

วัสดุและวิธีการวิจัย

น้ำสกัดใบรางจืด

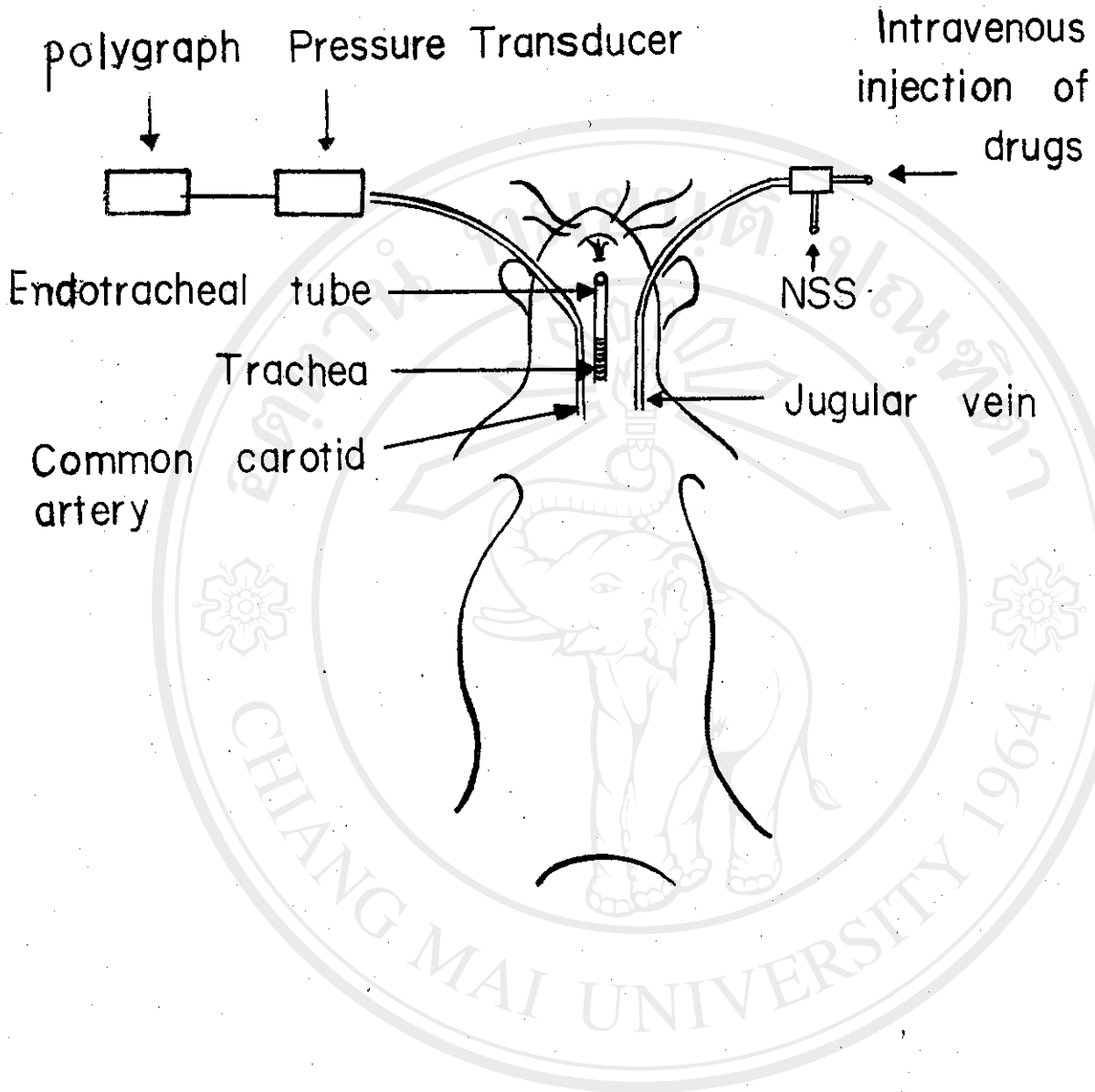
ใช้ใบรางจืดที่ไม่แก่หรืออ่อนจนเกินไป เก็บจากหมู่บ้านป่าห้า ต.สุเทพ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ โดยเก็บในเดือนพฤษภาคมให้มากพอสำหรับการวิจัยครั้งนี้ นำมาล้างให้สะอาด ตากแดดจนแห้งและบดให้ละเอียด เก็บไว้ในขวดสีน้ำตาลที่อุณหภูมิห้อง

เตรียมน้ำสกัดใบรางจืด 10% หรือ 15% (W/V) โดยชั่งใบรางจืดแห้งที่บดแล้ว 10 หรือ 15 กรัม และเติมน้ำกลั่นที่ต้มจนเดือด 100 มิลลิลิตร คนด้วยแท่งแก้วนาน 10 นาที ตั้งทิ้งไว้ 20 นาที แล้วกรองผ่านก๊อช 2 ชั้น นำไปปั่นด้วยเครื่องปั่น Medel CL (International Equipment Co., Needham HTS., Mass., U.S.A.) ใช้ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที นำ supernatant มาใช้ในการทดลอง โดยเก็บในขวดสีน้ำตาล และเตรียมใหม่ทุกครั้งที่ทำการศึกษาทดลอง เพื่อหลีกเลี่ยงปัญหาการเสื่อมหรือการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของสารออกฤทธิ์ในน้ำสกัดใบรางจืด เมื่อเก็บทิ้งไว้นาน ๆ หรือถูกแสงสว่างมากเกินไป (สัตตวารีย์, 2521)

