

ผลการวิจัย

ตอนที่ 1 ศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของน้ำสกัดใบรางจืดต่อระบบไหลเวียนโลหิต

การทดลองที่ 1 ศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของน้ำสกัดใบรางจืดต่อเส้นเลือด

น้ำสกัดใบรางจืดแห้ง (15% W/V) ขนาด 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2.0, 2.4 และ 3.0 มิลลิลิตร มีผลทำให้ความตึง (tension) ของเส้นเลือดแดงที่แยกจากสายสะดือของทารกแรกคลอดเปลี่ยนแปลง ได้ทดลองศึกษากับเส้นเลือดแดงจำนวน 72 เส้น (strips) จากสายสะดือ 61 สาย พบว่าการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นมี 2 ลักษณะคือ เกิดการหดตัว (contraction) ของเส้นเลือดแดงขึ้นทันทีหลังจากได้รับน้ำสกัดใบรางจืด และตามด้วยการคลายตัว (relaxation) การตอบสนองลักษณะใดจะเด่นชัดขึ้นกับขนาดของน้ำสกัดใบรางจืด (ตารางที่ 1 และรูปที่ 8) กล่าวคือในขนาดความเข้มข้นต่ำการหดตัวของเส้นเลือดแดงจะเด่นชัด และเมื่อเปรียบเทียบการตอบสนองนี้กับคอนโทรล (control) จะสูงกว่าการคลายตัว แต่ในขนาดความเข้มข้นสูง การคลายตัวของเส้นเลือดจะเด่นชัดกว่า

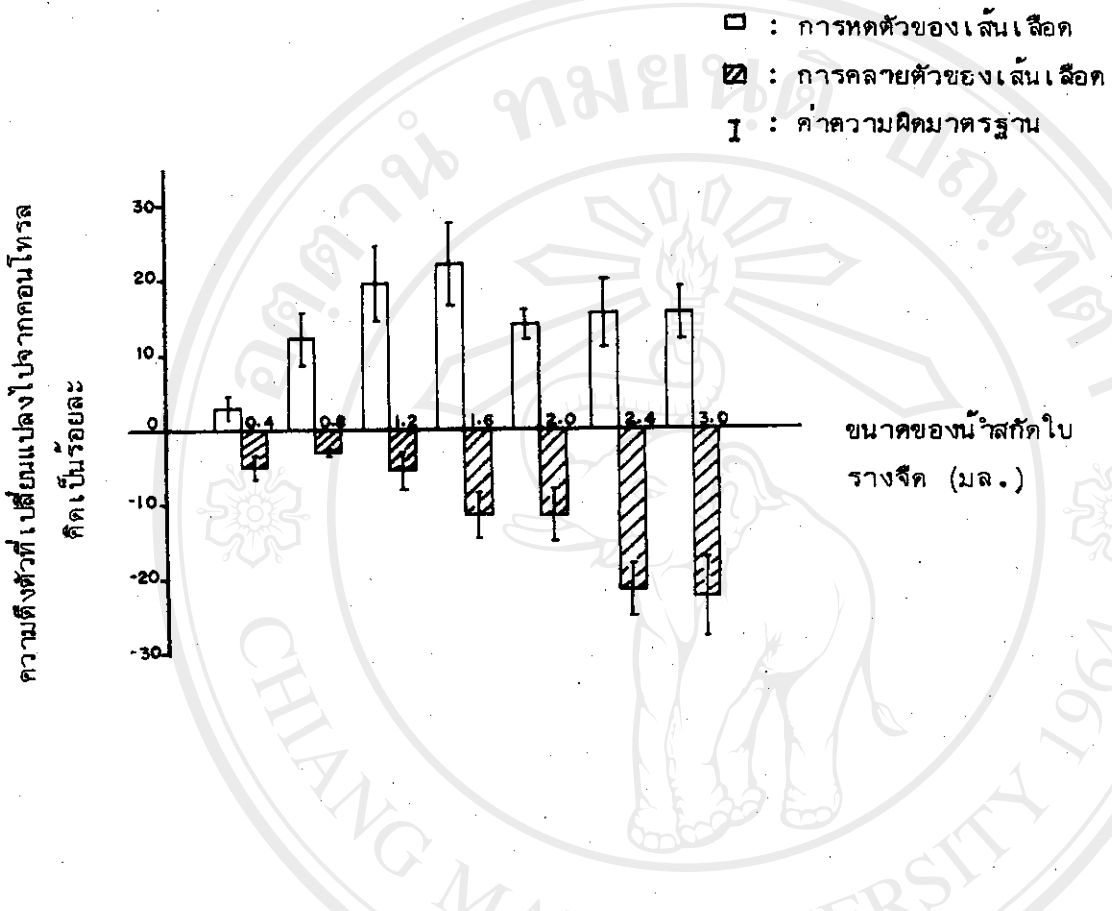
น้ำสกัดใบรางจืดขนาด 1.6 มิลลิลิตร ทำให้หลอดเลือดแดงหดตัวได้มากที่สุด โดยทำให้ความตึงของเส้นเลือดแดงเพิ่มขึ้นจากคอนโทรล โดยเฉลี่ยร้อยละ 22.10 ± 5.63 (รูปที่ 9ก) และใช้เวลาในการออกฤทธิ์ถึงจุดสูงสุด 3.6 ± 0.39 นาที เมื่อขนาดความเข้มข้นของน้ำสกัดใบรางจืดสูงขึ้น การตอบสนองนี้ลดลง (รูปที่ 9ข) ส่วนการคลายตัวที่เกิดขึ้นตามหลังการหดตัวจะลดลงเป็นปฏิกิริยาโดยตรงกับขนาดความเข้มข้นที่สูงขึ้น และใช้เวลาในการออกฤทธิ์ถึงจุดสูงสุดนานมากกว่า 10 นาที ผลการออกฤทธิ์นี้จะคงอยู่นานกว่าจะล้างขึ้นเมื่อ น้ำสกัดใบรางจืด (15% W/V) ขนาดสูงที่สุดที่ใช้ในการทดลองนี้คือ 3.0 มิลลิลิตร ทำให้ความตึงของเส้นเลือดเพิ่มขึ้นโดยเฉลี่ยร้อยละ 15.61 ± 3.81 ตามด้วยการคลายตัว โดยลดความตึงของเส้นเลือดลงต่ำกว่าคอนโทรลร้อยละ 22.59 ± 5.20 เวลาที่ใช้ในการตอบสนอง ถึงจุดสูงสุดของการหดตัวสั้นมาก เมื่อเปรียบเทียบกับ การคลายตัว คือใช้เวลาเพียง 2.6 ± 0.24 นาที ในขณะที่การคลายตัวใช้เวลาถึงจุดต่ำสุดถึง 28.7 ± 5.84 นาที

ตารางที่ 1 ผลของน้ำสกัดใบรางจืดแห้งทั้งต่อภาวะหดตัวและคลายตัวของเส้นเลือดแดง
ที่แยกจากสายสะดือของทารกแรกคลอด

ขนาดของน้ำสกัดใบ รางจืด (15% W/V) (มิลลิลิตร)	จำนวน การ ทดลอง	ความถี่ของเส้นเลือด ที่เพิ่มมากกว่าคอนโทรล (ร้อยละ)	เวลาที่เส้นเลือด หดตัวสูงที่สุด (นาที)	ความถี่ที่ลดลงต่ำ กว่าคอนโทรล (ร้อยละ)	เวลาที่เส้นเลือด คลายตัวต่ำที่สุด (นาที)
0.4	10	2.94±1.50	1.5±0.56*	4.95±1.95*	27.9±7.62*
0.8	10	12.28±3.53*	3.7±0.89*	3.09±0.44**	13.7±6.87
1.2	10	19.42±5.11*	3.8±0.59**	5.65±2.55	14.1±3.76*
1.6	10	22.10±5.63*	3.6±0.39**	11.04±3.16*	23.9±5.19*
2.0	12	14.34±2.00**	2.9±0.33**	11.51±3.09*	20.7±6.42*
2.4	10	15.56±4.89*	2.4±0.17**	21.85±3.70**	52.0±3.63**
3.0	10	15.61±3.81*	2.6±0.24**	22.59±5.20*	28.7±5.84**

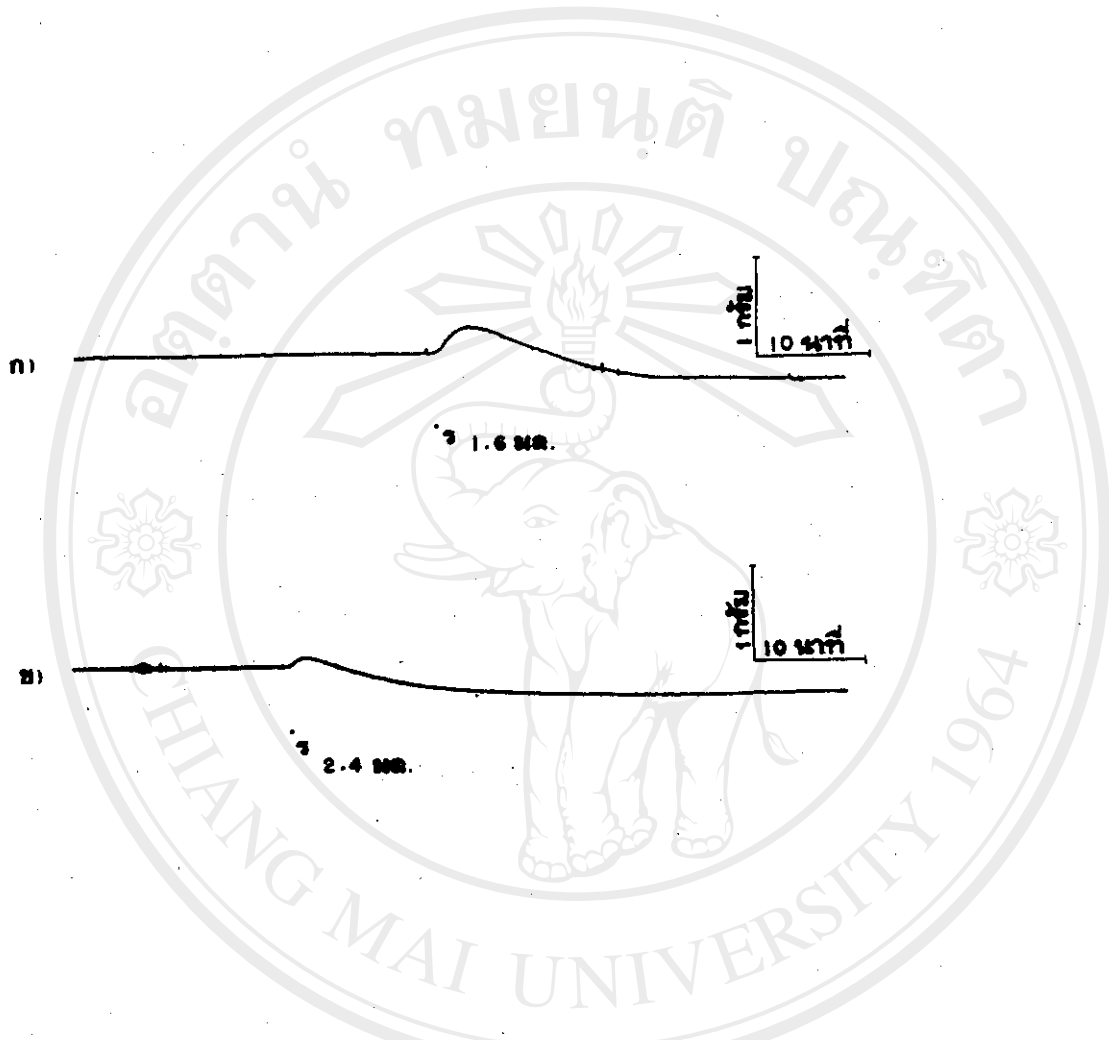
* : p < 0.05

** : p < 0.001



รูปที่ 8

ซีสโตแกรมแสดงการตอบสนองของเส้นเลือดแดงที่แยกจากสายสะดือของทารกแรกคลอดต่อน้ำสกัดใบรางจืดขนาดต่าง ๆ



รูปที่ 9 แสดงผลของน้ำสกัดใบรางจืดแห้ง 15% (W/V) ขนาด 1.6 (ก) และ 2.4 (ข) มิลลิกรัม ต่อเส้นเลือดแดงของคนที่ยกจากสายสะดือทารกแรกคลอด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 2 ศึกษาการออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของน้ำสกัดใบรางจืดต่อความดันโลหิต
ของหนูขาว

หนูขาว 25 ตัว สลบด้วย Sodium pentobarbital 40 มก./กก. แบ่งเป็น 5 กลุ่ม ๆ ละ 5 ตัว ใ้รับน้ำสกัดใบรางจืดแห้ง (15% W/V) ขนาดต่าง ๆ กัน (15, 30, 60, 120 และ 240 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม) ฉีดเข้าทางเส้นเลือดดำ jugular พบว่า น้ำสกัดใบรางจืดทุกขนาดมีผลทำให้ความดันโลหิตของหนูขาวลดลง ดังแสดงไว้ในตารางที่ 2 และรูปที่ 10 น้ำสกัดใบรางจืดขนาด 15 มก./กก. เป็นความเข้มข้นต่ำสุด (Threshold dose) ที่สังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลงแตกต่างไปจากคอนโทรล อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อคำนวณเปรียบเทียบโดยอาศัย Paired t-test (ยุพา, 2522) ซึ่งขนาดของน้ำสกัดใบรางจืดนี้ทำให้ความดันโลหิตของหนูขาวลดลงโดยเฉลี่ยร้อยละ 13.76 ± 1.72 (มม.ปรอท) และมีระยะเวลาการออกฤทธิ์ (duration of action) อยู่ระหว่าง 5 ถึง 15 นาที ความดันโลหิตที่ลดลงเนื่องจากน้ำสกัดใบรางจืดจะลดลงเป็นปกติโดยตรงกับขนาดความเข้มข้นที่สูงขึ้น น้ำสกัดใบรางจืดขนาด 120 มก./กก. สามารถลดความดันโลหิตของหนูขาวได้มากที่สุด (maximum effective dose) โดยทำให้ความดันโลหิตลดลงร้อยละ 46.42 ± 3.75 (มม.ปรอท) มีระยะเวลาการออกฤทธิ์ระหว่าง 5 ถึง 14 นาที และหลังจากนั้นก็กลับคืนสู่ระดับปกติ การเพิ่มขนาดของน้ำสกัดใบรางจืดสูงขึ้นเป็น 240 มก./กก. กลับให้การตอบสนองต่ำกว่าใช้ขนาด 120 มก./กก. คือลดลงต่ำกว่าคอนโทรลร้อยละ 41.04 ± 1.70 (มม.ปรอท) แล้วกลับคืนสู่ระดับปกติ แต่ในหนูขาวบางรายฤทธิ์ของน้ำสกัดใบรางจืดอยู่ได้นานเกิน 15 นาที บางรายไม่ยอมกลับสู่ระดับปกติเลย เมื่อทดลองเพิ่มขนาดของน้ำสกัดใบรางจืดเป็น 480 มก./กก. พบว่าสัตว์ทดลองมีอาการหายใจติดขัด มีสิ่งหลั่ง (secreta) มาก และส่วนใหญ่ของสัตว์ทดลองตายเนื่องจากภาวะหายใจวาย (respiratory failure)

การตอบสนองของหนูขาวต่อน้ำสกัดใบรางจืดขนาดต่าง ๆ โดยทำให้ความดันโลหิตลดลงนั้น สังเกตพบว่ามีอยู่ 2 ลักษณะ กล่าวคือน้ำสกัดใบรางจืดขนาดต่ำ ๆ ตั้งแต่ 15, 30 และ 60 มก./กก. (รูปที่ 11) ความดันโลหิตที่ลดลงจะมีระยะ (phase) เดียว โดยลดลงตามขนาดของน้ำสกัดใบรางจืด แล้วมีรีเฟล็กซ์ (reflex) กลับคืนสู่ระดับปกติ แต่ในขนาดที่สูงขึ้นเป็น 120,

ตารางที่ 2 ผลของน้ำสกัดใบรางจืดขนาดต่าง ๆ ในการลดความดันโลหิตของหนูขาว

ขนาดของน้ำสกัดใบรางจืด (มก./กก.)	จำนวนสัตว์ทดลอง	ความดันโลหิต (มม.ปรอท)		ระยะเวลาการออกฤทธิ์ (นาที)
		ก่อนโทรล	หลังจากได้รับรางจืด	
15	5	144.68 ± 3.88	125.02 ± 5.56	5-15
30	5	126.14 ± 9.39	95.00 ± 7.08	4-12
60	5	128.34 ± 13.28	83.32 ± 9.59	2-13
120	5	132.34 ± 9.99	69.98 ± 4.68	5-14
240	5	132.64 ± 7.94	78.00 ± 4.52	7- > 15

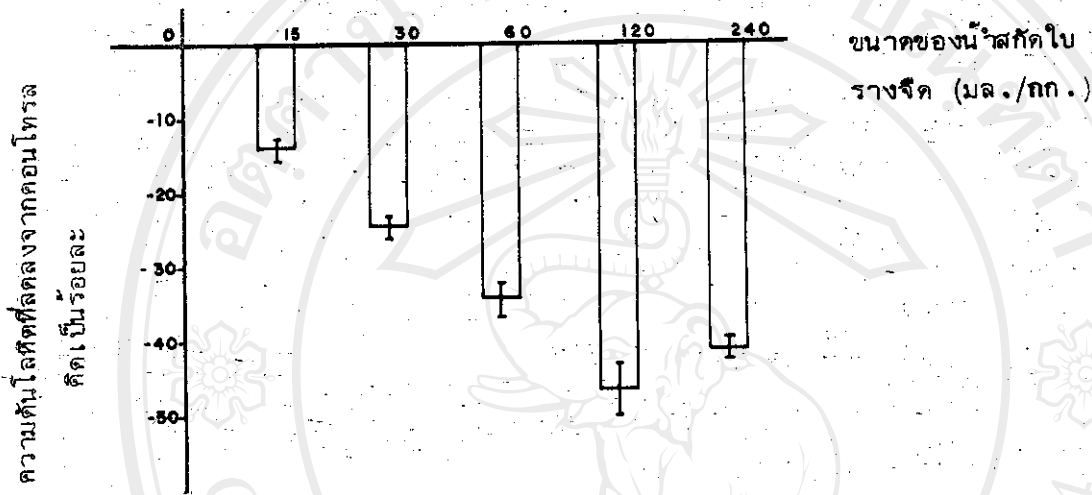
^A : ค่าความแตกต่างของทั้งนี้ ; ความดันโลหิต = $P_D + \frac{1}{3}(P_S - P_D)$

