

## ผลการวิจัย

ในการศึกษานี้เป็นการศึกษาขั้นต้น (pharmacological screening) ของน้ำสกัดใบราตรีต่อบริเวณปลายประสาทและกล้ามเนื้อลาย (neuromuscular synapse) ผลการศึกษาแบ่งออกเป็น 5 ตอนดังนี้

### ตอนที่ 1. การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของน้ำสกัดใบราตรีต่อการหดตัว (neurally-evoked twitch) ของกล้ามเนื้อลาย.

1.1 การเปรียบเทียบผลของน้ำสกัดใบราตรีที่สกัดด้วยน้ำ ( $R_C$ ), น้ำร้อน ( $R_H$ ) และ 95% Ethanol ( $R_E$ ) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อลายโดยใช้ส่วนของเส้นประสาทไขกระดูกกล้ามเนื้อแกสตรอกนีเมียสในหนูขาว (rat sciatic nerve-gastrocnemius preparation, in situ).

เมื่อนำน้ำสกัด  $R_C$ , น้ำสกัด  $R_H$  และน้ำสกัด  $R_E$  ในขนาด 0.033, 0.067, 0.133 และ 0.267 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เข้าทางเส้นเลือดแดงที่ขา (femoral artery) ของหนูขาวและบันทึกการหดตัวของกล้ามเนื้อลายนี้ พบว่าเกิดการเพิ่มการหดตัว (twitch potentiation) ของกล้ามเนื้อลายภายในระยะเวลา 1-5 นาที ดังแสดงในตารางที่ 1. จะเห็นว่าน้ำสกัด  $R_C$ , น้ำสกัด  $R_H$  และน้ำสกัด  $R_E$  ในขนาด 0.033 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ทำให้เกิดการเพิ่มการหดตัว (twitch potentiation) ของกล้ามเนื้อลายคิดเป็นร้อยละ  $20.5 \pm 3.84$ ,  $10.5 \pm 6.27$  และ  $5.4 \pm 2.23$  ตามลำดับ น้ำสกัด  $R_C$ , น้ำสกัด  $R_H$  และน้ำสกัด  $R_E$  ในขนาด 0.067, 0.133 และ 0.267 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ก็ทำให้เกิดการเพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อลายได้เช่นเดียวกันดังแสดงในตารางที่ 1. เมื่อเปรียบเทียบการเพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อลายที่เกิดจากน้ำสกัดทั้งสามลักษณะนี้แล้วพบว่าไม่มีความสัมพันธ์กับขนาดที่ใช้ น้ำสกัด  $R_C$ , น้ำสกัด  $R_H$  และน้ำสกัด  $R_E$  ใน

ขนาด 0.033, 0.067, 0.133 และ 0.267 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ทำให้เกิดการหดตัวทันทีในระยะแรกแล้วตามมาด้วยการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย และน้ำสกัดในขนาด 0.267 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม สามารถทำให้เกิดการลดการหดตัวได้อย่างสมบูรณ์ดังแสดงรายละเอียดในตารางที่ 2. เมื่อเปรียบเทียบการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายที่เกิดจากน้ำสกัดใบราตรีทั้งสามลักษณะแล้ว พบว่ามีความสัมพันธ์กับขนาดที่ใช้ จะเห็นว่าเมื่อให้น้ำสกัด  $R_C$ , น้ำสกัด  $R_H$  และน้ำสกัด  $R_E$  เข้าไปในหนูขาวจะเริ่มด้วยมีการเพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อลายแล้วตามมาด้วยการลดการหดตัวเสมอในทุกขนาดของน้ำสกัดที่ให้.

นอกจากนี้การเปรียบเทียบผลของน้ำสกัด  $R_C$ , น้ำสกัด  $R_H$  และน้ำสกัด  $R_E$  ยังได้ทำในรูปของฮิสโตแกรม ดังแสดงในรูปที่ 7, 8 และ 9 ตามลำดับ ตัวอย่างการบันทึกการหดตัวของกล้ามเนื้อลายที่เกิดจากน้ำสกัดเหล่านี้ได้แสดงในรูปที่ 10. จะเห็นได้ว่าน้ำสกัด  $R_C$  และน้ำสกัด  $R_H$  ในขนาด 0.267 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ทำให้เกิดการเพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อลายน้อยมาก แต่น้ำสกัด  $R_E$  ทำให้มีการเพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อลายอย่างเห็นได้ชัด หลังจากเกิดการเพิ่มการหดตัวแล้วจะเกิดการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายได้อย่างสมบูรณ์.

เมื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างเวลาและการหดตัวของกล้ามเนื้อลายที่เปลี่ยนแปลงไป พบว่าน้ำสกัด  $R_C$ , น้ำสกัด  $R_H$  และน้ำสกัด  $R_E$  ทำให้เกิดการเพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อลายในระยะเวลา 1-5 นาที หลังจากนั้นมีการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายตามมา จะเห็นได้ว่าการหดตัวนี้จะลดลงเรื่อย ๆ ขึ้นอยู่กับขนาดของน้ำสกัดที่ให้และระยะเวลาที่บันทึกการหดตัวของกล้ามเนื้อลายหลังจากให้น้ำสกัดนี้ จนกระทั่งในที่สุดกล้ามเนื้อลายไม่สามารถทำงานได้คือเกิด complete neuromuscular blockade ดังแสดงในรูปที่ 11, 12 และ 13 ตามลำดับ.

เมื่อเปรียบเทียบผลของน้ำสกัด  $R_C$ , น้ำสกัด  $R_H$  และน้ำสกัด  $R_E$  จะเห็นว่าน้ำสกัด  $R_E$  ทำให้เกิดการเพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อลายได้สูงกว่าที่เกิดจากน้ำสกัด  $R_C$  และน้ำสกัด  $R_H$  อย่างไรก็ตามน้ำสกัดใบราตรีในทั้งสามลักษณะนี้สามารถลด

การหดตัวของกล้ามเนื้อคลายได้อย่างสมบูรณ์และชัดเจน จึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจที่จะศึกษาต่อไป.

- 1.2 การศึกษาผลของน้ำสกัดใบราตรีที่สกัดด้วย 95% Ethanol ( $R_E$ ) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อคลายโดยใช้ส่วนของเส้นประสาทพรีนิก-กล้ามเนื้อกระบังลมของหนูขาว (isolated rat phrenic nerve-hemidiaphragm preparation).

เมื่อหยคน้ำสกัด  $R_E$  ในขนาด 0.36, 1.43, 2.86, 5.71 และ 11.42 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร ลงใน tissue chamber ที่มีส่วนของเส้นประสาทพรีนิก-กล้ามเนื้อกระบังลมของหนูขาวและบันทึกการหดตัวของกล้ามเนื้อคลายนี้ พบว่าน้ำสกัด  $R_E$  ในขนาด 0.36 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร ทำให้เกิดการเพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อคลายเล็กน้อย ดังแสดงในรูปที่ 14 A. แต่เมื่อเพิ่มขนาดของน้ำสกัด  $R_E$  เป็น 1.43, 2.86, 5.71 และ 11.42 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร จะเห็นการลดการหดตัวอย่างเด่นชัด การลดการหดตัวจะลดลงขึ้นอยู่กับขนาดของน้ำสกัด ดังแสดงในรูปที่ 14 B, C, D และ E. น้ำสกัด  $R_E$  ในขนาด 11.42 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร สามารถทำให้เกิดการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อคลายได้อย่างสมบูรณ์ (complete neuromuscular blockade).

การลดการหดตัวของกล้ามเนื้อคลายซึ่งเกิดจากน้ำสกัด  $R_E$  ในขนาด 1.43, 2.86, 5.71 และ 11.42 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร คิดเป็นร้อยละได้  $39.4 \pm 3.53$ ,  $57.1 \pm 3.80$ ,  $88.8 \pm 4.36$  และ  $100.0 \pm 0$  ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3. เมื่อเปรียบเทียบผลการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อคลายที่เกิดจากน้ำสกัด  $R_E$  และ 95% Ethanol ซึ่งเป็นคอนโทรล พบว่าน้ำสกัด  $R_E$  สามารถลดการหดตัวของกล้ามเนื้อคลายได้มากกว่าการลดการหดตัวที่เกิดจาก 95% Ethanol อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ดังแสดงในตารางที่ 3. เช่นกัน.

การเปรียบเทียบผลของน้ำสกัด  $R_E$  และ 95% Ethanol ยังได้ทำในรูปของฮิสโตแกรมอีกด้วย (รูปที่ 15).

เมื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของน้ำสกัด  $R_E$  และการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย พบว่าเมื่อให้น้ำสกัดในขนาดที่สูงขึ้นจะมีการลดการหดตัวมากขึ้นตามด้วย ดังแสดงในรูปของ dose-response regression line (รูปที่ 16.) และเมื่อคำนวณค่า slope จะได้เท่ากับ 71.16 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ( $r$ ) คือ 0.9849.

นอกจากนี้เมื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างเวลาและการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายภายหลังจากให้น้ำสกัด  $R_E$  แล้ว พบว่าน้ำสกัด  $R_E$  ทำให้เกิดการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ขึ้นอยู่กับระยะเวลา เมื่อให้ทุกขนาดของน้ำสกัด  $R_E$  ดังแสดงในตารางที่ 4 และรูปที่ 17. และพบว่าในขนาด 11.42 มิลลิลิตรต่อ 1 มิลลิลิตรสามารถทำให้เกิดการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายได้อย่างสมบูรณ์ภายในระยะเวลา 20 นาที ดังแสดงในตารางที่ 4 และรูปที่ 17. เช่นกัน.

ตารางที่ 1. การเปรียบเทียบการเพิ่มการหดตัว (twitch potentiation) ของกล้ามเนื้อลาย ซึ่งเกิดจากน้ำสกัด  
 ไบรাত্রีที่สกัดด้วยน้ำ ( $R_C$ ) , น้ำสกัดไบรাত্রีที่สกัดด้วยน้ำร้อน ( $R_H$ ) และน้ำสกัดไบรাত্রีที่สกัดด้วย 95%  
 Ethanol ( $R_E$ ) โดยใช้ส่วนของเส้นประสาทไขอะตีก-กล้ามเนื้อของกบเลี้ยงในหนูขาว.

ขนาดของน้ำสกัด ไบรাত্রี ที่ฉีดเข้าไปในหนูขาว (กรัม/กิโลกรัม)	จำนวนครั้งที่ ทำการทดลอง	* การเพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย คิดเป็นร้อยละ (ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าความผิดพลาดมาตรฐาน)		
		$R_C$	$R_H$	$R_E$
0.033	6	20.5 $\pm$ 3.84	10.5 $\pm$ 6.27	5.4 $\pm$ 2.23
0.067	6	7.3 $\pm$ 2.07	12.5 $\pm$ 5.98	29.8 $\pm$ 10.43
0.133	6	13.0 $\pm$ 3.17	12.2 $\pm$ 6.16	22.8 $\pm$ 10.64
0.267	6	11.1 $\pm$ 2.08	9.8 $\pm$ 4.51	46.7 $\pm$ 10.37

หมายเหตุ \* หมายถึง การเพิ่มการหดตัวสูงสุดของกล้ามเนื้อลาย วัดหลังจากฉีดน้ำสกัดไบรাত্রีแล้ว 1 - 5 นาที.

ตารางที่ 2. การเปรียบเทียบการลดการหดหัว (twitch depression) ของกล้ามเนื้อลาย ซึ่งเกิดจากน้ำสกัดใบชาที่สกัดด้วยน้ำ (R<sub>C</sub>) , น้ำสกัดใบชาที่สกัดด้วยน้ำร้อน (R<sub>H</sub>) และน้ำสกัดใบชาที่สกัดด้วย 95% Ethanol (R<sub>E</sub>) โดยมีส่วนของเส้นประสาทไขว่ตัก-กล้ามเนื้อแกสตรอกนิเมียสในหนูขาว.

ขนาดของน้ำสกัดใบชาที่ฉีดเข้าไปในหนูขาว (กรัม/กิโลกรัม)	จำนวนครั้งที่ทำ การทดลอง	* การลดการหดหัวของกล้ามเนื้อลาย คัดเป็นร้อยละ (ค่าเฉลี่ย ± ค่าความผิดพลาดมาตรฐาน)		
		R <sub>C</sub>	R <sub>H</sub>	R <sub>E</sub>
0.033	6	84.4 ± 4.20	58.8 ± 13.33	30.9 ± 4.66
0.067	6	92.5 ± 4.61	95.1 ± 2.81	80.4 ± 12.28
0.133	6	100.0 ± 0.00	99.6 ± 0.39	96.1 ± 2.57
0.267	6	100.0 ± 0.00	100.0 ± 0.00	100.0 ± 0.00

หมายเหตุ \* หมายถึง การลดการหดหัวสูงสุดของกล้ามเนื้อลาย วัดหลังจากฉีดน้ำสกัดใบชาแล้ว 30 นาที.

ตารางที่ 3. การเปรียบเทียบการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย (twitch depression) ของกล้ามเนื้อลาย ซึ่งเกิดจากน้ำสกัดใบชาตรีที่สกัดด้วย 5% Ethanol (R<sub>E</sub>) และ 95% Ethanol (คอนโทรล) โดยใช้ส่วนของเส้นประสาทพรีมิก-กล้ามเนื้อลาย เนื้อกระบังลมของหนูขาว.

ขนาดของน้ำสกัด R <sub>E</sub> (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	จำนวนครั้งที่ทำการทดลอง	* การลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย คิดเป็นร้อยละ (ค่าเฉลี่ย ± ค่าความผิดพลาดมาตรฐาน)		t	p
		95% Ethanol (คอนโทรล)	R <sub>E</sub>		
1.43	6	2.3 ± 1.07	**39.4 ± 3.53	13.79	<0.005
2.86	6	12.9 ± 1.89	**57.1 ± 3.80	11.08	<0.005
5.71	6	25.0 ± 1.98	**88.8 ± 4.36	11.43	<0.005
11.43	6	25.0 ± 1.98	**100.0 ± 0	31.88	<0.005

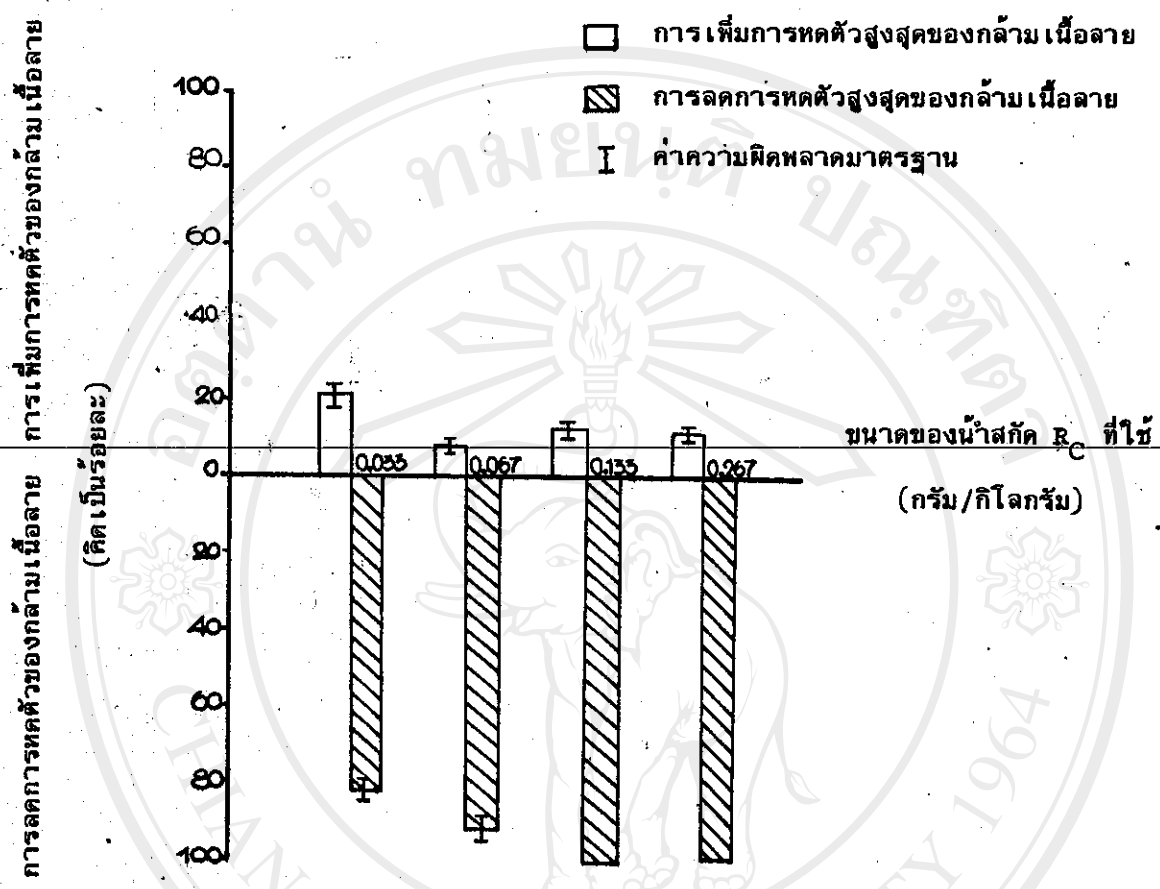
หมายเหตุ \* หมายถึง การลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย วัดหลังจากหยดน้ำสกัด R<sub>E</sub> แล้ว 30 นาที.  
 \*\* จากค่า t และ p จะเห็นได้ว่า น้ำสกัด R<sub>E</sub> ทำให้เกิดการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายมากกว่า คอนโทรลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p < 0.005).

ตารางที่ 4. ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาและการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย (time-action relationship) ซึ่งเกิดจากน้ำสกัดใบราตรีที่สกัดด้วย 95% Ethanol ( $R_E$ ) ในขนาด 1.43, 2.86, 5.71 และ 11.42 มิลลิกรัม ต่อ 1 มิลลิตร โดยใช้ส่วนของเส้นประสาทพรีนิค-กล้ามเนื้อกระบังลมของหนูขาว.

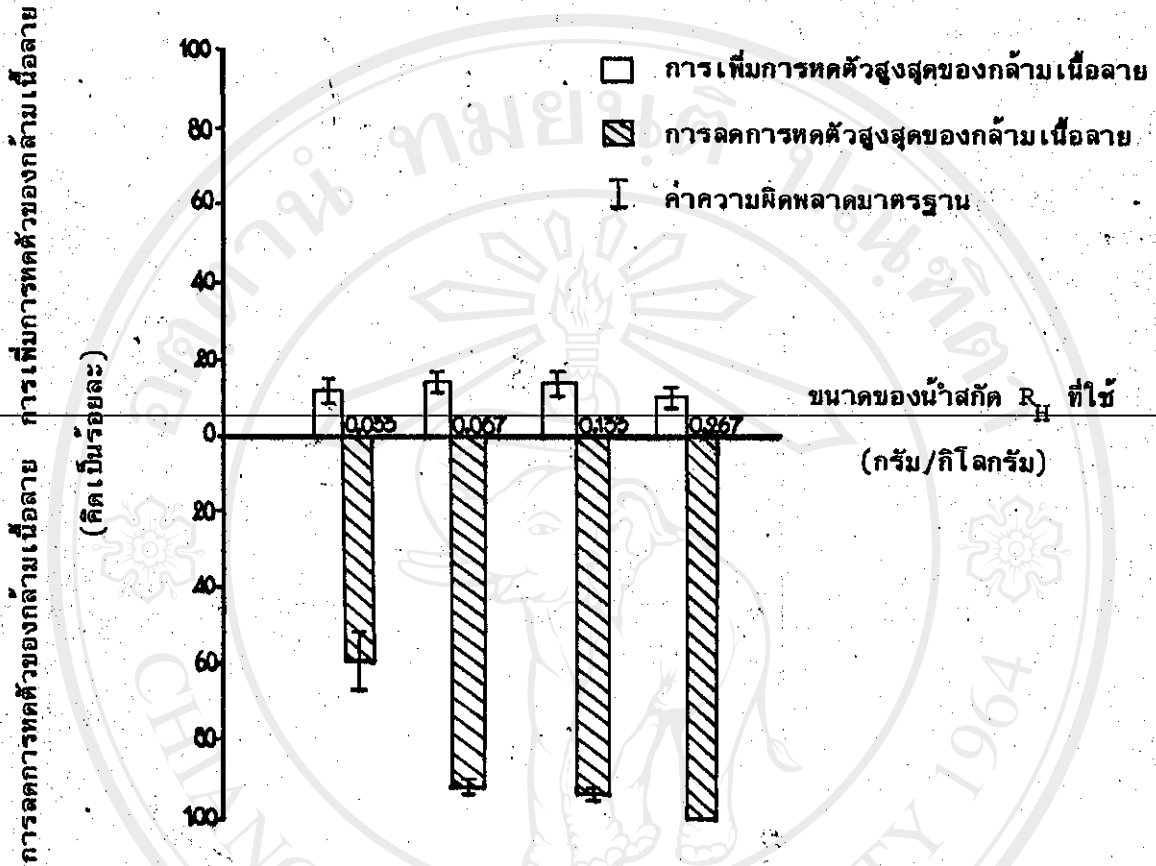
ขนาดของน้ำสกัด ใบราตรี (มิลลิกรัม/มิลลิตร)	จำนวนครั้ง ที่ทำ การทดลอง	* การลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย คิดเป็นร้อยละ (ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าความผิดพลาดมาตรฐาน)						
		1 นาที	5 นาที	10 นาที	15 นาที	20 นาที	25 นาที	30 นาที
1.43	6	0	5.7 $\pm$ 0.86	8.5 $\pm$ 1.08	17.2 $\pm$ 3.48	23.3 $\pm$ 4.51	32.8 $\pm$ 4.28	39.4 $\pm$ 3.54
2.86	6	1.3 $\pm$ 0.66	11.3 $\pm$ 1:52	19.7 $\pm$ 2.71	29.9 $\pm$ 3.84	39.2 $\pm$ 3.96	48.4 $\pm$ 3.16	57.1 $\pm$ 3.80
5.71	6	10.3 $\pm$ 2.82	37.9 $\pm$ 10.33	44.6 $\pm$ 8.84	50.73 $\pm$ 9.97	68.4 $\pm$ 8.27	82.6 $\pm$ 6.50	88.8 $\pm$ 4.36
11.42	6	18.1 $\pm$ 2.79	53.9 $\pm$ 0.04	78.9 $\pm$ 3.51	97.1 $\pm$ 1.48	100.0 $\pm$ 0	100.0 $\pm$ 0	100.0 $\pm$ 0

หมายเหตุ \* หมายถึง การลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย วัดหลังจากหยดน้ำสกัด  $R_E$  ที่เวลาต่าง ๆ กัน.