วิธีเตรียมหนูขาวเพื่อบันทึกความดันโลหิต

ใช้หนูขาวพันธุ์ผสมระหว่าง Sprague Dawley และ Fisher น้ำหนักระหว่าง 180 - 280 กรัม ทั้ง 2 เพศ สลบหนูด้วย pentobarbital sodium 40 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม โดยฉีดเข้าทางช่องท้อง (Intraperitoneal injection) และถ้าจำเป็นก็ให้ซ้ำด้วยขนาด 20 มิลลิกรัม/กิโลกรัม เพื่อให้หนูสลบตลอดระยะเวลาการทดลอง การเตรียมหนูขาวเพื่อวัดความดันโลหิต ใช้วิธีซึ่งคัดแปลงจากวิธีของคณาจารย์ในภาควิชาเภสัชวิทยา มหาวิทยาลัย Edinburgh และ McLeod (1970) Harnirattisai (1974) และ Taesotikul (1976) ดังมีรายละเอียดต่อไปนี้

วางหนูในลักษณะนอนหงายบนถาด (รูปที่ 2) ตริ้งขาทั้ง 4 ด้วยกระดาษขาว ทำการผ่าตัดที่คอให้ยาวประมาณ 2 ซม. เพื่อเปิดให้เห็นหลอดลม ใช้ arterial forcep แหวกกล้ามเนื้อเพื่อป้องกันเลือดออก (bleeding) สอด endotracheal tube (polyethylene tube ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2.5 มม.) เข้าในหลอดลมเพื่อให้สัตว์ทดลองหายใจสะดวก ในกรณีที่มีสิ่งหลั่ง (secretata) มาก จะใช้สำลีม้วนตามยาวเป็นแท่งเล็ก ๆ แล้วแยงเข้าไปตาม polyethylene



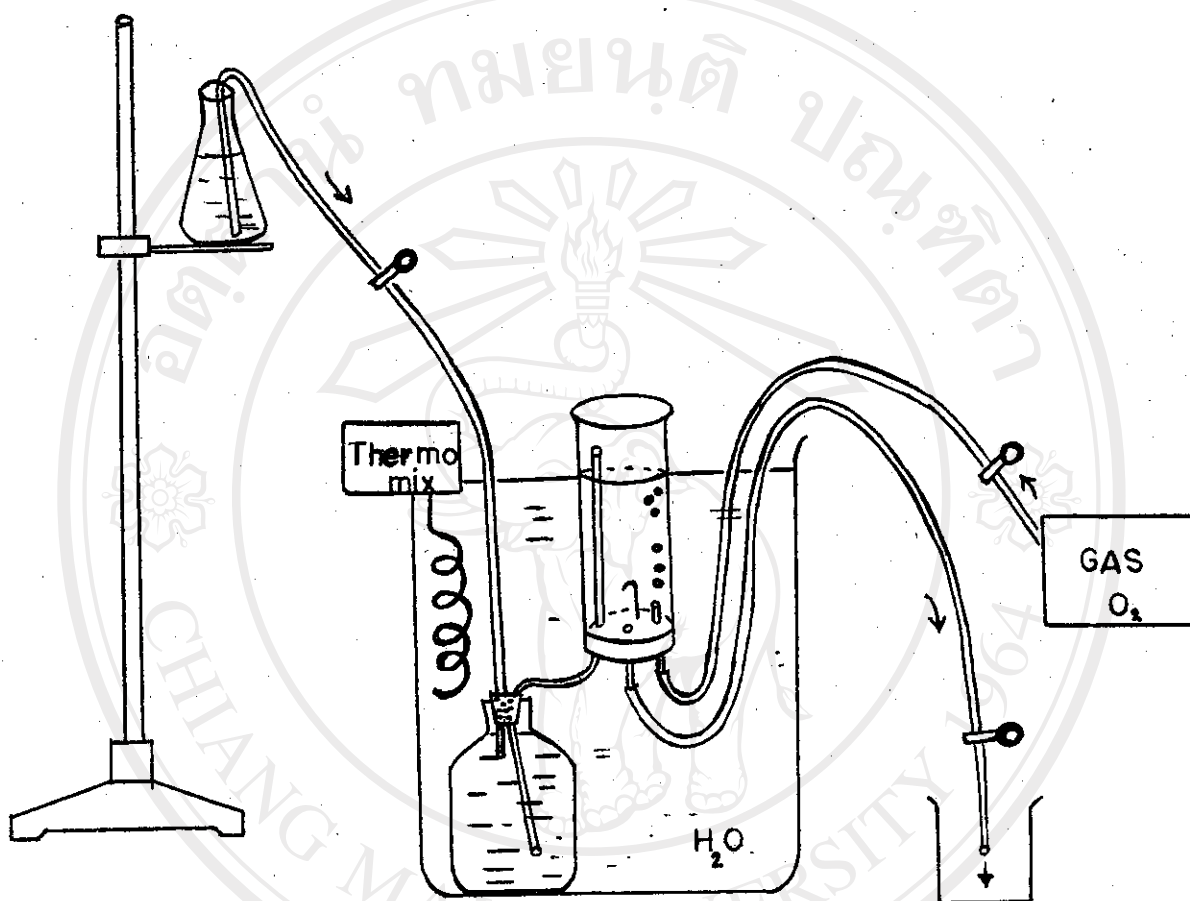
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
รูปที่ 2. แสดงวิธีการบันทึกความดันโลหิตในหนูขาว
All rights reserved

tube เพื่อซับสิ่งหล่งออกมา ไม่จำเป็นต้องใช้การช่วยหายใจ (artificial respiration) cannulate เส้นเลือดดำ jugular ข้างซ้าย ด้วย polyethylene tube (ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 มม.) ซึ่งบรรจุด้วยน้ำเกลือนอร์มัลให้เต็ม เพื่อป้องกันฟองอากาศเข้าสู่เส้นเลือด และต่อไว้กับ Three way stopcock สำหรับให้ยาทางหนึ่ง และน้ำเกลือนอร์มัลอีกทางหนึ่ง เมื่อฉีดยาเข้าเส้นเลือดดำ jugular แต่ละครั้งจะฉีดน้ำเกลือนอร์มัล 0.05 มิลลิลิตร ตามทุกครั้ง เพื่อไม่ให้ยาค้างใน polyethylene tube วัดความดันโลหิตทางเส้นเลือดแดง common carotid ข้างขวา โดย cannulate ด้วย polyethylene tube (ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 มม.) ซึ่งบรรจุ polyethylene tube ด้วย Heparin sodium 60 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ในน้ำเกลือนอร์มัล เพื่อป้องกันไม่ให้เลือดแข็งตัว แล้วต่อเข้ากับ physiological pressure transducer (statham P 23 AC Strain gauge. Transducer, Laboratories, Inc., Hato Rey, Puerto Rico.) และบันทึกความดันโลหิตด้วย Grass Model 79 D Polygraph (Grass Instrument Co., Quincy, Mass., U.S.A.)