P_D = Diastolic pressure

P_S = Systolic pressure

* : $p < 0.01$

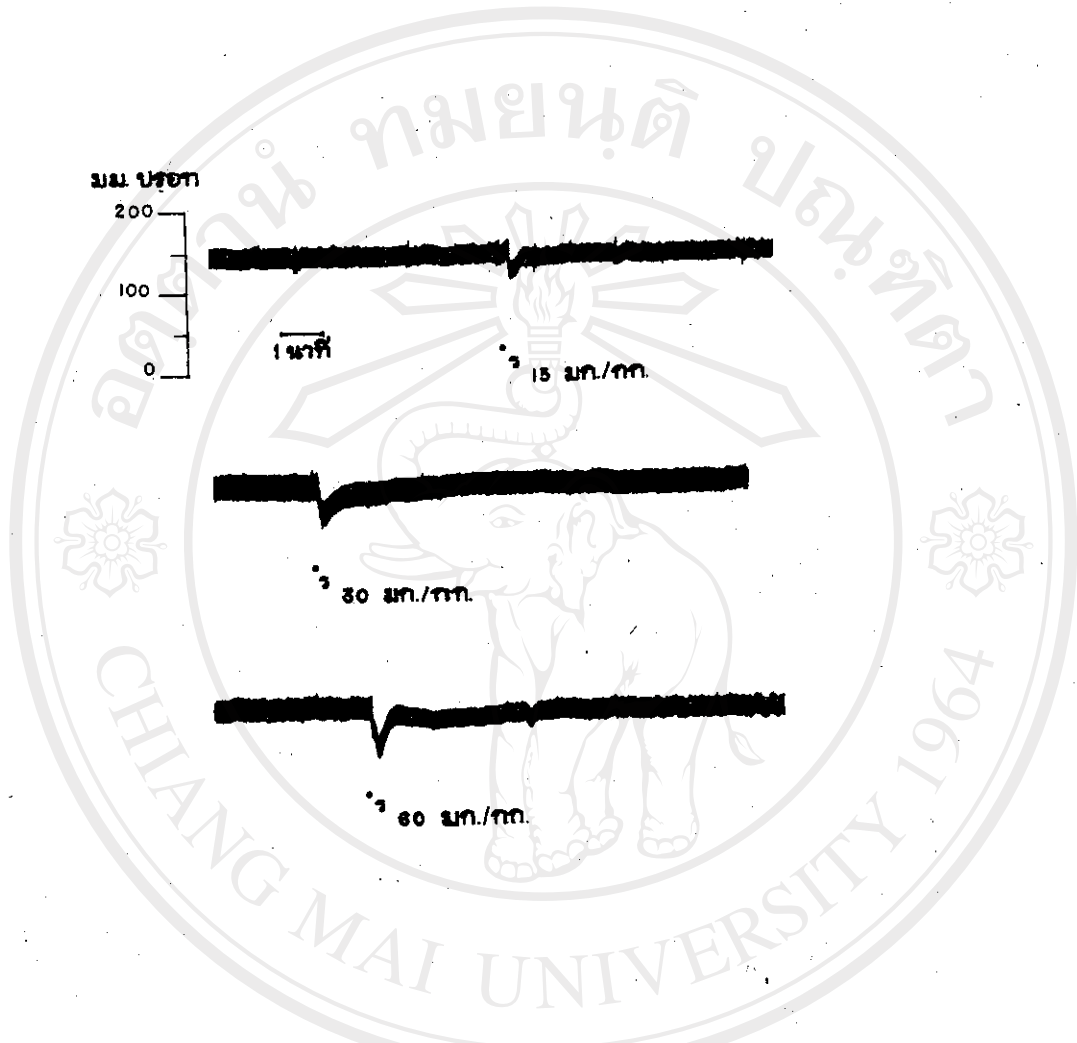
** : $p < 0.001$



รูปที่ 10

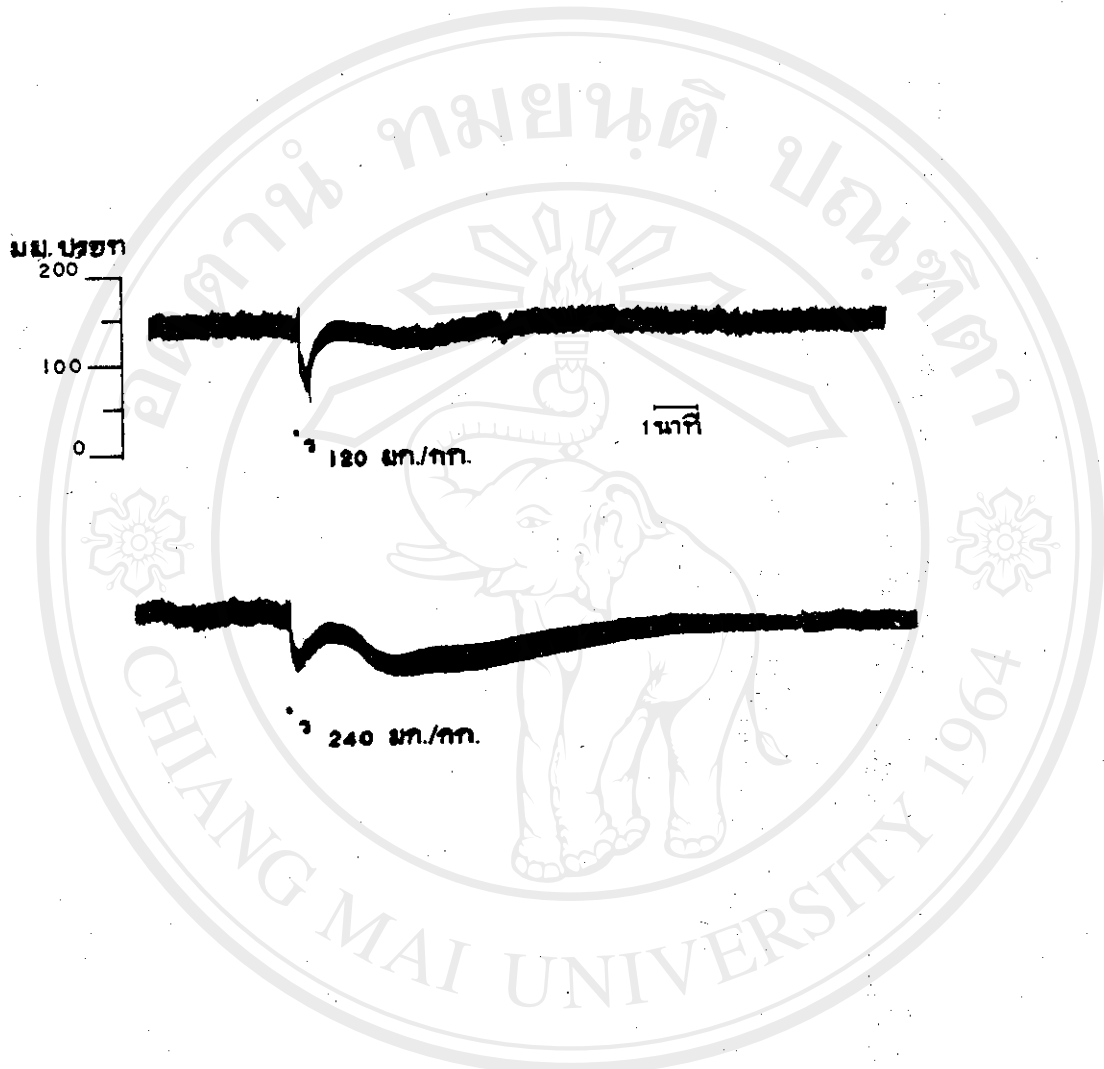
แสดงผลการลดความดันโลหิตของหนูขาว เนื่องจากน้ำสกัดใบรางจืด
ขนาดต่าง ๆ กัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



รูปที่ 11 แสดงการบันทึกความดันโลหิตของหนูขาว เมื่อได้รับน้ำสกัดใบรางจืด (ร)

ขนาด 15, 30 และ 60 มก./กก.



รูปที่ 12 แสดงการบันทึกผลความดันโลหิตของหนูขาว เมื่อได้รับน้ำสกัดใบรางจืด(ร)
ขนาด 120 และ 240 มก./กก.

ลิขสิทธิ์ © by Chiang Mai University
All rights reserved

240 และ 480 มก./กก. (รูปที่ 12) ความดันโลหิตที่ลดลงจะมี 2 ระยะ คือความดันโลหิตลดลงทันทีหลังจากได้รับน้ำสกัดใบรางจืดและมีรีเฟล็กซ์ค่อย ๆ เพิ่มขึ้น แต่จะยังไม่ถึงระดับปกติก็ลดลงอีก ซึ่งในระยะหลังนี้เวลาการออกฤทธิ์นานกว่าระยะแรก หลังจากนั้นความดันโลหิตค่อย ๆ เพิ่มขึ้นสู่ระดับปกติ แต่ความดันโลหิตของสัตว์ทดลองบางรายไม่สามารถเพิ่มจนถึงระดับปกติได้

การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของโปแตสเซียมไอออน และน้ำเกลือออร์มัลต่อความดันโลหิตของหนูขาว

การวิเคราะห์หาปริมาณโปแตสเซียมไอออน (K^+) ในน้ำสกัดใบรางจืดแห้ง (10% W/V) โดยใช้ Flame Photometer ได้แสดงไว้ในตารางที่ 3 โดยได้ผลเฉลี่ยบวกลดค่าความผิดพลาดมาตรฐานจาก 10 ตัวอย่างเท่ากับ 43.55 ± 2.15 mEq/L

เตรียมสารละลายโปแตสเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้นเท่ากับ 43.55 mEq/L และนำไปฉีดให้หนูขาวที่สลบด้วย sodium pentobarbital 40 มก./กก. ทางเส้นเลือดดำ jugular โดยใช้ปริมาตรของสารละลายโปแตสเซียมคลอไรด์เท่ากับปริมาตรของน้ำสกัดใบรางจืด (10% W/V) ขนาด 120 มก./กก. ปรากฏว่าสารละลายโปแตสเซียมคลอไรด์ทำให้ความดันโลหิตของหนูขาวลดลงต่ำกว่าคอนโทรลโดยเฉลี่ยร้อยละ 16.02 ± 1.92 (มม.ปรอท) และใช้เวลาในการออกฤทธิ์จนกลับคืนสู่ระดับปกติ 1.7 ± 0.8 นาที

เมื่อเปรียบเทียบผลของน้ำสกัดใบรางจืดขนาด 120 มก./กก. ซึ่งเป็นขนาดความเข้มข้นที่ทำให้ความดันโลหิตของหนูขาวลดลงต่ำที่สุด (maximum effective dose) โดยลดลงจากคอนโทรลเฉลี่ยร้อยละ 46.42 ± 3.75 (มม.ปรอท) และใช้เวลาการออกฤทธิ์อยู่ระหว่าง 5 ถึง 14 นาที กับสารละลายโปแตสเซียมคลอไรด์ 43.55 mEq/L ฉีดให้หนูขาวในปริมาณเท่ากัน (น้ำสกัดใบรางจืด 10% ขนาด 120 มก./กก. มีปริมาณ K^+ อยู่ 43.55 mEq/L) จากการใช้ Unpaired t-test (ยูหา, 2522) ช่วยวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าความดันโลหิตที่ลดลงเนื่องจากสารละลายโปแตสเซียมคลอไรด์ ($16.02 \pm 1.92\%$) มีความแตกต่างจากความดันโลหิตที่ลดลงเนื่องจากน้ำสกัดใบรางจืด ($46.42 \pm 3.75\%$) อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.001$) แสดงให้เห็นว่าความดันโลหิตของหนูขาวที่ลดลงเมื่อได้รับน้ำสกัดใบรางจืด เป็นผลส่วนใหญ่เนื่องมาจากฤทธิ์ของรางจืด

ตารางที่ 3 ปริมาณของ K^+ ใน 10% W/V น้ำสกัดใบรางจืดแห้งที่วิเคราะห์ด้วย Flame Photometer

ตัวอย่างที่	ปริมาณ K^+ (mEq/L)
1	43.0
2	40.0
3	36.5
4	41.0
5	39.5
6	49.5
7	45.5
8	50.0
9	49.5
10	41.0

ค่าเฉลี่ย \pm ค่าความผิดพลาดฐาน = 43.55 ± 2.15

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบผลของน้ำสกัดใบรางจืด (120 มก./กก.) สารละลาย KCl (43.55 mEq/L) และน้ำเกลือ (0.85% NaCl) ในปริมาณ (เป็นมิลลิกรัม) เท่ากัน ต่อการเปลี่ยนแปลง

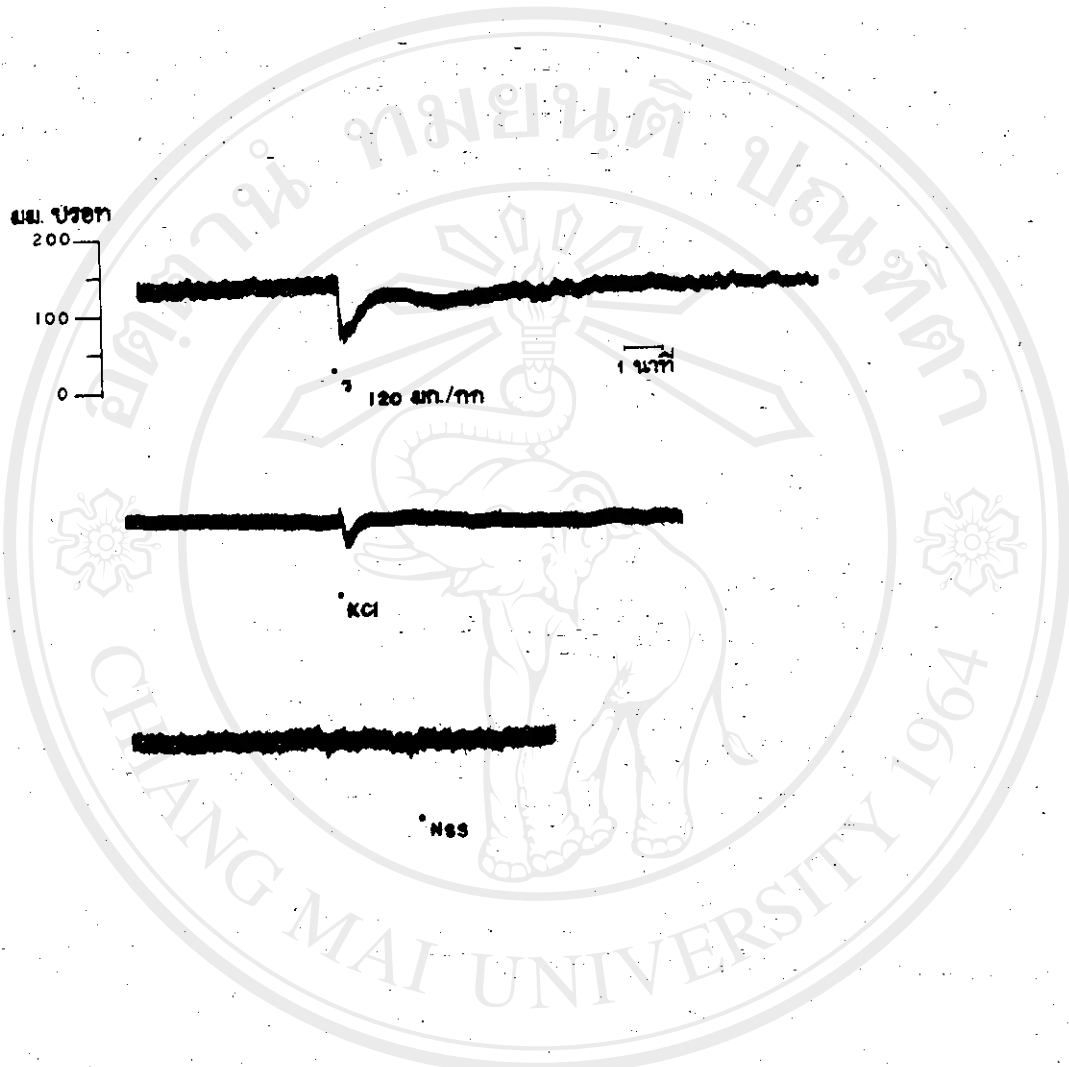
ความดันโลหิตของหนูขาว

สารที่ใช้ทดลอง	ปริมาณ K ⁺ (mEq/ml)	จำนวนสัตว์ทดลอง	ความดันโลหิต (มม.ปรอท)			ระยะเวลาการออกฤทธิ์ (นาที)
			ก่อนโทรล	หลังจากได้รับสารทดลอง	เปลี่ยนแปลงจากก่อนโทรลร้อยละ	
น้ำสกัดใบรางจืด	0.0435	5	132.34±9.99	69.98±4.68	-46.42±3.75	5-14
สารละลาย KCl	0.0435	5	132.01±4.93	111.00±5.88	-16.02±1.92**	1.7±0.8
น้ำเกลือ	0.0000	5	128.99±8.52	135.60±9.48	+ 5.08±0.73**	0.2±0.07

** : p < 0.001

- : แสดงการเปลี่ยนแปลงความดันโลหิตลดลงต่ำกว่าคอนโทรล

+ : แสดงการเปลี่ยนแปลงความดันโลหิตเพิ่มขึ้นมากกว่าคอนโทรล



รูปที่ 13 แสดงการบันทึกความดันโลหิตของหนูขาว เมื่อได้รับน้ำสกัดใบรางจืด (ร)
 120 มก./กก. สารละลาย KCl (43.55 mEq/L) และน้ำเกลือ
 (NSS) ในปริมาณเท่ากัน

การทดลองฉีดสารละลายเข้าเส้นเลือดดำ jugular ของหนูขาวว่าจะเป็นสาเหตุทำให้ความดันโลหิตของหนูขาวเปลี่ยนแปลงหรือไม่ ได้ใช้น้ำเกลือ (0.85% NaCl) ในปริมาณเท่ากับปริมาตรของน้ำสกัดใบรางจืด (10% W/V) ขนาด 120 มก./กก. ปรากฏว่าน้ำเกลือทำให้ความดันโลหิตเพิ่มขึ้นเล็กน้อยจากคอนโทรล คิดเป็นร้อยละ 5.08 ± 0.73 (มม.ปรอท) และมีระยะเวลาการออกฤทธิ์สั้นมากเพียง 0.2 ± 0.07 นาที ผลการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากน้ำเกลือนี้ เมื่อเปรียบเทียบกับผลของน้ำสกัดใบรางจืด พบว่ามีความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) ได้แสดงผลการเปรียบเทียบไว้ในตารางที่ 4, รูปที่ 13.

