

ผลการดำเนินการวิจัย

การศึกษาผลของสารสกัดบรีสุกซ์จาก Dysoxylum cyrtobotryum (R.) ต่อระบบหัวใจ และหลอดเลือดในหนูขาว ได้แบ่งการศึกษาเป็นการทดลองในตัวสัตว์ทดลอง (in vivo) และการทดลองนอกตัวสัตว์ทดลอง (in vitro) ซึ่งให้ผลการศึกษาดังนี้

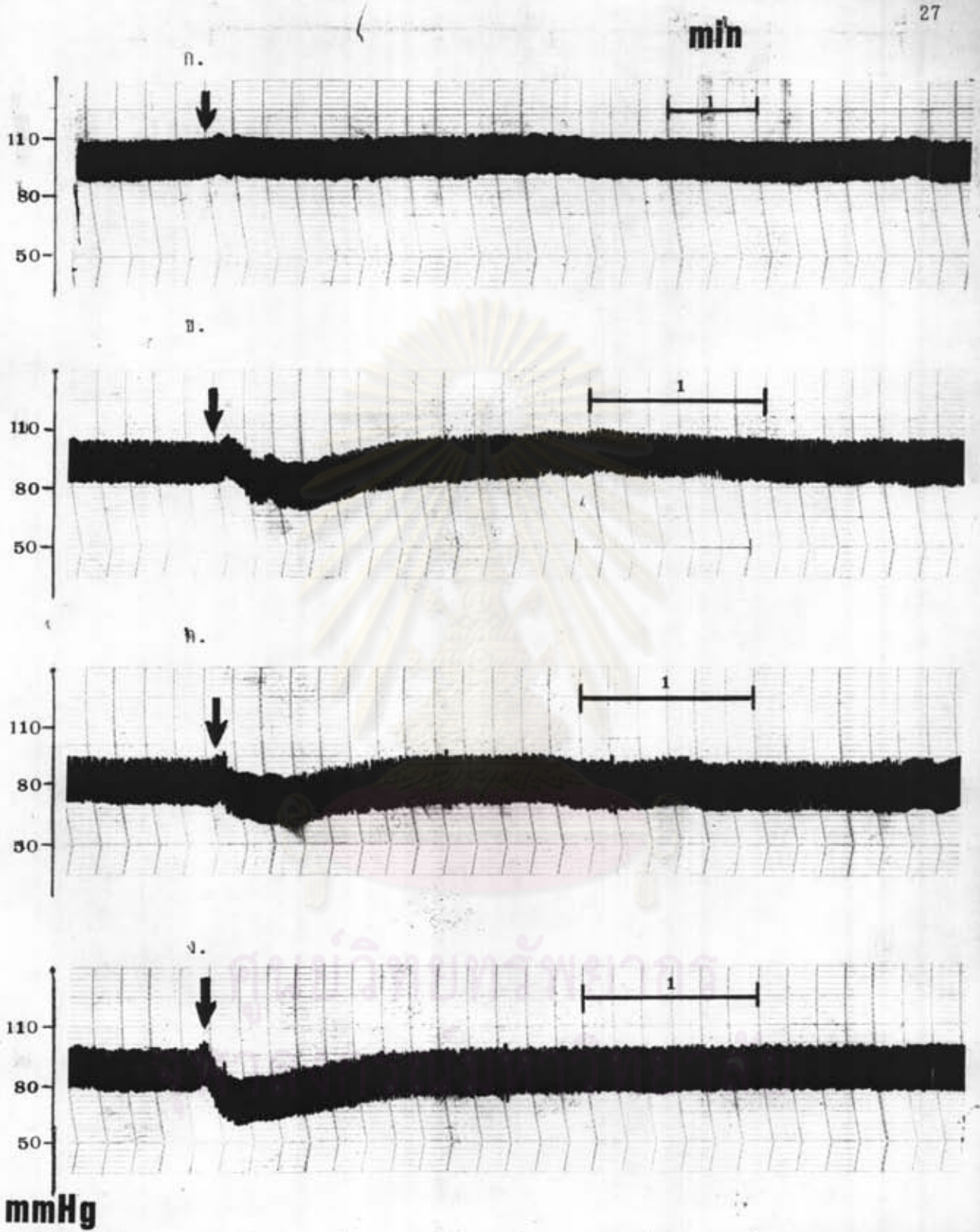
การศึกษาในตัวสัตว์ทดลอง

ผลต่อความดันโลหิตในหนูขาวที่สลบ

การศึกษาค้นคว้าที่บันทึกการเปลี่ยนแปลง ของความดันโลหิต ของหนูขาวที่สลบด้วย urethane 1.4 กรัมต่อกิโลกรัมในแต่ละระยะเวลาที่กำหนด การทดลองในหนูกลุ่มหนึ่ง (n = 5) โดยการฉีดสารสกัดบรีสุกซ์ R. เข้าทางหลอดเลือดดำที่ขาหลังของหนูขาว 3 ขนาด คือ 0.05, 0.20 และ 0.50 มิลลิกรัมต่อตัว ตามลำดับ เปรียบเทียบกับการให้ normal saline (NSS)

ผลการทดลองพบว่าขนาด 0.05, 0.20, และ 0.50 มิลลิกรัมต่อตัวมีผลทำให้ความดันโลหิตของหนูขาวที่สลบลดลงต่ำสุด  $11.52 \pm 1.4$ ,  $11.48 \pm 1.9$  และ  $17.7 \pm 3.1$  % ตามลำดับ และ ค่าความดันโลหิตที่ลดลงต่ำสุดนี้เกิดขึ้นภายหลังฉีดสารสกัดบรีสุกซ์ R. ประมาณ 10 วินาที ในทำนองเดียวกัน ความดันโลหิตขณะหัวใจคลายตัวลดลงต่ำสุด  $15.78 \pm 4.3$ ,  $16.05 \pm 3.6$  และ  $25.30 \pm 4.7$  % ตามลำดับ โดยมีนัยสำคัญทางสถิติ  $P < 0.05$  ดังแสดงในรูปที่ 3.1, 3.2 และ ตารางที่ 3.1, 3.2

จากผลที่กล่าวมาข้างต้นเห็นว่า ความดันโลหิตขณะหัวใจคลายตัวลดลงได้มากกว่าความดันโลหิตขณะหัวใจบีบตัว ดังแสดงให้เห็นในรูปที่ 3.1 คือ pulse pressure กว้างขึ้นอย่างชัดเจน เช่น เมื่อฉีดสารสกัดบรีสุกซ์ R. ขนาด 0.05 มิลลิกรัมความดันโลหิตขณะหัวใจบีบตัวลดลงเฉลี่ย  $11.52 \pm 1.4$  % ในขณะที่ความดันโลหิตขณะหัวใจคลายตัวลดลงเฉลี่ย  $15.78 \pm 4.3$  % หลังจากความดันโลหิตทั้งสองลดลงแล้วจะเกิดการเปลี่ยนแปลงโดย



รูปที่ 3.1 ตัวอย่างการเปลี่ยนแปลงความดันโลหิตของหนูขาวที่สลบ รูป ก. แสดงผลภายหลังให้ normal saline ( NSS ) อีก 3 รูป ( ข. ค. ง. ) แสดงผลภายหลังฉีดสารสกัดบริสุทธิ์จาก *D. cyrtobotryum* (R.) ขนาด 0.05, 0.20, 0.50 มิลลิกรัม

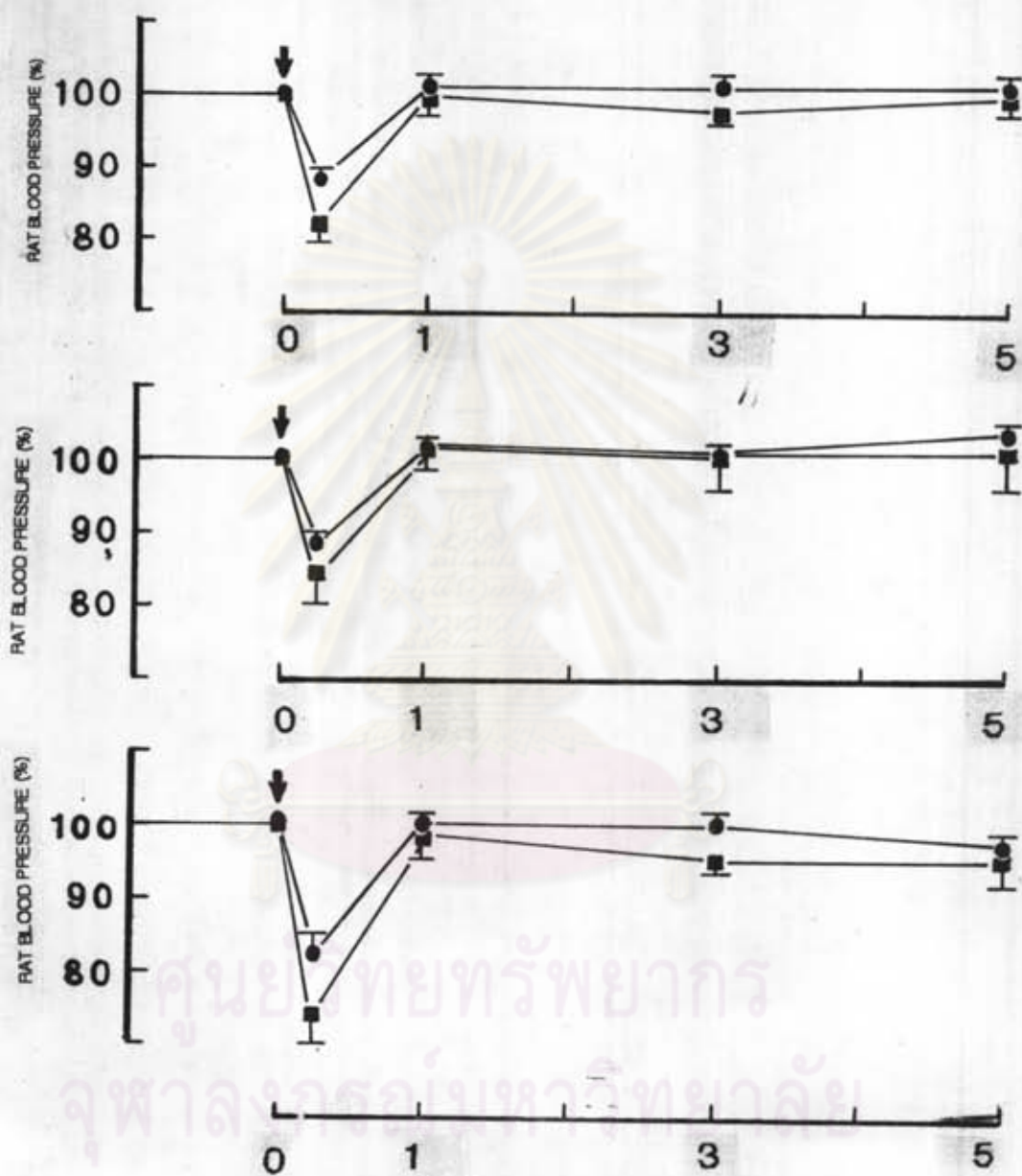
| R.<br>(mg) | แสดงการเปลี่ยนแปลงความดันโลหิตขณะหัวใจบีบตัว (เปอร์เซ็นต์) |                 |                 |                 |                 |
|------------|--|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|            | 0  | ค่าต่ำสุด       | 1 นาที          | 3 นาที          | 5 นาที          |
| 0.05       | 100  | 88.5 $\pm$ 1.4* | 102.0 $\pm$ 2.6 | 102.0 $\pm$ 1.7 | 101.8 $\pm$ 2.9 |
| 0.20       | 100  | 88.5 $\pm$ 1.9* | 102.2 $\pm$ 1.0 | 101.3 $\pm$ 1.5 | 103.8 $\pm$ 1.3 |
| 0.50       | 100  | 82.3 $\pm$ 3.1* | 99.9 $\pm$ 1.3  | 99.1 $\pm$ 1.5  | 97.4 $\pm$ 1.7  |

ตารางที่ 3.1 ผลของสารสกัดบรีสุกซ์จาก *D. cyrtobotryum* (R.) ต่อความดันโลหิตขณะหัวใจบีบตัว (เปอร์เซ็นต์) ของหนูขาวที่สลบหลังฉีดทางหลอดเลือดดำ ( $\bar{x} \pm$  S.E.M.), n = 5, \* p < 0.05

| R.<br>(mg) | แสดงการเปลี่ยนแปลงความดันโลหิตขณะหัวใจคลายตัว (เปอร์เซ็นต์) |                 |                 |                 |                 |
|------------|---|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|            | 0   | ค่าต่ำสุด       | 1 นาที          | 3 นาที          | 5 นาที          |
| 0.05       | 100   | 84.2 $\pm$ 4.3* | 98.7 $\pm$ 3.4  | 97.8 $\pm$ 1.9  | 99.2 $\pm$ 2.7  |
| 0.20       | 100   | 84.0 $\pm$ 3.6* | 102.0 $\pm$ 2.3 | 101.1 $\pm$ 5.0 | 101.0 $\pm$ 3.9 |
| 0.50       | 100   | 74.7 $\pm$ 4.7* | 98.5 $\pm$ 2.1  | 95.6 $\pm$ 1.2* | 95.7 $\pm$ 2.9  |

ตารางที่ 3.2 ผลของสารสกัดบรีสุกซ์จาก *D. cyrtobotryum* (R.) ต่อความดันโลหิตขณะหัวใจคลายตัว (เปอร์เซ็นต์) ของหนูขาวที่สลบหลังฉีดเข้าทางหลอดเลือดดำ ( $\bar{x} \pm$  S.E.M.) n = 5, \* p < 0.05





รูปที่ 3.2 กราฟแสดงผลของสารสกัดบริสุทธิ์จาก *D. cyrtobotryum* (R.) ต่อการเปลี่ยนแปลงความดันโลหิตขณะหัวใจบีบตัว (●) และความดันโลหิตขณะหัวใจคลายตัว (■) ของหนูขาวสลับตามขนาดของ R. และเวลาดับันทึกผล (นาที)  $n = 5$  แต่ละจุดในกราฟ แสดง  $\bar{x} \pm S.E.M.$  คิดเป็นเปอร์เซ็นต์จากค่าปกติก่อนให้สารสกัดบริสุทธิ์ R.