บันทึกความดันโลหิตของหนูขาวอย่างน้อย 25 นาที เพื่อให้ความดันโลหิตคงที่ ก่อนการทดลอง

Smooth muscle chamber

เป็นหลอดแก้วกันเปิดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง $1\frac{1}{2}$ " ยาวประมาณ 5 นิ้ว มีจุกยางปิดกันหลอด ซึ่งมีเข็มทิ่มที่ฝังลงเป็นรูปขอ (Hook) ปักไว้ข้างในสำหรับใช้แขวนชิ้นเนื้อ (tissue) มีหลอดแก้วยาวเล็ก ๆ แห่งทะลุผ่านจุกยาง และต่อออกมาข้างนอกติดต่อกับขวด Mariotte ซึ่งบรรจุ physiological solution ไว้ มีเข็มแทงทะลุผ่านจุกยางเพื่อเป็นทางให้แก่ส้ออกซิเจนผ่านเข้าไปใน chamber ได้ด้วยอัตราที่ปรับให้คงที่ และสม่ำเสมอตลอดการทดลอง และมีอีกรูหนึ่งสำหรับปล่อย physiological solution ใน chamber ออก เมื่อเสร็จการทดลองแต่ละครั้งเป็นการล้างชิ้นเนื้อ และถ่าย physiological solution ใหม่จากขวด Mariotte เข้าไป ซึ่งจะทำอย่างน้อย 3 ครั้ง สำหรับการทดลองที่ใช้ชิ้นเนื้อเดิมได้ แต่ส่วนใหญ่จะใช้ชิ้นเนื้อในการทดลองเพียงครั้งเดียว เพื่อหลีกเลี่ยงปัญหาการเกิด Tachyphylaxis (พาดิ, 2521ก) ทั้ง chamber และขวด Mariotte จะแช่อยู่ใน water bath ที่ควบคุมอุณหภูมิไว้ตลอดการทดลองด้วย Thermomix



รูปที่ 3 : แสดงเครื่องมือซึ่งใช้ในการทดลองเกี่ยวกับ
 ความร้อนที่เกิดจากการเผาไหม้

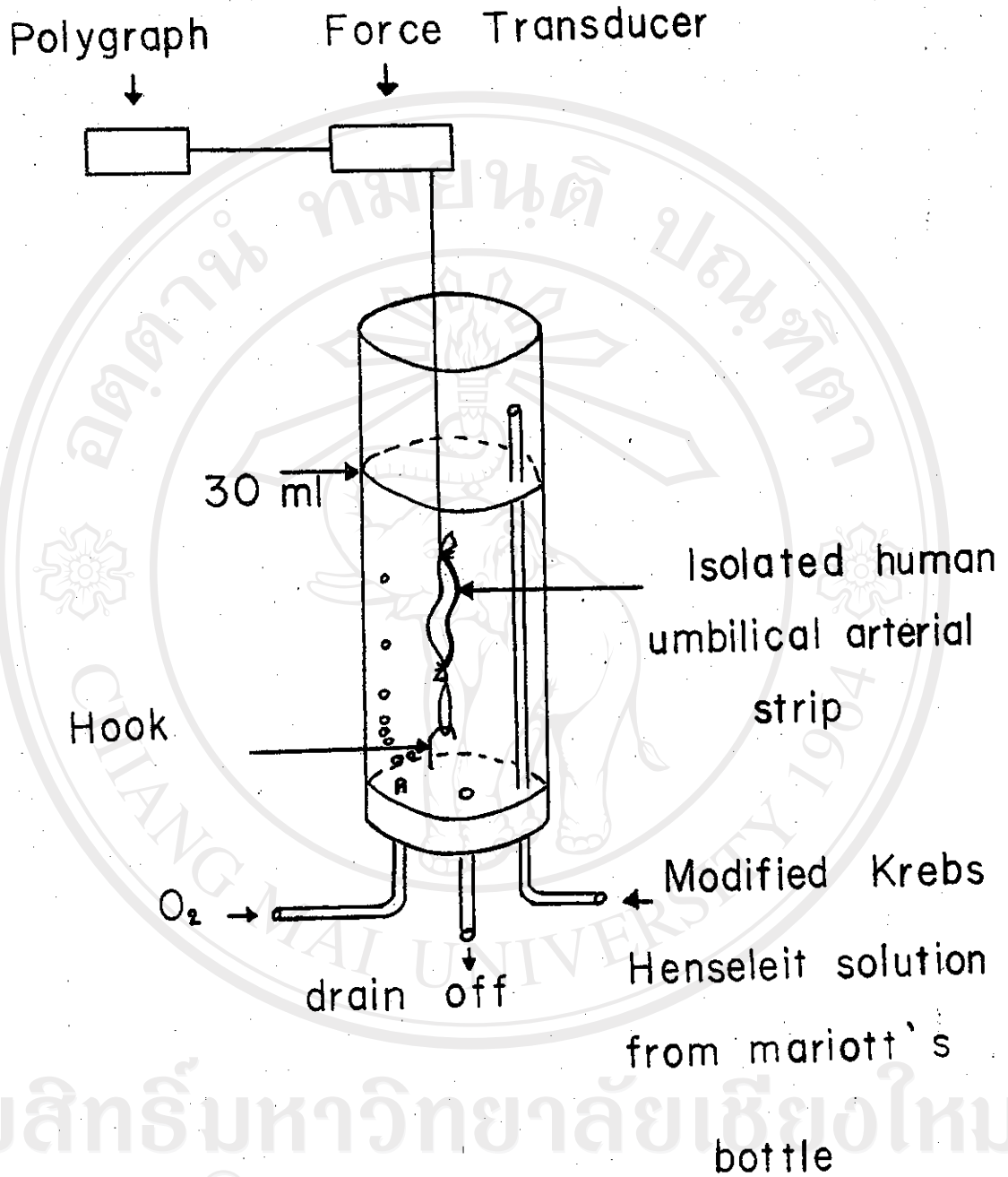
Model 1441 (B. Braun Melsungen AG, W.Germany) โดยตั้งอุณหภูมิให้สูง $30 \pm 1^{\circ}$ ช. หรือ $37 \pm 0.5^{\circ}$ ช. ขึ้นอยู่กับชนิดของชิ้นเนื้อที่ทำการศึกษาทดลองนั้น (รูปที่ 3)

วิธีเตรียมเส้นเลือดแดงจากสายสะดือของทารกแรกคลอด

เก็บสายสะดือของทารกแรกคลอด ที่คลอดปกติเมื่อครบกำหนดจากห้องคลอด โรงพยาบาล นครเชียงใหม่ โดยตัดสายสะดือส่วนกลางระหว่างรกกับเด็ก ซึ่งถือว่าเป็นส่วนที่ไม่มีเส้นประสาทมาเลี้ยงเลย (Davignon และ Shepherd, 1964; Somlyo et al, 1965 และ Altura, 1972) เก็บสายสะดือใน Modified Krebs-Henseleit solution (Dyer และ Gant, 1973) ในตู้เย็น (อุณหภูมิ $0-4^{\circ}$ ช.) ถ้ายังไม่ทำการทดลองทันที และไม่ใช้สายสะดือที่เก็บนานเกิน 24 ชม. การแยกเส้นเลือดแดงทำตามวิธีของ Somlyo et al (1965), Dyer (1970), Altura (1972), Harnirattisai (1974) และ Taesotikul (1976) ซึ่งมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

ตัดเส้นเลือดแดงออกเป็นสั้น ๆ ตามขวาง ยาวประมาณ 2-3 ซม. และตัดผ่ากลางตามยาว ให้เป็นแนวโค้งคล้ายเกลียวสว่าน (spiral strip) จะได้เส้นเลือดแดงเป็น muscle sheath (ไม่เป็นรูกลวงเหมือนการทดลองกับลำไส้เล็กของหนูขาว) มีความกว้างประมาณ 0.15 - 0.20 ซม. ผูกปลายข้างหนึ่งด้วยค้ายับเบอร์ 60 ทำเป็นห่วงเพื่อแขวนไว้ใน smooth muscle chamber ซึ่งมี Modified Krebs-Henseleit solution เป็น physiological solution บรรจุอยู่ 30 มิลลิลิตร (รูปที่ 4) ความคุมอุณหภูมิของสารละลาย (solution) เท่ากับ $37 \pm 0.5^{\circ}$ ช. ปลายอีกข้างหนึ่งผูกไว้กับ Force-Displacement Transducer FT 03 (Grass Instrument Co., Quincy, Mass., U.S.A.) บันทึก isometric contraction ของกล้ามเนื้อเรียบของเส้นเลือดแดงด้วย Grass Model 79 D Polygraph ก่อนเริ่มการทดลองต้องรอให้ชิ้นเนื้ออยู่ในภาวะคงที่ (equilibration) ประมาณ 1-2 ชั่วโมง ด้วย resting tension 1 กรัม (Dyer, 1970; Dyer et al, 1972; Dyer และ Gant, 1973 และ Stranberg และ Tuvemo, 1975)

สังเกตการเปลี่ยนแปลง Tension ของกล้ามเนื้อหลังจากหยุดยาแล้วนานประมาณ 1 ชั่วโมง การทดลองทุกครั้งจะใช้เส้นเลือด 1 เส้น (strip) ต่อ 1 ขนาดของน้ำหนักโคโรนารีจิกแห้ง



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright © by Chiang Mai University

All rights reserved

รูปที่ 4. แสดงการแขวน เส้นเลือดแดง ที่แยกจากสายสะดือ การทดลองใน Smooth muscle chamber

ส่วนประกอบของ Modified Klebs-Henseleit Solution (Dyer และ Gant, 1973) มีดังต่อไปนี้

NaCl	6.87	กรัม/ลิตร
MgSO ₄	0.14	กรัม/ลิตร
NaHCO ₃	2.10	กรัม/ลิตร
KCl	0.40	กรัม/ลิตร
CaCl ₂	0.20	กรัม/ลิตร
EDTA (disodium)	10.00	มิลลิกรัม/ลิตร
Glucose	2.00	กรัม/ลิตร

วิธีเตรียมลำไส้เล็กของหนูขาว เพื่อบันทึกการเคลื่อนไหวของลำไส้

ใช้หนูขาวพันธุ์ผสมระหว่าง Sprague Dawley และ Fisher น้ำหนักระหว่าง 200-300 กรัม ทั้งสองเพศ อดอาหารก่อนการทดลอง 1 หรือ 2 วัน แต่ให้น้ำตามปกติ ฆ่าหนูโดยวิธีฟาดหัวอย่างแรงเพื่อให้กระดูกคอหักและตายในที่นี้ เปิดช่องท้องแยกเอาส่วนต้นของ ileum และส่วนปลายของ jejunum มาทำการทดลองตามวิธีของ Perry (1970a) โดยแช่ลำไส้เล็กไว้ในสารละลาย Tyrode ซึ่งมีส่วนประกอบเป็นกรัมในน้ำกลั่น 1 ลิตร ดังนี้

NaCl	8.00	กรัม/ลิตร
KCl	0.20	กรัม/ลิตร
MgCl ₂	0.10	กรัม/ลิตร
CaCl ₂	0.20	กรัม/ลิตร
NaH ₂ PO ₄	0.05	กรัม/ลิตร
NaHCO ₃	1.00	กรัม/ลิตร
Glucose	1.00	กรัม/ลิตร

เมื่อแยกลำไส้เล็กออกมาแล้ว นำลงแช่ในสารละลาย Tyrode ที่นี้ พยายามให้กล้ามเนื้อถูกกระทบกระเทือนน้อยที่สุด อาจใช้นิ้วมือช่วยในการหนีปล้ำไส้ได้แทนการคีบด้วยปากคีบ (Forcep) ซึ่งจะช่วยให้กล้ามเนื้อถูกทำลายได้ ลำไส้เล็กที่ไม่มีกากอาหารสามารถใช้ได้ทันที แต่ถ้า

จำเป็นต้องล้างลำไส้ที่มีกากอาหารก็ทำได้โดยใช้ Plastic Tuberculin Syringe บรรจุสารละลาย Tyrode 37° ซ. ก้อย ๆ ฉีดใส่กากอาหารอย่างช้า ๆ

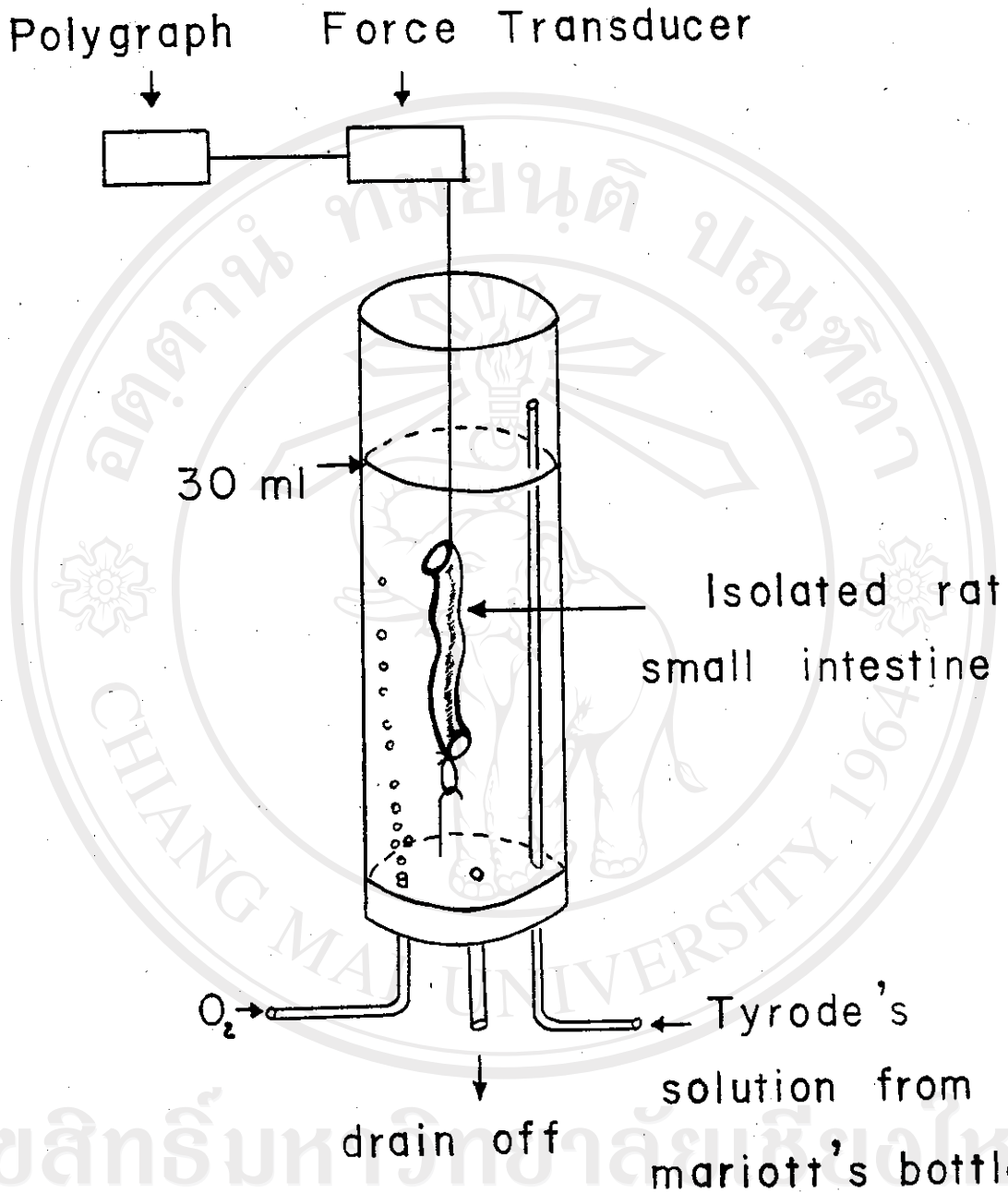
ตัดลำไส้เล็กของหนูขาวออกเป็นส่วน ๆ ตามขวางให้ยาวประมาณ 1-2 ซม. ผูกปลายด้วยด้ายเย็บเบอร์ 60 ข้างหนึ่งทำเป็นห่วงเพื่อแขวนใน smooth muscle chamber (รูปที่ 5) ซึ่งมีสารละลาย Tyrode 30 มิลลิลิตร อุณหภูมิ 37±0.5 °ซ. บรรจุอยู่ ปลายอีกข้างหนึ่งผูกแขวนไว้กับ Force Displacement Transducer FT 03 ซึ่งต่อกับ Polygraph เพื่อบันทึก isometric contraction ของลำไส้เล็ก ตั้งขึ้นเนื้อค้ำย tension 1 กรัม และบันทึก spontaneous motility ของลำไส้ขนาดอย่างน้อย 30 นาที ก่อนการทดลอง (Panthong, 1974)

