

อภิปรายและสรุปผลการทดลอง

รงทองเป็น gum-resin ได้จาก Garcinia hanburyi Hooker filices ซึ่งมีส่วนประกอบส่วนใหญ่เป็น gambogic acid 70-80% จากการศึกษาพบว่า ระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมในการแยก gambogic acid จากรงทอง คือ chloroform : ethanol = 97.5:2.5 ได้สารสีเหลือง ซึ่งจากการพิสูจน์เอกลักษณ์ โดยการศึกษา Optical rotation, Ultraviolet spectrum Infrared spectrum, Nuclear magnetic resonance spectra และ electron impact mass spectrum พบว่าสามารถสรุป สูตรโครงสร้างตั้งแสดงไว้ในภาคผนวก มีสูตรโมเลกุล คือ  $C_{38}H_{44}O_8$  สารบริสุทธิ์นี้คือ gambogic acid จากผลการศึกษาเบื้องต้น พบว่า gambogic acid ความเข้มข้น  $1.3 \times 10^{-5}$  โมลาร์,  $2.6 \times 10^{-5}$  โมลาร์,  $3.9 \times 10^{-5}$  โมลาร์ สามารถเพิ่มการหดเกร็งของลำไส้กระต่ายได้ตามขนาดที่ให้ และ gambogic acid ความเข้มข้น  $6.5 \times 10^{-6}$  โมลาร์,  $9.75 \times 10^{-6}$  โมลาร์ และ  $1.3 \times 10^{-5}$  โมลาร์ สามารถเพิ่มการหดเกร็งของลำไส้หนูขาว ความเข้มข้นต่ำสุดของ gambogic acid ที่สามารถเพิ่มการหดเกร็งของลำไส้หนูขาว จะน้อยกว่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ใช้กระตุ้นการหดเกร็งของลำไส้กระต่าย ซึ่งอาจเป็นผลมาจากความแตกต่างของสายพันธุ์ (species) ทำให้การตอบสนองต่อยาแตกต่างกัน

การออกฤทธิ์ของ gambogic acid ต่อลำไส้ พบว่า ออกฤทธิ์ได้รวดเร็ว คือเมื่อให้สาร gambogic acid แล้ว กล้ามเนื้อเรียบลำไส้ของกระต่ายและหนูขาวเกิดการหดเกร็งทันที และการหดเกร็งของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้ของกระต่ายและหนูขาวยังเพิ่มตามความเข้มข้นของ gambogic acid ที่ให้ เป็นไปตามลักษณะ dose-dependent ในระดับความเข้มข้นที่ต่ำช่วงหนึ่งเท่านั้น แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสาร gambogic acid มากขึ้นจะทำให้มีการลดการหดเกร็งของลำไส้กระต่ายและหนูขาว ระยะเวลาการกระตุ้นการบีบตัวของลำไส้ในการให้ gambogic acid แต่ละครั้งอยู่เพียง 30 วินาที หลังจากนั้นจะมีการลดการหดเกร็งลำไส้

กระต่ายและหนูขาว ซึ่งอาจจะเนื่องมาจากหลายสาเหตุ ได้แก่ การศึกษาลำไส้เล็ก ที่แยกออกมาจากสัตว์ทดลองนั้นจะขาดปัจจัยบางอย่าง ได้แก่ ขาดการควบคุมจากระบบประสาทและฮอร์โมน (Kenakin, 1984) ดังนั้น การเพิ่มการหดเกร็งของลำไส้เล็กโดย gambogic acid อาจจะมีส่วนเกี่ยวข้องกับระบบประสาทและฮอร์โมนร่วมด้วย และ gambogic acid ในขนาดความเข้มข้นสูง อาจจะทำให้เกิดอาการระคายเคือง (irritation) เป็นพิษต่อเซลล์โดยตรง มีรายงานถึงความพิษของ gambogic acid เมื่อรับประทานมากเกินไป ทำให้ตายได้ (Benley & Trimmen, 1983; Perry, 1980) ฤทธิ์ของสาร gambogic acid ต่อลำไส้ของหนูขาว แม้จะลดการหดเกร็งของลำไส้หนูขาวแต่จะมีความตึงตัวเพิ่มมากขึ้นในระยะหลังอาจจะเนื่องจากการหลั่งสารสื่อประสาท ฮอร์โมนบางชนิดหรืออาจจะทำให้ให้แคลเซียมภายในเซลล์เพิ่มขึ้น (Karaki & Weiss, 1988) ฤทธิ์ของสาร gambogic acid ในการยับยั้งการหดเกร็งของกล้ามเนื้อลำไส้กระต่ายและหนูขาวคงอยู่นานมาก แม้จะล้างด้วยสารละลายไทโรด (Tyrode) หลายๆ ครั้ง แต่แรงหดเกร็งของลำไส้จะไม่กลับสู่สภาพเดิม และเมื่อให้สาร gambogic acid ในขนาดที่เคยหรือสามารถเพิ่มการหดเกร็งของลำไส้กระต่ายและหนูขาวซ้ำอีกในเนื้อเยื่อเดิม พบว่าจะไม่มีการเพิ่มการหดเกร็งของลำไส้กระต่ายและหนูขาว อาจจะเนื่องมาจากสาร gambogic acid มีกลไกการออกฤทธิ์คล้ายคลึงกับสารที่เพิ่มการเคลื่อนไหวของลำไส้ (Spasmodogen) บางชนิด พบว่าจะมีกลไกการออกฤทธิ์โดยทางอ้อม (Indirect action) ต่อ mucous membrane และกระตุ้นให้มีการหลั่งสารสื่อประสาท เช่น acetylcholine, histamine, serotonin และฮอร์โมนอื่นๆ (Costa and Furness, 1979; Hara and Szurszewski, 1986) โดยสารเหล่านี้จะไปจับกับตัวรับสัมผัสเฉพาะ (specific receptor) เกิดการเคลื่อนที่ของ  $Ca^{2+}$  จากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ ทำให้เพิ่มการหดเกร็งของลำไส้กระต่ายและหนูขาว