การทดลองที่ 4 ศึกษากลไกการออกฤทธิ์ลดความดันโลหิตของน้ำสกัดใบรางจืด

4ก. ผลของ beta-adrenoceptor blocking drug ต่อการลดความดันโลหิตของหนูขาว เนื่องจากน้ำสกัดใบรางจืด

ในการทดลองนี้ใช้ Propranolol (Inderal^R) ในขนาด 2 มก./กก.

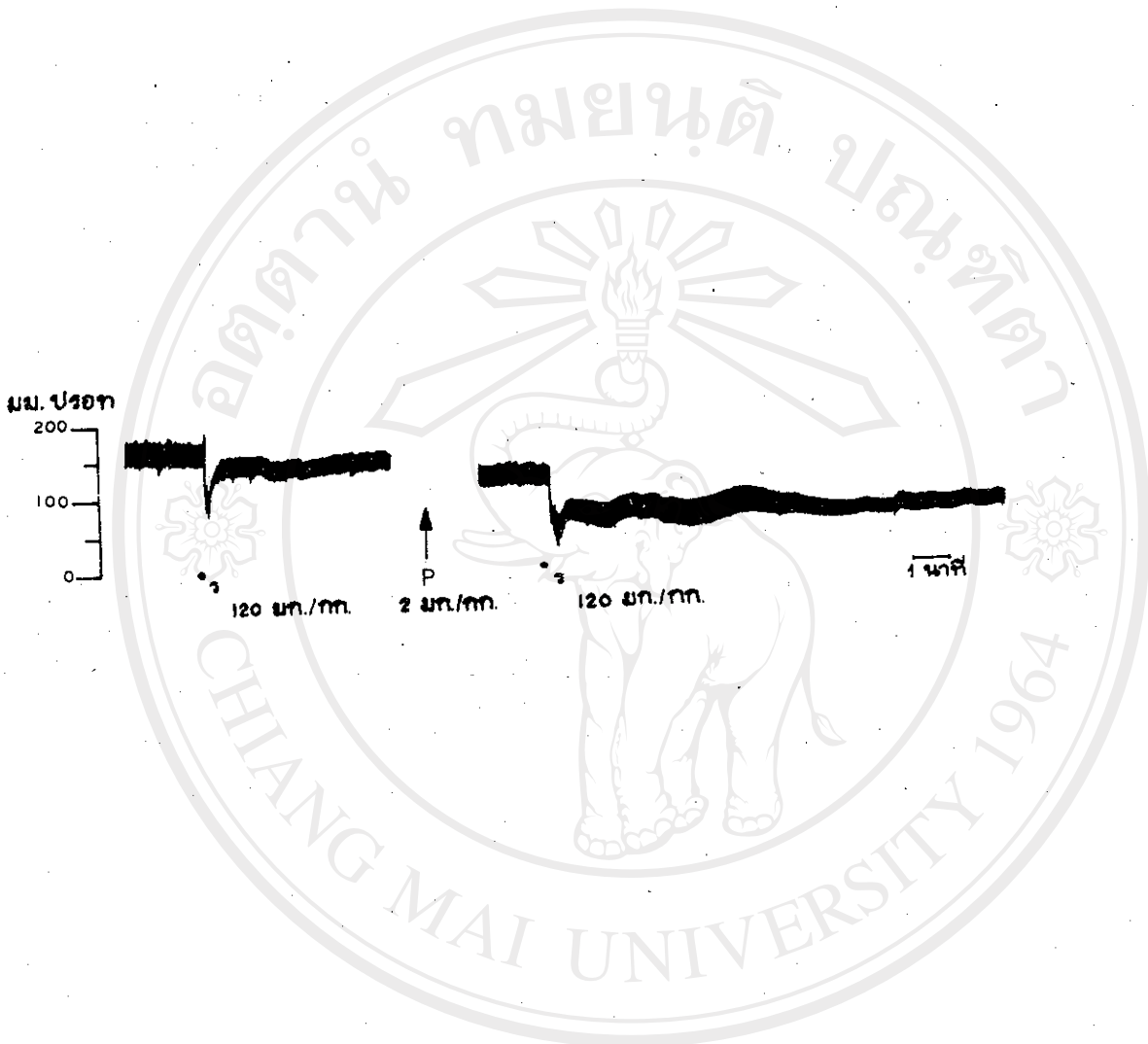
ซึ่งเป็นขนาดที่ Taesotikul (1974) ใช้ทดลองเพื่อต้านฤทธิ์ (antagonise) ของ beta-agonist ได้อย่างสมบูรณ์

หนูขาว 6 ตัว สลบด้วย Sodium pentobarbital (40 มก./กก.) ได้รับ Propranolol 2 มก./กก. ทางเส้นเลือดดำ jugular ของหนูขาว 5 นาที ก่อนฉีดน้ำสกัดใบรางจืด 120 มก./กก. (ซึ่งเป็นขนาดที่ทำให้ความดันโลหิตของหนูขาวลดลงต่ำสุดคือ ลดลงจากคอนโทรลร้อยละ 46.42 ± 3.75 (มม.ปรอท) จากการทดลองที่ 2) ผลการทดลองพบว่าการให้น้ำสกัดใบรางจืดตามหลัง Propranolol สามารถลดความดันโลหิตของหนูขาว (ตารางที่ 5, รูปที่ 14) ต่ำกว่าคอนโทรลคิดเป็นร้อยละ 53.73 ± 4.40 (มม.ปรอท) และมีระยะเวลาการออกฤทธิ์นาน 10.6 ± 1.7 นาที

การวิเคราะห์ผลโดยอาศัย Unpaired t-test เปรียบเทียบผลการลดความดันโลหิตของหนูขาว เนื่องจากน้ำสกัดใบรางจืด (120 มก./กก.) และความดันโลหิตที่ลดลงเนื่องจากน้ำสกัดใบรางจืด (120 มก./กก.) ที่ให้ตามหลัง Propranolol (2 มก./กก.) พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แสดงว่า Propranolol ไม่สามารถต้านฤทธิ์ของน้ำสกัดใบรางจืดในการลดความดันโลหิตของหนูขาวได้

ตารางที่ 5 เปรียบเทียบความดันโลหิตของหนูขาวที่ลดลงเมื่อได้รับน้ำสกัดใบรางจืดขนาด 120 มก./กก. และน้ำสกัดใบรางจืดขนาดเดียวกัน ตามหลัง propranolol (2 มก./กก.)

สารที่ใช้ในการทดลอง	จำนวนสัตว์ทดลอง	ความดันโลหิต (มม.ปรอท)			ระยะเวลาการออกฤทธิ์ (นาที)
		ก่อนโทรล	หลังจากได้รับรางจืด	ลดลงจากก่อนโทรลร้อยละ	
น้ำสกัดใบรางจืดแห้ง 120 มก./กก.	5	132.34±9.99	69.98±4.68	46.42±3.75	9.5±4.5
น้ำสกัดใบรางจืดแห้ง 120 มก./กก. ตามหลัง propranolol 2 มก./กก.	6	110.25±6.88	50.70±5.02	53.73±4.40	10.6±1.7



รูปที่ 14 แสดงการบันทึกความดันโลหิตของหนูขาว เมื่อได้รับน้ำสกัดใบรางจืด (ร, ขนาด 120 มก./กก. ก่อนและหลังจากได้รับ propranolol (P) 2 มก./กก.)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
 Copyright © by Chiang Mai University
 All rights reserved

4ข. ผลของ Cholinergic blocking drug ต่อการลดความดันโลหิต
ของหนูขาวเนื่องจากน้ำสกัดใบรางจืด

Acetylcholine 2 ไมโครกรัม/กิโลกรัม มีผลทำให้ความดันโลหิตของ หนูขาวลดลงต่ำกว่าคอนโทรลร้อยละ 47.25 ± 1.74 (มม.ปรอท) ใช้เวลาในการออกฤทธิ์ 1.7 ± 0.2 นาที และการออกฤทธิ์ของ Acetylcholine นี้ ถูกต้านฤทธิ์ได้อย่างสมบูรณ์ด้วย Atropine (Cholinergic blocking drug) ขนาด 0.3 มก./กก. ดังได้แสดงไว้ในตารางที่ 6, รูปที่ 15ก

เมื่อให้ Atropine (0.3มก./กก.) เข้าทางหลอดเลือดดำ jugular ใน หนูขาวที่สลบด้วย Sodium pentobarbital (40 มก./กก.) 5 นาที แล้วตามด้วยน้ำสกัดใบ- รางจืด (120 มก./กก.) พบว่า น้ำสกัดใบรางจืดยังคงมีฤทธิ์ทำให้ความดันโลหิตของหนูขาวลดลง ร้อยละ 28.11 ± 2.66 (มม.ปรอท) และมีระยะเวลาการออกฤทธิ์นาน 4.8 ± 1.4 นาที

เปรียบเทียบผลของน้ำสกัดใบรางจืด (120 มก./กก.) ที่ลดความดันโลหิต ของหนูขาว ($46.42 \pm 3.75\%$) จากการทดลองที่ 2 กับผลของน้ำสกัดใบรางจืด (120 มก./กก.) ที่ให้ตามหลัง Atropine (0.3 มก./กก.) ดังได้แสดงไว้ในตารางที่ 6 รูปที่ 15ข เมื่อใช้ Unpaired t-test ช่วยวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) ซึ่งแสดงว่า Atropine สามารถต้านฤทธิ์ของน้ำสกัดใบรางจืดในการลดความดันโลหิตของ หนูขาวได้ แต่การต้านฤทธิ์นี้ได้เป็นไปอย่างสมบูรณ์ เพราะน้ำสกัดใบรางจืดยังคงมีฤทธิ์ลดความดัน โลหิตลงได้ คิดเป็นร้อยละ 28.11 ± 2.66 (มม.ปรอท) หลังจากฉีด Atropine 0.3 มก./กก.

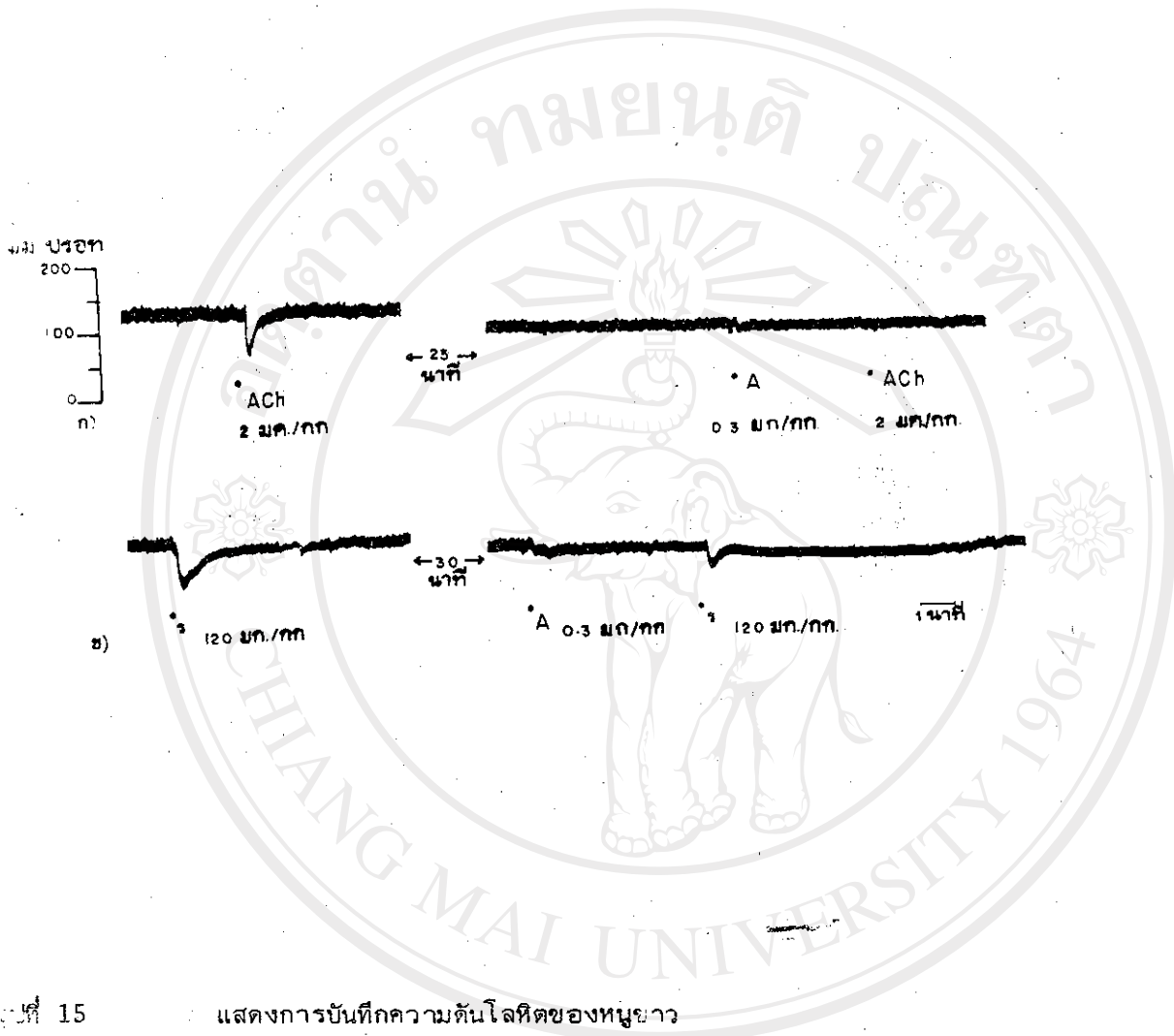
4ค. ผลของ Selective antihistamine (H_1 และ H_2 receptor
antagonist) ต่อการเปลี่ยนแปลงความดันโลหิตของหนูขาวเนื่องจาก
น้ำสกัดใบรางจืด

ความมุ่งหมายของการทดลองนี้ก็คือจะศึกษาผลของการออกฤทธิ์ของน้ำสกัดใบ รางจืดต่อ Histaminic receptor โดยใช้ Selective antihistamine 2 ชนิดคือ Mepyra- mine (H_1 -receptor antagonist) และ Cimetidine (H_2 -receptor antagonist)

ตารางที่ 6 เปรียบเทียบผลการเปลี่ยนแปลงความดันโลหิตของหนูขาว เมื่อได้รับ Acetylcholine 2 ไมโครกรัม/กิโลกรัม (ก) หรือ น้ำสกัดใบรางจืด 120 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (ค) กับผลของ Acetylcholine (ข) หรือ น้ำสกัดใบรางจืด (ง) ในขนาดเท่าเดิม ที่ให้ตามหลัง Atropine 0.3 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ

สารที่ใช้ทดลอง	ขนาด	จำนวนสัตว์ทดลอง	ความดันโลหิต (มม.ปรอท)			ระยะเวลาการออกฤทธิ์ (นาที)
			ก่อนให้สาร	หลังจากได้รับสารทดลอง	ลดลงจากก่อนให้สารร้อยละ	
ก. Acetylcholine	2 มก./กก.	5	128.00±2.91	67.33±1.13	47.25±1.74	1.7±0.2
ข. Acetylcholine ตามหลัง Atropine 0.3 มก./กก.	2 มก./กก.	5	120.67±5.74	120.67±5.74	0.00±0.00**	-
ค. น้ำสกัดใบรางจืด	120 มก./กก.	5	132.34±9.99	69.98±4.68	46.42±3.75	9.5±4.5
ง. น้ำสกัดใบรางจืด ตามหลัง Atropine 0.3 มก./กก.	120 มก./กก.	5	127.67±5.20	91.33±2.32	28.11±2.66*	4.8±1.4

* : $p < 0.01$ ** : $p < 0.001$



รูปที่ 15 แสดงการบันทึกความดันโลหิตของหนูขาว

- ก) ผลของ Acetylcholine (ACh) 2 ไมโครกรัม/กิโลกรัม
ก่อนและหลังจากได้รับ Atropine (A) 0.3 มิลลิกรัม/กิโลกรัม
- ข) ผลของน้ำสกัดใบรางจืด (ร) 120 มิลลิกรัม/กิโลกรัม
ก่อนและหลังจากได้รับ Atropine 0.3 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

ลิขสิทธิ์ © Chiang Mai University
All rights reserved

Histamine dihydrochloride ขนาด 10 ไมโครกรัม/กิโลกรัม ทำให้ความดันโลหิตของหนูขาวลดลงจากคอนโทรลร้อยละ 47.29 ± 3.14 (มม.ปรอท) และใช้เวลาในการออกฤทธิ์ 1.9 ± 0.6 นาที และการออกฤทธิ์ลดความดันโลหิตของ Histamine (10 มก./กก.) สามารถถูกต้านฤทธิ์ได้ด้วย Mepyramine ขนาด 10 มก./กก. และ Cimetidine ขนาด 15 มก./กก. ทำให้ความดันโลหิตที่ลดลงเนื่องจาก Histamine ลดลงเหลือร้อยละ 2.57 ± 1.66 (มม.ปรอท) (ตารางที่ 7) ในหนูขาวบางรายการต้านฤทธิ์นี้จะเป็นไปอย่างสมบูรณ์ (รูปที่ 16ก)

เมื่อน้ำสกัดใบรางจืดขนาด 120 มก./กก. ให้หนูขาวทางเส้นเลือดดำ jugular ที่สลบด้วย Sodium pentobarbital (40 มก./กก.) หลังจากฉีด Mepyramine ขนาด 15 มก./กก. และ Cimetidine ขนาด 20 มก./กก. นาน 5 นาที ปรากฏว่า น้ำสกัดใบรางจืดยังคงมีฤทธิ์ลดความดันโลหิตของหนูขาวลงได้ร้อยละ 35.32 ± 4.98 (มม.ปรอท) โดยใช้เวลาการออกฤทธิ์นาน 13.1 ± 1.3 นาที (ตารางที่ 7, รูปที่ 16ข)

เปรียบเทียบผลการลดความดันโลหิตของหนูขาวเนื่องจากน้ำสกัดใบรางจืดขนาด 120 มก./กก. โดยลดลง ร้อยละ 46.42 ± 3.75 (จากการทดลองที่ 2) และผลการลดความดันโลหิตเนื่องจากน้ำสกัดใบรางจืดขนาด 120 มก./กก. ตามหลัง Mepyramine 15 มก./กก. และ Cimetidine 20 มก./กก. โดยความดันโลหิตลดลงร้อยละ 35.32 ± 4.98 พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แสดงว่า selective anti-histamine ไม่สามารถต้านฤทธิ์การลดความดันโลหิตของหนูขาวเนื่องจากน้ำสกัดใบรางจืดได้

