



บทที่ 4

อภิปรายและสรุปผลการทดลอง

การทดลองนี้ทำขึ้นเพื่อศึกษาฤทธิ์ของแอนซีสโตรเทคโตรินต่อการบีบตัวของกล้ามเนื้อกระเพาะอาหารหนูขาวที่แยกออกมาและการบีบตัวของกระเพาะลำไส้ในหนูถีบจักรปกติ จากผลการทดลอง เมื่อให้สารกระตุ้นต่าง ๆ ได้แก่ อะเซทิลโคลีน แบริยมคลอไรด์ ซีโรโตนิน โปแตสเซียมคลอไรด์ และแคลเซียมคลอไรด์ในสารละลายดีโปลาไรด์ด้วยโปแตสเซียมที่ปราศจากแคลเซียม ไปกระตุ้นการหดเกร็งของกล้ามเนื้อกระเพาะและให้แอนซีสโตรเทคโตรินไปยับยั้งการหดเกร็งของกระเพาะอาหารที่ถูกกระตุ้นด้วยสารต่าง ๆ เหล่านี้ พบว่าฤทธิ์ของแอนซีสโตรเทคโตรินในการลดแรงหดเกร็งของกล้ามเนื้อกระเพาะอาหารไม่ถาวร เมื่อล้างออกกล้ามเนื้อกระเพาะอาหารที่ถูกกระตุ้นด้วยสารต่าง ๆ สามารถหดเกร็งได้แรงขึ้นเท่าเดิมอีก เซลล์กล้ามเนื้อกระเพาะอาหารหนูขาวเป็นกล้ามเนื้อชนิดเรียบ (smooth muscle) และเป็นชนิดที่สร้างกระแสไฟฟ้าได้เอง (spontaneously generate action potential) ขบวนการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบนี้ แคลเซียมมีบทบาทสำคัญที่สุด พบว่ามีขบวนการนำแคลเซียมผ่านเข้าสู่ภายในเซลล์ของกล้ามเนื้อเรียบ 2 ขบวนการ (Bolton, 1979; Karaki & Weiss, 1984; Somlyo, 1985) ได้แก่ 1. potential-sensitive calcium channel หรือ voltage-dependent calcium channel ช่องทางผ่านแคลเซียมชนิดนี้จะเปิดเมื่อมีการลดความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ผนังเซลล์ของกล้ามเนื้อเรียบ 2. receptor-operated calcium channel หรือ ROCs เมื่อ agonist จับกับ receptor แล้วมีผลให้ ROCs เปิด แคลเซียมจากภายนอกเซลล์จะเคลื่อนเข้าสู่ภายในเซลล์ อาจมีไอออนตัวอื่น ๆ ด้วย เช่น โซเดียม เป็นต้น นอกจากนี้ที่กล่าวมาทั้ง 2 ขบวนการนี้ในบางสภาวะจะพบ receptor-operated released of cellular calcium เมื่อ agonist จับกับ receptor แล้วมีผลให้ bound calcium ในเซลล์ปล่อยออกมา เมื่อแคลเซียมอิสระภายในเซลล์เพิ่มขึ้นจะมีผลต่อขบวนการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ (excitation-contraction coupling)

การทดลองครั้งนั้นพบว่า แอนซีโทรเทคโตรีนสามารถลดการบีบตัวของกระเพาะอาหาร หนูขาวที่ถูกกระตุ้นด้วยอะเซทิลโคลีนลดลงได้ในลักษณะของ dose-dependent มีรายงานว่า การออกฤทธิ์ของอะเซทิลโคลีนต่อกล้ามเนื้อเรียบของลำไส้หนูตะเภา เกิดได้ 2 ทาง คือ