การหดเกร็งของกล้ามเนื้อลำไส้กระต่าย ซึ่งกระตุ้นด้วยสาร gambogic acid สามารถยับยั้งได้ด้วย atropine  $1 \times 10^{-7}$  โมลาร์, chlorpheniramine  $1 \times 10^{-7}$  โมลาร์ และ verapamil  $8 \times 10^{-7}$  โมลาร์ ส่วนผลของสาร gambogic acid ต่อลำไส้หนูขาวที่แยกออกจากกายสามารถยับยั้งได้ด้วย atropine  $1 \times 10^{-7}$  โมลาร์, chlorpheniramine  $1 \times 10^{-7}$  โมลาร์, verapamil  $8 \times 10^{-7}$

โมลาร์ และ cyproheptadine  $1 \times 10^{-7}$  โมลาร์ เช่นกัน เมื่อเปรียบเทียบกับ การให้สาร gambogic acid เพียงอย่างเดียว จากผลการทดลองอาจกล่าวได้ว่าการออกฤทธิ์ของ gambogic acid ต่อการหดเกร็งของกล้ามเนื้อลำไส้เป็นลักษณะของ non-specific agonist จึงสามารถยับยั้งฤทธิ์ได้โดยตัวยับยั้ง (antagonist) หลายชนิด เนื่องจากการวิจัยนี้เป็นการศึกษาฤทธิ์เบื้องต้นทางเภสัชวิทยาของ gambogic acid ต่อระบบต่าง ๆ ของร่างกาย กลไกการออกฤทธิ์ที่แท้จริงอาจจะไม่สามารถสรุปได้แน่นอนในขณะนี้ แต่สามารถเสนอข้อคิดและสรุปได้ตามผลการทดลองที่เกิดขึ้น

จากผลการทดลองฤทธิ์ของสาร gambogic acid ต่อลำไส้ของกระต่าย และหนูขาวที่นำเสนอมานี้ อาจกล่าวได้ว่าสาร gambogic acid ในขนาดความเข้มข้นที่เหมาะสม มีฤทธิ์กระตุ้นการหดเกร็งของลำไส้ (spasmodic activity) ซึ่ง Bolton (1979a) ได้เสนอกลไกการออกฤทธิ์ของสารกระตุ้น (agonist) ที่มีฤทธิ์ทำให้เกิดการหดเกร็งของกล้ามเนื้อเรียบไว้ดังนี้ คือ เมื่อสารกระตุ้น (agonist) จับกับตัวรับสัมผัส (receptor) มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง 3 ทาง คือ

- 1) เกิดการเปลี่ยนแปลง discharge frequency ของ action potential เพิ่มความถี่ของการเกิด action potential ทำให้กล้ามเนื้อหดตัวถี่และแรงขึ้น
- 2) เกิดการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมี จะเกิดขึ้นขณะที่ตัวรับสัมผัส (receptor) ถูกกระตุ้น โดยมี inositol-1,4,5-trisphosphate (IP<sub>3</sub>) เกิดขึ้น กระตุ้นให้มีการปลดปล่อยแคลเซียมจาก sarcoplasmic reticulum (SR) เพิ่มขึ้น ดังรูปที่ 3 (Karaki & Weiss, 1988) นอกจากนี้ตัวกระตุ้น (agonist) จับกับตัวรับสัมผัส (receptor) แล้วทำให้มีการปลดปล่อย bound calcium ทำให้แคลเซียมในเซลล์เพิ่มขึ้น ซึ่งจะมีผลทำให้ tension ของ contractile proteins จึงเพิ่มขึ้นด้วย ดังรูปที่ 4
- 3) เมื่อ receptor-operated calcium channel เปิด แคลเซียมจากภายนอกเซลล์จะเคลื่อนที่เข้าสู่ภายในเซลล์ และมีผลให้โซเดียมเคลื่อนที่เข้าสู่ภายในเซลล์ด้วย ทำให้เกิดกระบวนการ depolarization ของเยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) ซึ่งเป็นการเพิ่ม action potential frequency ทำให้เกิดการหดเกร็งของกล้ามเนื้อเรียบมากขึ้น ดังนั้นกลไกการออกฤทธิ์ของสาร gambogic acid ทำให้กล้ามเนื้อลำไส้หดตัว อาจเกิดจากกลไกหนึ่งกลไกใดใน