ค่อส ๆ ปรับสู่สภาวะปกติซึ่งใกล้เคียงกับค่าเดิมก่อนให้สารสกัดบรีสุกซ์ R. ขนาด 0.05 และ 0.20 มิลลิกรัม จะทำให้ความดันโลหิตที่ปรับตัวเพิ่มขึ้นนั้นเพิ่มจากค่าเดิมเล็กน้อย แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ไม่พบภาวะ arrhythmia ในหนูทดลองทุกตัว

### การศึกษาออกตัวสัตว์ทดลอง

#### 1. ผลต่ออัตราการเต้นของหัวใจห้องบนขวาที่แยกจากกาย

ในการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดบรีสุกซ์ R. ต่ออัตราการเต้นของหัวใจห้องบนขวาเป็นแบบ cumulative dose เพื่อให้มีความเข้มข้นของสารสกัดบรีสุกซ์ R. ใน chamber 20 มิลลิตร 3 ขนาด คือ  $8.2 \times 10^{-6}$ ,  $3.3 \times 10^{-5}$  และ  $8.2 \times 10^{-5}$  M พบว่ามีผลลดอัตราการเต้นของหัวใจลงมาได้แบบ dose dependent คือ อัตราการเต้นของหัวใจลดลงตามปริมาณสารสกัด และระยะเวลาที่ใส่สารสกัดบรีสุกซ์ R. กับชิ้นเนื้อเยื่อหัวใจห้องบนขวา นอกจากลดอัตราการเต้นของหัวใจแล้วพบว่ามีผลลดแรงบีบตัวของหัวใจตามขนาดที่ให้อีกด้วย

จากผลการทดลองซึ่งรวบรวมดังตารางที่ 3.3 และรูปที่ 3.3 แสดงให้เห็นว่าสารสกัดบรีสุกซ์ R. มีผลลดอัตราการเต้นของหัวใจได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยที่ไม่ทำให้เกิด arrhythmia ในหัวใจห้องบนขวาของหนูทุกตัว ( $n = 9$ ) พบว่าสารสกัดบรีสุกซ์ R. ขนาด  $8.2 \times 10^{-6}$  M มีผลลดอัตราการเต้นของหัวใจได้ภายในเวลา 1 นาที หลังให้โดยลดอัตราการเต้นของหัวใจได้  $2.7 \pm 1.0 \%$  ในนาทีที่ 5 และ  $2.1 \pm 0.9 \%$  ในนาทีที่ 10 ตามลำดับ ( $p < 0.05$ )

สารสกัดบรีสุกซ์ R. ขนาด  $3.3 \times 10^{-5}$  M มีผลลดอัตราการเต้นของหัวใจได้  $6.1 \pm 1.6 \%$  ในนาทีที่ 5 และ  $8.0 \pm 1.6 \%$  ในนาทีที่ 10 ตามลำดับ ( $p < 0.01$ ) และเมื่อให้สารสกัดบรีสุกซ์ R. ขนาด  $8.2 \times 10^{-5}$  M ให้อีกกับชิ้นเนื้อเยื่อพบว่าสามารถลดอัตราการเต้นของหัวใจมากขึ้นอย่างชัดเจน โดยที่สามารถลดอัตราการเต้นของหัวใจได้  $11.5 \pm 2.4$ ,  $15.3 \pm 2.6$ ,  $16.4 \pm 2.5$  และ  $19.5 \pm 3.8 \%$  ในนาทีที่ 1, 3, 5 และ 10 ตามลำดับ ( $p < 0.001$ )

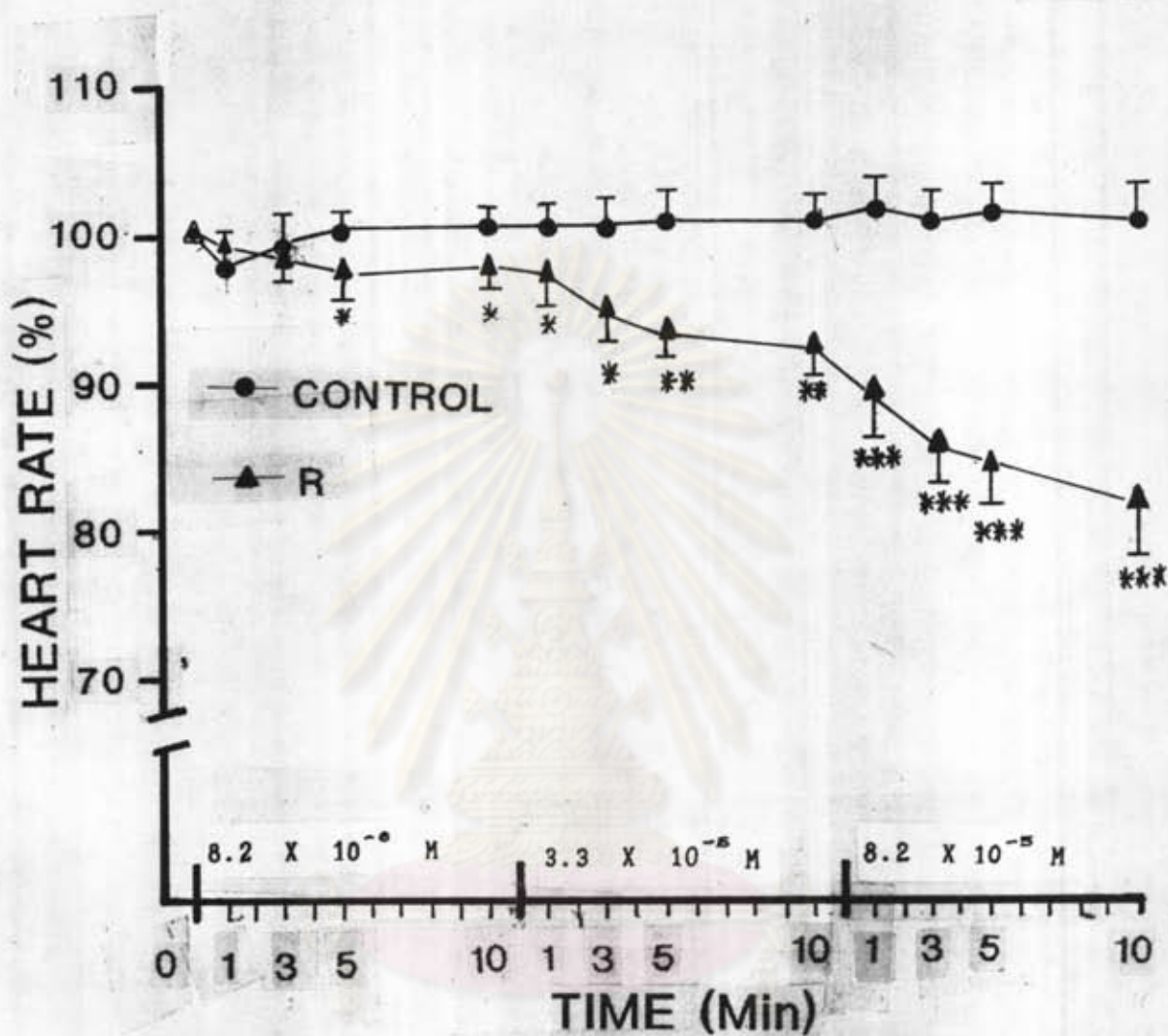
อย่างไรก็ตามแม้ว่าสารสกัดบรีสุกซ์ R. สามารถลดอัตราการเต้นของหัวใจได้

|               |     | อัตราการเดินของหัวใจห้องบนขวา (x) |                        |      |       |       |                        |       |        |        |                      |         |         |         |
|---------------|-----|-----------------------------------|------------------------|------|-------|-------|------------------------|-------|--------|--------|----------------------|---------|---------|---------|
|               |     | ก่อน                              | เวลา (นาที)            |      |       |       |                        |       |        |        |                      |         |         |         |
|               |     |                                   | 1                      | 3    | 5     | 10    | 1                      | 3     | 5      | 10     | 1                    | 3       | 5       | 10      |
| กลุ่ม         | 100 | $\bar{x}$                         | 98.8                   | 99.6 | 100.5 | 100.5 | 100.6                  | 100.8 | 101.0  | 100.7  | 101.5                | 100.6   | 101.2   | 100.8   |
| ควบคุม        |     | SE                                | 1.2                    | 1.1  | 0.8   | 0.8   | 1.2                    | 1.3   | 1.5    | 1.6    | 2.0                  | 1.9     | 2.1     | 2.0     |
| (n=9)         |     |                                   |                        |      |       |       |                        |       |        |        |                      |         |         |         |
| กลุ่ม         | 100 | $\bar{x}$                         | 99.4                   | 98.4 | 97.3* | 97.9* | 96.9*                  | 94.6* | 94.0** | 92.1** | 88.7**               | 85.2*** | 84.3*** | 82.7*** |
| ทดลอง         |     | SE                                | 0.4                    | 0.8  | 1.0   | 0.9   | 1.6                    | 1.9   | 1.6    | 1.9    | 2.5                  | 2.8     | 2.7     | 4.0     |
| (n=9)         |     |                                   |                        |      |       |       |                        |       |        |        |                      |         |         |         |
| ปริมาณสารสกัด |     |                                   | $8.2 \times 10^{-6}$ M |      |       |       | $3.3 \times 10^{-5}$ M |       |        |        | $8.2 \times 10^{-5}$ |         |         |         |
| บริสุทธิ์ R.  |     |                                   |                        |      |       |       |                        |       |        |        |                      |         |         |         |

ตารางที่ 3.3 แสดงร้อยละของการเปลี่ยนแปลงอัตราการเดินของหัวใจห้องบนขวาที่แยกจากกษัยจากผลของสารสกัดจาก *D. cyrtobotryum*(R.) เป็น cumulative dose เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ( $\bar{x} \pm S.E.M.$ ) , n = 9

\* p < 0.05 , \*\* p < 0.01 , \*\*\* p < 0.001





รูปที่ 3.3 แสดงผลของสารสกัดจาก *D. cyrtobotryum* (R.) ต่ออัตราการเต้นของหัวใจห้องบนขวาที่แยกจากกายเป็น cumulative dose  $8.2 \times 10^{-6}$ ,  $3.3 \times 10^{-5}$ ,  $8.2 \times 10^{-5}$  M ทุกจุดเป็น  $\bar{x} \pm S.E.M.$ ,  $n = 9$

\*  $p < 0.05$

\*\*  $p < 0.01$

\*\*\*  $p < 0.001$

อย่างชัดเจน และมีผลลดแรงบีบตัวของหัวใจร่วมด้วยโดยไม่พบภาวะ arrhythmia เมื่อล้างชิ้นเนื้อเยื่อหัวใจด้วยสารละลาย Ringer Locke หลาย ๆ ครั้ง และให้ชิ้นเนื้อเยื่อได้ incubate นานพอ พบว่า หัวใจห้องบนขวาที่แยกจากกายสามารถเต้นได้ดีสู่สภาพปกติก่อนการทดลอง

## 2. ผลต่อแรงบีบตัวของหัวใจห้องบนซ้ายที่แยกจากกาย

การศึกษาผลต่อแรงบีบตัวของหัวใจห้องบนซ้ายที่แยกจากกาย โดยให้สารสกัดบริสุทธิ์ R. เป็น cumulative dose เพื่อให้มีความเข้มข้นใน chamber 20 มิลลิลิตร 3 ขนาดคือ  $8.2 \times 10^{-6}$  M,  $3.3 \times 10^{-5}$ , และ  $8.2 \times 10^{-5}$  M ตามลำดับ ในขณะที่กระตุ้นชิ้นเนื้อเยื่อหัวใจห้องบนซ้าย ให้เกิดการบีบตัวด้วยกระแสไฟฟ้าในอัตราคงที่ดังแสดงผลในตารางที่ 3.4 และ รูปที่ 3.4

ผลการศึกษาเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ให้สารสกัดบริสุทธิ์ R. พบว่า สารสกัดบริสุทธิ์ R. มีผลก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงดังนี้ ขนาด  $8.2 \times 10^{-6}$  M มีผลต่อแรงบีบตัวของหัวใจน้อยมาก แต่เมื่อให้ cumulative dose ขนาด  $3.3 \times 10^{-5}$  M มีผลลดแรงบีบตัวของหัวใจห้องบนซ้ายได้เล็กน้อยแต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ และสารสกัดบริสุทธิ์ R. ขนาด  $8.2 \times 10^{-5}$  M มีผลลดแรงบีบตัวของหัวใจห้องบนซ้ายที่แยกจากกายได้มากขึ้น คือ  $6.02 \pm 2.8\%$  ในนาทีที่ 5  $p < 0.05$ ,  $n=5$  และลดได้  $5.3 \pm 1.9\%$  ในนาทีที่ 10  $p < 0.05$

## 3. ผลต่อความสามารถในการนำกระแสไฟฟ้าของกล้ามเนื้อหัวใจ

การศึกษากฎของสารสกัดบริสุทธิ์ R. ต่อการนำกระแสไฟฟ้าของกล้ามเนื้อหัวใจห้องบนซ้ายที่แยกจากกายที่ถูกกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้า 5 - 6 โวลต์ เป็นจังหวะสม่ำเสมอ 250 ครั้งต่อนาทีซึ่งเป็นค่าปกติ จากนั้นเพิ่มอัตราเร็วของการกระตุ้นประมาณ 50 ครั้งต่อนาทีเป็นระยะเวลา 3 นาที ติดต่อกันจนกระทั่งทำให้หัวใจห้องบนซ้ายเกิด arrhythmia จึงหยุดกระตุ้น และลดความเร็วของการกระตุ้นเหลือ 250 ครั้งต่อนาที และ incubate จนคงที่เป็นค่าควบคุม