1. การออกฤทธิ์ทางตรงโดยจับกับ muscarinic receptor ที่ผนังเซลล์ของกล้ามเนื้อเรียบ แล้วมีผลทำให้เกิดการหดตัว (Day & Vane, 1963; Paton & Zar, 1968) กลไกการออกฤทธิ์ของอะเซทิลโคลีนเชื่อว่าไปเพิ่ม membrane permeability ต่อแคลเซียม (Chang & Triggle, 1973) ทำให้ receptor-operated calcium channel เปิด แคลเซียมจากภายนอกเซลล์จึงเคลื่อนเข้าสู่ภายในเซลล์ (Bolton, 1971, 1979) เกิด depolarization ที่ผนังเซลล์ เป็นผลให้แคลเซียมผ่าน voltage-dependent calcium channel จึงเพิ่มความถี่ของการเกิด action potential ทำให้กล้ามเนื้อหดตัวถี่ขึ้นและแรงขึ้น (Burgin & Spero, 1968; Bolton, 1979)
2. การออกฤทธิ์ทางอ้อมโดยกระตุ้นประสาทพาราซิมพาธิค ทำให้มีการปลดปล่อยอะเซทิลโคลีนออกจากปลายประสาท อะเซทิลโคลีนที่ออกมาจะไปกระตุ้นกล้ามเนื้อเรียบให้หดตัว (Day & Vane, 1963; Chiou, 1973) จากผลการทดลองแสดงในรูปที่ 6 แอนซีโทรเทคโตรีนขนาดความเข้มข้น 1×10^{-5} และ 3×10^{-5} โมล สามารถลดฤทธิ์อะเซทิลโคลีนได้ตาม dose-dependent และออกฤทธิ์ในลักษณะ non-competitive antagonism และแตกต่างจากการออกฤทธิ์ของ อะโทรปีนซึ่งเป็นแบบ competitive antagonism แสดงในรูปที่ 7, 8 ค่า PD_{50} values ของแอนซีโทรเทคโตรีนทั้งสองขนาดความเข้มข้นไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่มีความแตกต่างจาก PA_{50} values ของอะโทรปีนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แสดงในตารางที่ 2

จากรายงานการทดลองในลำไส้เล็กของหนูตะเภา ซีโรโตนินมีผลทำให้กล้ามเนื้อ เรียบหดตัวโดยผ่านทาง M-receptor (Neurotropic receptor) ซึ่งเป็นตัวรับอยู่ที่เซลล์ ประสาท และ D-receptor (musculotropic receptor) ซึ่งเป็นตัวรับอยู่ที่เซลล์ของ กล้ามเนื้อเรียบ (Gaddums & Picarelli, 1957; Day and Vane, 1963) แต่ใน กล้ามเนื้อกระเพาะอาหารหนูขาวพบแต่ D-receptor เท่านั้น (Offermeier & Ariens 1966; Frankhuijzen & Bonta, 1974) ซีโรโตนินที่ออกฤทธิ์ผ่านทาง M-receptor

นั้นพบในกล้ามเนื้อหลอดลมของปลาคลาฟที่แยกออกมา (isolate tracheal muscle) ต่างกับลำไส้เล็กของหนูตะเภาซึ่งพบทั้ง 2 receptor (Offermeier and Ariens, 1966) การออกฤทธิ์ของซีโรโตนินผ่านทาง M-receptor พบว่าเป็นการออกฤทธิ์ทางอ้อมโดยซีโรโตนินจะจับกับ receptor ที่ postganglionic membrane ของ cholinergic intramural ganglion cell ทำให้มีการปลดปล่อยอะเซทิลโคลีนออกจากปลายประสาท อะเซทิลโคลีนที่ปล่อยออกมานี้จะไปกระตุ้นกล้ามเนื้อเรียบให้เกิดการหดเกร็ง (Harry, 1963; Costa & Furness, 1979) ส่วนการออกฤทธิ์ทางตรงของซีโรโตนินจะผ่านทาง D-receptor โดยซีโรโตนินจะจับกับ D-receptor มีผลให้ receptor-operated Ca channel เปิด (Day & Vane, 1963; Costa & Furness, 1979) แคลเซียมจากภายนอกเซลล์เคลื่อนเข้าสู่ภายในเซลล์ มีผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อ (Weinstock & Weiss, 1979; Mukai & Kubota, 1980) จากผลการทดลองในรูปที่ 9 แอนซิสโตรเทคโตรีน ขนาดความเข้มข้น 1×10^{-5} และ 2×10^{-5} โมล ลดฤทธิ์ของซีโรโตนินได้ตาม dose - dependent และออกฤทธิ์ในลักษณะ non-competitive antagonism เมื่อเปรียบเทียบกับปาปาเวอรินและเมทิลเซอโรไซด์แสดงในรูปที่ 10 ปาปาเวอรินออกฤทธิ์แบบ non-competitive antagonism ซึ่งแตกต่างจากเมทิลเซอโรไซด์ออกฤทธิ์แบบ competitive antagonism PD_{50} values ของแอนซิสโตรเทคโตรีนทั้งสองขนาด ความเข้มข้นไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) และใกล้เคียงกับ ปาปาเวอริน แต่มีความแตกต่างจากเมทิลเซอโรไซด์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