3 กลไกที่กล่าวมาแล้ว หรืออาจจะก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทั้ง 3 กลไก ก็ได้ Kenakin (1984) ได้อธิบายถึงกลไกการออกฤทธิ์ของสารกระตุ้น (agonist) ที่มีผลทำให้เกิดการหดเกร็งกล้ามเนื้อเรียบได้ 2 ทางคือ ฤทธิ์ทางตรง (Direct action) เกิดจากสารกระตุ้น (agonist) จับกับตัวรับสัมผัส (receptor) เพียง 1 ชนิด มีผลทำให้เกิดการหดเกร็งของกล้ามเนื้อเรียบ ฤทธิ์ทางอ้อม (Indirect action) เกิดจากการที่สารกระตุ้น (agonist) จับกับตัวรับสัมผัส (receptor) มากกว่า 1 ชนิด จะทำให้มีการหลั่งสารสื่อประสาท (neurotransmitters) เช่น acetylcholine, histamine, serotonin เป็นต้น มีผลทำให้เกิดการหดเกร็งของกล้ามเนื้อเรียบ ซึ่งกลไกการออกฤทธิ์ของ gambogic acid ทำให้เกิดการหดเกร็งของลำไส้ น่าจะเกิดจากฤทธิ์ทางอ้อม ซึ่งสามารถยับยั้งการหดเกร็งด้วยสารยับยั้ง (antagonist) หลายชนิด แต่อย่างไรก็ตามจากผลการทดลองพบว่า atropine  $1 \times 10^{-7}$  โมลาร์ สามารถยับยั้งการหดเกร็งของลำไส้กระต่ายและหนูขาว ซึ่งถูกกระตุ้นด้วยสาร gambogic acid ได้อย่างชัดเจน โดย atropine จะแย่งจับกับ muscarinic receptor ทำให้ acetylcholine และ muscarinic agonist อื่น ๆ ไม่สามารถออกฤทธิ์กระตุ้น muscarinic receptor ที่ลำไส้ได้ มีผลให้การหดเกร็งลดลง

จากผลการวิจัยยังพบว่า verapamil  $8 \times 10^{-7}$  โมลาร์ สามารถยับยั้งฤทธิ์ของสาร gambogic acid ในการทำให้ลำไส้กระต่ายหดเกร็งได้ verapamil เป็น calcium channel blocker โดย verapamil จะยับยั้งไม่ให้แคลเซียมสามารถเคลื่อนผ่าน inward current channels ซึ่งเป็นผลให้การหดเกร็งของลำไส้ลดลง ดังนั้น verapamil จึงสามารถลดขนาดของ action potential และยับยั้งการเกิด action potential ซึ่งจะส่งผลให้ยับยั้งการหดเกร็งของกล้ามเนื้อเรียบ (Bolton, 1979a) ดังนั้นการหดเกร็งของลำไส้กระต่าย เนื่องจาก gambogic acid อาจกระตุ้นให้มีการหลั่งสารบางชนิดทำให้แคลเซียมเข้าสู่เซลล์ จึงมีผลให้การหดเกร็งของลำไส้เพิ่มขึ้น (ตามรูปที่ 3) และเมื่อให้ verapamil จึงสามารถยับยั้งการหดเกร็งของกล้ามเนื้อลำไส้กระต่ายซึ่งถูกกระตุ้นด้วยสาร gambogic acid ได้

การใช้ verapamil  $8 \times 10^{-7}$  โมลาร์ ในการยับยั้งฤทธิ์ของสาร gambogic acid ต่อลำไส้หนูขาว พบว่า verapamil  $8 \times 10^{-7}$  โมลาร์ สามารถลดการหดเกร็งของลำไส้หนูขาว ซึ่งเกิดจากการกระตุ้นด้วยสาร gambogic acid ได้ แต่ไม่สามารถยับยั้งความตึงตัวของลำไส้หนูขาวได้หมด แสดงว่าสาร gambogic acid อาจจะไม่ได้ออกฤทธิ์เพิ่มความตึงตัวของลำไส้หนูขาว โดยการกระตุ้น slow calcium channel ให้เปิดโดยตรง แต่การทำงานอาจจะผ่านตัวรับสัมผัส (receptor) อื่น เช่น histamine receptor และ muscarinic receptor เป็นต้น ทำให้การปลดปล่อย bound  $Ca^{2+}$  ภายในเซลล์เพิ่มขึ้น แต่การที่ verapamil สามารถลดการหดเกร็งของลำไส้กระต่ายและหนูขาว ซึ่งถูกกระตุ้นด้วยสาร gambogic acid นั้น จะเห็นว่าไม่ว่าสาร gambogic acid จะทำให้ลำไส้เกิดการหดเกร็งเพิ่มขึ้น โดยผ่านกลไกใดก็ตาม ต้องมีการเกี่ยวข้องกับการให้แคลเซียมเข้าสู่เซลล์ แล้วทำให้เกิดการหดเกร็งและความตึงตัวของกล้ามเนื้อลำไส้เพิ่มขึ้น (Bolton, 1979a; Karaki & Weiss, 1988) ดังรูปที่ 3 ดังนั้นการให้ verapamil จะมีผลทำให้กล้ามเนื้อลำไส้หนูขาวซึ่งถูกกระตุ้นด้วยสาร gambogic acid ลดการหดเกร็งได้บางส่วน