สรุปผลการทดลอง

น้ำสกัดใบรางจืดแห้งมีผลต่อระบบไหลเวียนโลหิต โดยทำให้ความดันโลหิตของหนูขาวลดลง ความดันโลหิตลดลงต่ำกว่าคอนโทรลได้มากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 46.42 ± 3.75 (มม.ปรอท) ที่ความเข้มข้นของน้ำสกัดใบรางจืดขนาด 120 มก./กก. (maximum effective dose) และมีผลต่อเส้นเลือดแดงของคนที่แยกจากสายสะดือของทารกแรกคลอด ทำให้เส้นเลือดหดตัวก่อนแล้วตามด้วยการคลายตัว แต่ในกรณีที่ความเข้มข้นสูงการคลายตัวจะเด่น และออกฤทธิ์อยู่ได้นานกว่า

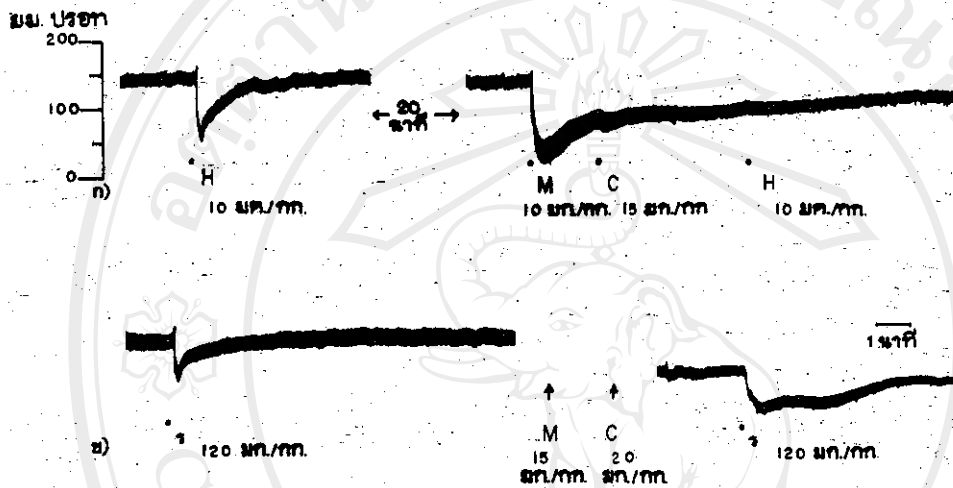
ศึกษาผลของการออกฤทธิ์ของน้ำสกัดใบรางจืดโดยอาศัยยาต้านฤทธิ์ (blocking drug) หลายชนิด ได้แก่ Atropine (cholinergic blocking drug), Propranolol (beta-adrenoceptor blocking drug) และ Selective antihistamines; Mepyramine (H_1 -receptor antagonist) ร่วมกับ Cimetidine (H_2 -receptor antagonist) ปรากฏว่า Atropine สามารถลดการตอบสนองต่อน้ำสกัดใบรางจืดในการลดความดันโลหิตของหนูขาวลงได้ แต่ไม่สามารถต้านฤทธิ์ของรางจืดได้อย่างสมบูรณ์ ในขณะที่ Propranolol, Mepyramine และ Cimetidine ไม่มีผลต่อการตอบสนองของน้ำสกัดใบรางจืดในการลดความดันโลหิตของหนูขาวเลย

ปริมาณของ K^+ ในน้ำสกัดใบรางจืด (43.55 mEq/L) มีผลทำให้ความดันโลหิตของหนูขาวลดลงได้เล็กน้อย ($16.02 \pm 0.2\%$) แต่ผลที่ได้มีความแตกต่างจากผลลดความดันโลหิตของหนูขาวเนื่องจากรางจืด ($46.42 \pm 3.75\%$) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) แสดงว่า ความดันโลหิตของหนูขาวที่ลดลงเมื่อได้รับน้ำสกัดใบรางจืด เป็นผลเนื่องมาจากฤทธิ์ของรางจืด ไม่ใช่เกิดจาก K^+ ที่มีในน้ำสกัดใบรางจืด และการฉีดสารละลาย (น้ำเกลือออร์มัล) เข้าเส้นเลือดดำ jugular ของหนูขาว ก็ไม่มีผลทำให้ความดันโลหิตของหนูขาวเปลี่ยนแปลง

ตารางที่ 7 เปรียบเทียบผลการลดความดันโลหิตของหนูขาว เมื่อได้รับ Histamine 10 ไมโครกรัม/กิโลกรัม (ก) หรือ น้ำสกัดใบรางจืด 120 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (ข) กับผลของ Histamine (ข) หรือ น้ำสกัดใบรางจืดขนาด เท่าเดิม (ง) ที่ให้ตามหลัง Selective antihistamine คือ Mepyramine (H_1 -receptor antagonist) ร่วมกับ Cimetidine (H_2 -receptor antagonist)

สารที่ใช้ในการทดลอง	ขนาด	จำนวนสัตว์ทดลอง	ความดันโลหิต (มม.ปรอท)			ระยะเวลาการออกฤทธิ์ (นาที)
			ก่อนโทรล	หลังจากได้รับสารทดลอง	ลดลงจากก่อนโทรลร้อยละ	
ก. Histamine	10 มก./กก.	5	128.60±8.66	69.67±6.79	47.29±3.14	1.9±0.6
ข. Histamine ตามหลัง Mepyramine และ Cimetidine	10 มก./กก. 10 มก./กก. 15 มก./กก.	5	107.33±5.46	104.33±4.36	2.57±1.66**	0.2±0.1
ค. น้ำสกัดใบรางจืด	120 มก./กก.	5	132.34±9.99	69.98±4.68	46.42±3.75	9.5±4.5
ง. น้ำสกัดใบรางจืด ตามหลัง Mepyramine และ Cimetidine	120 มก./กก. 15 มก./กก. 20 มก./กก.	5	109.00±3.89	70.67±6.38	35.32±4.98	13.1±1.3

** : $p < 0.001$



รูปที่ 16 แสดงการบันทึกความดันโลหิตของหนูขาว เมื่อได้รับ histamine (H) 10 ไมโครกรัม/กิโลกรัม (ก) และน้ำสกัดใบรางจืด(ร) 120 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (ข) ก่อนและหลังจากได้รับ Mepyramine (H_1 -receptor antagonist) ร่วมกับ Cimetidine (H_2 -receptor antagonist)

ตอนที่ 2 ศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของน้ำสกัดใบรางจืดต่อระบบทางเดินอาหาร

การทดลองที่ 1 ศึกษาการออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของน้ำสกัดใบรางจืดต่อลำไส้เล็กของหนูขาวที่แยกออกจากตัว

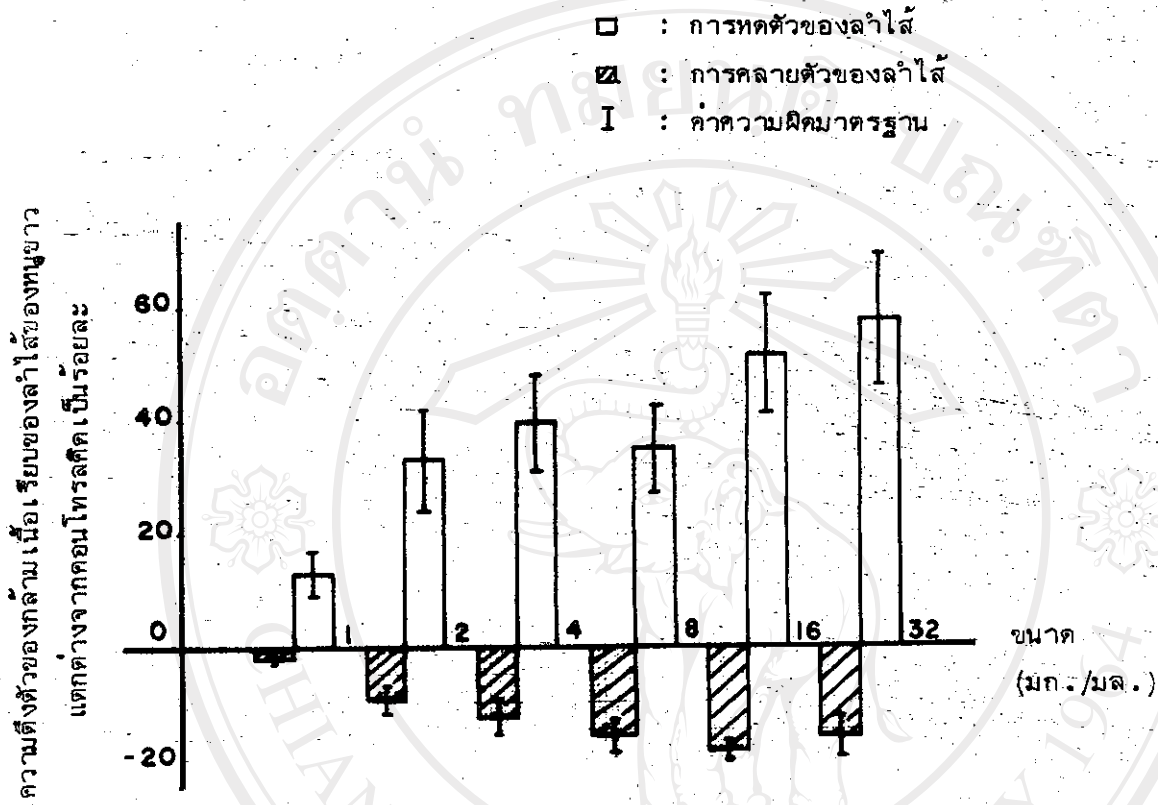
น้ำสกัดใบรางจืดแห้ง (15% W/V) ขนาดความเข้มข้น 1, 2, 4, 8, 16 และ 32 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (เป็นความเข้มข้นสุดท้ายที่คำนวณได้ต่อมิลลิลิตรของสารละลาย Tyrode ใน smooth muscle chamber 30 มิลลิลิตร) สามารถเปลี่ยนแปลงความตึงตัว (Tonus) ของกล้ามเนื้อเรียบและแรงบีบตัว (contractile force) ของลำไส้ โดยที่การเปลี่ยนแปลงจะเกิดขึ้น 2 ลักษณะ ดังนี้คือ เกิดการคลายตัว (relaxation) ขึ้นทันทีเมื่อได้รับน้ำสกัดใบรางจืด และตามด้วยการหดตัว (contraction) ระยะเวลาที่เกิดการคลายตัวจะสั้นมาก จากการทดลองกับลำไส้เล็กของหนูขาว 64 ชิ้น (strips) พบว่า โดยเฉลี่ยแล้วใช้เวลาไม่เกิน 15 วินาที หลังจากได้รับน้ำสกัดใบรางจืด และแม้ว่าจะได้รับน้ำสกัดใบรางจืดในขนาดสูง ๆ การคลายตัวที่เกิดขึ้นมีการลดลงทั้งความตึงตัว และความสูงของแรงบีบตัวของลำไส้ ส่วนการหดตัวจะเกิดขึ้นตามหลังการคลายตัว และมีผลเด่นชัดมาก น้ำสกัดใบรางจืดทำให้ความตึงตัวและแรงบีบตัวเพิ่มขึ้นเป็นระยะเวลาสั้นเกินกว่า 5 นาทีแล้วจึงค่อย ๆ ลดลงสู่ระดับปกติ ภายในเวลา 10 นาที การเปลี่ยนแปลงในช่วงการหดตัวโดยเพิ่มทั้งความตึงตัว และแรงบีบตัว จะมีความสัมพันธ์เป็นปฏิกิริยาโดยตรงกับขนาดของน้ำสกัดใบรางจืด คือเมื่อเพิ่มขนาดความเข้มข้นให้สูงขึ้น การเปลี่ยนแปลงก็มากขึ้นด้วย

ผลการทดลองตารางที่ 8 และรูปที่ 17 แสดงการเปลี่ยนแปลงความตึงตัวของกล้ามเนื้อเรียบของลำไส้เล็กของหนูขาว จะเห็นว่าในช่วงที่เกิดการคลายตัวนั้น น้ำสกัดใบรางจืดแห้งขนาด 16 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ทำให้ความตึงตัวลดลงได้มากที่สุด คือลดลงร้อยละ 18.59 ± 1.54 จากคอนโทรล และใช้เวลาในการตอบสนองถึงจุดสูงสุดโดยเฉลี่ยจากลำไส้เล็ก 8 ชิ้น เพียง 7.2 ± 0.53 วินาที เมื่อความเข้มข้นของน้ำสกัดใบรางจืดแห้งสูงขึ้นเป็น 32 มก./มล. การคลายตัวจะลดลง แต่ระยะเวลาของการตอบสนองไม่ต่างจากเวลาที่ใช้ในการตอบสนองค่อน้ำสกัดใบรางจืดขนาด 16 มก./มล. เลย คือได้ผลเฉลี่ยของเวลาการตอบสนองถึงจุดสูงสุดเท่ากับ 7.2 ± 0.31 วินาที หลังจากความตึงตัวลดลงแล้วในช่วงระยะเวลาสั้น ๆ น้ำสกัดใบรางจืดจะทำให้ความตึงตัวเพียงสูงขึ้น เป็นช่วงการหดตัวของลำไส้และออกฤทธิ์อยู่ได้นาน ความเข้มข้นของน้ำสกัดใบรางจืดใน

ตารางที่ 8 ผลการเปลี่ยนแปลงความตึงตัว (Tonus) ของกล้ามเนื้อเรียบของลำไส้เล็กของหนูขาว เมื่อได้รับน้ำสกัดใบรางจืดขนาดต่าง ๆ

ขนาดของน้ำสกัดใบรางจืด (มก./มล.)	n	ความตึงตัวที่ลดลงทันทีเมื่อได้รับ "ร"		ความตึงตัวที่เพิ่มขึ้นหลังการคลายตัว	
		ระยะเวลา (กรัม)	เวลา (วินาที) #	ร้อยละ (กรัม)	เวลา (วินาที) ##
1	8	2.06±0.95	3.5±1.35	12.94±4.15*	210±35.4
2	8	9.68±2.78*	7.4±1.02	34.78±9.38*	228.33.0
4	8	12.86±3.19*	6.9±0.51	39.56±8.66*	174±35.4
8	8	16.26±3.05*	6.9±1.23	34.95±7.88*	186±28.8
16	8	18.59±1.54**	7.2±0.33	51.48±10.32*	132±39.0
32	8	16.34±3.43*	7.2±0.31	57.59±11.12*	24±3.6

ร = น้ำสกัดใบรางจืดแห้ง
 n = จำนวนชิ้น (stip) ของลำไส้เล็กของหนูขาวที่ทำการทดลอง
 # = เวลาที่ความตึงตัวลดลงมากที่สุด
 ## = เวลาที่ความตึงตัวเพิ่มขึ้นสูงสุด
 * = p < 0.05
 ** = p < 0.001



รูปที่ 17 แสดงการเปลี่ยนแปลงความตึงตัวของกล้ามเนื้อเรียบของลำไส้เล็กของหนูขาวที่แยกออกจากตัวเมื่อได้รับน้ำสกัดใบรางจืดขนาดต่าง ๆ ตั้งแต่ 1 ถึง 32 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

ขนาดต่ำ ๆ ได้แก่ 1 และ 2 มก./มล. มีผลทำให้ความตึงตัวค่อย ๆ เพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ โดยใช้เวลาในการเพิ่มความตึงตัวถึงจุดที่มีการตอบสนองสูงสุด 210 ± 35.4 และ 228 ± 33.0 วินาที ตามลำดับ เมื่อความเข้มข้นสูงขึ้นเป็น 4, 8 และ 16 มก./มล. จะทำให้ความตึงตัวเพิ่มขึ้นในอัตราที่เร็วขึ้นคือ 174 ± 35.4 , 186 ± 28.8 และ 132 ± 39.0 วินาทีตามลำดับ เมื่อความเข้มข้นสูงถึง 32 มก./มล. ความตึงตัวจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วหลังการคลายตัว ซึ่งใช้เวลาโดยเฉลี่ยเพียง 24 ± 3.6 วินาที และได้ความตึงตัวเพิ่มขึ้นร้อยละ 57.59 ± 11.12 จากคอนโทรล

การเปลี่ยนแปลงความสูงของแรงบีบตัวของลำไส้ต่อน้ำสกัดใบรางจืดได้แสดงไว้ในตารางที่ 9, รูปที่ 18 การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในช่วงการคลายตัวจะเป็นปฏิกิริยาโดยตรงกับความเข้มข้น แต่ในช่วงการหดตัว แรงบีบตัวจะลดลงเมื่อความเข้มข้นสูงมากเป็น 32 มก./มล. น้ำสกัดใบรางจืดขนาด 16 มก./มล. ทำให้ความสูงของแรงบีบตัวของลำไส้เล็กลดลงจากคอนโทรลร้อยละ 59.84 ± 11.32 (มม.) ในช่วงการคลายตัว และเพิ่มมากขึ้นเป็นร้อยละ 196.94 ± 68.36 (มม.) ในช่วงการหดตัว เมื่อเพิ่มขนาดน้ำสกัดใบรางจืดเป็น 32 มก./มล. แรงบีบตัวในช่วงการคลายตัวลดลงจากคอนโทรลร้อยละ 77.56 ± 5.71 และเพิ่มมากกว่าคอนโทรลในช่วงการหดตัวเป็นร้อยละ 150.54 ± 25.17

รูปที่ 19 แสดงผลของน้ำสกัดใบรางจืดขนาด 16 มก./มล. (3.58 มิลลิ-ลิตรของ 15% W/V) ซึ่งเห็นผลการเปลี่ยนแปลงชัดเจนทั้ง 2 ลักษณะ แต่ลักษณะที่เด่นคือทำให้ลำไส้เล็กหดตัว โดยเพิ่มทั้งความตึงตัวและความสูงของแรงบีบตัว และผลของการศึกษาถึงผลการเติมสารละลาย Tyrode ปริมาตรเท่ากับ 15% น้ำสกัดใบรางจืดขนาด 16 มก./มล. (3.58 มิลลิ-ลิตร) ลงใน tissue bath ปรากฏว่าไม่มีผลทำให้ลำไส้เล็กของหนูขาวเปลี่ยนแปลงไปจากคอน-โทรล

การทดลองที่ 2 ศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของน้ำสกัดใบรางจืดต่อลำไส้เล็กของหนูขาวที่แยกออกจากตัว

2ก. ศึกษาการออกฤทธิ์ของน้ำสกัดใบรางจืดต่อ cholinergic receptor ในลำไส้เล็กของหนูขาว