เมื่อกระตุ้นกระเพาะอาหารหนูขาวด้วยแบริยมคลอไรด์ จากรายงานการทดลอง มีข้อสรุปว่า แบริยมไม่ได้ออกฤทธิ์โดยกระตุ้น nerve plexus ให้หลังอะเซทิลโคลีน (Antonio, Silva & Yashuda, 1973; Clement, 1980) เชื่อว่า แบริยมออกฤทธิ์ โดยเพิ่มระยะเวลาของการลดความต่างศักย์ที่เซลล์ของกล้ามเนื้อเรียบ (prolongation of depolarization) แต่กลไกยังไม่ทราบแน่ชัด (Zusuki, Nishiyama & Okamura, 1964) มีผู้อธิบายสาเหตุที่มี prolongation of depolarization เป็นเพราะ potassium conductance น้อยกว่าปกติทั้งในระยะพักและระยะการเกิด depolarization ทำให้เกิด repolarization นานกว่าปกติ เพื่อป้องกัน depolarization กลับคืนสู่ระยะ

พักได้เร็วกว่าปกติ (Sakamoto, 1970) จากรายงานการทดลองเมื่อไม่นานมานี้พบว่า แบริยมลดความต่างศักย์ของเซลล์เมมเบรนและเปิด voltage-dependent calcium channel เป็นผลให้แคลเซียมภายนอกเซลล์ และ membrane bound calcium เคลื่อนเข้าสู่ในเซลล์ซึ่งมีผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อ (Karaki, Ikeda & Urakawa, 1969; Clement, 1981; Karaki, Satake & Shibata, 1986) ในกรณีที่ไม่มีแคลเซียมภายนอกเซลล์ แบริยมสามารถเคลื่อนผ่าน voltage-dependent calcium channel เข้าสู่ภายในเซลล์ไปกระตุ้น Contractile protein โดยตรง (Yukisada & Ebashi, 1961; Yoshino & Yabu, 1985; Karaki *et al.*, 1986) จากผลการทดลองในรูปที่ 11 แอนซิสโตรเทคโตรีนขนาดความเข้มข้น 1×10^{-5} และ 2×10^{-5} โมล ลดฤทธิ์ของแบริยมคลอไรด์ได้ตาม dose-dependent และออกฤทธิ์ในลักษณะ non-competitive antagonism เมื่อเปรียบเทียบกับเวอรอปามิล ออกฤทธิ์ในลักษณะเช่นเดียวกัน แสดงในรูปที่ 12, 13 PD_{50} values ของแอนซิสโตรเทคโตรีนทั้งสองขนาดความเข้มข้นไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่มีความแตกต่างจากเวอรอปามิลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