จากผลการวิจัยพบว่า chlorpheniramine  $1 \times 10^{-7}$  โมลาร์ สามารถยับยั้งการหดเกร็งของลำไส้กระต่ายและหนูขาว ซึ่งถูกกระตุ้นด้วยสาร gambogic acid ได้เช่นกัน โดย chlorpheniramine เป็นสารยับยั้งฤทธิ์ของ histamine ( $H_1$ ) receptor ซึ่งพบที่เยื่อหุ้มเซลล์ของกล้ามเนื้อเรียบ ฤทธิ์ของ histamine ต่อกล้ามเนื้อเรียบทางเดินอาหารเป็นไปได้ 2 ทางด้วยกันคือ ฤทธิ์ทางตรง (direct action) โดย histamine ไปกระตุ้น  $H_1$ -receptor ที่เยื่อหุ้มเซลล์ของกล้ามเนื้อเรียบ (Bertaccini, 1982) เมื่อ histamine จับกับ  $H_1$ -receptor จะเกิดการเปลี่ยนแปลงของ membrane permeability ทำให้โซเดียมและแคลเซียมเคลื่อนเข้าสู่ภายในเซลล์ (Reuter, 1983; Rubinstein and coher, 1985) การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่เกิดขึ้นเป็นการหดตัวที่แรงและอยู่ได้นาน (sustained contraction) ฤทธิ์ทางอ้อม (indirect action) เมื่อให้ histamine ขนาดต่ำจะไปกระตุ้น intrinsic nervous plexus ให้หลั่ง acetylcholine ทำให้กล้ามเนื้อเรียบหดตัว ซึ่งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบเป็น

โบเพียงชั่วขณะหนึ่ง (fast unsustained contraction) จากที่กล่าวมาแล้ว จะเห็นได้ว่าการที่ chlorpheniramine สามารถยับยั้งการหดตัวของลำไส้กระต่าย และหนูขาว รวมทั้งความตึงตัวของการหดเกร็งของลำไส้หนูขาวที่ถูกกระตุ้นด้วยสาร gambogic acid อาจกล่าวได้ว่า สาร gambogic acid ไม่เพียงออกฤทธิ์คล้าย acetylcholine แต่ยังออกฤทธิ์คล้าย histamine ในการกระตุ้นให้ลำไส้กระต่าย และหนูขาวบีบตัวมากขึ้น

จากการทดลอง พบว่า cyproheptadine  $1 \times 10^{-7}$  โมลาร์ สามารถยับยั้งการหดเกร็งของลำไส้เล็กหนูขาว ซึ่งกระตุ้นด้วยสาร gambogic acid ได้เช่นกัน cyproheptadine เป็นสารยับยั้งฤทธิ์ของทั้ง histamine serotonin และ acetylcholine โดยโครงสร้างของ cyproheptadine สามารถจับได้ทั้ง  $H_1$ -receptor, serotonin receptor และ cholinergic receptor ซึ่งกลไกการออกฤทธิ์ของ serotonin เป็นดังนี้ คือ เมื่อ serotonin ไปรวมกับตัวรับสัมผัส ทำให้เกิดการเคลื่อนที่ของแคลเซียมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์ หรือมีการเคลื่อนย้ายแคลเซียมจากแหล่งเก็บในเซลล์ ทำให้มีแคลเซียมไอออนอิสระ ( $Ca^{2+}$ ) ในเซลล์เพิ่มมากขึ้น เป็นผลให้เกิด coupling actomyocin เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้ ดังรูปที่ 3, 4 รวมทั้ง serotonin จะกระตุ้น intramural plexus ทำให้มีการหลั่ง acetylcholine จากปลายประสาท จะทำให้กล้ามเนื้อเรียบเกิดการหดตัว (Costa & Furness, 1979; Douglas, 1980; Kamm & Stull, 1989; Karaki & Weiss, 1988; Van Den Broucke, 1980) มีรายงานว่า cyproheptadine จะยับยั้งฤทธิ์ของ serotonin ได้ดีกว่า histamine แต่ยับยั้งฤทธิ์ของ histamine ได้ดีกว่า acetylcholine (Reylon & Siddiqui, 1983) จากผลที่ cyproheptadine สามารถยับยั้งการหดตัวของลำไส้หนูขาว ซึ่งถูกกระตุ้นด้วยสาร gambogic acid จึงอาจกล่าวได้ว่า สาร gambogic acid ไม่เพียงออกฤทธิ์คล้าย acetylcholine เท่านั้น ยังมีการออกฤทธิ์คล้ายกับ histamine และ serotonin ในการกระตุ้นให้ลำไส้เล็กหนูขาวบีบตัวมากขึ้น