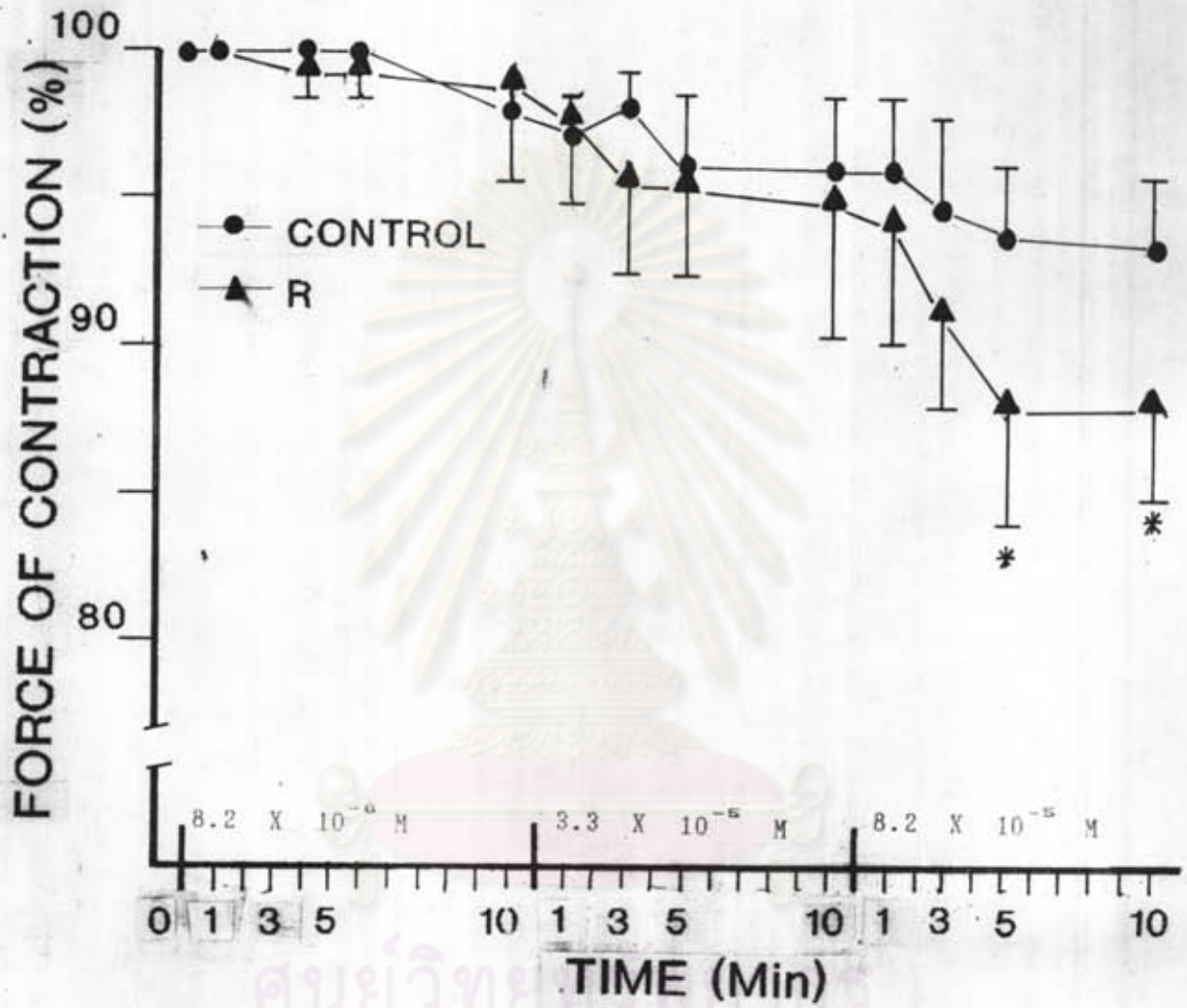
จากการศึกษาในหัวใจห้องบนซ้ายที่แยกจากกายหนูขาว 8 ตัว พบว่าเมื่อให้สารสกัดบริสุทธิ์ R. ขนาด  $1.6 \times 10^{-4}$  M สามารถเพิ่มความถี่ต่ำสุดของการกระตุ้นที่ทำให้เกิดภาวะ arrhythmia ได้ 6 ตัว โดยที่ความถี่ของการกระตุ้นที่ทำให้เกิด arrhythmia เพิ่ม



|                              |       | แรงบีบตัวของหัวใจห้องบนซ้าย (%) = FORCE OF CONTRACTION |      |      |      |                          |      |      |      |                          |      |       |       |    |
|------------------------------|-------|--|------|------|------|--------------------------|------|------|------|--------------------------|------|-------|-------|----|
|                              |       | เวลา (นาที)  |      |      |      |                          |      |      |      |                          |      |       |       |    |
|                              |       | 0  | 1    | 3    | 5    | 10                       | 1    | 3    | 5    | 10                       | 1    | 3     | 5     | 10 |
| กลุ่มควบคุม<br>(n=5)         | 100 x | 100  | 100  | 100  | 98.1 | 97.3                     | 98.1 | 96.7 | 96.1 | 96.1                     | 94.8 | 93.8  | 93.2  |    |
|                              | SE    | -  | -    | -    | 1.2  | 1.7                      | 1.2  | 2.0  | 2.5  | 2.5                      | 2.8  | 2.3   | 2.7   |    |
| กลุ่มทดลอง<br>(n=5)          | 100 x | 100  | 99.3 | 99.3 | 98.8 | 97.8                     | 95.5 | 95.5 | 94.7 | 94.0                     | 91.2 | 87.8* | 87.9* |    |
|                              | SE    | -  | 0.7  | 0.7  | 3.3  | 2.5                      | 2.8  | 2.8  | 4.4  | 4.3                      | 3.2  | 3.8   | 3.4   |    |
| ปริมาณสารสกัด<br>บิวสโทรี R. |       | 8.2 X 10 <sup>-6</sup> M                               |      |      |      | 3.3 X 10 <sup>-5</sup> M |      |      |      | 8.2 X 10 <sup>-5</sup> M |      |       |       |    |

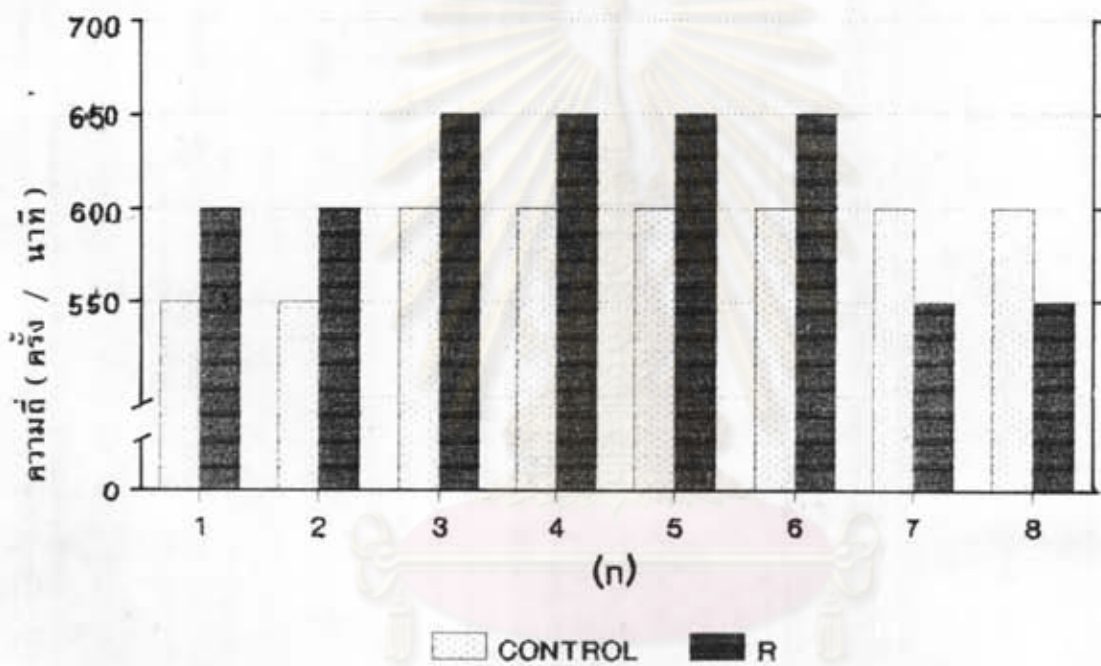
ตารางที่ 3.4 แสดงร้อยละของการเปลี่ยนแปลงแรงบีบตัวของหัวใจห้องบนซ้ายที่แยกจากกลาย จากผลของสารสกัดจาก *D. cyrtobotryum* (R.) เป็น cumulative dose เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

\* p < 0.05



รูปที่ 3.4 แสดงผลของสารสกัดจาก *D. cyrtobotryum* (R.) ต่อแรงบีบตัวของหัวใจห้องบนซ้ายที่แยกจากกายเป็น cumulative dose  $8.2 \times 10^{-6}$ ,  $3.3 \times 10^{-5}$ ,  $8.2 \times 10^{-5}$  M ทุกจุดบนกราฟเป็น  $\bar{x} \pm S.E.M$  ,  $n = 9$

\*  $p < 0.05$



รูปที่ 3.5 ผลของสารสกัดจาก D. cyrtobotryum (R.) ต่อการนำกระแสไฟฟ้าของกล้ามเนื้อหัวใจห้องบนซ้ายของหนูขาวที่แยกจากกาย ซึ่งถูกกระตุ้นด้วยความแรงและ duration คงที่ ก่อนเพิ่มความถี่ของการกระตุ้นจนกระทั่งเกิดหัวใจเต้นผิดจังหวะ (n=8)



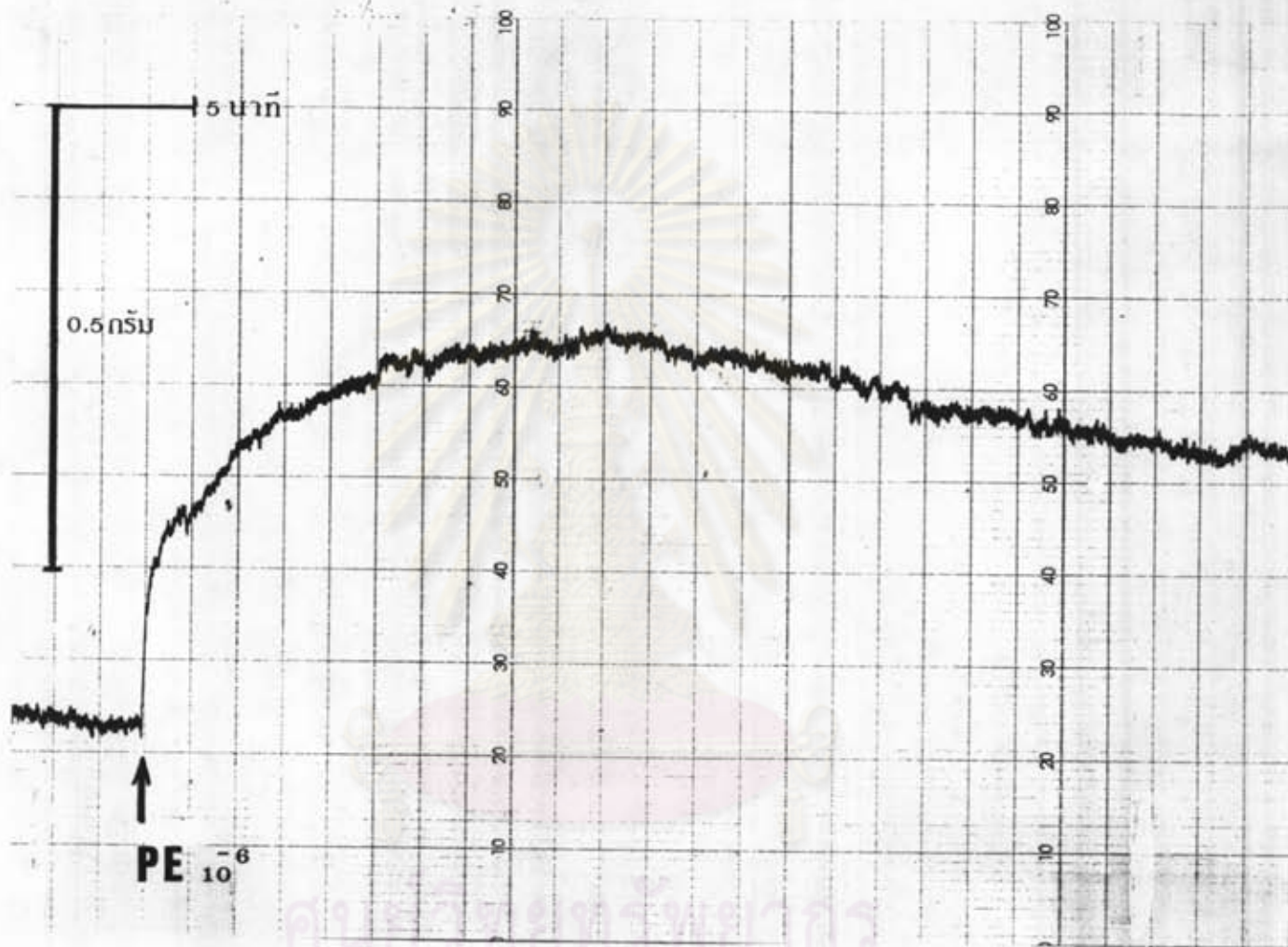
จาก 550 ครั้งต่อนาทีเป็น 600 ครั้งต่อนาที 2 ตัว และเพิ่มจาก 600 ครั้งต่อนาทีเป็น 650 ครั้งต่อนาที 4 ตัว โดยความถี่ต่ำสุดที่ทำให้หัวใจห้องบนซ้ายเต้นผิดจังหวะได้เพิ่มขึ้นเฉลี่ย  $41.67 \pm 3.7$  % เมื่อเปรียบเทียบกับค่าควบคุมก่อนให้สารสกัดบริสุทธิ์ R.