ส่วนของลำไส้เล็กที่เหลือเก็บไว้ในสารละลาย Tyrode ที่สะอาดในตู้เย็นหรือที่อุณหภูมิห้อง (ไม่เกิน 25 °ซ.) เพื่อใช้ในการทดลองครั้งต่อไป

สังเกตการเปลี่ยนแปลงของลำไส้ทั้งความตึงตัว (Tonus) ของกล้ามเนื้อเรียบ และแรงบีบตัว (contractile force) ของลำไส้ เมื่อหยดยาลงไป chamber การทดลองแต่ละครั้งใช้ลำไส้ 1 ชิ้น (strip) ต่อหนึ่งขนาดของน้ำสกัดใบรางจืดแห้ง

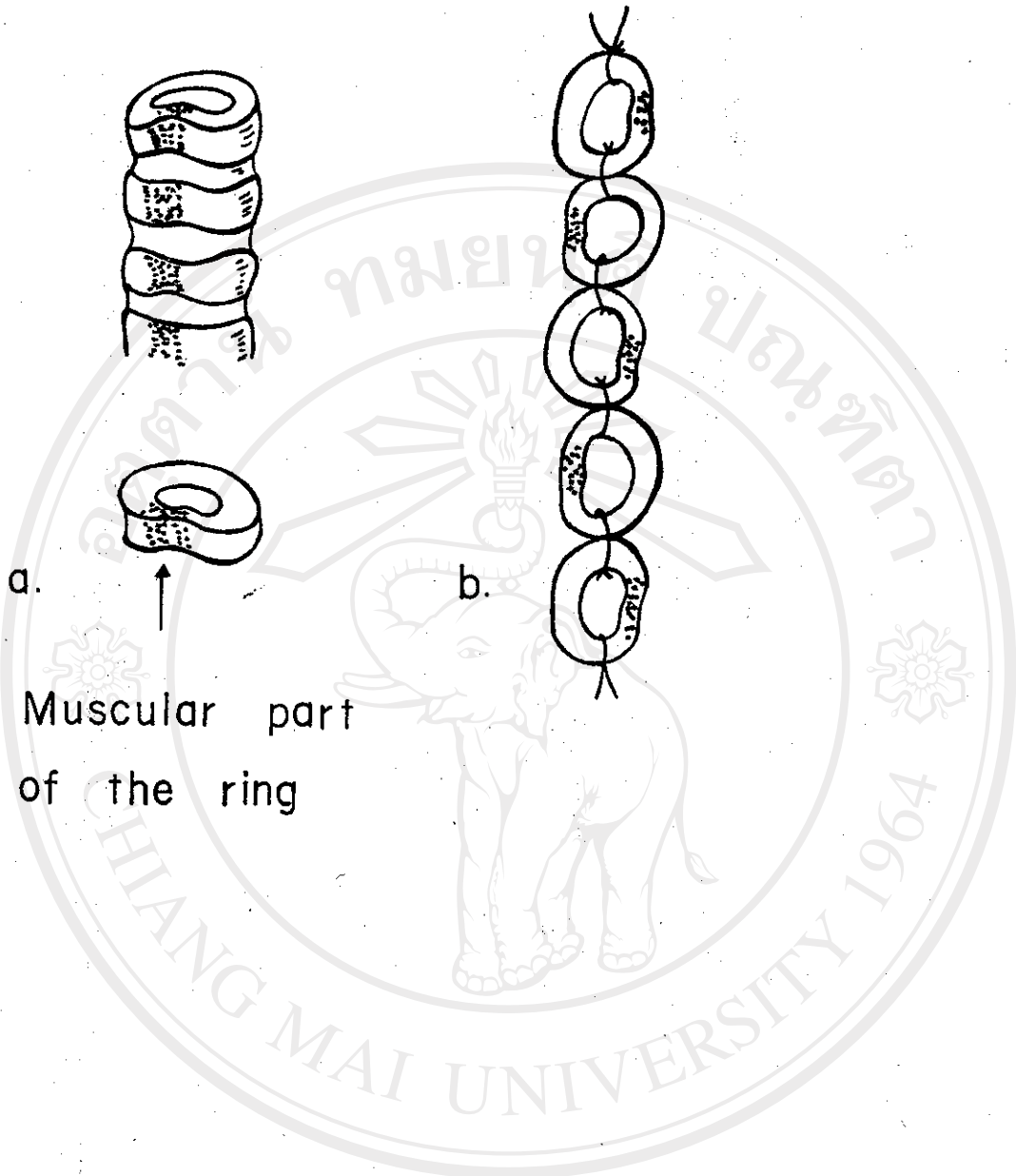
วิธีเตรียมกล้ามเนื้อหลอดลมของหนูตะเภา

ทำตามวิธีของ Perry (1970b) โดยใช้หนูตะเภาน้ำหนักประมาณ 300-500 กรัม ทั้ง 2 เพศ ข่าหนูโดยวิธีทุบหัวให้ตายทันที แล้วตัดคอตรงบริเวณเส้นเลือดแดง common carotid จับหนูเลี้ยงให้เลือดไหลออกจากร่างกายให้มากที่สุดเท่าที่จะทำได้ (โดยไม่ใช้เวลานานเกินไป) เพื่อไม่ให้มีเลือดคั่งขณะผ่าตัดแยกหลอดลม (Trachea) ออกมา นำใส่ในจานแก้ว (Petri dish) ที่มีสารละลาย Krebs 37 °ซ. อยู่ แล้วตัดตามขวางระหว่าง segments of cartilage จะได้เป็นวงแหวน (รูปที่ 6a.) นำวงแหวนมาต่อกัน โดยใช้อย่างน้อย 5 วงต่อ 1 สาย ในการเรียงเป็นสาย (Tracheal chain) ให้สังเกต muscular part ของวงแหวนเป็นหลัก โดยเรียงส่วน muscular part ให้อยู่ในทิศทางตรงกันข้าม (รูปที่ 6b) แล้วนำลงแขวนใน smooth muscle chamber (รูปที่ 7) อีกปลายต่อเข้ากับ Force Displacement Transducer และ Polygraph โดยตั้ง Tension ของหลอดลมแต่ละสายให้ได้เท่ากับ 0.5 กรัม และปล่อยให้ตั้งไว้ให้ขึ้นเนื้อค้ำยก่อนการทดลองอย่างน้อย 30 นาที



