐานว่า การเพิ่มปริมาณแคลเซียมให้มากขึ้นสามารถต้านผลยับยั้งของอัลคาลอยด์ (R.) ได้ และสนับสนุนข้อมูลที่ผ่านมา คือ อัลคาลอยด์ (R.) อาจจะถูกฤทธิ์คล้ายกับ Calcium antagonist หรือ papaverine

มีรายงานว่า Peristaltic reflex ที่เกิดจากการกระตุ้นด้วยการเพิ่ม intraluminal pressure ใน isolated GPI และ การเคลื่อนไหวของทางเดินอาหาร (โดยศึกษาจาก mice charcoal meal test) ถูกยับยั้งด้วย cromakalim ซึ่งเป็น specific K^+ channel opener ดังนั้น กลไกในการต้านการเคลื่อนไหวของ GI tract อาจเกิดได้จากการเปิด K^+ channels (Buchheit และ Bertholet, 1988) แล้วเกิดการลด excitability ของ smooth muscle cell โดยทำให้ศักย์ไฟฟ้าของเซลล์ห่างจากระดับ excitability threshold มากยิ่งขึ้น หรือเกิดภาวะ hyperpolarization ของเซลล์ และขณะที่ยังมี K^+ channel opener อยู่ การที่จะเกิด depolarize ของเยื่อหุ้มเซลล์จาก NT หรือ ฮอร์โมน เป็นไปได้ยากเพราะถูกต้านทานด้วย K^+ ที่ไหลออก (K^+ efflux) (Buchheit และ Bertholet, 1988; Rone, 1988; Weston, 1988) ทำให้ response ลดลงตามมา เพราะ ความคล้ายคลึงในโครงสร้างของอัลคาลอยด์นี้กับ Cromakalim ดังกล่าวในบทนำ ประกอบกับผลต้านการหดตัวของอวัยวะในทางเดินอาหารอย่าง ไม่เฉพาะเจาะจงต่อ receptor ใด เป็นไปได้ว่าอัลคาลอยด์นี้ อาจออกฤทธิ์เช่นเดียวกับ Cromakalim ในการศึกษาแล้วยังพบอีกว่า อัลคาลอยด์นี้ มี potency ต่อ smooth muscle ของ GI tract ต่ำมาก เมื่อเทียบกับ papaverine เป็นไปได้ว่า สารนี้อาจมีฤทธิ์เด่นต่อกล้ามเนื้อเรียบอื่น เช่น กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด ทำนองเดียวกับที่พบใน cromakalim ว่ากล้ามเนื้อเรียบของลำไส้เล็ก มีความไวต่อ Cromakalim น้อยกว่า กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด (Buchheit และ Bertholet, 1988)

สรุป

อัลคาลอยด์ (R) ไม่มีผลกระตุ้นแผลงในตัว คือ ไม่มีผลกระตุ้นทั้งเมื่ออยู่เดี่ยว ๆ หรืออยู่ร่วมกับสารกระตุ้นอื่น แต่มีผลไปยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบทางเดินอาหารได้แม้ในภาวะปกติ โดยกลไกที่ไม่ผ่านการยับยั้งที่เฉพาะเจาะจงต่อ receptor ของ Ach, Histamine หรือ 5-HT คือเป็น non-specific antagonist คล้ายกับ papaverine โดยการศึกษาผลต่อการชักนำการหดตัวจาก Barium และในภาวะถูกตีโผลาไรซ์ด้วยโปแตสเซียมจาก calcium นั้น เสนอกลไกที่เป็นไปได้ว่า อัลคาลอยด์นี้อาจออกฤทธิ์ โดยยับยั้งที่ calcium channels อีกด้วย ซึ่งการที่จะยืนยันการออกฤทธิ์ผ่านกลไกนี้คงต้องมีการศึกษาเพิ่มเติม ในขณะที่โครงสร้างของสารนี้ ประกอบด้วย benzopyran nucleus ซึ่งเป็น nucleus ที่สำคัญของ สารที่ออกฤทธิ์เป็น K^+ -channel openers กับข้อมูลที่กล่าวว่าสารกลุ่มนี้สามารถออกฤทธิ์ โดยผ่านกลไกนี้แล้วทำให้กล้ามเนื้อเรียบทางเดินอาหารคลายตัวได้ จึงเป็นสิ่งที่น่าศึกษาต่อไปว่า อัลคาลอยด์นี้ จะเกี่ยวข้องกับฤทธิ์ K^+ -channel openers นี้หรือไม่ และจะสามารถใช้ในทางคลินิกเช่นเดียวกับสารกลุ่มนี้ด้วยหรือไม่ นอกจากนี้อัลคาลอยด์นี้อาจออกฤทธิ์โดยกลไกอื่น เช่น ไปรบกวนการทำงานตามปกติของโปรตีนที่ควบคุมเกี่ยวกับการหดและคลายตัวเช่น โปรตีน tropomyosin, หรืออาจออกฤทธิ์โดยไปยับยั้ง actomyosin ATP-ase และยับยั้งขบวนการ chemomechanical transduction ตามมา (Van Den Brouke และ Lemli, 1980) แล้ว ส่งผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อ ดังนั้นการศึกษานี้จึงแสดงให้เห็นว่า อัลคาลอยด์หลักจากต้นตาสื่อทุ่ง มีฤทธิ์ยับยั้งการหดเกร็งตัวของทางเดินอาหารได้ (antispasmodic) ซึ่งสนับสนุนข้อมูลการใช้เป็นยาพื้นบ้าน รักษาอาการท้องร่วง