ในทางตรงกันข้ามในการทดลองในหนูกลุ่มเดียวกันนี้ พบว่าสารสกัดบริสุทธิ์ R. ลดความถี่ต่ำสุดของการกระตุ้น ที่ทำให้เกิดภาวะ arrhythmia 2 ตัว คือลดความถี่ต่ำสุดจาก 600 ครั้งต่อนาทีเป็น 550 ครั้งต่อนาที หรือทำให้เกิด arrhythmia ได้เร็วขึ้น โดยความถี่ต่ำสุดของการกระตุ้น ที่ทำให้เกิดการเต้นผิดจังหวะลดลง โดยเฉลี่ย  $33.33$  % เมื่อเปรียบเทียบกับค่าควบคุมก่อนให้สารสกัดบริสุทธิ์ R. ดังแสดงในรูปที่ 3.5

#### 4. ผลของสารสกัดจาก *D. cyrtobotryum* ต่อการหดเกร็งของหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาวที่แยกจากกาย

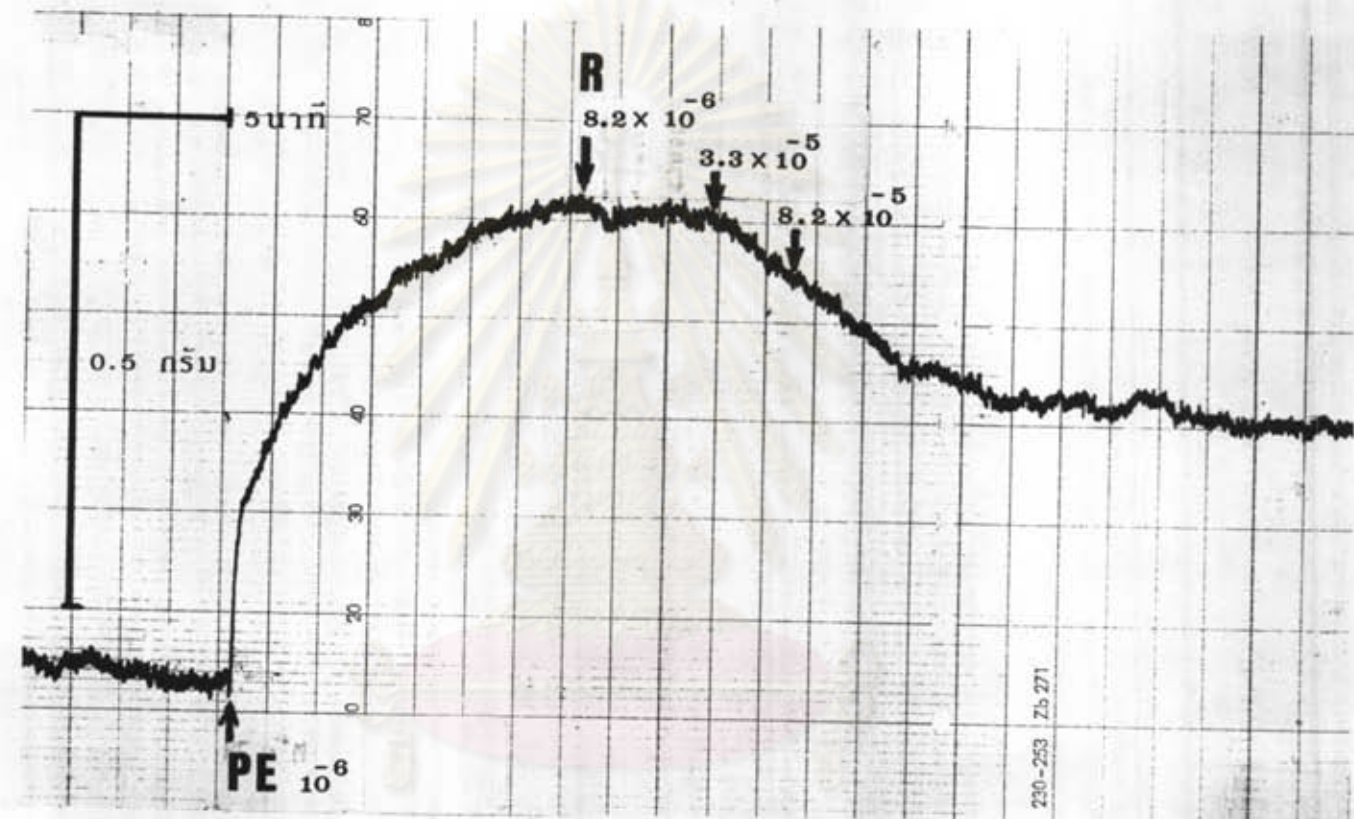
ในการศึกษาผลของสารสกัดบริสุทธิ์ R. ต่อการหดเกร็งของหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาวที่แยกจากกายโดยใช้หลอดเลือด thoracic aorta ซึ่งมี tension ของหลอดเลือดจากการดึง isometric transducer เมื่อ incubate นานพอจน base line คงที่แล้วกระตุ้นให้เกิดการหดเกร็งของกล้ามเนื้อเรียบด้วย alpha -1- adrenoceptor agonist คือ phenylephrine  $1 \times 10^{-6}$  M เพื่อให้เกิดการหดเกร็งสูงสุดของหลอดเลือดจากนั้นทดสอบผลต่อการหดเกร็งของหลอดเลือดโดยให้สารสกัดบริสุทธิ์ R. 3 ขนาดคือ  $8.2 \times 10^{-6}$  M,  $3.3 \times 10^{-5}$  M และ  $8.2 \times 10^{-5}$  M พบว่าสามารถลดการหดเกร็งของหลอดเลือดลงได้ดังแสดงในรูปที่ 3.7

เมื่อทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดบริสุทธิ์ R. ขนาด  $1.6 \times 10^{-4}$  M พบว่าทันทีที่ให้สารสกัดบริสุทธิ์ R. ลงไปใน chamber มีผลลดการหดเกร็งของหลอดเลือดได้ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า tension ของหลอดเลือดลดลงอย่างชัดเจน โดยในนาทีที่ 1 ลดลงเฉลี่ย  $7.6 \pm 0.9$  % เมื่อเปรียบเทียบกับก่อนที่ให้สารสกัดบริสุทธิ์ R. และแรงหดเกร็งของหลอดเลือดลดลงได้มากขึ้น  $17.6 \pm 1.3$  % ในนาทีที่ 3,  $24.8 \pm 1.7$  % ในนาทีที่ 5,  $33.5 \pm 1.9$  % ในนาทีที่ 10 และลดลงได้มากที่สุด ในนาทีที่ 15 โดยมีแรงหดเกร็งของหลอดเลือดลดลงเฉลี่ย  $36.1 \pm 2.2$  % ดังแสดงในตารางที่ 3.5 และ รูปที่ 3.8 และ 3.9 ซึ่งการลดการหดเกร็งของหลอดเลือดนี้มีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม,  $n = 5$



ศูนย์วิจัยทางการแพทย์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 3.6 แสดงการหดเกร็งของหลอดเลือดแดงใหญ่ aorta ที่แยกจากกาย เมื่อถูกกระตุ้นด้วย alpha-1-adrenoceptor agonist คือ phenylephrine (PE)  $10^{-6}$  M



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 3.7 แสดงผลการคลายตัวของหลอดเลือดแดง aorta เมื่อให้สารสกัดจาก

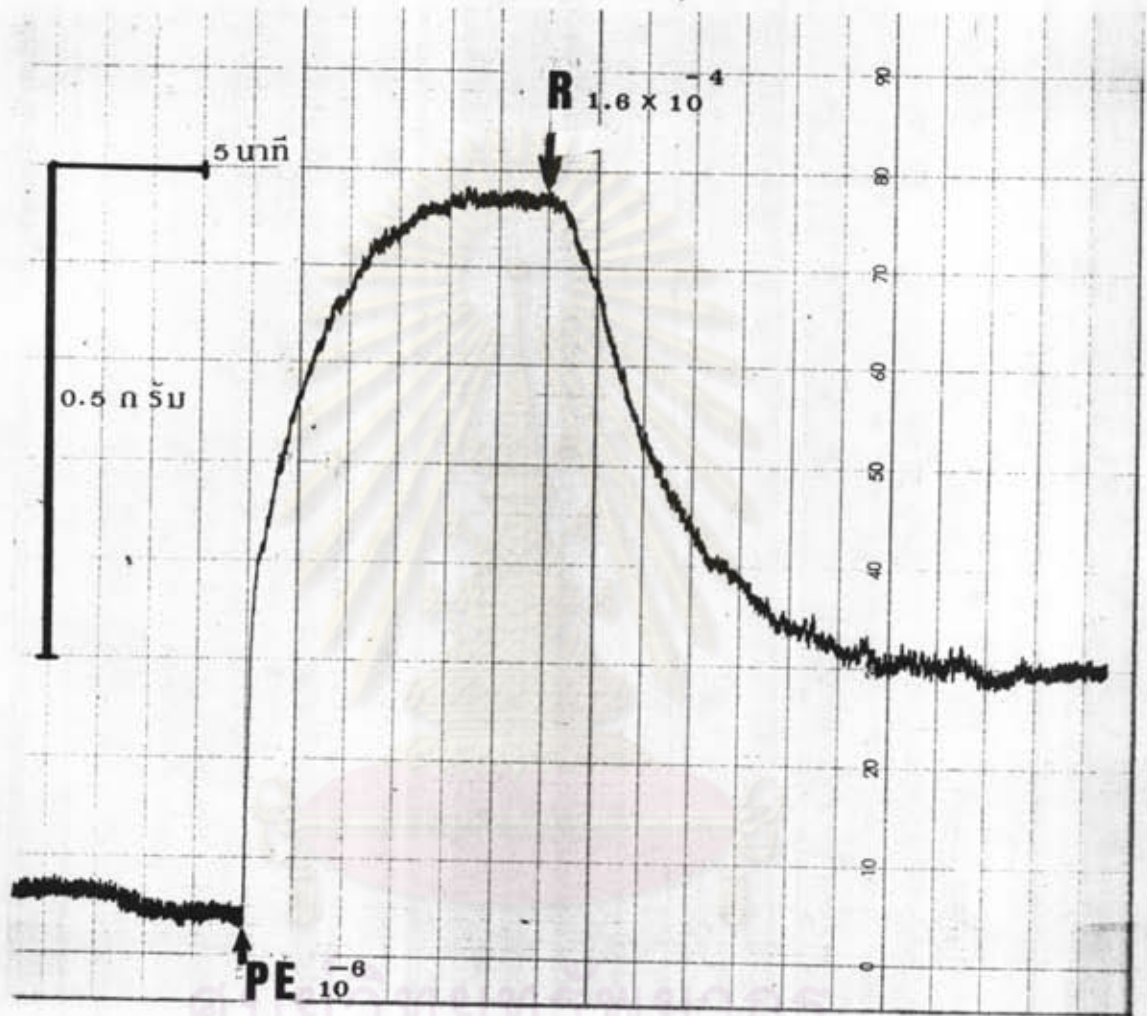
D. cyrtobotryum (R) หลังกระตุ้นให้เกิดการหดเกร็งด้วย phenylephrine (PE) 10<sup>-6</sup> M



| การหดเกร็งของหลอดเลือดแดง thoracic aorta (%) |             |                         |                        |                         |                         |                         |
|--|-------------|-------------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
|  | เวลา (นาที) |                         |                        |                         |                         |                         |
|  | 0           | 1                       | 3                      | 5                       | 10                      | 15                      |
| Control<br>(n = 5)                           | 100         | 99.2±0.8                | 97.1±2.5               | 96.7±2.4                | 95.0±3.7                | 94.0±3.4                |
| R.<br>1.6X10 <sup>-4</sup> M<br>(n=5)        | 100         | 92.4±0.9 <sup>***</sup> | 82.4±1.4 <sup>**</sup> | 75.2±1.7 <sup>***</sup> | 66.5±1.9 <sup>***</sup> | 63.9±2.2 <sup>***</sup> |