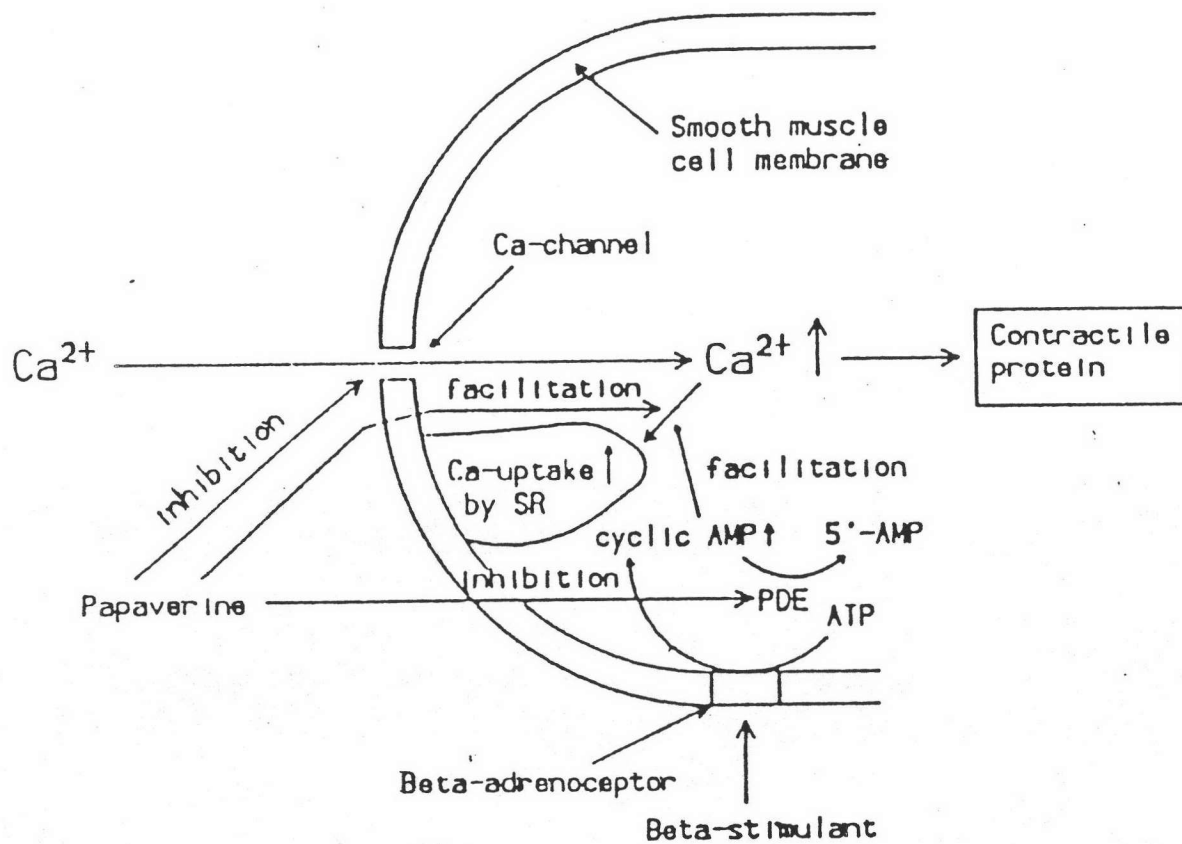
เมื่อกระตุ้นกระเพาะอาหารหนูขาวด้วยโปแตสเซียมคลอไรด์ หรือแคลเซียมคลอไรด์ ในสารละลายดีโปลาไรด์ด้วยโปแตสเซียมที่ปราศจากแคลเซียม ผลที่ได้ไม่แตกต่างกันเพราะการใช้ high potassium ทำให้เกิดการลด potassium gradient ระหว่างเมมเบรน ทำให้ membrane potential ลดลงเกิด depolarization ซึ่งเป็นผลให้ potential-sensitive calcium channel เปิด แคลเซียมจากภายนอกเซลล์เคลื่อนเข้าสู่ภายในเซลล์ (Bolton, 1979) และเป็นผลให้แคลเซียมในเซลล์ปลดปล่อยเพิ่มขึ้น ไปมีผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อ (Urakawa & Holland, 1964) high potassium ทำให้กล้ามเนื้อหดตัว 2 แบบ คือ phasic contraction การหดตัวในระยะเริ่มแรก ใช้แคลเซียมที่ปลดปล่อยภายในเซลล์ และ tonic contraction การหดตัวในระยะต่อมาใช้แคลเซียมจากภายนอกเซลล์เคลื่อนเข้าสู่ภายในเซลล์ (Urakawa & Holland, 1964; Pfaffman, Urakawa & Holland, 1965; Bolton, 1979; Hay & Wadsworth, 1982) จากผลการทดลองแสดงในรูปที่ 14 แอนซิสโตรเทคโตรีนขนาดความเข้มข้น 1×10^{-5} และ 3×10^{-5} โมล