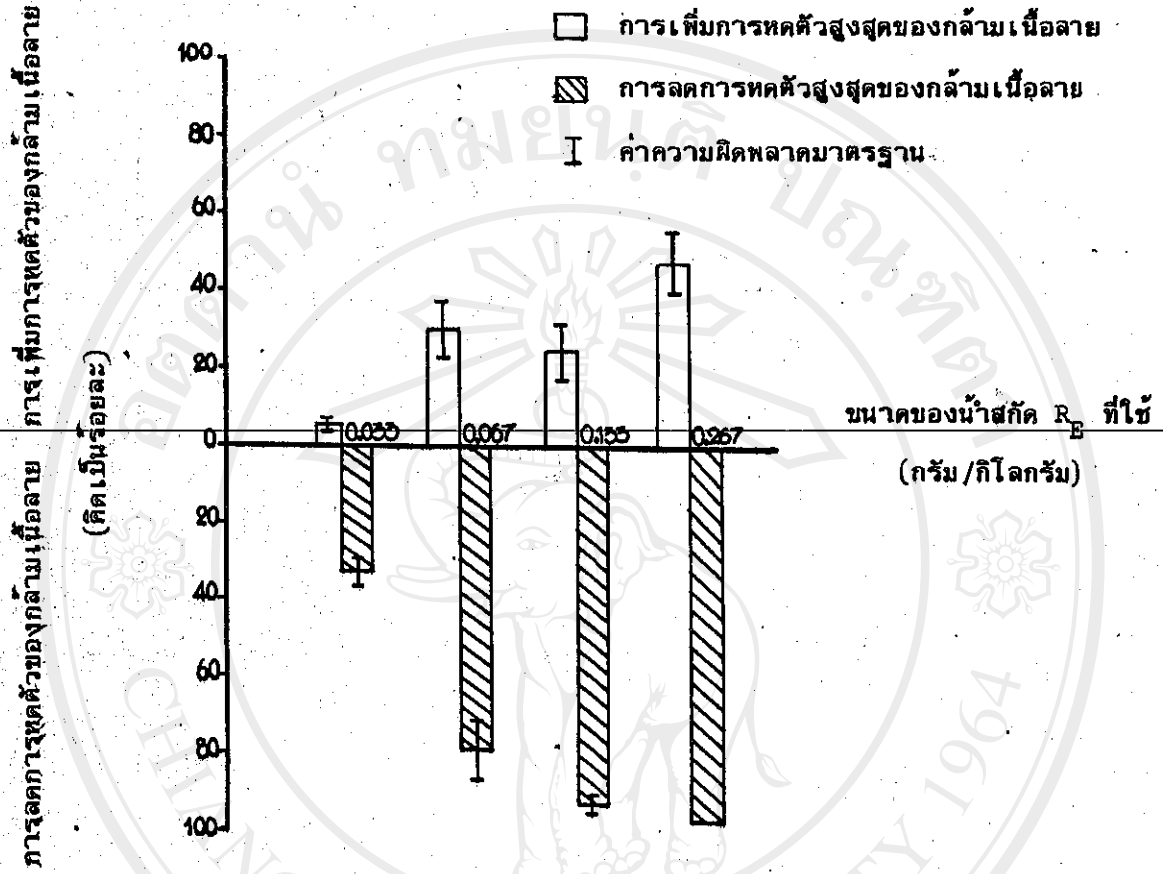




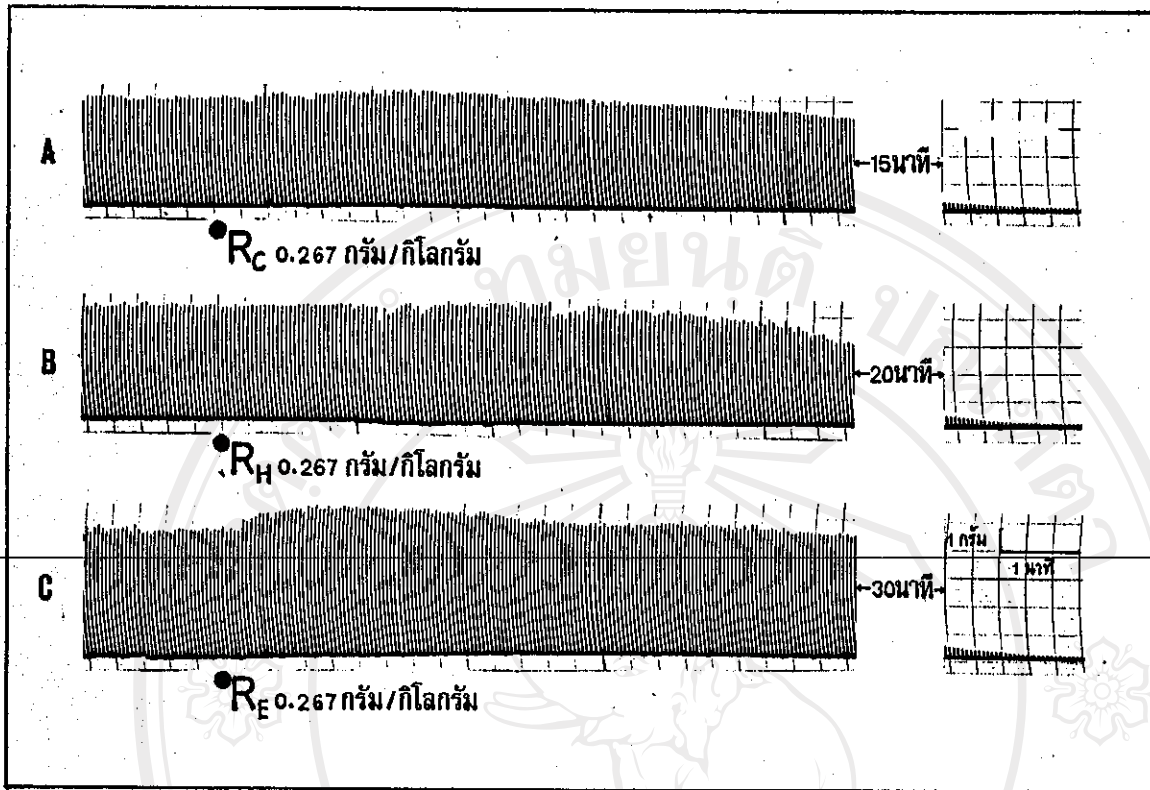
รูปที่ 7. ฮิสโตแกรมแสดงผลของน้ำสั๊กไบราดรีที่สั๊กด้วยน้ำ ( $R_c$ ) ต่อการหดตัว (neurally-evoked twitch) ของกล้ามเนื้อลาย โดยใช้ส่วนของเส้นประสาทไซอะติก-กล้ามเนื้อแกสโตรอกนีเมียสในหนูขาว.



รูปที่ 8. ซีสโตแกรมแสดงผลของน้ำสกัด ไบราตรีที่สกัดด้วยน้ำร้อน ( $R_H$ ) ต่อการหดตัว (neurally-evoked twitch) ของกล้ามเนื้อลาย โดยใช้ส่วนของเส้นประสาทไขอะดิก-กล้ามเนื้อแกสโตรอกนีเมียสในหนูขาว.

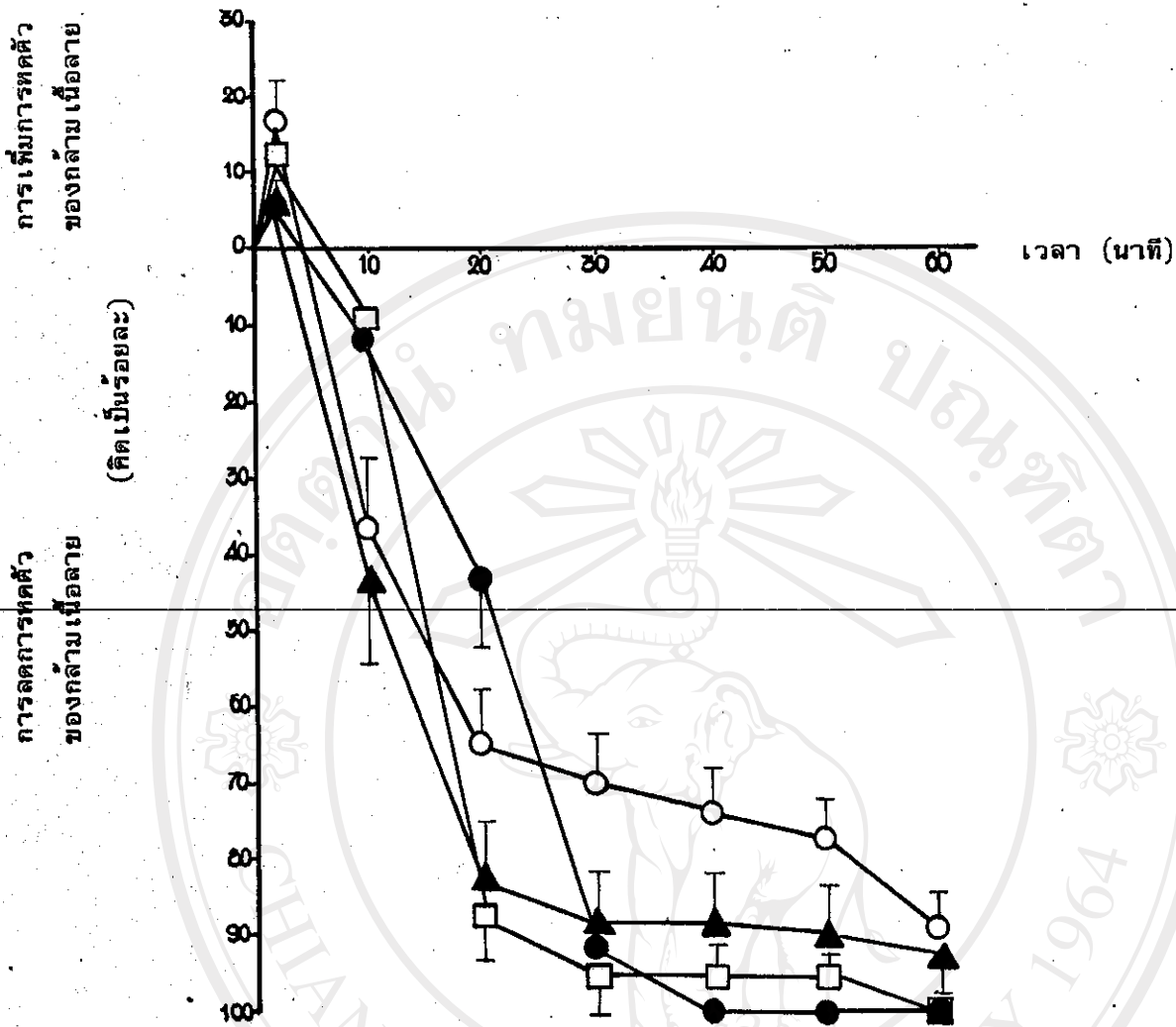


รูปที่ ๑. ฮิสโตแกรมแสดงผลของน้ำสกัดโบราณที่สกัดด้วย ๙๕% Ethanol ( $R_E$ ) ต่อการหดตัว (neurally-evoked twitch) ของกล้ามเนื้อลาย โดยใช้ส่วนของเส้นประสาทไขอะตีก-กล้ามเนื้อแกสตรอกนีเมียสในหนูขาว.



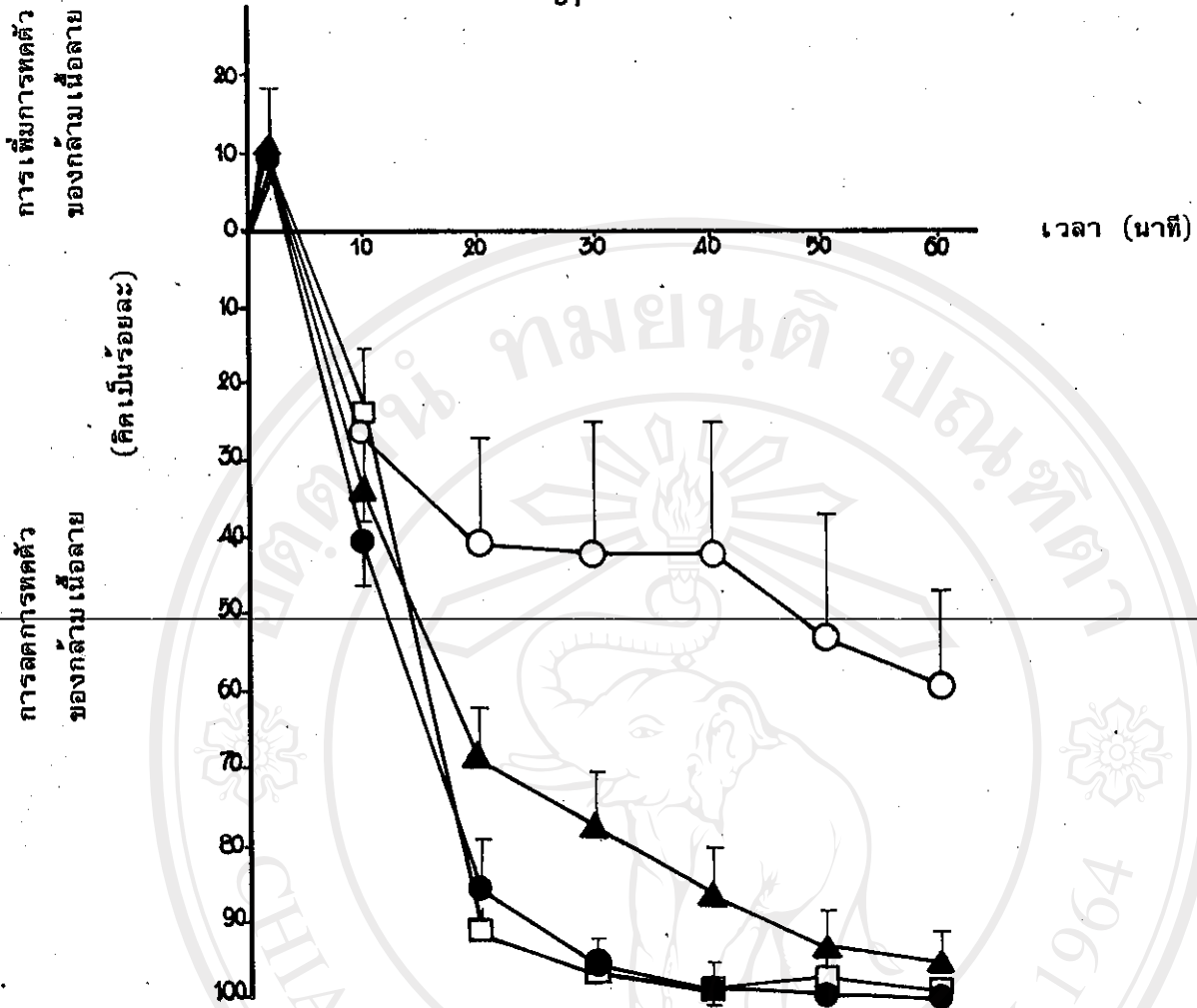
รูปที่ 10. แสดงการเปรียบเทียบการลดการหดตัว (twitch depression) ของกล้ามเนื้อลาย ซึ่งเกิดจากน้ำสกัดใบราตรีที่สกัดด้วยน้ำ ( $R_C$ ), น้ำสกัดใบราตรีที่สกัดด้วยน้ำร้อน ( $R_H$ ) และน้ำสกัดใบราตรีที่สกัดด้วย 95% Ethanol ( $R_E$ ) โดยใช้ส่วนของเส้นประสาท โขะติง-กล้ามเนื้อแกสตรอกนีเมียสในหนูขาว.

- A  $R_C$  ในขนาด 0.267 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ทำให้เกิดการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายได้อย่างสมบูรณ์ ภายในระยะเวลาประมาณ 25 นาที.
- B  $R_H$  ในขนาด 0.267 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ทำให้เกิดการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายได้อย่างสมบูรณ์ ภายในระยะเวลาประมาณ 30 นาที.
- C  $R_E$  ในขนาด 0.267 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ทำให้เกิดการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายได้อย่างสมบูรณ์ ภายในระยะเวลาประมาณ 40 นาที.



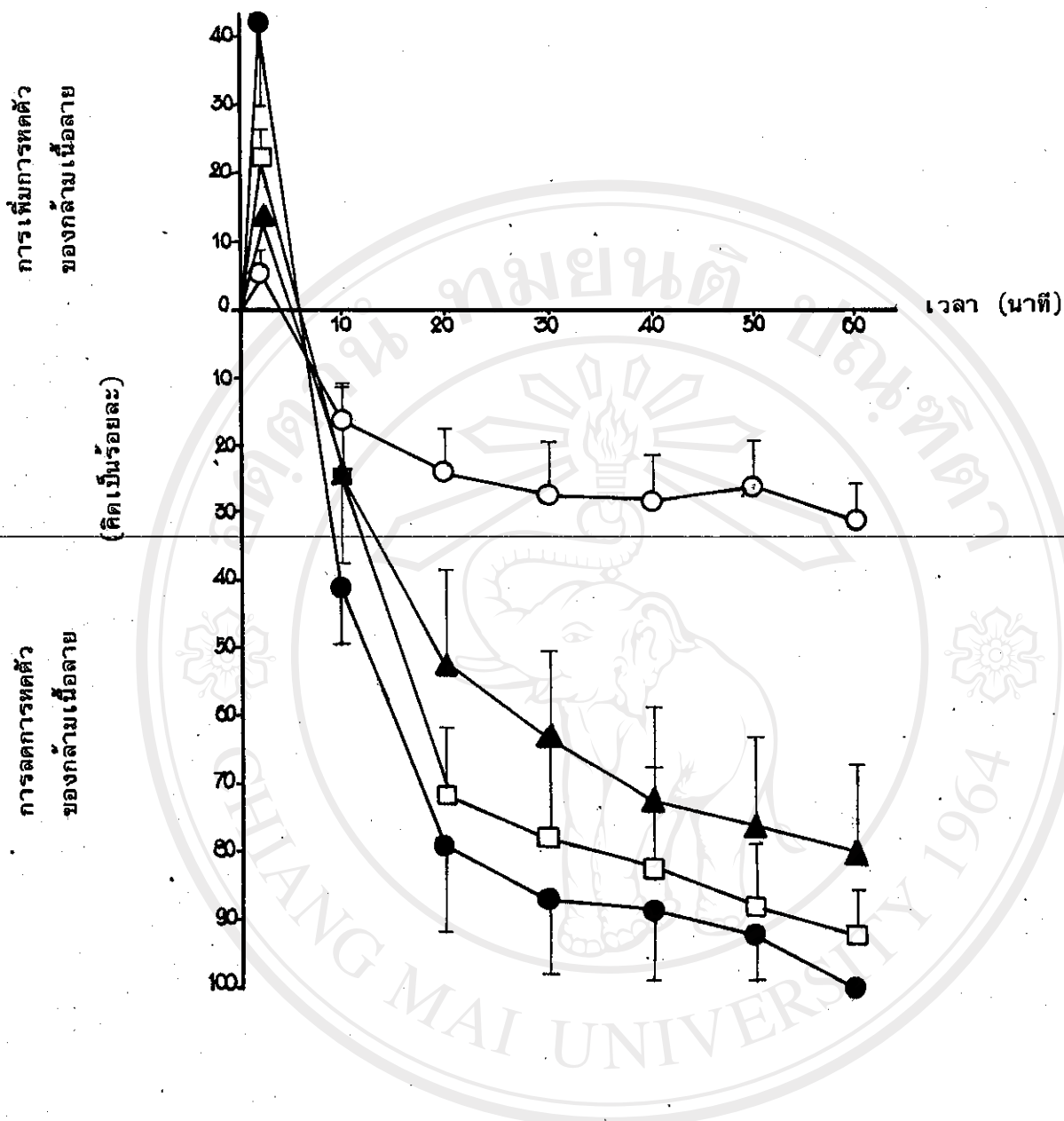
รูปที่ 11. ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาและการหดตัวของกล้ามเนื้อที่เปลี่ยนแปลงไป (time-action relationship) ซึ่งเกิดจากน้ำสกัดใบชาตรีที่สกัดด้วยน้ำ ( $R_C$ ) ในขนาด 0.033, 0.067, 0.133 และ 0.267 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม โดยใช้ส่วนของเส้นประสาทไซอะติก-กล้ามเนื้อแกสตรอกนีเมียสในหนูขาว.

- $R_C$  ในขนาด 0.033 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม.
- ▲—▲  $R_C$  ในขนาด 0.067 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม.
- $R_C$  ในขนาด 0.133 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม.
- $R_C$  ในขนาด 0.267 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม.



รูปที่ 12. ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาและการหดตัวของกล้ามเนื้อลายที่เปลี่ยนแปลงไป (time-action relationship) ซึ่งเกิดจากน้ำสกัดไบราตรีที่สกัดด้วยน้ำร้อน ( $R_H$ ) ในขนาด 0.033, 0.067, 0.133 และ 0.267 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม โดยใช้ส่วนของเส้นประสาทไซอะติก-กล้ามเนื้อแกสโตรอกนีเมียสในหนูขาว.

- $R_H$  ในขนาด 0.033 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม.
- ▲—▲  $R_H$  ในขนาด 0.067 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม.
- $R_H$  ในขนาด 0.133 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม.
- $R_H$  ในขนาด 0.267 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม.



รูปที่ 13. ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาและการหดตัวของกล้ามเนื้อละลายที่เปลี่ยนแปลงไป (time-action relationship) ซึ่งเกิดจากน้ำสกัดใบราตรีที่สกัดด้วย 95% Ethanol

( $R_E$ ) ในขนาด 0.033, 0.067, 0.133 และ 0.267 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม โดยใช้ส่วนของเส้นประสาทไซอะดิก-กล้ามเนื้อแอสโตรกนีเมียสในหนูขาว.

- $R_E$  ในขนาด 0.033 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม.
- ▲—▲  $R_E$  ในขนาด 0.067 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม.
- $R_E$  ในขนาด 0.133 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม.
- $R_E$  ในขนาด 0.267 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม.

รูปที่ 14. แสดงผลของน้ำสกัดใบราตรีที่สกัดด้วย 95% Ethanol ( $R_E$ ) ในขนาด 0.36, 1.43, 2.86, 5.71 และ 11.42 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อ (neurally-evoked twitch) ของกล้ามเนื้อลาย โดยใช้ส่วนของเส้นประสาทพรีมิก-กล้ามเนื้อกระบังลมของหนูขาว.

A  $R_E$  ในขนาด 0.36 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร ทำให้เกิดการเพิ่มความถี่ของกล้ามเนื้อลายได้เล็กน้อย.

B  $R_E$  ในขนาด 1.43 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร ทำให้เกิดการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย.

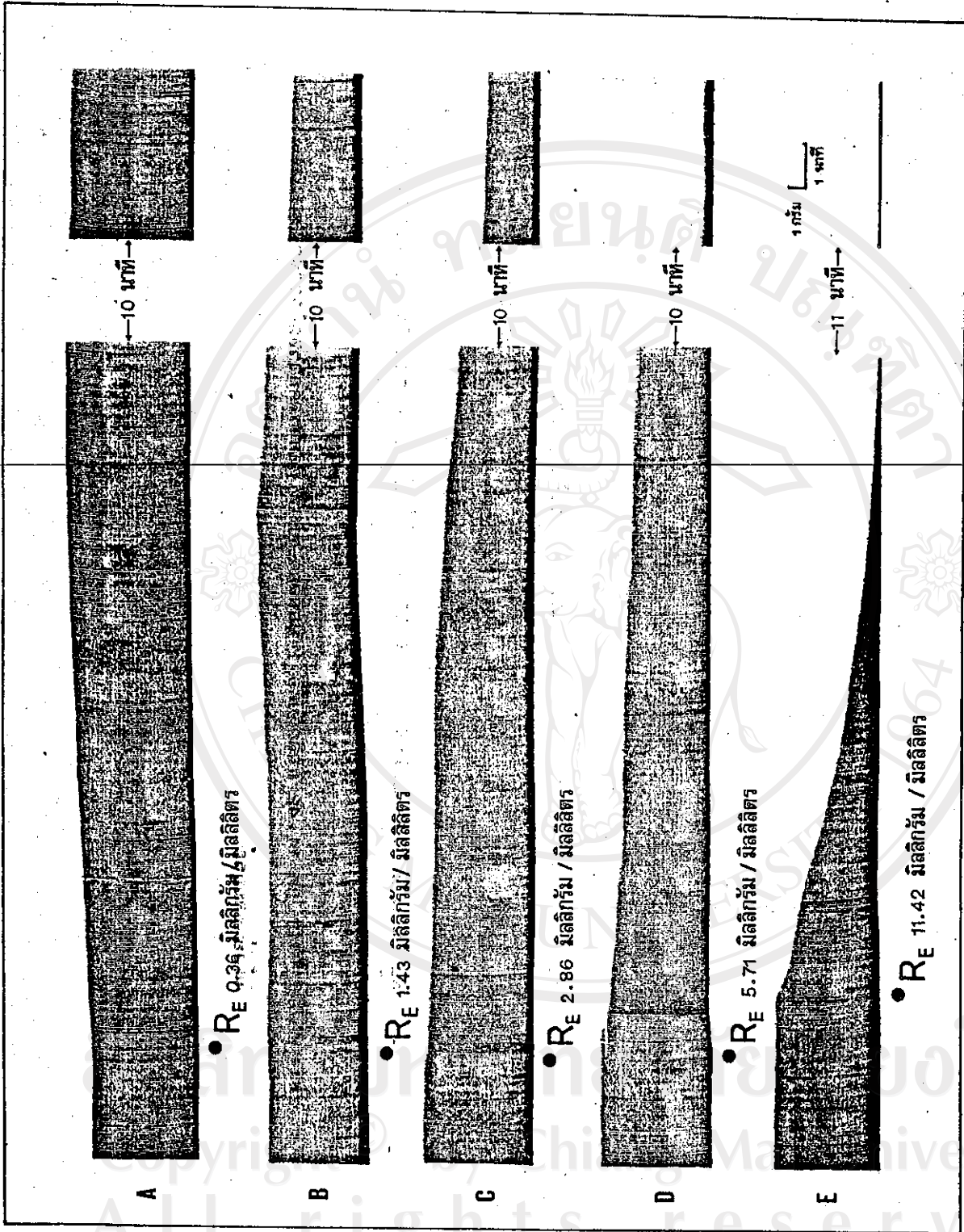
C  $R_E$  ในขนาด 2.86 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร ทำให้เกิดการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายอย่างเห็นได้ชัด.

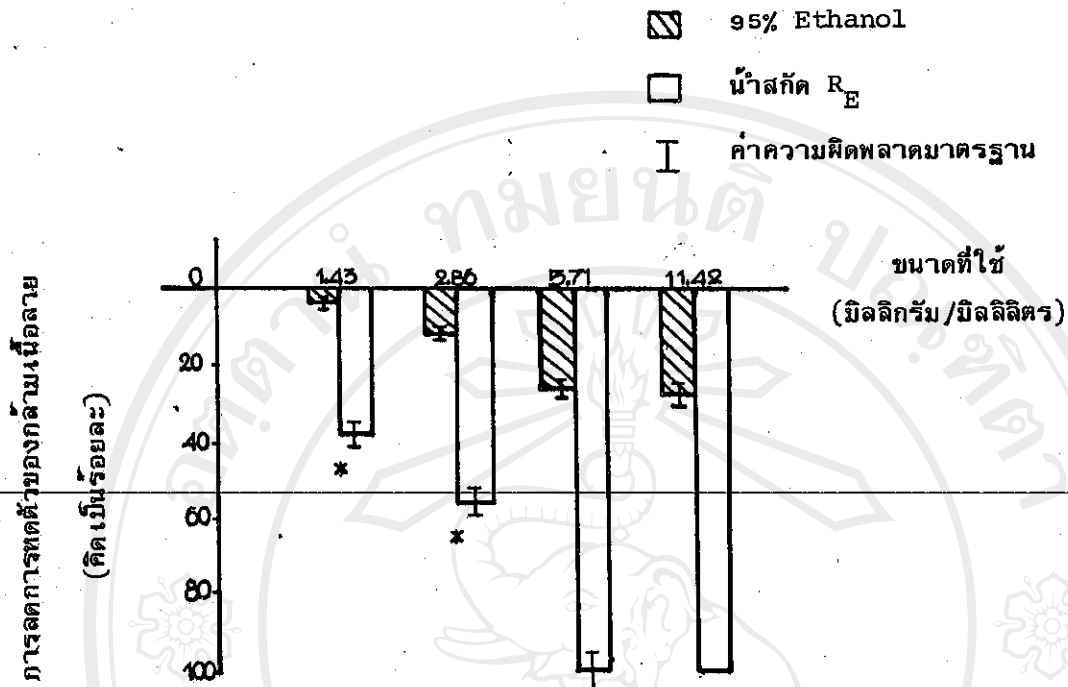
D  $R_E$  ในขนาด 5.71 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร ทำให้เกิดการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายได้มากขึ้น.

E  $R_E$  ในขนาด 11.42 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร ทำให้เกิดการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายได้อย่างสมบูรณ์ (สูญญ)





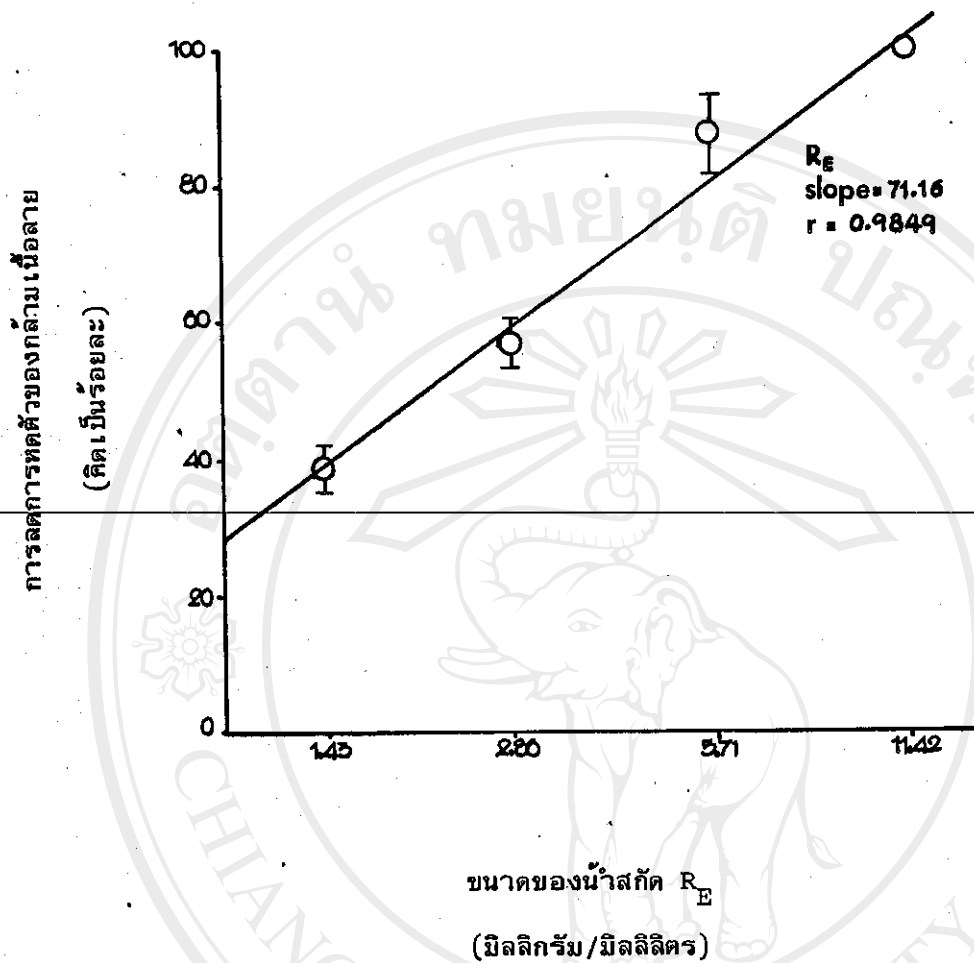




รูปที่ 15. ฮีสโตแกรมแสดงการลดการหดตัว (twitch depression) ของกล้ามเนื้อลาย ซึ่งเกิดจากน้ำสกัดใบราตรีที่สกัดด้วย 95% Ethanol (R<sub>E</sub>) และ 95% Ethanol (คอนโทรล) โดยใช้ส่วนของเส้นประสาทพรีนิค-กล้ามเนื้อกระบังลมของหนูขาว.   
 \* หมายถึง การลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย ซึ่งเกิดจากน้ำสกัด

R<sub>E</sub> และ 95% Ethanol มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทาง

สถิติ ( $p < 0.005$ ).



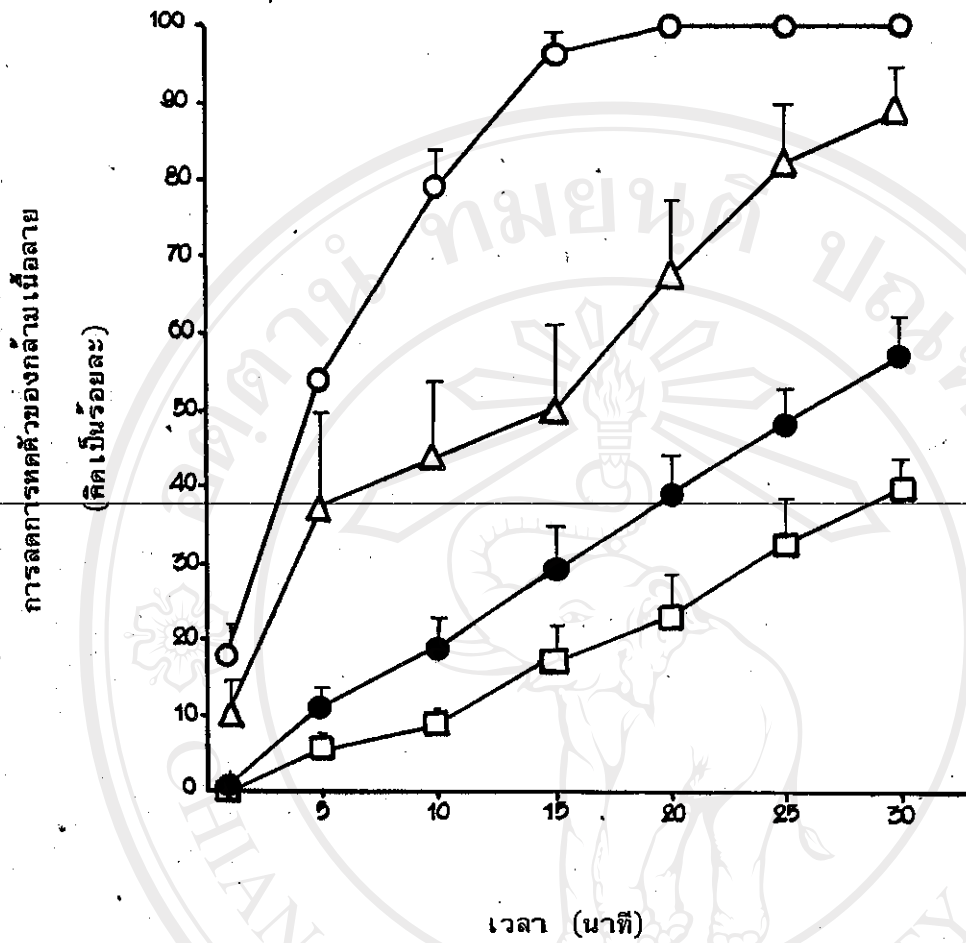
รูปที่ 16. แสดง dose-response regression line ของการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อเนื่อลาย ซึ่งเกิดจากน้ำสกัดใบราตรีที่สกัดด้วย 95% Ethanol ( $R_E$ )

โดยใช้ส่วนของเส้นประสาทพรีนิค-กล้ามเนื้อกระบังลมของหนูขาว.

หมายเหตุ แต่ละจุดแสดงถึงค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าความผิดพลาดมาตรฐานที่ได้

จากการทดลอง 6 ครั้ง ค่า slope ของ regression line นี้มีค่าเท่ากับ 71.16 และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์

(r) คือ 0.9849.



รูปที่ 17. ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาและการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย (time-action relationship) ซึ่งเกิดจากน้ำสกัดใบราตรีที่สกัดด้วย 95%

Ethanol ( $R_E$ ) ในขนาด 1.43, 2.86, 5.71 และ 11.42 มิลลิกรัม

ต่อ 1 มิลลิลิตร โดยใช้ส่วนของเส้นประสาทพรีนิค-กล้ามเนื้อกระบังลมของหนูขาว.

□—□  $R_E$  ในขนาด 1.43 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร.

●—●  $R_E$  ในขนาด 2.86 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร.

△—△  $R_E$  ในขนาด 5.71 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร.

○—○  $R_E$  ในขนาด 11.42 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร.

ตอนที่ 2. การศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของน้ำสกัดใบราตรีที่สกัดด้วย 95% Ethanol ( $R_E$ ) ที่บริเวณปลายประสาทและกล้ามเนื้อลาย (neuromuscular synapse) โดยใช้ส่วนของเส้นประสาทฟรีนิก-กล้ามเนื้อกระบังลมของหนูขาว (isolated rat phrenic nerve-hemidiaphragm preparation).

ในการศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของยาหรือสารเคมีที่คาดว่าจะมีการออกฤทธิ์ที่บริเวณปลายประสาทและกล้ามเนื้อลายนั้น ควรศึกษาเปรียบเทียบการออกฤทธิ์กับยามาตรฐาน คือยาในกลุ่มคลายตัวกล้ามเนื้อลาย (neuromuscular blocking drugs) ตัวอย่างเช่น d-tubocurarine (curarine<sup>®</sup>) pancuronium (pavulon<sup>®</sup>) ซึ่งเป็นยาในกลุ่ม non-depolarized neuromuscular blocking drugs และ succinylcholine (Kyoraxin<sup>®</sup>) ซึ่งเป็นยาในกลุ่ม depolarized neuromuscular blocking drugs ดังนั้นในการศึกษานี้จึงได้เปรียบเทียบการเกิดการลดการหดตัว (twitch depression) ของกล้ามเนื้อลายที่เกิดจากน้ำสกัด  $R_E$  กับ pancuronium และ succinylcholine ดังมีรายละเอียดดังนี้

2.1 การเปรียบเทียบการออกฤทธิ์ลดการหดตัว (twitch depression) ของกล้ามเนื้อลายที่เกิดจากน้ำสกัดใบราตรีที่สกัดด้วย 95% Ethanol ( $R_E$ ), pancuronium และ succinylcholine (SCH)

เมื่อหยดน้ำสกัด  $R_E$  ในขนาด 1.43, 2.86, 5.71 และ 11.42 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร, pancuronium ในขนาด 0.0006, 0.0012, 0.0025 และ 0.0050 มิลลิโมล และ succinylcholine ในขนาด 0.0031, 0.0062, 0.0094 และ 0.0125 มิลลิโมล ลงใน tissue chamber ที่มีส่วนของเส้นประสาทฟรีนิก-กล้ามเนื้อกระบังลมของหนูขาวและบันทึกการหดตัว (neurally-evoked

twitch) ของกล้ามเนื้อเนื้อลายนี้ พบว่าน้ำสกัด  $R_E$  สามารถลดการหดตัวของกล้ามเนื้อเนื้อลายได้เช่นเดียวกับ pancuronium และ succinylcholine ได้ในทุก ๆ ขนาดที่ให้ ดังแสดงในตารางที่ 5 และ 6.

เมื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างขนาดที่ใช้และการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อเนื้อลายซึ่งเกิดจากน้ำสกัด  $R_E$  เปรียบเทียบกับ pancuronium และ succinylcholine โดยทำในรูปของ dose-response regression lines ซึ่งแสดงในรูปที่ 18. ค่า slope ของแต่ละเส้นมีค่าเท่ากับ 71.16, 113.33 และ 112.87 และหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ( $r$ ) ได้ 0.9849, 0.9975 และ 0.9801 ตามลำดับ จากนี้เป็นที่น่าสังเกตว่าน้ำสกัด  $R_E$  อาจจะมีกลไกการออกฤทธิ์ในการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อเนื้อลายแตกต่างหรือคล้ายคลึงกับยาทั้งสองชนิดนี้ได้หรือไม่ จึงได้ศึกษาถึงการออกฤทธิ์ของน้ำสกัด  $R_E$  ร่วมกับยาลดการหดตัวของกล้ามเนื้อเนื้อลายทั้งสองชนิดนี้คือไป.

- 2.2 การเสริมฤทธิ์ของน้ำสกัดใบราตรีที่สกัดด้วย 95% Ethanol ( $R_E$ ) และ pancuronium, succinylcholine (Sch) ในการลดการหดตัว (twitch depression) ของกล้ามเนื้อเนื้อลาย.

เมื่อหยดน้ำสกัด  $R_E$  ลงใน tissue chamber ซึ่งมีส่วนของเส้นประสาทพรีนิค-กล้ามเนื้อเนื้อกระบังลมของหนูขาวและบันทึกการหดตัวของกล้ามเนื้อเนื้อลาย พบว่าน้ำสกัด  $R_E$  ในขนาด 1.43, 2.86, 5.71 และ 11.42 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร ทำให้การหดตัวของกล้ามเนื้อเนื้อลายลดลงคิดเป็นร้อยละ  $39.4 \pm 5.53$ ,  $57.1 \pm 3.80$ ,  $88.8 \pm 4.36$  และ  $100.0 \pm 0$  ตามลำดับ pancuronium ในขนาด 0.0006, 0.0012, 0.0025, และ 0.0050 มิลลิโมล สามารถลดการหดตัวของกล้ามเนื้อเนื้อลายได้คิดเป็นร้อยละ  $2.7 \pm 1.12$ ,  $39.8 \pm 6.31$ ,  $86.6 \pm 4.67$  และ  $100.0 \pm 0$  ตามลำดับ (ตารางที่ 5) เมื่อหยดน้ำสกัด  $R_E$  ก่อนแล้วตามด้วย

pancuronium พบว่าการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายเพิ่มมากขึ้นเป็น  $48.6 \pm 3.18$ ,  $87.2 \pm 5.92$ ,  $100.0 \pm 0$  และ  $100.0 \pm 0$  ตามลำดับ จะเห็นว่าเกิดการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายได้มากกว่าการให้น้ำสกัด  $R_E$  หรือ pancuronium อย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ดังแสดงในตารางที่ 5. แสดงว่าน้ำสกัด  $R_E$  มีการเสริมฤทธิ์ในการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายที่เกิดจาก pancuronium ได้อย่างเด่นชัด ดังแสดงในรูปที่ 19. ตัวอย่างการบันทึกการเสริมฤทธิ์การลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายที่เกิดจากน้ำสกัด  $R_E$  และ pancuronium ได้แสดงในรูปที่ 20.

succinylcholine ในขนาด 0.0031, 0.0062, 0.0094 และ 0.0125 มิลลิโมล สามารถลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายได้คิดเป็นร้อยละ  $29.7 \pm 3.06$ ,  $62.3 \pm 4.96$ ,  $81.7 \pm 1.57$  และ  $100.0 \pm 0$  ตามลำดับ (ตารางที่ 6.) เมื่อหยดน้ำสกัด  $R_E$  ก่อนแล้วตามด้วย succinylcholine พบว่าทำให้ลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายได้มากขึ้นเป็น  $100.0 \pm 0$  ในทุกขนาดของน้ำสกัด  $R_E$  เมื่อให้ร่วมกับ succinylcholine ในแต่ละขนาดที่ใช้ จะเห็นว่าเกิดการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายเพิ่มมากกว่าการให้น้ำสกัด  $R_E$  หรือ succinylcholine อย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ดังแสดงในตารางที่ 6. จากผลการทดลองนี้แสดงว่าน้ำสกัด  $R_E$  มีการเสริมฤทธิ์ในการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายที่เกิดจาก succinylcholine อย่างเห็นได้ชัด ตัวอย่างการบันทึกการเสริมฤทธิ์การลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายที่เกิดจากน้ำสกัด  $R_E$  และ succinylcholine ได้แสดงในรูปที่ 21.

จากผลการทดลองดังกล่าวข้างต้นแสดงว่าน้ำสกัด  $R_E$  มีการออกฤทธิ์ต่อบริเวณปลายประสาทและกล้ามเนื้อลาย (neuromuscular synapse) อย่างเห็นได้ชัด เมื่อเปรียบเทียบกับยามาตรฐานซึ่งออกฤทธิ์ต่อบริเวณนี้คือ pancuronium และ succinylcholine จะเห็นว่ามีการเสริมฤทธิ์กัน แสดงว่าน้ำสกัด  $R_E$  อาจออกฤทธิ์

คล้ายกับยาที่ทำให้กล้ามเนื้อคลายตัวเหล่านี้ ดังนั้นจึงเป็นที่น่าสนใจว่าน้ำสกัด  $R_E$  ออกฤทธิ์ที่บริเวณปลายประสาทและกล้ามเนื้อคลายได้อย่างไร จึงได้ศึกษาถึงกลไกการออกฤทธิ์ของน้ำสกัดนี้ต่อไปโดยศึกษาเปรียบเทียบผลของยาที่อาจจะสามารถต้านฤทธิ์การลดการหดตัวของกล้ามเนื้อคลายที่เกิดจากน้ำสกัด  $R_E$  และยามาตรฐานต่อไป.

2.3 การเปรียบเทียบผลของ physostigmine (PS), tetraethylammonium (TEA) และ  $Ca^{++}$  ในการต้านฤทธิ์การลดการหดตัว (twitch depression) ของกล้ามเนื้อคลายซึ่งเกิดจากน้ำสกัดใบราตรีที่สกัดด้วย 95% Ethanol ( $R_E$ ) และ pancuronium

เมื่อหยด physostigmine ซึ่งเป็นยาในกลุ่ม reversible anticholinesterase agents ในขนาด 0.0125 มิลลิโมล ลงใน tissue chamber ที่มีส่วนของเส้นประสาทพรีนิค-กล้ามเนื้อกระบังลมของหนูขาวและบันทึกการหดตัวของกล้ามเนื้อคลายนี้ พบว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด (รูปที่ 22 A.) หลังจากให้ pancuronium ในขนาด 0.0050 มิลลิโมล ซึ่งเป็นขนาดที่ทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อคลายได้มากอย่างเห็นได้ชัดแล้วให้ physostigmine ในขนาดเดียวกัน พบว่าสามารถต้านฤทธิ์การลดการหดตัวของกล้ามเนื้อคลายที่เกิดจาก pancuronium ได้อย่างเด่นชัด (รูปที่ 22 C.) แต่ physostigmine ไม่สามารถต้านฤทธิ์การลดการหดตัวของกล้ามเนื้อคลายที่เกิดจากน้ำสกัด  $R_E$  ได้เลย (รูปที่ 22 D.)

เมื่อหยด tetraethylammonium (TEA) ซึ่งเป็น potent anticurare agent (Collier & Exley, 1963) ในขนาด 2.5 มิลลิโมล ลงใน tissue chamber เช่นเดียวกัน จะเห็นว่ามีการเพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อคลายได้เล็กน้อย (รูปที่ 23 A.) และในการทดลองบางครั้ง TEA ไม่มีผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อคลาย เมื่อให้ TEA ในขนาดเดียวกันนี้ตามหลังการเกิดการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อ



เนื้อลายที่เกิดจาก pancuronium ในขนาด 0.0050 มิลลิโมล พบว่า TEA สามารถต้านฤทธิ์การลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายได้ดีมาก ดังตัวอย่างการบันทึกผลซึ่งแสดงในรูปที่ 23 C. แต่ TEA ไม่สามารถต้านฤทธิ์การลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายที่เกิดจากน้ำสกัด  $R_E$  ได้เลย (รูปที่ 23 D.)

$Ca^{++}$  เป็น ion ที่มีบทบาทสำคัญในการเกิด excitation-secretion coupling ของขบวนการหลั่ง acetylcholine จากปลายประสาท motor ที่บริเวณปลายประสาทและกล้ามเนื้อลาย (Simpson, 1968, และ Hubbard, 1970) ในการทดลองนี้เมื่อหยดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ( $Ca^{++}$ ) ในขนาด

1.25 มิลลิโมล ลงใน tissue chamber พบว่าไม่มีผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย (รูปที่ 24 A.) และการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายที่เกิดจาก pancuronium หรือน้ำสกัด  $R_E$  ก็ไม่สามารถต้านฤทธิ์ได้ด้วย  $Ca^{++}$  ดังแสดงในรูปที่ 24 C. และ 24 D.

ในการศึกษาตำแหน่งการออกฤทธิ์ของยาหรือสารใดที่คาดว่าออกฤทธิ์ต่อบริเวณปลายประสาทและกล้ามเนื้อลายนั้นควรศึกษาว่ามีการออกฤทธิ์ที่บริเวณปลายประสาท motor (motor nerve terminal) ด้วยหรือไม่ โดยทำการศึกษาผลของยาหรือสารนั้นๆ ต่อ post-tetanic potentiation (PTP) PTP เป็นปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นที่บริเวณปลายประสาทและกล้ามเนื้อลายซึ่งเป็นผลเนื่องจากมี acetylcholine หลั่งออกมาจากบริเวณปลายประสาท motor เพิ่มมากขึ้น

(Gage & Hubbard, 1966) ดังนั้นเมื่อยาหรือสารใดที่ทำให้ PTP เปลี่ยนแปลงไปได้ จึงคาดได้ว่ายาหรือสารนั้นๆ อาจออกฤทธิ์ที่บริเวณปลายประสาท motor ได้.

ในการศึกษานี้จึงได้เปรียบเทียบผลของน้ำสกัด  $R_C$  กับยามาตรฐาน คือ pancuronium และ succinylcholine ต่อ PTP ด้วย โดยมีรายละเอียดดังนี้

2.4 การเปรียบเทียบผลของน้ำสกัดโบราณที่สกัดด้วยน้ำ ( $R_C$ ), pancuronium และ succinylcholine (Sch) ต่อ post-tetanic potentiation (PTP) โดย

ใช้ส่วนของเส้นประสาทไซอะติก-กล้ามเนื้อแกสตรอกนีเมียสในหนูขาว.

เมื่อทำ repetitive stimulation โดยกระตุ้นเส้นประสาทไซอะติก ด้วยไฟฟ้าความถี่สูง ๗ (20 Hz) เป็นเวลา 10 วินาที ทำให้เกิด PTP อย่างเห็นได้ชัดเจดดังแสดงในรูปที่ 25 A. และจากการทำ repetitive stimulation ภายหลังเกิดการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายซึ่งเกิดจากการฉีด pancuronium, succinylcholine และน้ำสกัด  $R_C$  ในขนาด 0.0005, 0.0002 และ 4.0 กรัมค่อน้ำหนักตัว ๑ กิโลกรัม ตามลำดับเข้าทางเส้นเลือดแดงของหนูขาว พบว่า pancuronium สามารถยับยั้งการเกิด PTP ได้อย่างสมบูรณ์ (รูปที่ 25 B.) แต่ succinylcholine หรือน้ำสกัด  $R_C$  สามารถยับยั้งการเกิด PTP ได้บางส่วน ดังแสดงในรูปที่ 25 C. และ 25 D. แสดงว่าน้ำสกัด  $R_C$  สามารถยับยั้งการเกิด PTP คล้ายกับ succinylcholine.

การศึกษาดำเน่งที่ออกฤทธิ์และกลไกการออกฤทธิ์ของน้ำสกัดโบราณตรีในขั้นต่อไป เป็นการศึกษเปรียบเทียบกับการหดตัวของกล้ามเนื้อลายที่เกิดจาก acetylcholine ว่าจะมีผลต่อยาคลายตัวกล้ามเนื้อลายอย่างไรบ้าง.

- 2.5 การเปรียบเทียบผลของน้ำสกัดโบราณตรีที่สกัดด้วย 95% Ethanol ( $R_E$ ) และ acetylcholine (ACh) ในการเกิดการหดตัว (contraction) ของกล้ามเนื้อลายและศึกษาผลของ pancuronium, acetylcholine และ succinylcholine (Sch) ต่อการหดตัว (contraction) ของกล้ามเนื้อลายที่เกิดจากน้ำสกัดโบราณตรีนี้โดยใช้ส่วนของเส้นประสาทพรีนิค-กล้ามเนื้อกระบังลมของหนูขาว.

เมื่อหยดน้ำสกัด  $R_E$  และ acetylcholine ลงใน tissue chamber ที่มีส่วนของเส้นประสาทพรีนิค-กล้ามเนื้อกระบังลมของหนูขาวและบันทึกการหดตัว (contraction) ของกล้ามเนื้อลายนี้ พบว่าน้ำสกัด  $R_E$  ในขนาด 1.43 มิลลิกรัมต่อ ๑ มิลลิลิตร ทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายได้สูงมาก นอกจากนี้น้ำสกัด

$R_E$  ยังมีผลทำให้เกิดอาการพริ้วของกล้ามเนื้อลาย (fasciculation) ได้อย่างชัดเจน (ดังแสดงในรูปที่ 26 A.) จะเห็นว่าการหดตัวที่เกิดจากน้ำสกัด  $R_E$  นี้เกิดขึ้นเป็นเวลานานกว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อลายที่เกิดจาก acetylcholine 10 มิลลิโมล (รูปที่ 26 C.) เมื่อเปรียบเทียบผลของน้ำสกัด  $R_E$  และ 95% Ethanol (คอนโทรล) พบว่า 95% Ethanol ไม่มีผลทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย ดังแสดงในรูปที่ 26 B. จึงคาดว่าผลการหดตัวของกล้ามเนื้อลายนี้เนื่องมาจากน้ำสกัด  $R_E$  อย่างเด่นชัด.

เมื่อหยคน้ำสกัด  $R_E$  ในขนาด 1.43 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตรตามหลัง pancuronium ในขนาด 0.0050 มิลลิโมล พบว่า pancuronium สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อลายที่เกิดจากน้ำสกัด  $R_E$  ได้บางส่วนและสามารถยับยั้งอาการพริ้วของกล้ามเนื้อลาย (fasciculation) ที่เกิดจากน้ำสกัด  $R_E$  ได้ ดังแสดงในรูปที่ 27 C.

เมื่อให้ acetylcholine ในขนาด 10 มิลลิโมล ตามหลังน้ำสกัด  $R_E$  ในขนาด 1.43 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร พบว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อลายที่เกิดจากน้ำสกัด  $R_E$  ยังคงอยู่และทำให้เกิดการหดตัวได้นานกว่าเดิม แต่อาการพริ้วของกล้ามเนื้อลายหายไป ดังแสดงในรูปที่ 28 C. อาจกล่าวได้ว่าน้ำสกัด  $R_E$  และ acetylcholine ทำให้เกิดการหดตัวได้เช่นเดียวกัน และเมื่อให้ succinylcholine ในขนาด 10 มิลลิโมล ตามหลังน้ำสกัด  $R_E$  ในขนาด 1.43 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร พบว่าได้ผลเช่นเดียวกันคือการหดตัวของกล้ามเนื้อลายยังคงอยู่และระยะเวลาการหดตัวนานขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 28 E. แสดงให้เห็นว่าน้ำสกัด  $R_E$  อาจมีการออกฤทธิ์บางส่วนคล้าย acetylcholine และ succinylcholine.

ตารางที่ 5. การเสริมฤทธิ์การลดการหดตัวของกล้ามเนื้อเออลาย ซึ่งเกิดจากน้ำสกัดใบปราศที่สกัดด้วย 95% Ethanol ( $R_E$ ) และ pancuronium โดยมีส่วนของเส้นประสาทพรีนิค-กล้ามเนื้อเออลายเนื่องกระบังลมของหนูขาว.

$R_E$ (มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร)	ขนาดที่ใช้		จำนวนครั้ง ที่ทำ การทดลอง	* การลดการหดตัวของกล้ามเนื้อเออลาย คิดเป็นร้อยละ (ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าความผิดพลาดมาตรฐาน)			F	P
	pancu- ronium (มิลลิโมล)			$R_E$	pancuronium	$R_E +$ pancuronium		
1.43	0.0006		6	$39.4 \pm 5.53$	$2.7 \pm 1.12$	$** 48.6 \pm 3.18$	75.05	$< 0.05$
2.86	0.0012		6	$57.1 \pm 3.80$	$39.8 \pm 6.31$	$** 87.2 \pm 5.92$	22.66	$< 0.05$
5.71	0.0025		6	$86.8 \pm 4.36$	$86.6 \pm 4.67$	$100.0 \pm 0$	4.10	$< 0.01$
11.42	0.0050		6	$100.0 \pm 0$	$100.0 \pm 0$	$100.0 \pm 0$		

หมายเหตุ

\* หมายถึง การลดการหดตัวของกล้ามเนื้อเออลาย วัดหลังจากหยดน้ำสกัด  $R_E$  แล้ว 30 นาที .

\*\* จากค่า F และ p จะเห็นได้ว่า เมื่อให้น้ำสกัด  $R_E$  ร่วมกับ pancuronium ทำให้เกิดการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อเออลาย ได้มากกว่าที่เกิดจากน้ำสกัด  $R_E$  หรือ pancuronium อย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) .

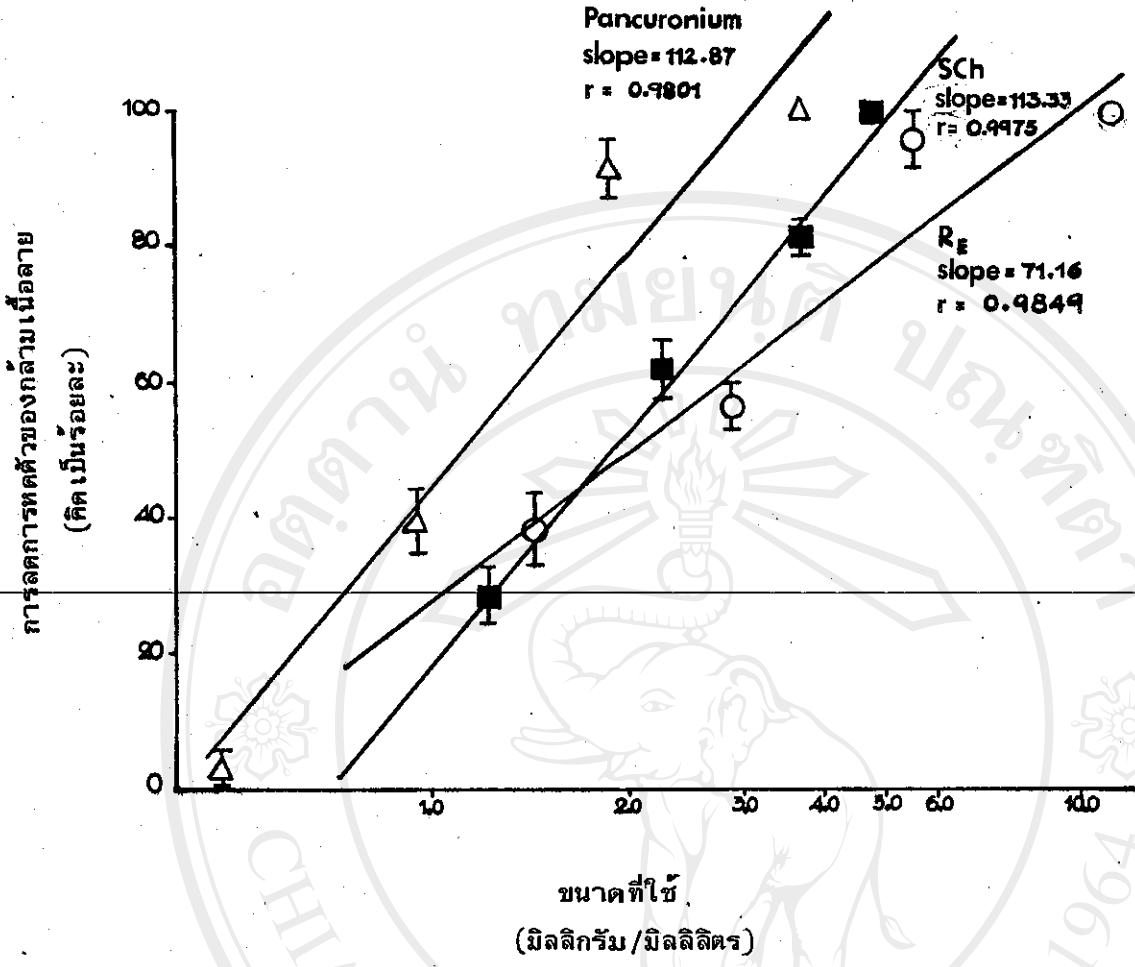
ตารางที่ 6. การเสริมฤทธิ์การลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย ซึ่งเกิดจากน้ำสกัดใบราตรีที่สกัดด้วย 95% Ethanol ( $R_E$ ) และ succinylcholine (SCh) โดยใช้ส่วนของเส้นประสามเหลี่ยม-กล้ามเนื้อกระบังลมของหนูขาว.

ขนาดที่ใช้ $R_E$ (มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร)	SCh (มิลลิโมล)	จำนวนครั้ง ที่ทำ การทดลอง	* การลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย คิดเป็นร้อยละ (ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าความผิดพลาดมาตรฐาน)			F	P
			$R_E$	SCh	$R_E + SCh$		
1.43	0.0031	6	39.4 $\pm$ 5.53	29.7 $\pm$ 3.06	**100.0 $\pm$ 0	199.19	<0.05
2.86	0.0062	6	57.1 $\pm$ 3.80	62.3 $\pm$ 4.96	**100.0 $\pm$ 0	42.06	<0.05
5.71	0.0094	6	88.8 $\pm$ 4.36	81.7 $\pm$ 1.57	**100.0 $\pm$ 0	11.90	<0.05
11.42	0.0125	6	100.0 $\pm$ 0	100.0 $\pm$ 0	100.0 $\pm$ 0		

หมายเหตุ

\* หมายถึง การลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย วัดหลังจากหยดน้ำสกัด  $R_E$  แล้ว 30 นาที-

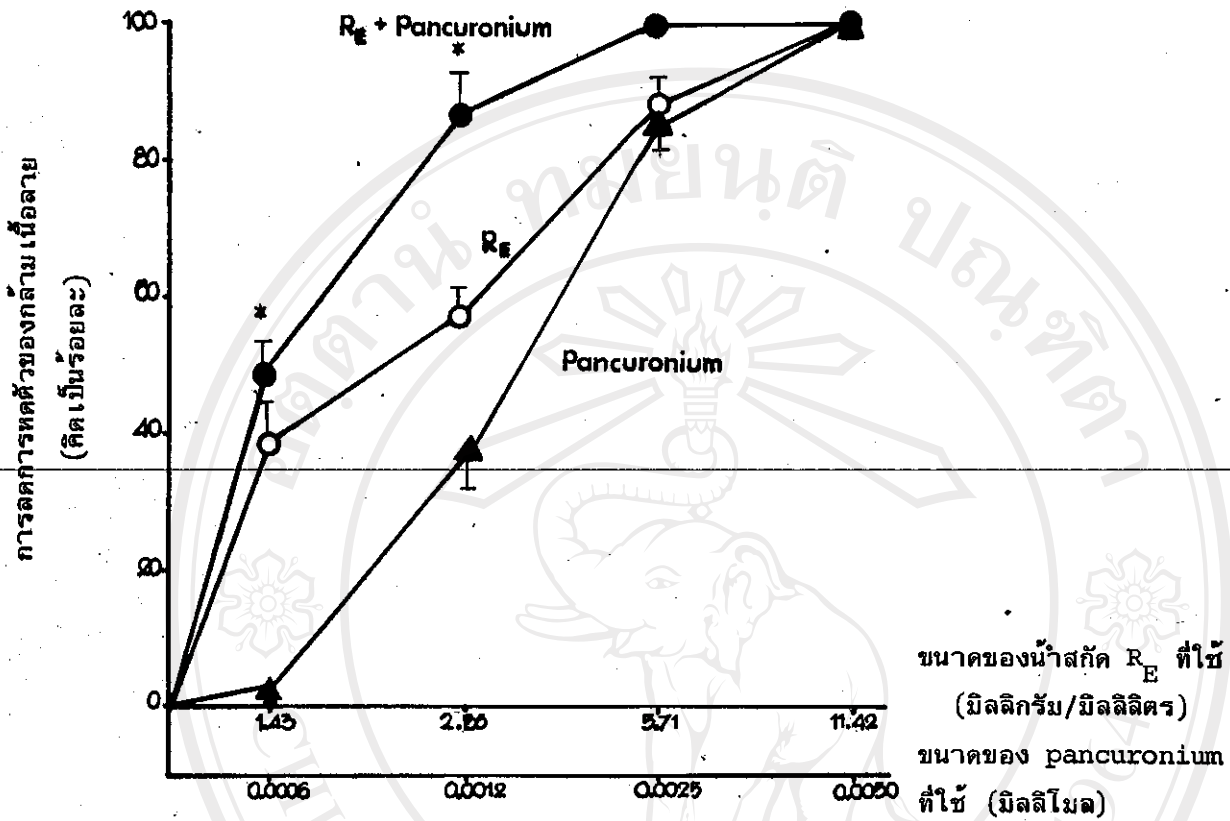
\*\* จากค่า F และ p จะเห็นได้ว่า เมื่อให้น้ำสกัด  $R_E$  ร่วมกับ SCh ทำให้เกิดการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายได้มากกว่าที่เกิดจากน้ำสกัด  $R_E$  หรือ SCh อย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ).



รูปที่ 18. การเปรียบเทียบ dose-response regression line ของการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย ซึ่งเกิดจากน้ำสกัดใบราตรีที่สกัดด้วย 95% Ethanol (RE), pancuronium และ succinylcholine (SCh) โดยใช้ส่วนของเส้นประสาทพรีนิค-กล้ามเนื้อกระบังลมของหนูขาว.

- น้ำสกัดใบราตรีที่สกัดด้วย 95% Ethanol (RE)
- succinylcholine (SCh)
- △—△ pancuronium

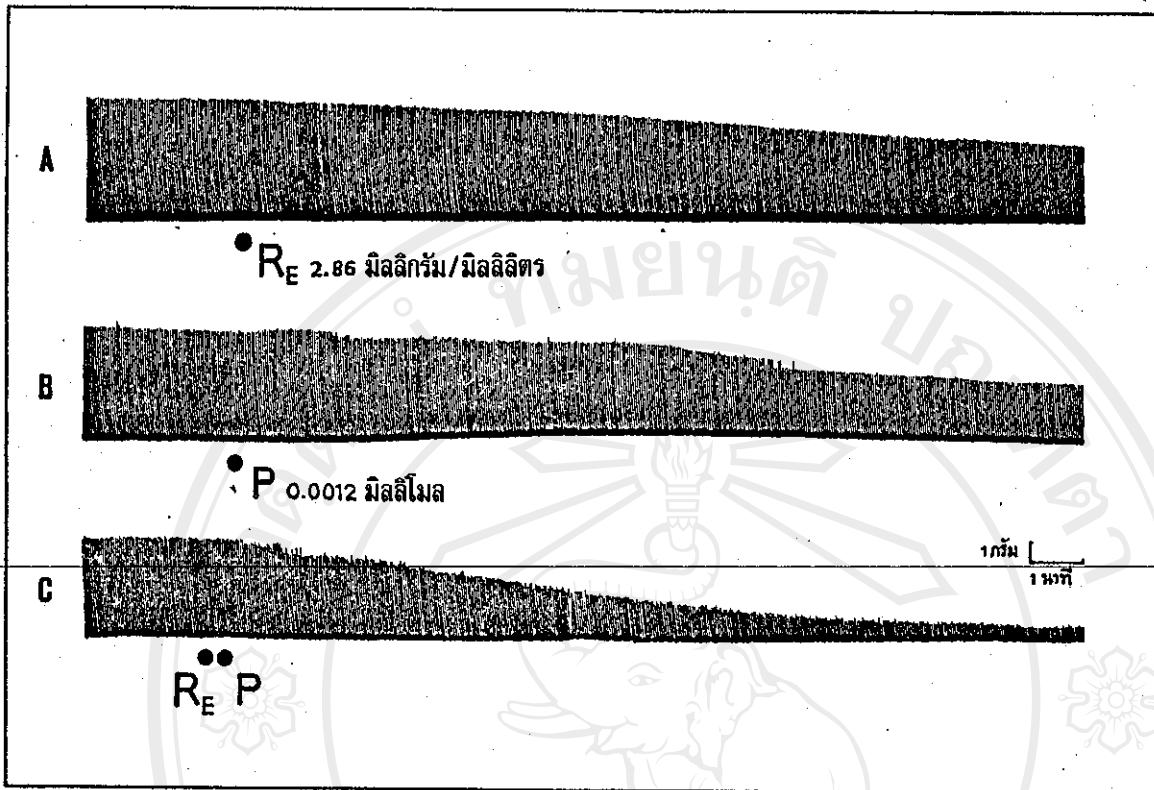
หมายเหตุ แต่ละจุดแสดงถึง ค่าเฉลี่ย ± ค่าความผิดพลาดมาตรฐานที่ได้จากการทดลอง 6 ครั้ง ค่า slope ของ regression line ของน้ำสกัด RE, SCh และ pancuronium มีค่าเท่ากับ 71.16, 113.33 และ 112.87 ตามลำดับ และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) ของน้ำสกัด RE, SCh และ pancuronium คือ 0.9849, 0.9975 และ 0.9801 ตามลำดับ.



รูปที่ 19. การเสริมฤทธิ์การลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย ซึ่งเกิดจากน้ำสกัดโบราณตรีที่สกัดด้วย 95% Ethanol ( $R_E$ ) และ pancuronium โดยใช้ส่วนของเส้นประสาทพรีนิค-กล้ามเนื้อกระบังลมของหนูขาว.

- น้ำสกัด  $R_E$
- ▲—▲ pancuronium
- น้ำสกัด  $R_E$  เมื่อให้ร่วมกับ pancuronium

\* น้ำสกัด  $R_E$  เมื่อให้ร่วมกับ pancuronium ทำให้เกิดการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายได้มากกว่าที่เกิดจากน้ำสกัด  $R_E$  หรือ pancuronium อย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ).



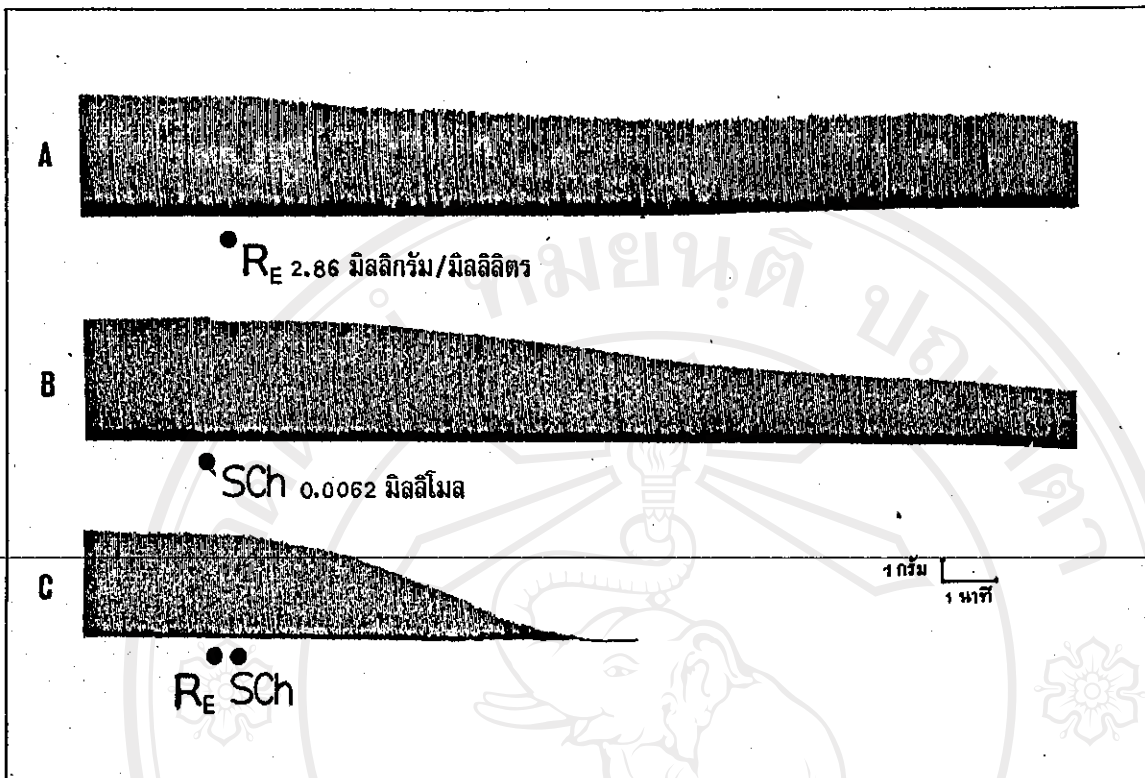
รูปที่ 20. แสดงการเสริมฤทธิ์การลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย ซึ่งเกิดจากน้ำสกัดโบราณที่สกัดด้วย 95% Ethanol ( $R_E$ ) และ pancuronium ( $P$ ) โดยใช้ส่วนของเส้นประสาทพรีนิค-กล้ามเนื้อกระบังลมของหนูขาว.

A  $R_E$  ในขนาด 2.86 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร ทำให้เกิดการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายได้เล็กน้อย.

B pancuronium ในขนาด 0.0012 มิลลิโมล ทำให้เกิดการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายได้.

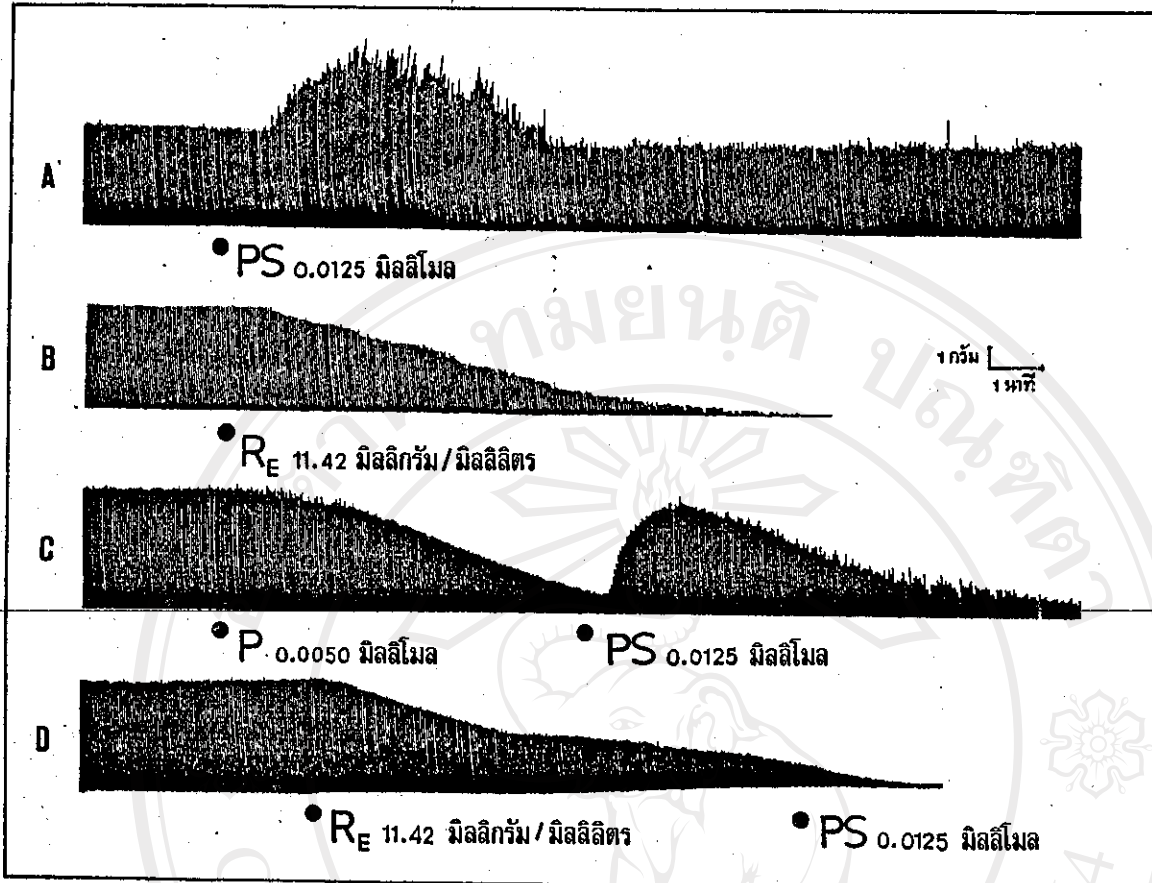
C เมื่อให้  $R_E$  ร่วมกับ pancuronium ทำให้เกิดการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายได้มากขึ้น.





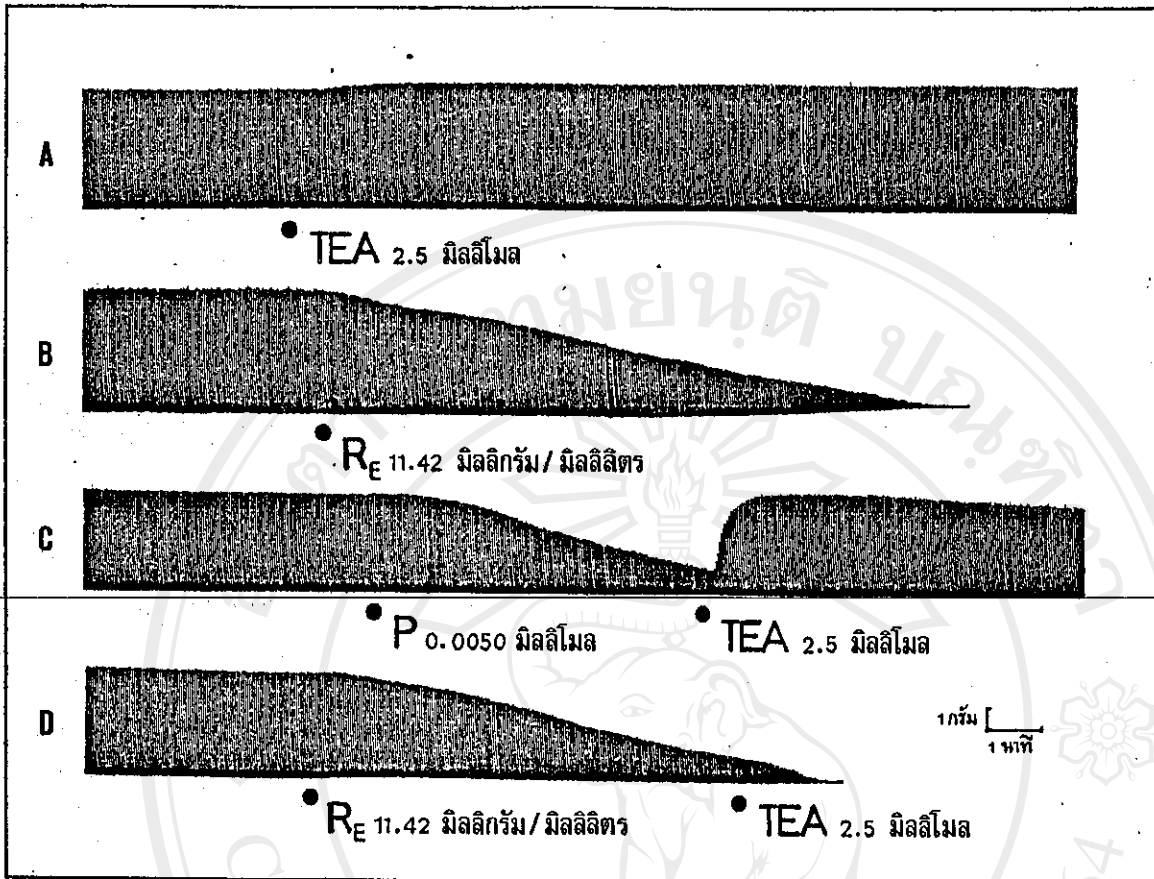
รูปที่ 21. แสดงการเสริมฤทธิ์การลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย ซึ่งเกิดจากน้ำสกัดใบราตรีที่สกัดด้วย 95% Ethanol ( $R_E$ ) และ succinylcholine (SCh) โดยใช้ส่วนของเส้นประสาทพรีนิค-กล้ามเนื้อกระบังลมของหนูขาว.

- A  $R_E$  ในขนาด 2.86 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร ทำให้เกิดการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายได้เล็กน้อย.
- B succinylcholine ในขนาด 0.0062 มิลลิโมล ทำให้เกิดการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายได้.
- C เมื่อให้  $R_E$  ร่วมกับ succinylcholine ทำให้เกิดการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายได้อย่างสมบูรณ์.



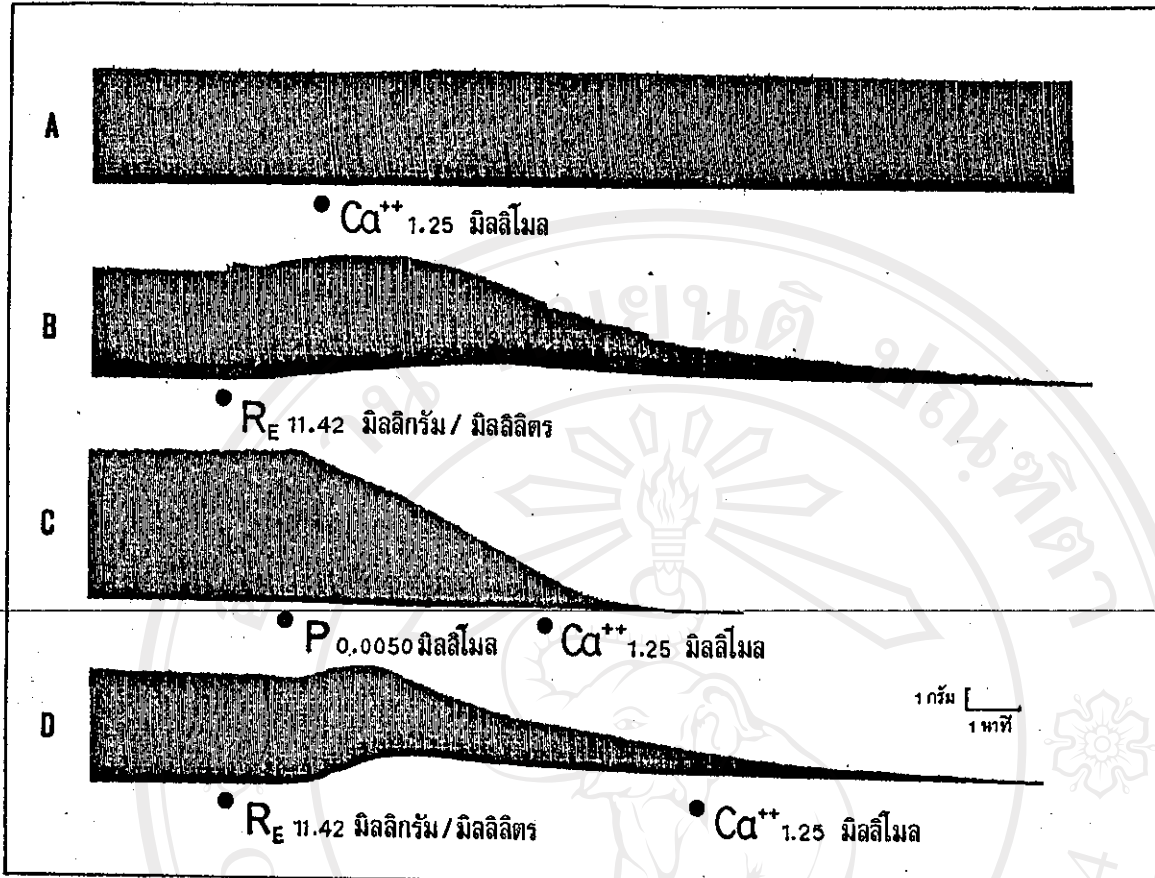
รูปที่ 22. แสดงการเปรียบเทียบผลของ physostigmine (PS) ในขนาด 0.0125 มิลลิโมลต่อ 80% ของการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย ซึ่งเกิดจาก pancuronium (P) และน้ำสกัดใบราตรีที่สกัดด้วย 95% Ethanol ( $R_E$ ) โดยใช้ส่วนของเส้นประสาทพรีนิค-กล้ามเนื้อกระบังลมของหนูขาว.

- A Physostigmine ในขนาด 0.0125 มิลลิโมล ทำให้เกิดการเพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อลายได้.
- B  $R_E$  ในขนาด 11.42 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร ทำให้เกิดการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายได้อย่างสมบูรณ์.
- C Physostigmine ในขนาด 0.0125 มิลลิโมล สามารถต้านฤทธิ์การลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายที่เกิดจาก pancuronium ได้.
- D Physostigmine ในขนาด 0.0125 มิลลิโมล ไม่สามารถต้านฤทธิ์การลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายที่เกิดจาก  $R_E$ .



รูปที่ 23. แสดงการเปรียบเทียบผลของ tetraethylammonium (TEA) ต่อ 80% ของการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย ซึ่งเกิดจาก pancuronium (P) และน้ำสกัดใบราตรีที่สกัดด้วย 95% Ethanol (R<sub>E</sub>) โดยใช้ส่วนของเส้นประสาทพรีนิค-กล้ามเนื้อกระบังลมของหนูขาว.

- A Tetraethylammonium ในขนาด 2.5 มิลลิโมล ทำให้เกิดการเพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อลายได้เล็กน้อย.
- B R<sub>E</sub> ในขนาด 11.42 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร ทำให้เกิดการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายได้อย่างสมบูรณ์.
- C Tetraethylammonium ในขนาด 2.5 มิลลิโมล สามารถต้านฤทธิ์การลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายที่เกิดจาก pancuronium ได้.
- D Tetraethylammonium ในขนาด 2.5 มิลลิโมล ไม่สามารถต้านฤทธิ์การลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายที่เกิดจาก R<sub>E</sub>.

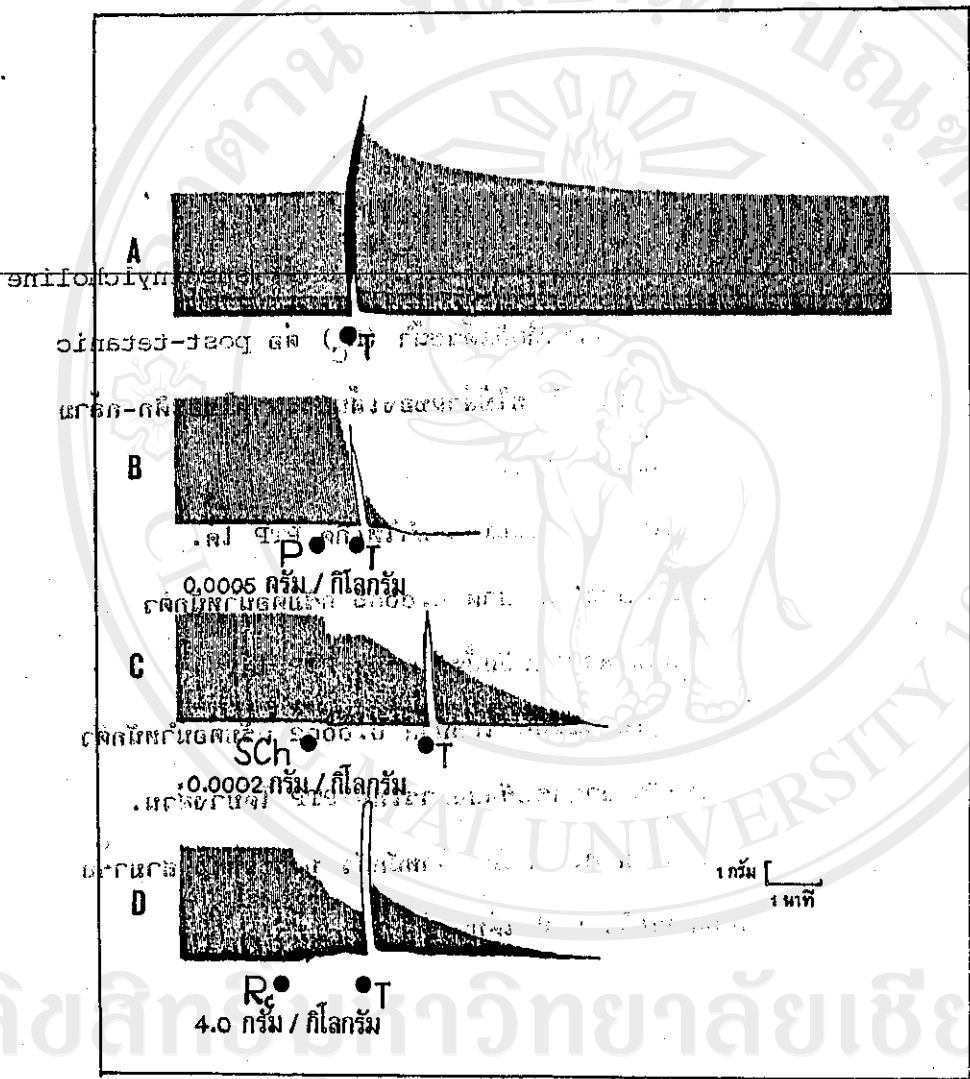


รูปที่ 24. แสดงการเปรียบเทียบผลของ  $\text{Ca}^{++}$  ต่อ 80% ของการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อละลาย ซึ่งเกิดจาก pancuronium (P) และน้ำสกัดใบราตรีที่สกัดด้วย 95% Ethanol ( $R_E$ ) โดยใช้ส่วนของเส้นประสาทพรีนิค-กล้ามเนื้อกระบังลมของหนูขาว.

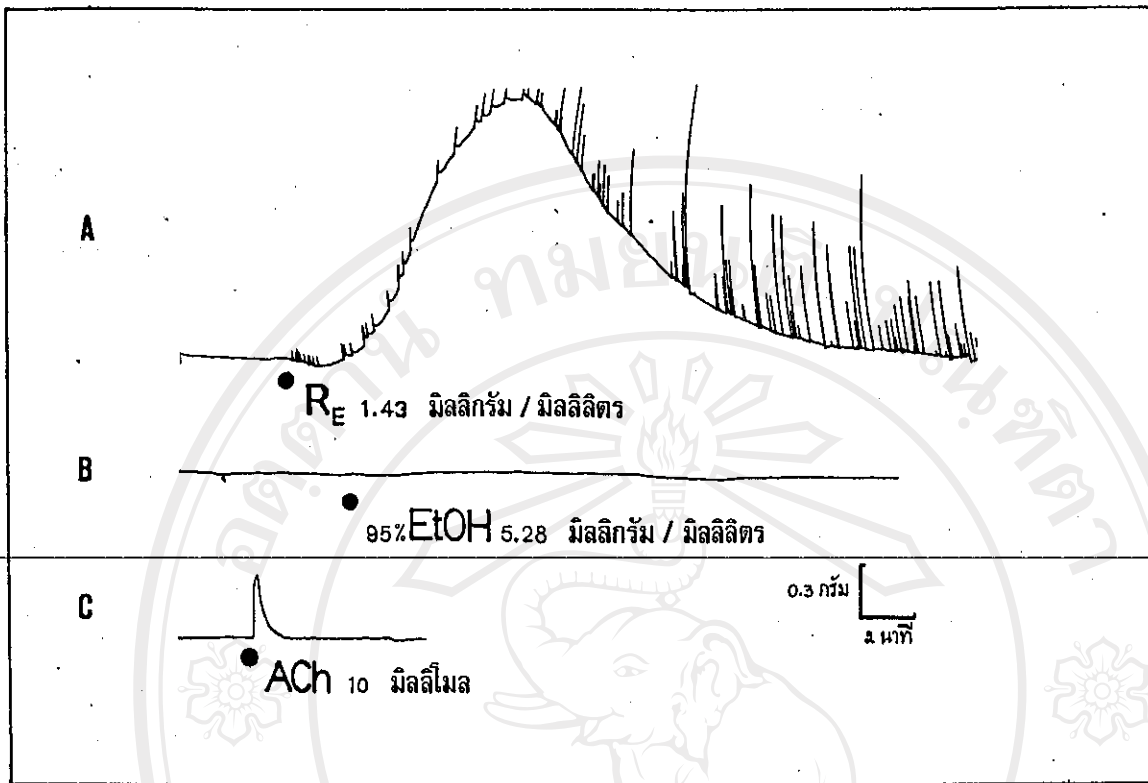
- A  $\text{Ca}^{++}$  ในขนาด 1.25 มิลลิโมล ไม่มีผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อละลาย.
- B  $R_E$  ในขนาด 11.42 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร ทำให้เกิดการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อละลายได้อย่างสมบูรณ์.
- C  $\text{Ca}^{++}$  ในขนาด 1.25 มิลลิโมล ไม่สามารถต้านฤทธิ์การลดการหดตัวของกล้ามเนื้อละลายที่เกิดจาก pancuronium.
- D  $\text{Ca}^{++}$  ในขนาด 1.25 มิลลิโมล ไม่สามารถต้านฤทธิ์การลดการหดตัวของกล้ามเนื้อละลายที่เกิดจาก  $R_E$ .

รูปที่ 25. แสดงการเปรียบเทียบผลของ pancuronium (P), succinylcholine (SCH) และน้ำสกัดใบราตรีที่สกัดด้วยน้ำ ( $R_C$ ) ต่อ post-tetanic potentiation (PTP) โดยใช้ส่วนของเส้นประสาทไขสันหลัง-กล้ามเนื้อแกสตรอกนีเมียสในหนูขาว.

- A Tetanic stimulation ทำให้เกิด PTP ได้. 8
- B Pancuronium ในขนาด 0.0005 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม สามารถยับยั้งการเกิด PTP ได้. 9
- C Succinylcholine ในขนาด 0.0002 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม สามารถยับยั้งการเกิด PTP ได้บางส่วน. 10
- D  $R_C$  ในขนาด 4.0 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม สามารถยับยั้งการเกิด PTP ได้บางส่วน. 11

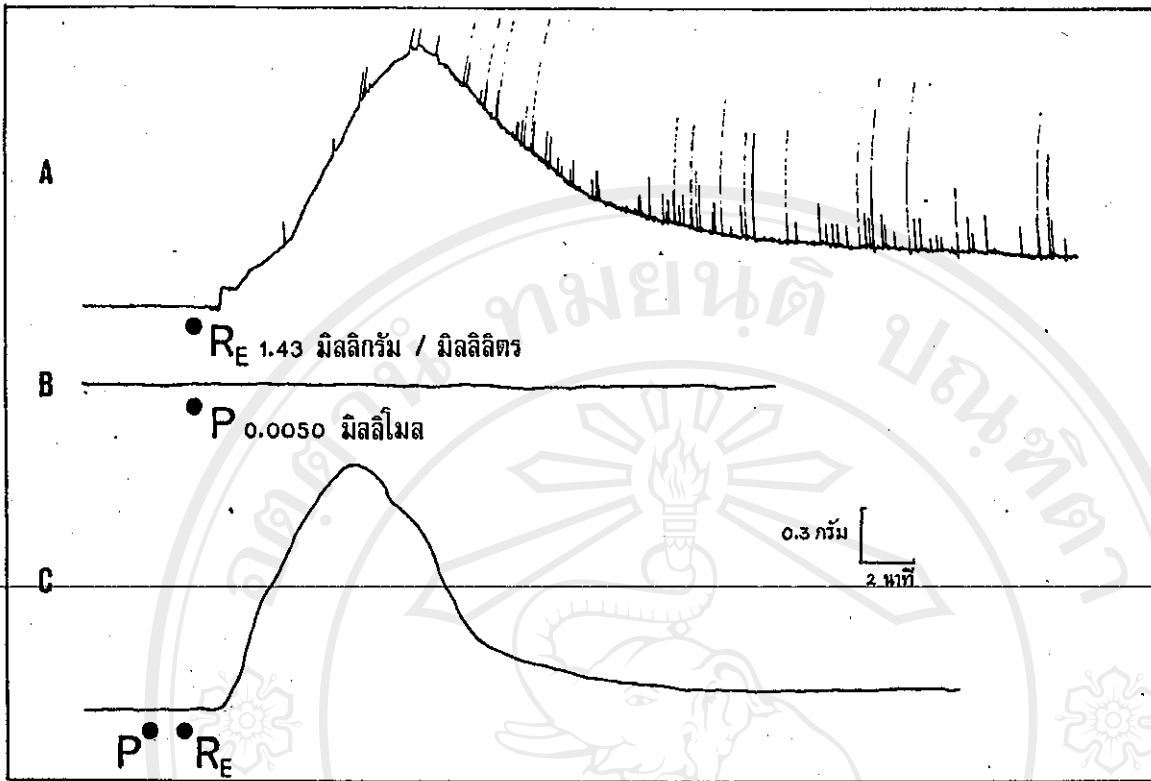


ลิขสิทธิ์ © มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright © by Chiang Mai University  
All rights reserved



รูปที่ 26. แสดงการเปรียบเทียบการหดตัว (contraction) ของกล้ามเนื้อลาย ซึ่งเกิดจากน้ำสกัดใบราตรีที่สกัดด้วย 95% Ethanol ( $R_E$ ) และ acetylcholine (ACh) โดยใช้ส่วนของเส้นประสาทพรีนิค-กล้ามเนื้อกระบังลมของหนูขาว.

- A  $R_E$  ในขนาด 1.43 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร ทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายได้มากและเป็นเวลานาน นอกจากนี้ยังทำให้เกิดอาการพริ้วของกล้ามเนื้อลาย (fasciculation).
- B 95% Ethanol (คอนโทล) ในขนาด 5.28 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร ไม่มีผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย.
- C Acetylcholine ในขนาด 10 มิลลิโมล ทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายที่เรียกว่า acetylcholine contraction.



รูปที่ 27. แสดงผลของ pancuronium (P) ต่อการหดตัว (contraction) ของกล้ามเนื้อลาย ซึ่งเกิดจากน้ำสกัดใบราตรีที่สกัดด้วย 95% Ethanol (R<sub>E</sub>) โดยใช้ส่วนของเส้นประสาทพรีนิก-กล้ามเนื้อกระบังลมของหนูขาว.

A R<sub>E</sub> ในขนาด 1.43 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร ทำให้เกิดการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายได้มากและเป็นเวลานาน นอกจากนี้ยังทำให้เกิดอาการพริ้วของกล้ามเนื้อลาย (fasciculation).

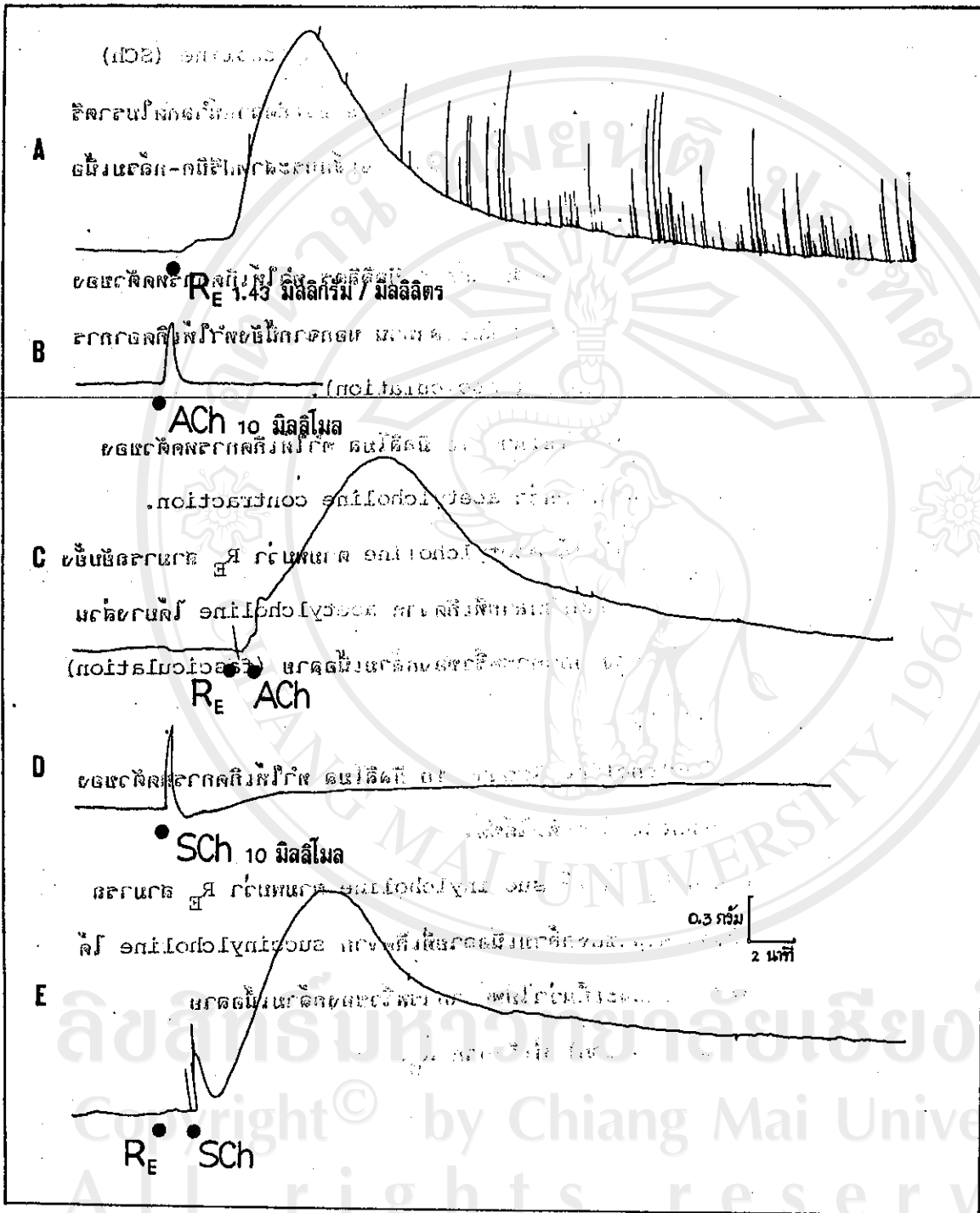
B Pancuronium ในขนาด 0.0050 มิลลิโมล ไม่มีผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย.

C เมื่อหยด R<sub>E</sub> ตามหลัง pancuronium พบว่า pancuronium สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อลายที่เกิดจาก R<sub>E</sub> ได้บางส่วนและสามารถยับยั้งอาการพริ้วของกล้ามเนื้อลาย (fasciculation) ที่เกิดจาก R<sub>E</sub> ได้.



รูปที่ 28. แสดงผลของ acetylcholine (ACh) และ succinylcholine (SCh) ต่อการหดตัว (contraction) ของกล้ามเนื้อลาย ซึ่งเกิดจากน้ำสกัดใบราตรี ที่สกัดด้วย 95% Ethanol ( $R_E$ ) โดยใช้ส่วนของเส้นประสาทพรีนิค-กล้ามเนื้อ กระบังลมของหนูขาว.

- A  $R_E$  ในขนาด 1.43 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร ทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายได้มากและเป็นเวลานาน นอกจากนี้ยังทำให้เกิดอาการพริ้วของกล้ามเนื้อลาย (fasciculation).
- B Acetylcholine ในขนาด 10 มิลลิโมล ทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย ที่เรียกว่า acetylcholine contraction.
- C เมื่อหยุด  $R_E$  แล้วให้ acetylcholine ตามพบว่า  $R_E$  สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อลายที่เกิดจาก acetylcholine ได้บางส่วน และจะเห็นว่าไม่พบอาการพริ้วของกล้ามเนื้อลาย (fasciculation) ที่เกิดจาก  $R_E$ .
- D Succinylcholine ในขนาด 10 มิลลิโมล ทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายอย่างเห็นได้ชัด.
- E เมื่อหยุด  $R_E$  แล้วให้ succinylcholine ตามพบว่า  $R_E$  สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อลายที่เกิดจาก succinylcholine ได้บางส่วน และจะเห็นว่าไม่พบอาการพริ้วของกล้ามเนื้อลาย (fasciculation) ที่เกิดจาก  $R_E$ .



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
 Copyright © by Chiang Mai University  
 All rights reserved

ตอนที่ 3. การศึกษาผลของน้ำสกัดใบราตรีต่อเส้นประสาทไซอะติก (sciatic nerve) และกล้ามเนื้อกระบังลม (diaphragm) ของหนูขาว.

จากการทดลองข้างต้นจะเห็นได้ว่าน้ำสกัดใบราตรีออกฤทธิ์ที่บริเวณปลายประสาทและกล้ามเนื้อลาย (neuromuscular synapse) อย่างเห็นได้ชัด อย่างไรก็ตามในการศึกษานี้สมควรที่จะทดสอบฤทธิ์ของน้ำสกัดใบราตรีนี้ว่าอาจมีผลโดยตรงต่อเส้นประสาทหรือกล้ามเนื้อลายด้วยหรือไม่ จึงทำการทดลองโดยใช้ส่วนของเส้นประสาทไซอะติกของหนูขาว เพื่อศึกษาผลโดยตรงที่มีต่อเส้นประสาทและใช้ส่วนของกล้ามเนื้อกระบังลมเพื่อศึกษาผลโดยตรงต่อกล้ามเนื้อลายนี้.

3.1 ผลของน้ำสกัดใบราตรีที่สกัดด้วยน้ำ ( $R_C$ ) ต่อเส้นประสาทไซอะติกของหนูขาว.

เมื่อหยดน้ำสกัด  $R_C$  ในขนาด 1.43 และ 11.42 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร ลงใน tissue chamber ที่มีส่วนของเส้นประสาทไซอะติกของหนูขาวและบันทึกความสูง (amplitude) ของ action potentials ที่เกิดขึ้นโดยใช้ Cathode Ray Oscilloscope เมื่อวัดความสูงของ action potentials ที่เปลี่ยนแปลงไป พบว่าน้ำสกัด  $R_C$  ในขนาด 1.43 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร ทำให้เกิดการเพิ่มความสูงของ action potentials คิดเป็นร้อยละ  $3.8 \pm 1.60$ ,  $6.9 \pm 2.02$  และ  $5.0 \pm 1.95$  หลังจากหยดน้ำสกัด  $R_C$  แล้ว 5, 10 และ 15 นาที ตามลำดับ (ตารางที่ 7.) หลังจากนั้นมีการลดความสูงของ action potentials ตามมาคิดเป็นร้อยละ  $8.9 \pm 9.03$  และ  $42.6 \pm 15.01$  หลังจากหยดน้ำสกัด  $R_C$  แล้ว 20 และ 30 นาที ตามลำดับ น้ำสกัด  $R_C$  ในขนาด 11.42 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร ทำให้เกิดการลดความสูงของ action potentials คิดเป็นร้อยละ  $26.2 \pm 3.57$ ,  $40.8 \pm 2.69$ ,  $60.8 \pm 4.57$ ,  $76.5 \pm 5.27$  และ  $100.0 \pm 0$  หลังจากหยดน้ำสกัด  $R_C$  แล้ว 5, 10, 15, 20 และ 30 นาที ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 7 เช่นเดียวกัน นอกจากนี้ยังได้แสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาและความสูงของ

action potentials ที่เปลี่ยนแปลงไปซึ่งเกิดจากน้ำสกัด  $R_C$  ดังแสดงในรูปที่ 29. เมื่อเปรียบเทียบความสูงของ action potentials ที่เกิดจากน้ำสกัด  $R_C$  ในขนาด 1.43 และ 11.42 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร กับคอนโทรล จะเห็นว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) จะเห็นได้ว่าน้ำสกัด  $R_C$  ในขนาดต่ำสามารถกระตุ้นการทำงานของเส้นประสาทได้บ้างเล็กน้อยในระยะแรก แต่น้ำสกัด  $R_C$  ในขนาดสูงนั้นทำให้กีดการทำงานของเส้นประสาทได้ขึ้นอยู่กักระยะเวลาที่ได้รับน้ำสกัดเข้าไป.

### 3.2 ผลของน้ำสกัดใบราตรีที่สกัดด้วย 95% Ethanol ( $R_E$ ) ต่อกล้ามเนื้อกระบังลมของหนูขาว.

เมื่อหยดน้ำสกัด  $R_E$  ลงใน tissue chamber ที่มีส่วนของกล้ามเนื้อกระบังลมของหนูขาวซึ่งถูกสกัดกั้นการนำส่ง impulse อย่างสมบูรณ์โดยใช้ pancuronium (curarized preparations) และบันทึกการหดตัว (directly-evoked twitch) ของกล้ามเนื้อลายนี้ พบว่าน้ำสกัด  $R_E$  ในขนาด 1.43 และ 11.42 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร สามารถลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายได้คิดเป็นร้อยละ  $34.2 \pm 3.50$  และ  $85.5 \pm 3.68$  ตามลำดับ (ตารางที่ 8) แสดงว่าน้ำสกัด  $R_E$  อาจมีผลโดยตรงต่อกล้ามเนื้อลายได้บางส่วน เมื่อเปรียบเทียบผลของน้ำสกัด  $R_E$  ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อลายชนิด neurally-evoked twitch และ directly-evoked twitch แล้ว จะเห็นได้ว่าน้ำสกัด  $R_E$  ในขนาด 1.43 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร ทำให้ลดการหดตัวได้เช่นเดียวกันโดยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) ดังแสดงในตารางที่ 8 และรูปที่ 30. จากผลการทดลองนี้แสดงว่าน้ำสกัดใบราตรีมีผลต่อบริเวณปลายประสาทและกล้ามเนื้อลาย และนอกจากนี้ยังมีผลต่อกล้ามเนื้อกระบังลมอีกด้วย น้ำสกัด  $R_E$  ในขนาด 11.42 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร สามารถลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายชนิด neurally-

evoked twitch ได้มากกว่าการหดตัวชนิด directly-evoked twitch อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ดังแสดงในตารางที่ 8, รูปที่ 30. และตัวอย่างการบันทึกผลการเปรียบเทียบนี้ได้แสดงในรูปที่ 31. แสดงให้เห็นว่าน้ำสกัด  $R_E$  ในขนาด 11.42 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร อาจมีผลต่อบริเวณปลายประสาทและกล้ามเนื้อได้อย่างมากหรือน้ำสกัด  $R_E$  ในขนาด 1.43 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร แต่อย่างไรก็ตามควรคำนึงถึงการออกฤทธิ์โดยตรงของน้ำสกัดนี้ต่อกล้ามเนื้อกระบังลมด้วย.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved

ตารางที่ 7. ผลของน้ำสกัดใบราตรีที่สกัดด้วยน้ำ ( $R_C$ ) ในขนาด 1.43 และ 11.42 มิลลิกรัม ต่อ 1 มิลลิตร ต่อความสูง (amplitude) ของ action potentials ในเส้นประสาทไข่อะดิกของหนูขาว.

เวลา (นาที)	จำนวนครั้ง ที่ทำการทดลอง	ความสูงของ action potentials ที่เปลี่ยนแปลงไป คิดเป็นร้อยละ (ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าความผิดพลาดมาตรฐาน)			t	p
		น้ำยา tyrode (คอนโทรล)	$R_C$ (มิลลิกรัม/มิลลิตร)			
			1.43	11.42		
0	8	0	0	0		
5	8	0	+3.8 $\pm$ 1.60*	-26.2 $\pm$ 3.57*	2.39, 7.34	<0.05
10	8	-3.9 $\pm$ 1.78	+6.9 $\pm$ 2.02*	-40.8 $\pm$ 2.69*	2.66, 14.39	<0.05
15	8	-5.4 $\pm$ 2.55	+5.0 $\pm$ 1.95*	-60.8 $\pm$ 4.57*	4.23, 11.25	<0.05
20	8	-9.0 $\pm$ 4.21	-8.9 $\pm$ 9.03	-76.5 $\pm$ 5.27*	0.25, 11.68	<0.05
30	8	-14.1 $\pm$ 5.92	-42.6 $\pm$ 15.01*	-100.0 $\pm$ 0*	2.39, 14.49	<0.05

๘๘

หมายเหตุ (-) หมายถึง การลดความสูงของ action potentials.

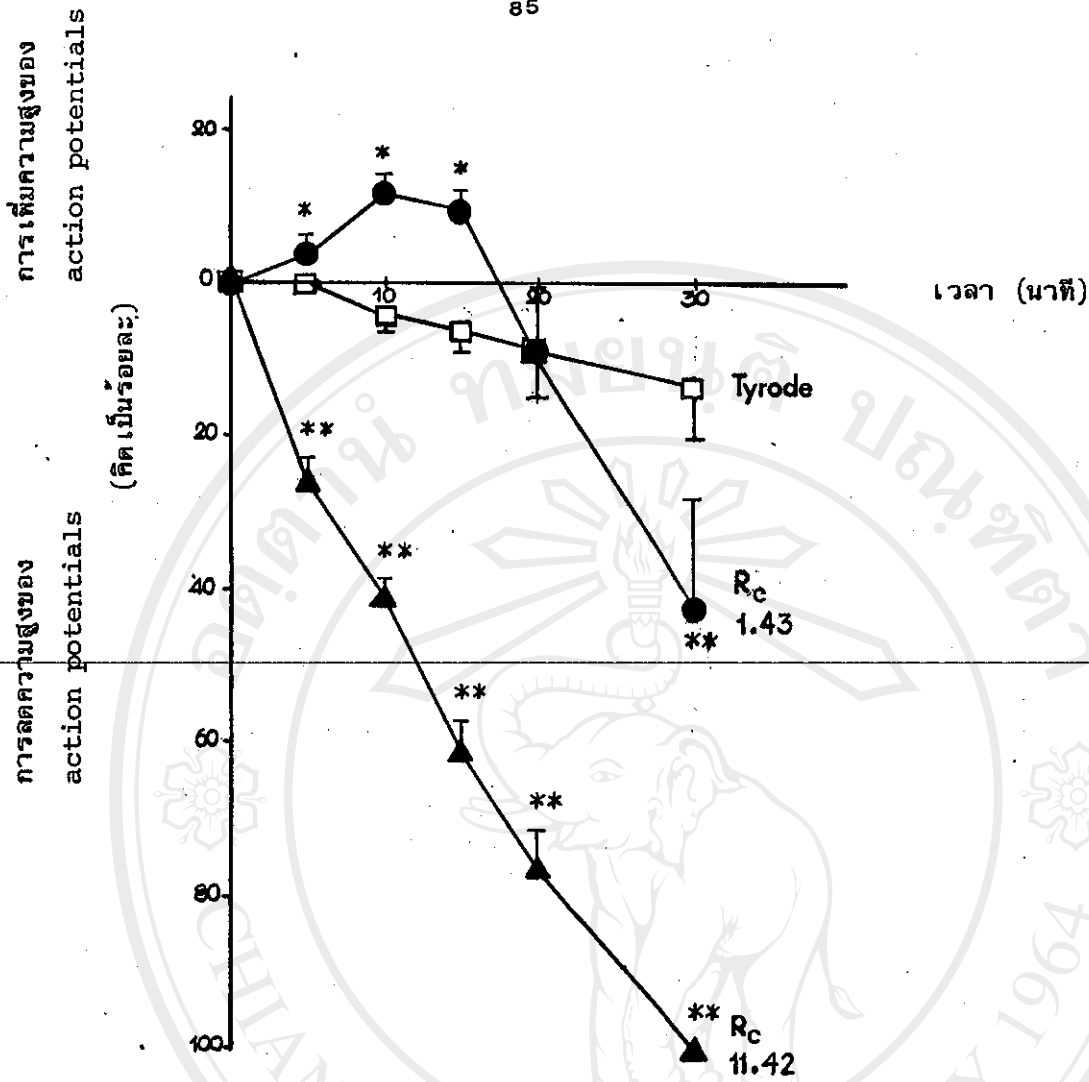
(+) หมายถึง การเพิ่มความสูงของ action potentials.

\* จากค่า t และ p จะเห็นได้ว่าน้ำสกัด  $R_C$  มีผลโดยตรงต่อเส้นประสาทไข่อะดิกโดยการนำส่งกระแสไฟฟ้าประสาท (nerve impulse) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ).

ตารางที่ 8. การเปรียบเทียบของน้ำสกัดใบราตรีที่สกัดด้วย 95% Ethanol ( $R_E$ ) ในขนาด 1.43 และ 11.42 มิลลิกรัม ต่อ 1 มิลลิลิตร ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อหลายชนิด neurally-evoked twitch และ directly-evoked twitch โดยเป็นส่วนหนึ่งของเส้นประสาทพรีนิค-กล้ามเนื้อกระบังลมของหนูขาว.

ครั้งที่ทำการทดลอง	* การลดการหดตัวของกล้ามเนื้อหลาย (คิดเป็นร้อยละ)			
	$R_E$ ในขนาด 1.43 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร	neurally-evoked twitch		$R_E$ ในขนาด 11.42 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร
1	26.0	directly-evoked twitch	neurally-evoked twitch	directly-evoked twitch
2	42.3	45.4	100.0	94.0
3	52.1	33.3	100.0	96.0
4	41.4	23.5	100.0	84.4
5	39.6	38.9	100.0	87.5
6	34.8	25.0	100.0	76.5
ค่าเฉลี่ย	$39.4 \pm 5.53$	$34.2 \pm 3.50$	$100.0 \pm 0$	$85.5 \pm 3.68$
	$t = 0.08$ $p > 0.05$			$t = 3.95$ $p < 0.05$

หมายเหตุ \* หมายถึง การลดการหดตัวของกล้ามเนื้อหลาย วัตหลังจากหยดน้ำสกัด  $R_E$  แล้ว 30 นาที. จากค่า t และ p จะเห็นได้ว่า น้ำสกัด  $R_E$  ในขนาด 1.43 มิลลิกรัม ต่อ 1 มิลลิลิตร มีผลลดการหดตัวของกล้ามเนื้อหลายชนิด neurally-evoked twitch และ directly-evoked twitch ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) แต่น้ำสกัด  $R_E$  ในขนาด 11.42 มิลลิกรัม ต่อ 1 มิลลิลิตร มีผลลดการหดตัวของกล้ามเนื้อหลายชนิด neurally-evoked twitch มากกว่าชนิด directly-evoked twitch อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ).



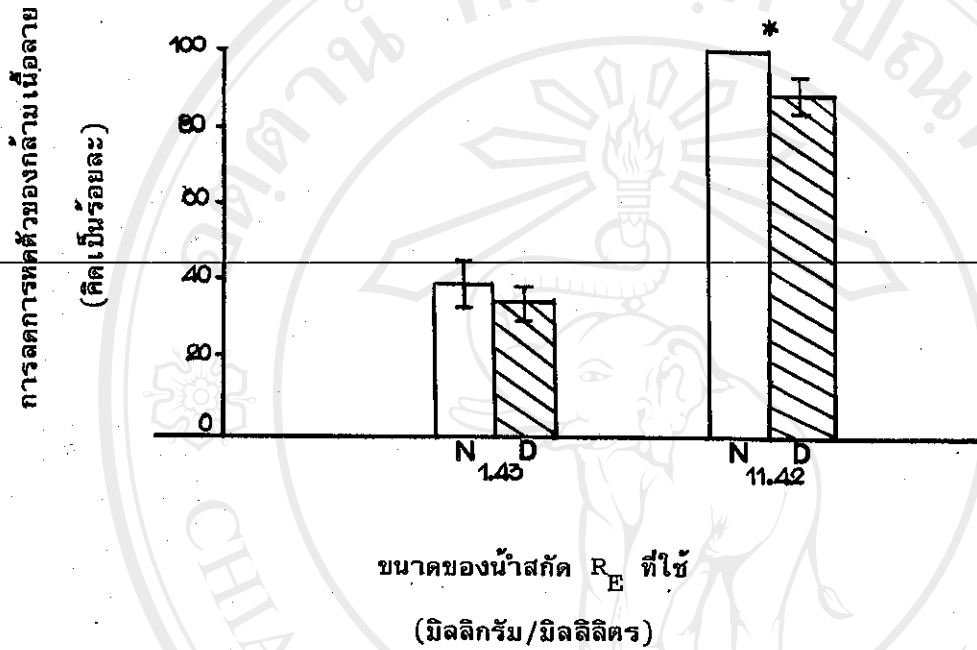
รูปที่ 29. ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาและความสูง (amplitude) ของ action potentials ที่เปลี่ยนแปลงไป (time-action relationship)

ซึ่งเกิดจากน้ำยา Tyrode (คอนโทรล) และน้ำสกัดใบชาตรีที่สกัดด้วยน้ำ ( $R_C$ ) ในขนาด 1.43 และ 11.42 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร ตามลำดับ โดยใช้ส่วนของเส้นประสาทไซอะติกของหนูขาว.

หมายเหตุ \* หมายถึง น้ำสกัด  $R_C$  เพิ่มความสูงของ action potentials อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ).

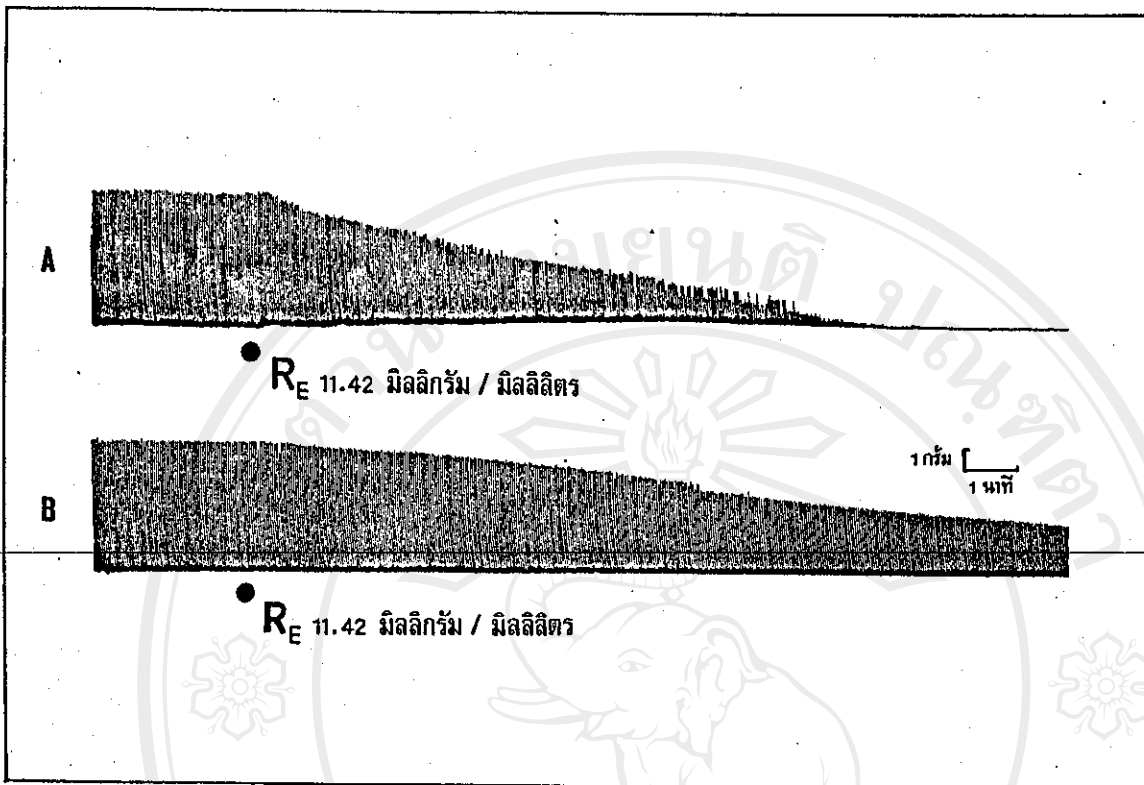
\*\* หมายถึง น้ำสกัด  $R_C$  ลดความสูงของ action potentials อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ).





รูปที่ 30. ฮิสโตแกรมแสดงการเปรียบเทียบผลของน้ำสกัดใบราตรีที่สกัดด้วย 95% Ethanol ( $R_E$ ) ในขนาด 1.43 และ 11.42 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อลายชนิด neurally-evoked twitch (N) และ directly-evoked twitch (D) โดยใช้ส่วนของเส้นประสาท ฟรีนิก-กล้ามเนื้อกระบังลมของหนูขาว.

หมายเหตุ \* หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ระหว่าง N และ D ( $p < 0.05$ ).



รูปที่ ๓1. แสดงการเปรียบเทียบผลของน้ำสกัดใบราตรีที่สกัดด้วย 95% Ethanol ( $R_E$ ) ในขนาด 11.42 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อลายชนิด neurally - evoked twitch และ directly-evoked twitch โดยใช้ส่วนของเส้นประสาท ฟรีนิก-กล้ามเนื้อกระบังลมของหนูขาว.

A  $R_E$  ในขนาด 11.42 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร ทำให้เกิดการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายชนิด neurally-evoked twitch อย่างเห็นได้ชัด.

B  $R_E$  ในขนาด 11.42 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร ทำให้เกิดการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายชนิด directly-evoked twitch ได้น้อยกว่า.

ตอนที่ 4. การศึกษาอาการพิษและการหา LD<sub>50</sub> ของน้ำสกัดใบราตรีในหนูขาว.

ในการศึกษาอาการพิษของน้ำสกัดใบราตรีนั้น เมื่อให้น้ำสกัด R<sub>C</sub> ในขนาด 0.2 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม โดยให้สัตว์ทดลองกินเข้าไปติดต่อกันทุกวันเป็น 8 วัน จากการสังเกตอาการที่เกิดขึ้นในสัตว์ทดลองที่ได้รับน้ำสกัดนี้ พบว่ามีอาการขนลุก ขาไม่มีแรง หายใจช้าลง ในที่สุดสัตว์ทดลองบางตัวจะเสียชีวิตภายในระยะเวลา 2-8 วัน แสดงว่าน้ำสกัด R<sub>C</sub> อาจทำให้เกิดอาการพิษขึ้นได้ (อัมพวัน, ยังไม่ได้ตีพิมพ์).

ในการศึกษาอาการพิษอย่างเฉียบพลัน (acute toxicity) ของน้ำสกัด R<sub>C</sub> ทำได้โดยฉีดน้ำสกัด R<sub>C</sub> ในขนาด 1.2, 1.8, 2.4, 3.6 และ 4.8 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เข้าทางช่องท้องของหนูขาว จากการสังเกตอาการภายในระยะเวลา 6 ชั่วโมงหลังจากได้รับน้ำสกัด R<sub>C</sub> จะเห็นได้ว่าหนูขาวทุกตัวมีอาการต่าง ๆ เช่น อาการขนลุก ตัวเกร็ง ขาหลังเกร็งเข้าหาตัว ต่อมาจะซึม ขาไม่มีแรง กล้ามเนื้ออ่อนเปลี้ย หายใจช้า สัตว์ทดลองบางตัวเสียชีวิตเนื่องจากหยุดหายใจภายใน 24 ชั่วโมงหลังจากได้รับน้ำสกัด R<sub>C</sub> จากผลการทดลองนี้นำไปหาค่า LD<sub>50</sub> โดยวิธีซึ่งดัดแปลงมาจากวิธีของ Litchfield และ Wilcoxon (1949) ได้ค่า LD<sub>50</sub> ของน้ำสกัด R<sub>C</sub> เท่ากับ 2.65 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ดังแสดงรายละเอียดในตารางที่ 9 และรูปที่ 32.

ตารางที่ 9. แสดงการคำนวณหา  $LD_{50}$  ของน้ำสกัดใบราตรีที่สกัดด้วยน้ำ ( $R_C$ ) เมื่อฉีดเข้าทางช่องท้อง (intraperitoneal injection) ของหนูขาว.

ขนาดที่ใช้ (กรัม/กิโลกรัม)	D/T	Observed % death	Expected % death*	O-E	** (Chi) <sup>2</sup>
1.2	0/10	0(0.3) <sup>***</sup>	0.09	0.19	0.0040
1.8	1/10	10	12	2.0	0.0028
2.4	4/10	40	38	2.0	0.0012
3.6	8/10	80	82	2.0	0.0020
4.8	10/10	100(98.7) <sup>***</sup>	96	2.7	0.0125

รวม 0.0225

$$(Chi)^2 = 0.0225 \times 10$$

$$= 0.225$$

จำนวนสัตว์ทดลอง ทั้งหมด 50 ตัว, ขนาดของน้ำสกัดใบราตรีที่ใช้ =  $k = 5$ .

จำนวนสัตว์ทดลอง / จำนวนของขนาดที่ใช้ =  $50/5 = 10$ ,  $(Chi)^2 = 0.0225 \times 10 = 0.225$ .

ชั้นแห่งความเป็นอิสระ (degree of freedom) =  $n = k-2 = 3$ .

$(Chi)^2$  จากตารางที่ 2\*\* สำหรับ  $n$  ของ 3 = 7.82, 0.225 น้อยกว่า 7.82

ดังนั้นข้อมูลนี้จึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ.

จาก Linear dose-response curve, รูปที่ 32.

$LD_{84} = 3.70$  กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม.

$LD_{50} = 2.65$  กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม.

$LD_{16} = 1.90$  กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม.

$$\text{slope function} = S; S = \frac{LD_{84}/LD_{50} + LD_{50}/LD_{16}}{2}$$

$$= \frac{1.396 + 1.395}{2}$$

$$= 1.197$$

$N'$  เป็นผลรวมของจำนวนสัตว์ทดลองระหว่าง 16% และ 84% Expected effects.

จากตารางข้างบน ,  $N' = 20$

$$\begin{aligned} fLD_{50} &= (S) 2.77\sqrt{N'} \\ &= (1.197) 2.77\sqrt{20} \\ &= 1.12 \text{ (จาก Nomograph No.2)**} \end{aligned}$$

$$LD_{50} \times fLD_{50} = 2.65 \times 1.12 = 2.97 \text{ กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม.}$$

$$LD_{50} \times fLD_{50} = 2.65 \div 1.12 = 2.37 \text{ กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม.}$$

$$LD_{50} \text{ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95\%} = 2.65 (2.37 - 2.97) \text{ กรัมต่อน้ำหนักตัว.}$$

1 กิโลกรัม.

D/T หมายถึง จำนวนสัตว์ทดลองที่ตาย / จำนวนสัตว์ทดลองที่ใช้ทดลอง.

O-E หมายถึง observed percent death-expected percent death,

\* หมายถึง ค่าที่อ่านจาก Linear dose-response curve,

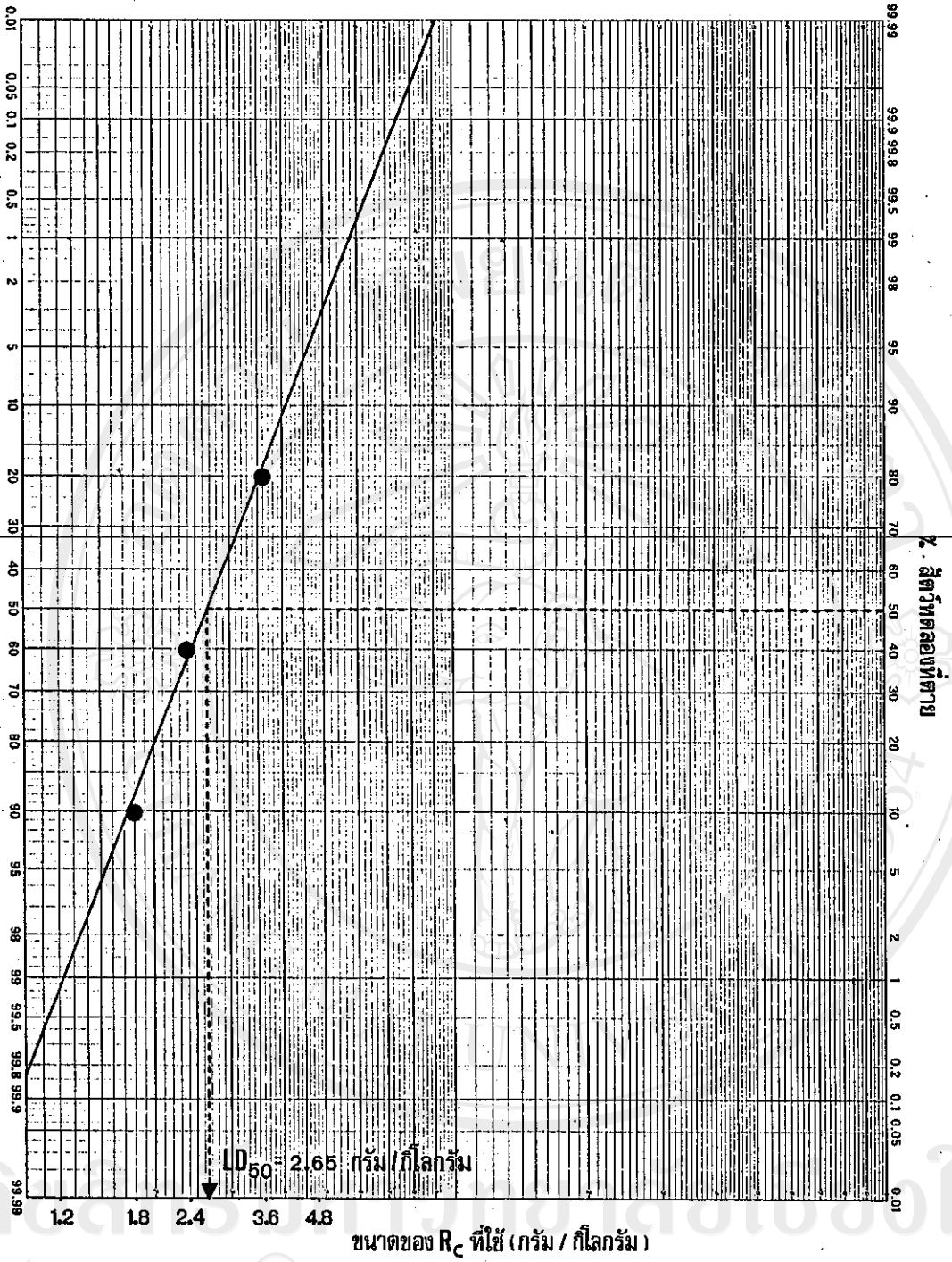
\*\* หมายถึง ค่าที่อ่านจาก Litchfield และ Wilcoxon (1949),

\*\*\* หมายถึง corrected value จากตารางที่ 1 ของ Litchfield,  
และ Wilcoxon (1949).

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University

All rights reserved



รูปที่ 32. แสดงการหา  $LD_{50}$  ของน้ำสกัดใบราตรีที่สกัดด้วยน้ำ ( $R_c$ ) ในหนูขาว.

ตอนที่ 5. การศึกษาสารสำคัญในน้ำสกัดใบราตรี.

5.1 การทดสอบเบื้องต้นของกลุ่มสารสำคัญในน้ำสกัด ใบราตรี.

จากการทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของน้ำสกัด ใบราตรีคือการทดสอบของ กล้ามเนื้อคลายโดยหยดน้ำสกัดนี้ลงใน tissue chamber ที่มีส่วนของเส้นประสาท ฟรีดิก-กล้ามเนื้อกระบังลมของหนูขาวดังกล่าวข้างต้น พบว่าน้ำสกัดใบราตรีมีฤทธิ์ ลดการหดตัวของกล้ามเนื้อคลายและมีการออกฤทธิ์ที่บริเวณปลายประสาทและกล้ามเนื้อคลายอย่างเด่นชัด จึงได้ศึกษาหาสารสำคัญบางชนิดในน้ำสกัดใบราตรี

ในการศึกษานี้ได้ทำการทดสอบขั้นต้นโดยหาอัลคาลอยด์ (alkaloids) ซึ่งคาดว่า อาจมีการออกฤทธิ์ในการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อคลายได้ เมื่อทดสอบหาอัลคาลอยด์ในน้ำสกัด ใบราตรีโดยใช้น้ำยาทดสอบอัลคาลอยด์คือ Dragendorff, iodoplatinate, Mayer และ Wagner พบว่าได้ผลบวก (positive) ดัง แสดงในตารางที่ 10. แสดงว่ามีอัลคาลอยด์อยู่ในน้ำสกัดใบราตรี นอกจากนี้ ยังได้ทำการทดสอบหาแซ็พโพนิน (saponins) โดยวิธี froth test พบว่าได้ ฟองรูปวงผึ้งมีความสูงประมาณ 5 เซนติเมตรและทนอยู่ได้นานมากกว่า 1 ชั่วโมง และจากการทดสอบโดยวิธี hemolysis test ได้สารละลายสีแดงใสแสดงว่ามี แซ็พโพนินซึ่งเป็นไกลโคไซด์ชนิดหนึ่งอยู่ในน้ำสกัดใบราตรีด้วย นอกจากนี้ยังได้ ทดสอบหาสารสำคัญอื่น ๆ ในน้ำสกัดใบราตรี เช่น แอนทราควิโนน (anthraquinones) และแทนนิน (tannins) จากผลการทดสอบพบว่าไม่มีสารทั้งสอง ชนิดนี้อยู่ในน้ำสกัด ใบราตรี ผลการทดสอบหาสารสำคัญในน้ำสกัด ใบราตรีมี รวบรวมละเอียดดังแสดงในตารางที่ 10.

5.2 การแยกและทดสอบสารสำคัญในน้ำสกัดใบราตรี.

จากการแยกและทดสอบหาอัลคาลอยด์ในน้ำสกัดใบราตรีโดยวิธี Thin-

Layer chromatography (TLC) โดยใช้แผ่น TLC ซึ่งเป็นอะลูมิเนียมเคลือบด้วย silica gel G 60 และใช้สารละลายผสมของ methanol และ ammonium hydroxide ในอัตราส่วน 200 ต่อ 3 เป็นตัวทำละลายในการแยกส่วนของน้ำสกัดใบราตรีนั้น เมื่อเปรียบเทียบผลของน้ำสกัดใบราตรีที่สกัดด้วย 95% Ethanol ( $R_E$ ) และสารเคมีมาตรฐาน (standard) คือนิโคติน (nicotine) พบว่าสามารถแยกสารในน้ำสกัด  $R_E$  ออกได้ 6 ส่วนคือ ส่วน a. เป็นสีเหลืองอ่อน มีค่า  $R_F = 0.90$ , ส่วน b. เป็นสีเหลืองแก่ มีค่า  $R_F = 0.87$ , ส่วน c. เป็นสีเขียวแก่ มีค่า  $R_F = 0.81$ , ส่วน d. เป็นสีเขียว มีค่า  $R_F = 0.78$ , ส่วน e. เป็นสีเขียวเหลือง มีค่า  $R_F = 0.72$  และส่วน f. ไม่มีสี มีค่า  $R_F = 0.18$  และสามารถแยกสารเคมีมาตรฐานคือนิโคตินออกได้ 2 ส่วนคือ  $A_1$ . ไม่มีสี มีค่า  $R_F = 0.58$  และส่วน  $A_2$ . ไม่มีสี มีค่า  $R_F = 0.23$  ดังแสดงในรูปที่ 33. จากการทดสอบหาอัลคาลอยด์โดยใช้น้ำยา Dragendorff และน้ำยา iodoplatinate ท้นลงบนแผ่น TLC ที่ทำการแยกส่วนน้ำสกัด  $R_E$  และสารเคมีมาตรฐานคือนิโคตินแล้ว พบว่าได้ผลบวก (positive) คือเกิดจุดสีส้มและจุดสีม่วงน้ำเงินตามลำดับเฉพาะในส่วน f. ซึ่งมีค่า  $R_F = 0.18$  แสดงว่าในน้ำสกัดใบราตรีนี้มีอัลคาลอยด์อยู่ ส่วนในกรณีของนิโคตินนั้น เมื่อทดสอบหาอัลคาลอยด์โดยน้ำยาสองชนิดดังกล่าวพบว่าได้ผลบวกในส่วน  $A_1$  และ  $A_2$  เช่นเดียวกัน เมื่อทดสอบขั้นต้นว่าในน้ำสกัดใบราตรีมีอัลคาลอยด์อยู่ จึงได้ศึกษาต่อไปโดยทำการแยกเอาส่วนของอัลคาลอยด์ในน้ำสกัดใบราตรีออกมาให้ได้ปริมาณมาก ๆ โดยใช้วิธี Column Chromatography โดยใช้ silica gel 60 ในการอัด (pack) column และใช้สารละลายผสมของ methanol และ ammonium hydroxide ในอัตราส่วน 200:3 เช่นเดียวกันในการแยกส่วนของน้ำสกัดใบราตรี จากการทดลองสามารถแยกได้ 21 ส่วนและนำไปทดสอบหาอัลคาลอยด์ในแต่ละส่วนโดยใช้น้ำยา Dragendorff, iodoplatinate, Mayer และ Wagner พบว่าได้ผลบวก (positive) เฉพาะในส่วนที่ 18 เท่านั้น จึงได้ใช้ส่วนที่แยกได้และคาดว่าอัลคาลอยด์นี้ไปทดสอบฤทธิ์ทาง



เมล็ดพืชยาโดยหยดลงใน tissue chamber ที่มีส่วนของเส้นประสาทพรีนิก-  
กลัมเนื้อกระบังลมของหนูขาว พบว่ามีผลทำให้ลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายได้  
เล็กน้อยและในบางครั้งจะไม่เห็นการเปลี่ยนแปลงต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย  
ดังแสดงในรูปที่ 34.

ผลการแยกและทดสอบหาอัลคาลอยด์ในน้ำสกัดใบราตรีโดยวิธี TLC  
และ Column Chromatography อาจสรุปได้ตามแผนผังต่อไปนี้



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved

แผนผังแสดงผลการแยกและทดสอบหาอัลคาลอยด์ในน้ำสกัดใบชาตรีโคยวรี  
Thin-Layer Chromatography และ Column Chromatography.

น้ำสกัด R<sub>E</sub>

Thin-Layer Chromatography

adsorbent : silica gel G 60  
eluent : MeOH : NH<sub>4</sub>OH (200 : 3)

ส่วน a.	ส่วน b.	ส่วน c.	ส่วน d.	ส่วน e.	ส่วน f.
สีเหลืองอ่อน	สีเหลืองแก่	สีเขียวแก่	สีเขียว	สีเขียวเหลือง	ไม่มีสี
R <sub>f</sub> = 0.90	0.87	0.81	0.78	0.72	0.18
Dragendorff's spray	-ve	-ve	-ve	-ve	+ve
iodoplatinate's spray	-ve	-ve	-ve	-ve	+ve

adsorbent : Silica gel 60  
eluent : MeOH : NH<sub>4</sub>OH (200 : 3)

Column Chromatography

ส่วนที่ 1	ส่วนที่ 2	ส่วนที่ 3	ส่วนที่ 4-17	ส่วนที่ 18	ส่วนที่ 19-21
สารละลายสีเหลือง	สารละลายสีเขียวแก่	สารละลายสีเขียวอ่อน	สารละลายไม่มีสี	สารละลายไม่มีสี	สารละลายไม่มีสี
40 มิลลิลิตร	20 มิลลิลิตร	40 มิลลิลิตร	280 มิลลิลิตร	20 มิลลิลิตร	60 มิลลิลิตร
-ve	-ve	-ve	-ve	+ve	-ve
-ve	-ve	-ve	-ve	+ve	-ve
-ve	-ve	-ve	-ve		-ve
-ve	-ve	-ve	-ve		-ve
-ve	-ve	-ve	-ve		-ve

อัลคาลอยด์

ทดสอบผลต่อ  
neurally-evoked twitch

ลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย  
ได้เล็กน้อย . ไม่ชัดเจน

จากการทดลองข้างต้นจะเห็นได้ว่าอัลคาลอยด์ซึ่งแยกได้จากน้ำสกัดใบราตรี มีผลลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายเล็กน้อย นอกจากอัลคาลอยด์แล้วอาจมีสารสำคัญกลุ่มอื่นในน้ำสกัดใบราตรีที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาต่อบริเวณปลายประสาทและกล้ามเนื้อลายได้ด้วย จึงได้ทำการทดสอบและสกัดหาแซ็ฟโพนินจากใบราตรีดังกล่าวข้างต้น นำสารสกัดที่ได้ซึ่งคาดว่าเป็นแซ็ฟโพนินไปทดสอบผลต่อ neurally-evoked twitch และผลในการเกิดการหดตัว (contraction) ของกล้ามเนื้อลายต่อไป.

- 5.3 การเปรียบเทียบการออกฤทธิ์ลดการหดตัว (twitch depression) ของกล้ามเนื้อลายที่เกิดจากแซ็ฟโพนินซึ่งสกัดได้จากใบราตรี ( $R_S$ ) และ saponins (S) ซึ่งใช้เป็นคอนโทรลโดยใช้ส่วนของเส้นประสาทพรีนิก-กล้ามเนื้อกระบังลมของหนูขาว.

เมื่อหยดสารสกัดซึ่งสกัดได้จากใบราตรีในขนาด 5.71 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร และ saponins ซึ่งใช้เป็นคอนโทรลในขนาดเดียวกันลงใน tissue chamber ที่มีส่วนของเส้นประสาทพรีนิก-กล้ามเนื้อกระบังลมของหนูขาวและบันทึกการหดตัว (neurally-evoked twitch) ของกล้ามเนื้อลายนี้ พบว่าได้ผลเช่นเดียวกันคือเกิดการเพิ่มความตึงตัว (tension) ของกล้ามเนื้อลายหรืออาจกล่าวได้ว่ากล้ามเนื้อลายเกิดการหดตัวได้อย่างช้า ๆ และตามมาด้วยการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายดังแสดงในรูปที่ 35.

- 5.4 การเปรียบเทียบการหดตัว (contraction) ของกล้ามเนื้อลายที่เกิดจากแซ็ฟโพนินซึ่งสกัดได้จากใบราตรี ( $R_S$ ) และสารเคมีมาตรฐาน (saponins) ซึ่งใช้เป็นคอนโทรลโดยใช้ส่วนของเส้นประสาทพรีนิก-กล้ามเนื้อกระบังลมของหนูขาว.

เมื่อหยดสารสกัดที่แยกได้จากใบราตรีในขนาด 5.71 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร และ saponins ซึ่งใช้เป็นคอนโทรลในขนาดเดียวกันลงใน tissue chamber ที่มีส่วนของเส้นประสาทพรีนิก-กล้ามเนื้อกระบังลมของหนูขาวและบันทึก

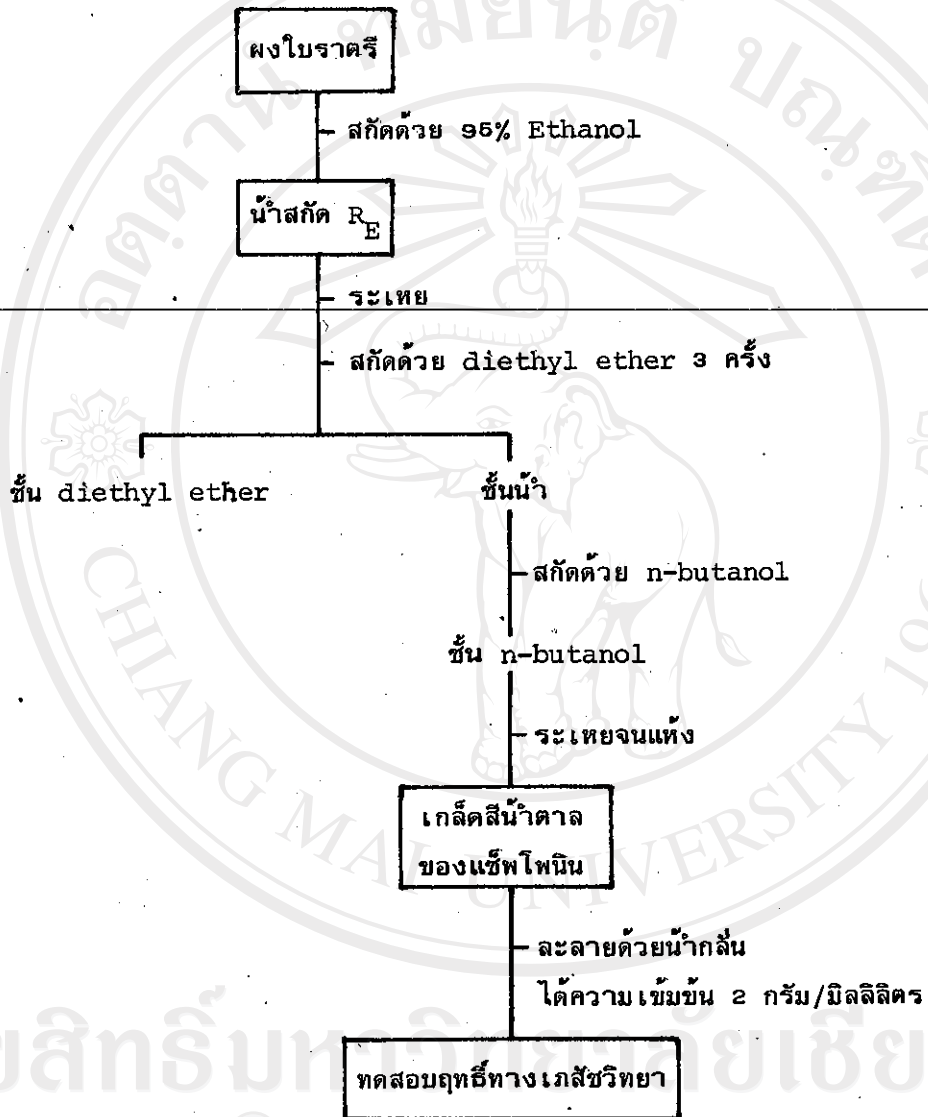
การหดตัวของกล้ามเนื้อลายนี้ พบว่าได้ผลเช่นเดียวกันคือ เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายได้มากและเป็นเวลานาน นอกจากนี้ยังทำให้เกิดอาการหริ้วของกล้ามเนื้อลาย (fasciculation) ได้ ดังแสดงในรูปที่ ๑๖. แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากใบราตรีซึ่งมีฤทธิ์ดังกล่าวอาจเป็นแซ็พโพนิน.

ผลของแซ็พโพนินซึ่งสกัดได้จากใบราตรีต่อบริเวณปลายประสาทและกล้ามเนื้อลาย (neuromuscular synapse) ได้สรุปไว้เป็นแผนผังต่อไปนี้



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved

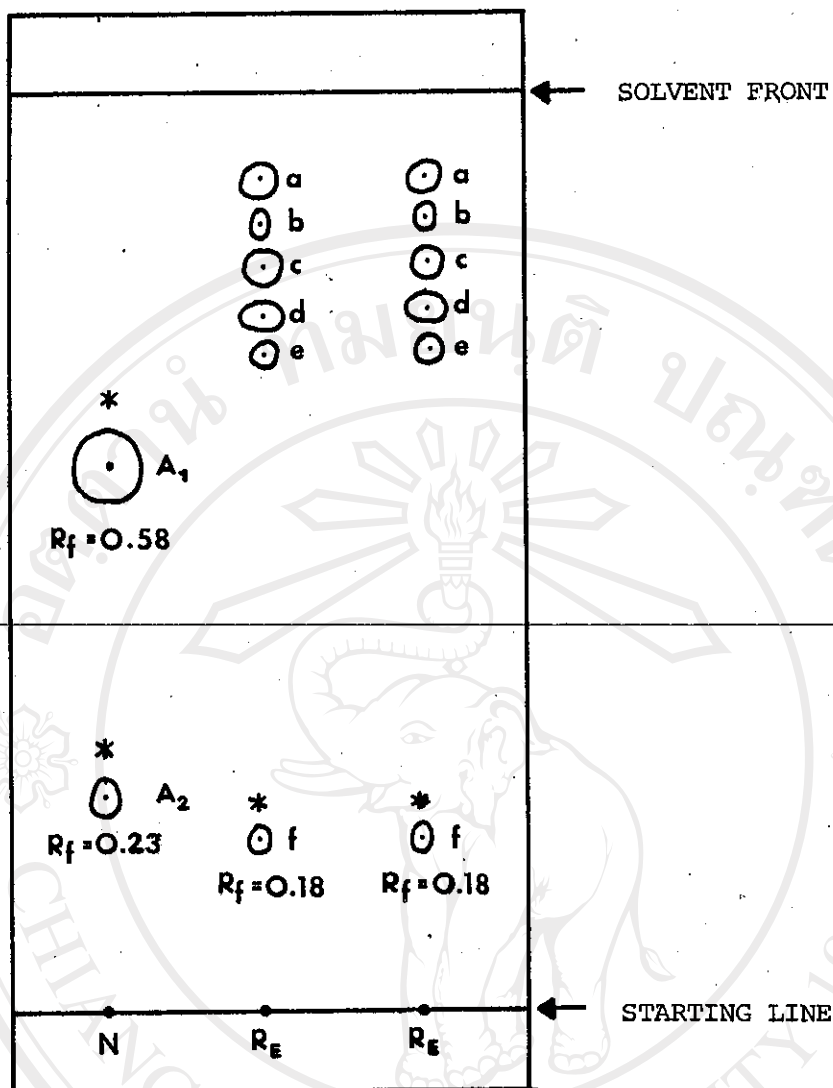
แผนผังแสดงการสกัดและทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของแซ็ฟโพนินในใบราตรี



1. ลดการหดตัว (neurally-evoked twitch) ของกล้ามเนื้อลาย.
2. เกิดการหดตัว (contraction) ของกล้ามเนื้อลาย.
3. เกิดอาการพริ้วของกล้ามเนื้อลาย (fasciculation).

ตารางที่ 10. แสดงถึงผลการทดสอบทางกลุ่มสารสำคัญในน้ำสกัดใบราตรี.

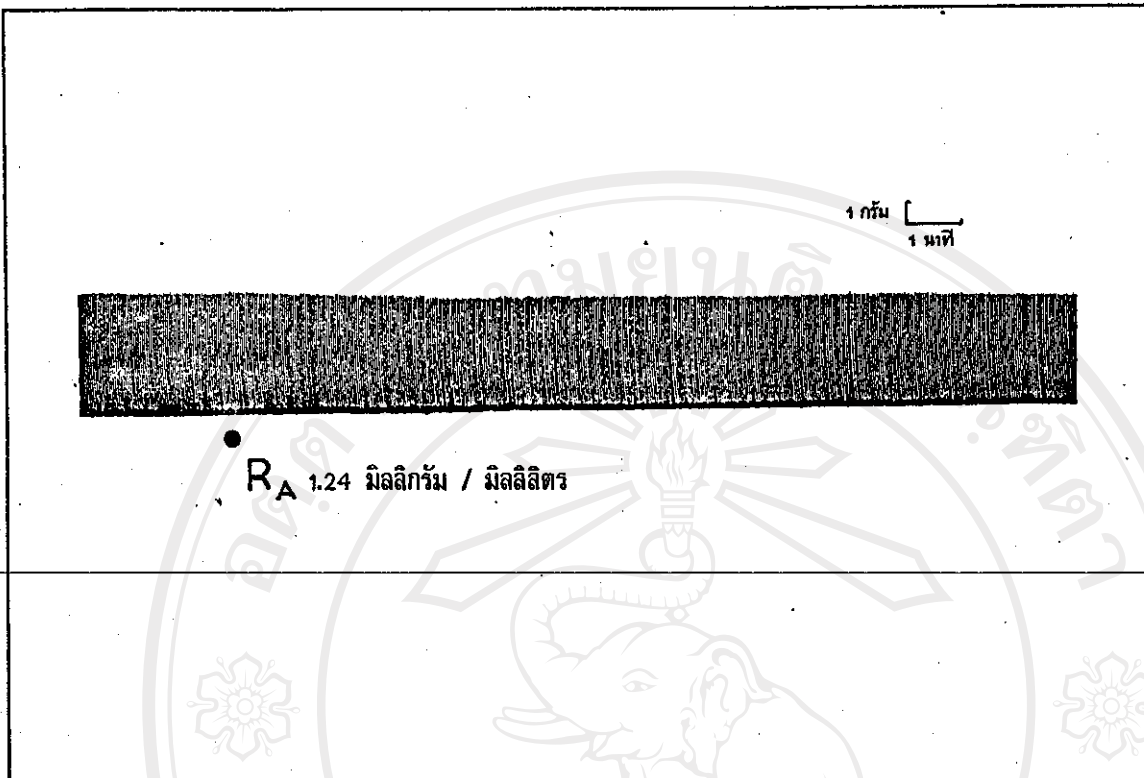
กลุ่มสารสำคัญในน้ำสกัด ใบราตรีที่ทำการทดสอบ	น้ำยาที่ใช้ทดสอบ	ผลที่สังเกตได้
อัลคาลอยด์ (Alkaloids)	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Dragendorff's spray</li> <li>2. iodoplatinate's spray</li> <li>3. Dragendorff</li> <li>4. Mayer</li> <li>5. Wagner</li> </ol>	<p>+ve , เห็นจุดสีส้ม                      +ve , เห็นจุดสีม่วงน้ำเงิน                      +ve , เกิดตะกอนสีส้ม                      +ve , เกิดตะกอนสีขาว                      +ve , เกิดตะกอนสีน้ำตาลแดง                      +ve , เกิดฟองปรูปร่างผึ้ง มีความสูง 5 เซนติเมตร และทนอยู่ได้นานมากกว่า 1 ชั่วโมง</p>
แซฟโฟนิน (Saponins)	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. dilute sulfuric acid</li> <li>2. 1% whole blood ใน 0.9% sodium chloride</li> </ol>	<p>+ve , ได้สารละลายสีแดงใส</p>
แอนทราควิโนน (Antraquinones)	<p>ammonia test solution</p>	<p>-ve , ไม่ได้สารละลายสีชมพูหรือแดง</p>
แทนนิน (Tannins)	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 10% sodium chloride</li> <li>2. 1% ferric chloride</li> <li>3. bromine water</li> </ol>	<p>-ve , ไม่เกิดตะกอนขุนขาว                      -ve , สีไม่เปลี่ยนแปลง                      -ve , ไม่เกิดตะกอนเบนาลิออน</p>



รูปที่ 33. แสดงส่วนต่าง ๆ ของน้ำสกัดใบราตรีที่สกัดด้วย 95% Ethanol ( $R_E$ ) ซึ่งแยกได้  
โดยวิธี TLC เปรียบเทียบกับ standard nicotine (N) : a, b, c, d, e  
และ f เป็นส่วนต่าง ๆ ที่แยกได้จากน้ำสกัด  $R_E$  ;  $A_1$ ,  $A_2$  เป็นส่วนที่แยกได้จาก  
standard nicotine.

solvent : MeOH :  $\text{NH}_4\text{OH}$  = 200 : 3

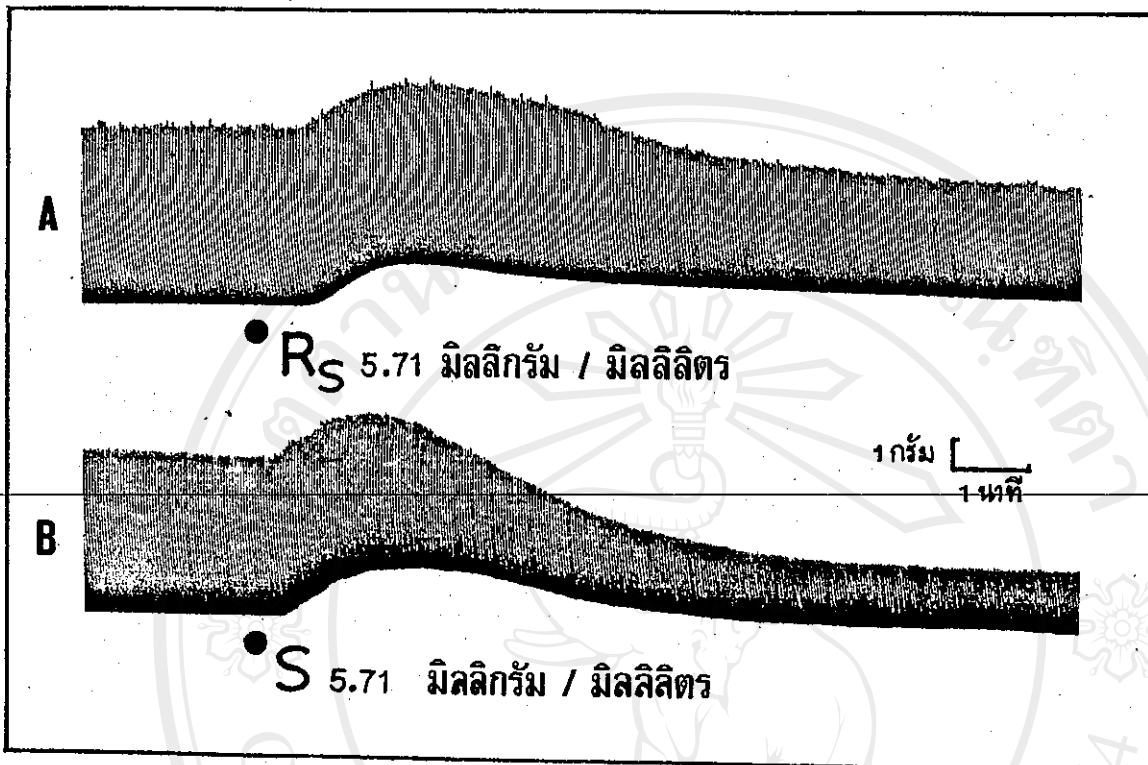
หมายเหตุ \* หมายถึง ทดสอบด้วยน้ำยา Dragendorff หรือน้ำยา iodoplatinate ได้ผลบวก (positive).



รูปที่ 34. แสดงผลของส่วนที่มีอัลคาลอยด์ (ส่วนที่ 18 หรือ  $R_A$ ) ต่อการหดตัว (neurally - evoked twitch) ของกล้ามเนื้อลาย โดยใช้ส่วนของเส้นประสาทพรีนิค-กล้ามเนื้อกระบังลมของหนูขาว.

$R_A$  ในขนาด 1.24 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร สามารถลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายได้เล็กน้อย.



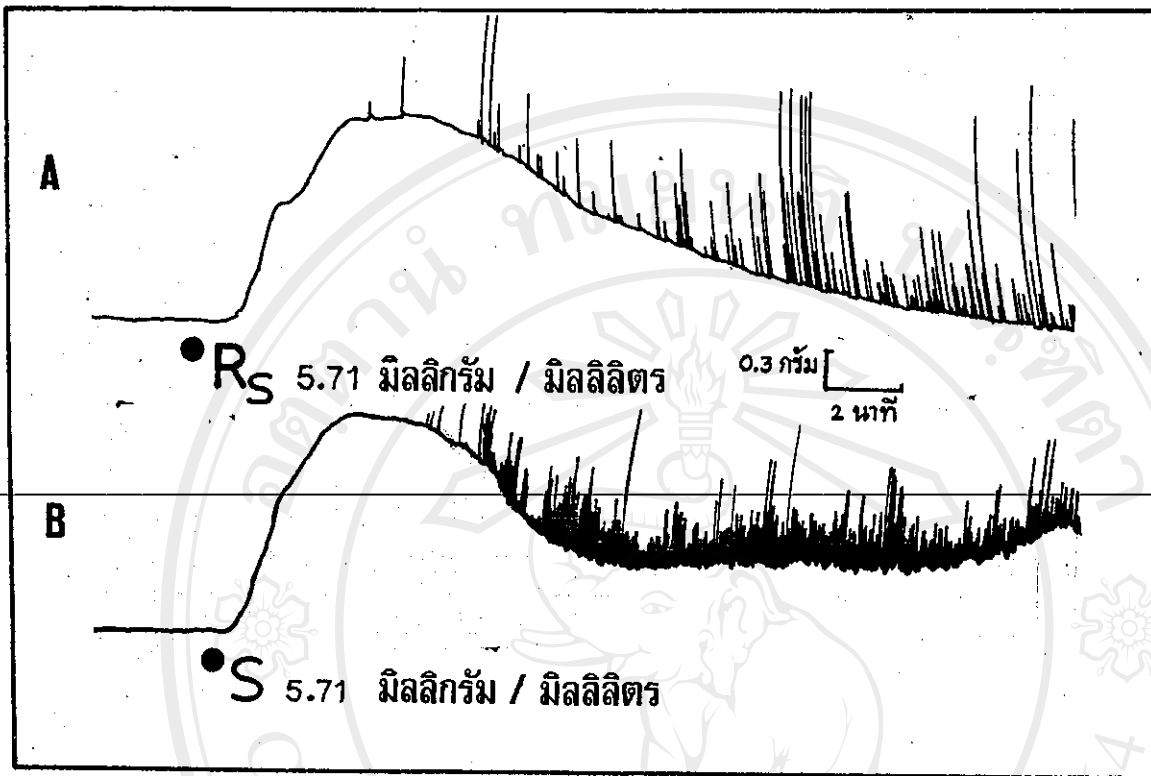


รูปที่ 35. แสดงการเปรียบเทียบผลของแซ็ทโทนิน ซึ่งสกัดได้จากโบราตรี ( $R_S$ ) และ saponins (S) ซึ่งใช้เป็นคอนโทรล ต่อการหดตัว (neurally-evoked twitch) ของกล้ามเนื้อลาย โดยใช้ส่วนของเส้นประสาทพรีนิก-กล้ามเนื้อกระบังลมของหนูขาว.

A  $R_S$  ในขนาด 5.71 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร ทำให้เกิดการเพิ่มความตึงตัว (tension) ของกล้ามเนื้อลายและตามมาด้วยการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย.

B Saponins (S) ซึ่งใช้เป็นคอนโทรล ในขนาด 5.71 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร ทำให้เกิดการเพิ่มความตึงตัวของกล้ามเนื้อลายและตามมาด้วยการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright © Chiang Mai University  
All rights reserved



รูปที่ 36. แสดงการเปรียบเทียบการหดตัว (contraction) ของกล้ามเนื้อลายที่เกิดจากแซฟโฟนิน ซึ่งสกัดได้จากไบราตรี ( $R_S$ ) และ saponins (S) ซึ่งใช้เป็นคอนโทรล โดยใช้ส่วนของเส้นประสาทพรีนิค-กล้ามเนื้อกระบังลมของหนูขาว.

A  $R_S$  ในขนาด 5.71 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร ทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายได้มากและเป็นเวลานาน นอกจากนี้ยังทำให้เกิดอาการพริ้วของกล้ามเนื้อลาย (fasciculation).

B Saponins (S) ในขนาด 5.71 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร ทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายและอาการพริ้วของกล้ามเนื้อลาย (fasciculation) เช่นเดียวกับ  $R_S$ .

ในการทดลองนี้อาจสรุปได้ว่าน้ำสกัดใบราตรีออกฤทธิ์ที่บริเวณปลายประสาทและกล้ามเนื้อลายโดยมีผลในการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายทั้งในสัตว์ทดลอง (in situ) และนอกตัวสัตว์ทดลอง (in vitro) อย่างเห็นได้ชัด และผลที่เกิดขึ้นเสริมฤทธิ์กันยากลายตัวกล้ามเนื้อลายคือ pancuronium และ succinylcholine นอกจากนี้อาจจะมีผลต่อเส้นประสาท motor และกล้ามเนื้อลายได้ จากการสังเกตดูอาการพิษพบว่าน้ำสกัดนี้ทำให้สัตว์ทดลองมีอาการอ่อนเปลี้ย หายใจช้าลง อีกประการหนึ่งน้ำสกัดจากใบราตรียังสามารถกระตุ้นกล้ามเนื้อให้เกิดการหดตัว (contraction) และอาการพริ้วของกล้ามเนื้อลาย (fasciculation) ได้.

สารสำคัญที่ทดสอบและแยกได้จากน้ำสกัดใบราตรีที่มีฤทธิ์ดังกล่าวคาดว่าเป็นแซฟโฟนินมากกว่าอัลคาลอยด์ ซึ่งเมื่อทำการทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาแล้วให้ผลในการเกิดการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายและเกิดอาการพริ้วของกล้ามเนื้อลาย (fasciculation) เช่นเดียวกับน้ำสกัดใบราตรีที่กล่าวมาแล้วข้างต้น.