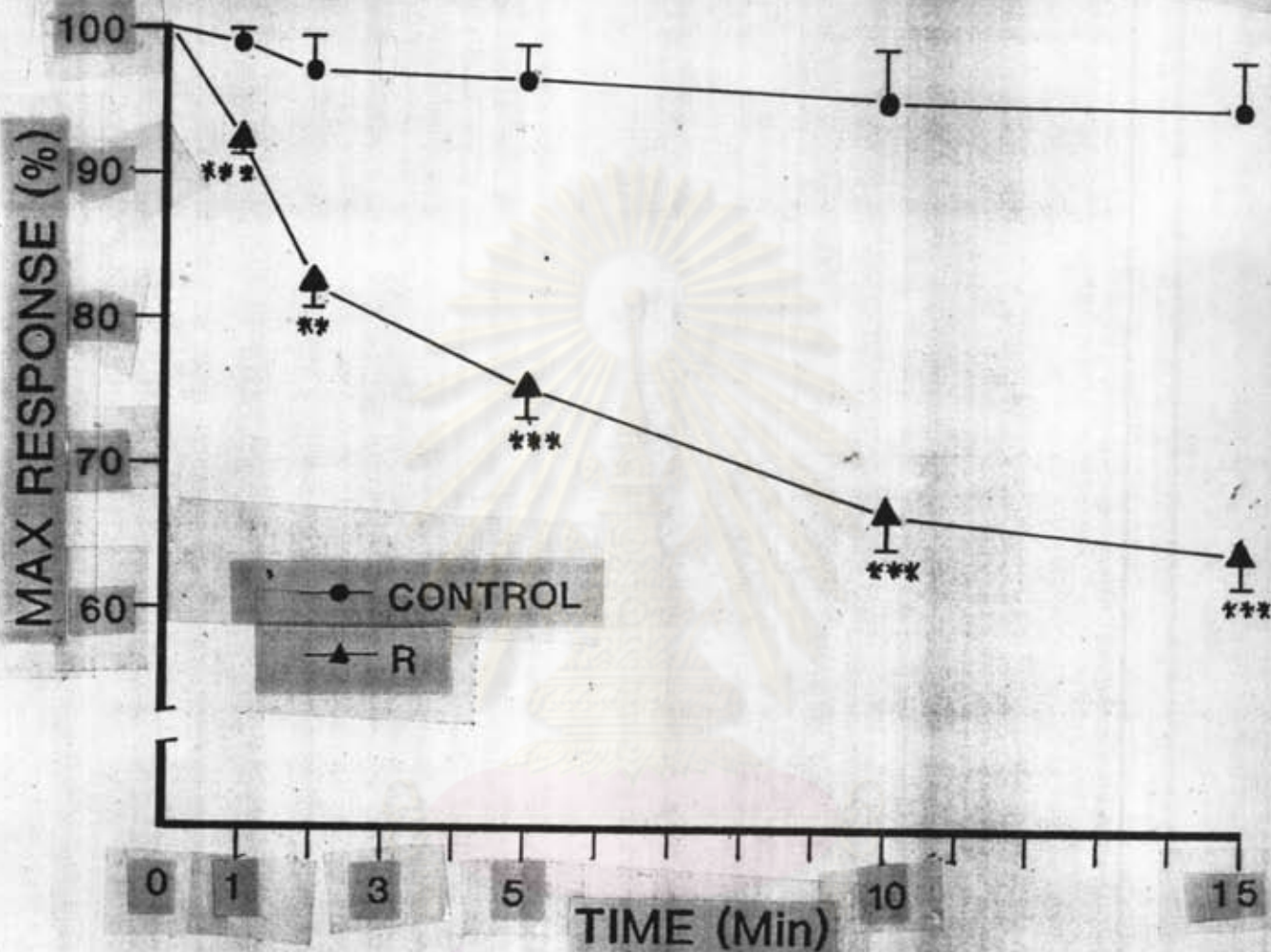
ตารางที่ 3.5 แสดงผลของสารสกัดจาก D. cyrtobotryum (R.) ขนาด 1.6 X 10<sup>-4</sup> M ต่อการหดเกร็งของหลอดเลือดแดง thoracic aorta ที่แยกจากกายซึ่งถูกกระตุ้นให้เกิดการหดเกร็งด้วย phynylephrine ขณะที่ endothelium เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม n=5,  $\bar{x}$ ±S.E.M.

\*\* p < 0.01, \*\*\* p < 0.001



ศูนย์เภสัชวิทยา  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 3.8 แสดงฤทธิ์ของสารสกัดจาก *D. cyrtobotryum* ( $R$ )  $1.6 \times 10^{-4}$  M ในการคลายตัวของหลอดเลือดแดง aorta ซึ่งถูกกระตุ้นให้เกิดการหดเกร็งด้วย phenylephrine (PE)  $10^{-6}$  M

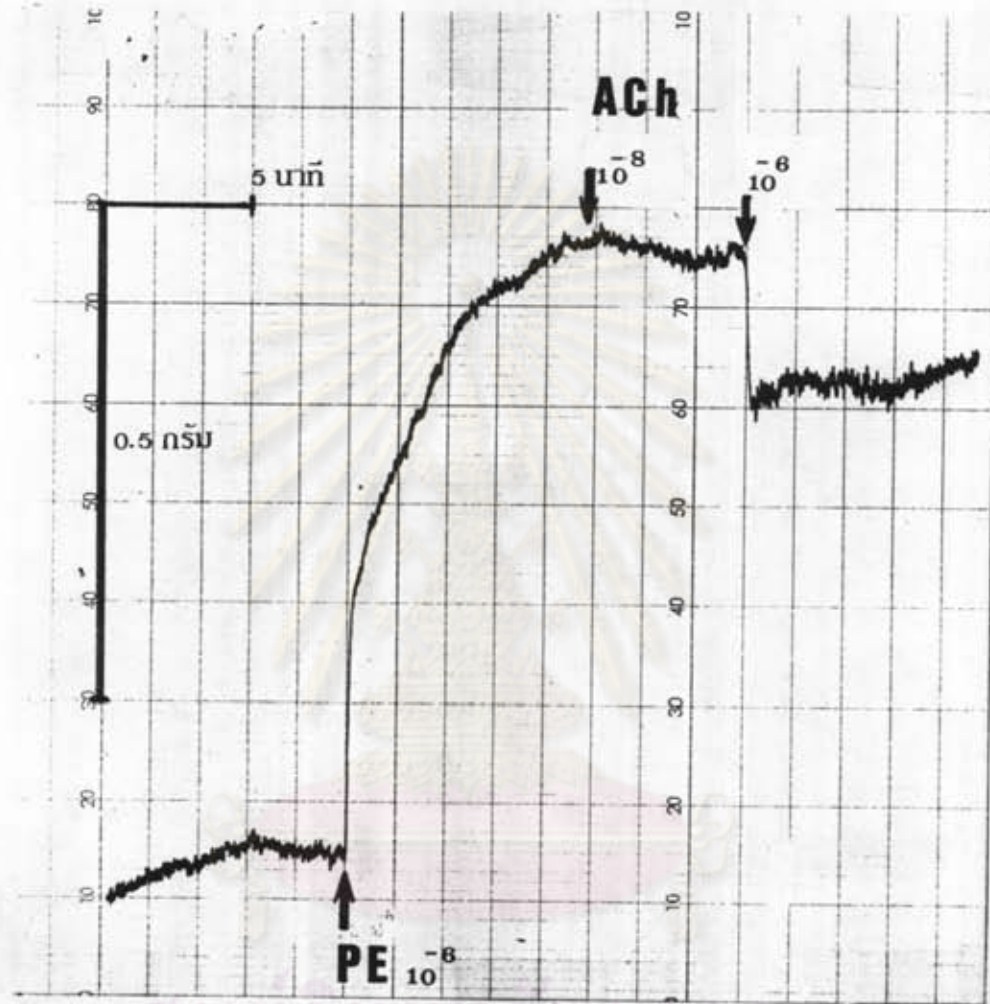


รูปที่ 3.9 แสดงผลของสารสกัดจาก *D. cyrtobotryum* (R.)  $1.6 \times 10^{-4}$  M ต่อการหดเกร็งของหลอดเลือดแดง aorta ที่แยกจากกาย ซึ่งถูกกระตุ้นให้เกิดการหดเกร็งด้วย phenylephrine ขณะที่ endothelium (▲—▲) เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (●—●) n=5

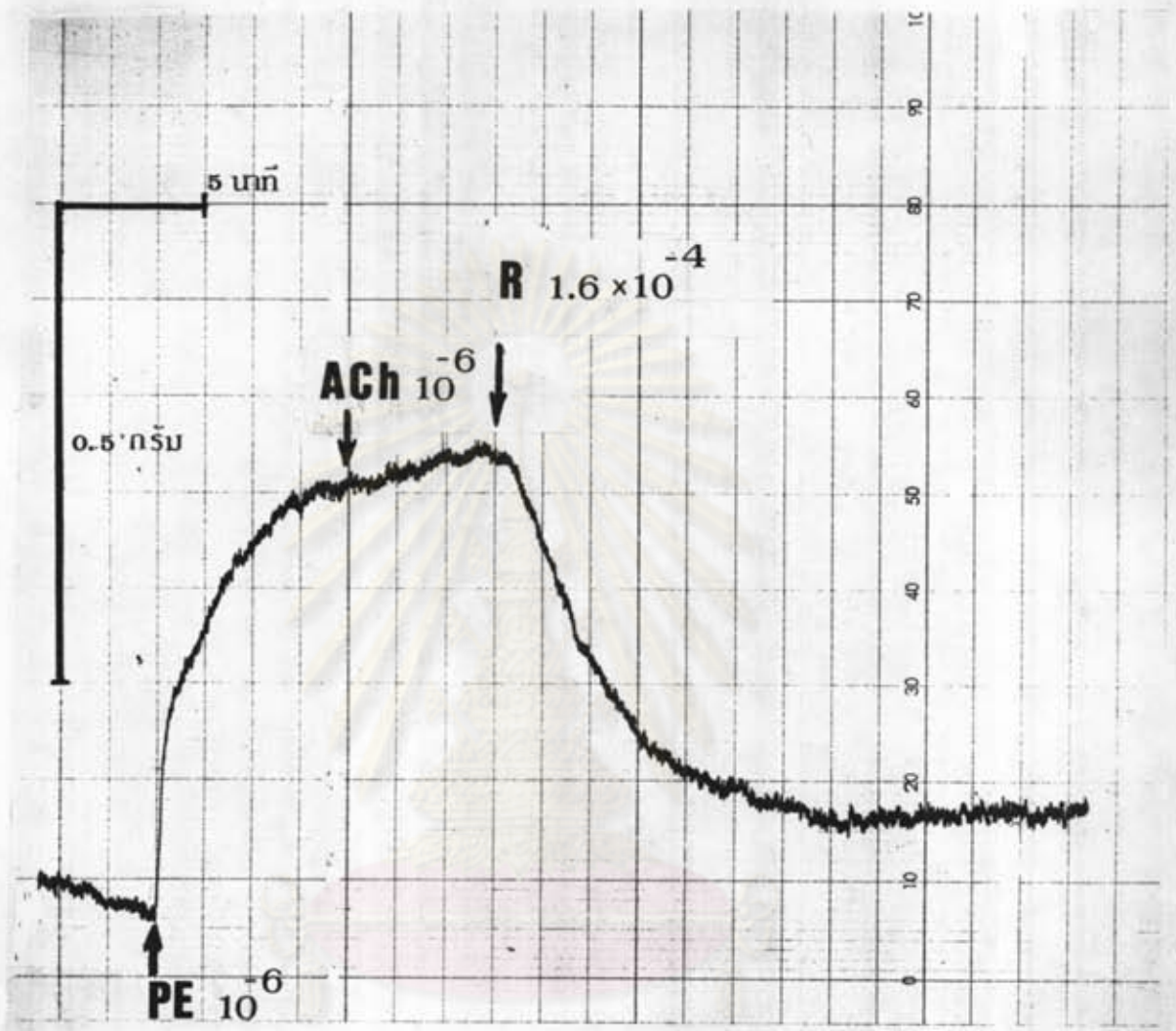
\*\* p < 0.01

\*\*\* p < 0.001



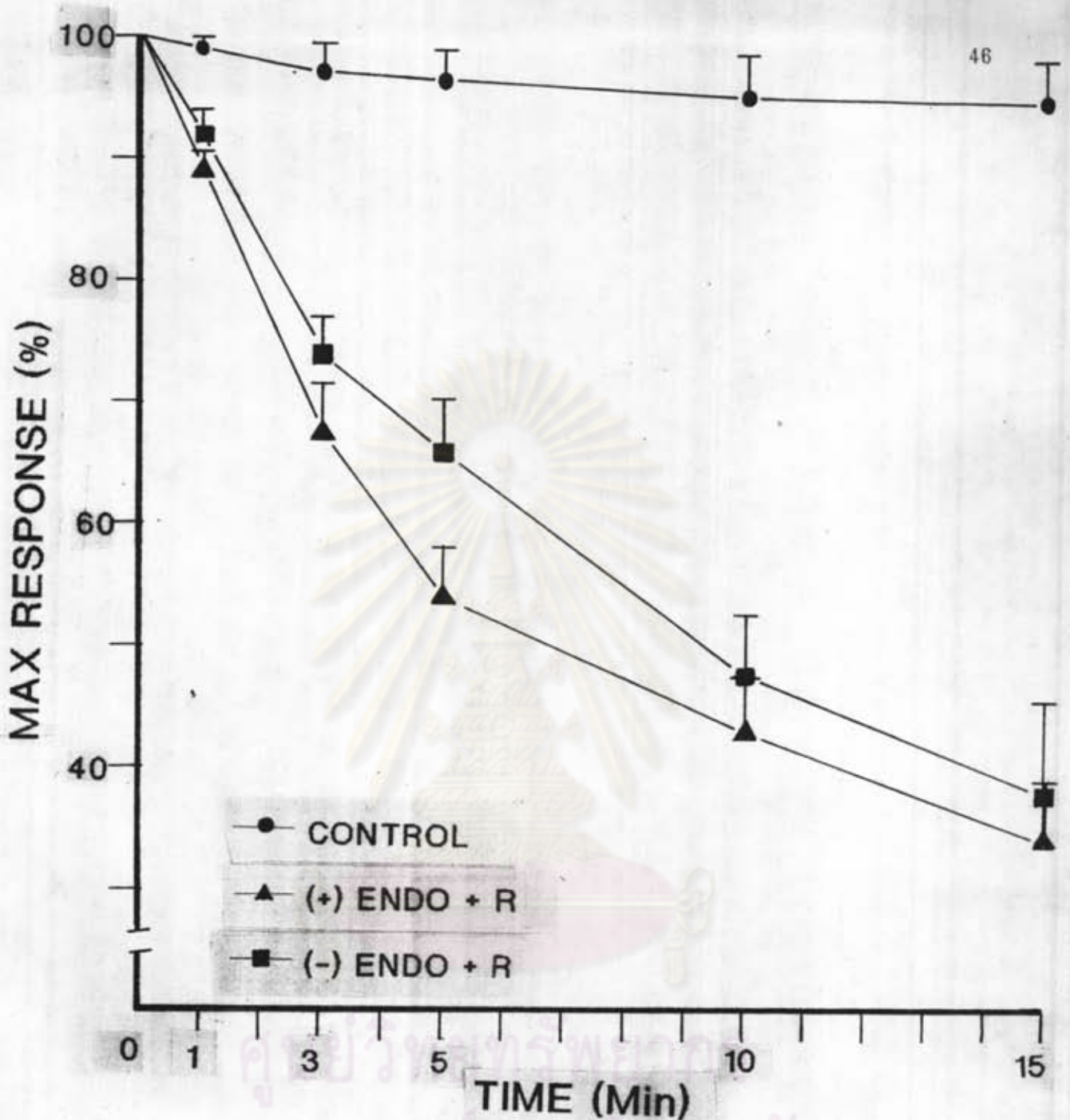


รูปที่ 3.10 แสดงผลของ acetylcholine (ACh) ขนาด  $10^{-8}$  และ  $10^{-6}$  M ในการคลายตัวของหลอดเลือด ซึ่งถูกกระตุ้นด้วย phenylephrine (PE)  $10^{-8}$  M ก่อนชุด endothelium



## ศูนย์วิทยุทรัพยากร

รูปที่ 3.11 แสดงผลของการหดเกร็งของหลอดเลือดหลังชุด endothelium แล้วใช้ acetylcholine (endothelium dependent vasodilator) เป็นตัวทดสอบว่าไม่มี endothelium จากนั้นทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจาก *D. cyrtobotryum* (R.)  $1.6 \times 10^{-4}$  M พบว่ายังคงสามารถลดการหดเกร็งของหลอดเลือดได้ชัดเจน



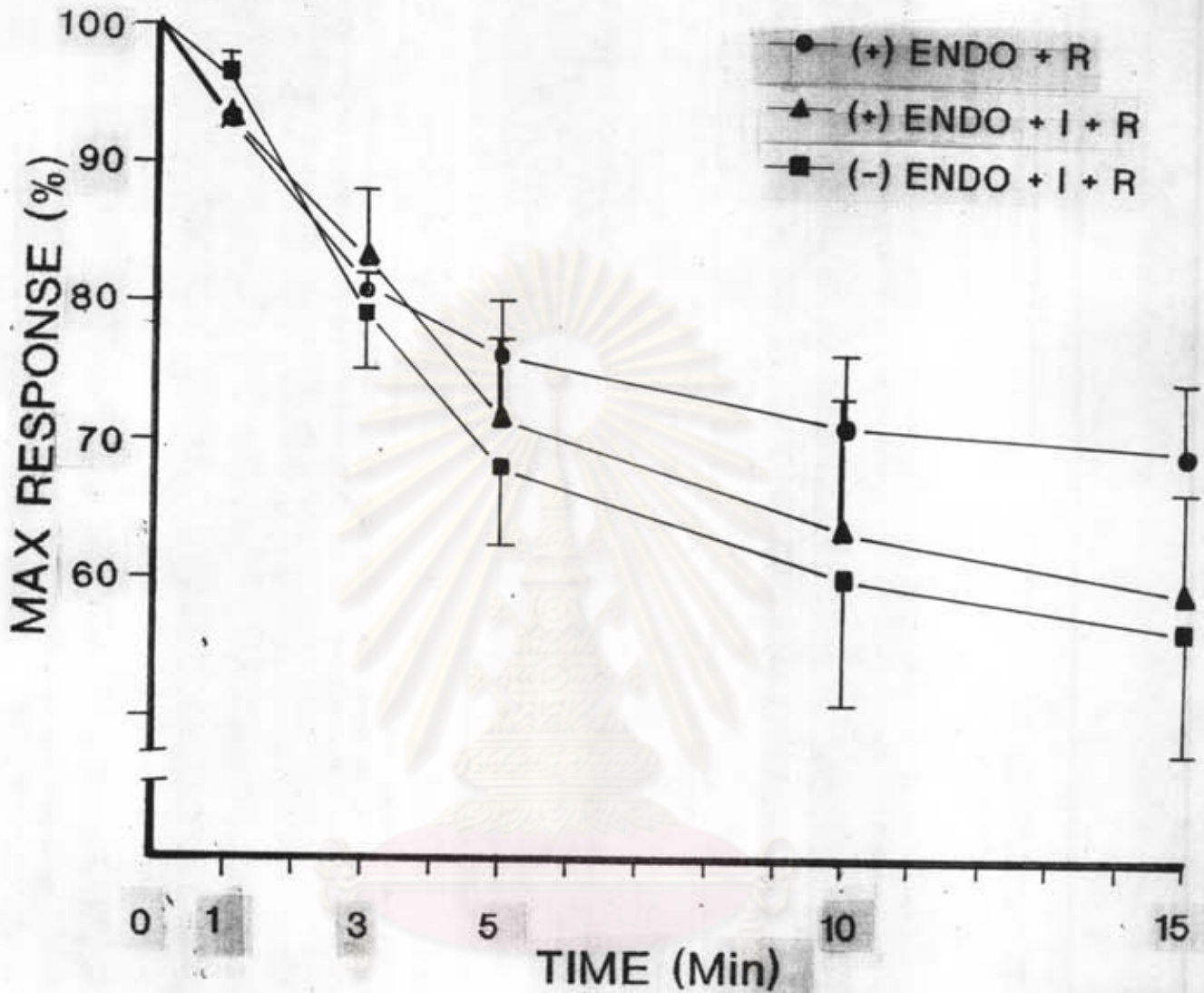
รูปที่ 3.12 แสดงผลของสารสกัดจาก *D. cyrtobotryum* (R.)  $1.6 \times 10^{-4}$  M ต่อการหดเกร็งของหลอดเลือด thoracic aorta ที่แยกจากกาย ซึ่งกระตุ้นให้เกิดการหดเกร็งด้วย phenylephrine ขณะที่ endothelium และไม่มี endothelium,  $\bar{x} \pm$  S.E.M., n=5

- control
- ▲—▲ มี endothelium, R. =  $1.6 \times 10^{-4}$  M
- ไม่มี endothelium, R. =  $1.6 \times 10^{-4}$  M



| การหดเกร็งของหลอดเลือดแดง thoracic aorta (%) |            |                |                |                |                |                |
|--|------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| R.<br>$1.6 \times 10^{-4}$ M                 | เวลา(นาที) |                |                |                |                |                |
|  | 0          | 1              | 3              | 5              | 10             | 15             |
| Control<br>(endothelium)                     | 100        | 93.2 $\pm$ 1.2 | 80.1 $\pm$ 3.6 | 76 $\pm$ 4.1   | 70.6 $\pm$ 5.3 | 68.9 $\pm$ 5.6 |
| endothelium<br>+<br>Indomethacin             | 100        | 93.2 $\pm$ 2.3 | 82.8 $\pm$ 5.5 | 71.3 $\pm$ 6.4 | 63.6 $\pm$ 9.7 | 58.7 $\pm$ 7.9 |
| no-endothelium<br>+<br>indomethacin          | 100        | 96.0 $\pm$ 0.9 | 79.6 $\pm$ 3.9 | 67.9 $\pm$ 5.6 | 60.4 $\pm$ 9.0 | 56.5 $\pm$ 9.2 |

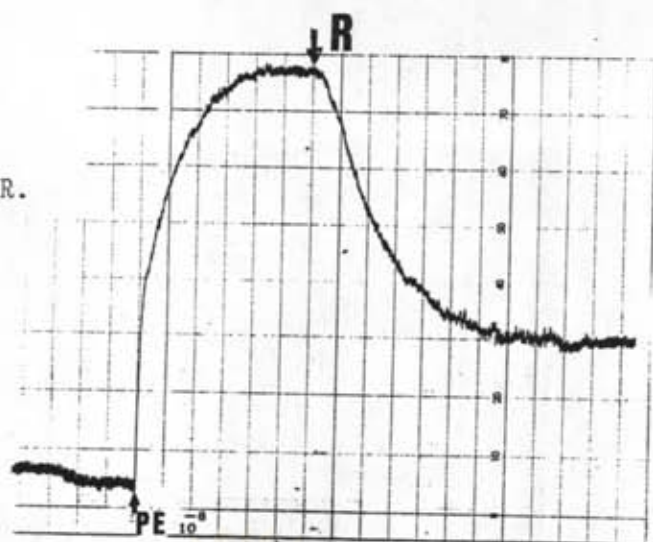
ตารางที่ 3.7 แสดงผลของสารสกัดจาก D. cyrtobotryum (R.)  $1.6 \times 10^{-4}$  M ต่อการหดเกร็งของหลอดเลือด thoracic aorta ที่แยกจากกายที่ถูกระตุ้นให้เกิดการหดเกร็งด้วย phenylephrine ก่อน และหลังการ block ด้วย indomethacin  $2 \times 10^{-5}$  M ทั้งที่มี endothelium และไม่มี endothelium,  $n=4$ ,  $\bar{x} \pm$  S.E.M.



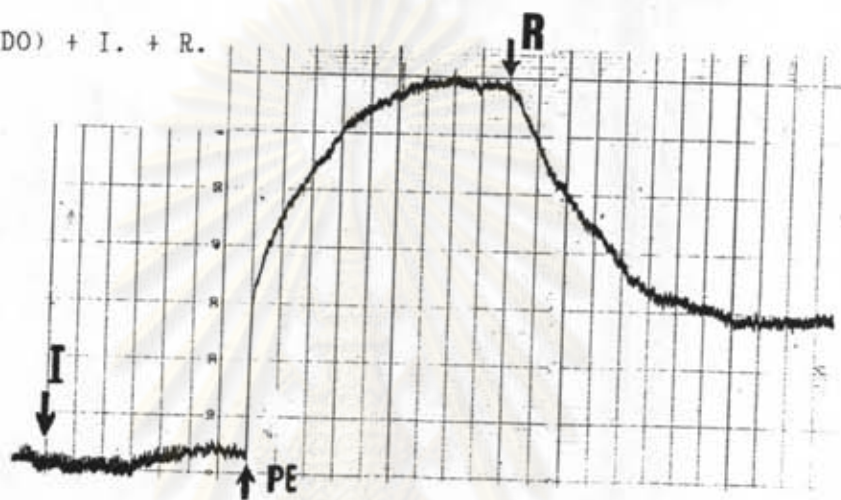
รูปที่ 3.13 แสดงผลของสารสกัดจาก *D. cyrtobotryum* (R.)  $1.6 \times 10^{-4}$  M ต่อการหดเกร็งของหลอดเลือด thoracic aorta ที่แยกจากกวาง ที่ถูกกระตุ้นให้เกิดการหดเกร็งด้วย phenylephrine ก่อนและหลังการ block ด้วย indomethacin  $2 \times 10^{-5}$  M ทั้งที่มี endothelium และไม่มี endothelium  $n = 4$  ,  $\bar{x} \pm$  S.E.M.

- endothelium + R. =  $1.6 \times 10^{-4}$  M
- ▲ endothelium + indomethacin + R. =  $1.6 \times 10^{-4}$  M
- no-endothelium + indomethacin + R. =  $1.6 \times 10^{-4}$  M

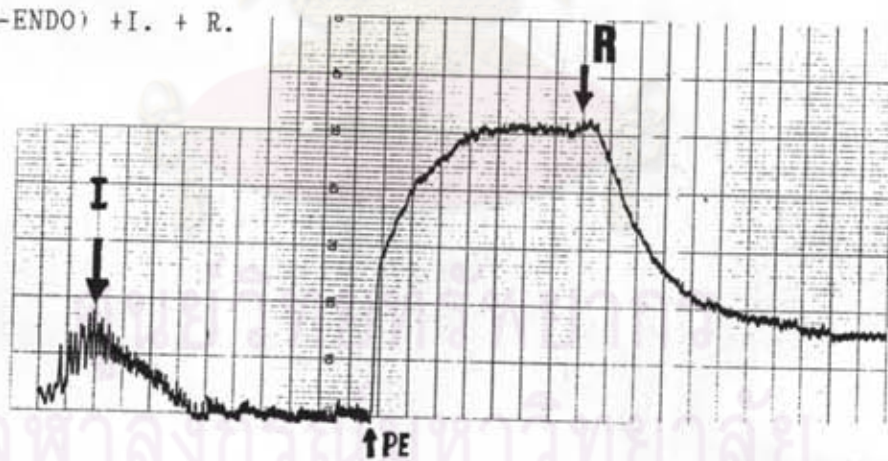
1...(+ENDO) + R.



2...(+ENDO) + I. + R.



3...(-ENDO) + I. + R.