ลคฤทธิ์ของโปแตสเซียมคลอไรด์ได้ตาม dose-dependent และออกฤทธิ์ในลักษณะ non-competitive antagonism เมื่อเปรียบเทียบกับปาปาเวอรินซึ่งออกฤทธิ์ในลักษณะเช่นเดียวกัน แสดงในรูปที่ 15,16 PD_2 values ของแอนซีสโตรเทคโตรีนทั้งสองขนาดความเข้มข้นไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) และมีค่าใกล้เคียงกับปาปาเวอริน แสดงในตารางที่ 5 และจากผลการทดลองในรูปที่ 17 แอนซีสโตรเทคโตรีนขนาดความเข้มข้น 2.4×10^{-6} และ 1×10^{-5} โมล ลคฤทธิ์ของแคลเซียมคลอไรด์ในสารละลายดีโปลาไรต์ด้วยโปแตสเซียมที่ปราศจากแคลเซียมได้ตาม dose-dependent และออกฤทธิ์ในลักษณะ non-competitive antagonism เมื่อเปรียบเทียบกับเวอรามีลออกฤทธิ์ในลักษณะเดียวกัน แสดงในรูปที่ 18,19 PD_2 values ของแอนซีสโตรเทคโตรีนทั้งสองขนาดความเข้มข้นไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่มีความแตกต่างจาก PD_2 ของเวอรามีลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 6

ทดสอบฤทธิ์ของแอนซีสโตรเทคโตรีนต่อกระเพาะอาหารทั้งกระเพาะในหนูถีบจักรที่ถูกระตุ้นด้วยแบริยมคลอไรด์ แสดงในรูปที่ 20 และคาร์บาโคล แสดงในรูปที่ 21 เมื่อกระตุ้นกระเพาะอาหารด้วยแบริยมคลอไรด์ผลทำให้แรงบีบตัวของกระเพาะอาหารเพิ่มขึ้นชัดเจนทันที มี spontaneous movement อย่างแรง เมื่อให้แอนซีสโตรเทคโตรีนพบว่าลดการบีบตัวของกระเพาะอาหารอย่างชัดเจนและมี spontaneous movement ลดลง เมื่อล้างออกจนหมดแล้ว incubate กระเพาะอาหารไว้นาน 1 ชม. ให้แอนซีสโตรเทคโตรีนก่อนให้แบริยมคลอไรด์ในขนาดความเข้มข้นที่เท่ากับเมื่อให้ครั้งแรก พบว่า เพิ่มการบีบตัวของกระเพาะอาหารแต่น้อยกว่าครั้งแรกอย่างเห็นได้ชัด เมื่อกระตุ้นกระเพาะอาหารด้วยคาร์บาโคลผลที่ได้ในทำนองเดียวกัน จากผลการทดลองแอนซีสโตรเทคโตรีนยับยั้งการบีบตัวของกระเพาะอาหารในหนูถีบจักรที่ถูกระตุ้นด้วยแบริยมคลอไรด์และคาร์บาโคลได้อย่างเด่นชัด

จากผลการทดลองในหนูขาว แอนซีสโตรเทคโตรีนสามารถยับยั้งการบีบตัวของกระเพาะอาหารที่ถูกระตุ้นด้วย agonist ต่าง ๆ และไม่ได้แสดงลักษณะเฉพาะต่อ receptor ใด จึงเห็นได้ว่าแอนซีสโตรเทคโตรีนออกฤทธิ์แบบ nonspecific antagonism ได้คำนวณหา PD_2 values ของแอนซีสโตรเทคโตรีนจาก cumulative dose-response curve ของอะเซทิลโคลีน ซีโรโทนิน แบริยมคลอไรด์ โปแตสเซียมคลอไรด์ และ