จากผลการวิจัยฤทธิ์ของสาร gambogic acid ต่อการบีบตัวของลำไส้ หนูถีบจักรสภาพปกติ ในตารางที่ 2 พบว่าการให้สาร gambogic acid ขนาด 50

มิลลิกรัม ต่อกิโลกรัม ทางปาก มีผลเพิ่มการบีบตัวของลำไส้หนูถีบจักรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) เมื่อพิจารณาถึงการทดลองใน *in vivo* สาร gambogic acid เมื่อเข้าสู่ร่างกายแล้วสามารถเพิ่มการบีบตัวของลำไส้หนูถีบจักร ซึ่งวัดจากการเคลื่อนที่ของผงถ่าน ได้อย่างชัดเจนกว่าในการทดลองแบบ *in vitro* ซึ่งการศึกษาใน *in vitro* ที่แยกอวัยวะออกมาจากกายสัตว์ทดลองนั้นจะขาดปัจจัยการควบคุมบางประการอันได้แก่ การควบคุมโดยระบบประสาทและฮอร์โมน เพื่อศึกษาเฉพาะ drug receptor ของเนื้อเยื่อนั้นๆ (Kenakin, 1984) ดังนั้นอาจจะเป็นไปได้ว่า สาร gambogic acid เมื่อเข้าสู่ร่างกายจะไปมีตรงต่อระบบประสาทและฮอร์โมนที่ควบคุมการทำงานของลำไส้ ทำให้มีการหลั่งสารบางชนิดซึ่งมีผลให้การบีบตัวของลำไส้หนูถีบจักรในสภาพปกติเพิ่มขึ้นชัดเจนกว่าใน *in vitro*

จากผลการวิจัย พบว่า สาร gambogic acid มีฤทธิ์เพิ่มการบีบตัวของกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะของหนูถีบจักรที่แยกจากกาย ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับการทดลองในลำไส้กระต่ายและหนูขาว gambogic acid ทำให้มีการเพิ่มการบีบตัวของกล้ามเนื้อกระเพาะอาหารที่เตรียมใหม่ได้ชัดเจนกว่ากล้ามเนื้อกระเพาะอาหารที่เคยได้รับสาร gambogic acid มาก่อน เช่นเดียวกับในลำไส้กระต่ายและหนูขาว นอกจากนี้ยังพบว่า atropine  $1 \times 10^{-7}$  โมลาร์, verapamil  $8 \times 10^{-7}$  โมลาร์ และ chlorpheniramine  $1 \times 10^{-7}$  โมลาร์ สามารถยับยั้งการบีบตัวของอาหารทั้งกระเพาะของหนูถีบจักร ซึ่งถูกกระตุ้นด้วยสาร gambogic acid แสดงว่า สาร gambogic acid ออกฤทธิ์กระตุ้นการบีบตัวของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรแบบ non-specific agonist อย่างไรก็ตาม verapamil  $8 \times 10^{-7}$  โมลาร์ ถึงแม้จะมีผลยับยั้งการบีบตัวของกระเพาะอาหารของหนูถีบจักร แต่เมื่อเปรียบเทียบกับ atropine  $1 \times 10^{-7}$  โมลาร์ และ chlorpheniramine  $1 \times 10^{-7}$  โมลาร์ พบว่า verapamil  $8 \times 10^{-7}$  โมลาร์ สามารถยับยั้งการบีบตัวของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรได้น้อยกว่า atropine และ chlorpheniramine  $1 \times 10^{-7}$  โมลาร์ ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับในลำไส้หนูขาว จากผลการวิจัยต่อกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะของหนูถีบจักร แสดงให้เห็นว่า ฤทธิ์การกระตุ้นการหดเกร็งของกล้ามเนื้อกระเพาะอาหารเนื่องจากสาร gambogic acid อาจจะผ่านตัวรับสัมผัส (receptor) เช่น muscarinic receptor, histamine receptor เป็นต้น และเกี่ยวข้องกับ

กับการเคลื่อนที่ของแคลเซียมเข้าสู่เซลล์มากขึ้น จึงเกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ (Bolton, 1979a; Karaki & Weiss, 1988) ดังรูปที่ 3 และผ่าน slow calcium channel ซึ่งมีผลให้แคลเซียมเข้าสู่เซลล์มากขึ้น ทำให้เกิดการบีบตัวของกระเพาะอาหารด้วย