รูปที่ 5 แสดงการแขวนลำไส้เล็กใน Smooth muscle chamber

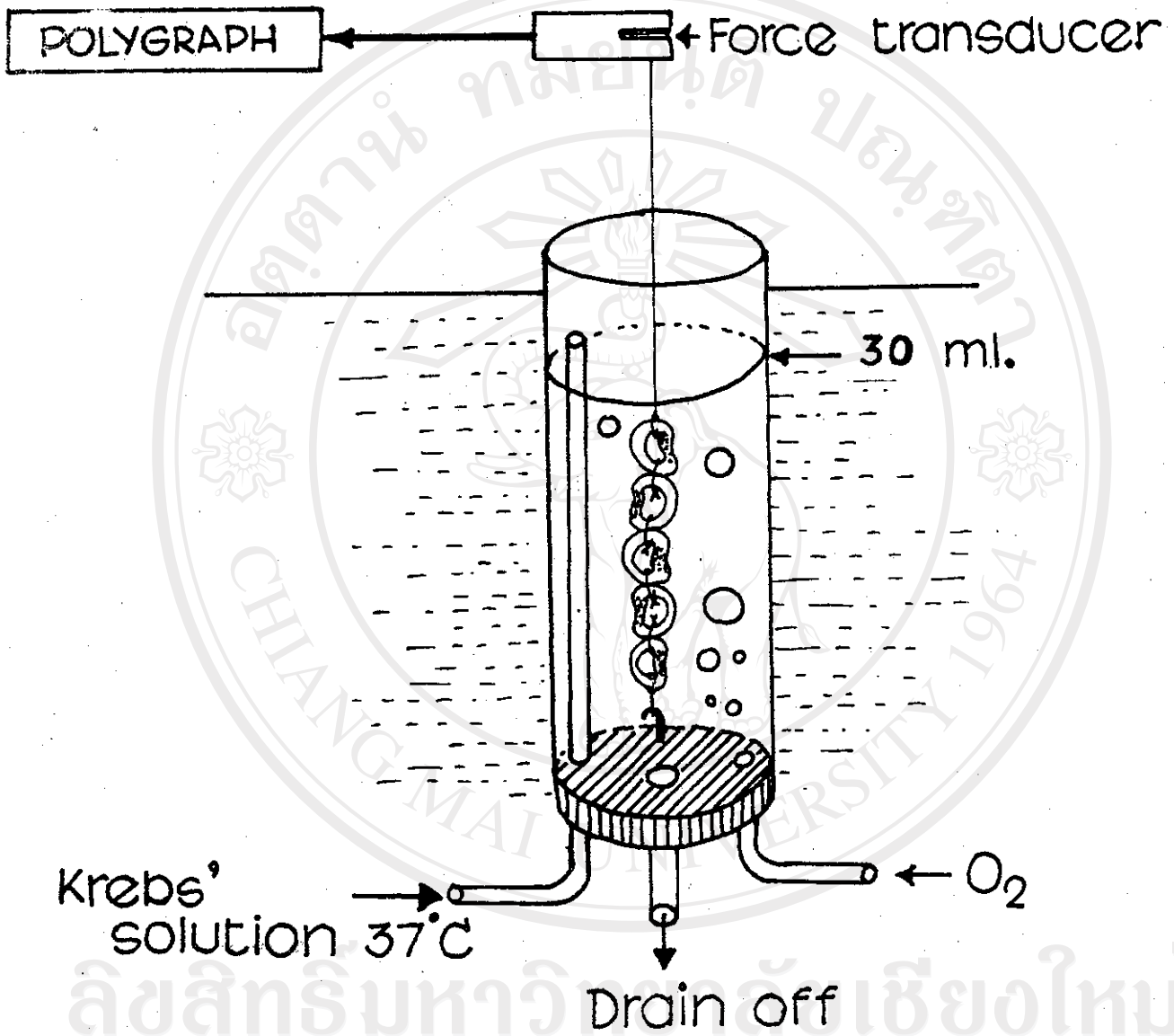
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved



รูปที่ 6 : แฉก Tracheal ring ของหนอนตะเภา (a)

และ Tracheal chain ของหนอนตะเภา (b)

ลิขสิทธิ์ © by Chiang Mai University
All rights reserved



รูปที่ 7 : แสดงการแขวน Tracheal chain
ใน Smooth muscle chamber

สังเกตการเปลี่ยนแปลง Tension ของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดลม เมื่อได้รับน้ำสกัด
ใบรางจืดขนาดต่าง ๆ กัน Tracheal chain 1 สาย สามารถใช้ทดลองได้ประมาณ 4 - 5
ขนาดของยา เพราะไม่พบ Tachyphylaxis เกิดขึ้น (จากการทดลอง) โดยเมื่อให้ขนาดความ
เข้มข้นสูงขึ้น การตอบสนองของหลอดลมของหนูตะเภาในการเพิ่ม Tension ก็เพิ่มขึ้นตาม

ส่วนประกอบของ Krebs' solution (Perry, 1970c)

NaCl	5.54	กรัม/ลิตร
KCl	0.35	กรัม/ลิตร
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.29	กรัม/ลิตร
CaCl ₂	0.28	กรัม/ลิตร
KH ₂ PO ₄	0.16	กรัม/ลิตร
NaHCO ₃	2.10	กรัม/ลิตร
Glucose	2.10	กรัม/ลิตร