รูปที่ 3.14 แสดงผลของสารสกัดจาก *D. cyrtobotryum* (R)  $1.6 \times 10^{-4}$  M. ต่อการหดเกร็งของหลอดเลือด thoracic aorta ที่ขยับจากภาวะที่ถูกกระตุ้นด้วย phenylephrine (PE)  $10^{-8}$  M ก่อน...(1) และหลังการ block ด้วย indomethacin (I)  $2 \times 10^{-5}$  M ทั้งที่มี endothelium (+ENDO)...(2) และไม่มี endothelium (-ENDO)...(3)



จากการทดลองข้างต้น เป็นผลการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดบรีสุทธี R. ในการลดการหดเกร็งของหลอดเลือด หรือการคลายตัวของหลอดเลือดในขณะที่หลอดเลือดนั้นยังคงมี endothelium อยู่ซึ่งทดสอบได้โดยหลอดเลือดนั้นสามารถลดการหดเกร็งของหลอดเลือดได้เมื่อให้ acetylcholine (ACh) ดังแสดงให้เห็นในรูปที่ 3.11 พบว่า ACh  $10^{-6}$  M สามารถลดการหดเกร็งของหลอดเลือดได้ชัดเจน

สำหรับการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดบรีสุทธี R. ต่อการหดเกร็งของหลอดเลือดในสภาพที่หลอดเลือดนั้นไม่มี endothelium ซึ่งถูกขูดเบา ๆ อย่างสม่ำเสมอด้วยไม้พันสำลี และเมื่อทดสอบด้วย ACh ซึ่งเป็น endothelium dependent vasodilator พบว่า ACh  $10^{-6}$  M ไม่สามารถลดการหดเกร็งของหลอดเลือดได้ดังแสดงในรูปที่ 3.12 และในหลอดเลือดชิ้นเดียวกันนี้เมื่อล้างด้วย Krebs - Henseleit bicarbonate solution หลาย ๆ ครั้งทุก 5 นาที และ incubate จน base line คงที่แล้ว จึงทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดบรีสุทธี R. ต่อการหดเกร็งของหลอดเลือดซึ่งถูกกระตุ้นด้วย phenylephrine เช่นเดิม ผลการทดลองพบว่า สารสกัดบรีสุทธี R. ยังคงสามารถลดการหดเกร็งของหลอดเลือดลงได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม  $p < 0.05$ ,  $n = 5$  ดังแสดงในตารางที่ 3.6 และรูปที่ 3.13 นั่นคือ ลดการหดเกร็งของหลอดเลือดจากค่าควบคุมก่อนให้ (100 %) เหลือ  $92.1 \pm 2.1$  % ในนาทีที่ 1,  $74.7 \pm 3.1$  % ในนาทีที่ 3,  $66.2 \pm 4.4$  % ในนาทีที่ 5,  $47.4 \pm 5.0$  % ในนาทีที่ 10 และลดได้ต่ำสุด  $37.8 \pm 8.1$  % ในนาทีที่ 15

จากการเปรียบเทียบการออกฤทธิ์ของสารสกัดบรีสุทธี R. ต่อการหดเกร็งของหลอดเลือดในขณะที่หลอดเลือดนั้นมี endothelium และหลังจากขูด endothelium แล้ว พบว่า การลดการหดเกร็งของหลอดเลือดในขณะที่มี endothelium ลดได้มากกว่าผลหลังจากขูด endothelium แล้ว อย่างไรก็ตามก็พบว่าไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ เช่น ในนาทีที่ 15 สารสกัดบรีสุทธี R. สามารถลดการหดเกร็งของหลอดเลือดในขณะที่มี endothelium ได้เหลือ  $34.2 \pm 5.0$  % และเมื่อขูด endothelium แล้ว การหดเกร็งของหลอดเลือดลดลงเหลือ  $37.8 \pm 8.1$  % เป็นต้น

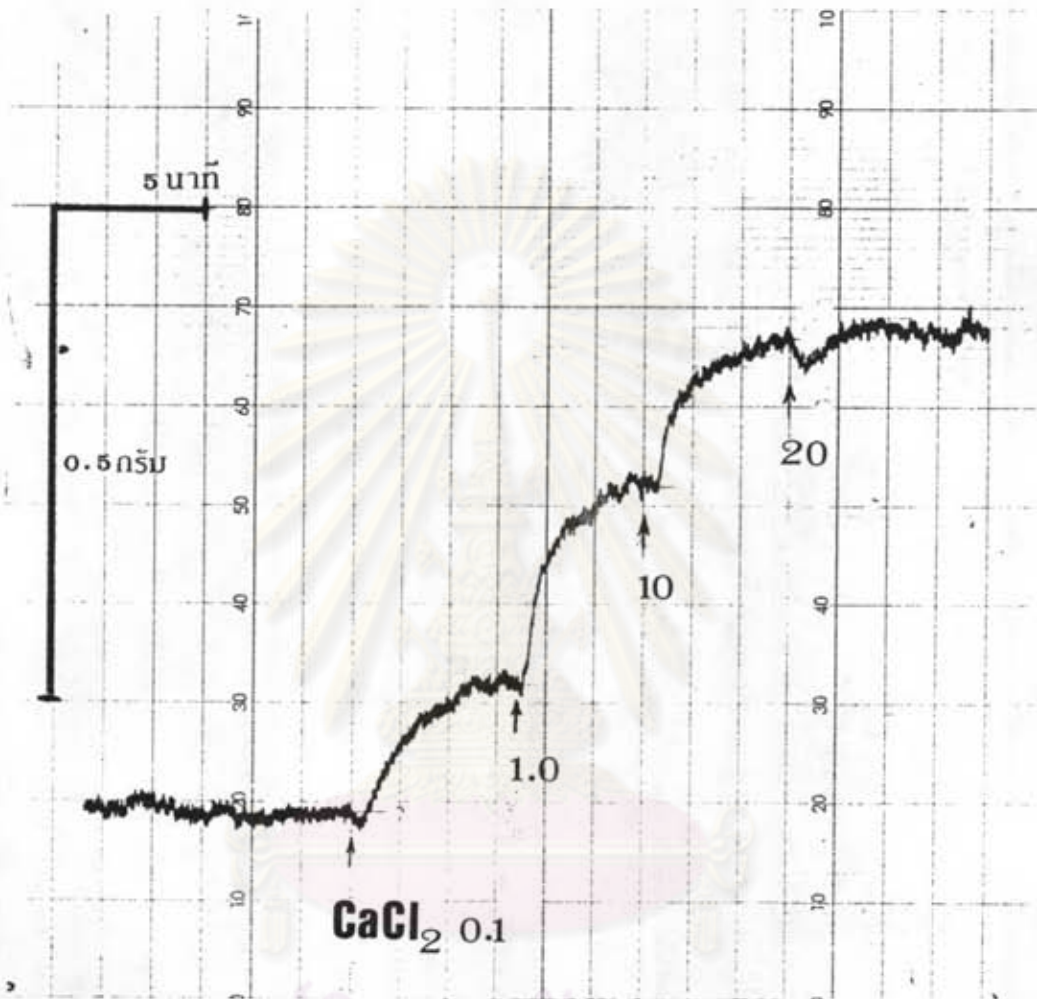
สำหรับการศึกษาเพื่อพิสูจน์ว่า การออกฤทธิ์ของสารสกัดบรีสุทธี R. ผ่าน cyclooxygenase pathway หรือไม่นั้น ใช้หลอดเลือดแดง thoracic aorta เช่นกันเมื่อ incubate หลอดเลือดแล้วให้ cyclooxygenase inhibitor คือ indomethacin ขนาด  $2 \times 10^{-5}$  M พบว่าหลอดเลือดจะคลายตัวลงได้เล็กน้อย และคงที่อยู่ในระดับหนึ่ง เมื่อ

incubate เป็นเวลา 30 นาทีซึ่งให้ base line คงที่แล้วให้ phenylephrine กระตุ้นให้เกิดการหดเกร็งของหลอดเลือด ซึ่งพบว่าคงก่อให้เกิดการหดเกร็งสูงสุดของหลอดเลือดได้ไม่แตกต่างจากก่อน block ด้วย indomethacin เมื่อให้สารสกัดบริสุทธิ์ R. ขนาด  $1.6 \times 10^{-4}$  M สามารถลดการหดเกร็งของหลอดเลือดได้เช่นเดียวกับก่อน block ด้วย indomethacin ดังแสดงในตารางที่ 3.7 และรูปที่ 3.14 คือ ลดการหดเกร็งของหลอดเลือดจากค่าควบคุมก่อนให้สารสกัดบริสุทธิ์ R. (100 %) เหลือ  $93.2 \pm 2.3$ ,  $82.8 \pm 5.5$ ,  $71.3 \pm 6.4$ ,  $63.6 \pm 9.7$  และ  $58.7 \pm 7.9$  % ในนาทีที่ 1, 3, 5, 10 และ 15 ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่มควบคุมเมื่อไม่ได้ให้ indomethacin ( $n = 4$ ) ในขณะเดียวกันเมื่อทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดบริสุทธิ์ R. ต่อหลอดเลือดที่อยู่ในสภาพไม่มี endothelium แล้ว และ block ด้วย indomethacin เช่นเดิมพบว่า สามารถลดการหดเกร็งของหลอดเลือดได้เหลือ  $96.0 \pm 0.9$ ,  $79.6 \pm 3.9$ ,  $67.9 \pm 5.6$ ,  $60.4 \pm 9.0$  และ  $56.5 \pm 9.2$  % ในนาทีที่ 1, 3, 5, 10 และ 15 ตามลำดับ และไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่มี endothelium ทั้งก่อน และหลังให้ indomethacin

#### 5. ผลต่อการหดเกร็งของหลอดเลือดแดง aorta ซึ่งถูกกระตุ้นด้วย calcium chloride

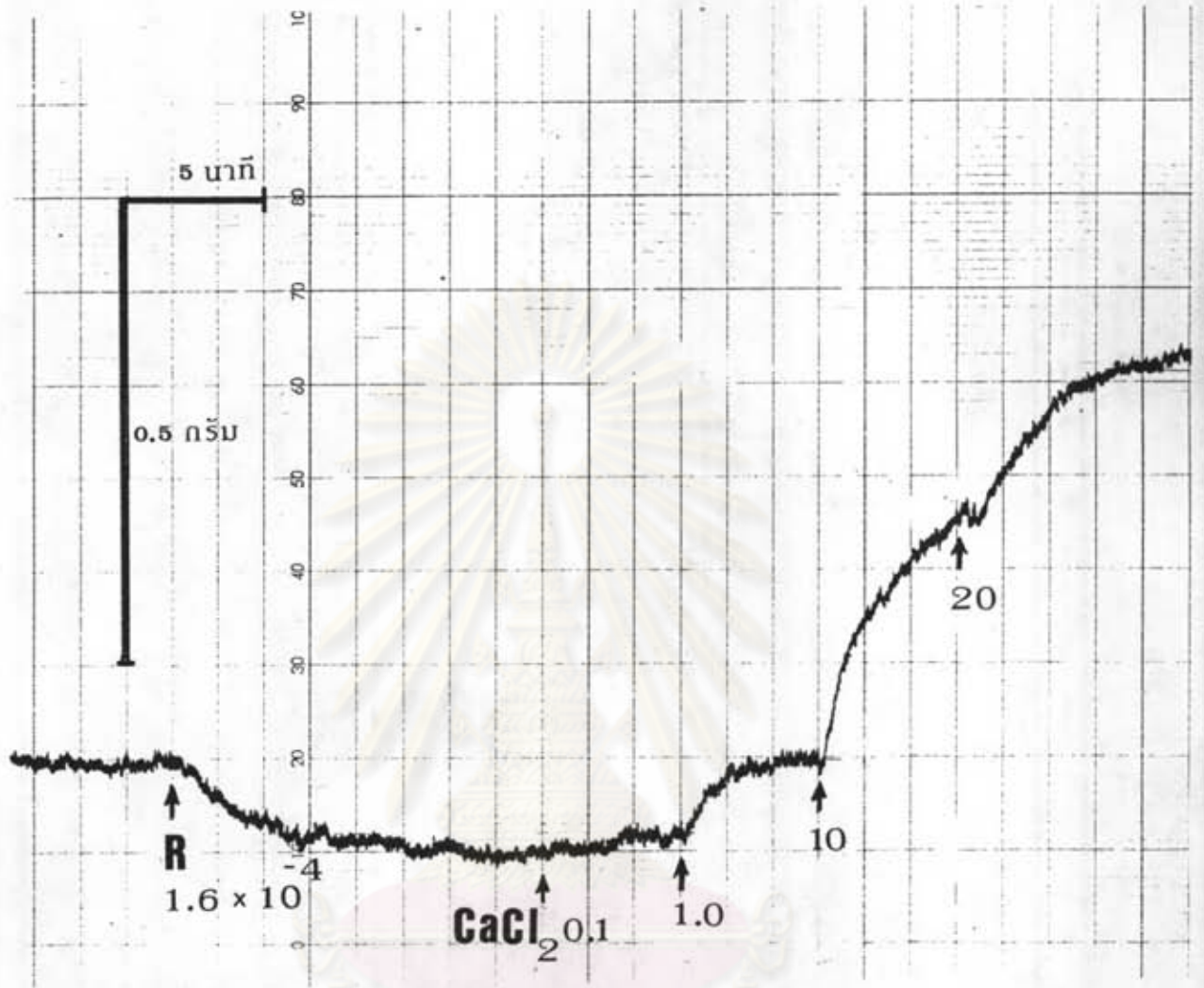
จากการศึกษาผลของ สารสกัดจาก D. cyrtobotryum (R.) ต่อการหดเกร็งของหลอดเลือดแดง aorta ของหนูขาวที่แยกจากกายซึ่งถูกกระตุ้นให้อยู่ในสภาวะของ depolarized ใน high potassium medium แล้วกระตุ้นให้เกิดการหดเกร็งด้วย calcium chloride แบบ cumulative dose response โดยให้ calcium chloride 4 ขนาด คือ 0.1, 1.0, 10 และ 20 mM ตามลำดับเพื่อให้เกิดการหดเกร็งสูงสุดของหลอดเลือด aorta ดังแสดงในรูปที่ 3.15

เมื่อหลอดเลือดอยู่ในสภาวะ depolarized ด้วย high potassium solution และ incubate จน base line คงที่แล้ว ให้สารสกัดบริสุทธิ์ R. พบว่าจะก่อให้เกิดการ relax ของหลอดเลือดได้ และคงที่ในระดับหนึ่งดังรูปที่ 3.16 และสามารถลดการหดเกร็งสูงสุดของหลอดเลือดซึ่งถูกกระตุ้นด้วย calcium chloride ได้แสดงในตารางที่ 3.8 และรูปที่ 3.17, 3.18 โดยที่ความสามารถในการลดการหดเกร็งของหลอดเลือดเป็นแบบ dose dependent คือเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดบริสุทธิ์ R. จะมีผลยับยั้งการหดเกร็ง



รูปที่ 3.15 แสดงลักษณะ cumulative dose response ของการหดเกร็งของหลอดเลือดแดง aorta เมื่อกระตุ้นด้วย calcium chloride ขนาด 0.1, 1.0, 10 และ 20 mM ตามลำดับ ก่อนให้สารสกัดบวริสุทซ์ R. เป็นกลุ่มควบคุม



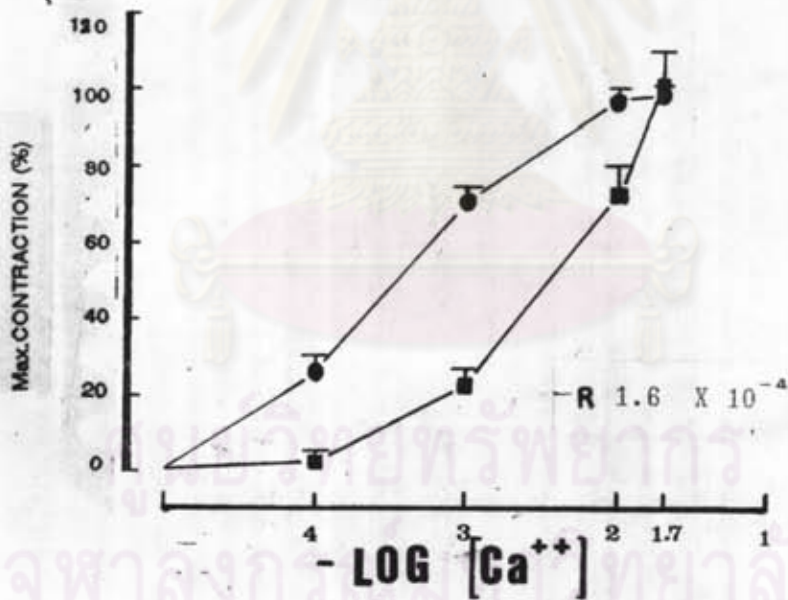
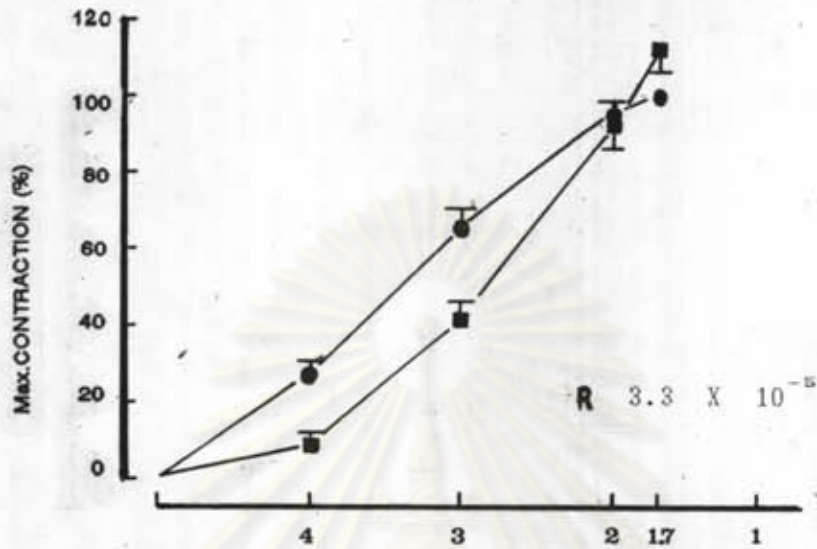


รูปที่ 3.16 แสดงลักษณะ cumulative dose response ของการหดเกร็งของหลอดเลือดแดง aorta เมื่อกระตุ้นด้วย calcium chloride ขนาด 0.1, 1.0, 10 และ 20mM ตามลำดับ หลังให้ สารสกัดจาก *D. cyrtobotryum* (R.)  $1.6 \times 10^{-4}$  M ซึ่งพบว่าสามารถลดการหดเกร็งของหลอดเลือดได้

| การหดเกร็งของหลอดเลือดแดง aorta (%) |                                   |                                     |           |           |           |            |
|-------------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------------|-----------|-----------|-----------|------------|
| กลุ่ม                               |                                   | Calcium chloride concentration (mM) |           |           |           |            |
|                                     |                                   | 0                                   | 0.1       | 1         | 10        | 20         |
| 1<br>n=6                            | Control<br>R=8.2X10 <sup>-5</sup> | 0                                   | 27.4±2.8  | 65.2±3.5  | 95.9±1.9  | 100        |
|                                     |                                   | 0                                   | 9.6±2.0*  | 41.2±4.1* | 92.8±3.8  | 112.1±5.4  |
| 2<br>n=5                            | Control<br>R=1.6X10 <sup>-4</sup> | 0                                   | 26.5±4.2  | 70.6±4.8  | 97.6±2.3  | 98.34±1.02 |
|                                     |                                   | 0                                   | 3.28±1.2* | 23.2±3.0* | 73.9±5.9* | 101.2±9.04 |
| 3<br>n=5                            | Control<br>R=3.3X10 <sup>-4</sup> | 0                                   | 21.9±3.1  | 61.3±3.5  | 94.4±1.7  | 100        |
|                                     |                                   | 0                                   | 0*        | 4.6±0.8*  | 41.5±4.9* | 91.34±8.6  |
| 4<br>n=4                            | Control<br>V = 1X10 <sup>-6</sup> | 0                                   | 15.8±4    | 55.3±3.5  | 94.5±2.1  | 100        |
|                                     |                                   | 0                                   | 0.45±0.5* | 1.6±1.3*  | 41.7±14*  | 71.2±14.8  |

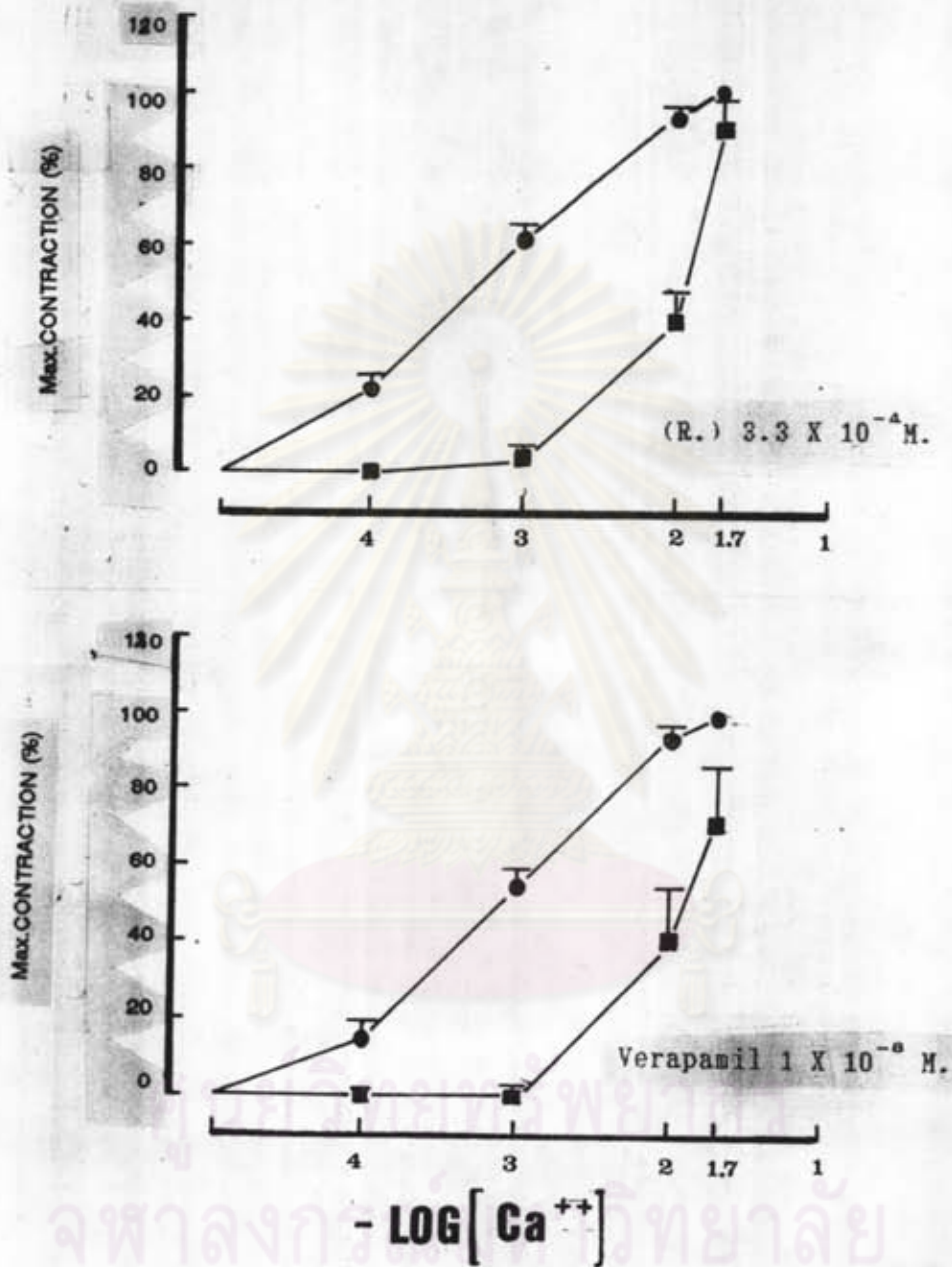
ตารางที่ 3.8 แสดงผลของสารสกัดจาก *D. cyrtobotryum* (R.) 8.2X10<sup>-5</sup>, 1.6 X 10<sup>-4</sup> และ 3.3 X 10<sup>-4</sup> M และ Verapamil 1 X 10<sup>-6</sup> M (V) เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเมื่อกระตุ้นให้เกิดการหดเกร็งด้วย calcium chloride 0.1, 1, 10 และ 20 mM (x ± S.E.M.)

\* p < 0.05



รูปที่ 3.17 แสดงผลของสารสกัดจาก *D. cyrtobotryum* (R.) (■) ต่อ cumulative dose response curve ของ calcium ในสารละลาย high potassium depolarized solution ในหลอดเลือดแดงของหนูขาว เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (●)





รูปที่ 3.18 ผลของสารสกัดจาก *D. cyrtobotryum* ( $R.$ )  $3.3 \times 10^{-4}$  M. ต่อการหดเกร็งของหลอดเลือดแดง aorta ซึ่งถูกกระตุ้นด้วย calcium chloride เป็น cumulative dose ใน high potassium depolarized solution เปรียบเทียบกับ Verapamil  $1 \times 10^{-6}$  M. และ กลุ่มควบคุม

ของหลอดเลือดจากการกระตุ้นด้วย calcium chloride ได้มากขึ้นตามลำดับได้แก่ สารสกัด  
 บรีสุกซ์ R. ขนาด  $8.2 \times 10^{-5}$  M สามารถลดการหดเกร็งของหลอดเลือดแดง aorta  
 จากการกระตุ้นด้วย calcium chloride 0.1 และ 1.0 mM ได้เฉลี่ย  $17.8 \pm 2.7$  และ  
 $23.9 \pm 3.1$  % ตามลำดับอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  $p < 0.05$ ,  $n = 6$  โดยไม่ลดการหดเกร็ง  
 สูงสุดของหลอดเลือดจากการกระตุ้นด้วย calcium chloride 10 และ 20 mM

สารสกัดบรีสุกซ์ R. ขนาด  $1.6 \times 10^{-4}$  M สามารถลดการหดเกร็งสูงสุด  
 ของหลอดเลือดจากการกระตุ้นด้วย calcium chloride 0.1, 1.0 และ 10 mM ได้เฉลี่ย  
 $23.2 \pm 4.5$ ,  $47.4 \pm 6.2$  และ  $23.3 \pm 8.0$  % ตามลำดับ โดยมีนัยสำคัญ  $p < 0.05$   
 $n = 5$  โดยไม่สามารถลดการหดเกร็งสูงสุดของหลอดเลือดจากการกระตุ้นด้วย calcium  
 chloride 20 mM

สารสกัดบรีสุกซ์ R. ขนาด  $3.3 \times 10^{-4}$  M สามารถลดการหดเกร็งสูงสุด  
 ของหลอดเลือดจากการกระตุ้นด้วย calcium chloride 0.1, 1.0 และ 10 mM ได้เฉลี่ย  
 $21.9 \pm 3.1$ ,  $56.7 \pm 3.0$  และ  $52.5 \pm 5.0$  % ตามลำดับ โดยมีนัยสำคัญ  $p < 0.05$ ,  
 $n = 5$  โดยไม่สามารถลดการหดเกร็งสูงสุดของหลอดเลือดจากการกระตุ้นด้วย calcium  
 chloride 20 mM เช่นเดียวกับสารสกัดบรีสุกซ์ R. ขนาด  $8.2 \times 10^{-5}$  M และ  
 $1.6 \times 10^{-4}$  M

เมื่อทดสอบฤทธิ์ของ calcium antagonist คือ verapamil  $1 \times 10^{-6}$  M.  
 ด้วยวิธีการเช่นเดียวกับสารสกัดบรีสุกซ์ R. สามารถทำให้เกิดการ relax ของหลอดเลือดได้  
 ซึ่งแสดงให้เห็นว่า base line ลดลงเล็กน้อยและคงที่ในระดับหนึ่งเช่นกัน และสามารถลด  
 การหดเกร็งของหลอดเลือดจากการกระตุ้นด้วย calcium chloride 0.1, 1.0 และ 10  
 mM ได้เฉลี่ย  $15.4 \pm 4.0$ ,  $53.7 \pm 3.8$  และ  $52.8 \pm 14.6$  % ตามลำดับอย่างมีนัยสำคัญ  
 $p < 0.05$ ,  $n = 4$  และลดการหดเกร็งของหลอดเลือดได้เฉลี่ย  $28.9 \pm 14.8$  % เมื่อกระตุ้น  
 ด้วย calcium chloride 20 mM แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