เนื่องจาก vas deferens ของหนูขาวเป็นอวัยวะที่มี adrenergic receptor อยู่มาก (French & Scott, 1981a ; Holman, 1975) และ vas deferens เป็นอวัยวะที่ตอบสนองต่อการกระตุ้นด้วยสารหลายชนิด ทั้งที่มีผลโดยตรงต่อ receptor และผลต่อกระบวนการที่เกี่ยวข้องกับการผ่านเข้าออกของแคลเซียม จากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ โดยเกิดในช่วงกระบวนการ membrane depolarization ทำให้ระดับแคลเซียมภายในเซลล์เพิ่มสูงขึ้น ( Hay & Wadsworth, 1984a ) ดังนั้นการศึกษาฤทธิ์ของ gambogic acid ต่อการหดเกร็งของ vas deferens จะทำให้ทราบถึงกลไกการออกฤทธิ์ของสารนี้ ต่อกล้ามเนื้อเรียบมากขึ้น ในการเลือกใช้ส่วน prostatic halves ของ vas deferens ศึกษาผลที่ตอบสนองต่อการกระตุ้นด้วย potassium chloride และ barium chloride เพราะเป็นส่วนที่มีการตอบสนอง ต่อการเปลี่ยนแปลงของแคลเซียมได้อย่างชัดเจน (Hay & Wadsworth, 1983) และสามารถที่จะเกิด phasic contraction ได้ดีกว่า epididymal halves (Anton, 1977) ส่วนบริเวณ epididymal halves ถูกควบคุมโดย alpha-adrenergic receptor และตอบสนอง ต่อการกระตุ้นด้วย noradrenaline อย่างชัดเจน (French, 1981a) ผลของ potassium chloride ต่อการหดเกร็งของ vas deferens ในการทดลองที่ได้เหมือนกับที่มีรายงานไว้ โดยที่จะเกิด phasic contraction ที่เด่นชัดในช่วงแรก และตามด้วย tonic contraction เกิดจากกระบวนการ membrane depolarization กระตุ้นให้มีการเปิดของ Potential-Operated Calcium Channels (POC) ส่งผลให้  $Ca^{2+}$  จากภายนอกเซลล์ ซึ่งมีความเข้มข้นสูงกว่าภายในเซลล์ ทำให้ความเข้มข้นของ  $Ca^{2+}$  ภายในเซลล์สูงขึ้น ส่งผลให้เกิดการหดเกร็งของกล้ามเนื้อได้ (Bolton, 1979a) การตอบสนองต่อ potassium chloride นี้สามารถยับยั้งได้โดย  $La^{3+}$  ซึ่งเป็น inorganic calcium antagonist หรือโดย organic calcium antagonist (Thorens & Haeusler, 1979 ;



Rosenbergetal,1979; Hay & Wadsworth, 1983) ซึ่งแสดงว่าทั้ง phasic และ tonic contraction จะเกี่ยวข้องกับแคลเซียมภายนอกเซลล์ (extracellular calcium)(Hay & Wadsworth,1981a) นอกจากนี้  $K^+$  อาจจะมีผลทำให้เกิดการปลดปล่อย bound  $Ca^{2+}$  โดยตรงทำให้แคลเซียมภายในเซลล์ (intracellular calcium) เพิ่มขึ้น (Bolton,1979a) จากการทดลองพบว่า gambogic acid ความเข้มข้นต่ำประมาณ  $1.3 \times 10^{-5}$  โมลาร์ สามารถลด phasic contraction ได้ อาจจะเป็นเนื่องมาจากการยับยั้งการเคลื่อนที่ของแคลเซียมจากภายนอกสู่ภายในเซลล์ แต่ในทางกลับกัน tonic contraction กลับเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ซึ่งอาจจะเกิดจากการเพิ่มระดับแคลเซียมภายในเซลล์โดยการหลั่งจาก SR (Hay & Wadsworth,1981a) เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ gambogic acid เป็น  $6.5 \times 10^{-5}$  โมลาร์ สามารถลด phasic contraction ได้แต่ไม่มีผลต่อ tonic contraction และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ gambogic acid เป็น  $1.3 \times 10^{-4}$  โมลาร์ พบว่าทั้ง phasic และ tonic contraction ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ผลการทดลองดังกล่าวอธิบายได้ว่า POC ที่เกิดในขณะเกิด membrane depolarization โดย high potassium นี้แบ่งเป็น 2 ชนิดคือ fast channel ซึ่งมีกลไกการเปิดและปิดเร็ว ส่งผลให้เกิดการหดเกร็งใน phasic phase และ slow channel ซึ่งมีกลไกการเปิดและปิดช้า ส่งผลให้เกิดการหดเกร็งใน tonic phase (Hay & Wadsworth,1982a) และ fast channel มีความไว (sensitive) ต่อ gambogic acid ในความเข้มข้นต่ำมากกว่า slow channel ส่วน verapamil สามารถลดทั้ง phasic และ tonic contraction เกิดจากการปิดกั้นการเคลื่อนที่ของ  $Ca^{2+}$  จากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ โดยยับยั้ง calcium channel (Hay & Wadsworth,1980; Swamy & Triggle,1976; French & Scott, 1981b)

ผลของ barium ion ( $Ba^{2+}$ ) ต่อการหดเกร็งใน vas deferens ทำให้เกิด phasic และ rhythmic contraction มีรายงานว่า phasic contraction เกิดจากกลไกที่  $Ba^{2+}$  ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) เกิด depolarization มีผลให้  $Ca^{2+}$  จากภายนอกเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์ โดย