วิธีเตรียมกล้ามเนื้อหลอดลมของหนูขาว

Sensitivity ของหลอดลมของหนูขาว ขึ้นอยู่กับสภาวะของหนูขาวเอง ดังนั้นวิธีเตรียม
การทดลองต้องใช้หนูขาวตัวเมียที่อายุน้อย มีน้ำหนักอยู่ระหว่าง 120-200 กรัม ยังไม่เคยถูก
ผสมพันธุ์ และอยู่ในระยะ oestrus ซึ่งเป็นระยะที่หลอดลมของหนูขาว sensitive ที่สุด การตรวจ
ดูระยะ oestrus โดยการทำ vaginal smear หรือทำให้เกิดระยะ oestrus โดยการฉีด
estrogen ซึ่งสะดวกและประหยัดเวลามากกว่าการทำ vaginal smear ในการทดลองนี้ ใช้
estrogen ขนาด 0.1-0.15 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ฉีดเข้ากล้ามเนื้อตะโพกของหนู-
ขาว ก่อนการทดลอง 17-18 ชั่วโมง (Sturmmur, 1968)

วิธีเตรียมเพื่อแยกหลอดลมหนูขาวออกมา ได้ดัดแปลงจากวิธีของ Sturmmur (1968) และ
Perry (1970d) โดยมีรายละเอียดดังนี้ ขำหนูขาวโดยการผ่าท้องอย่างแรงให้ตายทันที และ
เปิดท้อง จะเห็นหลอด 2 ข้าง หักส่วนกลางเอา 2/3 ของหลอดของแต่ละข้าง ใส่ในจานแก้วที่มีสาร
ละลาย Munsick อยู่ กังนั้น หนูขาว 1 ตัว จะได้กล้ามเนื้อเรียบของหลอด 2 ชิ้น ผูกด้วยด้าย
ทำเป็นห่วงนำลงแขวนใน smooth muscle chamber เช่นเดียวกับการแขวนลำไส้ แต่ใช้ phy-

biological solution เป็น Munsick's solution ความเข้มข้นของสารละลายอยู่ระหว่าง 30 ± 1 °ซ. ตั้งขึ้นเนื้อด้วยแรง 0.5 กรัม และปล่อยให้คงที่นานอย่างน้อย 30 นาที ก่อนการทดลอง

ส่วนประกอบของ Munsick's solution มีดังนี้

NaCl	6.62	กรัม/ลิตร
KCl	0.45	กรัม/ลิตร
CaCl ₂	0.056	กรัม/ลิตร
MgCl ₂	0.05	กรัม/ลิตร
NaHCO ₃	2.56	กรัม/ลิตร
Na ₂ HPO ₄	0.12	กรัม/ลิตร
NaH ₂ PO ₄	0.02	กรัม/ลิตร
Glucose	0.50	กรัม/ลิตร

สัตว์ทดลอง ซึ่งใช้สำหรับ Toxicity Test

หนูขาวพันธุ์ผสมระหว่าง Sprague Dawley และ Fisher น้ำหนักระหว่าง 60-120 กรัม ทั้งสองเพศ ซึ่งเพาะพันธุ์และเลี้ยงในสิ่งแวดล้อมเดียวกันตลอดการทดลองที่ภาควิชาเกษตรสัตวศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และสัตว์ทดลองที่ใช้ครั้งหนึ่งแล้ว จะไม่ใช่ซ้ำอีก เพื่อหลีกเลี่ยงปัญหาเรื่อง Biological variation ที่มีอิทธิพลต่อผลของ Toxicity Test (Loomis, 1968)

การให้น้ำสกัดใบรางจืดแก่หนูขาวทางปาก

จับหนูขาวด้วยมือซ้ายตรงคอและลำตัวด้านหลัง ให้อยู่ในตำแหน่งที่จะกลืนอะไรได้ง่าย ให้น้ำสกัดใบรางจืดผ่านทาง stomach tube ซึ่งตัดแปลงมาจากเข็มฉีดยาเบอร์ 16 (พาณิชย์, 2522) เพื่อใช้สำหรับกรอกยาให้หนูขาวโดยเฉพาะ โดยค่อย ๆ สอดปลาย stomach tube เข้าไปในหลอดอาหาร ต้องระวังไม่ให้ปลาย stomach tube เข้าหลอดลม เพราะเป็นอันตรายต่อหนูถึงตายได้

ยาที่ใช้ในการวิจัย

- 1) Acetylcholine chloride, 25 g/bottle, ผลิตโดย Calbiochem, Los Angeles, U.S.A.
- 2) Atropine sulfate injection, 0.6 mg/ml, ผลิตโดยองค์การเภสัชกรรม, กรุงเทพมหานคร.
- 3) Cimetidine (Tagamet ^R), 200 mg/2 ml ampules, ผลิตโดย Smith Kline & French Laboratories, Australia.
- 4) Diphenhydramine (Benadryl ^R), 10 mg/ml vials, ผลิตโดย Parke, Davis & Co., Detroit, Michigan, U.S.A.
- 5) Estrogen (Progynon ^R), 5 mg/ml ampules, ผลิตโดย Schering AG, Berlin, Germany.
- 6) Folidol -E 605 (0,0-dimethyl-0-p-nitrophenyl phosphorothioate) 50% Conc., ผลิตโดย Bayer Leverkusen, Germany และสั่งเข้ามาจำหน่ายในประเทศไทย โดย บริษัทไบเออร์ไทย จำกัด.
- 7) Heparin Sodium, 5,000 I.U./ml c̄ 0.5% Phenol, Vials, ผลิตโดย Nordmark-Werke GMBH, Hamburg, Germany.
- 8) Histamine dihydrochloride, B grade, ผลิตโดย Calbiochem, Los Angeles, U.S.A.
- 9) PAM injection (2-pyridine aldoxime methiodide) 500 mg/20 ml ampules, ผลิตโดย Sumitomo chemical Co., Ltd., Osaka, Japan.
- 10) Pentobarbital Sodium (Vetanarcol ^R), 162 mg/ml vial, ผลิตโดย Veterinaria SA, Zurich, Switzerland.