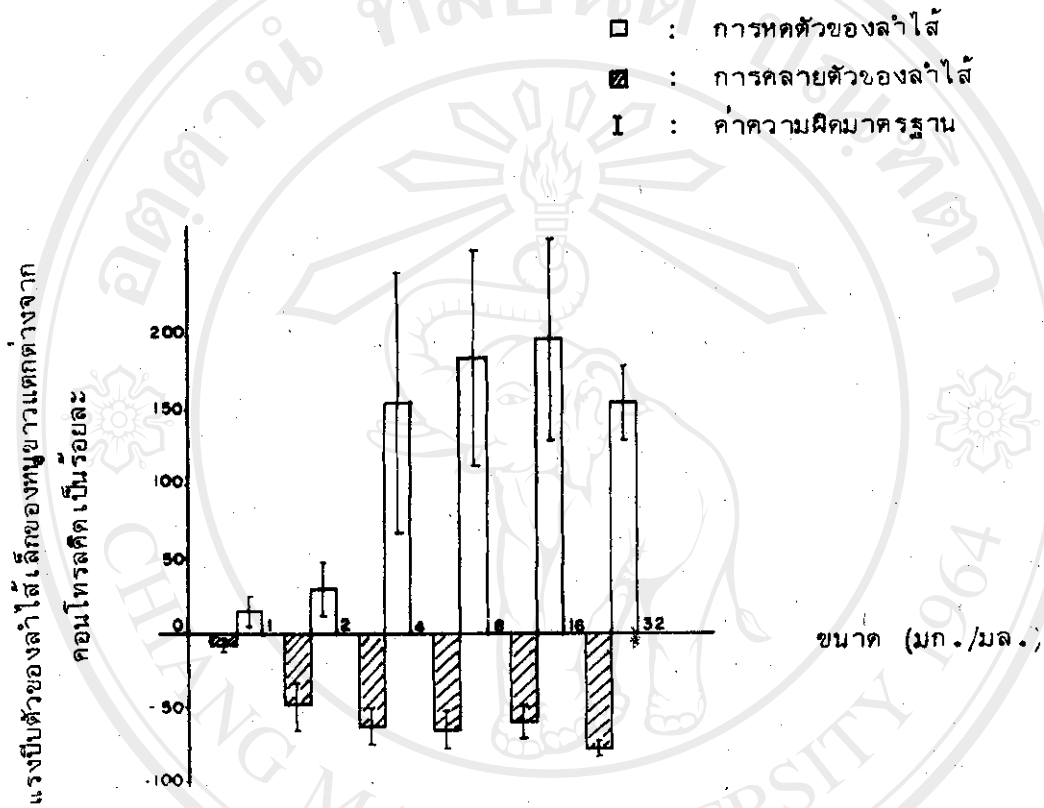
ตารางที่ 9 ผลการเปลี่ยนแปลงแรงบีบตัวของลำไส้เล็กของหนูขาว (contractile force) เมื่อได้รับน้ำสกัดใบรางจืดขนาดต่าง ๆ

ขนาดของน้ำสกัด ใบรางจืด (มก./มด.)	n	ค่าเฉลี่ยความสูงของแรงบีบตัวของลำไส้เล็ก (มม.)	
		ในช่วงการคลายตัว ลดลงจากคอนโทรลร้อยละ	เพิ่มขึ้นจากคอนโทรลร้อยละ
1	8	8.33± 5.45	15.00±10.43
2	8	48.48±15.11*	31.38±17.90
4	8	63.12±12.65*	154.64±88.06
8	8	65.22±10.03**	185.04±73.03*
16	8	59.84±11.32*	196.94±68.36*
32	8	77.56±5.71**	150.54±25.17**

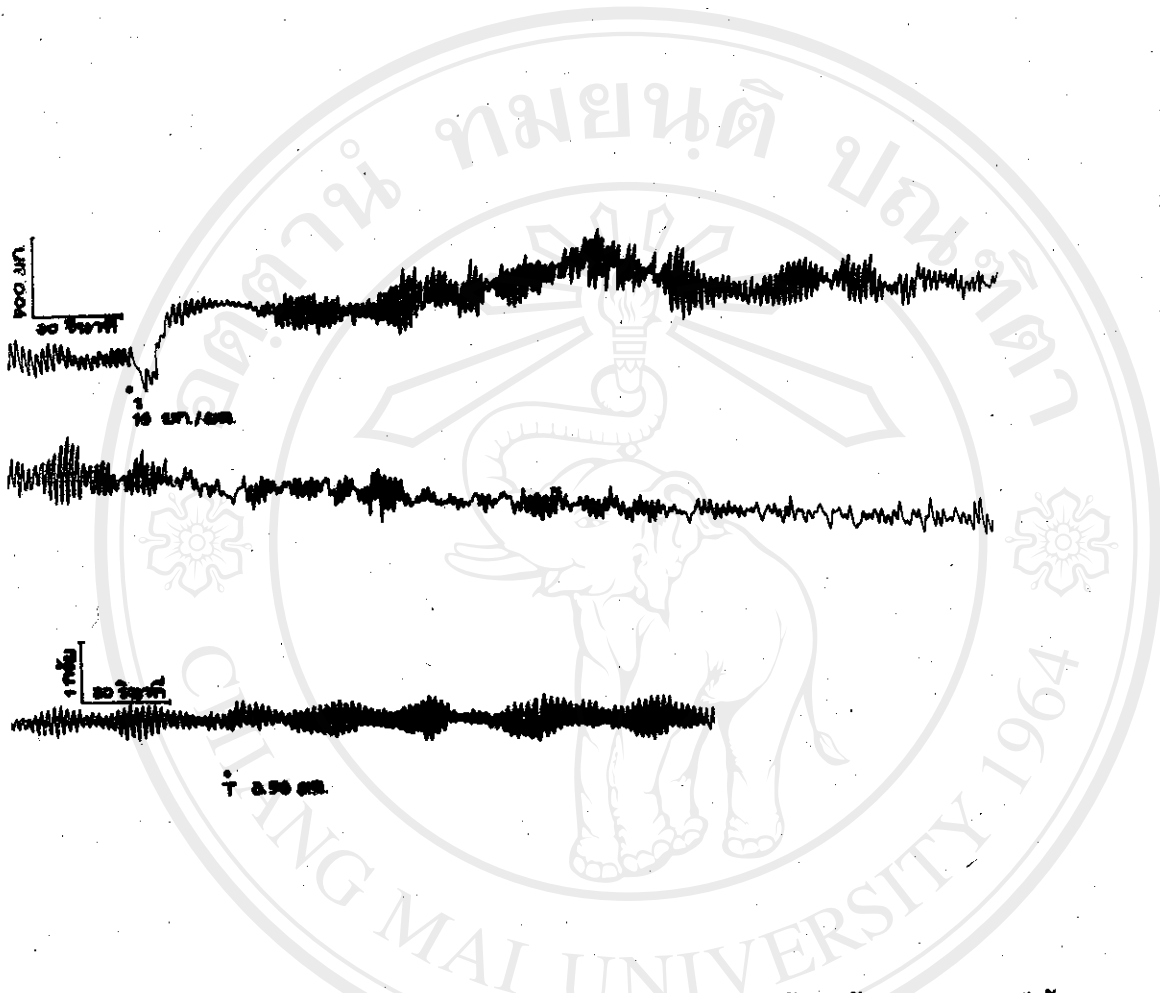
* = $p < 0.05$

** = $p < 0.001$

n = จำนวนชิ้น (strip) ของลำไส้เล็กของหนูขาวที่ทำการทดลอง



รูปที่ 18 แสดงการเปลี่ยนแปลงแรงบีบตัวของลำไส้เล็กของหนูขาวที่แยกออกจากตัว เมื่อได้รับน้ำสกัดใบรางจืดขนาดต่าง ๆ ตั้งแต่ 1 ถึง 32 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร



รูปที่ 19

แสดงการเปลี่ยนแปลงความตึงตัวและแรงบีบตัวของกล้ามเนื้อเรียบของลำไส้เล็กของหนูขาว เมื่อได้รับน้ำสกัดใบรางจืด (ร) ขนาด 16 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และผลของการเติมสารละลาย Tyrode (T) ลงใน tissue bath ในปริมาณเท่ากันกับน้ำสกัดใบรางจืด 16 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

Acetylcholine ขนาดความเข้มข้นต่าง ๆ ตั้งแต่ 1×10^{-2} ถึง 1.28 ไมโครกรัม / มิลลิลิตร มีผลทำให้ลำไส้เล็กหดตัว (ตารางที่ 10) โดยเพิ่มความตึงตัวของกล้ามเนื้อเรียบของลำไส้เล็กมากขึ้นตามขนาดความเข้มข้น ขนาดของความเข้มข้นที่ทำให้ความตึงตัวเพิ่มมากที่สุดคือ 6.4×10^{-1} มก./มล. โดยได้ความตึงตัวเพิ่มสูงขึ้นมากกว่าคอนโทรลถึง 254.0 ± 10.77 กรัม เมื่อเทียบคอนโทรลเป็น 100 กรัม การตอบสนองของลำไส้ต่อ acetylcholine ใช้เวลานาน และหมดฤทธิ์เร็ว ส่วนความสูงของแรงบีบตัวของลำไส้ที่เพิ่มขึ้นจะเป็นปฏิกิริยากลับกับความเข้มข้น กล่าวคือ acetylcholine ขนาดความเข้มข้นต่ำ จะเพิ่มความสูงของแรงบีบตัว แต่ถ้าขนาดความเข้มข้นสูง ทำให้แรงบีบตัวของลำไส้เล็กลดลง

Atropine sulfate ขนาด 4 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สามารถต้านฤทธิ์ (antagonized) ของ acetylcholine ขนาด 6.4×10^{-1} มก./มล. ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ทำให้เกิดการตอบสนองได้มากที่สุด (maximum effective dose) ได้อย่างสมบูรณ์ (รูปที่ 20)

น้ำสกัดใบรางจืดแห้งขนาด 16 มก./มล. เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมนำมาใช้ในการทดลองหากลไกการออกฤทธิ์ต่อลำไส้เล็กของหนูขาว เพราะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความตึงตัวและแรงบีบตัวของลำไส้เล็กอย่างชัดเจน (ตารางที่ 8 และ 9) เมื่อให้น้ำสกัดใบรางจืด 3 นาทีตามหลัง atropine 4 มก./มล. การตอบสนองของลำไส้เล็กต่อน้ำสกัดใบรางจืดยังคงมีการเปลี่ยนแปลงอย่างเห็นได้ชัด (รูปที่ 21) จากการทดลองกับลำไส้เล็กของหนูขาว 14 ชิ้น พบว่า atropine ทำให้ความตึงตัวและแรงบีบตัวของลำไส้เล็กของหนูขาวลดลงต่ำกว่าคอนโทรลเล็กน้อย และน้ำสกัดใบรางจืดที่ให้ตามหลัง atropine ทำให้ความตึงตัวและแรงบีบตัวของลำไส้ลดลงในช่วงเวลาสั้น ๆ โดยความตึงตัวลดลงร้อยละ 16.46 ± 3.08 จากคอนโทรล ใช้เวลาลดลงถึงจุดต่ำสุด 9.1 ± 1.41 วินาที หลังจากนั้นความตึงตัวจะเพิ่มสูงขึ้นร้อยละ 32.54 ± 5.22 จากคอนโทรล ใช้เวลาในการเพิ่มขึ้นถึงจุดสูงสุด 186 ± 25.8 วินาที (ตารางที่ 11) และทำให้ความสูงของแรงบีบตัวของลำไส้ลดลงจากคอนโทรลร้อยละ 58.80 ± 7.96 (มม.) ในช่วงการคลายตัว ตามด้วยการเพิ่มขึ้นจากคอนโทรลร้อยละ 116.58 ± 21.30 (มม.) ในช่วงการหดตัว (ตารางที่ 12)

เมื่อเปรียบเทียบผลของน้ำสกัดใบรางจืดขนาด 16 มก./มล. กับผลของน้ำสกัดใบรางจืดขนาดเดียวกันที่ให้ตามหลัง atropine 4 มก./มล. (ตารางที่ 11 และ 12) พบ

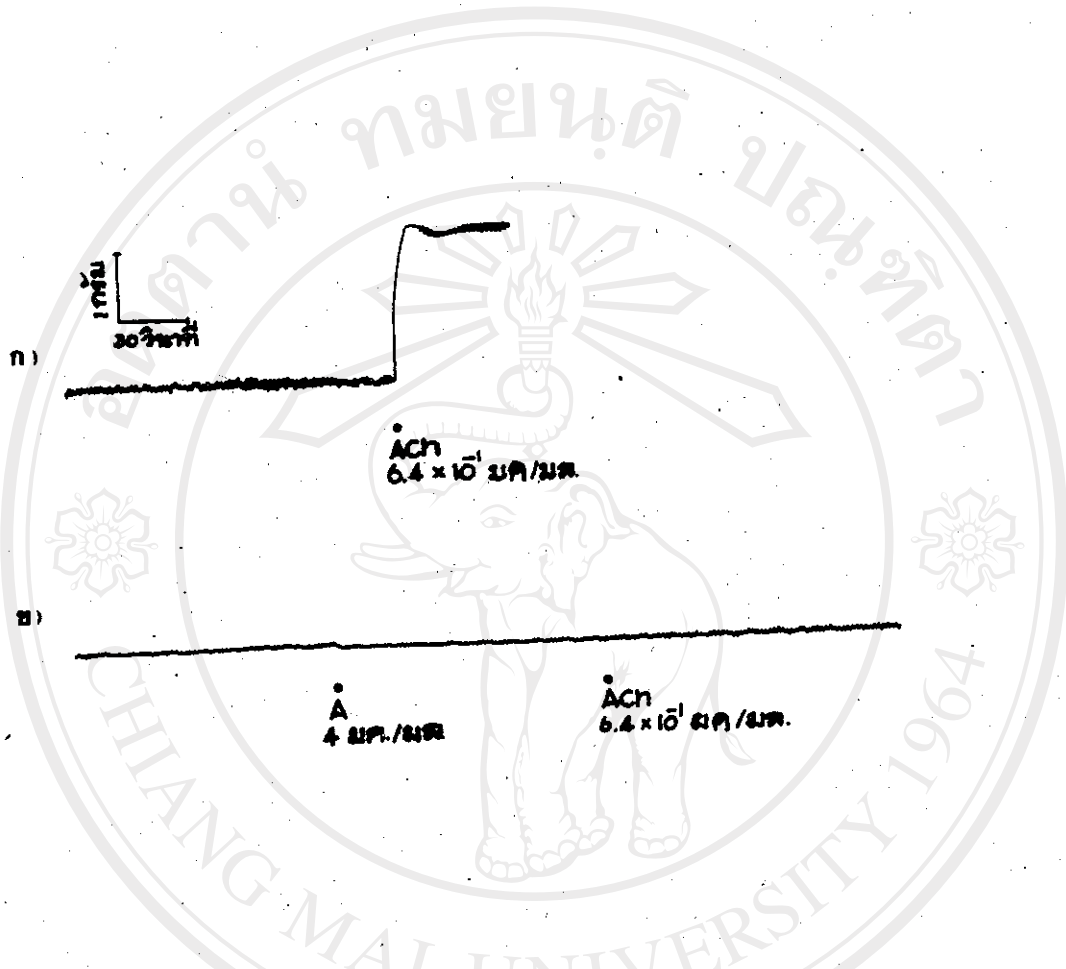
ตารางที่ 10 ผลของ Acetylcholine ต่อการเปลี่ยนแปลงความถี่หัวใจและแรงบีบตัวของกล้ามเนื้อ
เรียบของลำไส้เล็กของหนูขาว

ขนาดของ Ach (มค./มล.)	n	ความถี่หัวใจเป็นครั้งที่เพิ่มขึ้น จากก่อนโทรล (ร้อยละ)	ความสูงของแรงบีบตัวเปลี่ยนแปลง ไปจากก่อนโทรล (ร้อยละ)
1×10^{-2}	5	66.00 ± 7.77*	78.81 ± 40.34
2×10^{-2}	5	102.00 ± 15.69*	62.93 ± 21.37*
4×10^{-2}	5	142.67 ± 17.43*	165.00 ± 64.03
8×10^{-2}	5	170.67 ± 12.40**	396.50 ± 199.34
1.6×10^{-1}	5	216.67 ± 11.59**	150.00 ± 124.50
3.2×10^{-1}	5	247.33 ± 10.56**	12.67 ± 30.99
6.4×10^{-1}	5	254.00 ± 10.77**	-20.00 ± 37.42
1.28	5	254.00 ± 10.35**	-30.00 ± 37.42

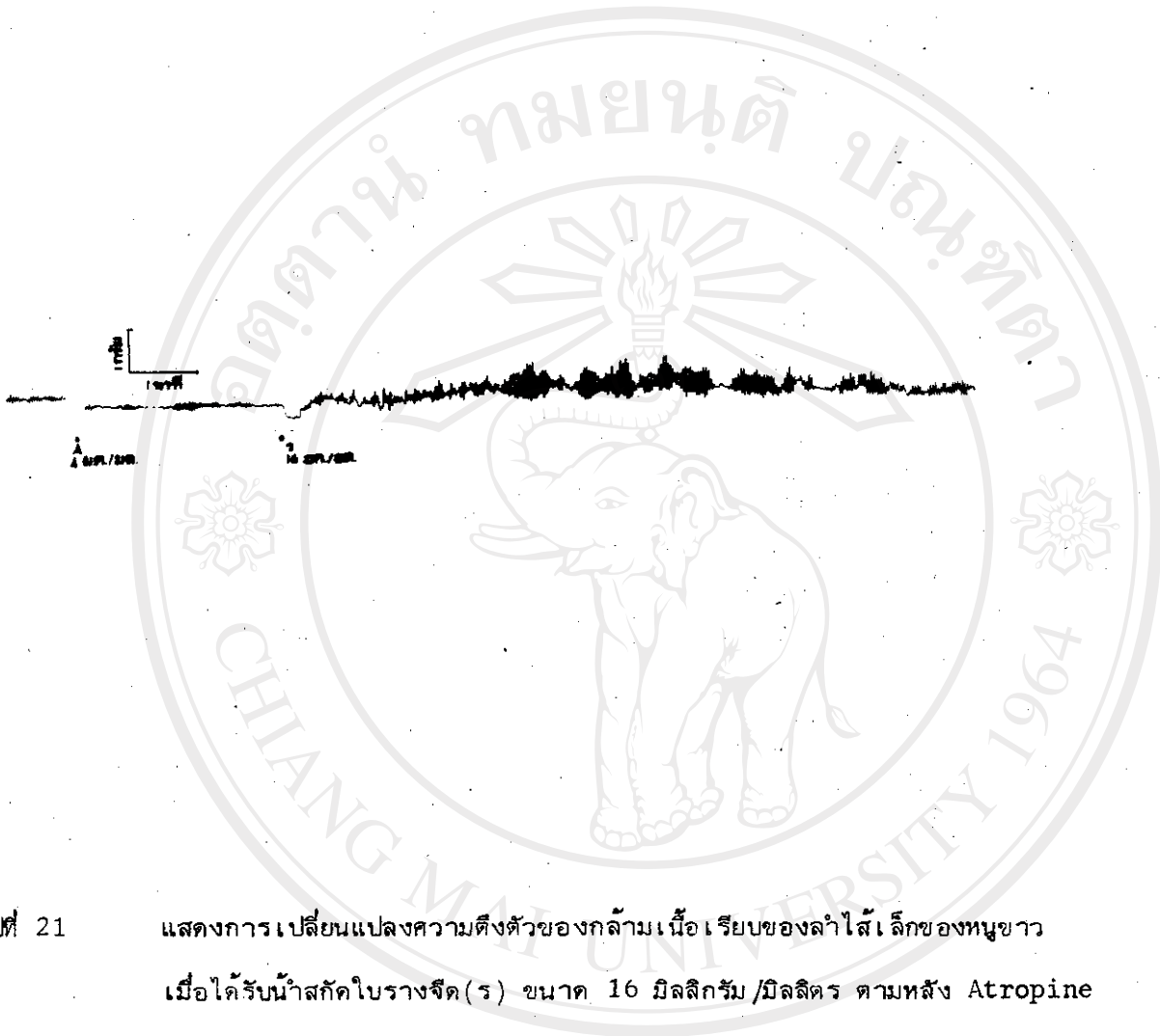
* : $p < 0.05$

** : $p < 0.001$

n : จำนวนชิ้น (strip) ของลำไส้เล็กของหนูขาว



รูปที่ 20 แสดงการเปลี่ยนแปลงความตึงตัว (Tonus) ของกล้ามเนื้อเรียบของลำไส้เล็กของหนูขาว เมื่อได้รับ Acetylcholine (ACh) ขนาด 6.4×10^{-1} มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (ก) ซึ่ง Atropine (A) 4 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งการตอบสนองนี้ได้อย่างสมบูรณ์ (ข)



รูปที่ 21

แสดงการเปลี่ยนแปลงความตึงตัวของกล้ามเนื้อเรียบของลำไส้เล็กของหนูขาว

เมื่อได้รับน้ำสกัดใบรางจืด(ร) ขนาด 16 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามหลัง Atropine

(A) 4 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
 Copyright© by Chiang Mai University
 All rights reserved

ตารางที่ 11 เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงความถี่ตัวของกล้ามเนื้อเมื่อได้รับน้ำสกัดใบรางจืด ขนาด 16 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (ก) และผลของน้ำสกัดใบรางจืดขนาดเดียวกัน ตามหลัง Atropine 4 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (ข)

น้ำสกัดใบรางจืด ขนาด 16 มก./มล.	n	ช่วงการคลายตัว		ช่วงการหดตัว	
		ความถี่หัวใจลดลง ต่ำกว่าคอนโทรล(ร้อยละ)	เวลาที่ความถี่หัวใจ ลดลงต่ำสุด(วินาที)	ความถี่หัวใจเพิ่มขึ้น มากที่สุด(ร้อยละ)	เวลาที่ความถี่หัวใจ เพิ่มขึ้นมากที่สุด(วินาที)
ก. อย่างเดียว	8	18.59 ± 1.54	7.2 ± 0.53	51.48 ± 10.32	132.0 ± 39.0
ข. ตามหลัง Atropine	14	16.46 ± 3.08	9.1 ± 1.41	32.54 ± 5.22	186.0 ± 25.8

น : จำนวนชิ้น (strip) ของลำไส้เล็กของหนูขาวที่ทำการทดลอง
 ก และ ข : ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางที่ 12. เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงแรงบีบตัวของลำไส้เล็กของหนูขาว เมื่อได้รับน้ำสกัดใบรางจืด ขนาด 16 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (ก) และผลของน้ำสกัดใบรางจืดขนาดเดียวกัน ตามหลัง Atropine 4 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (ข)

น้ำสกัดใบรางจืด ขนาด 16 มก./มล.	ก	ความสูงของแรงบีบตัวที่ลดลง ต่ำกว่าก่อนโทรลในระหว่างการ คลายตัว (ร้อยละ)	ความสูงของแรงบีบตัวที่เพิ่มขึ้น มากกว่าก่อนโทรลในช่วงการ หดตัว (ร้อยละ)
ก. อย่างเดียว	8	59.84 ± 11.32	196.94 ± 68.36
ข. ตามหลัง Atropine	14	58.80 ± 7.96	116.58 ± 21.30

พ. : จำนวนชิ้น (strip) ของลำไส้เล็กของหนูขาวที่ทำการทดลอง
ก และ ข : ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ว่าการตอบสนองของลำไส้เล็กต่อน้ำสกัดใบรางจืดที่ให้ตามหลัง atropine ลดลงต่ำกว่าการตอบสนองของลำไส้ต่อน้ำสกัดใบรางจืดอย่างเดียว ถ้าพิจารณาในช่วงการหดตัวจะเห็นว่า น้ำสกัดใบรางจืดอย่างเดียวทำให้ความตึงตัวเพิ่มขึ้นร้อยละ 51.48 ± 10.32 จากคอนโทรล ใช้เวลาการเพิ่มขึ้นถึงจุดสูงสุด 132 ± 39.0 วินาที แต่ผลของน้ำสกัดใบรางจืดตามหลัง atropine ความตึงตัวเพิ่มขึ้นร้อยละ 32.54 ± 5.22 ใช้เวลาการเพิ่มถึงจุดสูงสุด 186 ± 25.8 วินาที ผลที่ได้ต่างกันนี้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) สำหรับผลการเพิ่มแรงบีบตัวของลำไส้ในช่วงการหดตัวเมื่อได้รับน้ำสกัดใบรางจืดอย่างเดียวเพิ่มขึ้นร้อยละ 196.94 ± 68.36 และผลตามหลัง atropine แรงบีบตัวเพิ่มขึ้นร้อยละ 116.58 ± 21.30 ซึ่งเมื่อใช้สถิติวิเคราะห์แล้ว พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) เช่นกัน

2ข. ศึกษาผลของการออกฤทธิ์ของน้ำสกัดใบรางจืดต่อ Histaminic receptor

Histamine dihydrochloride ขนาดต่าง ๆ (1×10^{-2} , 2×10^{-2} , 5×10^{-2} , 1×10^{-1} , 2×10^{-1} และ 4×10^{-1} มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) มีผลทำให้ลำไส้เล็กของหนูขาวเพิ่มความตึงตัวและแรงบีบตัวมากขึ้น จากการทดลองกับลำไส้เล็กของหนูขาว 30 ชิ้น (Strips) พบว่า Histamine ขนาด 1×10^{-1} มก./มล. ทำให้ลำไส้เล็กหดตัวได้มากที่สุด (maximum effective dose) โดยที่ความตึงตัวเพิ่มขึ้นร้อยละ 91.77 ± 16.82 จากคอนโทรล และความสูงของแรงบีบตัวเพิ่มขึ้นร้อยละ 260.45 ± 173.59 (ตารางที่ 13)

Diphenhydramine (Benadryl^R) ขนาด 3.33 มก./มล. สามารถต่อต้านการตอบสนองของลำไส้เล็กต่อ histamine ขนาดความเข้มข้นที่ทำให้เกิดการหดตัวมากที่สุด (1×10^{-1} มก./มล.) ได้อย่างสมบูรณ์ (รูปที่ 22)

ผลของน้ำสกัดใบรางจืด 16 มก./มล. ต่อลำไส้เล็กของหนูขาว ซึ่งให้ 3 นาที ภายหลังจาก Diphenhydramine 3.33 มก./มล. ได้แสดงไว้ในตารางที่ 14 และ 15 โดยเปรียบเทียบกับผลของน้ำสกัดใบรางจืดเพียงอย่างเดียว ปรากฏว่าน้ำสกัดใบรางจืดที่ให้ตามหลัง Diphenhydramine ยังสามารถทำให้กล้ามเนื้อเรียบของลำไส้เล็กของหนูขาวเปลี่ยนแปลง (รูปที่ 23) กล่าวคือ ในช่วงการคลายตัว ความตึงตัวลดลงจากคอนโทรลร้อยละ 21.12 ± 5.41 ใช้เวลา

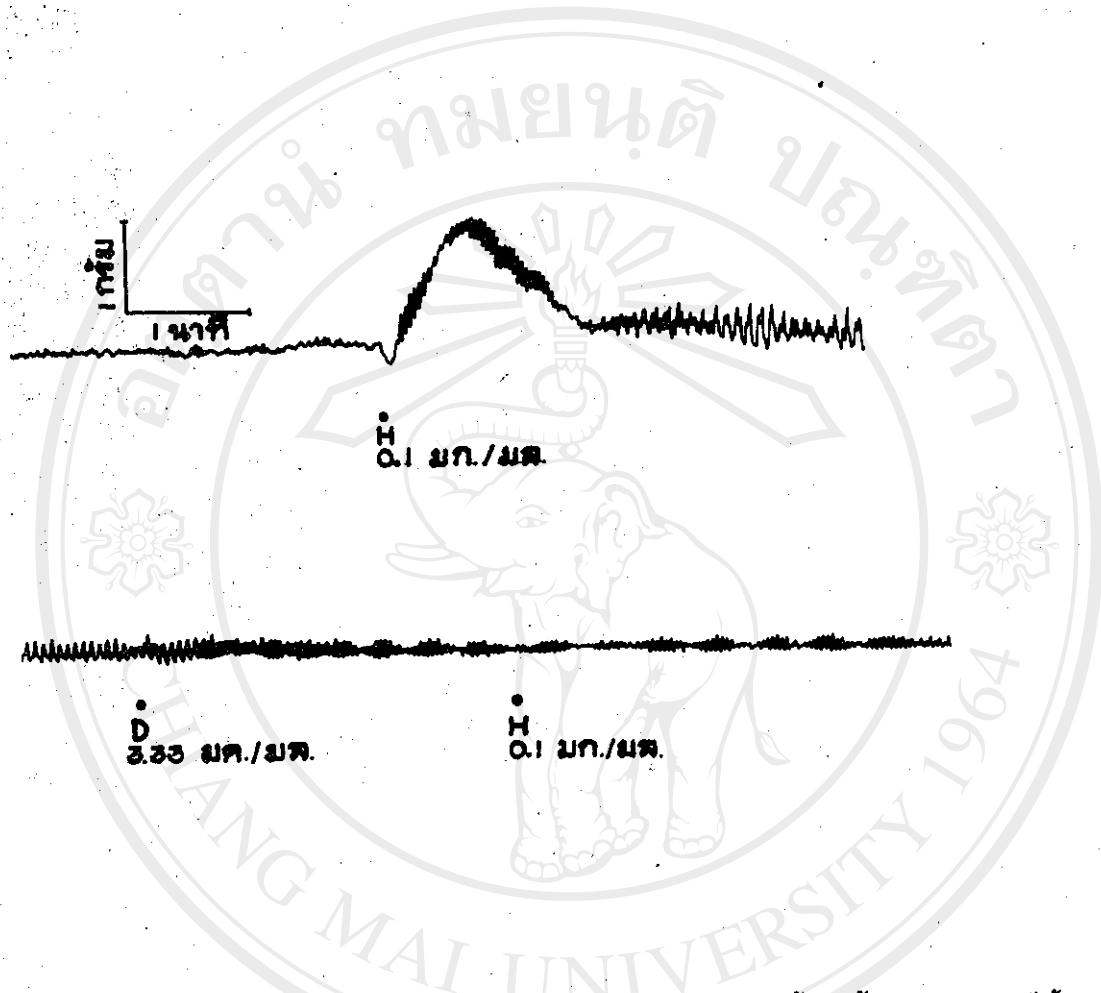
ผลของ Histamine ต่อปริมาณเนื้อเยื่อของหนูขาวทำให้เพิ่มความถี่หัวใจ และแรงบีบหัวใจ

ตารางที่ 13

ขนาดน้ำสกัดใบ ร้างจิต (มก./มล.)	n	ความถี่หัวใจ เป็นกัมมันต์ที่เพิ่มขึ้น จากกอนโทรล (ร้อยละ)	ความถี่ของแรงบีบหัวใจ เพิ่มขึ้น จากกอนโทรล (ร้อยละ)
1×10^{-2}	5	8.50 ± 3.13	11.00 ± 19.55
2×10^{-2}	5	$54.58 \pm 17.72^*$	23.33 ± 34.80
5×10^{-2}	5	$66.03 \pm 5.84^*$	$68.00 \pm 20.04^*$
1×10^{-1}	6	$91.77 \pm 16.82^*$	260.45 ± 173.59
2×10^{-1}	6	$81.64 \pm 21.02^*$	334.97 ± 154.58
4×10^{-1}	5	$89.19 \pm 10.72^*$	199.55 ± 110.57

* : $p < 0.05$

† : จำนวนชิ้น (strip) ของลำไส้เล็กของหนูขาว



รูปที่ 22 แสดงการเปลี่ยนแปลงความตึงตัวและแรงบีบตัวของกล้ามเนื้อเรียบของลำไส้เล็กของหนูขาว เมื่อได้รับ Histamine (H) ขนาด 0.1 มก./มล. (ก) และ Histamine ตามหลัง Diphenhydramine (Benadryl^R;D) ขนาด 3.33 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (ข)

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 14 เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงความถี่ของกล้ามเนื้อเรียบของลำไส้เล็กของหนูขาว เมื่อได้รับน้ำสกัดใบรางจืด ขนาด 16 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และผลของน้ำสกัดใบรางจืดขนาดเดียวกัน ตามหลังการให้ Diphenhydramine (Benadryl®) 3.33 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

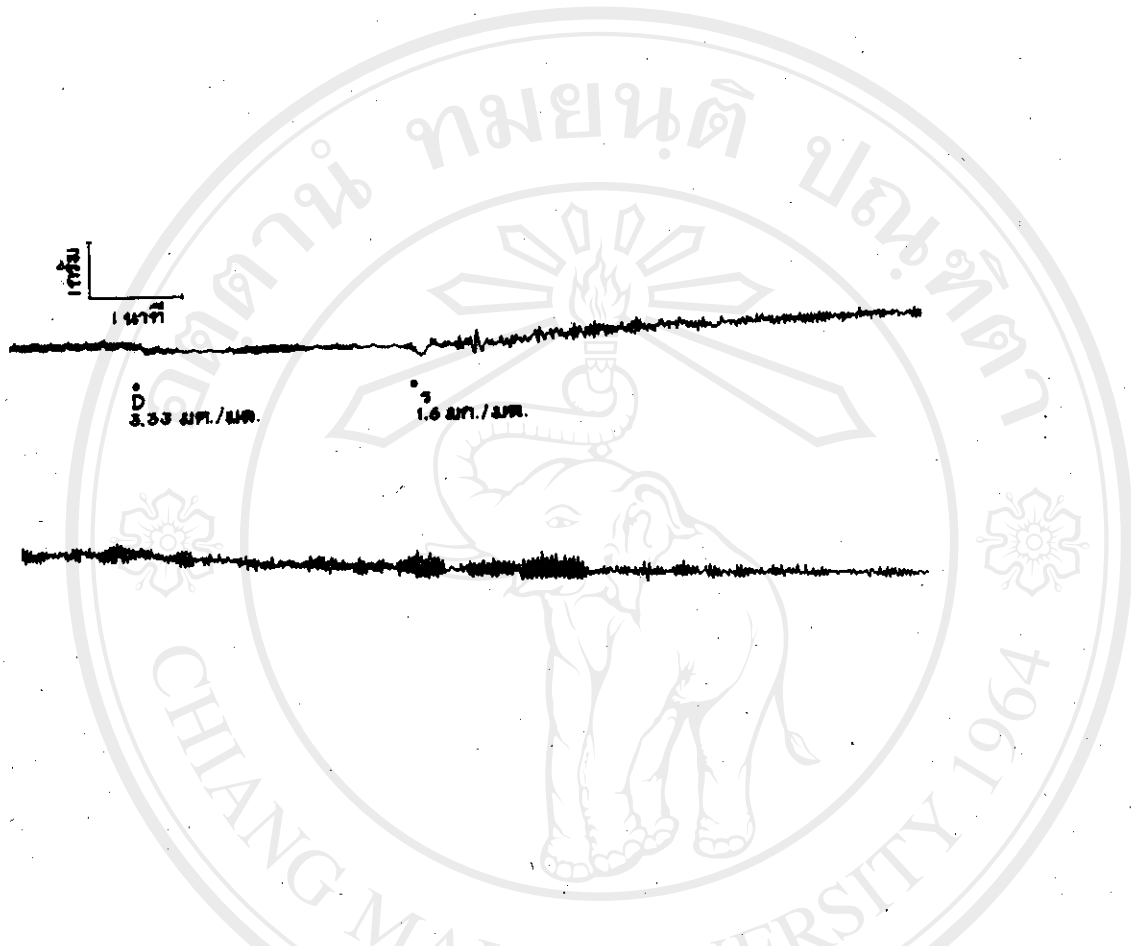
น้ำสกัดใบรางจืด ขนาด 16 มก./มล.	n	ช่วงการคลายตัว		ช่วงการหดตัว	
		ความถี่หัวใจลดลง ต่ำกว่าคอนโทรล (ร้อยละ)	เวลาที่ความถี่หัวใจลดลง มากที่สุด (วินาที)	ความถี่หัวใจเพิ่มขึ้น มากกว่าคอนโทรล (ร้อยละ)	เวลาที่ความถี่หัวใจ เพิ่มขึ้นมากที่สุด (วินาที)
ก. อย่างเดียว	8	18.59 ± 1.54	7.2 ± 0.53	51.48 ± 10.32	132.0 ± 39.0
ข. ตามหลัง Diphen- hydramine	6	21.12 ± 5.41	19.0 ± 8.0	30.00 ± 7.04	204.0 ± 48.0

n = จำนวนชิ้น (strip) ของลำไส้เล็กของหนูขาวที่ทำการทดลอง
ก และ ข ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p > 0.05)

ตารางที่ 15 เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงแรงบีบตัวของลำไส้เล็กของหนูขาว เมื่อได้รับน้ำสกัดใบรางจืด ขนาด 16 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และผลของน้ำสกัดใบรางจืดขนาดเดียวกัน ตามหลัง Diphenhydramine (Benadryl^R) 3.33 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

น้ำสกัดใบรางจืด ขนาด 16 มก./มล.	n	ความสูงของแรงบีบตัวที่ลด ลงในระหว่างการคลายตัว (ร้อยละ)	ความสูงของแรงบีบตัว เพิ่มขึ้นในช่วงการหดตัว (ร้อยละ)
ก. อย่างเดียว	8	59.84 ± 11.32	196.94 ± 68.36
ข. ตามหลัง Diphen- hydramine	6	72.20 ± 12.70	82.30 ± 21.90

n = จำนวนเข็ม (strip) ของลำไส้เล็กของหนูขาวที่ทำการทดลอง
 ก และ ข ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p > 0.05)



รูปที่ 23 แสดงการเปลี่ยนแปลงความถี่และแอมพลิจูดของกล้ามเนื้อเรียบของลำไส้เล็ก
ของหนูขาว เมื่อได้รับน้ำสกัดใบรางจืด (ร) ขนาด 16 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร
ตามหลัง Diphenhydramine (Benadryl^R;D) 3.33 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

คลายตัวถึงจุดต่ำสุด 19.00 ± 8.0 วินาที และทำให้ความตึงตัวเพิ่มขึ้นตามมาโดยเพิ่มจากคอนโทรล ร้อยละ 30.00 ± 7.04 ใช้เวลาเพิ่มขึ้นถึงจุดสูงสุด 204 ± 48.0 วินาที แต่ผลของน้ำสกัดใบรางจืดอย่างเดี่ยวทำให้ความตึงตัวลดลงร้อยละ 18.59 ± 1.54 ใช้เวลาคลายตัวถึงจุดต่ำสุด 7.2 ± 0.53 วินาที ตามด้วยการหดตัวโดยเพิ่มความตึงตัวขึ้นร้อยละ 51.48 ± 10.32 เวลาที่ใช้ในการตอบสนองถึงจุดสูงสุดคือ 132.0 ± 39.0 วินาที ซึ่งผลการเปลี่ยนแปลงความตึงตัวของกล้ามเนื้อที่เกิดขึ้นนี้ระหว่างน้ำสกัดใบรางจืดอย่างเดี่ยว และน้ำสกัดใบรางจืดที่ให้ตามหลัง Diphenhydramine ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ส่วนแรงบีบตัวในช่วงการคลายตัว น้ำสกัดใบรางจืดที่ให้ตามหลัง Diphenhydramine ทำให้ความตึงตัวลดลงจากคอนโทรล ร้อยละ 72.2 ± 12.7 ตามด้วยการหดตัว เพิ่มความสูงของแรงบีบตัวเป็นร้อยละ 82.3 ± 21.9

การเปลี่ยนแปลงความสูงของแรงบีบตัวนี้ แม้ว่าจะได้ผลลดต่ำกว่าการตอบสนองเนื่องจากน้ำสกัดใบรางจืดอย่างเดี่ยว (คือในช่วงการหดตัวน้ำสกัดใบรางจืดทำให้แรงบีบตัวเพิ่มขึ้นจากคอนโทรล ร้อยละ 196.94 ± 68.36 อย่างเห็นได้ชัด แต่เนื่องจากมีความไม่แน่นอน (variation) ในการตอบสนองของลำไส้ต่อการเปลี่ยนแปลงแรงบีบตัวเนื่องจากน้ำสกัดใบรางจืดสูง ทำให้ผลที่ได้แต่ละการทดลองมีค่าเบี่ยงเบนไปจากค่าเฉลี่ยสูง ดังนั้น เมื่อใช้สถิติวิเคราะห์แล้ว ปรากฏว่า ผลการเปลี่ยนแปลงนี้ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเลย ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p > 0.05$) แสดงว่า Diphenhydramine ไม่สามารถยับยั้งหรือต่อต้าน (antagonise)ฤทธิ์ของน้ำสกัดใบรางจืดในการกระตุ้นการทำงานของกล้ามเนื้อเรียบของลำไส้เล็กของหนูขาวได้

สรุปผลการทดลอง

น้ำสกัดใบรางจืดแห้ง (15% W/V) มีผลทำให้กล้ามเนื้อเรียบของลำไส้เล็กของหนูขาวเกิดการคลายตัวก่อนในช่วงเวลาสั้นโดยเฉลี่ยแล้วไม่เกิน 15 วินาที และตามด้วยการหดตัว ซึ่งเป็นผลเด่นชัดมาก และออกฤทธิ์อยู่ได้นานหลายนาที การตอบสนองของลำไส้เป็นปฏิกิริยาโดยตรงกับขนาดความเข้มข้นของน้ำสกัดใบรางจืด

น้ำสกัดใบรางจืดขนาด 16 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เป็นขนาดที่เหมาะสม (optimum effective dose) ที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความตึงตัว (Tonus) ของกล้ามเนื้อเรียบและแรงบีบตัว

(contractile force) ของลำไส้เล็กของหนูขาวอย่างชัดเจน โดยความตึงตัวในช่วงการคลายตัวลดลงร้อยละ 18.59 ± 1.54 เมื่อเปรียบเทียบกับคอนโทรล ใช้เวลาในการลดความตึงตัวถึงจุดต่ำสุดเท่ากับ 7.2 ± 0.53 วินาที และความสูงของแรงบีบตัวลดลงจากคอนโทรลร้อยละ 59.84 ± 11.32

ตามด้วยการหดตัวที่เพิ่มความตึงตัวและความสูงของแรงบีบตัว โดยความตึงตัวเพิ่มจากคอนโทรลร้อยละ 51.48 ± 10.32 ใช้เวลาการเพิ่มขึ้นถึงจุดสูงสุด 132.0 ± 39.0 วินาที และเพิ่มแรงบีบตัวขึ้นจากคอนโทรลร้อยละ 196.94 ± 68.36

เนื่องจากการหดตัวของลำไส้เล็กของหนูขาว เป็นผลที่เด่นชัดของน้ำสกัดใบรางจืด โดยเพิ่มความตึงตัวและแรงบีบตัว จึงได้ศึกษากลไกการออกฤทธิ์เฉพาะต่อ Cholinergic receptor และ Histaminic receptor ของลำไส้เล็กของหนูขาว พบว่า ทั้ง Atropine (Anticholinergic drug) และ Diphenhydramine (Effective antihistamine) ไม่สามารถต่อต้าน (antagonise)ฤทธิ์ของน้ำสกัดใบรางจืดในการกระตุ้นการทำงานของลำไส้เล็กของหนูขาวได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตอนที่ 3 ศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของน้ำสกัดใบรางจืดต่อกล้ามเนื้อเรียบอื่น ๆ

การทดลองที่ 1 ศึกษาการออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของน้ำสกัดใบรางจืดต่อกล้ามเนื้อเรียบของหลอดลมของหนูตะเภา

น้ำสกัดใบรางจืดแห้ง (15% W/V) ความเข้มข้นต่าง ๆ ดังนี้ 0.25, 0.50, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0 และ 16.0 มก./มล. มีผลทำให้ tracheal chain ของหนูตะเภาเกิดการหดตัว (contraction) และการหดตัวที่เพิ่มขึ้นจากคอนโทรลจะมีความสัมพันธ์เป็นปฏิกิริยาโดยตรงกับความเข้มข้นของน้ำสกัดใบรางจืด (รูปที่ 24, ตารางที่ 16) ขนาดความเข้มข้นต่ำสุดที่ทำให้เห็นการหดตัว (minimum effective dose or threshold dose) คือ 0.25 มก./มล. โดยได้ค่าเฉลี่ยบวกค่าความผิดพลาดฐาน เพิ่มจากคอนโทรลร้อยละ 3.60 ± 0.56 น้ำสกัดใบรางจืดขนาด 8 มก./มล. เป็นขนาดที่ทำให้เกิดการหดตัวมากที่สุด (maximum effective dose) โดยเพิ่มจากคอนโทรลร้อยละ 77.99 ± 4.92

รูปที่ 25ก และ 25ข เป็นตัวอย่างแสดงผลการหดตัวของหลอดลมของหนูตะเภาต่อน้ำสกัดใบรางจืดขนาด 0.25 มก./มล. และขนาด 8 มก./มล. ซึ่งการหดตัวที่เกิดขึ้นจะคงอยู่ได้นานเกิน 30 นาที (ก่อนการล้างชิ้นเนื้อ)

การทดลองที่ 2 ศึกษาการออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของน้ำสกัดใบรางจืดต่อกล้ามเนื้อเรียบของมดลูกของหนูขาว

น้ำสกัดใบรางจืดแห้งขนาด 2, 4, 8 และ 16 มก./มล. มีผลทำให้กล้ามเนื้อเรียบของมดลูกหดตัว และการหดตัวที่เกิดขึ้นมีความสัมพันธ์กับขนาดความเข้มข้นของน้ำสกัดใบรางจืด จากการทดลองสังเกตพบว่ามีค่าความไม่แน่นอน (variation) ในการตอบสนองของชิ้นเนื้อของมดลูกต่อการออกฤทธิ์ของรางจืดสูงมาก ตามรูปที่ 26ก, 26ข และ 26ค จะเห็นผลการหดตัวของมดลูกของหนูขาวชนิดเจน เมื่อได้รับน้ำสกัดใบรางจืดขนาด 4, 8 และ 16 มก./มล. ตามลำดับเปรียบเทียบกับ การตอบสนองต่อ acetylcholine ขนาด 4 มก./มล. สังเกตเห็นได้ว่าการตอบสนองของกล้ามเนื้อเรียบของมดลูกต่อ acetylcholine ใน 3 การทดลองนี้ แตกต่างกันมาก แม้จะให้ความเข้มข้นขนาดเท่ากัน จากการทดลองกับมดลูก 15 ชิ้น ของหนูขาว 8 ตัว พบว่า

acetylcholine 4 มก./มล. มีผลทำให้มัดลูกของหนูขาวหดตัว โดยเพิ่มความตึงตัวของ กล้ามเนื้อจากคอนโทรลโดยเฉลี่ยร้อยละ 53.81 ± 5.75 ผลการหดตัวของมัดลูกของหนูขาว เนื่องจากน้ำสกัดใบรางจืดขนาด 2, 4, 8 และ 16 มก./มล. ได้แสดงไว้ในตารางที่ 17 ซึ่ง ทำให้มัดลูกหดตัวเพิ่มจากคอนโทรลเป็นร้อยละ 1.41 ± 0.58 , 5.99 ± 3.94 , 5.97 ± 2.02 และ 19.99 ± 10.47 ตามลำดับ เมื่อพิจารณาการตอบสนองของมัดลูก เนื่องจากน้ำสกัดใบรางจืดใน แต่ละขนาดความเข้มข้นจะเห็นว่า แต่ละการทดลองได้ผลแตกต่างกันมากทำให้ค่าเฉลี่ยของความตึง- ตัวที่เพิ่มจากคอนโทรลไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ยกเว้นน้ำสกัดใบรางจืดขนาด 8 มก./ มล. ($p < 0.05$) และการตอบสนองของมัดลูกเนื่องจากน้ำสกัดใบรางจืดมีค่าต่ำมาก เมื่อเปรียบ- เทียบกับการตอบสนองคือ acetylcholine

สรุปผลการทดลอง

น้ำสกัดใบรางจืดแห้งมีผลต่อกล้ามเนื้อเรียบของหลอดลมของหนูตะเภา และกล้ามเนื้อเรียบ ของมัดลูกของหนูขาว ทำให้เกิดการหดตัว ความตึงตัวที่เพิ่มขึ้นมีความสัมพันธ์เป็นปฏิกิริยาโดยตรงกับ ความเข้มข้น

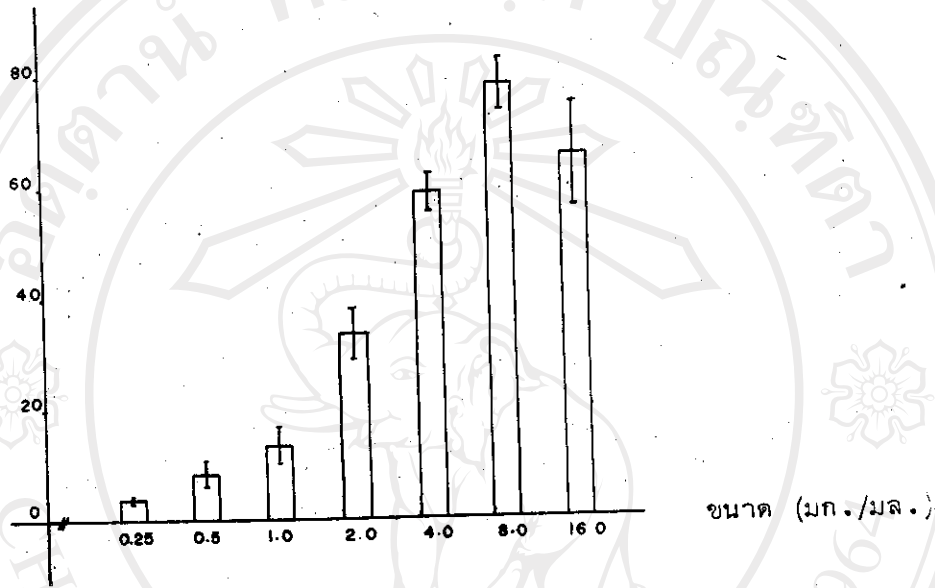
ตารางที่ 16 ผลของน้ำสกัดใบรางจืดที่เพิ่มความตึงตัว (Tension) ของหลอดเลือดของหนูตะเภา

ขนาดของน้ำสกัดใบรางจืด (มก./มล.)	จำนวน การทดลอง	ความตึงตัวที่เพิ่มขึ้นจากคอนโทรล (ร้อยละ)
0.25	5	3.60 ± 0.56*
0.50	5	8.22 ± 2.07*
1.00	5	13.18 ± 3.55*
2.00	5	33.47 ± 4.63*
4.00	5	58.89 ± 3.17**
8.00	5	77.99 ± 4.92**
16.00	5	65.42 ± 9.27*

* : $p < 0.05$

** : $p < 0.001$

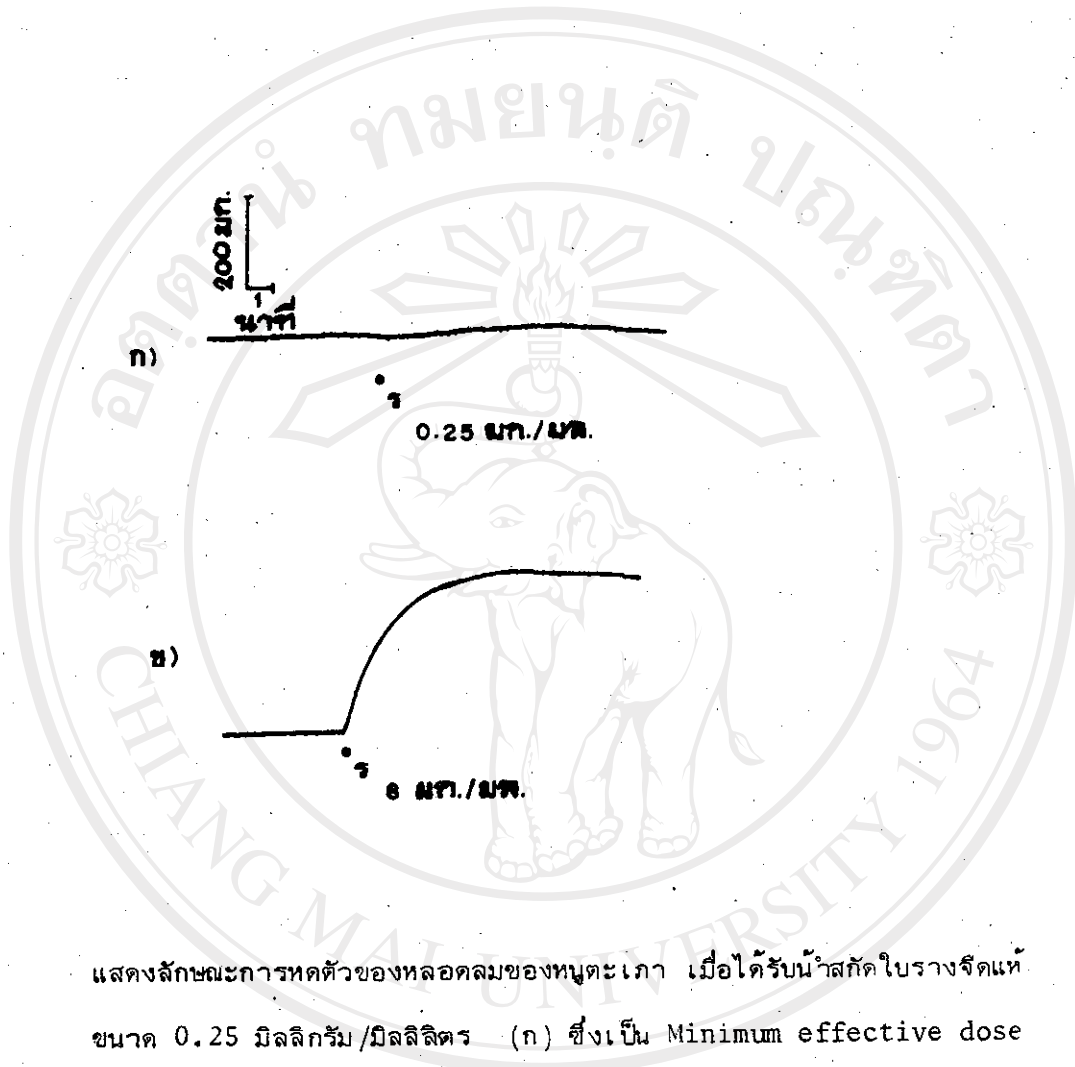
ความถี่ที่เพิ่มขึ้นจากคอนโทรลคิดเป็นร้อยละ



รูปที่ 24

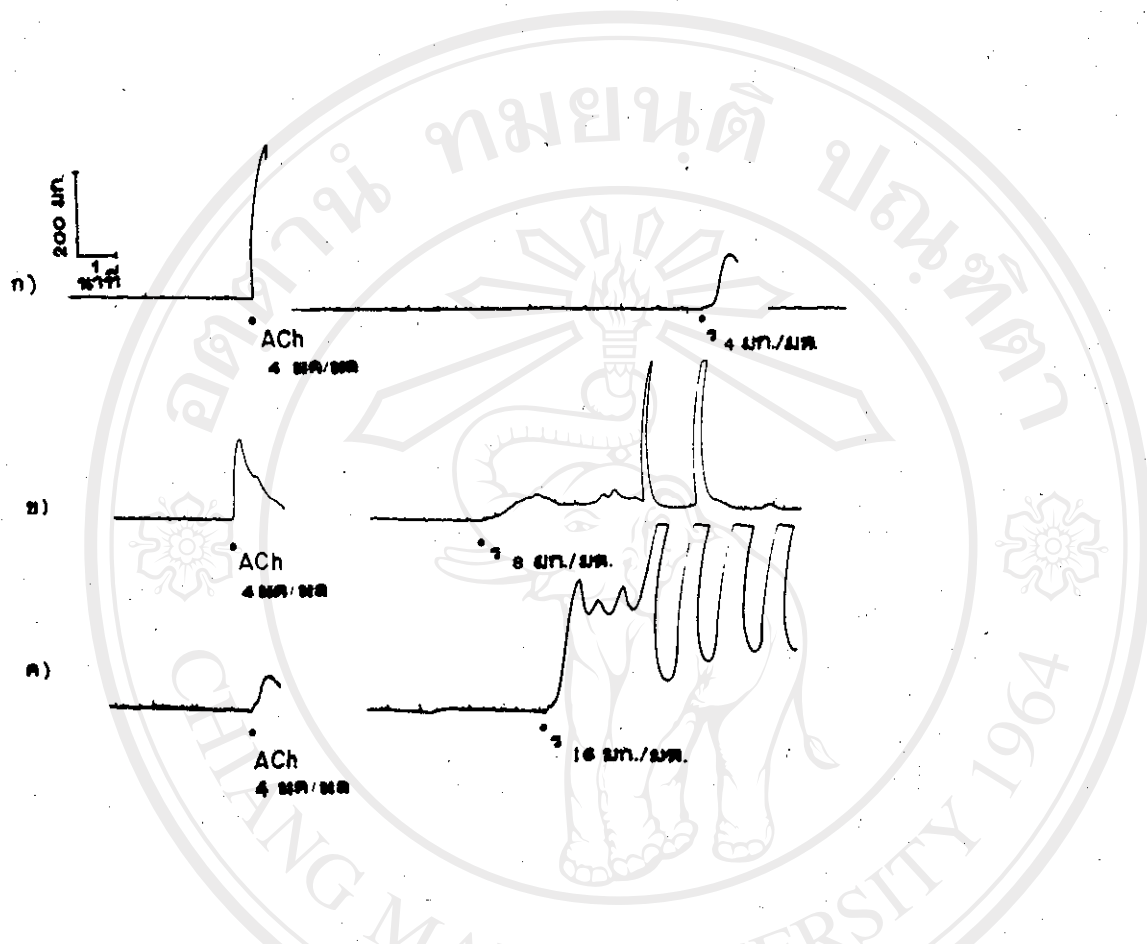
แสดงความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของน้ำสกัดใบรางจืด และการเปลี่ยนแปลงความถี่ของหลอดลมของหนูตะเภา

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



รูปที่ 25 แสดงลักษณะการหดตัวของหลอดลมของหนูตะเภา เมื่อได้รับน้ำสกัดใบรางจืดแท้ ขนาด 0.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (ก) ซึ่งเป็น Minimum effective dose และ 8 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (ข) เป็น Maximum effective dose

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved



รูปที่ 26 แสดงลักษณะการหดตัวของมดลูกของหนูขาว เมื่อได้รับน้ำสกัดใบรางจืด ขนาด 4, 8 และ 16 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เปรียบเทียบกับผลของ Acetylcholine 8 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
 Copyright© by Chiang Mai University
 All rights reserved

ตารางที่ 17 แสดง variation ของกลิ่นเนื้อเรียบของเมล็ดของพญา เมื่อได้รับน้ำสัปดาห์
 รางจืดขนาดต่าง ๆ

ขนาดของน้ำ สัปดาห์รางจืด (มก./มล.)	การหาค่าของเมล็ดที่เพิ่มจากคอมโพรล (ร้อยละ)						ค่าเฉลี่ยของการ หาค่าที่เพิ่มขึ้น ร้อยละ	p
	การทดลอง ครั้งที่ 1	2	3	4	5	6		
2	2.22	0.91	0	2.50	0	-	1.41 ± 0.58	< 0.1
4	0	0.91	2.10	3.12	4.35	25.45	5.99 ± 3.94	< 0.2
8	3.33	2.73	12.63	6.25	0	10.91	5.97 ± 2.02	< 0.05
16	11.11	10.00	9.50	7.50	61.82	-	19.99 ± 10.47	< 0.2

ตอนที่ 4 ผลการประยุกต์ใช้น้ำสกัดใบรางจืดแห้งมาใช้ในการแก้พิษยาฆ่าแมลง

การทดลองที่ 1 เปรียบเทียบการใช้น้ำร้อน และน้ำเย็นในการเตรียมน้ำสกัดใบรางจืด เพื่อแก้พิษฟิสิกอล

หนูขาวจำนวน 100 ตัว น้ำหนักระหว่าง 70-120 กรัม แบ่งออกเป็น 5 กลุ่ม กลุ่มละ 20 ตัว กลุ่มที่ 1 เป็นคอนโทรลได้รับฟิสิกอล (ความเข้มข้น 1:50) ขนาด 20 ไมโครลิตรต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ซึ่งเป็นค่า LD₅₀ (พาสี, 2522) โดยฉีดเข้าใต้ผิวหนังตรงต้นคอ (Subcutaneous injection) กลุ่มที่ 2 กรอกน้ำสกัดใบรางจืดแห้ง (10% W/V) ที่สกัดด้วยน้ำเย็น (น้ำกลั่นที่อุณหภูมิห้อง) ขนาด 2 มิลลิลิตรต่อน้ำหนักตัว 100 กรัม หรือ 20 มิลลิลิตรต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ภายใน 5 นาที หลังจากได้รับฟิสิกอล กลุ่มที่ 3 ได้รับฟิสิกอลและน้ำสกัดใบรางจืดแห้งที่สกัดด้วยน้ำเย็นเช่นเดียวกับกลุ่มที่ 2 แต่ได้รับ Atropine sulfate (1/10 เกรน/กิโลกรัม) ฉีดเข้าทางช่องท้องด้วย กลุ่มที่ 4 ได้รับฟิสิกอลและน้ำสกัดใบรางจืดแห้ง (10% W/V) ที่สกัดด้วยน้ำร้อน (น้ำกลั่นที่ต้มจนเดือด) ขนาด 20 มิลลิลิตร/กิโลกรัม และกลุ่มที่ 5 ได้รับฟิสิกอล, น้ำสกัดใบรางจืดแห้งที่สกัดด้วยน้ำร้อน และ Atropine sulfate 1/10 เกรน/กิโลกรัม

หลังจากได้รับฟิสิกอลแล้วประมาณ 5 นาที สัตว์ทดลองจะเริ่มแสดงอาการเนื่องมาจาก cholinergic effect ซึ่งมีอาการที่สังเกตได้ดังนี้ กระวนกระวาย (restlessness) เหงื่อออกมากจนขนเปียกและน้ำลายออกมาก (excessive sweating and salivation) น้ำตาไหลเป็นสีแดง (chromodacryorrhea) หายใจลำบาก (air hunger) กระตุก (muscle twitching) สั่น (tremor) และชัก (convulsion) สาเหตุการตายของสัตว์ทดลอง เนื่องจากภาวะหายใจวาย (respiratory failure)

อาการต่าง ๆ ดังกล่าวข้างต้น จะเห็นได้ชัดในกลุ่มที่ 1 ซึ่งเป็นกลุ่มคอนโทรล กลุ่มที่ 2 และ 4 ยังคงสังเกตพบอาการเหล่านี้ได้ แต่ความรุนแรงของอาการน้อยกว่ากลุ่มที่ 1 ในกลุ่มที่ 3 และ 5 ความรุนแรงของอาการลดลงมากอย่างเห็นได้ชัด พบว่าในสัตว์ทดลองบางตัวไม่มีอาการผิดปกติเลย อาการเนื่องจาก cholinergic effect นี้ จะสังเกตได้ในหนูขาวเกือบทุกตัวของกลุ่มที่ 1 ภายหลังจากการทดลองประมาณ 2-4 ชั่วโมง สัตว์ทดลองบางตัวที่ทนพิษฟิสิกอลไม่ได้จะตายในเวลาต่อมา บางตัวที่ทนได้ก็จะรอดชีวิต บันทึกรายการตายโดยนับจำนวนสัตว์ทดลองที่ตายภายใน 24 ชั่วโมง หลังเริ่มการทดลอง

จำนวนหนูขาวที่ตายของแต่ละกลุ่มแสดงไว้ในตารางที่ 18 ผลปรากฏดังนี้
 กลุ่มที่ 1 ถึงกลุ่มที่ 5 มีจำนวนที่ตายได้ 15, 15, 9, 11 และ 1 ตามลำดับ จากจำนวนหนูขาว
 ในแต่ละกลุ่ม กลุ่มละ 20 ตัว เปรียบเทียบความแตกต่างของจำนวนสัตว์ทดลองที่ตายกับกลุ่มคอนโทรล
 โดยใช้สถิติวิเคราะห์ที่สุจน์ อาศัย Chi-square test (อันธิกา, 2521) พบว่า กลุ่มที่ 2, 3 และ
 4 ไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ 1 ($p > 0.05$) แต่กลุ่มที่ 5 แตกต่างจากกลุ่มที่ 1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
 ($p < 0.001$)

การทดลองที่ 2 ศึกษาพิษ (Toxic effect) ของน้ำสกัดใบรางจืด

หนูขาว 100 ตัว น้ำหนักระหว่าง 70-120 กรัม แบ่งเป็น 5 กลุ่ม กลุ่มละ 10
 ตัว กลุ่มที่ 1 ถึงกลุ่มที่ 4 ได้รับน้ำสกัดใบรางจืดแห้ง (10% W/V) ที่สกัดด้วยน้ำร้อน โดยกรอก
 เข้าทางปากในปริมาณต่าง ๆ กันดังนี้ 1, 2, 3 และ 4 มิลลิลิตรต่อน้ำหนักตัว 100 กรัม หรือ
 10, 20, 30 และ 40 มิลลิลิตรต่อกิโลกรัมตามลำดับ กลุ่มที่ 5 ได้รับน้ำสกัดใบรางจืดแห้งขนาด
 20 มิลลิลิตร/กิโลกรัม และ Atropine sulfate 1/10 เกรน/กิโลกรัม

บันทึกผลโดยนับจำนวนสัตว์ทดลองที่ตาย ภายหลังเริ่มการทดลอง 24 ชั่วโมง
 ปรากฏว่า ไม่มีสัตว์ทดลองตายเลย (ตารางที่ 19) และจากการสังเกตอาการทุก 2-4 ชั่วโมง
 ไม่พบอาการที่ผิดปกติแต่อย่างใด

การทดลองที่ 3 การแก๊ซพิษฟอสฟอไรต์ด้วยน้ำสกัดใบรางจืดแห้ง, น้ำสกัดใบรางจืดแห้งร่วมกับ atropine, atropine และ atropine ร่วมกับ 2-PAM

หนูขาว 200 ตัว น้ำหนักระหว่าง 70-120 กรัม แบ่งเป็น 5 กลุ่ม กลุ่มละ 40
 ตัว สัตว์ทุกตัวได้รับฟอสฟอไรต์ (ความเข้มข้น 1:50) ขนาด $2 \times LD_{50}$ หรือ 40 ไมโครลิตร/กิโลกรัม
 สูดเข้าได้ผิวหนังตรงต้นคอ สาเหตุที่ต้องให้ 2 เท่า LD_{50} เพราะ ได้ทดลองกับหนูขาว 100 ตัวก่อน
 พบว่าขนาดของฟอสฟอไรต์ LD_{50} (หรือ 20 ไมโครลิตร/กิโลกรัม) ทำให้หนูขาวตายร้อยละ 25 แต่
 จากผลการทดลองที่ 1 ได้อัตราตายร้อยละ 75 ภายหลังได้รับฟอสฟอไรต์ขนาด LD_{50} มีข้อนำสังเกต
 ว่า การทดลองนี้ทำในช่วงระหว่างเดือนตุลาคม - พฤศจิกายน แต่การทดลองที่ 1 ทำในเดือนเมษา-
 ยน ซึ่งมีอากาศร้อนมาก แสดงให้เห็นว่า อิทธิพลของอากาศร้อนและเย็น หรือฤดูกาลที่ทำการทดลองมี

ผลต่ออัตราการตายของหนูขาว ดังนั้น จึงต้องเพิ่มขนาดความเข้มข้นของโพลีคอลเป็น 2 เท่าของ LD₅₀ เพื่อที่จะแปลผลในกลุ่มที่ 2, 3, 4 และ 5 ได้

กลุ่มที่ 1 เป็นคอนโทรล ได้รับโพลีคอลเพียงอย่างเดียว กลุ่มที่ 2 ได้รับ 10% W/V น้ำสกัดใบรางจืดแห้งที่สกัดด้วยน้ำร้อนขนาด 20 มิลลิลิตร/กิโลกรัม โดยกรอกทางปาก ภายหลังจากได้รับโพลีคอลแล้ว กลุ่มที่ 3 เหมือนกลุ่มที่ 2 แต่ได้รับ Atropine sulfate ผิด เข้าทางช่องท้อง 1/10 เกรนต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมร่วมกับ กลุ่มที่ 4 ได้รับ Atropine sulfate 1/10 เกรน/กิโลกรัม หลังจากได้รับโพลีคอล และกลุ่มที่ 5 เหมือนกลุ่มที่ 4 แต่ได้รับ 2-PAM ผิดเข้าทางช่องท้องขนาด 20 มิลลิลิตร/กิโลกรัม ร่วมด้วย

หลังจากได้รับโพลีคอลแล้ว ประมาณ 5 นาที สัตว์ทดลองจะแสดงอาการเนื่อง จาก cholinergic effect อย่างชัดเจน ซึ่งมีอาการต่าง ๆ ดังได้กล่าวไว้ในผลการทดลองที่ 1 และอาการเหล่านั้นเห็นชัดในกลุ่มที่ 1 และ 2 แต่กลุ่มที่ 2 แสดงอาการช้ากว่า ความรุนแรงของ อาการลดลงมากในกลุ่มที่ 3 และ 4 แต่ยังคงสังเกตเห็นได้ในสัตว์ทดลองบางตัว ส่วนสัตว์ทดลอง ในกลุ่มที่ 5 มีอาการปกติ บันทึกผลโดยนับจำนวนหนูขาวที่ตาย ภายหลังจากเริ่มการทดลอง 24 ชั่วโมง

ในตารางที่ 20 แสดงจำนวนหนูขาวที่ตาย 22, 9, 8, 5 และ 0 ตัวใน กลุ่มที่ 1 ถึง 5 ตามลำดับ ซึ่งคำนวณเป็นอัตราการตายได้ร้อยละ 55, 22.5, 20, 12.5 และ 0 ตามลำดับ การทดสอบ Chi-square คำนวณจากจำนวนหนูขาวที่ตาย ต่อจำนวนหนูขาวที่ใช้ทดลอง ในแต่ละกลุ่ม พบว่า ในกลุ่มที่ 2, 3, 4 และ 5 มีความแตกต่างจากกลุ่มคอนโทรลอย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติ ($p < 0.005$)

สรุปผลการทดลอง

การทำ Toxicity test เพื่อประยุกต์นำน้ำสกัดใบรางจืดมาใช้ในการแก้พิษยาฆ่าแมลง นั้น จากผลการทดลองปรากฏว่าน้ำสกัดใบรางจืดที่เตรียมโดยใช้น้ำร้อน มีผลในการลดอัตราการตายของ หนูขาวได้ดีกว่าน้ำสกัดใบรางจืดที่ใช้น้ำเย็นสกัด และน้ำสกัดใบรางจืดไม่มีผลเป็นพิษต่อหนูขาวถึงตาย แม้จะให้มากถึง 40 มิลลิลิตร ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม น้ำสกัดใบรางจืดแห้ง (10% W/V) ขนาด 20 มิลลิลิตร/กิโลกรัม สามารถแก้พิษโพลีคอลได้ โดยลดอัตราการตายของหนูขาวลง จากร้อยละ 55.0

เป็น 22.5 และเมื่อให้ร่วมกับ atropine อัตราตายลดลงเป็นร้อยละ 20.0 แต่การใช้น้ำสกัด
ใบรางจืดแก้พิษโพลีคอลล ยังสู้การให้ยาแผนปัจจุบันไม่ได้ ซึ่งการใช้ atropine ร่วมกับ 2-PAM
สามารถแก้พิษของโพลีคอลลในหนูขาวได้ทุกตัว



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 18 เปรียบเทียบการใช้ไม้สีกัดใบราชสีห์แห้งที่สกัดด้วยน้ำร้อนและน้ำเย็น ในการแก้พิษโพลีคอลล

กลุ่มที่	จำนวน หนูขาว	โพลีคอลล (ไม้โครลิตร/กก.)	ราชสีห์สกัดด้วยน้ำเย็น (มิลลิลิตร/กก.)	ราชสีห์สกัดด้วยน้ำร้อน (มิลลิลิตร/กก.)	Atropine (เกรน/กก.)	จำนวนหนูขาว ที่ตาย	อัตราการตาย (ร้อยละ)
1	20	20	-	-	-	15	75
2	20	20	20	-	-	15	75
3	20	20	20	-	1/10	9	45
4	20	20	-	20	-	11	55
5	20	20	-	20	1/10	1*	5*

* : $p < 0.001$ เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 1 (chi-square test.)

หมายเหตุ ทำการทดลองในฤดูร้อน (เดือนเมษายน 2522)

ตารางที่ 19 ผลของน้ำสกัดใบรางจืดและน้ำสกัดใบรางจืดร่วมกับ Atropine ต่อหนูขาว เพื่อศึกษาพิษ (Toxic effect) ของรางจืด

กลุ่มที่	จำนวน หนูขาว	น้ำสกัดใบรางจืด* (มิลลิกรัม/กก.)	Atropine (กรัม/กก.)	จำนวนหนูขาว ที่ตาย	อาการ
1	10	10	-	0	ปกติทุกกลุ่ม
2	10	20	-	0	
3	10	30	-	0	
4	10	40	-	0	
5	10	20	1/10	0	

* น้ำสกัดใบรางจืดแห้ง 10% (W/V)

ตารางที่ 20
เปรียบเทียบผลการเกิดพิษโพลีคอลล โดยใช้น้ำสกัดใบรางจืดแห้ง, ยาแผนปัจจุบัน และการใช้ร่วมกัน

กลุ่มที่	จำนวน หนูขาว	โพลีคอลล** (ไม่โครลิตร/กก.)	รางจืด i (มีลลิตร/กก.)	Atropine (เกรน/กก.)	2-PAM (มิลลิกรัม/กก.)	จำนวนหนู ที่ตาย	อัตราตาย ร้อยละ
1	40	40	-	-	-	22	55.0
2	40	40	20	-	-	9*	22.5
3	40	40	20	1/10	-	8*	20.0
4	40	40	-	1/10	-	5*	12.5
5	40	40	-	1/10	20	0*	0

* $p < 0.005$ (Chi-Square Test)

** ความเข้มข้นของโพลีคอลลเป็น 2 เท่าของ LD₅₀

หมายเหตุ : การทดลองทำในระหว่างเดือนตุลาคม-พฤศจิกายน 2522