ผ่าน POC ทำให้เกิดการหดเกร็งของ vas deferens (Hay & Wadsworth, 1984b) นอกจากนี้  $Ba^{2+}$  อาจจะมีการชักนำให้มีการปลดปล่อย bound  $Ca^{2+}$  จากแหล่งสะสมภายในเซลล์ร่วมด้วย (Mishira et al. 1988) ส่วน rhythmic contraction ที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย  $Ba^{2+}$  อาจจะทำให้เกิดการหลั่งของแคลเซียมจาก SR ซึ่งจำเป็นต้องอาศัย trigger  $Ca^{2+}$  ซึ่งเป็นแคลเซียมจากภายนอกเซลล์ (Hay & Wadsworth, 1982b; 1984b) นอกจากนี้  $Ba^{2+}$  ที่เคลื่อนที่ผ่าน POC อาจจะมีผลต่อ contractile protein โดยตรง (Danial, 1963; Baba et al., 1985) จากการศึกษา พบว่า gambogic acid สามารถลด phasic contraction ได้ชัดเจน แต่ผลต่อ rhythmic contraction ต้องเพิ่มความเข้มข้นของ gambogic acid ให้สูงขึ้น จึงสามารถลดความถี่และความสูงของ rhythmic contraction ได้ เช่นเดียวกับ verapamil การที่ gambogic acid และ verapamil มีผลจำเพาะเจาะจงต่อ phasic contraction มากกว่า rhythmic contraction Hay & Wadsworth (1984b) อธิบายไว้ว่า rhythmic contraction ที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย Barium chloride นี้เกิดจากการผ่านเข้าเซลล์ของ  $Ca^{2+}$  ผ่านทาง membrane channel ซึ่งแตกต่างจาก channel ที่ยอมให้  $Ca^{2+}$  ผ่านใน phasic contraction และ channel นี้ มีความไว ต่ำต่อ calcium antagonist ดังนั้นจึงยับยั้ง rhythmic contraction ได้น้อยกว่า phasic contraction จากการที่ gambogic acid ในความเข้มข้นที่สูงสามารถยับยั้งทั้งความถี่และความสูงของ rhythmic contraction ลงได้ อาจจะเป็นเพราะสามารถยับยั้งการเข้าสู่เซลล์ของ  $Ca^{2+}$  ภายนอกเซลล์ รวมทั้งยับยั้งการปลดปล่อย bound  $Ca^{2+}$  จากภายในเซลล์ หรืออาจจะเป็นเพราะความเป็นพิษของสาร gambogic acid ซึ่งในความเข้มข้นที่สูง จะยับยั้งกลไกที่เกี่ยวข้องกับการหดเกร็งของ vas deferens เกือบทุกกลไกอย่างไม่เฉพาะเจาะจง (non-specific action) เช่นเดียวกับ verapamil ในความเข้มข้นสูง (Haeusler, 1972) การที่ verapamil มีผลต่อ rhythmic contraction โดยสามารถลดความถี่ลงได้ แต่ความสูงเพิ่มขึ้น โดย Hay & Wadsworth (1980) อธิบายไว้ว่า การเกิด rhythmic contraction เกิดจากแคลเซียมจากภายนอกที่ผ่านเข้าสู่ภายในเซลล์นั้นอาจจะผ่าน calcium channel อื่นที่แตกต่างหากหรือ

อาจจะมีความไวต่ำต่อ verapamil และนอกจากนี้อาจจะมีบางกลไกที่ทำให้เกิดการปลดปล่อย bound  $Ca^{2+}$  ที่อยู่ในเซลล์เพิ่มมากขึ้นส่งผลให้ความสูงของ rhythmic contraction เพิ่มขึ้น (Hay & Wadsworth, 1983)

ในการทดลองเพื่อศึกษาผลของ gambogic acid ต่อการหดเกร็งของ vas deferens หนูขาว เมื่อกระตุ้นด้วย noradrenaline ซึ่งเป็น neurotransmitters ซึ่งจะไปกระตุ้นที่ alpha 1-adrenergic receptor ของ vas deferens ของหนูขาว (French & Scott, 1981a; Jurkeiwicz, 1976) โดยเฉพาะในส่วน epididymal halves ซึ่งพบว่ามี alpha 1 - adrenergic receptor อยู่มากและตอบสนองต่อ noradrenaline อย่างเด่นชัด (Bolton, 1979a ; French, 1981a) แต่จากการทดลอง พบว่ารอยต่อส่วน epididymal กับ prostatic halves ตอบสนองต่อ noradrenaline และ serotonin ได้ อย่างเด่นชัด จึงเลือกใช้ส่วนนี้ตลอดการทดลอง กลไกการออกฤทธิ์ของ noradrenaline ต่อการหดเกร็งของ vas deferens หนูขาว เกิดได้โดย noradrenaline ไปจับกับ alpha 1-adrenergic receptor ทำให้เกิด drug-receptor interaction ซึ่งจะส่งผลให้ receptor - operated calcium channel (ROC) เปิด ทำให้  $Ca^{2+}$  เคลื่อนเข้าสู่ภายในเซลล์ มีผลให้เกิดการหดเกร็งของ vas deferens (Bolton, 1979a; Gillespies & Macrae, 1983) การหดเกร็งของ vas deferens หนูขาวที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย noradrenaline ทั้ง phasic, tonic และ rhythmic contraction ขึ้นกับ  $Ca^{2+}$  ภายนอกที่จะผ่านเข้าไปภายในเซลล์ (Bolton, 1979a) สอดคล้องกับผลการศึกษา ซึ่งพบว่า ทั้ง gambogic acid และ verapamil สามารถลดทั้ง phasic, tonic และ rhythmic contraction ได้ตามขนาดที่ให้ ซึ่งชี้ให้เห็นว่าทั้ง gambogic acid และ verapamil มีผลยับยั้ง  $Ca^{2+}$  ที่จะเคลื่อนจากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ โดยผ่าน ROC ที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย noradrenaline