แคลเซียมคลอไรด์ในสารละลายที่โปลาไรด์ด้วยโปแตสเซียมที่ปราศจากแคลเซียม ดังแสดงในตารางที่ 2-6 จะเห็นว่า PD_2' values จาก agonist ตัวเดียวกันค่าที่ได้จะไม่มี ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ของ แอนซีโตรเทคโตรีนกับ antagonist ที่ใช้ทดลอง ได้แก่ อะโทรปีน เมทิลเซอโรไซด์ เวอรามิล และ ปาปาเวอริน พบว่า affinity ของแอนซีโตรเทคโตรีนเป็น 40% ของอะโทรปีน (ตารางที่ 2) 60% ของเมทิลเซอโรไซด์ (ตารางที่ 3) 70% ของ เวอรามิล (ตารางที่ 4,5) และมีค่าใกล้เคียงกับปาปาเวอรินมาก (ตารางที่ 3,5) โดยเฉพาะในตารางที่ 3 ค่า PD_2' values ของแอนซีโตรเทคโตรีนกับปาปาเวอรินไม่ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) จากผลการทดลองที่ได้แอนซีโตรเทคโตรีน ลดฤทธิ์การหดเกร็งของกล้ามเนื้อกระเพาะอาหารหนูขาวได้เช่นเดียวกับปาปาเวอริน และค่า PD_2' values ที่ได้ใกล้เคียงกันมาก ฉะนั้นปาปาเวอรินจึงเป็นสารตัวหนึ่งที่นำมาเปรียบเทียบ การออกฤทธิ์ของปาปาเวอรินมีหลายทาง ได้แก่ 1. ยับยั้งแคลเซียมที่ผ่าน ROCs และ Voltage-dependent calcium channel (Bolton, 1979) 2. กระตุ้น β -adrenergic receptor ที่ผนังเซลล์ของกล้ามเนื้อเรียบและไป inhibit phosphodiesterase เป็นผลให้ cAMP เพิ่มขึ้น ทำให้แคลเซียมกลับเข้าไปในแหล่งเก็บ ภายในเซลล์เพิ่มขึ้น แคลเซียมอิสระลดลงแสดงในรูปที่ 22 (Takayanagi *et.al.*, 1972; Inatomi *et.al.*, 1979) 3. ยับยั้ง mitochondrial respiration ใน ขบวนการ electron transport chain (Bolton, 1979) มีผลทำให้กล้ามเนื้อ คลายตัว และจากการศึกษาของ ดร. ประกร จุฑะพงษ์ และคณะ ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (กำลังศึกษา) ได้ศึกษาฤทธิ์ของแอนซีโตรเทคโตรีน ใน mitochondria ของตับหนูขาวที่แยกออกมา พบว่า แอนซีโตรเทคโตรีนมีผลเป็น uncoupling มีการสร้าง ATP ลดลง และแอนซีโตรเทคโตรีนมีผลไปกระตุ้น ATPase ทำให้ ATP ลดลงมาก ถึงแม้ว่ากลไกนี้จะศึกษาใน mitochondria ผลของการทดลองนี้อาจ นำมาอธิบายกลไกของแอนซีโตรเทคโตรีน ทำให้เกิดการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ จาก ฤทธิ์ของปาปาเวอรินที่กล่าวมาก็มีส่วนทำให้เกิดการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้เช่นกัน ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าฤทธิ์ของแอนซีโตรเทคโตรีนที่ทำให้เกิดการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบของ



SR : Sarcoplasmic reticulum
PDE: Phosphodiesterase

รูปที่ 22 แสดงกลไกการออกฤทธิ์ของปาปาเวอริน

กระเพาะอาหารอาจมีกลไกบางอย่างที่คล้ายกับปาปาเวอริน

ผลของแอนซิสโตรเทคโตรินต่อการเคลื่อนไหวของผนังจากกระเพาะอาหารไปตามลำไส้เล็กหนูถีบจักรสภาพปกติ พบว่าการให้แอนซิสโตรเทคโตรินขนาดสูง ประมาณ 40-50 มก./กก. เข้าทางหลอดเลือดดำที่ทางหนูถีบจักร มีผลลดการเคลื่อนไหวของผนังจากกระเพาะและระยะทางเคลื่อนในลำไส้ลดลง จากการสังเกตจะพบกระเพาะอาหารหนูนึ่งยังมีผนังเหลืออยู่มาก ผลการทดลองในหนูถีบจักรสภาพปกติจะสนับสนุนผลการทดลองในรูปที่ 20-21 ซึ่งพบว่าแอนซิสโตรเทคโตรินลดการบีบตัวของกระเพาะอาหารหนูถีบจักรที่แยกออกมาทั้งกระเพาะได้อย่างชัดเจน แม้ว่าจะกระตุ้นด้วยแบริยมคลอไรด์หรือคาร์บาโคล ได้ผลเช่นเดียวกัน เป็นการสนับสนุนผลของการทดลองต่อกระเพาะอาหารหนูขาวที่ทำมาทั้งหมด พบว่าสารแอนซิสโตรเทคโตรินมีผลลดการบีบตัวของกล้ามเนื้อกระเพาะอาหารทั้งในสภาพปกติ (หนูถีบจักร) ทั้งในกระเพาะที่แยกออกจากตัวสัตว์ทดลอง ส่วนการเคลื่อนที่ไปของผนังในลำไส้ก็เป็นการยืนยันผลการทดลองของสุวรรณ (สุวรรณ ภาสุภัทร, 2528) พบว่า สารแอนซิสโตรเทคโตรินมีผลลดการหดเกร็งของลำไส้เล็กของกระต่ายและหนูตะเภา รวมทั้งลดการเคลื่อนของผนังในลำไส้หนูถีบจักรด้วย อย่างไรก็ตามจากผลการทดลองนี้ มีข้อที่น่าพิจารณาคือ ภายหลังจากฉีดสารละลายแอนซิสโตรเทคโตรินเข้าหลอดเลือดดำ (50 มก./กก.) หนูทุกตัวจะหยุดการหายใจหรือหายใจลดลง กล้ามเนื้อขาหลัง ลำตัวคลายตัวทันที หนูหยุดการเคลื่อนไหว 2-5 นาที ต่อจากนั้นจะเริ่มมีการหายใจแรง เร็วและหนูเคลื่อนไหวมากขึ้น หนูไม่มีอาการชัก ปลอดภัยไม่ตาย และเมื่อฉีดคาร์บาโคล (1.5 มก./กก.) เข้าทาง intraperitoneum จะพบฤทธิ์ของคาร์บาโคลชัดเจนคือ หนูทุกตัวมีน้ำลายฟูมปาก ปากเปียกชัดเจน การหายใจขัด การเคลื่อนไหวน้อยลง ซึ่งเป็นฤทธิ์ของคาร์บาโคลต่อ mucarinic receptor หนูที่ฉีดคาร์บาโคลไม่ตาย แต่เมื่อให้คาร์บาโคลร่วมกับแอนซิสโตรเทคโตริน (การทดลองในกลุ่มที่ 4) จะเกิดเสริมฤทธิ์กัน ทำให้หนูตายภายหลังฉีบทันทีโดยหนูหยุดหายใจ หนูบางตัวมีอาการชัก-กระตุก ชักเกร็ง อ้าปากตอนตาย หนู 2 ตัวแรกที่ฉีดคาร์บาโคล (1.5 มก./กก.) และแอนซิสโตรเทคโตริน (50 มก./กก., IV) ตายทั้ง 2 ตัว จึงเปลี่ยนการให้แอนซิสโตรเทคโตรินมาให้ทาง intraperitoneum ก็ยังพบอาการพิษที่รุนแรงมากขึ้น โดยพบว่าหนูจะอ่อนเพลียมาก การหายใจน้อยลง หนูจะชัก อ้าปาก ชักติดต่อกัน 2-3 ครั้งแล้วตายอีก 6 ตัว หนูที่

เหลือน้ำลายออกน้อยลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 3 ที่เหลือ 6 ตัวอยู่ครบตามกำหนดเวลา การเคลื่อนไหวของผงด่าน เนื่องจากหนูที่รอดตายมีอาการชักแต่ไม่มาก หนูที่ชักติด ๆ กันมักจะตาย วัตถุประสงค์ของผงด่านในกระเพาะลำไส้พบว่าลดลงอย่างชัดเจน อย่างไรก็ตาม การที่หนูชักและมีฤทธิ์เสริมกันทำให้หนูตายมาก อาจมีฤทธิ์อื่นเข้ามาเกี่ยวข้อง การตายของหนูที่บ่งชี้การเมื่อให้คาร์บาโคลร่วมกับแอนซิสโตรเทคโตรินยังไม่สามารถอธิบายเหตุผลได้แน่นอน ในขณะนี้ จากอาการชัก อ้าปาก คล้ายกับหายใจไม่ได้และหนูมีการเคลื่อนไหวน้อยลง พร้อมกับทางหนูมีสีคล้ำที่หลอดเลือด อาจเป็นไปได้ว่าหนูขาดออกซิเจน ซึ่งอาจเป็นผลของการลดแรงหดตัวของกล้ามเนื้อกระบังลมสำหรับหายใจ หรืออาจเกิดการลดความดันเลือดอย่างมาก การฉีดสารละลายแอนซิสโตรเทคโตรินเข้าไปในหนูขาวหรือกระต่าย ขนาด 10 มก./กก. พบว่า ลดความดันโลหิต และอัตราการเต้นของหัวใจอย่างชัดเจน (ขวัญตา โอสถานุกูล, 2529) อาจจะมีฤทธิ์มากขึ้นเมื่อได้ร่วมกับคาร์บาโคลจะทำให้ความดันเลือดลดลง นอกจากนี้เชื่อว่าแอนซิสโตรเทคโตรินยังมีฤทธิ์ลดการเกิด reflex ของการเพิ่มอัตราการเต้นของหัวใจ (ขวัญตา โอสถานุกูล, 2529) จึงมีผลทำให้เลือดในสมองหรืออวัยวะอื่น ๆ น้อยลง จนเกิดอาการ hypoxia อย่างไรก็ตามจำเป็นต้องศึกษาต่อไปเพื่อจะได้ทราบการเกิดอาการพิษดังกล่าวนี้

จากผลการศึกษาฤทธิ์ของแอนซิสโตรเทคโตรินต่อการหดเกร็งของกล้ามเนื้ออาหาร หนูขาวที่แยกออกมา ที่กระตุ้นด้วยสารดังกล่าว หรือผลต่อการบีบตัวของกระเพาะในหนูที่บ่งชี้การพบว่าแอนซิสโตรเทคโตรินออกฤทธิ์ลดการหดเกร็งของกล้ามเนื้อเรียบได้เด่นชัด ซึ่งเมื่อรวบรวมผลการทดลองที่ได้ศึกษาผลของแอนซิสโตรเทคโตริน พบว่า ลดการหดเกร็งของพวกกล้ามเนื้อเรียบหลายชนิดที่แยกออกมา เช่นในลำไส้กระต่ายที่บีบตัวได้เอง ลำไส้หนูตะเภาที่กระตุ้นให้หดเกร็งด้วย อะเซทิลโคลีน ฮีสตามีน ซีโรโตนิน แบริยมคลอไรด์ โปแตสเซียมคลอไรด์ แคลเซียมคลอไรด์ในสารละลายดีโปลาไรด์ด้วยโปแตสเซียมที่ปราศจากแคลเซียม มดลูกหนูขาว และหนูตะเภาที่ถูกกระตุ้นด้วยออกซีโทซินและซีโรโตนิน (สุวรรณ ภาสุภัทร, 2528) รวมทั้งท่อนำสุจิของหนูขาวที่ถูกกระตุ้นด้วย นอร์อะดรีนาลิน ซีโรโตนิน แบริยมคลอไรด์ โปแตสเซียมคลอไรด์ แคลเซียมคลอไรด์ (Ketkosol, 1986) ฤทธิ์ของแอนซิสโตรเทคโตรินต่ออวัยวะดังกล่าวเป็นแบบ dose-dependent และเป็นในลักษณะของ non-specific

antagonism โดยกลไกการหดเกร็งของพวกกล้ามเนื้อเรียบจะขึ้นกับ แคลเซียมเป็นสำคัญ และจากผลการทดลองในกระเพาะอาหารของหนูขาวจะได้ผลเหมือนกับในลำไส้ในหนูตะเภา มดลูกในหนูขาวและหนูตะเภา ท่อนำสุจิของหนูขาว และหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาว แสดงว่า แอนติสโตรเทคโตรินเกี่ยวข้องกับขบวนการของแคลเซียม อย่างไรก็ตามมีกลไก หลายอย่างที่ยับยั้งการผ่านเข้าออกของแคลเซียม

จากผลการทดลองนี้สนับสนุนผลการนำเอาสมุนไพรรักษาโรคของแพทย์แผนโบราณ หรือที่เคยมีรายงานถึงสรรพคุณของสมุนไพรมานำมารักษาโรคบิด แก้อท้องร่วง ตังกล่าวแล้วข้างต้น ได้เป็นอย่างดี แม้ว่าการทดลองนี้จะป็นสารบริสุทธิ์เพียงหนึ่งในหลาย ๆ อย่างจากสมุนไพรมัน แต่เนื่องจากปริมาณของสารนี้ค่อนข้างสูง และการสกัดสารนี้ให้บริสุทธิ์สามารถทำได้ จึงน่าที่จะ มีการพัฒนาสารบริสุทธิ์นี้เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ต่อไป