ผลของ serotonin ต่อการหดเกร็งของ vas deferens ทำให้เกิด phasic และ rhythmic contraction โดยออกฤทธิ์ผ่าน serotonin receptor และ alpha-adrenergic receptor อาจเกี่ยวข้องกับ การหลั่ง noradrenaline จากแหล่งสะสมที่ปลายประสาท (Nishino et al., 1970)

และเกี่ยวข้องกับแคลเซียมภายนอกเซลล์เท่านั้น (extracellular calcium) (Hay & Wadsworth, 1982; 1982c) จากการทดลองพบว่าทั้ง gambogic acid และ verapamil สามารถยับยั้ง phasic contraction และความถี่ของ rhythmic contraction อาจจะสามารถกล่าวได้ว่า gambogic acid และ verapamil สามารถลดหรือยับยั้งฤทธิ์ของ serotonin โดยอาจจะมีผลที่ serotonin receptor และยับยั้งการหลั่งของ noradrenaline รวมทั้งยับยั้งแคลเซียมจากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์

#### สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

สาร gambogic acid เป็นสารบริสุทธิ์ที่สกัดได้จาก รงทอง (Garcinia hanburyi Hooker filices) เป็นสมุนไพรที่ใช้เป็นยาถ่ายและยาระบาย ในตำราแพทย์แผนโบราณ จากการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาเบื้องต้น พบว่า สาร gambogic acid มีฤทธิ์ต่อกล้ามเนื้อเรียบของลำไส้เล็กและกระเพาะอาหาร เป็น 2 อย่าง คือ มีฤทธิ์กระตุ้นการหดเกร็งของกล้ามเนื้อเรียบ ในขนาดความเข้มข้นต่ำ ช่วงหลังจะมีการลดแรงหดเกร็งร่วมด้วย และเมื่อเพิ่มขนาดความเข้มข้นสูงขึ้น กลับมีฤทธิ์ยับยั้งการหดเกร็งของกล้ามเนื้อเรียบ gambogic acid ในความเข้มข้นต่ำ สามารถเพิ่มการหดเกร็งของกล้ามเนื้อเรียบที่แยกจากกายสัตว์ทดลองหลายชนิด ได้แก่กล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กของกระต่ายและหนูขาว กล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหนูถีบจักร และเพิ่มความถี่ของการหดเกร็งของลำไส้เล็กหนูขาว รวมทั้งการเพิ่มการบีบตัวของลำไส้หนูถีบจักรในสภาพปกติ โดยการออกฤทธิ์นี้จะเกิดในทางอ้อม (indirect action) ไม่ได้เกิดจากการกระตุ้นอย่างเฉพาะเจาะจงต่อตัวรับสัมผัส (receptor) ใดๆ gambogic acid ความเข้มข้นที่สูง มีผลลดการหดเกร็งของ vas deferens ที่กระตุ้นด้วย potassium chloride, barium chloride, noradrenaline และ serotonin จากผลการทดลองกล่าวได้ว่า กลไกยับยั้งการหดเกร็งของ vas deferens ของ gambogic acid ในขนาดความเข้มข้นที่สูง ไม่ได้เกิดผ่าน specific receptor แต่น่าจะเกิดจากการไปยับยั้งการเคลื่อนที่ของแคลเซียมจากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ หรืออาจมีผลยับยั้งที่ contractile protein โดยตรง และเมื่อพิจารณาประโยชน์ของสมุนไพร

นี้ ทางการแพทย์แผนโบราณ ในการใช้เป็นยาระบาย พบว่ามีอาการไม่พึงประสงค์ คือ มีอาการปวดท้องร่วมด้วย ซึ่งจากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า gambogic acid มีฤทธิ์ค่อนข้างเด่นชัด ต่อการหดเกร็งของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้และกระเพาะอาหาร อย่างไรก็ตามน่าจะมีการศึกษารายละเอียดเพิ่มเติมให้มากขึ้น และศึกษาผลต่อกล้ามเนื้อเรียบของอวัยวะอื่นๆ รวมทั้งการศึกษาในกายสัตว์ทดลองเพื่อเป็นข้อมูลนำมาพิจารณาว่าจะมีประโยชน์สมควรนำมาใช้ในการแพทย์หรือไม่



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย