

ผลของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิ
ที่แยกจากหนูขาว



นางสาวโสรัถยา เจริญสมประสงค์

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเภสัชวิทยา สหสาขาวิชาเภสัชวิทยา


บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2545

ISBN 974-17-2890-5

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EFFECTS OF CU-18-07, CU-18-09 AND CU-18-12 ON THE SMOOTH MUSCLE CONTRACTION
OF ISOLATED RAT VAS DEFERENS



Miss Soratiya Charoensomprasong

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Pharmacology

Inter-Departmental Program in Pharmacology

Graduate School

Chulalongkorn University

Academic Year 2002

ISBN 974-17-2890-5

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาว
โดย	นางสาวไสรัตินา เจริญสมประสงค์
สาขาวิชา	เภสัชวิทยา
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.สุรีย์ เจียรณมงคล
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รศ.ดร.ประสาน ธรรมอุปกรณ์

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(ศาสตราจารย์ ดร.สุชาติดา กิระนันท์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.สุพัชรา ศรีไชยรัตน์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(ดร.สุรีย์ เจียรณมงคล)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(รองศาสตราจารย์ ดร.ประสาน ธรรมอุปกรณ์)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ จันทนี อธิพานิชพงศ์)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชำนาญ ภัทรพานิช)

โสรัถยา เจริญสมประสงค์ : ผลของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาว (EFFECTS OF CU-18-07, CU-18-09 AND CU-18-12 ON THE SMOOTH MUSCLE CONTRACTION OF ISOLATED RAT VAS DEFERENS.) อ.ที่ปรึกษา : ดร.สุรียะ เจียรณมิ่งมงคล, อ.ที่ปรึกษาร่วม : รศ.ดร.ประสาน ธรรมอุปกกรณ์ 130 หน้า. ISBN 974-17-2890-5.

CU-18-07(N-Heptanoyl-4-methoxyaniline), CU-18-09(N-Heptanoyl-4-nitroaniline) เป็นอนุพันธ์ของ acyl aniline และ CU-18-12(N-Heptanoyl-4-aminopyridine) ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ acyl aminopyridine จากการศึกษาเบื้องต้นที่ผ่านมาพบว่าสารสังเคราะห์ทั้ง 3 สามารถยับยั้งการหดตัวที่เกิดขึ้นของลำไส้เล็กส่วน duodenum ของกระต่าย สำหรับการศึกษานี้มีจุดมุ่งหมายที่จะทำการศึกษาผลของสารสังเคราะห์ทั้ง 3 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาว โดยใช้ท่อนำสุจิที่ได้จากหนูขาวพันธุ์ Wistar เพศผู้ น้ำหนักประมาณ 250-300 กรัม แขนงใน organ bath ที่บรรจุ physiological solution ขนาด 15 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 37 ± 0.5 องศาเซลเซียส และมีก๊าซ carbogen ไหลผ่านตลอด ในการกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อด้วย $NE(1 \times 10^{-5}M)$, $5-HT(1 \times 10^{-5}M)$, $BaCl_2(1 \times 10^{-3}M)$ และ $KCl(5 \times 10^{-2}M)$ ใน Krebs-Henseleit solution พบว่า CU-18-07 สามารถยับยั้งการหดตัวจากการกระตุ้นด้วย 5-HT และ KCl แต่ไม่สามารถยับยั้งการหดตัวจากการกระตุ้นด้วย NE และ $BaCl_2$ ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่ CU-18-09 และ CU-18-12 สามารถยับยั้งการหดตัวจากการกระตุ้นด้วยสารกระตุ้นทุกตัวได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดย CU-18-09 เป็นสารที่มีความสามารถในการยับยั้งการหดตัวได้สูงสุดในกลุ่มของสารสังเคราะห์ดังกล่าว สำหรับใน Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit solution พบว่ามีเพียง CU-18-12 เท่านั้นที่สามารถยับยั้งการหดตัวจากการกระตุ้นด้วย 5-HT ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ยังสามารถยับยั้งการหดตัวจากการกระตุ้นด้วย caffeine ในนาทีที่ 2, 4, 6 และ 8 ได้อีกด้วยแม้ว่าจะไม่สามารถยับยั้งการหดตัวในช่วงที่กล้ามเนื้อเกิดการหดตัวคงที่ซึ่งเป็นช่วงเวลาในนาทีที่ 10 สารสังเคราะห์ทั้ง 3 ยังสามารถยับยั้งการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} จากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ได้อีกด้วยจากการที่สามารถยับยั้งการหดตัวซึ่งถูกกระตุ้นด้วย $CaCl_2$ แบบสะสม ซึ่ง CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 มีค่า pD_2 เท่ากับ 4.02 ± 0.19 , 5.01 ± 0.14 และ 3.74 ± 0.20 ตามลำดับ จากผลการศึกษาดังกล่าวชี้ให้เห็นว่าสารสังเคราะห์ทั้ง 3 สามารถยับยั้งการหดตัวโดยการยับยั้งการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} จากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิของหนูขาวผ่านทาง receptor-operated Ca^{2+} channel (ROC) และ voltage-operated Ca^{2+} channel (VOC) นอกจากนี้ CU-18-12 ยังน่าจะมีความสามารถในการยับยั้งการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} จากภายในเซลล์ได้อีกด้วย

สหสาขาวิชา เกษษัตริศาสตร์

ลายมือชื่อนิสิต.....

สาขาวิชา เกษษัตริศาสตร์

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ปีการศึกษา 2545

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4389112820 : MAJOR PHARMACOLOGY

KEY WORD: CU-18-07 / CU-18-09 / CU-18-12 / VAS DEFERENS

SORATIYA CHAROENSOMPRASONG : EFFECTS OF CU-18-07, CU-18-09 AND CU-18-12 ON THE SMOOTH MUSCLE CONTRACTION OF ISOLATED RAT VAS DEFERENS. THESIS ADVISOR : SUREE JIANMONGKOL Ph.D., THESIS COADVISOR : ASSOC. PROF. PRASAN DHUMMA-UPKORN, 130 pp. ISBN 974-17-2890-5.

CU-18-07(N-Heptanoyl-4-methoxyaniline), CU-18-09(N-Heptanoyl-4-nitroaniline) are acyl aniline derivatives and CU-18-12(N-Heptanoyl-4-aminopyridine) is acyl aminopyridine derivative. These three synthetic compounds were showed to reduce the spontaneous contraction of isolated rabbit duodenum. The purpose of this study was to investigate the effect of three synthetic compounds on the contractility of isolated rat vas deferens. A section of vas deferens obtained from male Wistar rat weighing 250-300g was suspended in a 15 ml organ bath filled with physiological solution at 37 ± 0.5 °c and gassed with carbogen. The contractile response was provoked by addition of NE(1×10^{-5} M), 5-HT(1×10^{-5} M), BaCl₂(1×10^{-3} M) and KCl(5×10^{-2} M). The results showed that CU-18-07 significantly inhibited contractile response induced by 5-HT and KCl, but it did not have significantly effect on the contraction induced by NE and BaCl₂. CU-18-09 and CU-18-12 significantly inhibited contractile response induced by all agonists. Among the three compounds, CU-18-09 was the most potent inhibitor in Krebs-Henseleit solution. In Ca²⁺-free Krebs-Henseleit solution, among the three compounds only CU-18-12 significantly produced inhibition against the contraction induced by 5-HT. In addition, CU-18-12 significantly suppressed the caffeine-induced contraction at 2, 4, 6 and 8 min although it did not inhibited the contraction at maximum response which steadily maintained from min 10 in same condition. These three compounds also reduced the influx of extracellular Ca²⁺, as showed by the suppression of cumulative dose-response curve of CaCl₂ in the presence of each CU compounds. The pD₂ were 4.02 ± 0.19 , 5.01 ± 0.14 and 3.74 ± 0.20 for CU-18-07, CU-18-09 and CU-18-12 respectively. Our finding suggested that the three synthetic compounds may interfere the influx of extracellular Ca²⁺ into the smooth muscle cell of rat vas deferens via receptor-operated Ca²⁺ channel(ROC) and voltage-operated Ca²⁺ channel(VOC). It is possible that CU-18-12 may also interfere the intracellular Ca²⁺ mobilization.

Inter-Department of Pharmacology

Student's signature.....

Field of study Pharmacology

Advisor's signature.....

Academic year 2002

Co-advisor's signature.....

กิตติกรรมประกาศ

ในการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ดร.สุรีย์ เจียรณมงคล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์และรองศาสตราจารย์ ดร.ประสาน ธรรมอุปกกรณ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์(ร่วม)ที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำ ให้ความรู้ตลอดจนความช่วยเหลือในทุกๆด้านเพื่อให้วิทยานิพนธ์สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชำนาญ ภัทรพานิช ที่ได้ส่งเคราะห์สารให้แก่การวิจัยในครั้งนี้และได้กรุณามาเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.สุพัตรา ศรีไชยรัตน์และรองศาสตราจารย์จันทนี อธิพานิชพงศ์ที่ได้กรุณามาเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่กรุณาให้ทุนอุดหนุนการทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านที่ได้ให้ความรู้ตลอดการศึกษาในระดับมหาบัณฑิต

สุดท้ายนี้ ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา ที่ได้ให้การสนับสนุนในด้านการศึกษาและให้กำลังใจตลอดมาจนสำเร็จการศึกษา

โสรัถยา เจริญสมประสงค์

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญรูปภาพ.....	ฎ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ.....	ท
บทที่ 1 บทนำ	
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	4
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	5
บทที่ 2 แนวคิดและทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง	
โครงสร้างและสรีระวิทยาของท่อน้ำอสุจิ.....	6
กลไกการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....	13
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีดำเนินการทดลอง	
1. สัตว์ทดลอง วัสดุและอุปกรณ์.....	17
2. วิธีดำเนินการทดลอง.....	20
2.1 การเตรียมกล้ามเนื้อเรียบท่อน้ำอสุจิของหนูขาว.....	20
2.2 การศึกษาผลของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ต่อการหดตัว ของกล้ามเนื้อเรียบในท่อน้ำอสุจิที่แยกจากหนูขาวเมื่อถูกกระตุ้นด้วย สารกระตุ้นชนิดต่างๆ.....	20
2.3 การศึกษาผลของสารทดสอบแบบ dose dependent ต่อ การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อน้ำอสุจิที่แยกจากหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $NE\ 1 \times 10^{-5} M$ แบบ non cumulative dose.....	22

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.4 การศึกษาผลของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ในสภาวะที่ไม่มี Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวเมื่อถูกกระตุ้นด้วย NE, 5-HT และ KCl.....	27
2.5 การศึกษาผลของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวต่อ cumulative dose – response curve ของ Calcium chloride (CaCl_2).....	28
2.6 การวิเคราะห์ข้อมูล.....	31

บทที่ 4 ผลการทดลอง

1. ผลของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวเมื่อถูกกระตุ้นด้วยสารกระตุ้นต่างๆ ใน Krebs-Henseleit solution (KHS).....	32
1.1 ผลของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ ในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวเมื่อถูกกระตุ้นด้วย $\text{NE } 1 \times 10^{-5} \text{ M}$	32
1.2 ผลของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวเมื่อถูกกระตุ้นด้วย $5\text{-HT } 1 \times 10^{-5} \text{ M}$	35
1.3 ผลของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อ เรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวเมื่อถูกกระตุ้นด้วย $\text{BaCl}_2 1 \times 10^{-3} \text{ M}$	38
1.4 ผลของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวเมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 50 mM.....	41
2. Dose-response relationship ของ CU-18-09 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวเมื่อถูกกระตุ้นด้วย $\text{NE } 1 \times 10^{-5} \text{ M}$ แบบ non cumulative dose.....	80

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3. ผลของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ในสภาวะที่ไม่มี Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวเมื่อถูกกระตุ้นด้วยสารกระตุ้นต่างๆ ได้แก่ NE, 5-HT และ KCl.....	82
3.1 ผลของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ในสภาวะที่ไม่มี Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวเมื่อถูกกระตุ้นด้วย NE 1×10^{-5} M.....	82
3.2 ผลของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ในสภาวะที่ไม่มี Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวเมื่อถูกกระตุ้นด้วย 5-HT 1×10^{-5} M.....	83
3.3 ผลของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ในสภาวะที่ไม่มี Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวเมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 50 mM.....	84
บทที่ 5 อภิปรายและสรุปผลการทดลอง	
1. ผลของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวเมื่อถูกกระตุ้นด้วยสารกระตุ้นต่างๆ ใน Krebs-Henseleit solution(KHS).....	113
2. ผลของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ในสภาวะที่ไม่มี Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวเมื่อถูกกระตุ้นด้วยสารกระตุ้นต่างๆ.....	118
3. ผลของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวต่อ cumulative dose response curve ของ $CaCl_2$	120
สรุปผลการทดลอง.....	122
รายการอ้างอิง.....	123
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	130

สารบัญตาราง

ตาราง

หน้า

1. ส่วนประกอบของ physiological solution ที่ใช้ในการทดลอง.....19
2. ค่า pD_2 ของ CU-18-07, CU-18-09, CU-18-12 และ nifedipine ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวเมื่อถูกกระตุ้นด้วย $CaCl_2$ แบบ cumulative dose-response curve ใน Ca^{2+} -free depolarizing solution.....112
3. ตารางสรุปผลของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ต่อการหดตัวส่วน phasic contraction ของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวซึ่งถูกกระตุ้นด้วยสารกระตุ้นต่างๆ ใน KHS และ Ca^{2+} -free KHS และค่า pD_2 ใน Ca^{2+} -free depolarizing solution.....114



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญภาพ

ภาพประกอบ

หน้า

1. สูตรโครงสร้างทางเคมีและมวลโมเลกุลของ CU 763-15-13 และ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 (CU 763-16-04).....	2
2. สูตรโครงสร้างพื้นฐานทางเคมีของสารทดสอบ.....	3
3. กระจายตัวของ adrenergic nerve terminals ด้วยวิธี formaldehyde-induced fluorescent ใน epididymal end ที่ได้จากจากท่อนำสุจิของหนูขาว.....	7
4. การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบท่อนำสุจิส่วน epididymal end ที่ถูกกระตุ้นด้วย NE 1×10^{-5} M.....	8
5. การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบท่อนำสุจิส่วน prostatic end ที่ถูกกระตุ้นด้วย KCl 50 mM.....	11
6. กลไกการเพิ่มปริมาณ Ca^{2+} ภายในเซลล์ของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ.....	13
7. การเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} ในเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ.....	16
3. สูตรโครงสร้างทางเคมีและมวลโมเลกุลของ CU 763-15-13 และ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 (CU 763-16-04).....	2
4. สูตรโครงสร้างพื้นฐานทางเคมีของสารทดสอบ.....	3
3. กระจายตัวของ adrenergic nerve terminals ด้วยวิธี formaldehyde-induced fluorescent ใน epididymal end ที่ได้จากจากท่อนำสุจิของหนูขาว.....	7
4. การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบท่อนำสุจิส่วน epididymal end ที่ถูกกระตุ้นด้วย NE 1×10^{-5} M.....	8
5. การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบท่อนำสุจิส่วน prostatic end ที่ถูกกระตุ้นด้วย KCl 50 mM.....	11
6. กลไกการเพิ่มปริมาณ Ca^{2+} ภายในเซลล์ของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ.....	13
7. การเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} ในเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ.....	16
8. ตำแหน่งของท่อนำสุจิ(vas deferens) และการผูกท่อนำสุจิของหนูขาว.....	23
9. การจัด organ bath และการแขวนเนื้อเยื่อสำหรับทำการทดลอง.....	24
10. ขั้นตอนของการทดลองและวิธีการวัดแรงหดตัวส่วน phasic และ rhythmic contraction ก่อนและหลังได้รับสารทดสอบ.....	25
11. ขั้นตอนของการทดลองและวิธีการวัดแรงหดตัวส่วน phasic และ tonic contraction ก่อนและหลังได้รับสารทดสอบ.....	26

สารบัญ (ต่อ)

ภาพประกอบ

หน้า

12. ขั้นตอนของการทดลองในสภาวะที่ปราศจาก Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์ และวิธีการวัดแรงหดตัวที่เกิดขึ้นก่อนและหลังได้รับสารทดสอบ.....	29
13. การวัดแรงหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิของหนูขาวเมื่อถูกกระตุ้นด้วย caffeine 50 mM ในเวลาที่ 2, 4, 6, 8 และ 10 ก่อนและหลังได้รับสารทดสอบ.....	30
14. การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $NE\ 1 \times 10^{-5}\ M$ ก่อนและหลังได้รับ DMSO 0.06% v/v.....	44
15. กราฟแสดงผลของ DMSO ขนาด 0.06% v/v ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $NE\ 1 \times 10^{-5}\ M$	45
16. การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $NE\ 1 \times 10^{-5}\ M$ ก่อนและหลังได้รับ CU-18-07 $1 \times 10^{-5}\ M$ และ $1 \times 10^{-4}\ M$	46
17. กราฟแสดงผลของ CU-18-07 ขนาด $1 \times 10^{-5}\ M$ และ $1 \times 10^{-4}\ M$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $NE\ 1 \times 10^{-5}\ M$	47
18. การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $NE\ 1 \times 10^{-5}\ M$ ก่อนและหลังได้รับ CU-18-09 $1 \times 10^{-5}\ M$ และ $1 \times 10^{-4}\ M$	48
19. กราฟแสดงผลของ CU-18-09 ขนาด $1 \times 10^{-5}\ M$ และ $1 \times 10^{-4}\ M$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $NE\ 1 \times 10^{-5}\ M$	49
20. การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $NE\ 1 \times 10^{-5}\ M$ ก่อนและหลังได้รับ CU-18-12 $1 \times 10^{-5}\ M$ และ $1 \times 10^{-4}\ M$	50

สารบัญ (ต่อ)

ภาพประกอบ

หน้า

21. กราฟแสดงผลของ CU-18-12 ขนาด 1×10^{-5} M และ 1×10^{-4} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NE 1×10^{-5} M.....51
22. กราฟแสดงผลของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ขนาด 1×10^{-5} M และ 1×10^{-4} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NE 1×10^{-5} M.....52
23. การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย 5-HT 1×10^{-5} M ก่อนและหลังได้รับ DMSO 0.06% v/v.....53
24. กราฟแสดงผลของ DMSO ขนาด 0.06% v/v ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย 5-HT 1×10^{-5} M.....54
25. การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย 5-HT 1×10^{-5} M ก่อนและหลังได้รับ CU-18-07 1×10^{-5} M และ 1×10^{-4} M..... 55
26. กราฟแสดงผลของ CU-18-07 ขนาด 1×10^{-5} M และ 1×10^{-4} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย 5-HT 1×10^{-5} M.....56
27. การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย 5-HT 1×10^{-5} M ก่อนและหลังได้รับ CU-18-09 1×10^{-5} M และ 1×10^{-4} M.....57
28. กราฟแสดงผลของ CU-18-09 ขนาด 1×10^{-5} M และ 1×10^{-4} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย 5-HT 1×10^{-5} M.....58
29. การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย 5-HT 1×10^{-5} M ก่อนและหลังได้รับ CU-18-12 1×10^{-5} M และ 1×10^{-4} M.....59

สารบัญ (ต่อ)

ภาพประกอบ

หน้า

30. กราฟแสดงผลของ CU-18-12 ขนาด 1×10^{-5} M และ 1×10^{-4} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย 5-HT 1×10^{-5} M.....60
31. กราฟแสดงผลของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ขนาด 1×10^{-5} M และ 1×10^{-4} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย 5-HT 1×10^{-5} M.....61
32. การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย BaCl_2 1×10^{-3} M ก่อนและหลังได้รับ DMSO 0.06% v/v.....62
33. กราฟแสดงผลของ DMSO ขนาด 0.06% v/v ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย BaCl_2 1×10^{-3} M.....63
34. การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย BaCl_2 1×10^{-3} M ก่อนและหลังได้รับ CU-18-07 1×10^{-5} M และ 1×10^{-4} M.....64
35. กราฟแสดงผลของ CU-18-07 ขนาด 1×10^{-5} M และ 1×10^{-4} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย BaCl_2 1×10^{-3} M.....65
36. การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาว ส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย BaCl_2 1×10^{-3} M ก่อนและหลังได้รับ CU-18-09 1×10^{-5} M และ 1×10^{-4} M.....66
37. กราฟแสดงผลของ CU-18-09 ขนาด 1×10^{-5} M และ 1×10^{-4} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย BaCl_2 1×10^{-3} M.....67
38. การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย BaCl_2 1×10^{-3} M ก่อนและหลังได้รับ CU-18-12 1×10^{-5} M และ 1×10^{-4} M.....68

สารบัญ (ต่อ)

ภาพประกอบ

หน้า

39. กราฟแสดงผลของ CU-18-12 ขนาด 1×10^{-5} M และ 1×10^{-4} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย BaCl_2 1×10^{-3} M.....69
40. กราฟแสดงผลของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ขนาด 1×10^{-5} M และ 1×10^{-4} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย BaCl_2 1×10^{-3} M.....70
41. การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน prostatic half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 50 mM ก่อนและหลังได้รับ DMSO 0.06% v/v.....71
42. กราฟแสดงผลของ DMSO ขนาด 0.06% v/v ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน prostatic half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 50 mM.....72
43. การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน prostatic half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 50 mM ก่อนและหลังได้รับ CU-18-07 1×10^{-5} M และ 1×10^{-4} M.....73
44. กราฟแสดงผลของ CU-18-07 ขนาด 1×10^{-5} M และ 1×10^{-4} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน prostatic half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 50 mM74
45. การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน prostatic half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 50 mM ก่อนและหลังได้รับ CU-18-09 1×10^{-5} M และ 1×10^{-4} M.....75
46. กราฟแสดงผลของ CU-18-09 ขนาด 1×10^{-5} M และ 1×10^{-4} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน prostatic half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 50 mM76
47. การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน prostatic half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 50 mM ก่อนและหลังได้รับ CU-18-12 1×10^{-5} M และ 1×10^{-4} M.....77

สารบัญ (ต่อ)

ภาพประกอบ

หน้า

48. กราฟแสดงผลของ CU-18-12 ขนาด 1×10^{-5} M และ 1×10^{-4} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน prostatic half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 50 mM78
49. กราฟแสดงผลของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ขนาด 1×10^{-5} M และ 1×10^{-4} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน prostatic half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 50 mM79
50. กราฟแสดงผลของ CU-18-09 แบบ dose dependent ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาว epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NE 1×10^{-5} M แบบ non cumulative dose.....81
51. การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NE 1×10^{-5} M ใน Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit solution ก่อนและหลังได้รับ DMSO 0.06% v/v.....85
52. การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NE 1×10^{-5} M ใน Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit solution ก่อนและหลังได้รับ CU-18-07 1×10^{-4} M.....86
53. การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NE 1×10^{-5} M ใน Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit solution ก่อนและหลังได้รับ CU-18-09 1×10^{-4} M.....87
54. การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NE 1×10^{-5} M ใน Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit solution ก่อนและหลังได้รับ CU-18-12 1×10^{-4} M.....88
55. กราฟแสดงผลของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 1×10^{-4} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NE 1×10^{-5} M ใน Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit solution.....89
56. การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย 5-HT 1×10^{-5} M ใน Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit solution ก่อนและหลังได้รับ DMSO 0.06% v/v.....90

สารบัญ (ต่อ)

ภาพประกอบ

หน้า

57. การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย 5-HT 1×10^{-5} M ใน Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit solution ก่อนและหลังได้รับ CU-18-07 1×10^{-4} M.....91
58. การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย 5-HT 1×10^{-5} M ใน Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit solution ก่อนและหลังได้รับ CU-18-09 1×10^{-4} M.....92
59. การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย 5-HT 1×10^{-5} M ใน Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit solution ก่อนและหลังได้รับ CU-18-12 1×10^{-4} M.....93
60. กราฟแสดงผลของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 1×10^{-4} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย 5-HT 1×10^{-5} M ใน Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit solution.....94
61. การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน prostatic half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 50 mM ใน Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit solution ก่อนและหลังได้รับ DMSO 0.06% v/v..... 95
62. การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน prostatic half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 50 mM ใน Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit solution ก่อนและหลังได้รับ CU-18-07 1×10^{-4} M..... 96
63. การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน prostatic half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 50 mM ใน Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit solution ก่อนและหลังได้รับ CU-18-09 1×10^{-4} M.....97
64. การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน prostatic half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 50 mM ใน Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit solution ก่อนและหลังได้รับ CU-18-12 1×10^{-4} M.....98
65. กราฟแสดงผลของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 1×10^{-4} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน prostatic half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 50 Mm ใน Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit solution.....99

สารบัญ (ต่อ)

ภาพประกอบ

หน้า

66. การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย caffeine 50 mM ใน Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit solution ก่อนและหลังได้รับ $\text{CU-18-12 } 1 \times 10^{-4} \text{ M}$101
67. กราฟแสดงผลของ CU-18-12 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย caffeine 50 Mm ใน Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit solution ในนาที่ที่ 2, 4, 6, 8 และ 10.....102
68. การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน prostatic half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 ใน Ca^{2+} -free depolarizing solution ก่อนและหลังได้รับ $\text{CU-18-07 } 1 \times 10^{-4} \text{ M}$104
69. กราฟแสดงผลของ $\text{CU-18-07 } 1 \times 10^{-4} \text{ M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน prostatic half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative dose response curve ใน Ca^{2+} -free depolarizing solution.....105
70. การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน prostatic half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 ใน Ca^{2+} -free depolarizing solution ก่อนและหลังได้รับ $\text{CU-18-09 } 1 \times 10^{-4} \text{ M}$106
70. กราฟแสดงผลของ $\text{CU-18-09 } 1 \times 10^{-4} \text{ M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน prostatic half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative dose response curve ใน Ca^{2+} -free depolarizing solution..... 107
72. การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน prostatic half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 ใน Ca^{2+} -free depolarizing solution ก่อนและหลังได้รับ $\text{CU-18-12 } 1 \times 10^{-4} \text{ M}$108
73. กราฟแสดงผลของ $\text{CU-18-12 } 1 \times 10^{-4} \text{ M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน prostatic half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative dose response curve ใน Ca^{2+} -free depolarizing solution.....109
74. การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน prostatic half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 ใน Ca^{2+} -free depolarizing solution ก่อนและหลังได้รับ nifedipine $1 \times 10^{-6} \text{ M}$110

สารบัญ (ต่อ)

ภาพประกอบ

หน้า

75. กราฟแสดงผลของ nifedipine 1×10^{-6} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบใน
ท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน prostatic half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ
cumulative dose response curve ใน Ca^{2+} - free depolarizing solution.....111



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คำนิยามสัญลักษณ์และคำย่อต่างๆ

MW	=	molecular weight
mp	=	melting point
Ca ²⁺	=	calcium ion
K ⁺	=	potassium ion
Ba ²⁺	=	barium ion
β	=	beta
α	=	alpha
mM	=	millimolar
M	=	molar
v/v	=	volume by volume
°C	=	degree of celsius
%	=	percent
<i>p</i>	=	probability
<i>n</i>	=	number of experiments
VOC	=	voltage-operated calcium channel
ROC	=	receptor-operated calcium channel
IP ₃	=	inositol 1,4,5 -triphosphate
DAG	=	diacylglycerol
PKC	=	protien kinase C
SR	=	sarcoplasmic recticulum
KHS	=	Krebs-Henseleit solution
DMSO	=	Dimethyl sulfoxide
KCl	=	Potassium chloride
BaCl ₂	=	Barium chloride
NE	=	Norepinephrine
5-HT	=	5-hydroxytryptamine

บทที่ 1

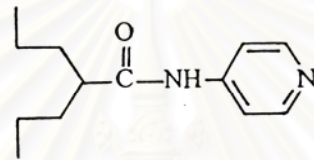
บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

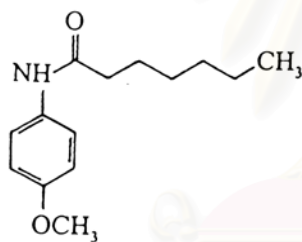
การพัฒนาสารในกลุ่ม acyl pyridine และ acyl aniline มีจุดกำเนิดมาจากแนวคิดที่ต้องการที่จะพัฒนายาต้านชักให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้นโดยเริ่มต้นจากการดัดแปลงสูตรโครงสร้างระหว่าง 2-propylpentanal acetals ซึ่งเป็น prodrug ของ valpoic acid กับ pyridoxin(vitamin B₆) ซึ่งเป็น cofactor ของเอ็นไซม์ที่จำเป็นในกระบวนการสร้าง gamma aminobutyric acid (GABA) ทำให้ได้ออนุพันธ์ของ valpoic acid ซึ่งมีประสิทธิภาพในการต้านชักสูง(เฉลิมเกียรติ, 2539) นอกจากนี้ยังพบว่าสารสังเคราะห์ดังกล่าวยังมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาสามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้โดยมีผลต่อการเคลื่อนที่ของ Ca²⁺ แบบ non specific antagonist ซึ่งสามารถยับยั้งการเคลื่อนที่ของ Ca²⁺ จากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ผ่านทาง receptor-operated calcium channels(ROC) และ voltage-operated calcium channels(VOC) (อุรารัตน์, 2539) และยังพบว่ายังมีผลต่อชีวพลังงานของ mitochondria อีกด้วย (สุชาติพ, 2539) จากความสามารถในการให้ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาหลายประการจึงทำให้มีการปรับปรุงสูตรโครงสร้างทางเคมีใหม่โดยมีวัตถุประสงค์หลักเพื่อลดความเป็นพิษต่อชีวพลังงานของ mitochondria แต่ยังคงความสามารถในการคลายกล้ามเนื้อเรียบได้ ดังนั้นการพัฒนาสารในกลุ่ม acyl pyridine และ acyl aniline จึงยังคงมีการพัฒนาต่อเรื่อยมาจนถึงปัจจุบัน

ในปี พ.ศ.2541 CU 763-15-13 ได้ถูกสังเคราะห์ขึ้น โดยเป็นสารใหม่ซึ่งได้จากการพัฒนาอนุพันธ์ของ valpoic acid ให้มีสูตรโครงสร้างเป็น amide ดังแสดงไว้ในรูปที่ 1 พบว่ามีผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ โดยกลูตา ชุ่มสายอินทร์ได้ทำการทดสอบผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบพบว่าสารดังกล่าวสามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในลำไส้เล็กส่วน duodenum ของกระต่าย, หลอดเลือดแดงใหญ่และท่อน้ำอสุจิของหนูขาวเมื่อถูกกระตุ้นด้วย norepinephrine, barium chloride และ potassium chloride ลักษณะการออกฤทธิ์เป็นแบบ nonspecific antagonist(กุลยา, 2541) และจากการศึกษาผลของ CU 763-15-13 ต่อ mitochondria พบว่า CU 763-15-13 เป็นสารที่ออกฤทธิ์เป็น respiratory chain inhibitor(อุ้นเรือน, 2541) ต่อมาจึงได้มีการดัดแปลงสูตรโครงสร้างของ CU 763-15-13 เพื่อเป็นแนวทางในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างกับคุณสมบัติในการคลายกล้ามเนื้อเรียบทำให้ได้ออนุพันธ์ของ CU 763-15-13 ออกมาเป็น CU 763-16-04(ชำนาญและเพ็ญพิมล, 2541) หรือ CU-18-12 ในปัจจุบันโดยมีสูตรโครงสร้างดังแสดงไว้ในรูปที่ 1 มีมวลโมเลกุลเท่ากับ 206 ซึ่งพบว่า CU 763-16-04 มีผลยับยั้ง

การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในกระเพาะอาหารและหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาวเมื่อถูกกระตุ้นด้วย 5-hydroxytryptamine, acetylcholine ในสารละลาย tyrode และเมื่อถูกกระตุ้นด้วย barium chloride และ potassium chloride ในสารละลาย high K^+ depolarizing ส่วนในหลอดเลือดแดงใหญ่ของกระต่ายกลับพบว่ามิผลในการเพิ่มการหดตัว(คณิตา, 2542) เช่นเดียวกันกับผลการศึกษาในหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำจากสายสะดือของมนุษย์ที่ให้ผลในการเพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ(จันทร์ฉาย, 2543) อย่างไรก็ตามยังพบว่า CU 763-16-04 มีผลกระทบต่อ respiratory process และ oxidative phosphorylation ของ mitochondria อีกด้วย (อัษฎิษฐา, 2543)

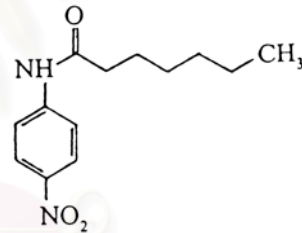


CU 763-15-13, MW=220



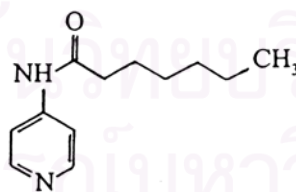
CU-18-07, MW=235

N-Heptanoyl-4-methoxyaniline



CU-18-09, MW=250

N-Heptanoyl-4-nitroaniline

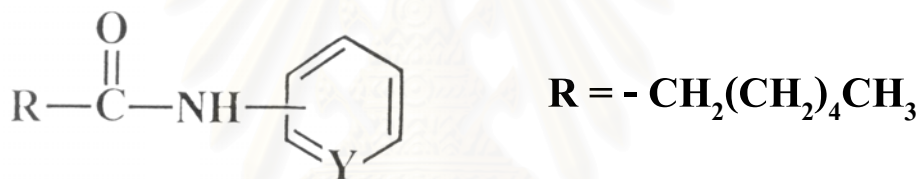


CU-18-12, MW=206

N-Heptanoyl-4-aminopyridine

รูปที่ 1 สูตรโครงสร้างทางเคมีและมวลโมเลกุลของ CU 763-15-13 และ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 (CU 763-16-04)

การพัฒนาสารในกลุ่มนี้ยังคงดำเนินต่อมาจนกระทั่งมีการเปลี่ยนแปลงสูตรโครงสร้างหลักจาก pyridine derivative มาเป็น aniline derivative ทำให้ได้สารใหม่อีกหลายตัวด้วยกัน ทั้งนี้เพื่อหวังผลในการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบมากขึ้นแต่มีความเป็นพิษต่อกระบวนการหายใจของ mitochondria ลดน้อยลง โดยได้มีการดัดแปลงสูตรโครงสร้างทางหมู่ Alkyl (R), ตำแหน่งแทนที่บนวงแหวนและชนิดของวงแหวน(Y) ดังแสดงไว้ในรูปที่ 2 ซึ่งนอกจากจะเปลี่ยนแปลงสูตรโครงสร้างหลักจาก pyridine derivative เป็น aniline derivative แล้วยังได้มีการเติมหมู่ $-NO_2$ และ $-OCH_3$ ลงบน aniline ring ซึ่งเป็น e^- withdrawing group (หมู่ที่สามารถดึง e^- ออกจาก ring) เพื่อเพิ่มความสามารถในการคลายกล้ามเนื้อเรียบได้มากขึ้น โดยที่หมู่ $-OCH_3$ มีคุณสมบัติเป็น e^- withdrawing group ที่มีความแรงน้อยกว่าหมู่ $-NO_2$ ซึ่งคาดหวังว่าหมู่ $-OCH_3$ นี้จะช่วยลดผลกระทบต่อกระบวนการหายใจของ mitochondria แต่ยังคงความสามารถในการคลายกล้ามเนื้อเรียบได้คงเดิม



code	Y	Position of substitutions	mp (°c)	MW
CU-18-07	C-OCH ₃	Para	84	235
CU-18-09	C-NO ₂	Para	57	250
CU-18-12	N	Para	-	206

รูปที่ 2 สูตรโครงสร้างพื้นฐานทางเคมีของสารทดสอบ

สำหรับสารทดสอบในการศึกษานี้ซึ่งได้แก่ CU-18-07 และ CU-18-09 ซึ่งเป็นสารอนุพันธ์ในกลุ่ม acyl aniline และ CU-18-12 (CU 763-16-04) ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ acyl aminopyridine มีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำแต่ละลายได้ดีใน DMSO (Dimethyl sulfoxide) มีสูตรโครงสร้างดังที่แสดงไว้ในรูปที่ 1 ถูกสังเคราะห์ขึ้นโดยชำนาญ ภัทรพานิชและคณะ จากการศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับการออกฤทธิ์ในการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบพบว่าสารในกลุ่มนี้สามารถลดการหดตัวของ

กล้ามเนื้อเรียบที่เกิดขึ้นได้เอง(spontaneous contraction) ในลำไส้เล็กส่วน duodenum ของกระต่าย(วิฑูรย์และชัยพร, 2543) ซึ่งในการศึกษานี้มีจุดมุ่งหมายที่จะทำการศึกษาผลทางเภสัชวิทยาของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ที่มีผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิซึ่งเป็นการศึกษาที่ยังไม่เคยมีผู้ใดทำการศึกษาฤทธิ์ของสารสังเคราะห์ทั้ง 3 โดยเฉพาะ CU-18-07 และ CU-18-09 ซึ่งเพิ่งถูกสังเคราะห์ขึ้นใหม่ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบชนิดอื่นๆที่น่าสนใจเช่นกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจินี้มาก่อน เนื่องจากกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิมีรูปแบบของการตอบสนองต่อสารกระตุ้นการหดตัวชนิดต่างๆได้แตกต่างไปจากกล้ามเนื้อเรียบของลำไส้ส่วน duodenum และยังมีรูปแบบของการหดตัวซึ่งมีลักษณะเฉพาะเมื่อถูกกระตุ้นด้วยสารกระตุ้นชนิดต่างๆ ดังนั้นจึงมีความสนใจที่จะทำการศึกษาผลของสังเคราะห์ที่มีต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิเมื่อถูกกระตุ้นด้วยสารกระตุ้นชนิดต่างๆ ได้แก่ Potassium chloride(KCl) และ Barium chloride(BaCl₂) ซึ่งสารต่างๆเหล่านี้เป็นตัวกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบผ่านทาง voltage-operated Ca²⁺ channel(VOC) และ Norepinephrine(NE), 5-hydroxytryptamine (5-HT) ซึ่งกระตุ้นให้มีการเคลื่อนที่ของ Ca²⁺ ผ่านทาง receptor-operated Ca²⁺ channel(ROC) รวมทั้งศึกษาผลของสารดังกล่าวต่อการเคลื่อนที่ของ Ca²⁺ จากภายนอกเซลล์และการหลั่ง Ca²⁺ จากภายในเซลล์กับการออกฤทธิ์ของสารสังเคราะห์ทั้ง 3 นี้ด้วย โดยผลการศึกษาที่ได้นอกจากจะทำให้ทราบถึงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสังเคราะห์ทั้ง 3 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิแล้ว ข้อมูลที่ได้ยังอาจอธิบายได้ถึงเป้าหมายของสารในการออกฤทธิ์ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิซึ่งจะเป็นข้อมูลพื้นฐานทางเภสัชวิทยาสำหรับงานวิจัยอื่นๆ รวมทั้งเป็นแนวทางในการศึกษาและพัฒนาสารสังเคราะห์ทั้ง 3 นี้ต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวเมื่อถูกกระตุ้นด้วยสารกระตุ้นชนิดต่างๆ ได้แก่ Norepinephrine(NE), 5-hydroxytryptamine(5-HT), Potassium chloride(KCl) และ Barium chloride(BaCl₂)
2. เพื่อเปรียบเทียบผลของสารสังเคราะห์คือ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวเมื่อถูกกระตุ้นด้วยสารกระตุ้นชนิดต่างๆ ได้แก่ Norepinephrine(NE), 5-hydroxytryptamine(5-HT) และ Potassium chloride(KCl) ในสภาวะที่มี Ca²⁺ และไม่มี Ca²⁺ จากภายนอกเซลล์

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทำให้ทราบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวเมื่อถูกกระตุ้นด้วยสารกระตุ้นชนิดต่าง ๆ
2. เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการศึกษาการออกฤทธิ์คล้ายตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่ถูกกระตุ้นด้วยสารกระตุ้นชนิดต่างๆต่อวิถีทางการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} เข้าสู่ภายในเซลล์หรือต่อการหลั่ง Ca^{2+} จากภายในเซลล์ซึ่งถูกกระตุ้นผ่านทางสารกระตุ้นชนิดต่าง ๆ
3. จากการศึกษาจะเป็นประโยชน์ในการนำสารเหล่านี้ไปใช้ในการพัฒนาทางเภสัชวิทยาที่จะเป็นประโยชน์ต่อไปในอนาคต



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

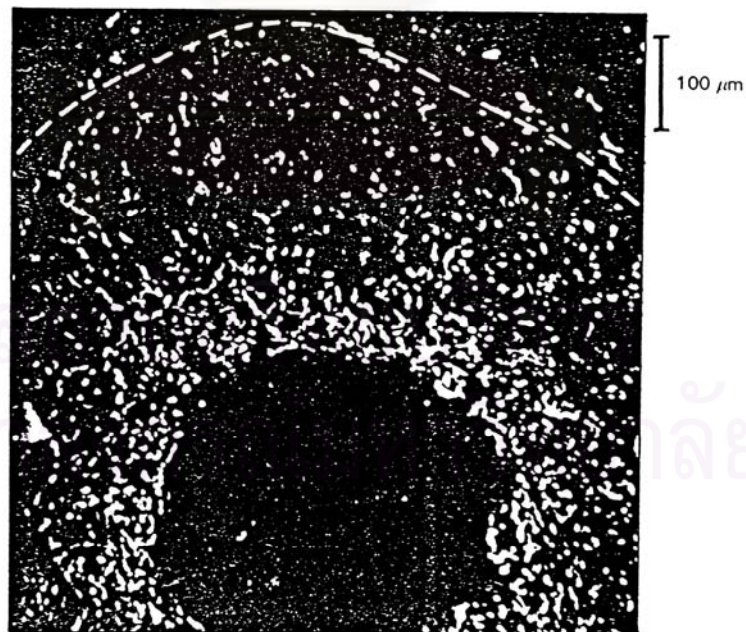
บทที่ 2

แนวคิดและทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

โครงสร้างและสรีระวิทยาของท่อนำสุจิ

ท่อนำสุจิ(vas deferens) มีลักษณะเป็นท่อซึ่งแบ่งเป็น 2 ส่วนคือ epididymal end และ prostatic end จากการศึกษาท่อนำสุจิของสัตว์ในกลุ่ม rodent เช่นหนูตะเภา, หนูถีบจักรพบว่า ท่อนำสุจิประกอบด้วยกล้ามเนื้อเรียบ 3 ชั้น กล้ามเนื้อชั้นในและกล้ามเนื้อชั้นนอกเป็นกล้ามเนื้อตามยาว ส่วนกล้ามเนื้อชั้นกลางเป็นกล้ามเนื้อรอบวงกลมจากการตรวจทาง histology ด้วยวิธีการย้อม haematoxylin และ eosin(H and E) ในท่อนำสุจิซึ่งได้จากหนูขาวพันธุ์ Wistar ทำให้สามารถแยกความแตกต่างของท่อนำสุจิส่วน epididymal end และ prostatic end ได้ดังนี้คือ 1) ขนาดความกว้างภาคหน้าตัดขวางของชั้นกล้ามเนื้อในส่วน epididymal end จะบางกว่าส่วน prostatic end(50-70% ของส่วน prostatic end) 2) การเกาะกันของชั้นกล้ามเนื้อตามยาวและกล้ามเนื้อรอบวงกลมในส่วน epididymal end จะเกาะกันอย่างหลวมๆ ขณะที่ในส่วน prostatic end จะมีการเกาะกันของชั้นกล้ามเนื้ออย่างหนาแน่นมากกว่า (Patrica, Morage, and McGrath, 1977) ภายในท่อนำสุจิถูกบุด้วย epithelial cell โดยตลอดทำหน้าที่ในการขนส่งเกล็ดแรมและสารสำคัญต่างๆเพื่อรักษาสภาพแวดล้อมภายในท่อนำสุจิให้มีความเหมาะสมในการพัฒนาและการเจริญของ sperm ในท่อนำสุจิของหนูขาวเชื่อว่าไม่มี nitric oxide(NO)- releasing nerve ทั้งนี้เนื่องจากได้มีรายงานว่าไม่พบ NO synthase activity(Mitchell et al., 1991) แต่อย่างไรก็ตามได้มีรายงานถึงการพบ NO synthase containing nerve ในท่อนำสุจิของหนูตะเภา(Song et al., 1994) ท่อนำสุจิจะมี adrenergic fiber จำนวนมากที่ส่งผ่านมาทาง hypogastric nerve มาเลี้ยงกล้ามเนื้ออยู่ตลอดความยาว กล้ามเนื้อชั้นในจะมี adrenergic nerve terminals อยู่อย่างหนาแน่นมากกว่าภายนอกดังแสดงในรูปที่ 3 นอกจากนี้ในการศึกษาการหดตัวของกล้ามเนื้อต่อการกระตุ้นด้วยไฟฟ้าพบว่ากล้ามเนื้อตามยาวและกล้ามเนื้อรอบวงกลมมีการตอบสนองต่อการกระตุ้นได้ไม่แตกต่างกัน(Patrica et al., 1977) กล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิของหนูขาวสามารถตอบสนองต่อสารต่างๆภายในร่างกายทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อ สารต่างๆเหล่านี้อาจเป็นสารสื่อประสาทหรือฮอร์โมนซึ่งจะมีตัวรับจำเพาะของมันที่แตกต่างกันได้ ตัวอย่างของสารต่างๆเหล่านี้ได้แก่ norepinephrine(NE) และ serotonin(5-HT) เป็นต้น เนื่องจากท่อนำสุจิมีเส้นประสาท adrenergic fiber มาควบคุมอยู่มากมายดังนั้นในท่อนำสุจิจึงมี adrenoceptor อยู่เป็นจำนวนมากเช่นกัน ซึ่ง adrenoceptor สามารถแบ่งออกเป็น 2 subtype ใหญ่ๆคือ α -adrenoceptor และ β -adrenoceptor ชนิดที่มีอยู่เป็นจำนวนมากและมีความสำคัญในท่อ

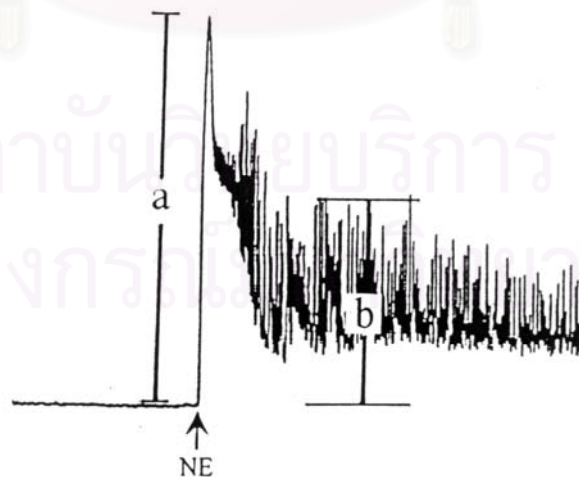
นำอสุจิของหนูขาวได้แก่ α_{1A} -adrenoceptor ซึ่งเป็นชนิดเดียวกันกับในท่อนำอสุจิของมนุษย์ นอกจาก α_1 -adrenoceptor แล้วในท่อนำอสุจิของหนูขาวยังพบว่ามี β_2 -adrenoceptor เมื่อถูกกระตุ้นแล้วจะส่งผลให้ท่อนำอสุจิเกิดการคลายตัว (Diaz-Toledo and Jurkiewicz, 1990) ขณะที่ ในหลอดเลือดแดงใหญ่ซึ่งนิยมใช้เป็นต้นแบบในการศึกษาก็จะมี α_1 -adrenoceptor อยู่ด้วย เช่นกันแต่เป็น subtype ที่แตกต่างกันออกไป โดยในหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาวจะเป็น α_{1D} -adrenoceptor (Fugura, Lydford and Dougall, 1997) ส่วนหลอดเลือดแดงใหญ่ของ กระต่ายจะเป็นชนิด α_{1B} -adrenoceptor (Murumutsu, Kigoshi and Oshita, 1990) และถึงแม้ว่า ทั้งหลอดเลือดและท่อนำอสุจิจะมีลักษณะเป็นท่อกลวงยาวเหมือนกันแต่ภายในของหลอดเลือดจะ ไปด้วย endothelial cell ซึ่งจะมี nitric oxide เข้ามา มีบทบาทเกี่ยวข้อง โดยมีผลต่อการคลายตัวของ กล้ามเนื้อเรียบในหลอดเลือดแต่ในท่อนำอสุจิไม่มีซึ่งถือเป็นข้อแตกต่างอีกอย่างหนึ่งระหว่าง กล้ามเนื้อเรียบทั้ง 2 ชนิดนี้ นอกจากนี้ยังพบว่ากล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิจะมีรูปแบบการ ตอบสนองเมื่อถูกกระตุ้นให้เกิดการหดตัวจากสารกระตุ้นต่างๆที่มีลักษณะจำเพาะต่อสารกระตุ้น แต่ละชนิดและจะมีรูปแบบการหดตัวแต่ละส่วนแยกออกจากกันอย่างชัดเจนด้วยกลไกการกระตุ้นที่ แตกต่างกันโดยมีตัวอย่างของการหดตัวแบบ phasic และ rhythmic contraction ดังในรูปที่ 4



รูปที่ 3 การกระจายตัวของ adrenergic nerve terminals ด้วยวิธี formaldehyde-induced fluorescent ใน epididymal end ที่ได้จากการนำอสุจิของหนูขาว (Patrica et al., 1977)

หรือแบบ phasic และ tonic contraction ดังในรูปที่ 5 เป็นต้น ขณะที่ในหลอดเลือดส่วนใหญ่พบว่าจะมีรูปแบบของการหดตัวของสารกระตุ้นต่างๆที่ไม่ค่อยแตกต่างกันเท่าใดนักถึงแม้ว่าจะมีกลไกการกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่แตกต่างกันก็ตาม

NE สามารถกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิได้ผ่านทาง α_{1A} -adrenoceptor ซึ่งในส่วน epididymal end นี้จะมี α_1 -adrenoceptor มากกว่าในส่วน prostatic end (Abond, Shafit and Docherty, 1993) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาอื่นที่ผ่านมาแล้วสนับสนุนกับการศึกษาดังกล่าวซึ่งพบว่า epididymal end จะตอบสนองต่อ α -adrenoceptor agonists ได้ดีกว่า prostatic end (Pennefather, Vardolov and Heath, 1974 ; Kasuya and Suzuki, 1979) โดย α_{1A} -adrenoceptor เป็น receptor ที่ couple อยู่กับ G_{α_q} protein เมื่อถูกกระตุ้นจะทำให้กล้ามเนื้อเรียบเกิดการหดตัว ลักษณะการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิประกอบด้วย 2 ส่วนคือ initial phasic response และ sustained response ซึ่งมีลักษณะเป็นแบบ rhythmic contraction ดังแสดงในรูปที่ 4 โดยพบว่า ryanodine ซึ่งมีผลรบกวนต่อการหลั่ง Ca^{2+} จากภายในเซลล์สามารถยับยั้ง phasic contraction ได้ ขณะที่ Ca^{2+} channel inhibitors อย่าง nifedipine สามารถยับยั้ง rhythmic contraction ได้ ซึ่งเป็นการชี้ให้เห็นว่า phasic contraction จำเป็นต้องอาศัยการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} จากภายในเซลล์ ส่วน rhythmic contraction นั้นเป็นผลมาจาก Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์เคลื่อนที่ผ่านทาง Ca^{2+} channels เข้าไป



รูปที่ 4 การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบท่อนำอสุจิส่วน epididymal end ที่ถูกกระตุ้นด้วย $NE\ 1 \times 10^{-5}\ M$ โดย a แสดง phasic contraction และ b แสดง rhythmic Contraction

ในเซลล์ซึ่งการหดตัวในส่วนนี้สามารถถูกยับยั้งได้โดย Ca^{2+} channel inhibitors และในสภาวะที่ปราศจาก Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์ (Hay and Wadsworth, 1983b)

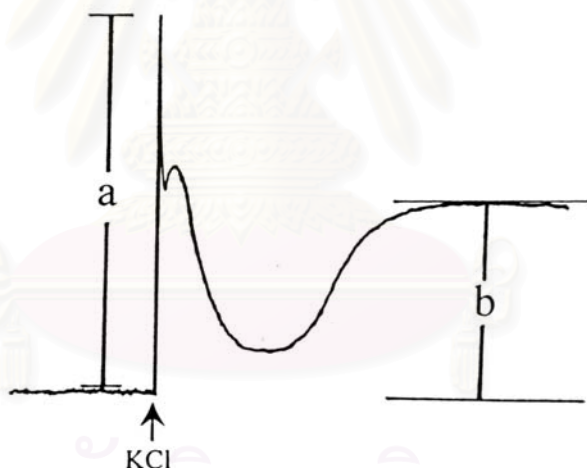
5-HT สามารถกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิได้ผ่านทาง $5-HT_2$ receptor และ $5-HT_3$ receptor ส่วน epididymal end จะตอบสนองต่อ 5-HT ได้ดีกว่า prostatic end เช่นเดียวกับการกระตุ้นด้วย NE (Hay and Wadsworth, 1982b) ในขณะที่ยังไม่เคยมีผู้ใดทำการศึกษาที่แน่ชัดเกี่ยวกับการกระจายตัวของ $5-HT$ receptor ในกล้ามเนื้อเรียบของท่อนำสุจิ การศึกษาในระดับเซลล์ในท่อนำสุจิทำให้ทราบว่า 5-HT จะถูกนำไปเก็บไว้ใน granules ของ sympathetic nerve ซึ่งเป็นที่เก็บสะสม NE และยังแสดงให้เห็นว่า 5-HT สามารถผ่านเข้าไปยัง sympathetic nerve ด้วยวิธี active process (Nguyen, Thoa and Worley, 1969) ท่อนำสุจิที่ถูกกระตุ้นด้วยไฟฟ้าพบว่า 5-HT สามารถเพิ่มแรงหดตัวของกล้ามเนื้อโดยการกระตุ้นผ่านทาง $5-HT_3$ receptor และ $5-HT_2$ receptor การกระตุ้น $5-HT_3$ receptor จะทำให้มีการหลั่งสารสื่อประสาทจากปลายประสาท sympathetic เพิ่มมากขึ้น ส่วนปริมาณของ 5-HT ในความเข้มข้นสูงจะกระตุ้น $5-HT_2$ receptor ของ postjunctional cell (Yeon et al., 1990) ซึ่ง receptor นี้จะ couple อยู่กับ G protein เมื่อถูกกระตุ้นจะส่งผลให้กล้ามเนื้อเรียบเกิดการหดตัว จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า 5-HT สามารถกระตุ้นท่อนำสุจิของหนูขาวและหนูตะเภาให้เกิดการหดตัวได้โดยมีลักษณะเป็น initial phasic response และ sustained response ซึ่งมีลักษณะเป็นแบบ rhythmic contraction เช่นเดียวกับการกระตุ้นด้วย NE (Thoa and Maengwyn-Davies, 1968 ; Nishino, Irikura and Takayanagi, 1970 ; Ozawa and Katsuragi, 1974) Ozawa และ Katsuragi (1974) ได้สรุปไว้ว่า phasic contraction ซึ่งเกิดจากการกระตุ้นด้วย 5-HT ในท่อนำสุจิของหนูตะเภาเป็นผลมาจากการกระตุ้นผ่าน $5-HT$ receptor ส่วน rhythmic contraction เป็นผลมาจากความสามารถของ 5-HT ที่กระตุ้นให้มีการหลั่ง noradrenaline ออกมากระตุ้นผ่าน α_1 -adrenoceptor ซึ่งจากการศึกษาในท่อนำสุจิของหนูขาวก็พบว่าให้ผลเช่นเดียวกัน (Hay and Wadsworth, 1982b) นอกจากนี้ยังพบอีกว่า $5-HT$ receptor ก็มีผลต่อการหดตัวส่วน rhythmic contraction ของหนูขาวด้วย โดยพอจะสรุปได้ว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิของหนูขาวส่วน phasic contraction จากการกระตุ้นด้วย 5-HT เป็นผลมาจาก postsynaptic $5-HT$ receptor เช่นเดียวกันกับในหนูตะเภา ส่วน rhythmic contraction เกิดขึ้นจากผลรวมระหว่างการกระตุ้น $5-HT$ receptor (มีบทบาทต่อความถี่) และผลของ noradrenaline ที่หลั่งออกมา (มีบทบาทต่อความแรง) (Hay and Wadsworth, 1982b) ซึ่งพบว่าการหดตัวที่เกิดขึ้นทั้ง 2 ส่วนขึ้นอยู่กับ Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์โดย nifedipine และ verapamil สามารถยับยั้งส่วน phasic contraction ได้เหมือนกับการกระตุ้นการหดตัวด้วย KCl (Hay and Wadsworth, 1982a) เนื่องจาก phasic contraction เกิดจาก Ca^{2+} ซึ่งเคลื่อนที่ผ่านทาง voltage-dependent

Ca²⁺ channels (Bolton, 1979) ส่วน rhythmic contraction ซึ่งต้องอาศัยการเคลื่อนที่ของ Ca²⁺ จากภายนอกเซลล์เช่นกันแต่กลับมีความไวต่อ Ca²⁺ channel inhibitors น้อยกว่า ดังนั้นจึงพอสรุปได้ว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อทั้ง 2 ส่วนจำเป็นต้องอาศัย Ca²⁺ จากภายนอกเซลล์ซึ่งเคลื่อนที่ผ่าน Ca²⁺ channels ที่ต่างชนิดกัน(Hay and Wadsworth, 1981a)

สำหรับ histamine ได้มีการศึกษามานานเกี่ยวกับบทบาทของ histamine ในการหลั่ง neurotransmitter ของ sympathetic nerve receptor ของ histamine ได้แก่ H₁, H₂ และ H₃ receptor ในการศึกษาการเพาะเลี้ยงเซลล์หลอดเลือดแดง coronary ของหนูพบว่า histamine กระตุ้นให้เกิด transient contraction ได้(Karaki et al., 1997) ส่วนในท่อนำสุจิพบว่ามี presynaptic histamine H₂ receptor เมื่อกระตุ้นผ่าน receptor นี้จะส่งผลให้ยับยั้งการหลั่ง neurotransmitter จาก sympathetic nerve ในขณะที่ H₁ receptor ในท่อนำสุจียังไม่ทราบบทบาทที่แน่ชัดเพราะในการศึกษาโดยการกระตุ้นด้วย agonist และ antagonist พบว่าสามารถเพิ่มการหดตัวของท่อนำสุจิที่ถูกกระตุ้นด้วยไฟฟ้าได้เหมือนกัน (Poli et al., 1994)

นอกจากสารสำคัญซึ่งมีตัวรับจำเพาะแล้ว ion ต่างๆยังมีความสำคัญต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบตัวอย่างเช่น K⁺ หรือการปิดของ K⁺ channel การกระตุ้นด้วย K⁺ >35 mM ในท่อนำสุจิสามารถกระตุ้นให้เกิด tonic contraction ได้เพียงเล็กน้อยแต่ไม่สามารถกระตุ้นให้เกิด phasic contraction ขณะที่ K⁺ 50 mM หรือมากกว่าจะกระตุ้นท่อนำสุจิของหนูขาวเกิด biphasic contraction(Syson and Huddart, 1973) โดยการหดตัวของท่อนำสุจิของหนูขาวมีลักษณะเป็น phasic contraction และตามด้วย tonic contraction ดังแสดงในรูปที่ 5 พบว่า phasic response ของ prostatic end จะเกิดขึ้นเร็วและแรงกว่า epididymal end (Hay and Wadsworth, 1981b) ซึ่งเป็นผลทำให้มีการศึกษาเปรียบเทียบเพื่อดูปริมาณของ Ca²⁺ uptake ในส่วน prostatic end กับ epididymal end โดยการกระตุ้นด้วย KCl 160 mM ในเวลาต่อมา ผลการศึกษาพบว่า prostatic end มี Ca²⁺ uptake ในปริมาณที่มากกว่าของ epididymal end เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 160 mM ทำให้มีความพยายามในการหาเหตุผลมาอธิบายปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นที่คิดว่าเป็นไปได้คือ 1) ส่วน prostatic end มีปริมาณ membrane Ca²⁺ channel มากกว่าใน epididymal end 2) หลังจากที่มีการเคลื่อนที่ของ Ca²⁺ ผ่านเข้าไปยังภายในเซลล์แล้วก่อให้เกิดขึ้นตอนหรือกระบวนการเปลี่ยนแปลงต่างๆภายในที่เป็นกระบวนการสำคัญซึ่งทำให้มีการตอบสนองที่รุนแรงใน prostatic end(Hay and Wadsworth, 1984) นอกจากนี้ยังมีข้อมูลสนับสนุนอื่นๆซึ่งมีการพบว่าในท่อนำสุจิส่วน prostatic end มีปริมาณ smooth endoplasmic reticulum และ mitochondria สูงกว่าส่วน epididymal end กลไกหลักของ KCl คือการเพิ่ม membrane permeability ต่อ Ca²⁺ ซึ่งเป็นผลจากการเปลี่ยนแปลง action potential แบบ

เฉียบพลันด้วยวิธี depolarize membrane เป็นผลให้เกิดการหดตัวแบบ phasic contraction หลังจากนั้น cell membrane ยังคงเกิด depolarization อย่างต่อเนื่อง เมื่อ phasic contraction ลดต่ำลงจะยังคงมีการหดตัวอย่างต่อเนื่องในระดับที่ลดต่ำลงเป็น tonic contraction (Shimodan and Sunano, 1981) การหดตัวที่เกิดขึ้นถูกยับยั้งได้ด้วย Ca^{2+} -free condition, lanthanum และ Ca^{2+} channel inhibitors ตัวอย่างเช่น nifedipine, verapamil และ methoxyverapamil (Swamy, Triggler and Triggler, 1976 ; Triggler, Swamy and Triggler, 1979 ; Shimodan and Sunano, 1981) จากผลดังกล่าวชี้ให้เห็นว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อที่เกิดขึ้นจากการกระตุ้นด้วย KCl เป็นผลมาจาก Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์ซึ่งเคลื่อนที่ผ่าน Ca^{2+} channels เช่นเดียวกับกลไกการกระตุ้นการหดตัวด้วย KCl ในกล้ามเนื้อเรียบชนิดอื่น (Bolton, 1979) นอกจากนี้การกระตุ้นกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิด้วย KCl พบว่า phasic contraction ที่เกิดขึ้นประมาณ 25% เป็นผลมาจากความสามารถของ KCl กระตุ้นให้มีการหลั่ง noradrenaline ออกมาจากปลายประสาท แต่ noradrenaline ที่ถูกหลั่งออกมานี้จะมีความสำคัญต่อส่วน epididymal end มากกว่า prostatic end (Hay and Wadsworth, 1981b)



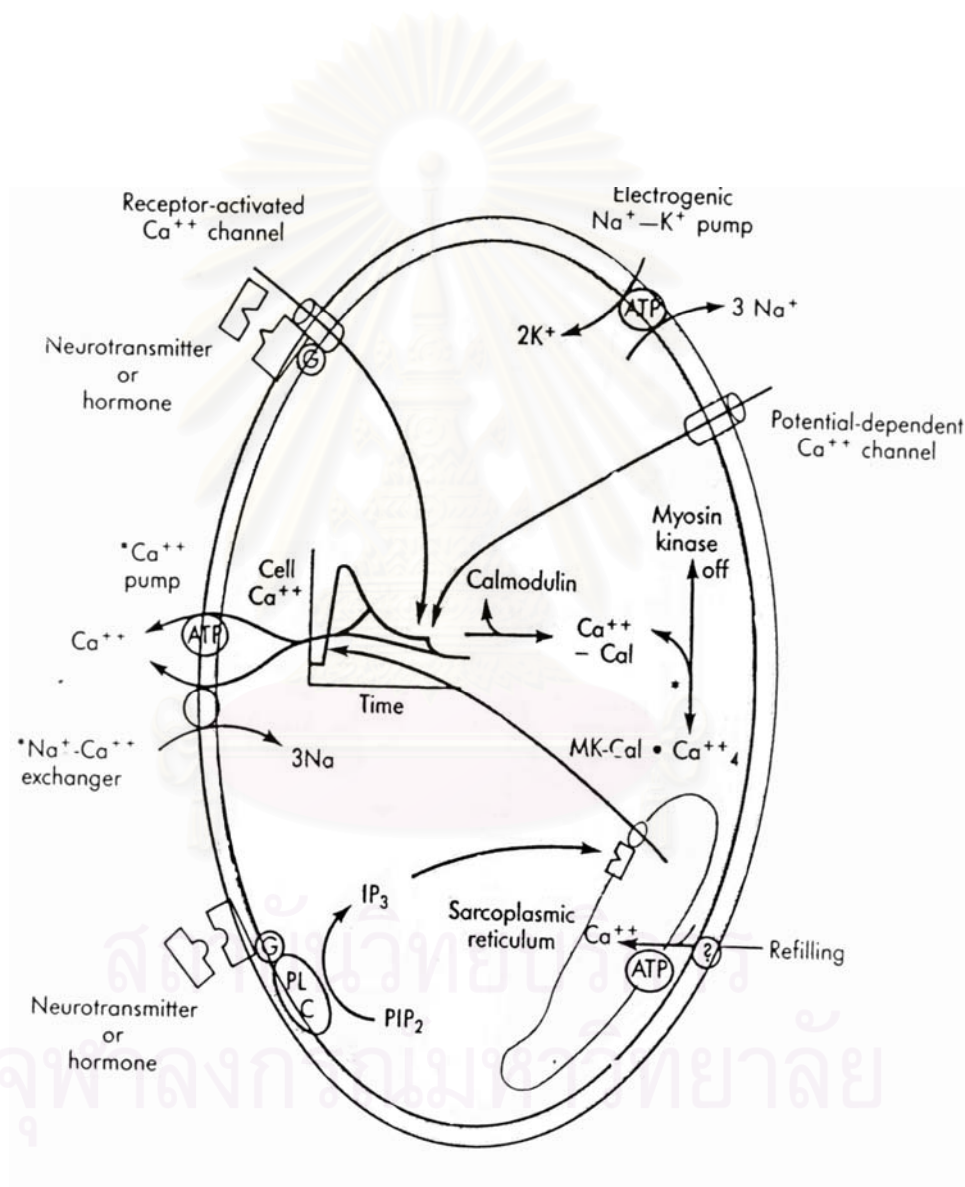
รูปที่ 5 การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบท่อนำอสุจิส่วน prostatic end ที่ถูกกระตุ้นด้วย KCl 50 mM โดย a แสดง phasic contraction และ b แสดง tonic contraction

Ba^{2+} มีคุณสมบัติเป็น non-selective blocking agent ต่อ K^+ channels โดยเชื่อว่า K^+ channels มีบทบาทสำคัญในการควบคุม resting membrane potential (Rudy, 1988) พบว่า ถ้าความเข้มข้นในระดับ submillimolar จะมีผลต่อ ATP-sensitive K^+ channels (Standen et al., 1989 ; Quast, 1993) แต่ Ba^{2+} ในขนาดความเข้มข้นที่สูงขึ้นพบว่าจะมีผลต่อ Ca^{2+} -sensitive K^+ channels (Rudy, 1988) เมื่อ K^+ channels ปิดลงจะส่งผลให้เกิด membrane depolarization ซึ่งจะทำให้มีการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} จากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์และเกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อ

ในที่สุด นอกจากนั้นในหลอดเลือดดำ portal ของหนูชายังพบว่า $BaCl_2$ สามารถกระตุ้นให้มีการหลั่ง Ca^{2+} จากแหล่งสะสมภายในเซลล์ได้ (Uvelius and Sigurdsson, 1981) และมีกลไกที่เกี่ยวข้องกับภายในเซลล์ที่อาจเป็นไปได้คือการกระตุ้นโดยตรงที่ contractile protein ได้ซึ่งมีหลักฐานว่า $BaCl_2$ สามารถผ่านเข้าไปภายในเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ (Uvelius, Sigurdsson, and Johansson, 1974) และสามารถทำหน้าที่แทน Ca^{2+} ในการกระตุ้น contractile protein ให้เกิดการหดตัว แต่อย่างไรก็ตามความสามารถในการทำหน้าที่แทน Ca^{2+} นี้ก็มีขอบเขตที่จำกัดเช่นกัน $BaCl_2$ สามารถกระตุ้นท่อนำอสุจิให้เกิดการหดตัวแบบ phasic ที่ทับซ้อนอยู่บน sustained response ซึ่งมีลักษณะเป็นแบบ rhythmic contraction เช่นเดียวกับการกระตุ้นด้วย NE และ 5-HT จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า การตอบสนองทั้งในส่วน phasic และ rhythmic contraction ซึ่งเกิดจากการกระตุ้นด้วย $BaCl_2$ สามารถตอบสนองได้ดีพอๆกันทั้งใน epididymal end และ prostatic end ซึ่งเป็นการชี้ให้เห็นว่า $BaCl_2$ สามารถกระตุ้น Ca^{2+} channel ได้ดีเท่าๆกันตลอดความยาวของท่อนำอสุจิ (Hay and Wadsworth, 1983a) การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบซึ่งเกิดจากการกระตุ้นด้วย $BaCl_2$ แตกต่างจากการกระตุ้น α -adrenoceptor หรือ receptors ชนิดอื่นๆ ซึ่งต้องอาศัยความสัมพันธ์ระหว่างระดับ Ca^{2+} จากภายนอกและภายในเซลล์ (Weiss, 1977) แม้ว่าจะมีรูปแบบของการหดตัวที่คล้ายกันก็ตาม โดย phasic contraction จากการกระตุ้นด้วย $BaCl_2$ จะเกี่ยวข้องกับการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} ภายในเซลล์และการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} จากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ ขณะที่ rhythmic contraction เป็นผลมาจากการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} จากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ จากการศึกษาพบว่า Ca^{2+} channels ในท่อนำอสุจิที่เกี่ยวข้องกับการกระตุ้นของ $BaCl_2$ มี 2 type คือ fast และ slow voltage-dependent channel ซึ่ง fast channels จะมีบทบาทต่อ phasic contraction และ slow channels จะมีบทบาทต่อ rhythmic contraction (Mishra, Das and Sanyal, 1988) โดยในส่วน rhythmic contraction จะมีความไวต่อ Ca^{2+} channel inhibitors น้อย ซึ่งต้องใช้ความเข้มข้นสูงถึง 10-100 เท่าของที่ใช้ในการยับยั้งการหดตัวจากการกระตุ้นด้วย KCl (Hay and Wadsworth, 1982a) และการยับยั้ง rhythmic contraction ด้วย Ca^{2+} channel inhibitors จะมีผลต่อความแรงมากกว่าความถี่ในการหดตัว (Hay and Wadsworth, 1983a) ซึ่งจากผลการศึกษาที่ผ่านมาดังกล่าวทำให้สามารถนำมาใช้อธิบายเหตุผลของการหดตัวที่เกิดขึ้นจากการกระตุ้นด้วย $BaCl_2$ ในสภาวะปกติได้

กลไกการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ

สำหรับการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบขึ้นอยู่กับสิ่งสำคัญ 2 ประการที่ควบคุมการหดตัว ได้แก่ ปริมาณ Ca^{2+} ภายในเซลล์และความไวของ contractile element ต่อ Ca^{2+} ซึ่งจะตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อมรอบๆเซลล์



รูปที่ 6 กลไกการเพิ่มปริมาณ Ca^{2+} ภายในเซลล์ของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ

การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบเมื่อถูกกระตุ้นให้เกิดการหดตัวซึ่งมีลำดับขั้นตอนของการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ ดังนี้

ขั้นแรก เป็นการจับของ endogenous substance ซึ่งเป็นสารสื่อสัญญาณประสาท หรือ hormone กับตัวรับจำเพาะ ซึ่งเป็น G protein receptor โดย couple อยู่กับ ion channel หรือ enzyme คือ phospholipase C หรือ adenylate cyclase phospholipase C จะ metabolize phosphatidyl inositol bisphosphate (PIP₂) ได้ messenger 2 ตัวคือ inositol 1,4,5-triphosphate (IP₃) และ diacylglycerol (DAG) โดย IP₃ จะกระตุ้นให้มีการหลั่ง Ca²⁺ ออกจากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์ในขณะที่ DAG จะกระตุ้น protien kinase C (PKC) ต่อไปตามลำดับซึ่ง PKC นี้จะมีบทบาทต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบต่อไปได้โดยอาศัยกระบวนการ protien phosphorylation ส่วน adenylate cyclase จะ metabolize adenosine 5'-triphosphate(ATP) ได้ cyclic adenosine 3',5'-monophosphate

ขั้นที่สอง เป็นการเปลี่ยนแปลงของระดับ Ca²⁺ ภายในเซลล์ ซึ่งมีการเคลื่อนที่ของ Ca²⁺ จากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์เป็นวิถีทางหลักของการเพิ่มปริมาณ Ca²⁺ ภายในเซลล์ กลไกการเพิ่มปริมาณ Ca²⁺ ภายในเซลล์ได้แก่

1. **voltage-dependent Ca²⁺ channel** ซึ่งปกติจะมีอยู่ 6 subtype ได้แก่ L-,N-,P-,Q-,R- และ T-type แต่มีเพียงชนิด L-type เท่านั้นที่มีความสำคัญต่อการเคลื่อนที่ของ Ca²⁺ เข้าภายในเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ(Vogalis et al., 1991 ; Kuriyama, Kitamura, and Nabata, 1995) channel นี้ถูกกระตุ้นได้ด้วย membrane depolarization โดยอาศัยการกระตุ้นทาง Cl⁻ channel (Kremer, Breuer and Skorecki, 1989 ; Pacaude and Bolton, 1991)

2. **nonselective cation channel และ calcium release activated calcium channel** ซึ่งจากการศึกษาทาง electrophysiology แสดงให้เห็นว่านอกจากจะมีการกระตุ้น L-type Ca²⁺ channel หลังจากที่ถูกกระตุ้นจับกับตัวรับจำเพาะแล้วยังมีการกระตุ้น nonselective cation channel ซึ่งยอมให้ Ca²⁺ ผ่านเข้ามาในเซลล์ได้อีกด้วย (Nelson et al., 1988 ; Kamishima, Nelson and Patlak, 1992) นอกจากนี้ปริมาณ Ca²⁺ ที่ถูกหลั่งออกมาจากภายในเซลล์ยังสามารถกระตุ้น Ca²⁺ channel ให้มีการเคลื่อนที่ของ Ca²⁺ เข้าภายในเซลล์ได้อีกด้วย (Ca²⁺ release activated Ca²⁺ channel : CRAC)

3. **sodium-calcium exchange** การกระตุ้นกล้ามเนื้อให้หดตัวโดยอาศัย Ca²⁺ influx ผ่านทาง Na⁺/Ca²⁺ exchange สามารถเกิดขึ้นได้ในกล้ามเนื้อเรียบบางชนิดเท่านั้น จากการศึกษา

ในหลอดเลือดวัวพบว่ามี การขนส่ง Ca^{2+} ผ่าน $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger มากกว่า sarcoplasmic Ca^{2+} -ATPase ถึง 2-3 เท่า (Slaughter et al., 1989)

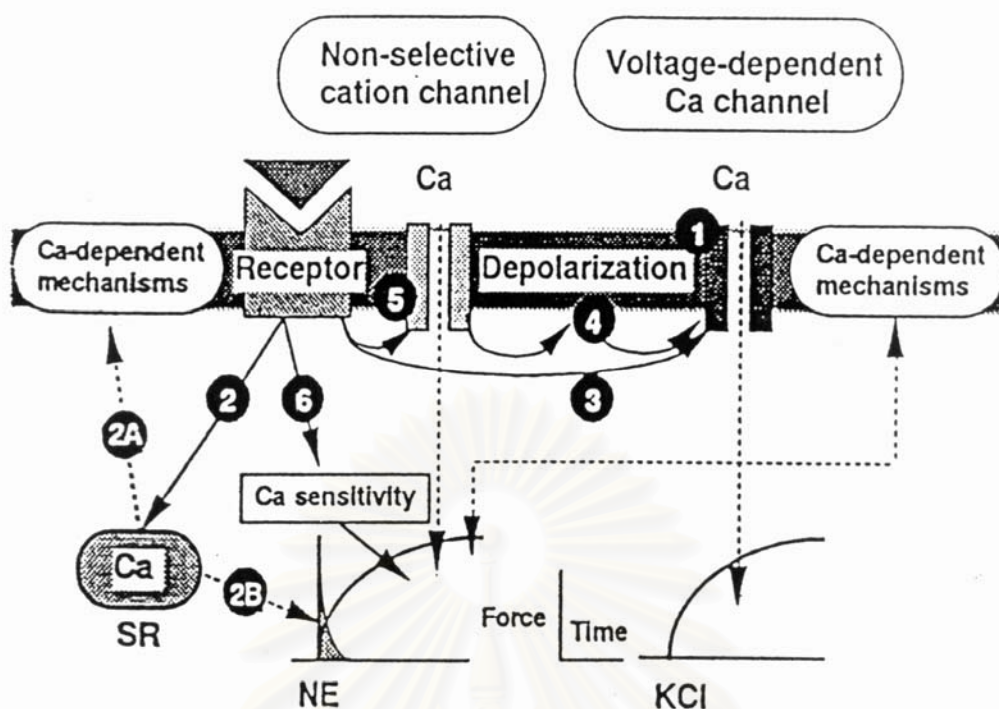
4. calcium release from the sarcoplasmic reticulum (SR) กลไกการหลั่ง Ca^{2+} จาก SR มี 2 กลไกด้วยกันคือ Ca^{2+} -induced Ca^{2+} release (CICR) (Ogawa, 1994) และ IP_3 -induced Ca^{2+} release (IICR) (Ferris and Synder, 1992) โดย CICR จะมีความไวต่อ Ca^{2+} และ caffeine ขณะที่ IICR จำเป็นต้องอาศัย IP_3 ในการจับกับตัวรับจำเพาะที่อยู่บน SR ก่อนที่จะมีการหลั่ง Ca^{2+} ออกจากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์

5. calcium pumps ใน plasmalemma และ sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} ATPase ในกล้ามเนื้อเรียบมี 2 ชนิดคือ plasmalemma Ca^{2+} ATPase และ SR Ca^{2+} ATPase (Wuytack et al., 1982) ซึ่ง plasmalemma Ca^{2+} ATPase จะมีบทบาทสำคัญต่อการขับ Ca^{2+} ออกจากเซลล์ มากกว่า $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger

6. mitochondria ในการยับยั้งขบวนการ oxidative phosphorylation ด้วย nitrogen gas, dinitrophenol หรือ sodium azide จะทำให้ mitochondria หลั่ง Ca^{2+} กระตุ้น transient contraction ในหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาว (Karaki et al., 1982 ; Kowarski et al., 1985) และ rat myometrium (Sakai, Yamagishi and Uchida, 1986) ซึ่งชี้ให้เห็นว่า mitochondria อาจมีบทบาทเกี่ยวกับ Ca^{2+} release ซึ่งทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้อีกด้วย

ขั้นที่สาม เป็นการเปลี่ยนแปลงการทำงานของ myosin light chain kinase ซึ่งถูกกระตุ้นด้วย Ca^{2+} และ calmodulin หลังจากนั้น enzyme นี้จะ phosphorylate myosin light chain (MLC) และเกิด cross bridge ระหว่าง actin และ myosin ทำให้กล้ามเนื้อเรียบหดตัว phosphorylate MLC จะถูก dephosphorylate โดย MLC phosphatase ปริมาณของ phosphorylate MLC ขึ้นอยู่กับความสัมพันธ์ระหว่าง MLC kinase และ MLC phosphatase ความไวในการเกิด MLC phosphorylation จะทำให้แรงหดตัวของกล้ามเนื้อเปลี่ยนแปลงไปแม้ว่าระดับ Ca^{2+} ภายในเซลล์จะยังไม่เปลี่ยนแปลงก็ตาม

จากกลไกหรือลำดับขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงต่างๆ ทั้งภายในและภายนอกเซลล์อาจอธิบายกลไกการเพิ่มปริมาณ Ca^{2+} ภายในเซลล์โดยอาศัย Ca^{2+} influx ด้วย 2 pathway ใหญ่ๆ คือ receptor-linked Ca^{2+} channel และ voltage-dependent Ca^{2+} channel ซึ่งมีผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงและมีการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} ภายในเซลล์จนกระทั่งเกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในที่สุดดังตัวอย่างซึ่งแสดงในรูปที่ 7



รูปที่ 7 การเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} ในเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ (Karaki et al., 1997) : high K^+ จากภายนอกเซลล์จะกระตุ้น voltage-dependent Ca^{2+} channel โดยทำให้เยื่อหุ้มเซลล์เกิด depolarization เมื่อ voltage-dependent Ca^{2+} channel เปิดออกก็จะทำให้มี Ca^{2+} influx กระตุ้นให้เกิด sustained contraction (1) ในขณะที่ agonists ตัวอย่างเช่น norepinephrine จะกระตุ้น Ca^{2+} release จาก SR (2) Ca^{2+} ซึ่งถูกปล่อยจาก SR ส่วนหนึ่งจะเคลื่อนที่ไปยัง subplasmalemma Ca^{2+} space (noncontractile compartment) ควบคุม membrane Ca^{2+} -dependent mechanisms (2A) และ Ca^{2+} อีกส่วนหนึ่งจะเคลื่อนที่เข้าไปใน cytoplasm กระตุ้น contractile protein (2B) นอกจากนี้ agonist ยังสามารถเปิด L-type Ca^{2+} channel ได้โดยตรง (3) หรือด้วยวิธีการทางอ้อมซึ่งได้แก่การ depolarize membrane (4) ส่งผลให้ nonselective cation channel เปิดออก, ยับยั้ง K^+ channel หรือทำให้ Cl^- channel เปิดออก และ nonselective cation channel ยังยอมให้ Ca^{2+} ผ่านเข้ามาได้อีกด้วย (5) ในขณะที่ agonist เองก็ยังสามารถเพิ่ม Ca^{2+} sensitivity ของ contractile element ด้วย (6)

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการทดลอง

1. สัตว์ทดลอง วัสดุและอุปกรณ์

1.1 สัตว์ทดลอง

หนูขาว (rat) พันธุ์ Wistar เพศผู้ น้ำหนักประมาณ 250-300 กรัม จากศูนย์สัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล ตำบลศาลายา อำเภอนครชัยศรี จังหวัดนครปฐมซึ่งนำมาเลี้ยงเพื่อปรับสภาพประมาณ 1-2 สัปดาห์

1.2 เครื่องมือ

- organ bath แบบ double walled Harvard type ประกอบด้วยผนังแก้ว 2 ชั้น ชั้นในมีช่องเปิดให้ก๊าซ carbogen ผ่านตลอดส่วนชั้นนอกมีน้ำไหลเวียนซึ่งส่งมาจาก water bath โดยมี thermoregulating water pump ควบคุมอุณหภูมิให้ไหลคงที่ที่ 37 ± 0.5 °c ตลอดการทดลอง
- water bath ชนิด thermo bath model SCBI พร้อม thermoregulating water pump model 2E-Ny (Little Giant Pump, England.)
- เครื่องมือวัดการหดตัวของเนื้อเยื่อ isometric transducer (Harvard Apparatus Ltd., England.)
- เครื่องบันทึกผลการทดลอง Universal oscillograph (Harvard Apparatus Ltd., England.)
- เครื่องบันทึกผลการทดลองพร้อมด้วยเครื่องขยายสัญญาณไฟฟ้า Gilson N2 (Harvard Apparatus Ltd., England.)
- เครื่องชั่งละเอียด Mettler AJ 180 (Diethelm & Co., Ltd., Switzerland.)
- ชุดเครื่องมือผ่าตัดเล็ก

1.3 สารเคมี

1.3.1 สารกระตุ้นการหดตัวและยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ

- Norepinephrine (NE) (Sigma Chemical Co., U.S.A.)
- 5-hydroxytryptamine (5-HT) (Sigma Chemical Co., U.S.A.)

- Barium chloride (BaCl₂) (E. merck. Darstadt, Germany.)
- Potassium chloride (KCl) (APS Finechem, Australia.)
- Caffeine (Sigma Chemical Co., U.S.A.)
- Nifedipine (Sigma Chemical Co., U.S.A.)

1.3.2 สารทดสอบ : เป็นสารสังเคราะห์ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จาก ผศ.ดร. ชำนาญ ภัทรพานิช เตรียมในรูปสารละลายโดยใช้ DMSO เป็นตัวทำละลาย ได้แก่

- CU-18-07 (N-Heptanoyl-4-methoxyaniline)
- CU-18-09 (N-Heptanoyl-4-nitroaniline)
- CU-18-12 (N-Heptanoyl-4-aminopyridine)

1.3.3 ตัวทำละลายของสารทดสอบ

Dimethyl sulfoxide (DMSO) (Sigma Chemical Co., U.S.A.)

1.3.4 Physiological solution ซึ่งมีรายละเอียดของสารที่ใช้เป็นส่วนประกอบใน physiological solution ชนิดต่าง ๆ ดังที่แสดงไว้ในตารางที่ 1

- Sodium chloride (NaCl) (APS Finechem, Australia.)
- Magnesium sulphate (MgSO₄) (APS Finechem, Australia.)
- Potassium chloride (KCl) (APS Finechem, Australia.)
- Magnesium chloride (MgCl₂) (APS Finechem, Australia.)
- Calcium chloride (CaCl₂) (APS Finechem, Australia.)
- Sodium hydrogen carbonate (NaHCO₃) (APS Finechem, Australia.)
- Potassium dihydrogen phosphate (KH₂PO₄) (Fluka-AG, Switzerland.)
- D-glucose (APS Finechem, Australia.)
- Ethyleneglycol-bis-(β-amino-ethyl ether) N, N'-tetraacetic acid (EGTA) (Sigma Chemical Co., U.S.A.)

1.3.5 ก๊าซ : carbogen (95% O₂+5% CO₂) (T.I.G. Ltd., Thailand.)

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบของ physiological solution ที่ใช้ในการทดลอง

ชนิดของสารละลายที่ใช้ เป็นองค์ประกอบ(mM)	Krebs-Henseleit (KHS)	Ca ²⁺ -free Krebs- Henseleit	Ca ²⁺ -free depolarizing
NaCl	119.0	119.0	27.0
KCl	4.7	4.7	100.0
CaCl ₂	2.5	-	-
MgSO ₄	1.0	1.0	-
NaHCO ₃	25.0	25.0	14.0
KH ₂ PO ₄	1.2	1.2	-
MgCl ₂	-	-	0.54
Glucose	11.1	11.1	11.1
EGTA	-	0.1	-

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. วิธีดำเนินการทดลอง

2.1 การเตรียมกล้ามเนื้อเรียบท่อนำสุจิของหนูขาว

หนูขาวเพศผู้น้ำหนักประมาณ 250-300 กรัม ทำให้ตายด้วยวิธีการตีหัวที่บริเวณท้ายทอย แล้วดึงข้อต่อของกระดูกต้นคอให้แยกออกจากกันอย่างรวดเร็ว ผ่าตัดเปิดช่องท้องซึ่งจะพบท่อนำสุจิทั้ง 2 ข้างอยู่ระหว่าง epididymis และ prostate gland ตัดท่อนำสุจิออกมาแช่สารละลาย Krebs-Henseleit solution (KHS) ซึ่งมีส่วนประกอบดังในตารางที่ 1 และมีก๊าซ carbogen ผ่านตลอดเวลา ตัดแยกไขมัน, เนื้อเยื่อเกี่ยวพันและหลอดเลือดออกให้หมด ท่อนำสุจิจะแบ่งเป็น 2 ส่วน คือ epididymal half และ prostatic half โดยจะเลือกส่วนของท่อนำสุจิที่ต้องการ ตัดให้มีความยาวประมาณ 1.5 เซนติเมตร ใช้ด้ายผูกปลายทั้ง 2 ด้านโดยให้ปลายทั้ง 2 ด้านเปิดออกเพื่อให้สารละลาย KHS ผ่านได้ดังในรูปที่ 8 แล้วนำไปแชวนใน organ bath ซึ่งควบคุมอุณหภูมิ 37 °C ที่บรรจุสารละลาย KHS ปริมาตร 15 มิลลิลิตร และมีก๊าซ carbogen ไหลผ่านตลอดการทดลอง ปลายด้านหนึ่งผูกติดกับ isometric transducer ที่ต่อเข้ากับเครื่องบันทึกผลและขยายสัญญาณไฟฟ้าดังในรูปที่ 9 ดึงกล้ามเนื้อให้มีความตึงขณะพัก (resting tension) 1 กรัมแล้ว incubate เนื้อเยื่อประมาณ 60 นาที ระหว่างนี้เปลี่ยนสารละลาย KHS ทุก 15 นาที จนกระทั่งกล้ามเนื้อมีความตึงตัวคงที่

2.2 การศึกษาผลของการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวเมื่อถูกกระตุ้นด้วยสารกระตุ้นชนิดต่างๆ

2.2.1 การศึกษาผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวเมื่อถูกกระตุ้นด้วย Norepinephrine (NE)

ในการศึกษาผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบเมื่อถูกกระตุ้นด้วย NE จะเลือกใช้กล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิของหนูขาวส่วน epididymal half มาทำการศึกษา เนื่องจากส่วน epididymal half เป็นส่วนที่มี α_{1A} -adrenoceptor อยู่มากและสามารถตอบสนองต่อการกระตุ้นด้วย NE ได้ดีกว่า prostatic half โดยเตรียมกล้ามเนื้อเรียบและ incubate ด้วย KHS ตามวิธีการในข้อ 2.1 จนกระทั่งกล้ามเนื้อมีความตึงตัวคงที่แล้ว กระตุ้นการหดตัวด้วย NE 1×10^{-5} M บันทึกแรงหดตัวที่เกิดขึ้นเป็นเวลา 20 นาที หลังจากนั้นล้างออกด้วย KHS 5 ครั้งและ incubate ต่ออีก 60 นาทีในระหว่างนั้นเปลี่ยนสารละลายทุก 15 นาทีเช่นเดียวกับการเตรียมครั้งแรกจนกระทั่ง

กล้ามเนื้อมีความตึงตัวเท่ากับเมื่อเริ่มทำการทดลอง เริ่มทำการทดลองอีกครั้งโดยให้สารทดสอบ ได้แก่ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ซึ่งจะทำการศึกษาค่าผลของสารทดสอบ 2 ความเข้มข้นคือ $1 \times 10^{-5} \text{M}$ และ $1 \times 10^{-4} \text{M}$ และ DMSO 0.06 % v/v ซึ่งเป็นตัวทำละลายของสารทดสอบ หลังใส่สารทดสอบนาน 5 นาที กระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบด้วย NE ในขนาดความเข้มข้นเท่าเดิมแล้วบันทึกผลต่อานาน 20 นาที แรงหดตัวที่เกิดขึ้นจากการกระตุ้นด้วย NE จะแบ่งเป็น 2 ส่วนคือ phasic contraction และ rhythmic contraction ดังนั้นการวัดผลจะแบ่งเป็นส่วน phasic contraction ซึ่งจะวัดที่แรงหดตัวสูงสุด และส่วน rhythmic contraction จะวัดความแรง(amplitude) ของการหดตัวในช่วงเวลาที่ 6 หลังได้รับ NE เปรียบเทียบแรงหดตัวก่อนได้รับสารทดสอบกับหลังได้รับสารทดสอบ โดยคำนวณเปรียบเทียบให้แรงหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบก่อนได้รับสารทดสอบแต่ละส่วนคิดเป็น 100 % ดังในรูปที่ 10

2.2.2 การศึกษาผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย 5-hydroxytryptamine(5-HT)

ในการศึกษาผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบเมื่อถูกกระตุ้นด้วย 5-HT จะเลือกใช้กล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิของหนูขาวส่วน epididymal half มาทำการศึกษา เนื่องจากพบว่าส่วน epididymal half สามารถตอบสนองต่อการกระตุ้นด้วย 5-HT ได้ดีกว่า prostatic half เช่นเดียวกับการกระตุ้นด้วย NE และดำเนินการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองในข้อ 2.2.1 โดยเปลี่ยนสารกระตุ้นเป็น 5-HT $1 \times 10^{-5} \text{M}$

2.2.3 การศึกษาผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย Barium chloride(BaCl_2)

ในการศึกษาผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบเมื่อถูกกระตุ้นด้วย BaCl_2 จะเลือกใช้กล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิของหนูขาวส่วน epididymal half มาทำการศึกษา เนื่องจากพบว่าท่อนำอสุจิของหนูขาวส่วน prostatic half และ epididymal half สามารถตอบสนองต่อการกระตุ้นด้วย BaCl_2 ได้ดีพอๆกัน ดังนั้นจึงได้เลือกเพียงส่วนหนึ่งมาทำการศึกษาในการศึกษานี้ และดำเนินการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองในข้อ 2.2.1 โดยเปลี่ยนสารกระตุ้นเป็น $\text{BaCl}_2 1 \times 10^{-3} \text{M}$

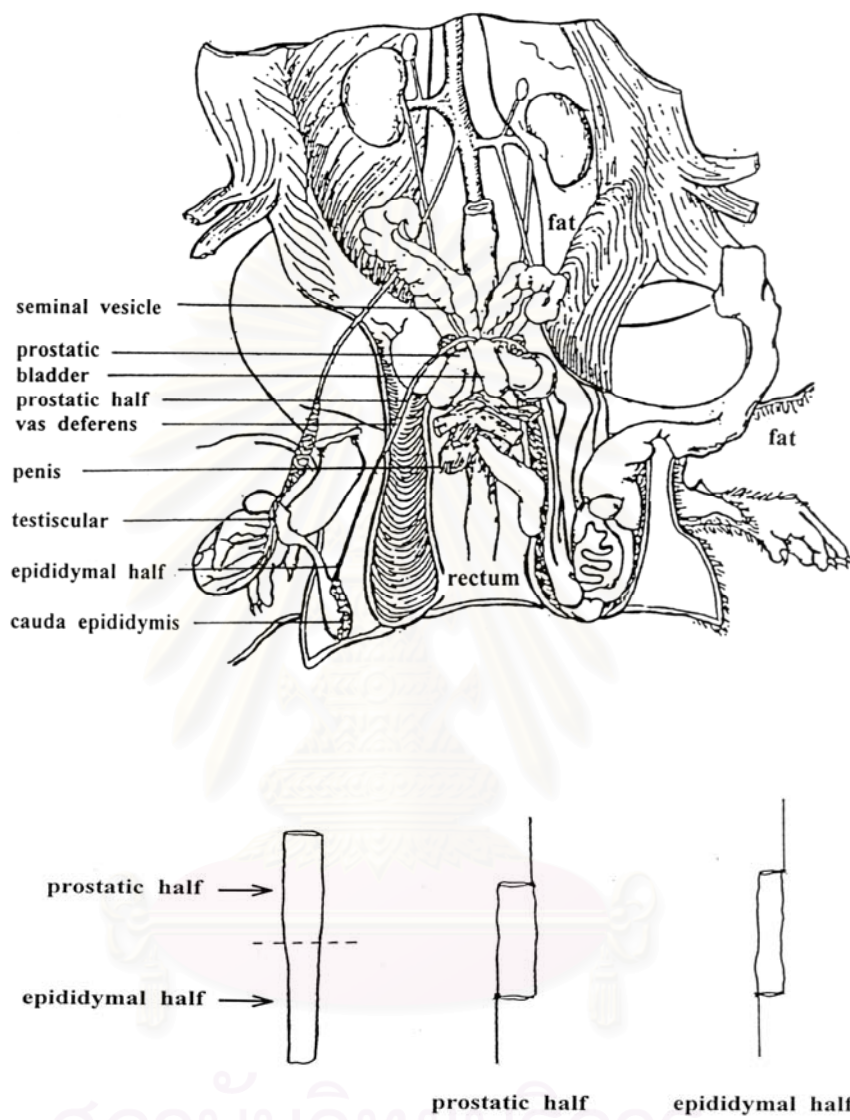
2.2.4 การศึกษาผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย Potassium chloride(KCl)

ในการศึกษาผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบเมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl จะเลือกใช้กล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิของหนูขาวส่วน prostatic half มาทำการศึกษา เนื่องจากพบว่า

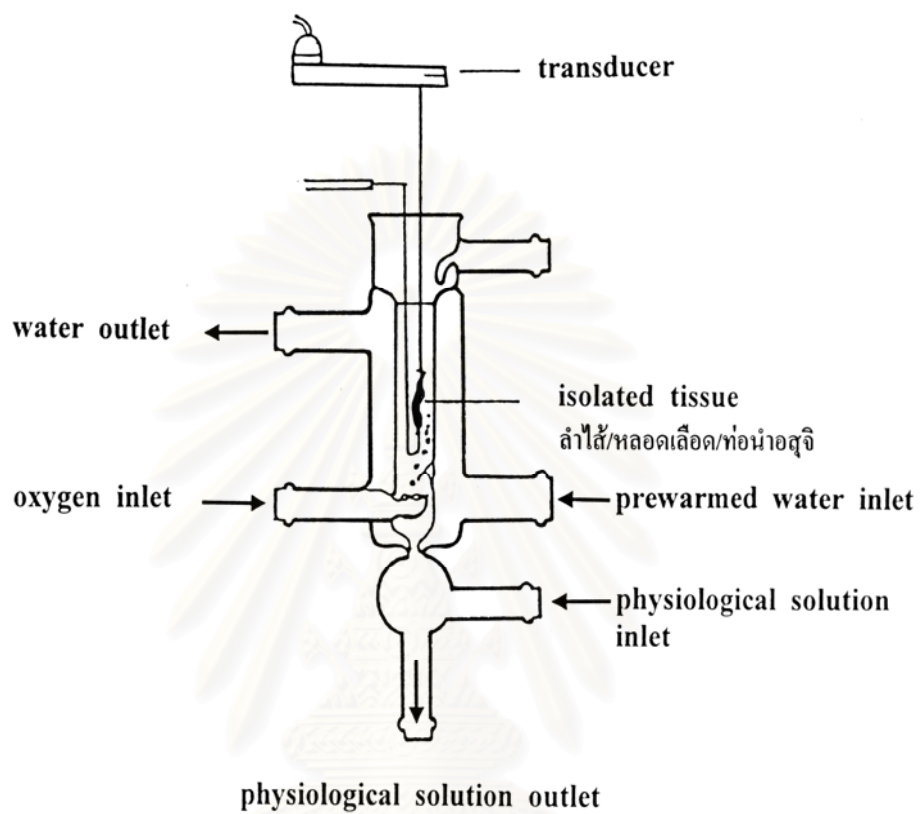
ส่วน prostatic half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl จะสามารถตอบสนองได้เร็วและแรงกว่าส่วน epididymal half และดำเนินการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองในข้อ 2.2.1 โดยเปลี่ยนสารกระตุ้นเป็น KCl 50 mM ซึ่งแรงหดตัวที่เกิดขึ้นจากการกระตุ้นด้วย KCl จะแบ่งเป็น 2 ส่วนคือ phasic และ tonic contraction ดังนั้นการวัดผลจะแบ่งเป็นส่วน phasic contraction ซึ่งจะวัดที่แรงหดตัวสูงสุด และส่วน tonic contraction จะวัดแรงหดตัวในนาทีที่ 16 หลังได้รับ KCl เปรียบเทียบแรงหดตัวก่อนได้รับสารทดสอบกับหลังได้รับสารทดสอบ โดยคำนวณเปรียบเทียบให้แรงหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบก่อนได้รับสารทดสอบแต่ละส่วนคิดเป็น 100 % ดังในรูปที่ 11

2.3 การศึกษาผลของสารทดสอบแบบ dose dependent ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวเมื่อถูกกระตุ้นด้วย NE $1 \times 10^{-5} \text{M}$ แบบ non cumulative dose

จากผลการทดลองใน 2.2 เมื่อทำการศึกษาค่าผลของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวเมื่อถูกกระตุ้นโดยสารกระตุ้นชนิดต่างๆแล้ว ทำการศึกษาต่อโดยเลือกเฉพาะสารทดสอบที่ตอบสนองต่อ NE ที่ดีที่สุดมาทำการศึกษาต่อที่ระดับความเข้มข้นต่างๆเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสังเคราะห์กับความสามารถในการออกฤทธิ์ (dose response relationship) ซึ่งเป็นการช่วยสนับสนุนให้เห็นถึงฤทธิ์ของสารสังเคราะห์ดังกล่าวในการยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบโดยเปรียบเทียบแบบ non cumulative dose (single dose) ในท่อนำสุจิที่ถูกกระตุ้นโดย NE $1 \times 10^{-5} \text{M}$

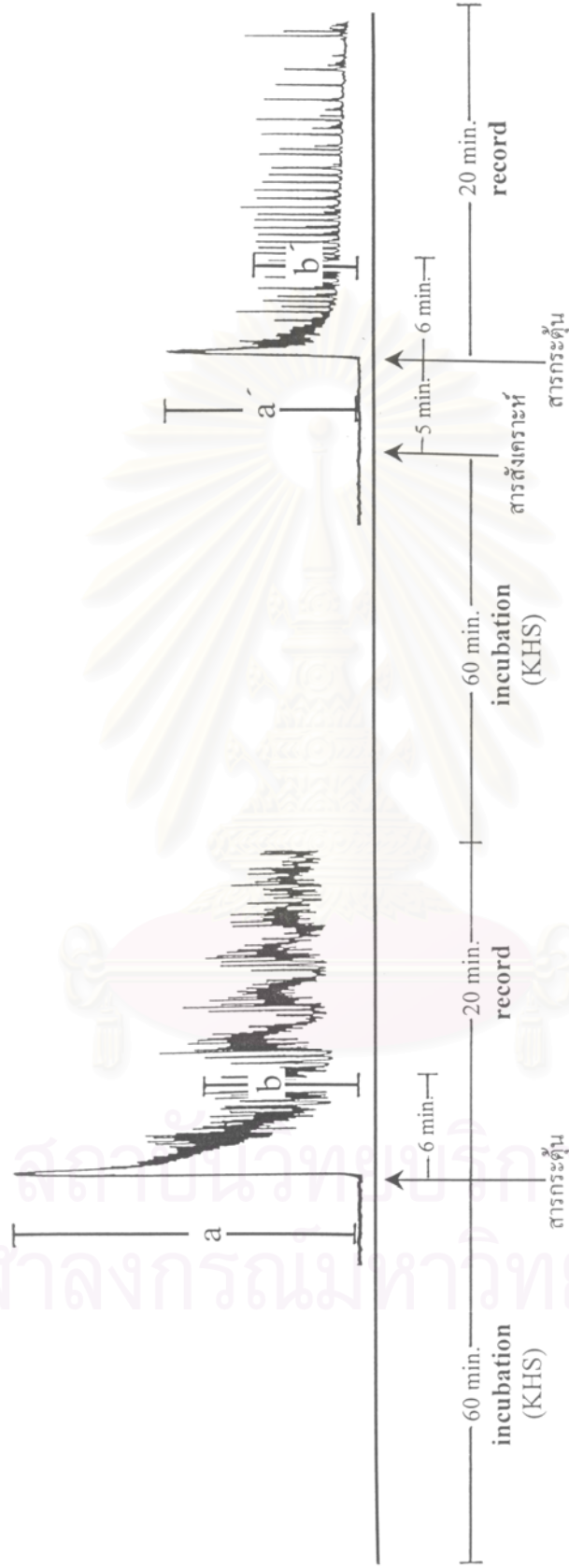


รูปที่ 8 ตำแหน่งของท่อนำสุจิ(vas deferens) และการผูกท่อนำสุจิของหนูขาว

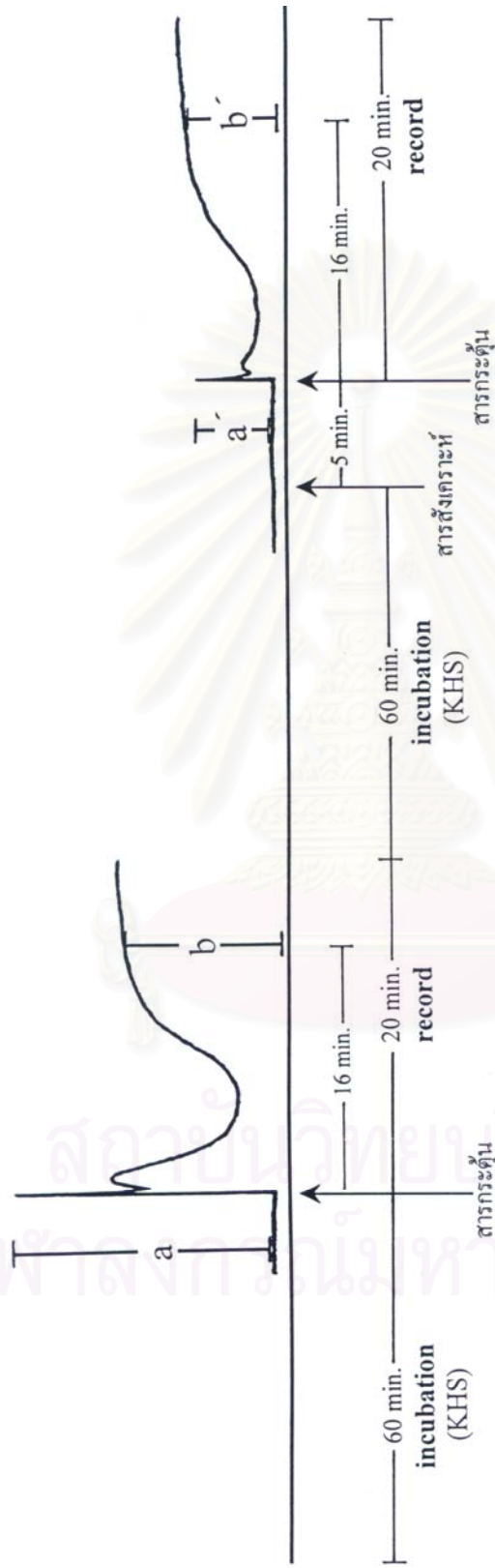


รูปที่ 9 การจัด organ bath และการแขวนเนื้อเยื่อสำหรับการทดลอง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 10 ขั้นตอนของการทดลองและวิธีวัดแรงหดตัวส่วน phasic (a: ก่อนได้รับสารทดสอบ, a': หลังได้รับสารทดสอบ) และ rhythmic contraction (b: ก่อนได้รับสารทดสอบ, b': หลังได้รับสารทดสอบ) ของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NE, 5-HT และ BaCl₂ ใน Krebs-Henseleit solution



รูปที่ 11 ขั้นตอนของการทดลองและวิธีวัดแรงหดตัวส่วน phasic (a: ก่อนได้รับสารทดสอบ, a': หลังได้รับสารทดสอบ) และ tonic contraction (b: ก่อนได้รับสารทดสอบ, b': หลังได้รับสารทดสอบ) ของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน prostatic half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl ใน Krebs-Henseleit solution

2.4 การศึกษาผลของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ในสภาวะที่ไม่มี Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิแยกจากหนูขาวเมื่อถูกกระตุ้นด้วย NE, 5-HT และ KCl

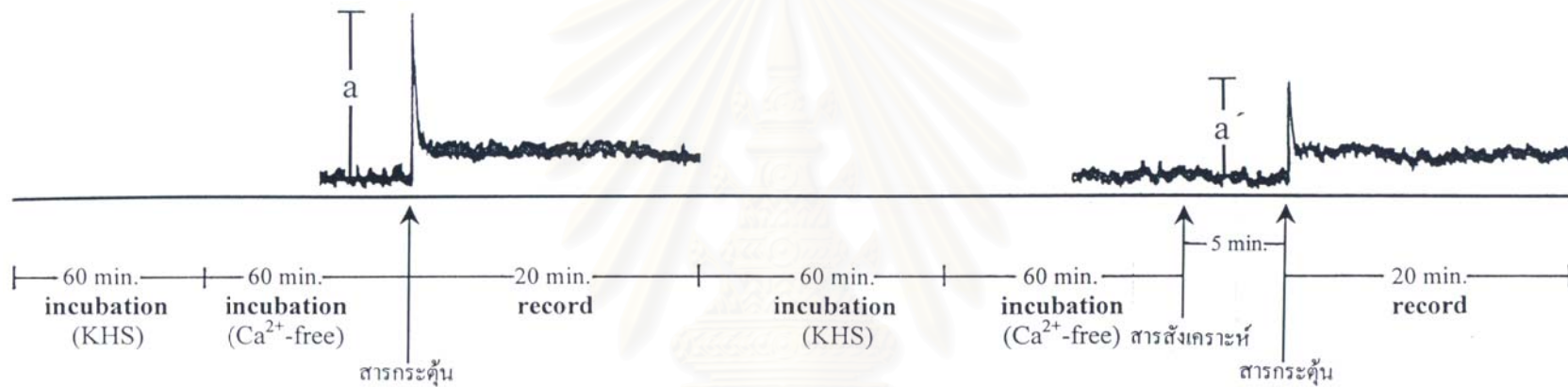
ในการศึกษาผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในสภาวะที่ไม่มี Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์เมื่อถูกกระตุ้นด้วยสารกระตุ้นต่างๆโดยสารกระตุ้นเหล่านี้ได้แก่ NE, 5-HT และ KCl สามารถกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในสภาวะที่ไม่มี Ca^{2+} ได้ ทำการเตรียมกล้ามเนื้อเรียบท่อนำอสุจิและเลือกส่วนของท่อนำอสุจิที่จะมาใช้ในการทดสอบต่อสารกระตุ้นชนิดต่างๆดังรายละเอียดที่ระบุในข้อ 2.2 โดยเลือกส่วน epididymal half มาทำการศึกษาค้นคว้าผลต่อการกระตุ้นด้วย NE และ 5-HT และใช้ส่วน prostatic half มาทำการศึกษาค้นคว้าผลต่อการกระตุ้นด้วย KCl หลังการเตรียมกล้ามเนื้อเรียบและ incubate กล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิด้วยสารละลาย KHS ประมาณ 60 นาทีจนกระทั่งกล้ามเนื้อมีความตึงตัวคงที่แล้ว เปลี่ยนสารละลายจาก KHS เป็น Ca^{2+} -free Krebs Henseleit solution ที่มี EGTA 0.1 mM ซึ่งมีส่วนประกอบดังแสดงไว้ในตารางที่ 1 โดยล้างด้วยสารละลายดังกล่าว 5 ครั้งแล้ว incubate ต่ออีก 60 นาที ระหว่างนั้นเปลี่ยนสารละลายทุก 15 นาทีจนกระทั่งกล้ามเนื้อมีความตึงตัวคงที่จึงเริ่มทำการทดลองโดยกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบด้วยสารกระตุ้น ซึ่งสารกระตุ้นชนิดต่างๆ ที่นำมาทำการทดลองในขั้นตอนนี้ได้แก่ NE $1 \times 10^{-5} M$, 5-HT $1 \times 10^{-5} M$ และ KCl 50 mM บันทึกผลหลังให้ตัวกระตุ้นแล้ว 20 นาที หลังจากนั้นล้างด้วย KHS 5 ครั้งและ incubate ต่อด้วย KHS และ Ca^{2+} -free Krebs Henseleit solution เช่นเดียวกับในครั้งแรกจนกระทั่งกล้ามเนื้อมีความตึงตัวคงที่จึงเริ่มทำการทดลองต่ออีกครั้งโดยการใส่สารทดสอบคือ DMSO 0.06 % v/v และ CU-18-07, CU-18-09, CU-18-12 ขนาด $1 \times 10^{-4} M$ ซึ่งเป็นความเข้มข้นของสารสังเคราะห์ในขนาดสูงที่จะสามารถแสดงผลให้เห็นได้อย่างชัดเจนหลังใส่สารทดสอบนาน 5 นาที กระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบด้วยสารกระตุ้นเดิมที่มีขนาดความเข้มข้นเช่นเดียวกับการกระตุ้นในครั้งแรก บันทึกผลต่อ 20 นาที เปรียบเทียบแรงหดตัวก่อนได้รับสารทดสอบกับหลังได้รับสารทดสอบ ดังที่แสดงในรูปที่ 12

จากผลทดลองในข้างต้นได้ทำการศึกษาต่อโดยเลือกสารสังเคราะห์ซึ่งมีผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในสภาวะที่ไม่มี Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์เมื่อถูกกระตุ้นด้วยสารกระตุ้นชนิดใดชนิดหนึ่งมาทำการศึกษาต่อในสภาวะเดียวกันโดยใช้ caffeine 50 mM เป็นตัวกระตุ้นการหดตัวซึ่ง caffeine เป็นสารที่มีความสามารถในการกระตุ้นให้มีการหลั่ง Ca^{2+} ออกจากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์ได้โดยตรงโดยไม่ต้องอาศัย Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์ แล้วทำการวัดแรงหดตัวที่เกิดขึ้นในนาทีที่ 2, 4, 6, 8 และ 10 เปรียบเทียบแรงหดตัวก่อนได้รับสารทดสอบกับหลังได้รับสารทดสอบ โดยคำนวณเปรียบเทียบให้แรงหดตัวสูงสุดของกล้ามเนื้อเรียบ(แรงหดตัวที่เกิดขึ้นตั้งแต่

นาทีที่ 10 เป็นต้นไปซึ่งเป็นช่วงที่แรงหดตัวเริ่มคงที่)ก่อนได้รับสารทดสอบคิดเป็น 100 % ดังในรูปที่ 13

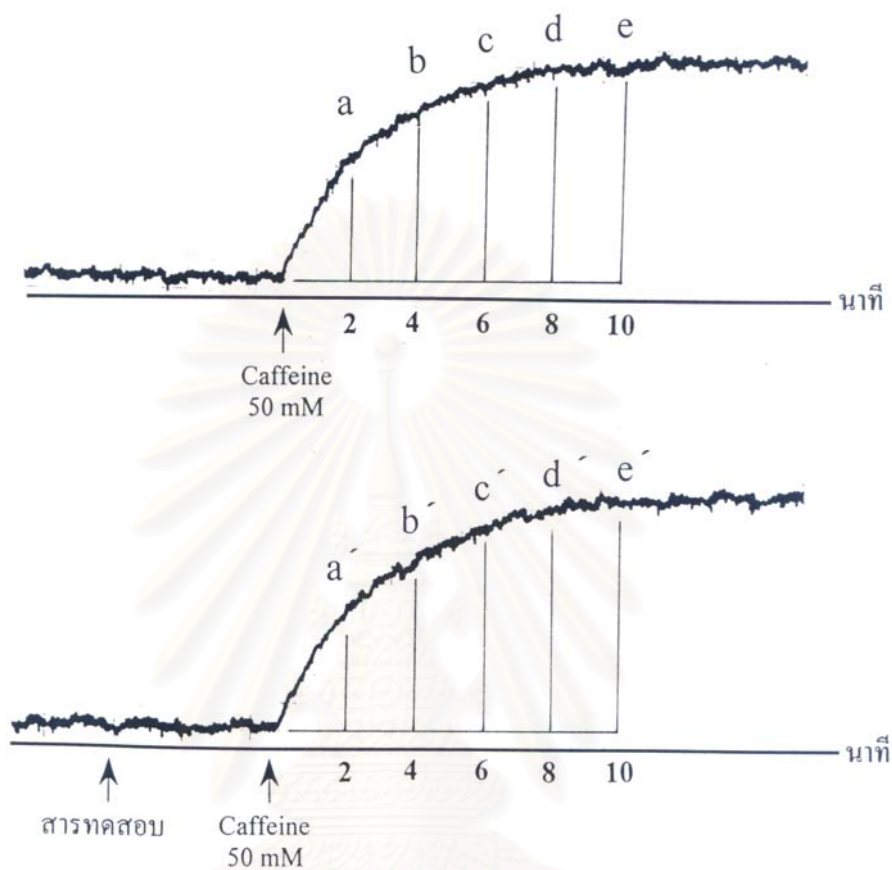
2.5 การศึกษาผลของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวต่อ cumulative dose – response curve ของ Calcium chloride (CaCl_2)

เลือกใช้กล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิของหนูขาวส่วน prostatic half มาทำการศึกษาซึ่งหลังจากเตรียมกล้ามเนื้อและ incubate ด้วย KHS 60 นาทีแล้วล้างด้วย Ca^{2+} -free depolarization solution 5 ครั้งซึ่งมีส่วนประกอบดังแสดงไว้ในตารางที่ 1 และ incubate ต่ออีก 30 นาทีในระหว่างนั้นเปลี่ยนสารละลายทุก 15 นาทีจนกระทั่งกล้ามเนื้อมีความตึงตัวคงที่ เริ่มทำการทดลองโดยทำ dose – response curve ของ CaCl_2 โดยใช้เทคนิคการทำ cumulative dose (Van Rossum et al., 1963) กระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบด้วย CaCl_2 แบบสะสมทุก 5 นาทีที่ความเข้มข้น $1 \times 10^{-4} \text{M}$, $3 \times 10^{-4} \text{M}$, $1 \times 10^{-3} \text{M}$, $3 \times 10^{-3} \text{M}$, $1 \times 10^{-2} \text{M}$ และ $3 \times 10^{-2} \text{M}$ ตามลำดับ หลังจากนั้นล้างด้วย KHS 5 ครั้งและ incubate ต่อด้วย KHS และ Ca^{2+} -free depolarization solution เช่นเดียวกันกับในครั้งแรกจนกระทั่งกล้ามเนื้อมีความตึงตัวคงที่จึงเริ่มใส่สารทดสอบ(CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12) ขนาด $1 \times 10^{-4} \text{M}$ หลังให้สารทดสอบนาน 5 นาทีจึงกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบด้วยการให้ CaCl_2 แบบสะสมตามวิธีและขนาดความเข้มข้นเช่นเดียวกับในครั้งแรก วัดผลโดยวัดแรงหดตัวสูงสุดที่เกิดจาก CaCl_2 แต่ละความเข้มข้นเปรียบเทียบกับระหว่างก่อนกับหลังได้รับสารทดสอบโดยเปรียบเทียบให้แรงหดตัวซึ่งเกิดจากการกระตุ้นด้วย CaCl_2 ในขนาดสูงสุดที่ใช้ในการทดลอง ($3 \times 10^{-2} \text{M}$) ก่อนได้รับสารทดสอบคิดคำนวณเป็น 100%



รูปที่ 12 ขั้นตอนของการทดลองผลของสารสังเคราะห์ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วยสารกระตุ้นชนิดต่างๆในสถานะที่ไม่มี Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์และวิธีการวัดแรงหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบส่วน phasic contraction (a: ก่อนได้รับสารทดสอบ, a': ก่อนได้รับสารทดสอบ)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 13 การวัดแรงหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวเมื่อถูกกระตุ้นด้วย caffeine 50 mM ในนาทีที่ 2, 4, 6, 8 และ 10 (a , b , c, d และ e คือแรงหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบก่อนได้รับ caffeine ในนาทีที่ 2, 4, 6, 8 และ 10 และ a', b', c', d' และ e' คือแรงหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลังได้รับ caffeine ในนาทีที่ 2, 4, 6, 8 และ 10 ตามลำดับ)

2.6 การวิเคราะห์ข้อมูล

ผลการทดลองรายงานเป็นค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (mean \pm standard errors of mean) จากการทดลองโดยมีจำนวนการทดลอง (n)=6

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มก่อนได้รับสารทดสอบกับหลังได้รับสารทดสอบซึ่งคิดเป็นเปอร์เซ็นต์การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบโดยใช้ paired Student's *t* test พิจารณาค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างผลของสารทดสอบแต่ละชนิดกับกลุ่มควบคุม(DMSO) โดยใช้ one-way ANOVA พิจารณาค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)

การคำนวณค่า drug parameter ใช้วิธีของ Van Rossum และคณะ (1963) โดยใช้ค่า pD_2' ซึ่งคือค่า negative logarithm ของความเข้มข้นของตัวยับยั้งชนิดไม่แย่งจับที่ตัวรับจำเพาะตัวเดียวกัน (non competitive antagonist) ในหน่วยโมลาร์ที่ทำให้เกิดการตอบสนองสูงสุด (maximum response) ที่เกิดจากตัวกระตุ้น (agonist)

$$pD_2' = -\log [B] + \log \left\{ \frac{A_{Am}}{A_{AmB}} - 1 \right\}$$

เมื่อ	[B]	คือความเข้มข้นของ non competitive antagonist ในหน่วยโมลาร์
	A_{Am}	คือค่าการหดเกร็งสูงสุด (maximum contraction) ที่เกิดจากตัวกระตุ้นเมื่อไม่มีสารยับยั้ง
	A_{AmB}	คือค่าการหดเกร็งสูงสุด (maximum contraction) ที่เกิดจากตัวกระตุ้นเมื่อมีสารยับยั้ง

บทที่ 4

ผลการทดลอง

1. ผลของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวเมื่อถูกกระตุ้นด้วยสารกระตุ้นต่าง ๆ ใน Krebs-Henseleit solution (KHS)

1.1 ผลของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ ในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวเมื่อถูกกระตุ้นด้วย $NE\ 1 \times 10^{-5}\ M$

$NE\ 1 \times 10^{-5}\ M$ กระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half ในสภาวะที่ปราศจากสารทดสอบพบว่ากล้ามเนื้อเรียบเกิดการหดตัวอย่างรวดเร็วแบบ phasic contraction หลังจากนั้นแรงหดตัวจะลดลงอย่างรวดเร็วและค่อยๆ ซ้ำลงโดยมีลักษณะเป็น rhythmic contraction เมื่อเวลาผ่านไปประมาณ 5 นาที tone ของ rhythmic contraction จะเริ่มคงที่และคงที่อยู่ตลอดระยะเวลา 20 นาทีที่ทำการบันทึกผลการทดลอง ซึ่ง rhythmic contraction ที่เกิดขึ้นนั้นมีลักษณะเป็น wave ที่เห็นได้ชัดเจนโดยเฉพาะในช่วง 10 นาทีแรกดังที่แสดงในรูปที่ 14(a) แรงหดตัวที่เกิดขึ้นในขณะที่ปราศจากสารทดสอบจากการกระตุ้นด้วย $NE\ 1 \times 10^{-5}\ M$ นี้พบว่าส่วน phasic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยประมาณ 2.5 กรัมและส่วน rhythmic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยประมาณ 1.3 กรัม การเปรียบเทียบแรงหดตัวที่เกิดขึ้นระหว่างก่อนได้รับสารทดสอบกับแรงหดตัวที่เหลืออยู่หลังได้รับสารทดสอบแล้วโดยวิธีการคำนวณให้แรงหดตัวแต่ละส่วนก่อนได้รับสารทดสอบมีแรงหดตัวสูงสุดคิดเป็น 100%

ผลของ DMSO 0.06% v/v ซึ่งให้ก่อน $NE\ 1 \times 10^{-5}\ M$ เป็นเวลา 5 นาที พบว่ากล้ามเนื้อเรียบยังคงเกิดการหดตัวแบบ phasic contraction โดยมีลักษณะไม่แตกต่างจากก่อนได้รับ DMSO ขณะที่การหดตัวส่วน rhythmic contraction ดูเหมือนว่าจะมีแรงหดตัวเพิ่มขึ้นเล็กน้อยและมีการหดตัวเกิดขึ้นยาวนานกว่าเดิม ดังที่แสดงในรูปที่ 14(b) โดยมีแรงหดตัวส่วน phasic contraction ที่เกิดขึ้นเฉลี่ย ($n=6$) เท่ากับ $101.80 \pm 4.47\%$ และส่วน rhythmic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $100.97 \pm 5.05\%$ ดังกราฟในรูปที่ 15 ซึ่งแรงหดตัวทั้ง 2 ส่วนนี้ไม่มีความแตกต่างจากก่อนได้รับ DMSO อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ผลของ CU-18-07 $1 \times 10^{-5}\ M$ พบว่าการหดตัวในส่วน phasic contraction และ rhythmic contraction ไม่มีลักษณะที่แตกต่างจากก่อนได้รับสารทดสอบเท่าใดนักดังที่แสดงในรูปที่ 16(b) โดยมีแรงหดตัวส่วน phasic contraction ที่เกิดขึ้นมีค่าเฉลี่ย ($n=6$) เท่ากับ $106.27 \pm 2.93\%$ และ

ส่วน rhythmic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $105.13 \pm 2.19\%$ ดังกราฟในรูปที่ 17 ซึ่งแรงหดตัวทั้ง 2 ส่วนนี้ไม่มีความแตกต่างจากก่อนได้รับสารทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะที่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ CU-18-07 เป็น $1 \times 10^{-4} M$ กลับพบว่าเมื่อผลต่อการเปลี่ยนแปลงในส่วน rhythmic contraction มากกว่า phasic contraction โดยการหดตัวในส่วน phasic contraction ยังคงมีลักษณะที่ไม่แตกต่างจากเดิม แต่ rhythmic contraction ที่เกิดขึ้นกลับมีความถี่และความแรงในการหดตัวลดลง โดยเฉพาะในช่วง 10 นาทีหลังจะเห็นว่าทั้งความถี่และความแรงในการหดตัวลดลงอย่างมากแต่ยังคงมีระดับ tone เท่าเดิมแต่เป็นลักษณะเรียบตรงไม่มี wave ให้เห็นเหมือนในครั้งแรกดังที่แสดงในรูปที่ 16(c) โดยมีแรงหดตัวส่วน phasic contraction ที่เกิดขึ้นเฉลี่ย ($n=6$) เท่ากับ $94.34 \pm 3.62\%$ และส่วน rhythmic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $79.85 \pm 6.10\%$ ดังกราฟในรูปที่ 17 ซึ่งแรงหดตัวในส่วน phasic contraction มีแนวโน้มลดลงเล็กน้อยขณะที่ส่วน rhythmic contraction ลดลงจากก่อนได้รับสารทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลของ CU-18-09 $1 \times 10^{-5} M$ พบว่าการหดตัวในส่วน phasic contraction มีแรงหดตัวลดลงจากเดิมเล็กน้อยแต่กลับพบว่าเมื่อผลต่อการเปลี่ยนแปลงในส่วน rhythmic contraction อย่างมาก โดย rhythmic contraction จะมีความถี่และความถี่ลดลงอย่างเห็นได้ชัด ยิ่งเมื่อเวลาผ่านไปจะพบว่าการหดตัวจะยิ่งลดลงจนกระทั่งแทบไม่มีเลยขณะที่ยังคงมีระดับ tone เท่าเดิมแต่เป็นลักษณะเรียบตรงไม่มี wave ให้เห็นเหมือนในครั้งแรก ดังที่แสดงในรูปที่ 18(b) โดยมีแรงหดตัวส่วน phasic contraction ที่เกิดขึ้นเฉลี่ย ($n=6$) เท่ากับ $90.56 \pm 2.81\%$ และส่วน rhythmic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $52.39 \pm 4.66\%$ ดังกราฟในรูปที่ 19 ซึ่งแรงหดตัวของทั้ง 2 ส่วนลดลงจากก่อนได้รับสารทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะที่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ CU-18-09 เป็น $1 \times 10^{-4} M$ กลับพบว่าสามารถยับยั้งการหดตัวได้ทั้งส่วน phasic contraction และ rhythmic contraction ได้อย่างรุนแรงจนแทบจะไม่มี การหดตัวของกล้ามเนื้อเกิดขึ้นเลย การหดตัวส่วน phasic และ rhythmic contraction ถูกยับยั้งได้เกือบจะสมบูรณ์ซึ่งจะยังคงเห็นการหดตัวในส่วน phasic contraction ได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้นดังที่แสดงในรูปที่ 18(c) โดยมีแรงหดตัวส่วน phasic contraction ที่เกิดขึ้นเฉลี่ย ($n=6$) เท่ากับ $0.59 \pm 0.13\%$ และส่วน rhythmic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $0.09 \pm 0.09\%$ ดังกราฟในรูปที่ 19 ซึ่งทั้ง 2 ส่วนมีแรงหดตัวลดลงจากก่อนได้รับสารทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลของ CU-18-12 $1 \times 10^{-5} M$ พบว่าการหดตัวส่วน phasic contraction มีลักษณะที่ไม่แตกต่างจากเดิมและตามด้วย rhythmic contraction ซึ่งดูเหมือนว่าจะมีแรงหดตัวเพิ่มขึ้นจากเดิมเล็กน้อยดังที่แสดงในรูปที่ 20(b) โดยมีแรงหดตัวส่วน phasic contraction ที่เกิดขึ้นเฉลี่ย ($n=6$) เท่ากับ $107.63 \pm 4.47\%$ และส่วน rhythmic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $114.49 \pm 3.61\%$ ดังกราฟในรูปที่ 21 ซึ่งแรงหดตัวของทั้ง 2 ส่วนมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจากก่อนได้รับสารทดสอบอย่าง

ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะที่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ CU-18-12 เป็น $1 \times 10^{-4} M$ กลับพบว่ายับยั้งแรงหดตัวทั้งในส่วน phasic และ rhythmic contraction โดยที่ส่วน phasic มีแรงหดตัวลดลงอย่างเห็นได้ชัดและ rhythmic contraction ก็ลดลงทั้งความแรงและความถี่ในการหดตัว โดยเฉพาะความถี่ที่ลดลงอย่างชัดเจน ช่วงเวลาที่ tone ตกหลังจากเกิด phasic contraction แล้วเริ่มคงที่ใช้เวลาสั้นลงรวมทั้งกล้ามเนื้อเกิดการคลายตัวมากขึ้นทำให้ tone ลดต่ำลงเกือบถึงระดับ resting tone ดังที่แสดงในรูปที่ 20(c) โดยมีแรงหดตัวส่วน phasic contraction ที่เกิดขึ้นเฉลี่ย ($n=6$) เท่ากับ $72.21 \pm 5.76\%$ และส่วน rhythmic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $82.59 \pm 8.49\%$ ดังกราฟในรูปที่ 21 ซึ่งแรงหดตัวส่วน phasic contraction ลดลงจากก่อนได้รับสารทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่ส่วน rhythmic contraction ก็มีแนวโน้มลดลงด้วยเช่นกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

จากผลการทดลองดังกล่าวสรุปได้ว่า DMSO ซึ่งใช้เป็นตัวทำละลายของสารสังเคราะห์ทั้ง 3 ไม่มีผลต่อการหดตัวส่วน phasic contraction ของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกระตุ้นด้วย NE $1 \times 10^{-5} M$ เมื่อเปรียบเทียบแรงหดตัวที่เหลืออยู่หลังได้รับสารสังเคราะห์ทั้ง 3 กับกลุ่มที่ได้รับ DMSO (กลุ่มควบคุม) ดังกราฟในรูปที่ 22 พบว่า CU-18-07 ที่ความเข้มข้น $1 \times 10^{-5} M$ และ $1 \times 10^{-4} M$ ไม่สามารถยับยั้งการหดตัวที่เกิดขึ้นได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แต่ยังคงพบว่าแรงในการหดตัวที่เหลืออยู่หลังได้รับ CU-18-07 $1 \times 10^{-4} M$ มีแนวโน้มลดลงตามความเข้มข้นที่เพิ่มสูงขึ้น กลุ่มที่ได้รับ CU-18-09 $1 \times 10^{-5} M$ พบว่าแรงหดตัวที่เหลืออยู่จากก่อนได้รับสารทดสอบไม่มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม แต่อย่างไรก็ตามแรงหดตัวที่เกิดขึ้นดังกล่าวยังมีแนวโน้มลดลงมากกว่ากลุ่มสารสังเคราะห์ตัวอื่น ขณะที่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นสูงขึ้นเป็น $1 \times 10^{-4} M$ กลับสามารถยับยั้งการหดตัวได้โดยมีความสามารถในการยับยั้งการหดตัวได้อย่างรุนแรงและแรงที่สุดกว่าสารสังเคราะห์ทุกตัว ส่วน CU-18-12 พบว่าที่ความเข้มข้น $1 \times 10^{-4} M$ จึงจะสามารถยับยั้งการหดตัวได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบตามความแรงของสารสังเคราะห์ แต่ละตัวจะสามารถลำดับได้ดังนี้คือ CU-18-09 > CU-18-12 > CU-18-07

1.2 ผลของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวเมื่อถูกกระตุ้นด้วย 5-HT 1×10^{-5} M

5-HT 1×10^{-5} M กระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half ในสภาวะที่ปราศจากสารทดสอบพบว่ากล้ามเนื้อเรียบเกิดการหดตัวอย่างรวดเร็วแบบ phasic contraction หลังจากนั้นแรงหดตัวจะลดลงอย่างรวดเร็วและค่อย ๆ ซ้ำลงโดยมีลักษณะเป็นแบบ rhythmic contraction เมื่อเวลาผ่านไปประมาณ 3 นาที tone ของ rhythmic contraction จะเริ่มคงที่และจะคงที่อยู่ตลอดระยะเวลา 20 นาทีที่ทำการบันทึกผลการทดลอง ดังที่แสดงในรูปที่ 23(a) แรงหดตัวที่เกิดขึ้นในขณะที่ปราศจากสารทดสอบจากการกระตุ้นด้วย 5-HT 1×10^{-5} M นี้พบว่าส่วน phasic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยประมาณ 1.2 กรัมและส่วน rhythmic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยประมาณ 0.9 กรัม การเปรียบเทียบแรงหดตัวที่เกิดขึ้นระหว่างก่อนได้รับสารทดสอบกับแรงหดตัวที่เหลืออยู่หลังได้รับสารทดสอบแล้วโดยวิธีการคำนวณให้แรงหดตัวแต่ละส่วนก่อนได้รับสารทดสอบมีแรงหดตัวสูงสุดคิดเป็น 100%

ผลของ DMSO 0.06% v/v ซึ่งให้ก่อน 5-HT 1×10^{-5} M เป็นเวลา 5 นาที พบว่ากล้ามเนื้อเรียบยังคงเกิดการหดตัวแบบ phasic contraction และตามด้วย rhythmic contraction ซึ่งมีลักษณะไม่แตกต่างจากก่อนได้รับ DMSO ดังที่แสดงในรูปที่ 23(b) โดยมีแรงหดตัวส่วน phasic contraction ที่เกิดขึ้นเฉลี่ย ($n=6$) เท่ากับ $106.16 \pm 4.59\%$ และส่วน rhythmic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $103.19 \pm 3.81\%$ ดังกราฟในรูปที่ 24 ซึ่งแรงหดตัวของทั้ง 2 ส่วนไม่มีความแตกต่างจากก่อนได้รับ DMSO อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ผลของ CU-18-07 1×10^{-5} M พบว่าการหดตัวในส่วน phasic contraction และ rhythmic contraction ไม่มีลักษณะที่แตกต่างจากก่อนได้รับสารทดสอบดังที่แสดงในรูปที่ 25(b) โดยมีแรงหดตัวส่วน phasic contraction ที่เกิดขึ้นเฉลี่ย ($n=6$) เท่ากับ $87.92 \pm 10.36\%$ และส่วน rhythmic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $89.74 \pm 13.33\%$ ดังกราฟในรูปที่ 26 ซึ่งแรงหดตัวทั้ง 2 ส่วนมีแนวโน้มลดลงอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะที่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ CU-18-07 เป็น 1×10^{-4} M พบว่าแรงหดตัวส่วน phasic contraction มีแรงหดตัวลดลงจากเดิมและส่วน rhythmic contraction พบว่ามีความแรงลดลงเล็กน้อยด้วยเช่นกันแต่ขณะเดียวกันกลับมีความถี่ในการหดตัวเพิ่มมากขึ้นอย่างเห็นได้ชัด ดังที่แสดงในรูปที่ 25(c) โดยมีแรงหดตัวส่วน phasic contraction ที่เกิดขึ้นเฉลี่ย ($n=6$) เท่ากับ $54.85 \pm 9.90\%$ และส่วน rhythmic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $78.02 \pm 10.51\%$ ดังกราฟในรูปที่ 26 ซึ่งแรงหดตัวส่วน phasic contraction ลดลงจากก่อนได้รับสารทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่ส่วน rhythmic contraction ก็มีแนวโน้มลดลงด้วยเช่นกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลของ CU-18-09 $1 \times 10^{-5} M$ พบว่าการหดตัวในส่วน phasic contraction มีแรงหดตัวลดลงเล็กน้อยและส่วน rhythmic contraction ก็มีแรงในการหดตัวลดลงด้วยเช่นกันแต่กลับมีความถี่ในการหดตัวเพิ่มมากขึ้นอย่างเห็นได้ชัด ดังที่แสดงในรูปที่ 27(b) โดยมีแรงหดตัวส่วน phasic contraction ที่เกิดขึ้นเฉลี่ย ($n=6$) เท่ากับ $70.49 \pm 11.77\%$ และส่วน rhythmic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $79.21 \pm 11.79\%$ ดังกราฟในรูปที่ 28 ซึ่งแรงหดตัวทั้ง 2 ส่วนมีแนวโน้มลดลงอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะที่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ CU-18-09 เป็น $1 \times 10^{-4} M$ พบว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบทั้ง 2 ส่วนถูกยับยั้งเกือบจะสมบูรณ์จนแทบไม่เกิดขึ้นเลย โดยจะเห็นส่วน phasic เกิดขึ้นเล็กน้อยทับซ้อนอยู่กับ rhythmic contraction และจะยังคงสามารถเห็น rhythmic contraction ได้ในช่วง 10 นาทีแรกเท่านั้นหลังจากนั้นจะไม่มีการหดตัวเกิดขึ้นอีกเลยดังที่แสดงในรูปที่ 27(c) โดยมีแรงหดตัวส่วน phasic contraction ที่เกิดขึ้นเฉลี่ย ($n=6$) เท่ากับ $3.92 \pm 1.36\%$ และส่วน rhythmic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $8.68 \pm 2.28\%$ ดังกราฟในรูปที่ 28 ซึ่งแรงหดตัวทั้ง 2 ส่วนลดลงจากก่อนได้รับสารทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลของ CU-18-12 $1 \times 10^{-5} M$ พบว่าลักษณะการหดตัวทั้งในส่วน phasic และ rhythmic contraction ไม่มีความแตกต่างจากก่อนได้รับสารทดสอบ ดังที่แสดงในรูปที่ 29(b) โดยมีแรงหดตัวส่วน phasic contraction ที่เกิดขึ้นเฉลี่ย ($n=6$) เท่ากับ $89.77 \pm 11.12\%$ และส่วน rhythmic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $98.18 \pm 9.14\%$ ดังกราฟในรูปที่ 30 ซึ่งแรงหดตัวส่วน phasic contraction มีแนวโน้มลดลงจากก่อนได้รับสารทดสอบอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะที่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ CU-18-12 เป็น $1 \times 10^{-4} M$ พบว่าการหดตัวในส่วน phasic contraction มีแรงหดตัวลดลงจากเดิมค่อนข้างมากและส่วน rhythmic contraction ก็มีแรงหดตัวลดลงเล็กน้อยด้วยเช่นกันในขณะที่ดูเหมือนว่าจะมีความถี่เพิ่มมากขึ้นจากเดิมเล็กน้อยและกล้ามเนื้อเกิดการคลายตัวมากขึ้นทำให้ระดับ tone ลดต่ำลงจนกระทั่งเกือบถึง ระดับของ resting tone ดังที่แสดงในรูปที่ 29(c) โดยมีแรงหดตัวส่วน phasic contraction ที่เกิดขึ้นเฉลี่ย ($n=6$) เท่ากับ $24.15 \pm 5.12\%$ และส่วน rhythmic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $81.34 \pm 23.90\%$ ดังกราฟในรูปที่ 30 ซึ่งแรงหดตัวส่วน phasic contraction ลดลงจากก่อนได้รับสารทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่ส่วน rhythmic contraction ก็มีแนวโน้มลดลงด้วยเช่นกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

จากผลการทดลองดังกล่าวสรุปได้ว่า DMSO ซึ่งใช้เป็นตัวทำละลายของสารสังเคราะห์ ทั้ง 3 ไม่มีผลต่อการหดตัวส่วน phasic contraction ของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกระตุ้นด้วย 5-HT $1 \times 10^{-5} M$ เมื่อเปรียบเทียบกับแรงหดตัวที่เหลืออยู่หลังได้รับสารสังเคราะห์ทั้ง 3 กับกลุ่มที่ได้รับ DMSO (กลุ่มควบคุม) ดังกราฟในรูปที่ 31 พบว่าที่

ความเข้มข้น $1 \times 10^{-5} M$ ไม่มีสารสังเคราะห์ตัวใดที่สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่เกิดขึ้นได้และมีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ขณะที่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นสูงขึ้นเป็น $1 \times 10^{-4} M$ พบว่าสารสังเคราะห์ทั้ง 3 สามารถยับยั้งการหดตัวที่เกิดขึ้นได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและยังพบว่า CU-18-09 มีความสามารถในการยับยั้งการหดตัวที่แรงที่สุดในกลุ่มสารสังเคราะห์เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบตามความแรงของสารสังเคราะห์แต่ละตัวจะสามารถลำดับได้ดังนี้คือ $CU-18-09 > CU-18-12 > CU-18-07$ เช่นเดียวกับผลต่อการกระตุ้นด้วย NE



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1.3 ผลของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวเมื่อถูกกระตุ้นด้วย $\text{BaCl}_2 1 \times 10^{-3} \text{M}$

$\text{BaCl}_2 1 \times 10^{-3} \text{M}$ กระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half ในสภาวะที่ปราศจากสารทดสอบ พบว่ากล้ามเนื้อเรียบเกิดการหดตัวอย่างรวดเร็วแบบ phasic contraction และตามด้วย rhythmic contraction ซึ่งทับซ้อนอยู่บน phasic หลังจากนั้นแรงหดตัวจะค่อย ๆ ลดลงโดยมีลักษณะเป็นแบบ rhythmic contraction เมื่อเวลาผ่านไปประมาณ 6 นาที tone ของ rhythmic contraction จะเริ่มคงที่และจะคงที่อยู่ตลอดระยะเวลา 20 นาทีที่ทำการบันทึกผลการทดลอง โดย tone ที่เกิดขึ้นจะมีระดับต่ำกว่าจนกระทั่งใกล้เคียงกับระดับ resting tone ของกล้ามเนื้อก่อนที่จะได้รับการกระตุ้นและมีลักษณะเป็น wave ซึ่งเห็นได้ชัดเจน ดังที่แสดงในรูปที่ 32(a) แรงหดตัวที่เกิดขึ้นในขณะปราศจากสารทดสอบจากการกระตุ้นด้วย $\text{BaCl}_2 1 \times 10^{-3} \text{M}$ นี้พบว่าส่วน phasic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยประมาณ 1.5 กรัม และส่วน rhythmic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยประมาณ 1.3 กรัม การเปรียบเทียบแรงหดตัวที่เกิดขึ้นระหว่างก่อนได้รับสารทดสอบกับแรงหดตัวที่เหลืออยู่หลังได้รับสารทดสอบแล้วโดยวิธีการคำนวณให้แรงหดตัวแต่ละส่วนก่อนได้รับสารทดสอบมีแรงหดตัวสูงสุดคิดเป็น 100%

ผลของ DMSO 0.06% v/v ซึ่งให้ก่อน $\text{BaCl}_2 1 \times 10^{-3} \text{M}$ เป็นเวลา 5 นาที พบว่ากล้ามเนื้อเรียบยังคงเกิดการหดตัวแบบ phasic contraction และตามด้วย rhythmic contraction ซึ่งมีลักษณะไม่แตกต่างจากก่อนได้รับ DMSO ดังที่แสดงในรูปที่ 32(b) โดยมีแรงหดตัวส่วน phasic contraction ที่เกิดขึ้นเฉลี่ย ($n=6$) เท่ากับ $108.12 \pm 6.93\%$ และส่วน rhythmic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $96.06 \pm 7.04\%$ ดังกราฟในรูปที่ 33 ซึ่งแรงหดตัวของทั้ง 2 ส่วนไม่มีความแตกต่างจากก่อนได้รับ DMSO อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ผลของ CU-18-07 $1 \times 10^{-5} \text{M}$ พบว่าการหดตัวในส่วน phasic contraction ไม่มีลักษณะที่แตกต่างจากก่อนได้รับสารทดสอบเท่าใดนักในขณะที่ส่วน rhythmic contraction นั้นกลับดูเหมือนว่าจะมีความถี่ในการหดตัวเพิ่มมากขึ้นจากเดิมเล็กน้อยและ tone ก็มีลักษณะเรียบตรงมากขึ้นเนื่องจากลักษณะ wave ที่เห็นในครั้งแรกเริ่มหายไป ดังที่แสดงในรูปที่ 34(b) โดยมีแรงหดตัวส่วน phasic contraction ที่เกิดขึ้นเฉลี่ย ($n=6$) เท่ากับ $99.67 \pm 8.10\%$ และส่วน rhythmic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $89.21 \pm 9.27\%$ ดังกราฟในรูปที่ 35 ซึ่งแรงหดตัวของทั้ง 2 ส่วนไม่มีความแตกต่างจากก่อนได้รับสารทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะที่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ CU-18-07 เป็น $1 \times 10^{-4} \text{M}$ พบว่าส่วน phasic contraction มีแรงหดตัวลดลงมากขึ้นอย่างเห็นได้ชัดในขณะที่ส่วน rhythmic contraction กลับมีความถี่ในการหดตัวเพิ่มมากขึ้นด้วยเช่นกันโดยที่ความถี่ในการหดตัวไม่เปลี่ยนแปลง นอกจากนี้ tone ก็ยังการคลายตัวเพิ่มมากขึ้นโดยมีลักษณะเรียบตรงมากขึ้นจนไม่มี wave เกิดขึ้นให้เห็นเลย ดังที่แสดงในรูปที่ 34(c) โดยมีแรง

หดตัวส่วน phasic contraction ที่เกิดขึ้นเฉลี่ย($n=6$)เท่ากับ 67.81 ± 9.50 % และส่วน rhythmic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ 97.87 ± 9.21 % ดังกราฟในรูปที่ 35 ซึ่งแรงหดตัวส่วน phasic contraction นั้นลดลงจากก่อนได้รับสารทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะที่ส่วน rhythmic contraction ไม่มีความแตกต่างจากก่อนได้รับสารทดสอบ

ผลของ CU-18-09 1×10^{-5} M พบว่าการหดตัวในส่วน phasic contraction มีลักษณะที่ไม่แตกต่างจากก่อนได้รับสารทดสอบแต่ในส่วน rhythmic contraction กลับมีแรงในการหดตัวลดลงจากเดิมเล็กน้อย นอกจากนี้ tone ยังมีการคลายตัวลงและมีลักษณะเรียบตรงมากขึ้นเนื่องจากลักษณะ wave ที่เห็นในครั้งแรกเริ่มหายไป ดังที่แสดงในรูปที่ 36(b) โดยมีแรงหดตัวส่วน phasic contraction ที่เกิดขึ้นเฉลี่ย($n=6$)เท่ากับ 98.56 ± 11.83 % และส่วน rhythmic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ 82.82 ± 7.21 % ดังกราฟในรูปที่ 37 ซึ่งแรงหดตัวในส่วน rhythmic contraction นั้นมีแนวโน้มลดลงจากก่อนได้รับสารทดสอบอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะที่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ CU-18-09 เป็น 1×10^{-4} M กลับพบว่าแรงหดตัวในส่วน phasic contraction นั้นลดลงอย่างมากและ rhythmic contraction ก็มีแรงในการหดตัวลดลงจากเดิมมากขึ้นด้วยเช่นกันอย่างเห็นได้ชัด ดังที่แสดงในรูปที่ 36(c) โดยมีแรงหดตัวส่วน phasic contraction ที่เกิดขึ้นเฉลี่ย($n=6$)เท่ากับ 22.02 ± 6.16 % และส่วน rhythmic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ 24.59 ± 4.75 % ดังกราฟในรูปที่ 37 ซึ่งแรงหดตัวทั้ง 2 ส่วนลดลงจากก่อนได้รับสารทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลของ CU-18-12 1×10^{-5} M พบว่าการหดตัวทั้งส่วน phasic contraction และ rhythmic contraction ไม่มีลักษณะที่แตกต่างจากก่อนได้รับสารทดสอบดังที่แสดงในรูปที่ 38(b) โดยมีแรงหดตัวส่วน phasic contraction ที่เกิดขึ้นเฉลี่ย($n=6$)เท่ากับ 103.41 ± 8.98 % และส่วน rhythmic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ 95.90 ± 5.40 % ดังกราฟในรูปที่ 39 ซึ่งแรงหดตัวทั้ง 2 ส่วนไม่มีความแตกต่างจากก่อนได้รับสารทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะที่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ CU-18-12 เป็น 1×10^{-4} M พบว่าการหดตัวในส่วน phasic contraction มีแรงในการหดตัวลดลงจากเดิมอย่างเห็นได้ชัดเจนและส่วน rhythmic contraction ก็ดูเหมือนว่าจะมีแรงในการหดตัวลดลงบ้างเล็กน้อยโดยที่ tone มีการคลายตัวลงมากขึ้น ดังที่แสดงในรูปที่ 38(c) โดยมีแรงหดตัวส่วน phasic contraction ที่เกิดขึ้นเฉลี่ย($n=6$)เท่ากับ 54.80 ± 9.29 % และส่วน rhythmic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ 78.78 ± 8.40 % ดังกราฟในรูปที่ 39 ซึ่งแรงหดตัวส่วน phasic contraction ลดลงจากก่อนได้รับสารทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่ส่วน rhythmic contraction ก็มีแนวโน้มลดลงด้วยเช่นกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

จากผลการทดลองดังกล่าวสรุปได้ว่า DMSO ซึ่งใช้เป็นตัวทำละลายของสารสังเคราะห์

ทั้ง 3 ไม่มีผลต่อการหดตัวของส่วน phasic contraction ของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจาก หนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกระตุ้นด้วย BaCl_2 $1 \times 10^{-3} \text{M}$ เมื่อเปรียบเทียบแรงหดตัวที่ เหลืออยู่หลังได้รับสารสังเคราะห์ทั้ง 3 กับกลุ่มที่ได้รับ DMSO(กลุ่มควบคุม) ดังกราฟในรูปที่ 40 พบว่าผลที่เกิดขึ้นดังกล่าวคล้ายกับผลต่อการกระตุ้นด้วย NE โดยพบว่าแรงหดตัวที่เหลืออยู่หลัง ได้รับ CU-18-07 $1 \times 10^{-5} \text{M}$ และ $1 \times 10^{-4} \text{M}$ ไม่มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมแม้ว่าแรงหดตัวที่ เกิดขึ้นจะมีแนวโน้มลดลงก็ตาม ส่วน CU-18-09 และ CU-18-12 ที่ความเข้มข้น $1 \times 10^{-5} \text{M}$ ไม่ สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ขณะที่เมื่อเพิ่ม ความเข้มข้นเป็น $1 \times 10^{-4} \text{M}$ พบว่าสารสังเคราะห์ทั้ง 2 สามารถยับยั้งการหดตัวได้อย่างมี นัยสำคัญทางสถิติ โดยที่ CU-18-09 มีความสามารถในการยับยั้งการหดตัวได้แรงที่สุดในกลุ่ม เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบตามความแรงของสาร สังเคราะห์แต่ละตัวจะสามารถลำดับได้ดังนี้ CU-18-09 > CU-18-12 > CU-18-07 ซึ่งเหมือนกับผล ต่อการกระตุ้นด้วย NE และ 5-HT

1.4 ผลของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อ นำอสุจิที่แยกจากหนูขาวเมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 50 mM

KCl 50 mM กระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อ นำอสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน prostatic half ในสภาวะที่ปราศจากสารทดสอบ พบว่ากล้ามเนื้อเรียบเกิดการหดตัวแบบ phasic contraction ตามด้วย tonic contraction โดยมีการหดตัวอย่างรวดเร็วและลดลงอย่างรวดเร็วเช่นกัน ซึ่ง tone ที่กำลังตกลงจะกลับเพิ่มสูงขึ้นเล็กน้อยทำให้มีลักษณะเป็น biphasic ก่อนที่จะค่อยๆลดลงอย่างช้าๆและคงที่อยู่ประมาณ 2-3 นาที แล้วกลับค่อยๆเพิ่มสูงขึ้นอีกครั้งจนกระทั่งคงที่ดังที่แสดงในรูปที่ 41(a) แรงหดตัวที่เกิดขึ้นในขณะที่ปราศจากสารทดสอบจากการกระตุ้นด้วย KCl 50 mM นี้พบว่าส่วน phasic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยประมาณ 2.5 กรัมและส่วน tonic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยประมาณ 1.5 กรัม การเปรียบเทียบแรงหดตัวที่เกิดขึ้นระหว่างก่อนได้รับสารทดสอบกับแรงหดตัวที่เหลืออยู่หลังได้รับสารทดสอบแล้วโดยวิธีการคำนวณให้แรงหดตัวแต่ละส่วนก่อนได้รับสารทดสอบมีแรงหดตัวสูงสุดคิดเป็น 100%

ผลของ DMSO 0.06% v/v ซึ่งให้ก่อน KCl 50 mM เป็นเวลา 5 นาที พบว่ากล้ามเนื้อเรียบยังคงเกิดการหดตัวแบบ phasic contraction และตามด้วย tonic contraction ซึ่งมีลักษณะไม่แตกต่างจากก่อนได้รับ DMSO ดังที่แสดงในรูปที่ 41(b) โดยมีแรงหดตัวส่วน phasic contraction ที่เกิดขึ้นเฉลี่ย($n=6$)เท่ากับ $95.21 \pm 14.83\%$ และส่วน tonic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $96.67 \pm 15.78\%$ ดังกราฟในรูปที่ 42 ซึ่งแรงหดตัวของทั้ง 2 ส่วนไม่มีความแตกต่างจากก่อนได้รับ DMSO อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($p < 0.05$)

ผลของ CU-18-07 $1 \times 10^{-5} M$ พบว่าการหดตัวส่วน phasic contraction มีแรงในการหดตัวลดลงจากเดิมเล็กน้อยและในส่วน tonic contraction ก็พบว่ามีแรงในการหดตัวลดลงเล็กน้อยเช่นกัน ดังที่แสดงในรูปที่ 43(b) โดยมีแรงหดตัวส่วน phasic contraction ที่เกิดขึ้นเฉลี่ย($n=6$)เท่ากับ $73.20 \pm 7.11\%$ และส่วน tonic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $86.56 \pm 10.13\%$ ดังกราฟในรูปที่ 44 ซึ่งแรงหดตัวส่วน phasic contraction ลดลงจากก่อนได้รับสารทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่ส่วน tonic contraction ก็มีแนวโน้มลดลงด้วยเช่นกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะที่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ CU-18-07 เป็น $1 \times 10^{-4} M$ พบว่าการหดตัวทั้งในส่วน phasic contraction และ tonic contraction มีแรงหดตัวลดลงจากเดิมอย่างเห็นได้ชัด โดยในส่วน phasic contraction จะมีแรงในการหดตัวลดลงกว่าส่วน tonic contraction ดังที่แสดงในรูปที่ 43(c) โดยมีแรงหดตัวส่วน phasic contraction ที่เกิดขึ้นเฉลี่ย($n=6$)เท่ากับ $21.69 \pm 8.59\%$ และส่วน tonic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $39.62 \pm 6.29\%$ ดังกราฟในรูปที่ 44 ซึ่งแรงหดตัวทั้ง 2 ส่วนลดลงจากก่อนได้รับสารทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลของ CU-18-09 $1 \times 10^{-5} M$ พบว่าการหดตัวทั้งส่วน phasic contraction และ tonic contraction มีแรงในการหดตัวลดลงโดยใน ส่วน phasic contraction นั้นมีแรงในการหดตัวลดลงอย่างชัดเจนมากกว่า tonic contraction ดังที่แสดงในรูปที่ 45(b) โดยมีแรงหดตัวส่วน phasic contraction ที่เกิดขึ้นเฉลี่ย($n=6$)เท่ากับ $31.94 \pm 4.39\%$ และส่วน tonic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $64.01 \pm 7.57\%$ ดังกราฟในรูปที่ 46 ซึ่งแรงหดตัวทั้ง 2 ส่วนลดลงจากก่อนได้รับสารทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะที่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ CU-18-09 เป็น $1 \times 10^{-4} M$ พบว่าการหดตัวส่วน phasic contraction ถูกยับยั้งจนเกือบสมบูรณ์โดยจะเห็นว่ามี การหดตัวเกิดขึ้นเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ส่วน tonic contraction นั้นก็มีแรงในการหดตัวลดลงจากเดิมด้วยเช่นกันแต่ยังคงมีแรงหดตัวสูงกว่า phasic contraction ดังที่แสดงในรูปที่ 45(c) โดยมีแรงหดตัวส่วน phasic contraction ที่เกิดขึ้นเฉลี่ย($n=6$)เท่ากับ $4.14 \pm 1.04\%$ และส่วน tonic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $43.16 \pm 10.78\%$ ดังกราฟในรูปที่ 46 ซึ่งแรงหดตัวทั้ง 2 ส่วนลดลงจากก่อนได้รับสารทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

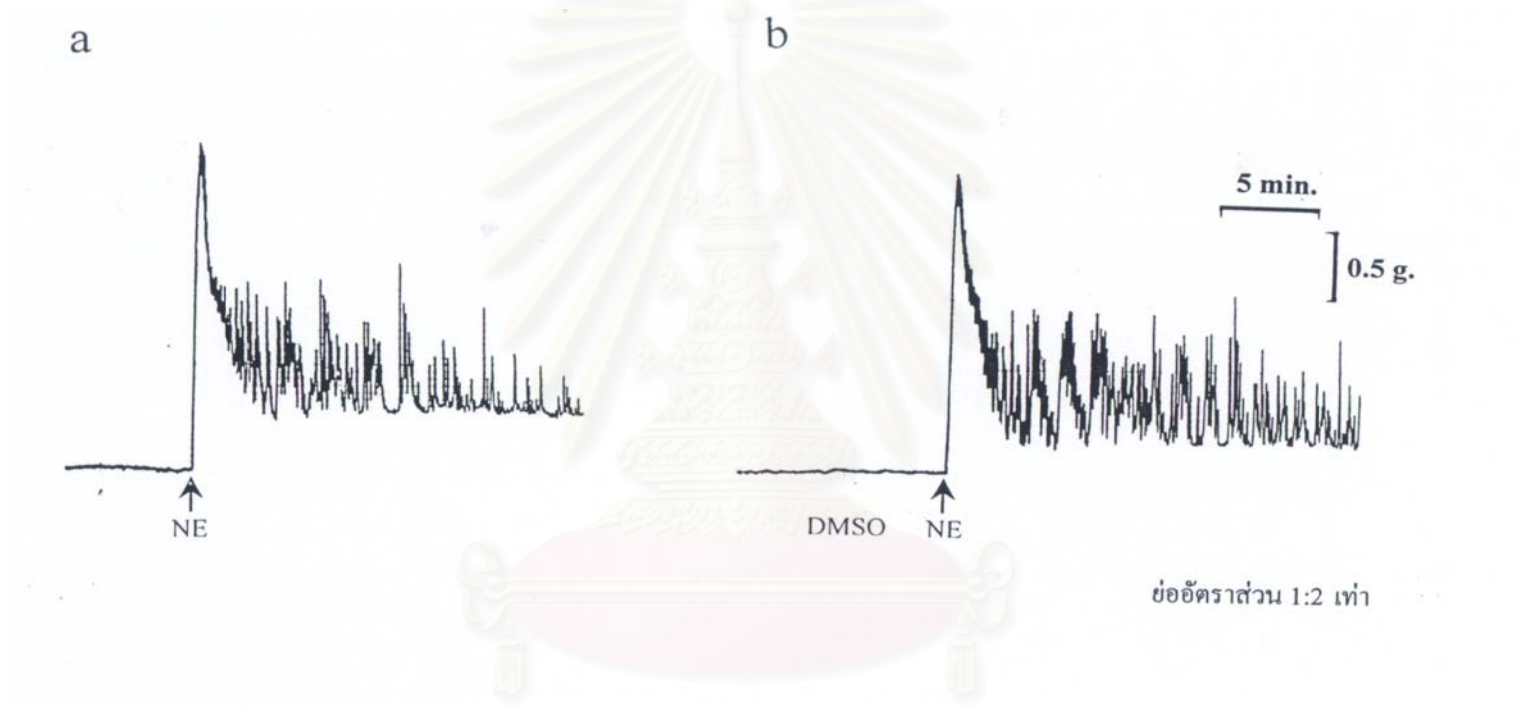
ผลของ CU-18-12 $1 \times 10^{-5} M$ พบว่าพบว่าการหดตัวส่วน phasic contraction มีแรงในการหดตัวลดลงซึ่งเห็นได้ค่อนข้างชัดเจนและในส่วน tonic contraction ก็พบว่ามีแรงในการหดตัวลดลงเล็กน้อยเช่นกัน ดังที่แสดงในรูปที่ 47(b) โดยมีแรงหดตัวส่วน phasic contraction ที่เกิดขึ้นเฉลี่ย($n=6$)เท่ากับ $59.68 \pm 4.26\%$ และส่วน tonic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $87.09 \pm 5.06\%$ ดังกราฟในรูปที่ 48 ซึ่งแรงหดตัวส่วน phasic contraction ลดลงจากก่อนได้รับสารทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่ส่วน tonic contraction ก็มีแนวโน้มลดลงด้วยเช่นกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะที่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ CU-18-12 เป็น $1 \times 10^{-4} M$ พบว่าการหดตัวส่วน phasic contraction มีแรงหดตัวลดลงจากเดิมเล็กน้อยเท่านั้น แต่ในส่วน tonic contraction กลับมีแรงหดตัวลดลงจากเดิมอย่างเห็นได้ชัด ดังที่แสดงในรูปที่ 47(c) โดยมีแรงหดตัวส่วน phasic contraction ที่เกิดขึ้นเฉลี่ย($n=6$)เท่ากับ $49.03 \pm 6.42\%$ และส่วน tonic contraction มีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $33.58 \pm 9.60\%$ ดังกราฟในรูปที่ 48 ซึ่งแรงหดตัวทั้ง 2 ส่วนลดลงจากก่อนได้รับสารทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

จากผลการทดลองดังกล่าวสรุปได้ว่า DMSO ซึ่งใช้เป็นตัวทำละลายของสารสังเคราะห์ ทั้ง 3 ไม่มีผลต่อการหดตัวส่วน phasic contraction ของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน prostatic half เมื่อถูกระตุ้นด้วย KCl 50 mM เมื่อเปรียบเทียบแรงหดตัวที่เหลืออยู่หลังได้รับสารสังเคราะห์ทั้ง 3 กับกลุ่มที่ได้รับ DMSO(กลุ่มควบคุม) ดังกราฟในรูปที่ 49 CU-18-07 ที่ความเข้มข้น $1 \times 10^{-5} M$ พบว่าแรงหดตัวที่เหลืออยู่หลังได้รับสารสังเคราะห์มีแนวโน้มลดลงแต่ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ขณะที่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น $1 \times 10^{-4} M$ พบว่าแรงหดตัวลดลงอย่างมี

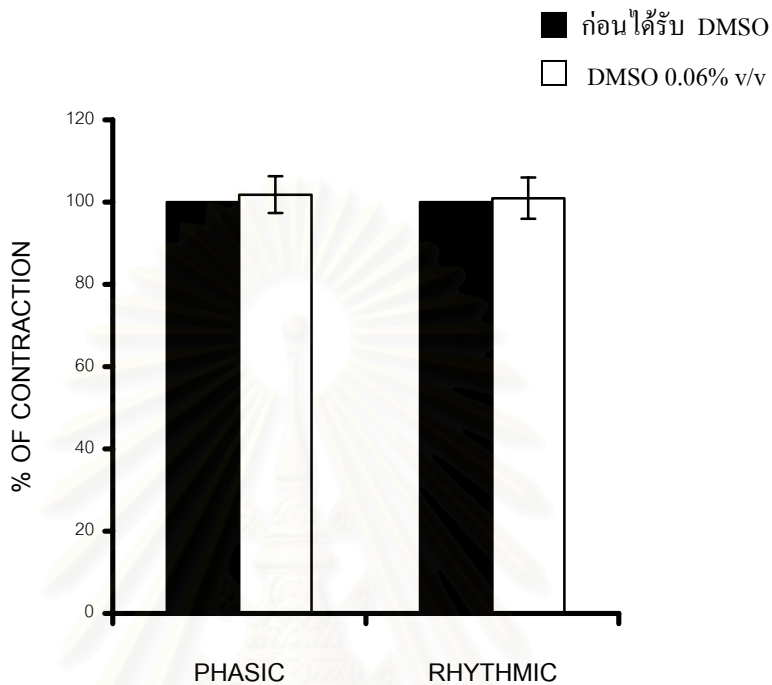
นัยสำคัญทางสถิติ($p < 0.05$) CU-18-09 ที่ความเข้มข้น 1×10^{-5} M และ 1×10^{-4} M สามารถยับยั้งการหดตัวได้และยังมีความสามารถในการยับยั้งได้สูงที่สุดในกลุ่มสารสังเคราะห์ ส่วน CU-18-12 ที่ความเข้มข้น 1×10^{-5} M ไม่สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้ แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้น 1×10^{-4} M พบว่าสามารถยับยั้งการหดตัวได้มากขึ้นจากเดิมเล็กน้อยโดยสามารถยับยั้งได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติอีกด้วย แต่กลับพบว่าความสามารถในการยับยั้งการหดตัวของ CU-18-12 นั้นต่ำที่สุดกว่าสารสังเคราะห์ตัวอื่นๆ ซึ่งผลดังกล่าวต่างจากผลต่อการกระตุ้นด้วยสารกระตุ้นตัวอื่นๆ เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบตามความแรงของสารสังเคราะห์แต่ละตัวจะสามารถลำดับได้ดังนี้คือ CU-18-09 > CU-18-07 > CU-18-12 ซึ่งต่างกับผลต่อการกระตุ้นด้วย NE, 5-HT และ BaCl₂



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



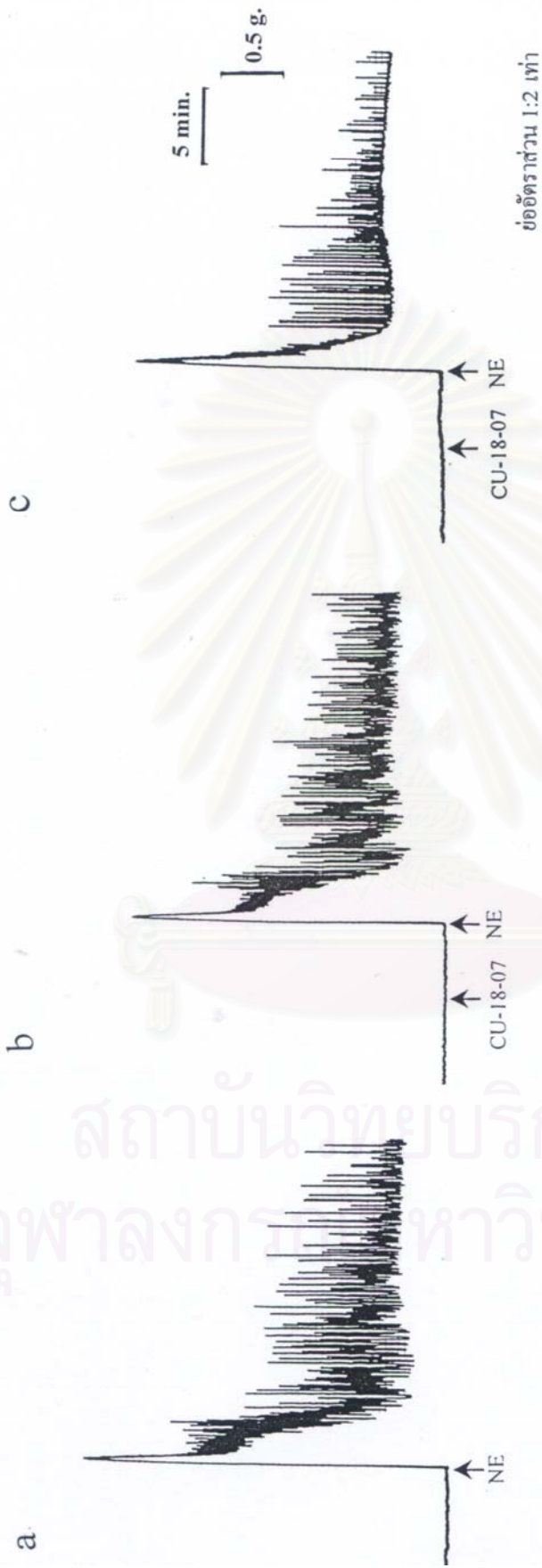
รูปที่ 14 การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NE 1×10^{-5} M
 a. ก่อนได้รับ DMSO
 b. หลังได้รับ DMSO 0.06% v/v



รูปที่ 15 กราฟแสดงผลของ DMSO ขนาด 0.06% v/v ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบใน
ท่อนำสุจิที่แยกจากหนุขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $NE\ 1 \times 10^{-5} M$
(n=6)

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

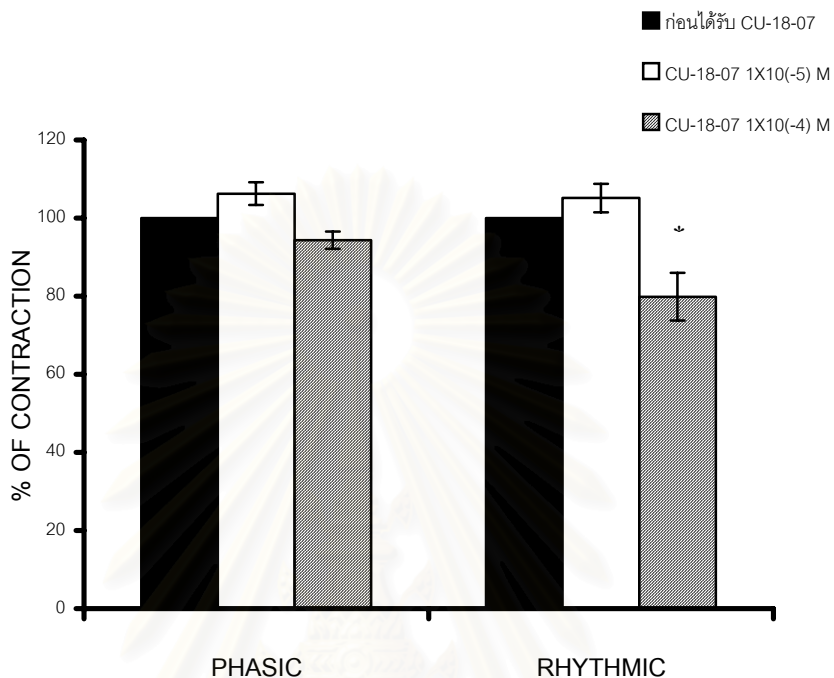


รูปที่ 16. การหาค่าของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NE 1×10^{-5} M

a. ก่อนได้รับ CU-18-07

b. หลังได้รับ CU-18-07 1×10^{-5} M

c. หลังได้รับ CU-18-07 1×10^{-4} M

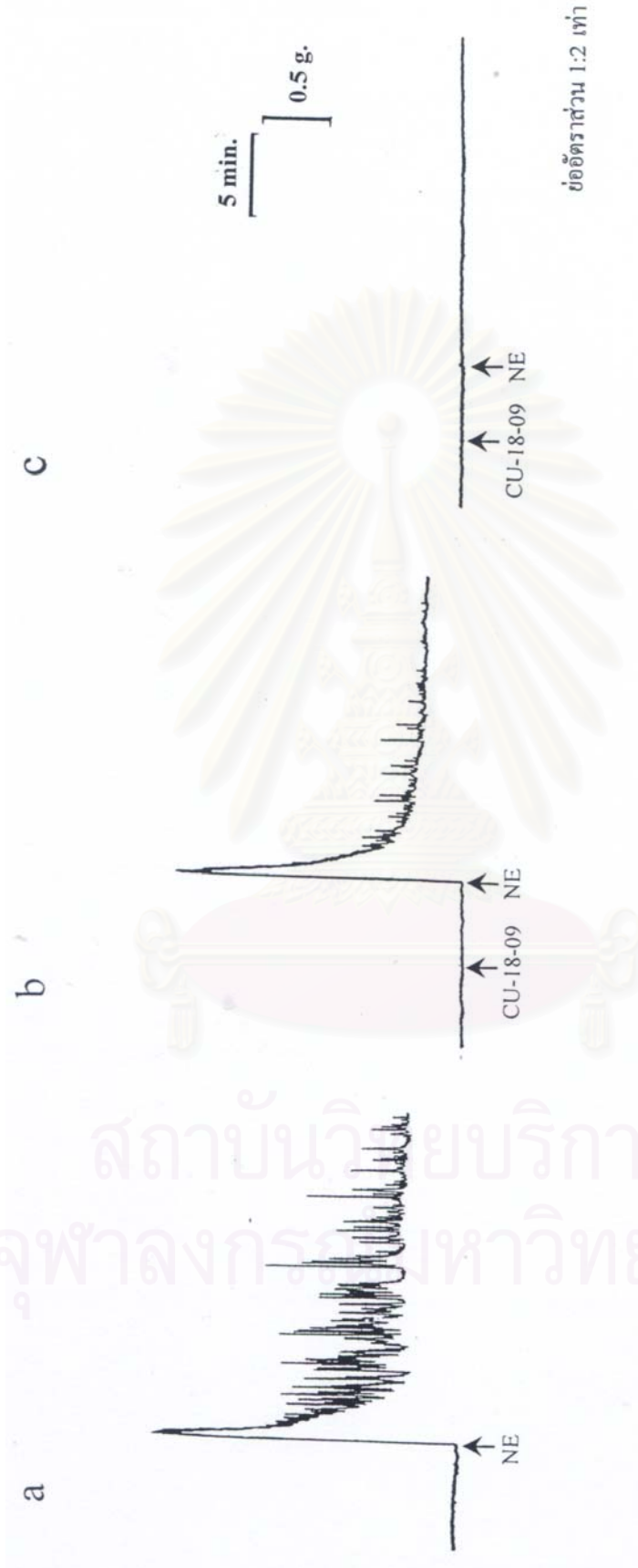


รูปที่ 17 กราฟแสดงผลของ CU-18-07 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{M}$ และ $1 \times 10^{-4} \text{M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $\text{NE } 1 \times 10^{-5} \text{M}$ (n=6)

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มก่อนได้รับสารทดสอบ ($p < 0.05$)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

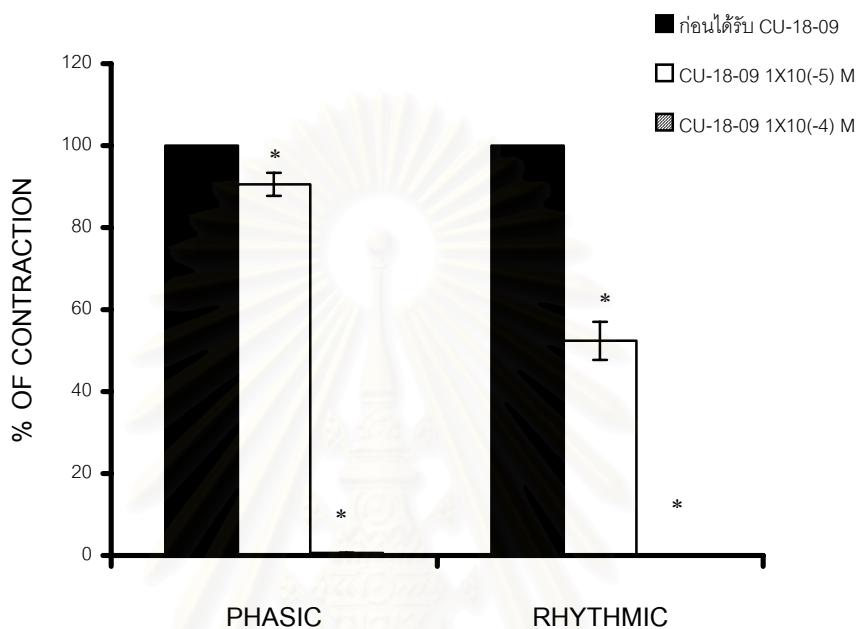


รูปที่ 18 การหาค่าของกล้ามเนื้อเรียบในท่อหลอดสุจิที่แยกจากท่อนิวสาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NE 1×10^{-5} M

a. ก่อนได้รับ CU-18-09

b. หลังได้รับ CU-18-09 1×10^{-5} M

c. หลังได้รับ CU-18-09 1×10^{-4} M

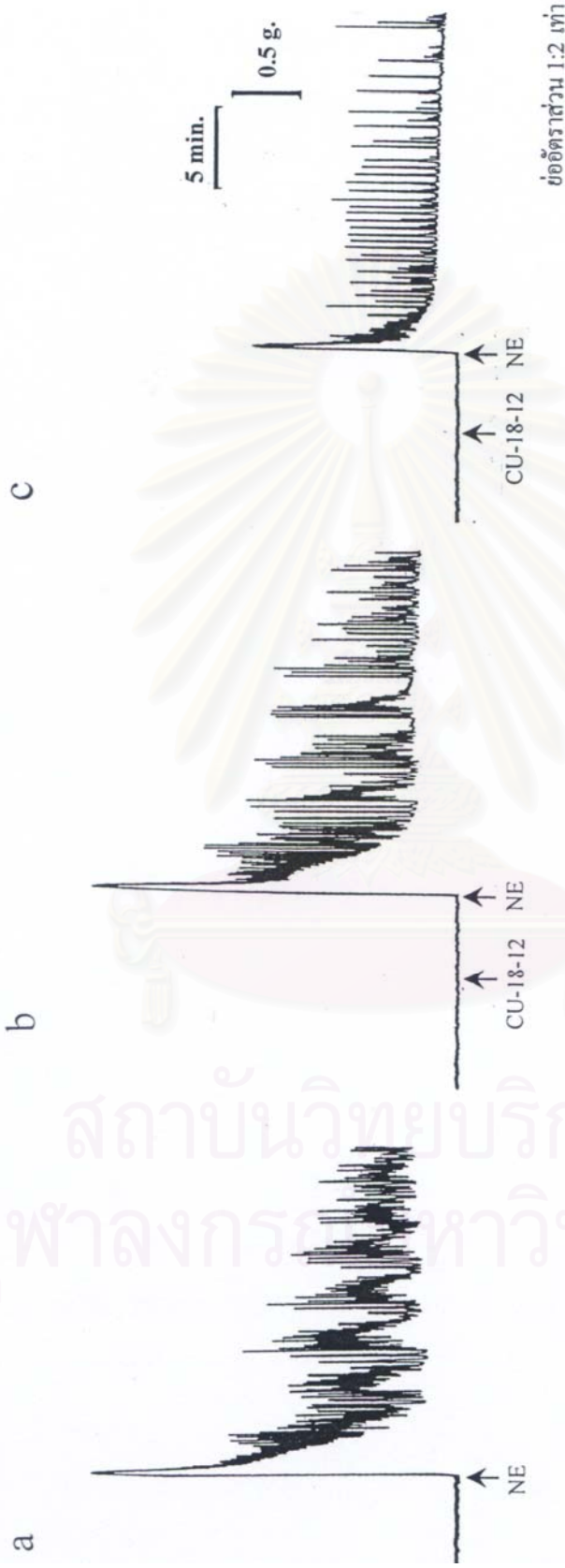


รูปที่ 19 กราฟแสดงผลของ CU-18-09 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{M}$ และ $1 \times 10^{-4} \text{M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NE $1 \times 10^{-5} \text{M}$ (n=6)

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

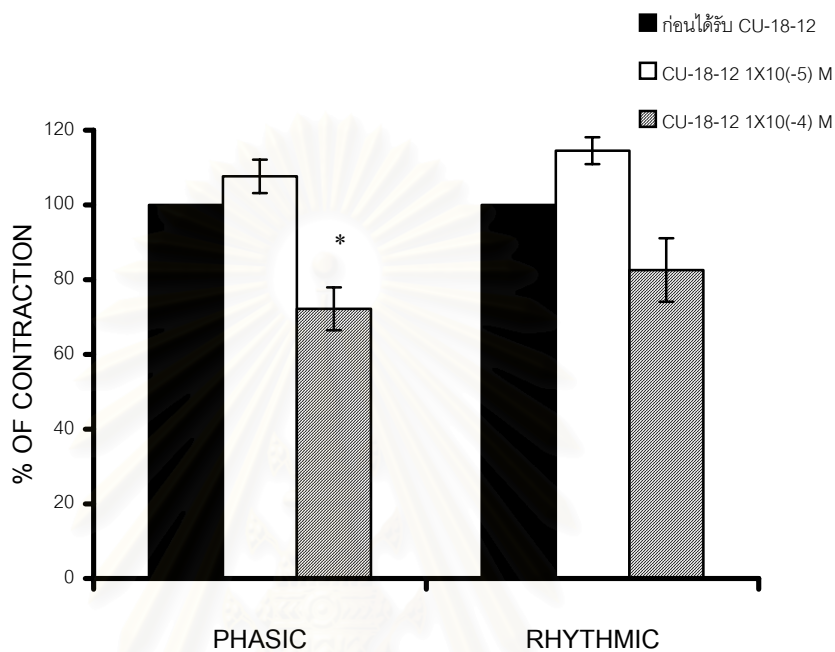
* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มก่อนได้รับสารทดสอบ ($p < 0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 20 การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิตที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NE 1×10^{-5} M

- a. ก่อนได้รับ CU-18-12
- b. หลังได้รับ CU-18-12 1×10^{-5} M
- c. หลังได้รับ CU-18-12 1×10^{-4} M

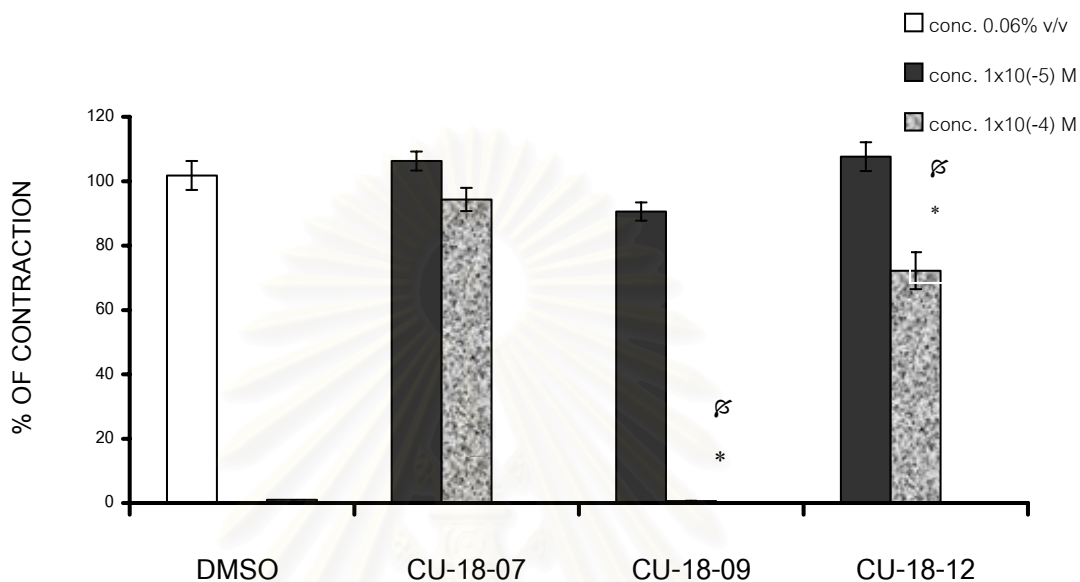


รูปที่ 21 กราฟแสดงผลของ CU-18-12 ขนาด 1×10^{-5} M และ 1×10^{-4} M ต่อการหดตัวของ กล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NE 1×10^{-5} M (n=6)

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มก่อนได้รับสารทดสอบ ($p < 0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



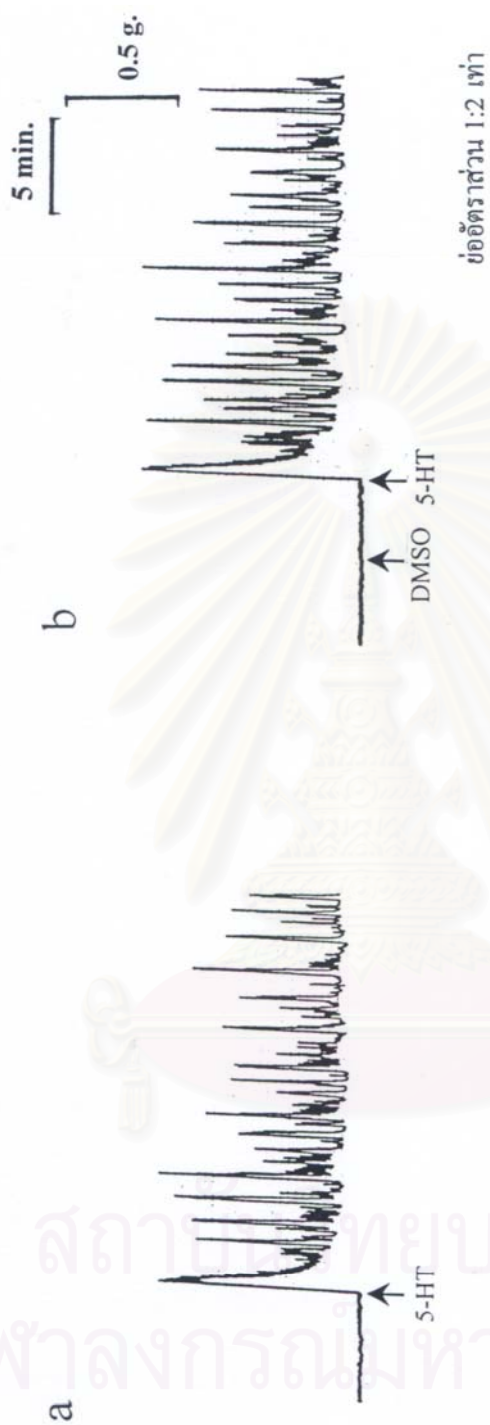
รูปที่ 22 กราฟแสดงผลของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{M}$ และ $1 \times 10^{-4} \text{M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NE $1 \times 10^{-5} \text{M}$ (n=6)

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม ($p < 0.05$)

φ แสดงถึงความแตกต่างระหว่างความเข้มข้น $1 \times 10^{-5} \text{M}$ กับ $1 \times 10^{-4} \text{M}$ ($p < 0.05$)

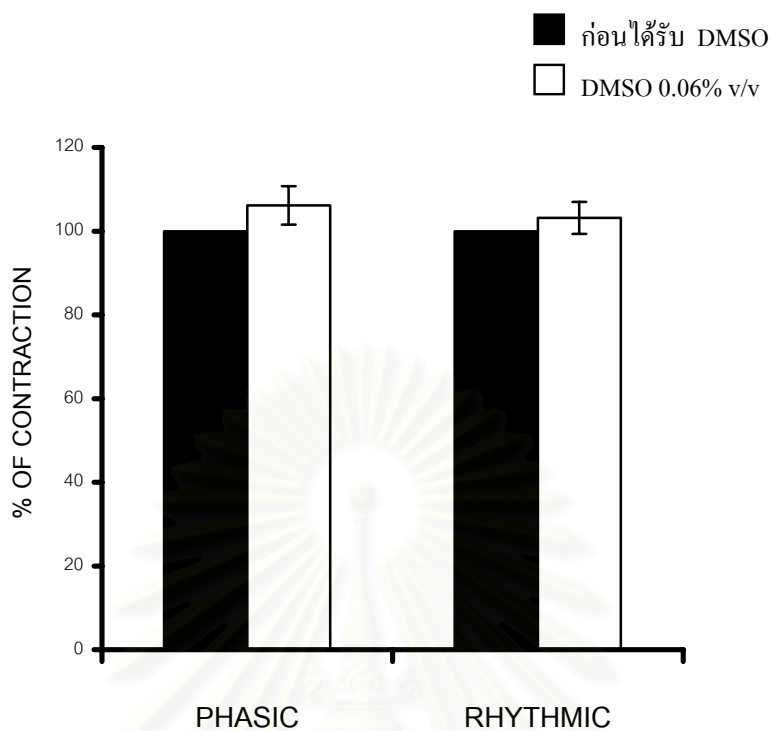
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 23 การหาค่าของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย 5-HT 1×10^{-5} M

a. ก่อนได้รับ DMSO

b. หลังได้รับ DMSO 0.06% v/v



รูปที่ 24 กราฟแสดงผลของ DMSO ขนาด 0.06% v/v ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบใน
ท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย 5-HT $1 \times 10^{-5} \text{M}$
(n=6)

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

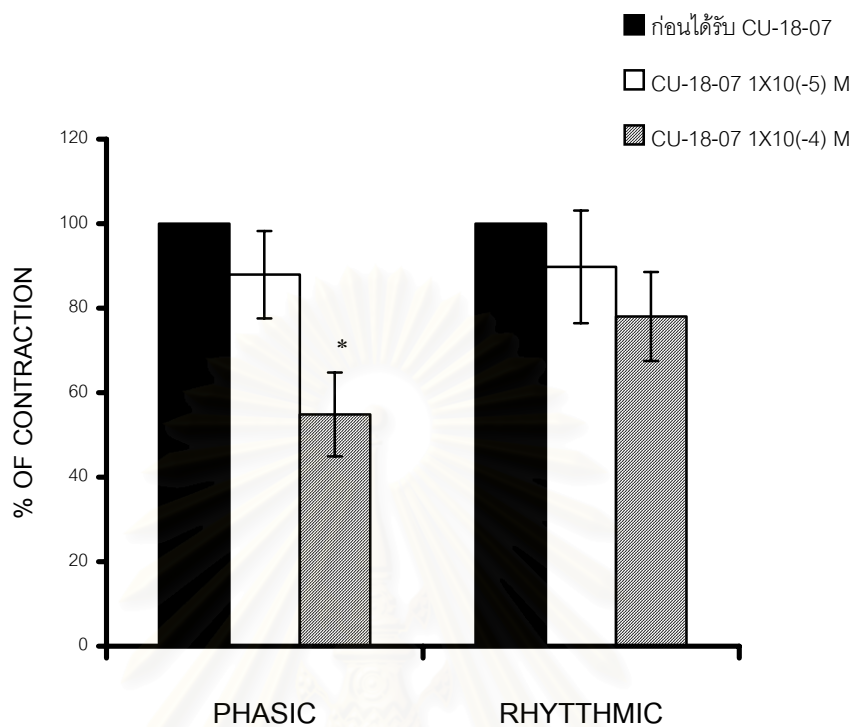


รูปที่ 25 การหาค่าของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย 5-HT 1×10^{-5} M

a. ก่อนได้รับ CU-18-07

b. หลังได้รับ CU-18-07 1×10^{-5} M

c. หลังได้รับ CU-18-07 1×10^{-4} M

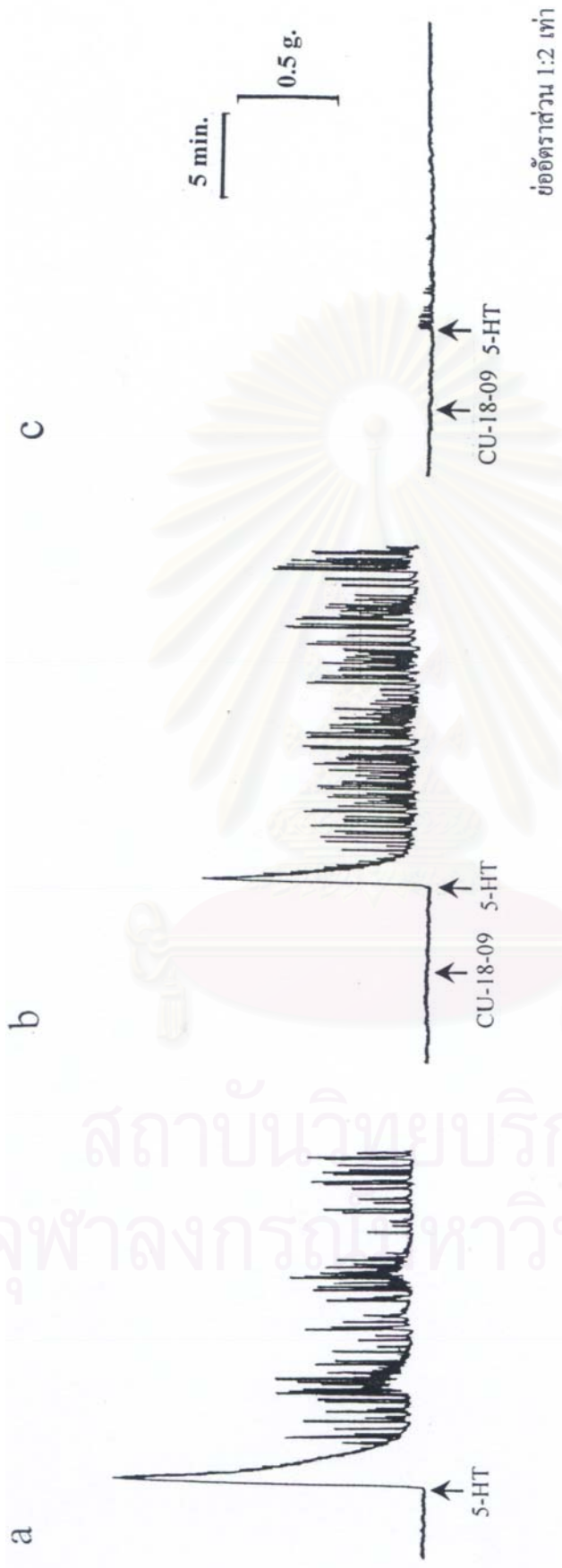


รูปที่ 26 กราฟแสดงผลของ CU-18-07 ขนาด 1×10^{-5} M และ 1×10^{-4} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย 5-HT 1×10^{-5} M (n=6)

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มก่อนได้รับสารทดสอบ ($p < 0.05$)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

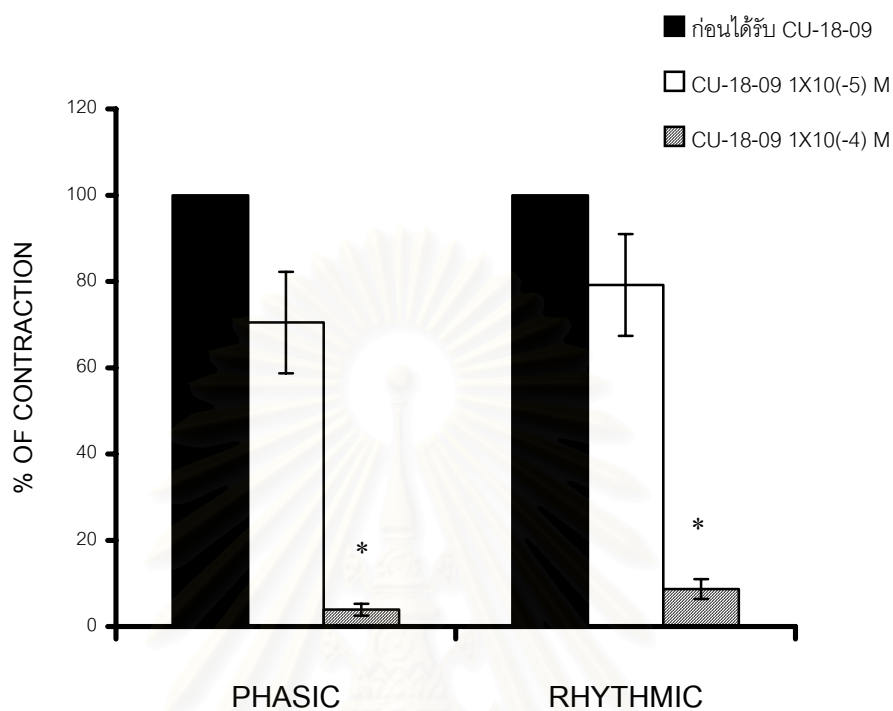


รูปที่ 27 การหาค่าของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย 5-HT 1×10^{-5} M

a. ก่อนได้รับ CU-18-09

b. หลังได้รับ CU-18-09 1×10^{-5} M

c. หลังได้รับ CU-18-09 1×10^{-4} M

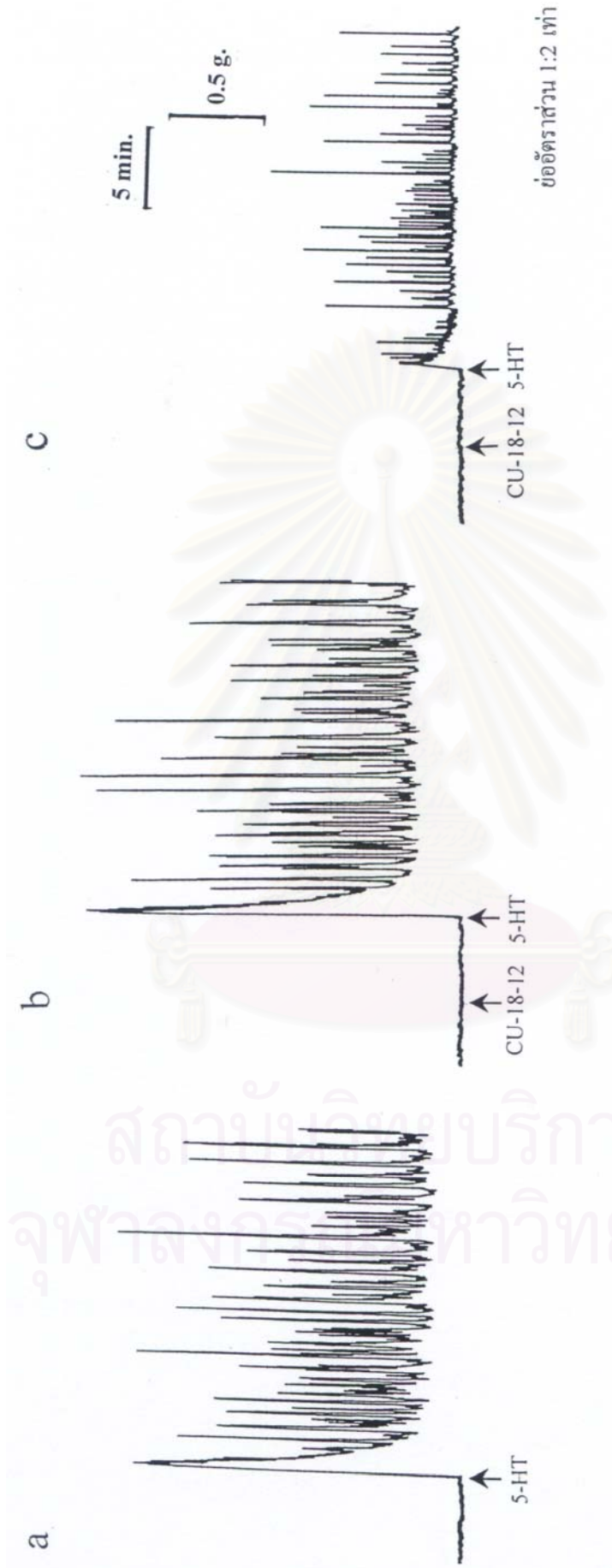


รูปที่ 28 กราฟแสดงผลของ CU-18-09 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{M}$ และ $1 \times 10^{-4} \text{M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย 5-HT $1 \times 10^{-5} \text{M}$ (n=6)

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

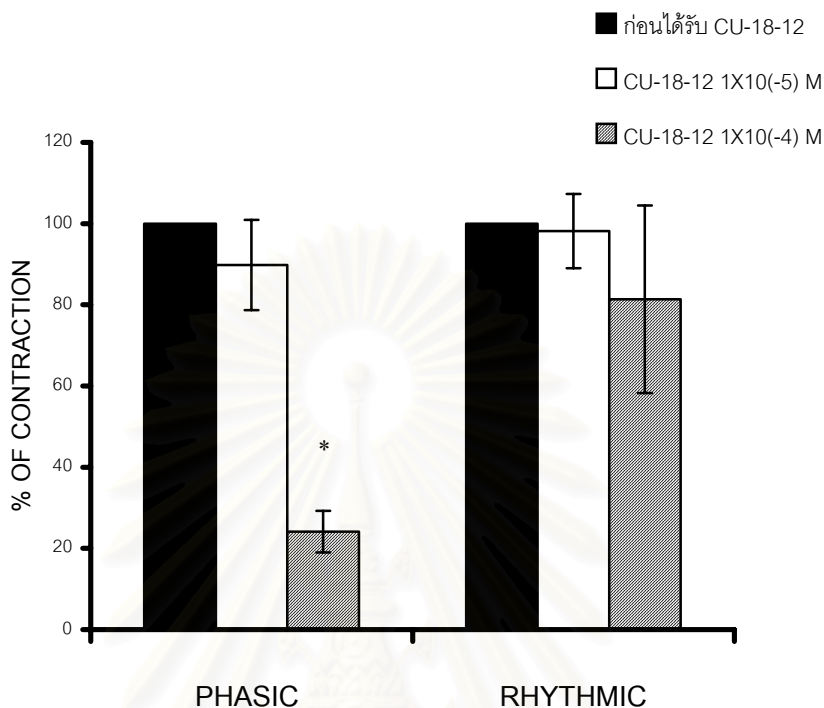
* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มก่อนได้รับสารทดสอบ ($p < 0.05$)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 29 การหาค่าของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย 5-HT 1×10^{-5} M

- a. ก่อนได้รับ CU-18-12
- b. หลังได้รับ CU-18-12 1×10^{-5} M
- c. หลังได้รับ CU-18-12 1×10^{-4} M

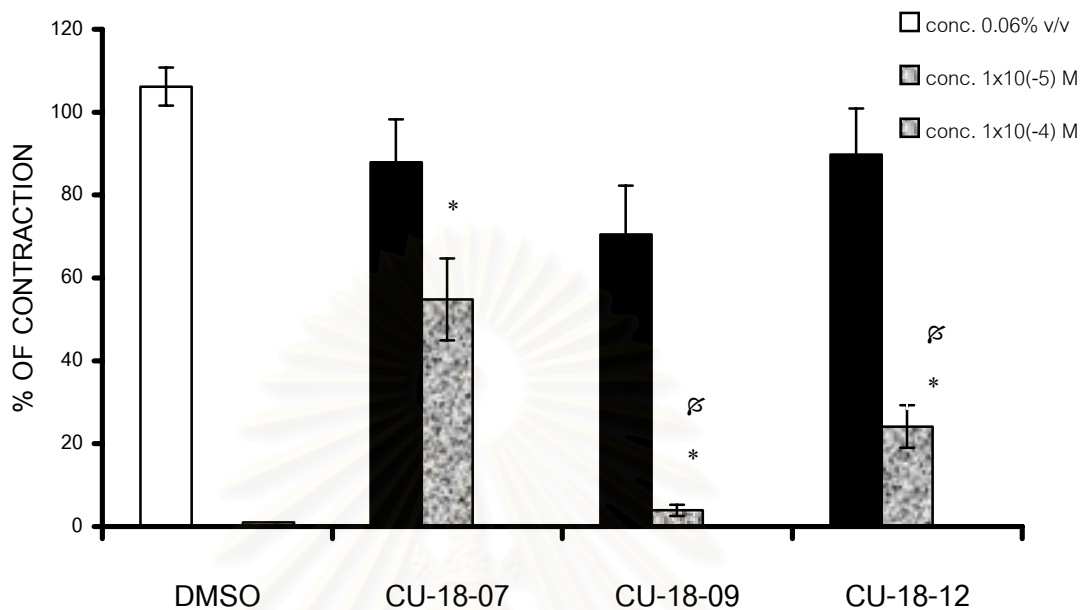


รูปที่ 30 กราฟแสดงผลของ CU-18-12 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{M}$ และ $1 \times 10^{-4} \text{M}$ ต่อการหดตัวของ กล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย 5-HT $1 \times 10^{-5} \text{M}$ (n=6)

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มก่อนได้รับสารทดสอบ ($p < 0.05$)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



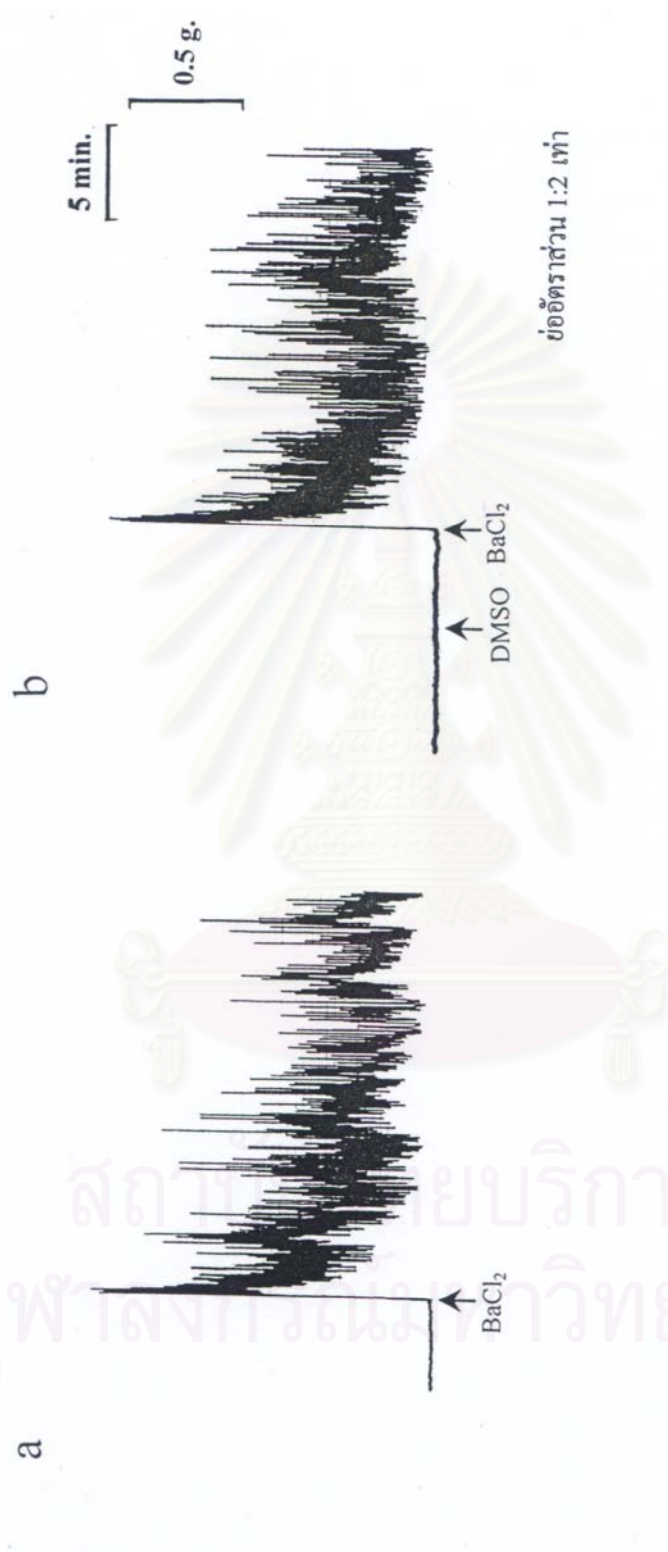
รูปที่ 31 กราฟแสดงผลของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{M}$ และ $1 \times 10^{-4} \text{M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย 5-HT $1 \times 10^{-5} \text{M}$ (n=6)

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย ± ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม ($p < 0.05$)

ϕ แสดงถึงความแตกต่างระหว่างความเข้มข้น $1 \times 10^{-5} \text{M}$ กับ $1 \times 10^{-4} \text{M}$ ($p < 0.05$)

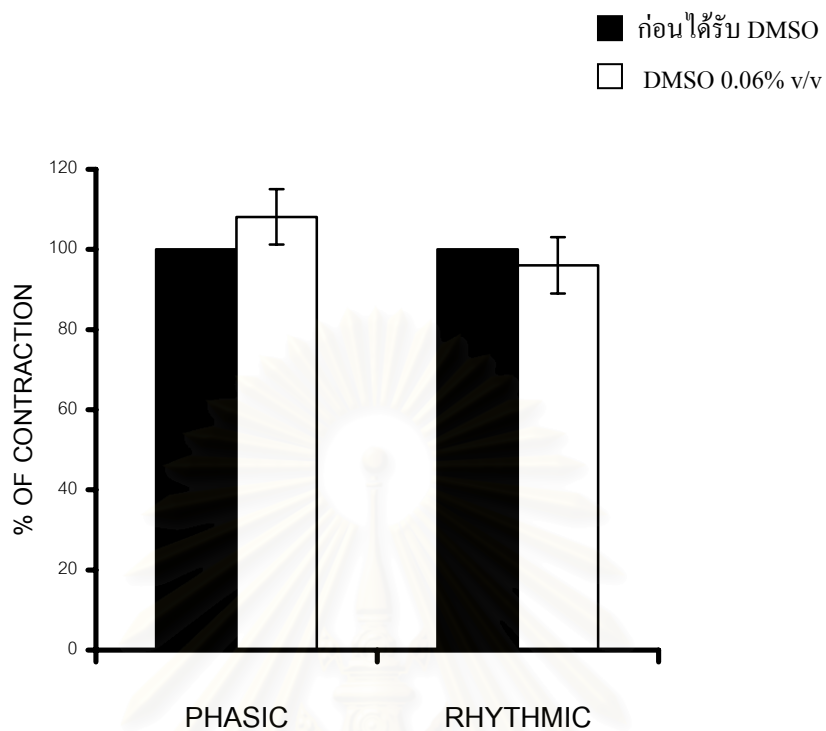
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 32 การหาค่าของกลั่นเนื้อเรียบในท่อนำสุจิตที่แยกจากหนูบางส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย BaCl₂ 1x10⁻³ M

a. ก่อนได้รับ DMSO

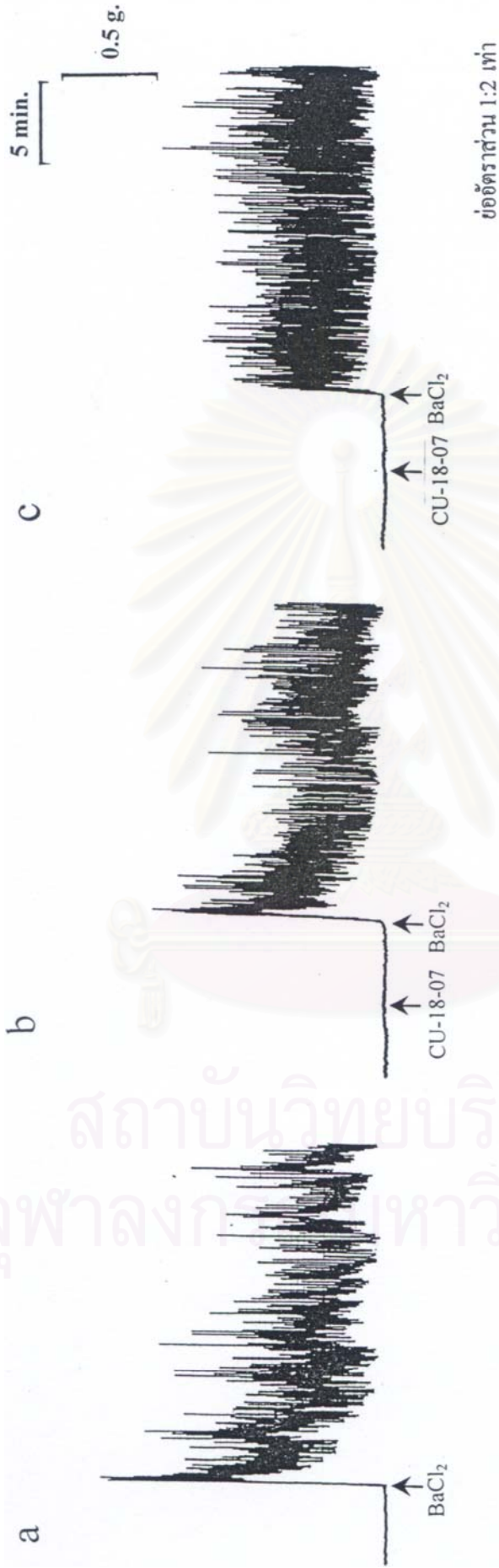
b. หลังได้รับ DMSO 0.06% v/v



รูปที่ 33 กราฟแสดงผลของ DMSO ขนาด 0.06% v/v ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบใน
 ท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย BaCl_2 $1 \times 10^{-3} \text{M}$
 (n=6)

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

สถาบันวิทยบริการ
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

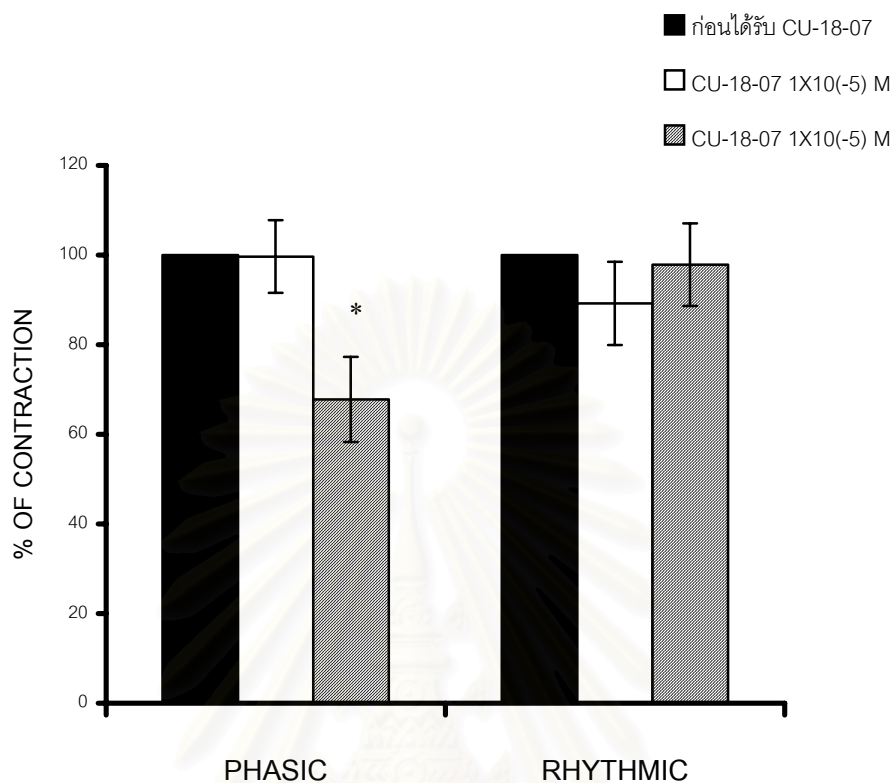


รูปที่ 34 การหาค่าของกลัมนีโอเรียบในท่อนำสุจิตที่แยกจากหนูขาวส่วน epidymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย BaCl₂ 1x10⁻³ M

a.ก่อนได้รับ CU-18-07

b.หลังได้รับ CU-18-07 1x10⁻⁵ M

c.หลังได้รับ CU-18-07 1x10⁻⁴ M

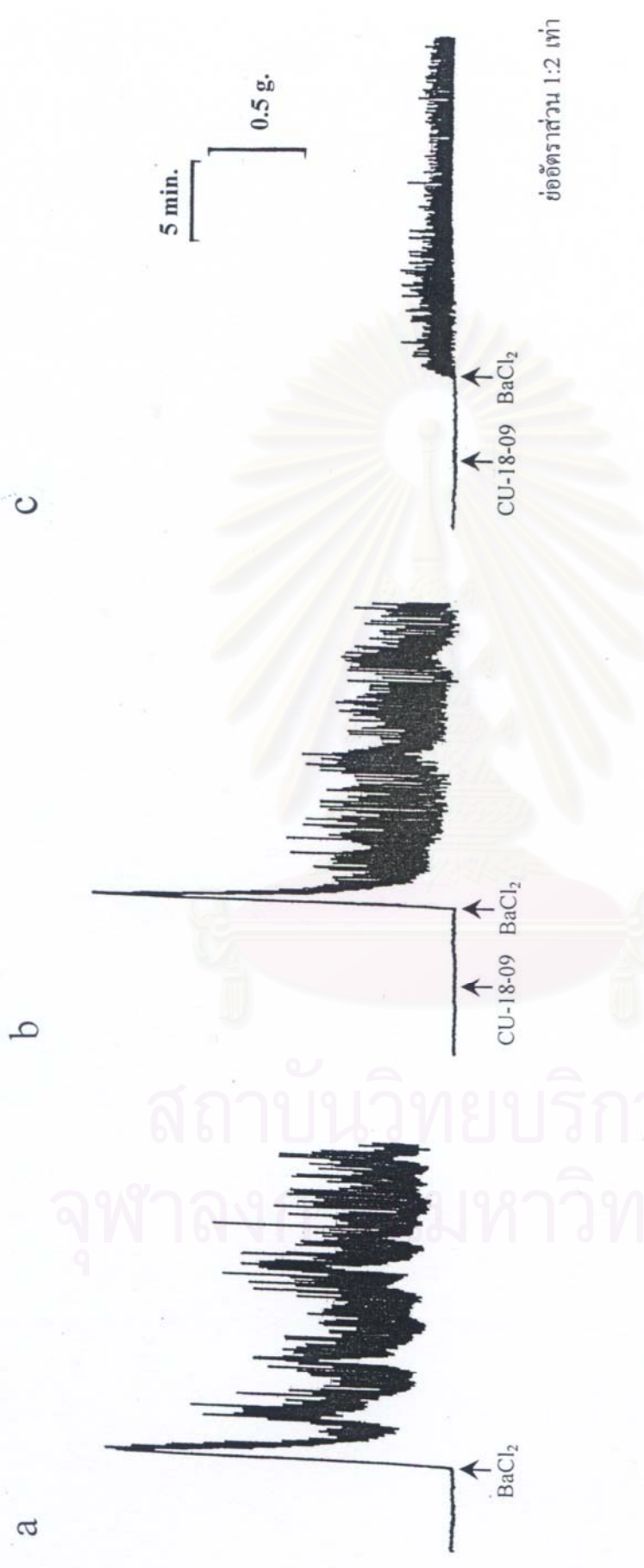


รูปที่ 35 กราฟแสดงผลของ CU-18-07 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{M}$ และ $1 \times 10^{-4} \text{M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย BaCl_2 $1 \times 10^{-3} \text{M}$ ($n=6$)

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

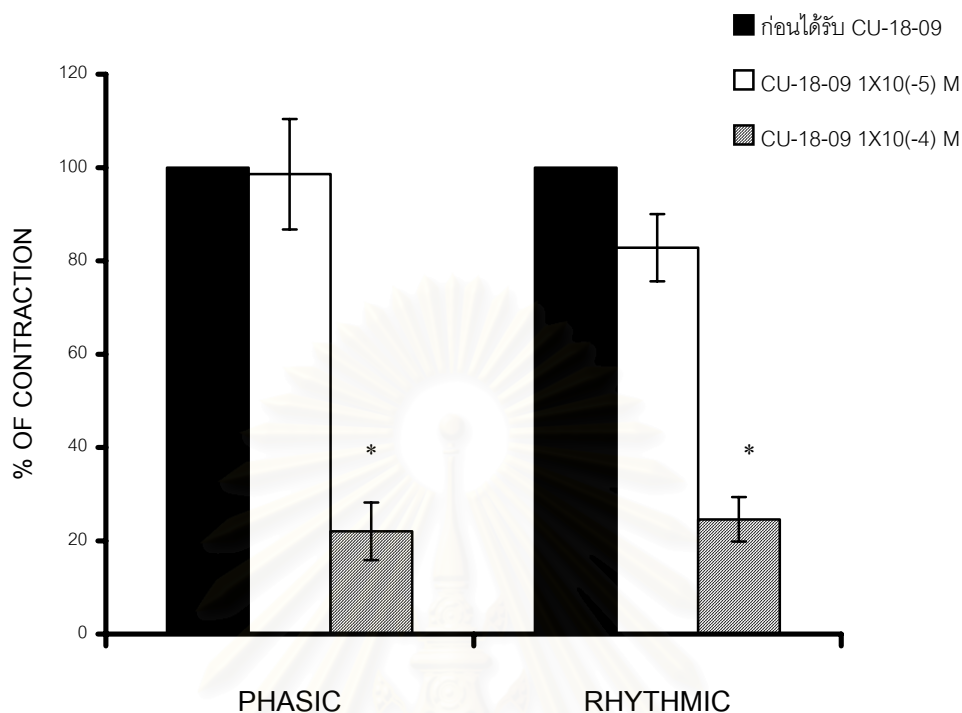
* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มก่อนได้รับสารทดสอบ ($p < 0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 36 การหาค่าของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย BaCl_2 1×10^{-3} M

- a. ก่อนได้รับ CU-18-09
- b. หลังได้รับ CU-18-09 1×10^{-5} M
- c. หลังได้รับ CU-18-09 1×10^{-4} M

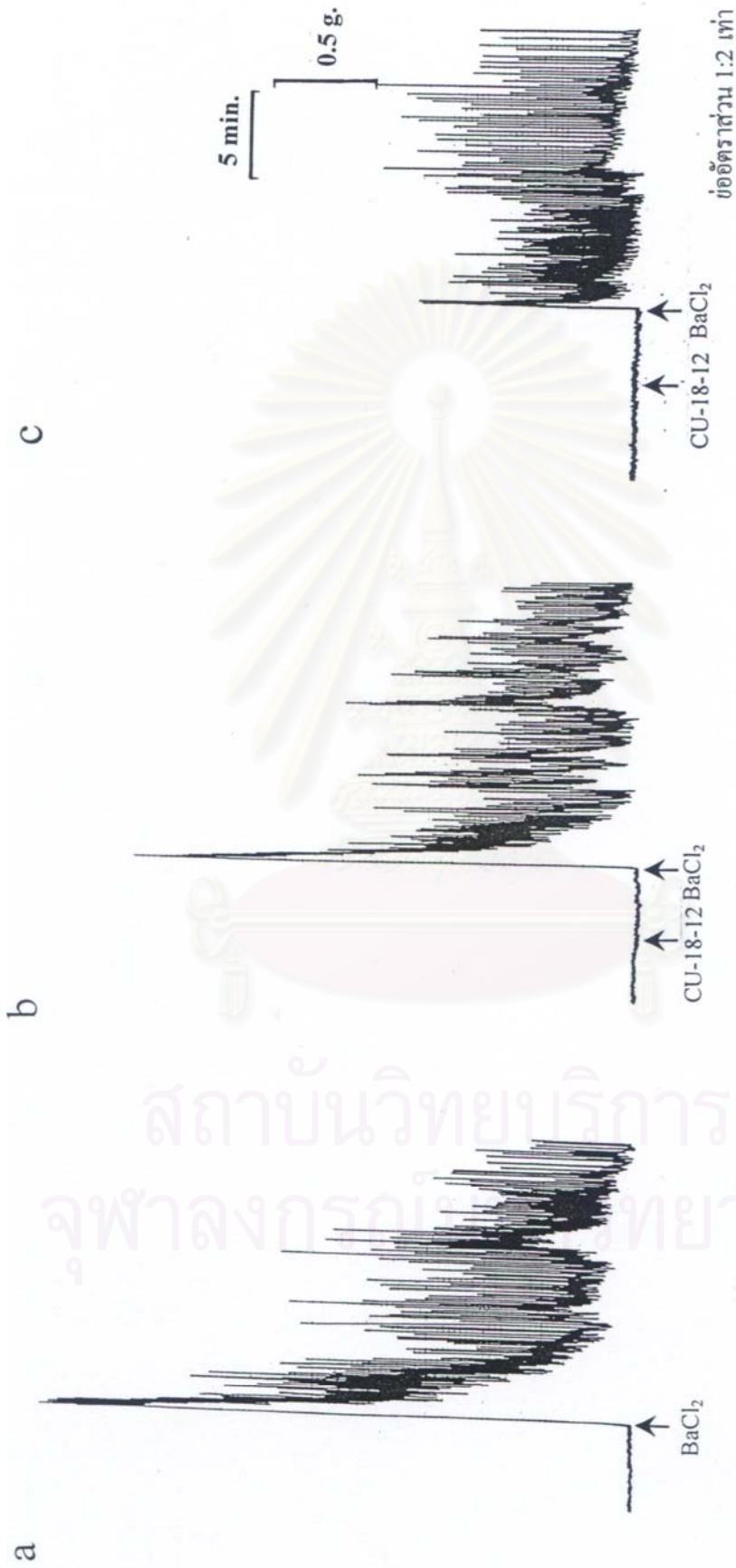


รูปที่ 37 กราฟแสดงผลของ CU-18-09 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{M}$ และ $1 \times 10^{-4} \text{M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย BaCl_2 $1 \times 10^{-3} \text{M}$ ($n=6$)

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

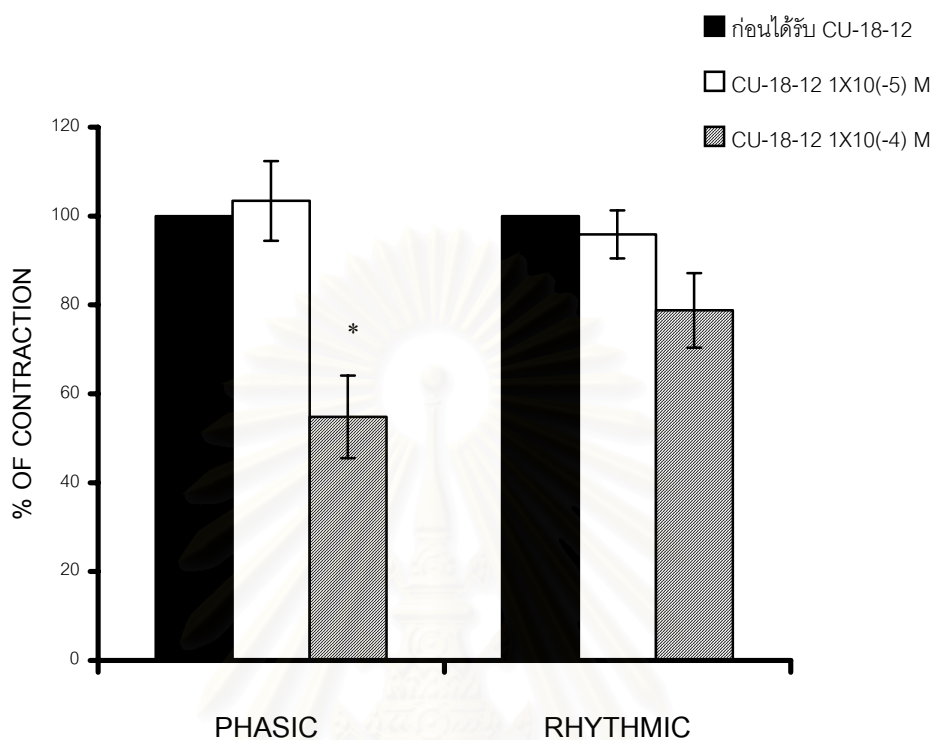
* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มก่อนได้รับสารทดสอบ ($p < 0.05$)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 38 การหาค่าของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $BaCl_2$ 1×10^{-3} M

- a. ก่อนได้รับ CU-18-12
- b. หลังได้รับ CU-18-12 1×10^{-5} M
- c. หลังได้รับ CU-18-12 1×10^{-4} M

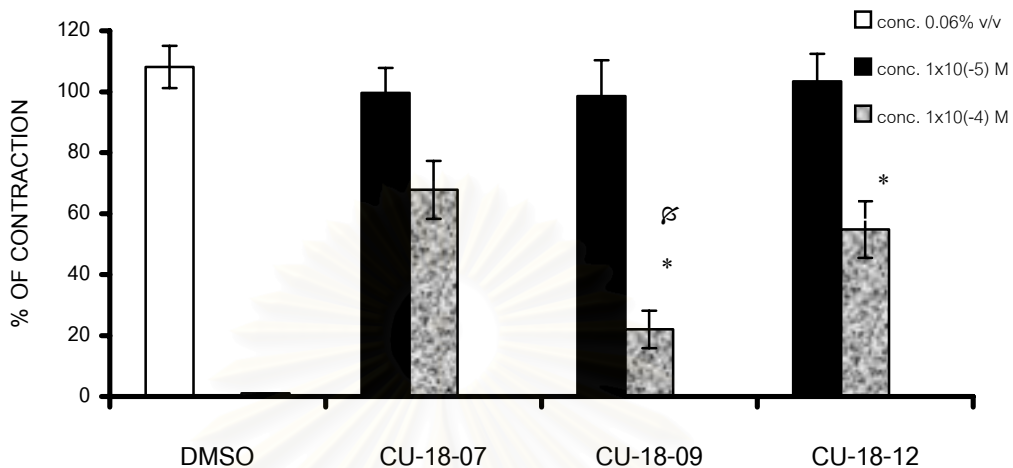


รูปที่ 39 กราฟแสดงผลของ CU-18-12 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{M}$ และ $1 \times 10^{-4} \text{M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $\text{BaCl}_2 1 \times 10^{-3} \text{M}$ ($n=6$)

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มก่อนได้รับสารทดสอบ ($p < 0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



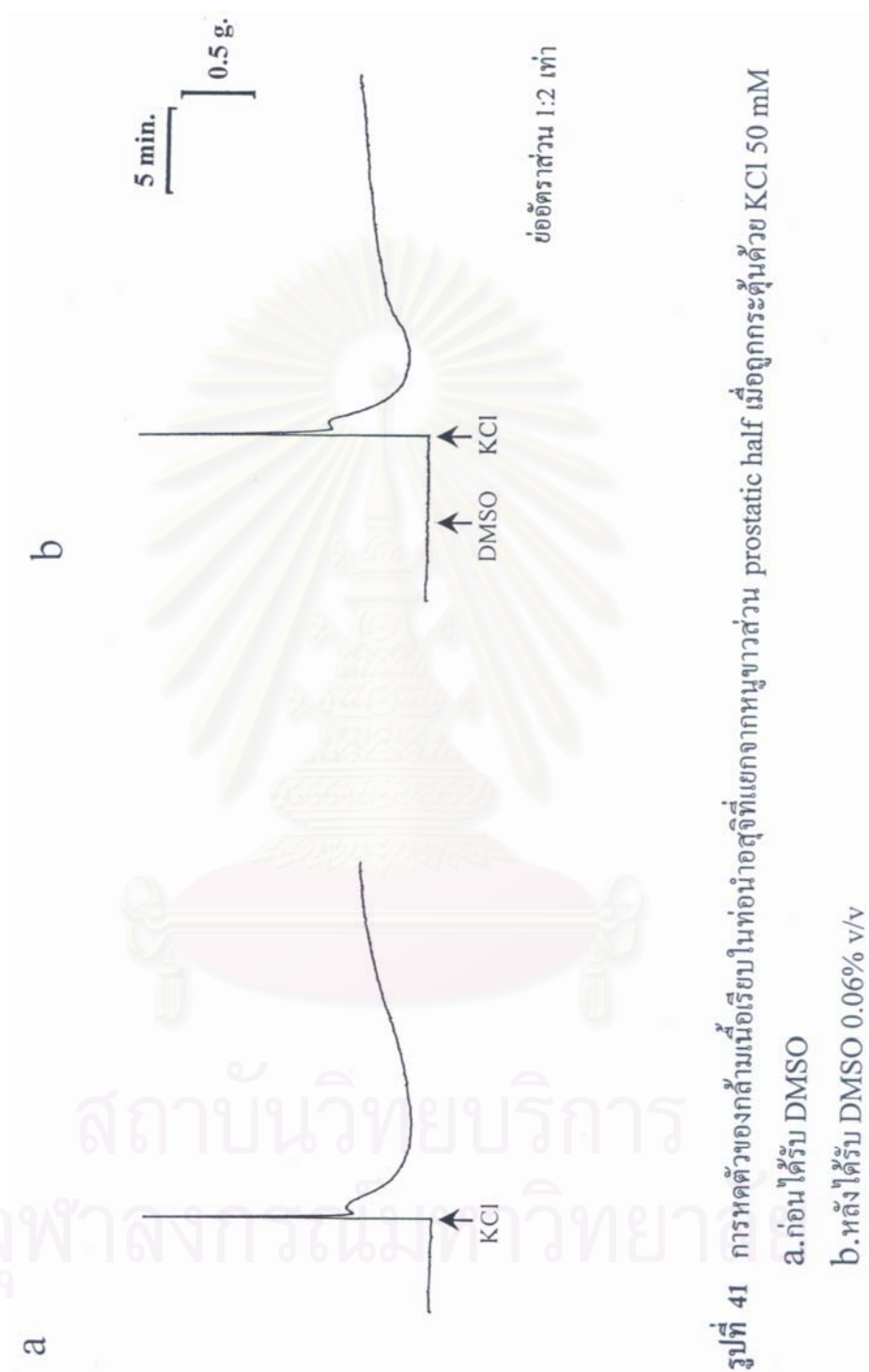
รูปที่ 40 กราฟแสดงผลของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{M}$ และ $1 \times 10^{-4} \text{M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย BaCl_2 $1 \times 10^{-3} \text{M}$ (n=6)

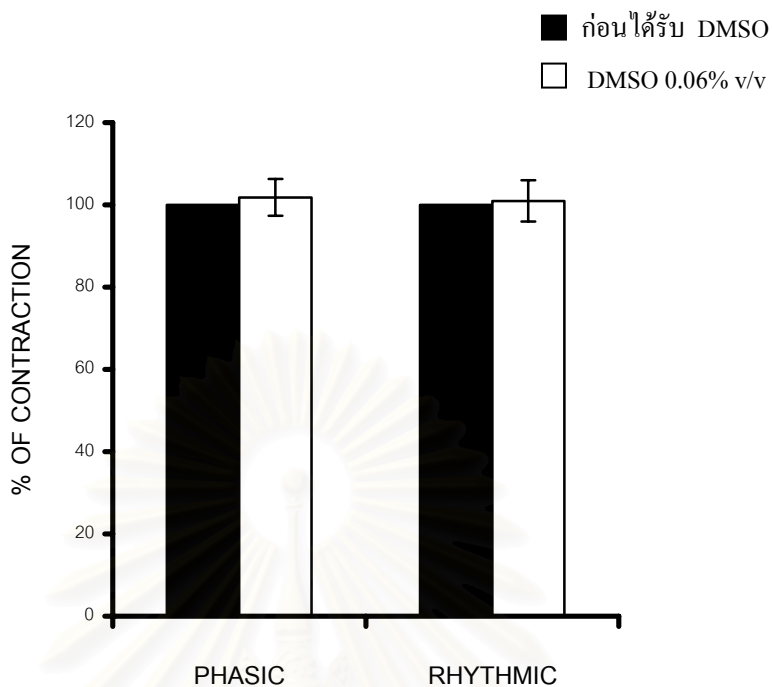
กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม ($p < 0.05$)

φ แสดงถึงความแตกต่างระหว่างความเข้มข้น $1 \times 10^{-5} \text{M}$ กับ $1 \times 10^{-4} \text{M}$ ($p < 0.05$)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย





รูปที่ 42 กราฟแสดงผลของ DMSO ขนาด 0.06% v/v ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อ นำอสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน prostatic half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 50 mM (n=6)

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย ± ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

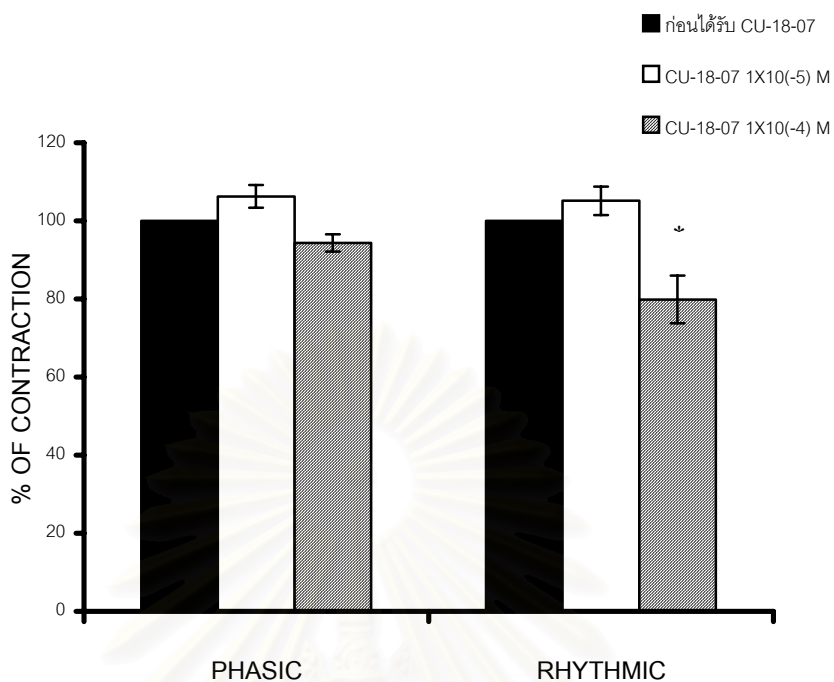


รูปที่ 43 การหาค่าของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน prostatic half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 50 mM

a. ก่อนได้รับ CU-18-07

b. หลังได้รับ CU-18-07 1×10^{-5} M

c. หลังได้รับ CU-18-07 1×10^{-4} M



รูปที่ 44 กราฟแสดงผลของ CU-18-07 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{M}$ และ $1 \times 10^{-4} \text{M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน prostatic half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 50 mM (n=6)

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มก่อนได้รับสารทดสอบ ($p < 0.05$)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

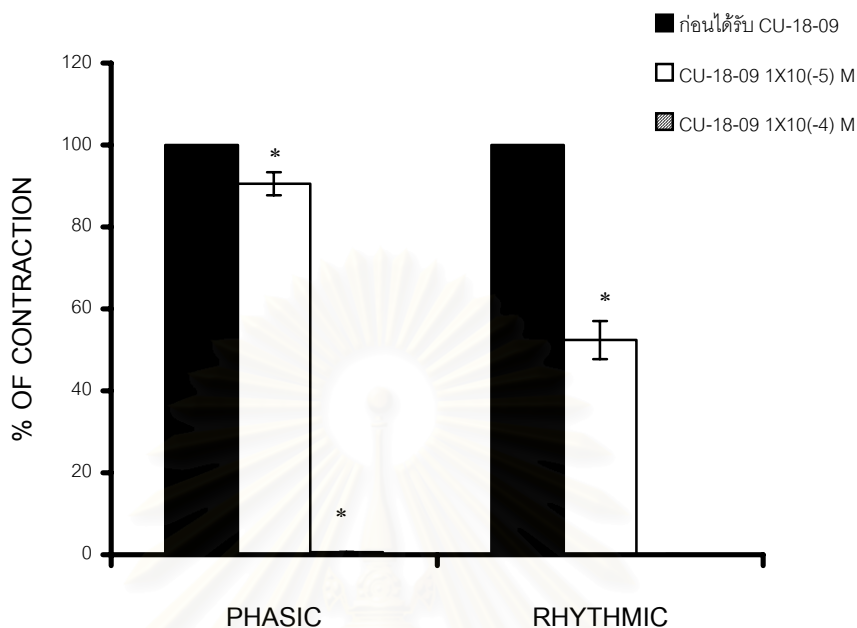


รูปที่ 45 การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน prostatic half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 50 mM

a. ก่อนได้รับ CU-18-09

b. หลังได้รับ CU-18-09 1×10^{-5} M

c. หลังได้รับ CU-18-09 1×10^{-4} M



รูปที่ 46 กราฟแสดงผลของ CU-18-09 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{M}$ และ $1 \times 10^{-4} \text{M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน prostatic half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 50 mM (n=6)

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มก่อนได้รับสารทดสอบ ($p < 0.05$)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

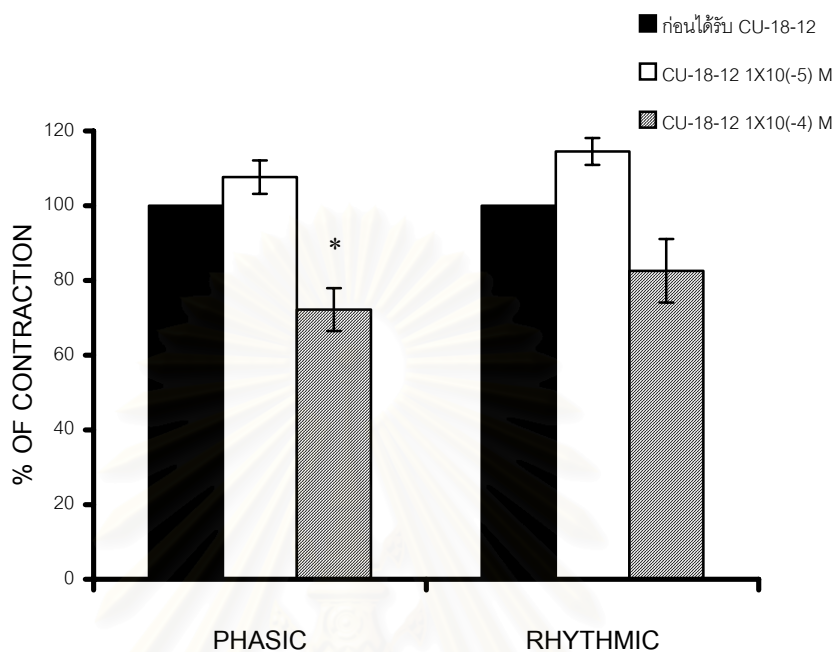


รูปที่ 47 การหาคิวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อหลอดที่แยกจากหนูขาวส่วน prostatic half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 50 mM

a. ก่อนได้รับ CU-18-12

b. หลังได้รับ CU-18-12 1×10^{-5} M

c. หลังได้รับ CU-18-12 1×10^{-4} M

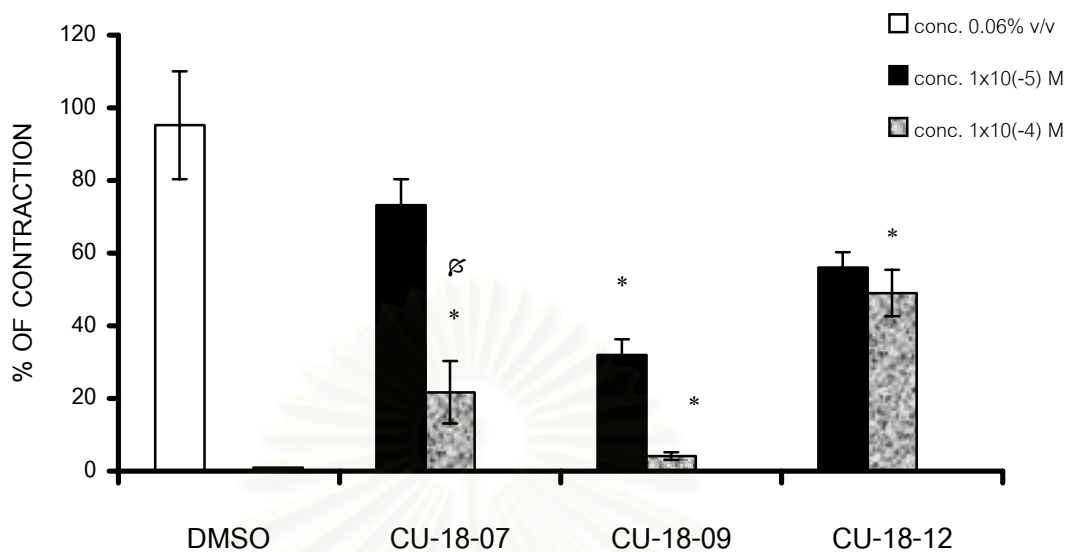


รูปที่ 48 กราฟแสดงผลของ CU-18-12 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{M}$ และ $1 \times 10^{-4} \text{M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน prostatic half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 50 mM (n=6)

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มก่อนได้รับสารทดสอบ ($p < 0.05$)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 49 กราฟแสดงผลของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{M}$ และ $1 \times 10^{-4} \text{M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน prostatic half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 50 mM (n=6)

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

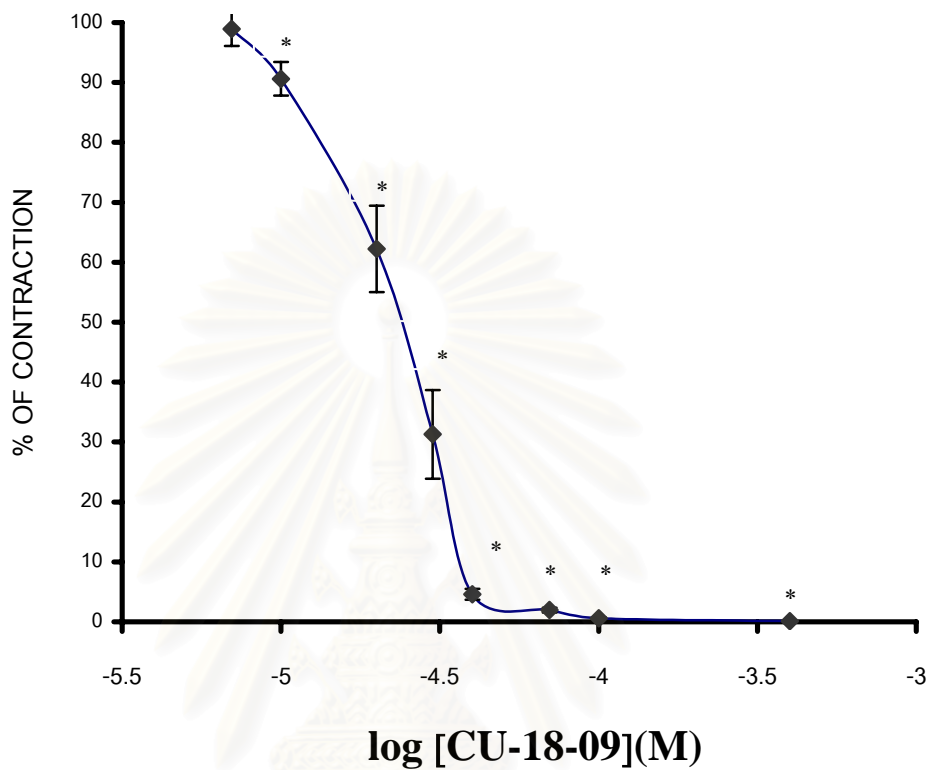
* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม ($p < 0.05$)

§ แสดงถึงความแตกต่างระหว่างความเข้มข้น $1 \times 10^{-5} \text{M}$ กับ $1 \times 10^{-4} \text{M}$ ($p < 0.05$)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. Dose-response relationship ของ CU-18-09 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ ในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวเมื่อถูกกระตุ้นด้วย NE $1 \times 10^{-5} \text{M}$ แบบ non cumulative dose

จากผลการศึกษาในข้อ 1 ซึ่งพบว่า CU-18-09 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิเมื่อถูกกระตุ้นด้วยสารกระตุ้นต่างๆ (กราฟในรูปที่ 22, 31, 40 และ 49) ดังนั้นจึงได้นำ CU-18-09 มาทำการศึกษาต่อเพื่อแสดง dose-response relationship ให้เห็นชัดเจนยิ่งขึ้นโดยใช้ความเข้มข้น $7 \times 10^{-6} \text{M}$, $1 \times 10^{-5} \text{M}$, $2 \times 10^{-5} \text{M}$, $3 \times 10^{-5} \text{M}$, $4 \times 10^{-5} \text{M}$, $7 \times 10^{-5} \text{M}$, $1 \times 10^{-4} \text{M}$ และ $4 \times 10^{-4} \text{M}$ โดยศึกษาผลต่อการหดตัวส่วน phasic contraction ของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NE $1 \times 10^{-5} \text{M}$ แบบ non cumulative dose พบว่าความสามารถในการยับยั้งการหดตัวส่วน phasic contraction ของกล้ามเนื้อเรียบที่ถูกกระตุ้นด้วย NE $1 \times 10^{-5} \text{M}$ ของ CU-18-09 ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นโดยสามารถยับยั้งการหดตัวได้เพิ่มมากขึ้นตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น CU-18-09 ในขนาดความเข้มข้น $7 \times 10^{-6} \text{M}$ ไม่สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้ซึ่งมีแรงหดตัวที่เหลืออยู่จากก่อนได้รับสารเฉลี่ย ($n=6$) คิดเป็น $98.92 \pm 2.81\%$ ขณะที่ความเข้มข้นตั้งแต่ $1 \times 10^{-5} \text{M}$ เป็นต้นไปสามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้มากขึ้นตามลำดับอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งเมื่อเพิ่มความเข้มข้นจนกระทั่งถึง $4 \times 10^{-5} \text{M}$ พบว่าสามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้อย่างรุนแรงจนกระทั่งเห็นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบเกิดขึ้นน้อยมาก และที่ความเข้มข้นสูงสุดคือ $4 \times 10^{-4} \text{M}$ สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้เกือบจะสมบูรณ์ แรงหดตัวที่เหลืออยู่เฉลี่ยคิดเป็น $90.56 \pm 2.81\%$, $62.23 \pm 7.22\%$, $31.29 \pm 7.39\%$, $4.61 \pm 0.91\%$, $1.95 \pm 0.39\%$, $0.59 \pm 0.13\%$ และ $0.09 \pm 0.09\%$ ตามลำดับ ดังกราฟในรูปที่ 50 ซึ่งมี IC_{50} (คำนวณจากสมการเชิงเส้น Linear Regression) เท่ากับ $2.5 \times 10^{-5} \text{M}$



รูปที่ 50 กราฟแสดงผลของ CU-18-09 แบบ dose dependent ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ ในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NE 1×10^{-5} M แบบ non cumulative dose (n=6)

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มก่อนได้รับสารทดสอบ ($p < 0.05$)

3. ผลของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ในสภาวะที่ไม่มี Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวเมื่อถูกกระตุ้นด้วยสารกระตุ้นต่างๆ ได้แก่ NE, 5-HT และ KCl

3.1 ผลของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ในสภาวะที่ไม่มี Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวเมื่อถูกกระตุ้นด้วย $NE\ 1 \times 10^{-5}\ M$

เมื่อกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิด้วย $NE\ 1 \times 10^{-5}\ M$ ใน Ca^{2+} -free Krebs Henseleit solution กล้ามเนื้อจะเกิดการหดตัวแบบ phasic contraction อย่างชัดเจนและตามด้วย tonic contraction โดย phasic contraction มีการหดตัวและคลายตัวอย่างรวดเร็ว แรงหดตัวที่ลดลงอย่างรวดเร็วจะยังคงมี tone ค้างอยู่เล็กน้อยและจะคงที่อยู่ตลอดระยะเวลาที่ทำการบันทึกผลการทดลองโดยปราศจากลักษณะการหดตัวแบบ rhythmic contraction ที่เหมือนกับการหดตัวใน KHS ดังที่แสดงในรูปที่ 51(a)

ผลของ DMSO 0.06% v/v, CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ขนาด $1 \times 10^{-4}\ M$ ซึ่งให้ก่อน $NE\ 1 \times 10^{-5}\ M$ ใน Ca^{2+} -free Krebs Henseleit solution เป็นเวลา 5 นาที พบว่ากลุ่มที่ได้รับ DMSO ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุมยังคงเกิดการหดตัวแบบ phasic และตามด้วย tonic contraction ซึ่งมีลักษณะที่ไม่แตกต่างจากก่อนได้รับสารทดสอบ ดังที่แสดงในรูปที่ 51(b) ส่วนกลุ่มที่ได้รับ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 พบว่า phasic contraction มีแรงหดตัวลดลงจากก่อนได้รับสารทดสอบโดย CU-18-12 มีแรงหดตัวลดลงมากที่สุดในกลุ่ม ดังที่แสดงในรูปที่ 52, 53 และ 54 จากผลการทดลองพบว่าแรงหดตัวส่วน phasic contraction ที่เหลืออยู่จากก่อนได้รับสารทดสอบของ DMSO และสารสังเคราะห์ทั้ง 3 มีแรงหดตัวเฉลี่ย ($n=6$) คิดเป็น $94.44 \pm 8.86\%$, $79.35 \pm 13.72\%$, $78.96 \pm 13.30\%$ และ $56.95 \pm 13.93\%$ ตามลำดับ ดังกราฟในรูปที่ 55 เมื่อเปรียบเทียบผลของสารสังเคราะห์ทั้ง 3 กับกลุ่มควบคุม (DMSO) พบว่าแรงหดตัวของกลุ่มที่ได้รับสารสังเคราะห์ทั้ง 3 มีแนวโน้มลดลงอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยผลดังกล่าวนี้มีความแตกต่างจากการกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบด้วย NE ใน KHS ซึ่ง CU-18-09 สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้แรงที่สุดและสามารถยับยั้งได้อย่างรุนแรง ในขณะที่ CU-18-12 สามารถยับยั้งแรงหดตัวได้เล็กน้อยและมีความสามารถในการยับยั้งได้ต่ำกว่า CU-18-09 มากแต่เมื่ออยู่ในสภาวะที่ไม่มี Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์กลับพบว่า CU-18-12 มีผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่เกิดขึ้นมากกว่าสารสังเคราะห์ตัวอื่นๆ แม้ว่าแรงหดตัวที่เกิดขึ้นจะลดลงอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติก็ตาม

3.2 ผลของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ในสภาวะที่ไม่มี Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวเมื่อถูกกระตุ้นด้วย 5-HT 1×10^{-5} M

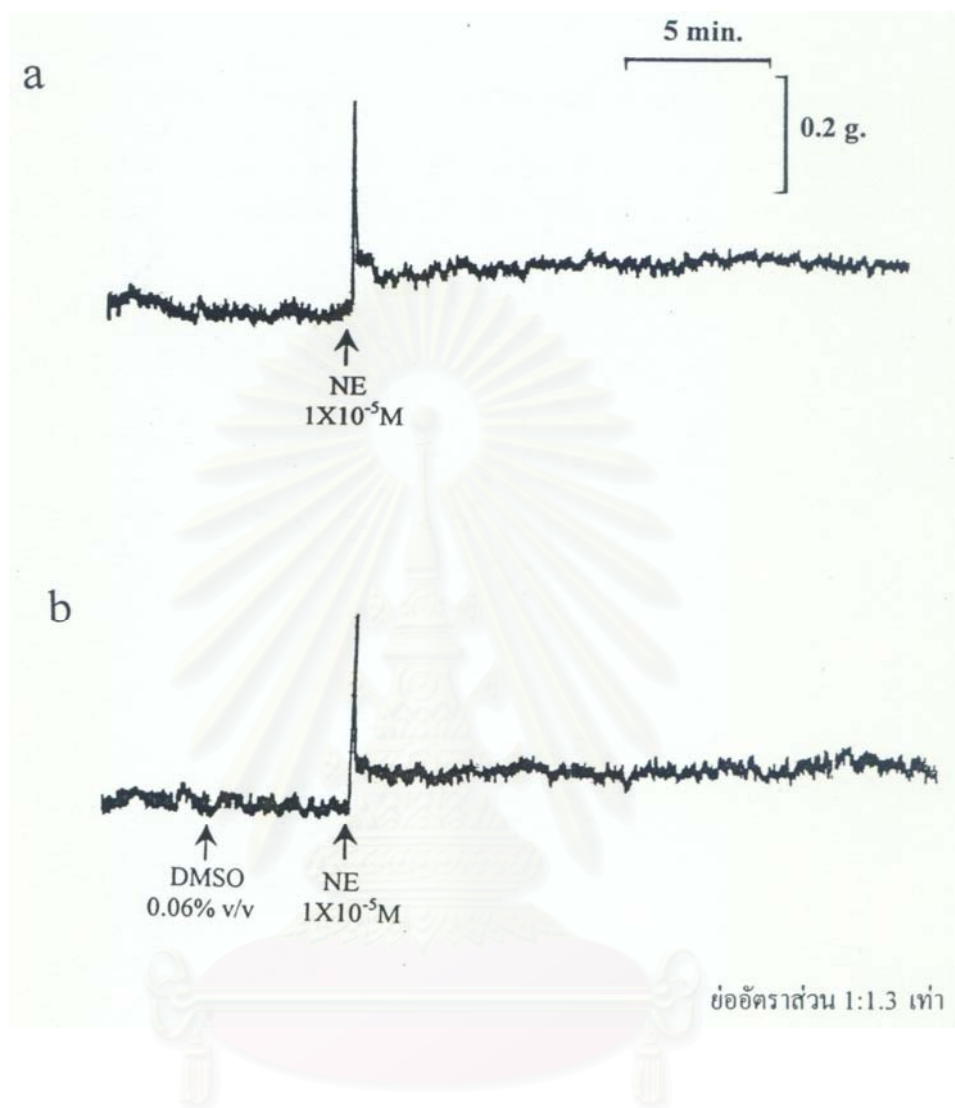
เมื่อกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิด้วย 5-HT 1×10^{-5} M ใน Ca^{2+} -free Krebs Henseleit solution กล้ามเนื้อจะเกิดการหดตัวแบบ phasic contraction ขึ้นเล็กน้อยซึ่งจะไม่เกิดขึ้นชัดเจนเหมือนกับการกระตุ้นด้วย NE และตามด้วย tonic contraction ซึ่งจะคงที่อยู่ที่ตลอดระยะเวลาที่ทำการบันทึกผลการทดลองโดยปราศจากลักษณะการหดตัวแบบ rhythmic contraction ที่เหมือนกับการหดตัวใน KHS ดังที่แสดงในรูปที่ 56(a)

ผลของ DMSO 0.06% v/v, CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ขนาด 1×10^{-4} M ซึ่งให้ก่อน 5-HT 1×10^{-5} M ใน Ca^{2+} -free Krebs Henseleit solution เป็นเวลา 5 นาที พบว่ากลุ่มที่ได้รับ DMSO ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุมยังคงเกิดการหดตัวแบบ phasic และตามด้วย tonic contraction ซึ่งมีลักษณะที่ไม่แตกต่างจากก่อนได้รับสารทดสอบ ดังที่แสดงในรูปที่ 56(b) ส่วนกลุ่มที่ได้รับ CU-18-07 และ CU-18-09 ก็ยังคงมีการหดตัวซึ่งมีลักษณะที่ไม่แตกต่างจากเดิมดังที่แสดงในรูปที่ 57 และ 58 ในขณะที่มีเพียงกลุ่มที่ได้รับ CU-18-12 เท่านั้นที่มีแรงหดตัวลดลงอย่างเห็นได้ชัดดังที่แสดงในรูปที่ 59 จากผลการทดลองพบว่าแรงหดตัวส่วน phasic contraction ที่เหลืออยู่จากก่อนได้รับสารทดสอบของ DMSO และสารสังเคราะห์ทั้ง 3 มีแรงหดตัวเฉลี่ย ($n=6$) คิดเป็น $91.60 \pm 8.79\%$, $99.75 \pm 2.96\%$, $100.98 \pm 6.83\%$ และ $62.01 \pm 7.14\%$ ตามลำดับดังกราฟในรูปที่ 60 เมื่อเปรียบเทียบผลของสารสังเคราะห์ทั้ง 3 กับกลุ่มควบคุม (DMSO) พบว่าแรงหดตัวของกลุ่มที่ได้รับ CU-18-12 ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยผลดังกล่าวที่เกิดขึ้นมีความคล้ายคลึงกับการกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบด้วย NE ซึ่งเมื่ออยู่ใน KHS พบว่าในสภาวะปกติ CU-18-09 สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้แรงที่สุด ในขณะที่ CU-18-12 สามารถยับยั้งการหดตัวได้รองจาก CU-18-09 แต่เมื่ออยู่ใน Ca^{2+} -free Krebs Henseleit solution กลับพบว่ามีเพียง CU-18-12 ที่สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบจากการกระตุ้นด้วย 5-HT ในสภาวะที่ไม่มี Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์ได้

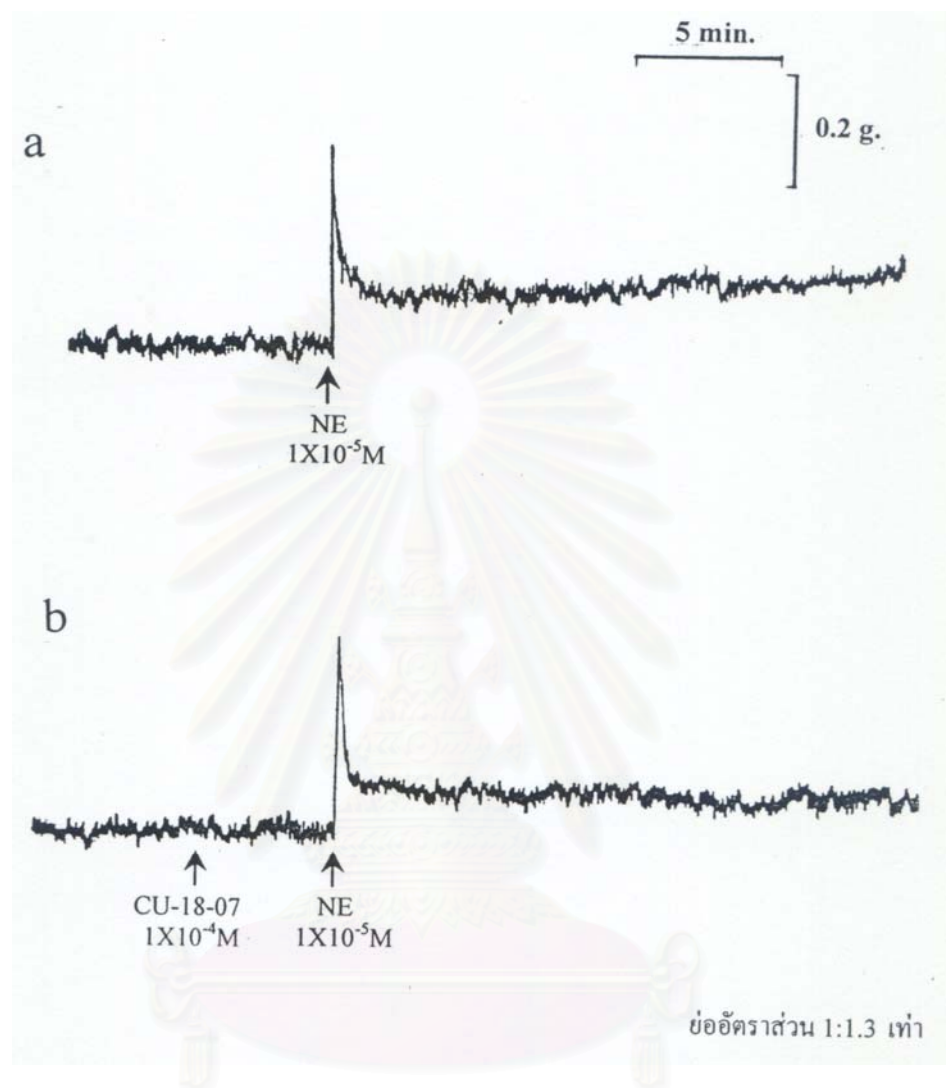
3.3 ผลของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ในสภาวะที่ไม่มี Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวเมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 50 mM

เมื่อกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิด้วย KCl 50 mM ใน Ca^{2+} -free Krebs Henseleit solution กล้ามเนื้อจะเกิดการหดตัวแบบ phasic contraction เพียงเล็กน้อยและตามด้วย tonic contraction ซึ่งจะเพิ่มสูงขึ้นเล็กน้อยแล้วค่อยๆลดต่ำลง เมื่อเวลาผ่านไปประมาณ 5-6 นาที tonic contraction จะค่อยๆเพิ่มสูงขึ้นอีกครั้งจนกระทั่งถึงจุดสูงสุดประมาณนาทีที่ 10-15 แล้วค่อยๆลดต่ำลงเรื่อยๆอีกครั้งจนกระทั่งสิ้นสุดการบันทึกผลการทดลอง ดังที่แสดงในรูปที่ 61(a)

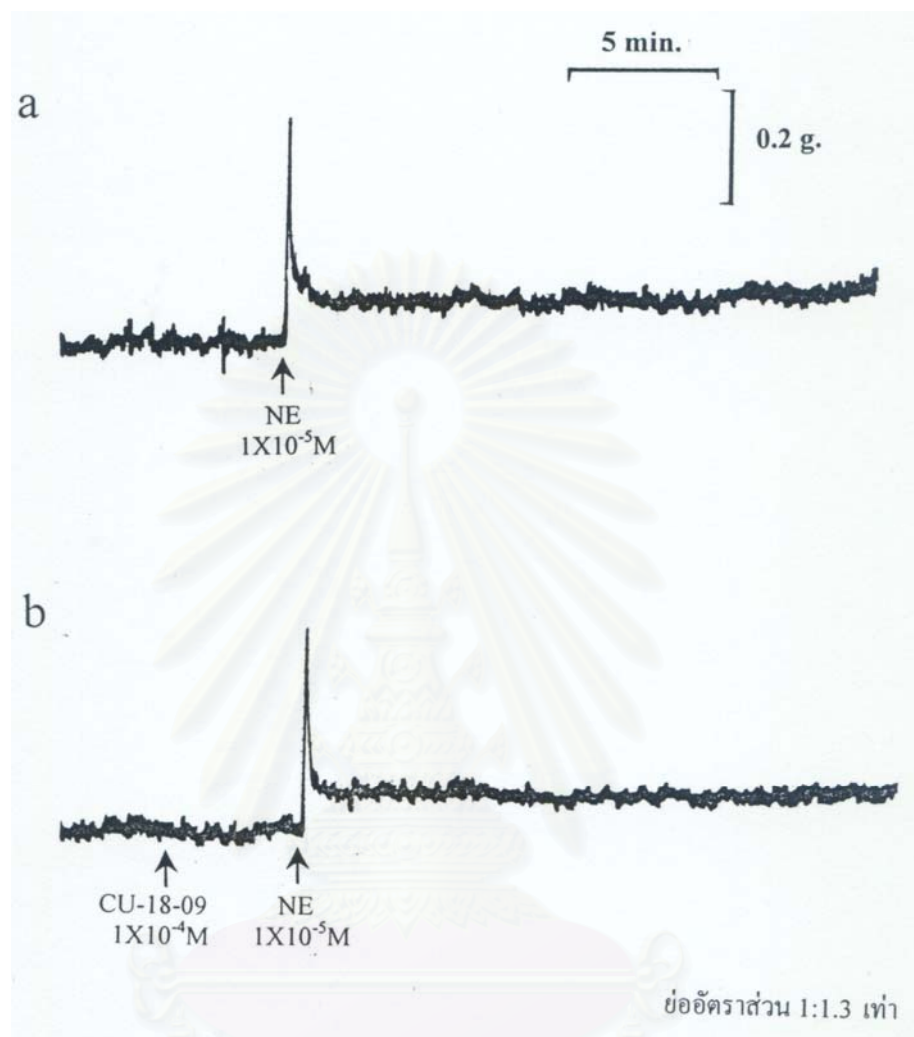
ผลของ DMSO 0.06% v/v, CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ขนาด $1 \times 10^{-4} M$ ซึ่งให้ก่อน KCl 50 mM ใน Ca^{2+} -free Krebs Henseleit solution เป็นเวลา 5 นาที พบว่ากลุ่มที่ได้รับ DMSO ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุมยังคงเกิดการหดตัวแบบ phasic และตามด้วย tonic contraction ซึ่งมีลักษณะที่ไม่แตกต่างจากก่อนได้รับสารทดสอบ ดังที่แสดงในรูปที่ 61(b) ส่วนกลุ่มที่ได้รับ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 พบว่า phasic contraction มีแรงหดตัวลดลงจากก่อนได้รับสารทดสอบเล็กน้อยแต่การหดตัวในส่วน tonic contraction กลับมีแรงหดตัวที่มีทั้งเพิ่มขึ้นและลดลงแตกต่างกันในกล้ามเนื้อเรียบแต่ละ n ที่ใช้ในการทดลอง ดังที่แสดงในรูปที่ 62, 63 และ 64 จากผลการทดลองพบว่าแรงหดตัวส่วน phasic contraction ที่เหลืออยู่จากก่อนได้รับสารทดสอบของ DMSO และสารสังเคราะห์ทั้ง 3 มีแรงหดตัวเฉลี่ย($n=6$) คิดเป็น $101.58 \pm 9.21\%$, $85.56 \pm 13.73\%$, $80.54 \pm 9.47\%$ และ $82.84 \pm 13.57\%$ ตามลำดับ ดังกราฟในรูปที่ 65 เมื่อเปรียบเทียบผลของสารสังเคราะห์ทั้ง 3 กับกลุ่มควบคุม(DMSO) พบว่าแรงหดตัวของกลุ่มที่ได้รับสารสังเคราะห์ทั้ง 3 มีแนวโน้มลดลงอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ($p < 0.05$) ซึ่งผลดังกล่าวมีความแตกต่างจากการกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบด้วย KCl ใน KHS มากโดยพบว่าในสภาวะปกติ(KHS) สารสังเคราะห์ทั้ง 3 สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้เป็นอย่างดีแต่กลับไม่มีสารสังเคราะห์ตัวใดที่สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่ถูกกระตุ้นด้วย KCl ในสภาวะที่ไม่มี Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์ได้ นอกจากนี้ยังแตกต่างจากการกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบด้วย NE และ 5-HT ในสภาวะเดียวกันที่ไม่มี Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์อีกด้วย โดยพบว่า CU-18-12 สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบซึ่งถูกกระตุ้นด้วย 5-HT ได้และยังยับยั้งการหดตัวจากการกระตุ้นด้วย NE ลงอย่างชัดเจนแม้ว่าจะไม่สามารถยับยั้งการหดตัวที่เกิดขึ้นได้ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติก็ตาม



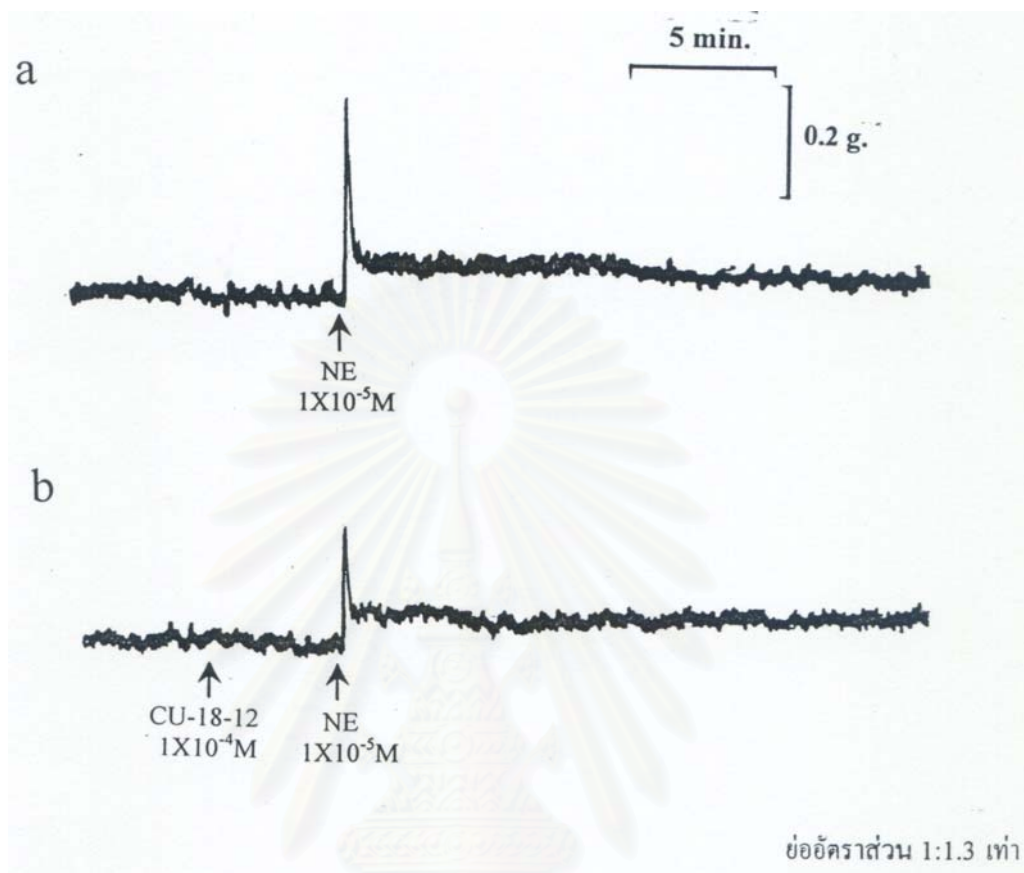
รูปที่ 51 การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NE 1×10^{-5} M ใน Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit solution
 a. ก่อนได้รับ DMSO
 b. หลังได้รับ DMSO 0.06% v/v



รูปที่ 52 การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูกาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NE 1x10⁻⁵ M ใน Ca²⁺-free Krebs-Henseleit solution
 a. ก่อนได้รับ CU-18-07
 b. หลังได้รับ CU-18-07 1x10⁻⁴ M



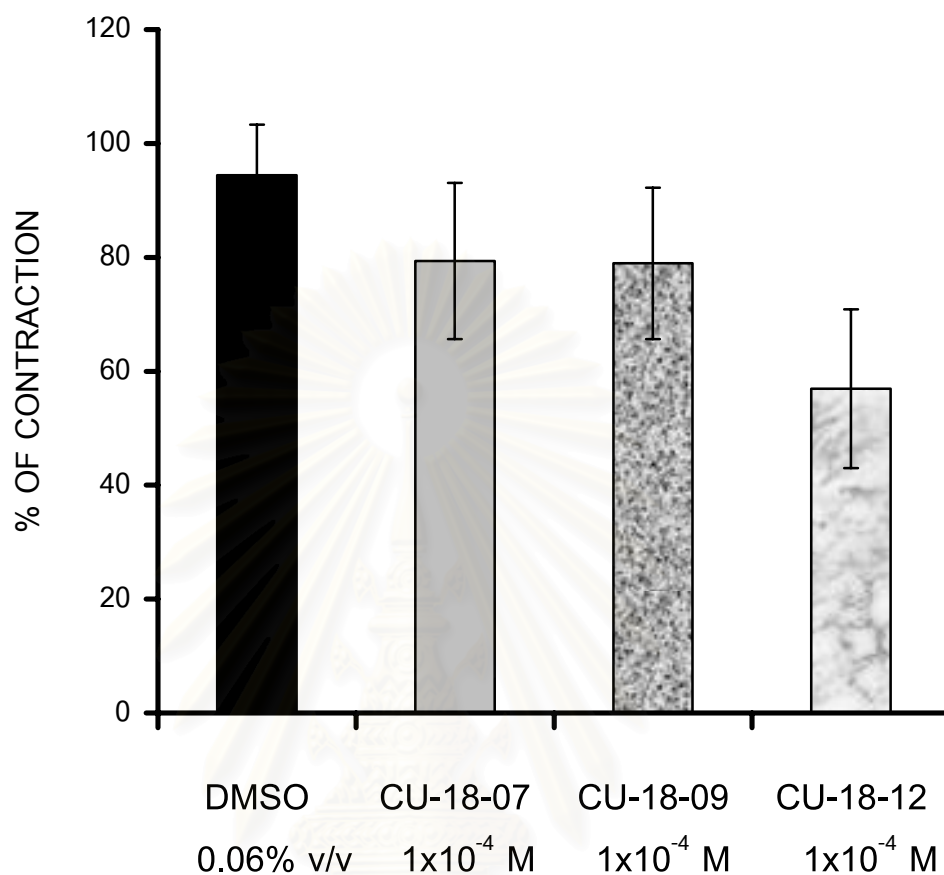
รูปที่ 53 การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NE $1 \times 10^{-5} \text{ M}$ ใน Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit solution
 a. ก่อนได้รับ CU-18-09
 b. หลังได้รับ CU-18-09 $1 \times 10^{-4} \text{ M}$



รูปที่ 54 การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NE $1 \times 10^{-5} \text{ M}$ ใน Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit solution

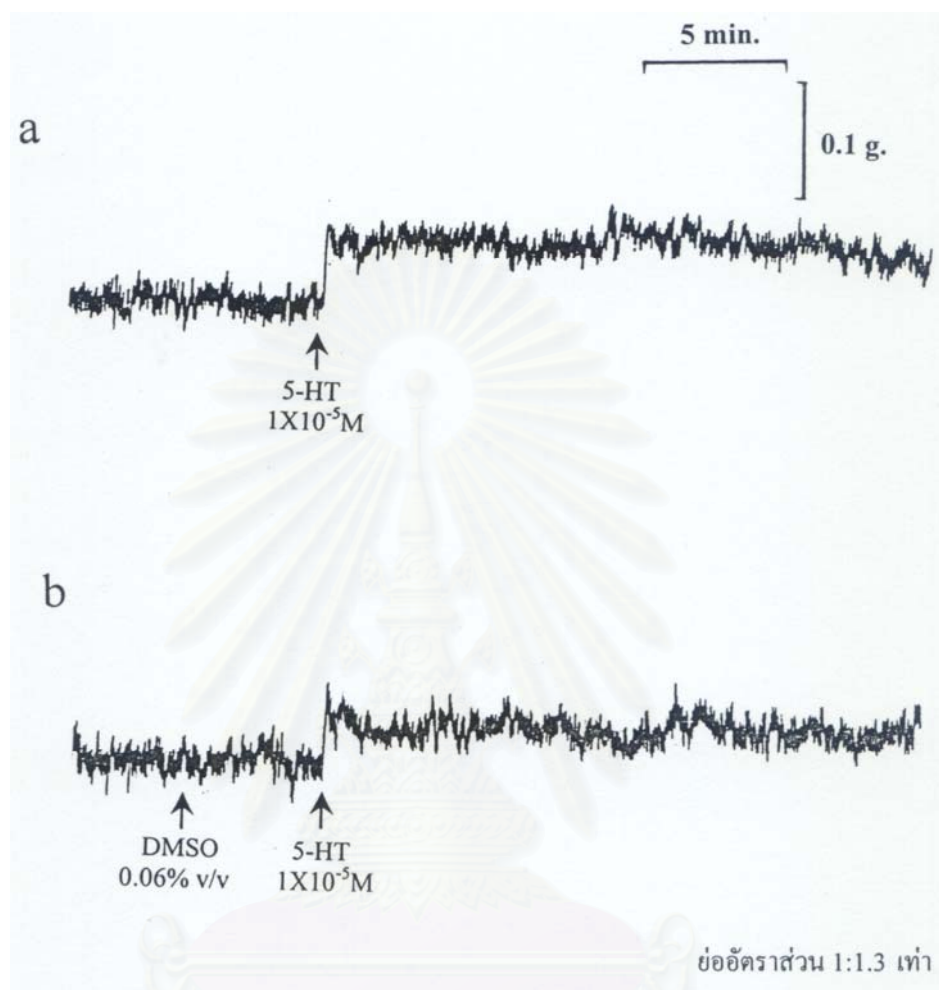
a. ก่อนได้รับ CU-18-12

b. หลังได้รับ CU-18-12 $1 \times 10^{-4} \text{ M}$

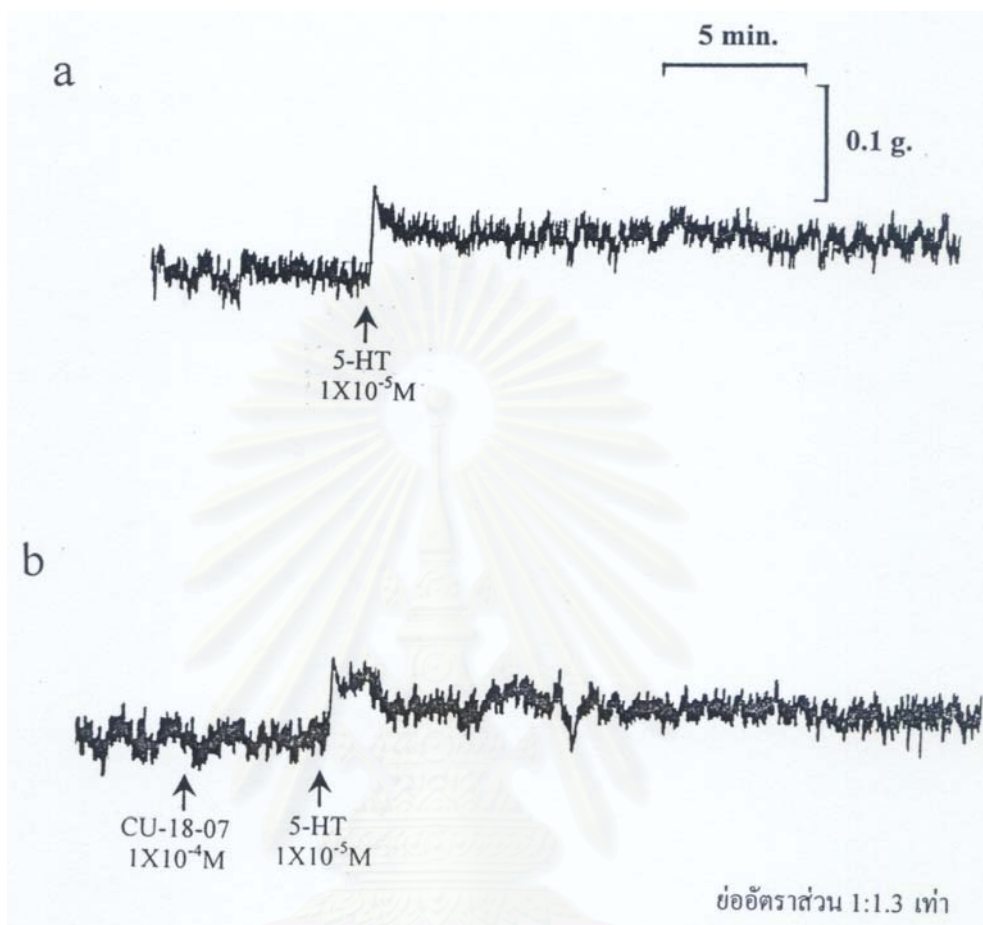


รูปที่ 55 กราฟแสดงผล CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 1×10^{-4} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NE 1×10^{-5} M ใน Ca^{2+} -free Krebs Henseleit solution (n=6)

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย



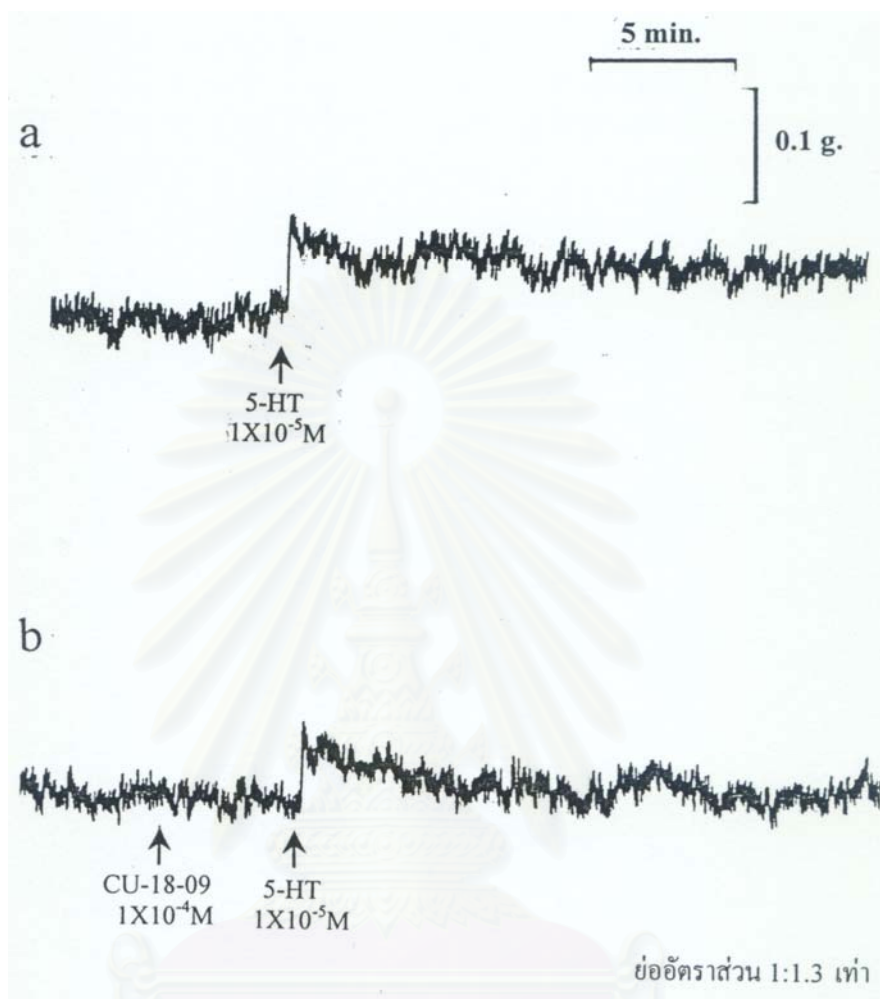
รูปที่ 56 การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $5\text{-HT } 1 \times 10^{-5} \text{ M}$ ใน Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit solution
a. ก่อนได้รับ DMSO
b. หลังได้รับ DMSO $0.06\% \text{ v/v}$



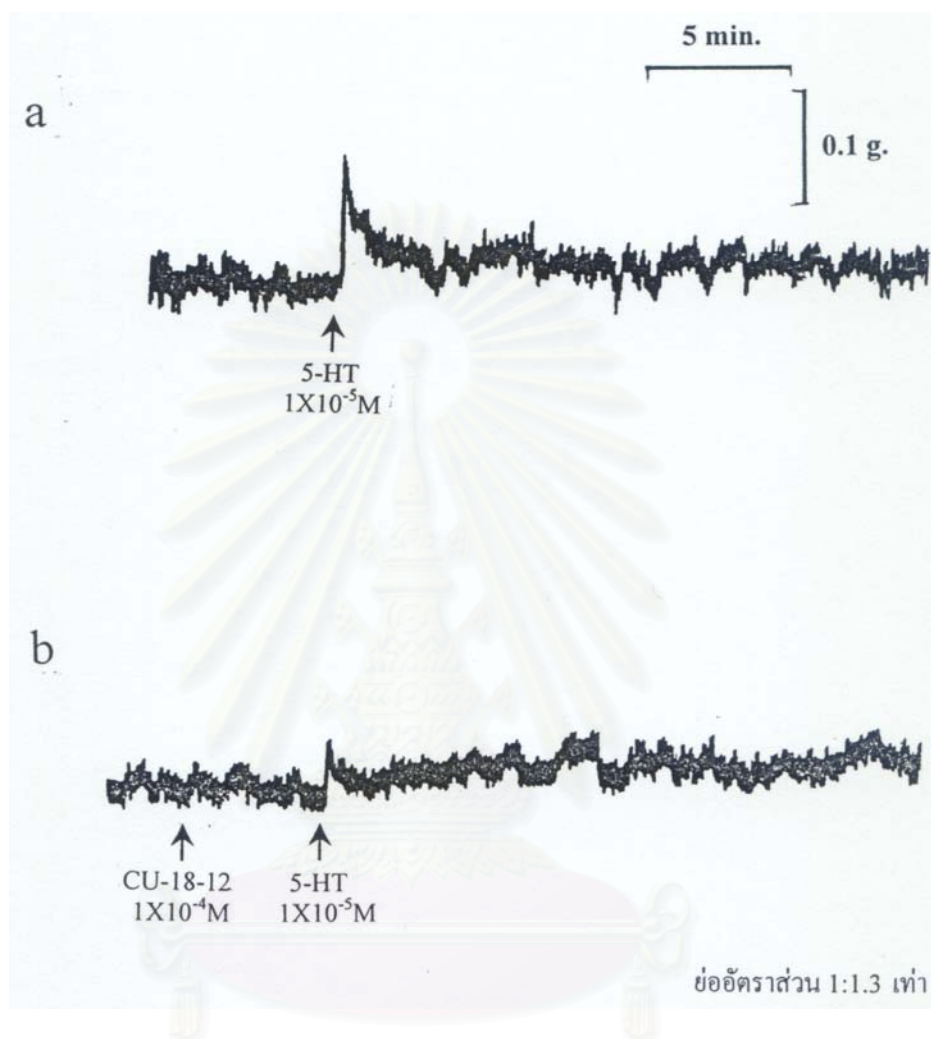
รูปที่ 57 การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนุขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย 5-HT 1×10^{-5} M ใน Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit solution

a. ก่อนได้รับ CU-18-07

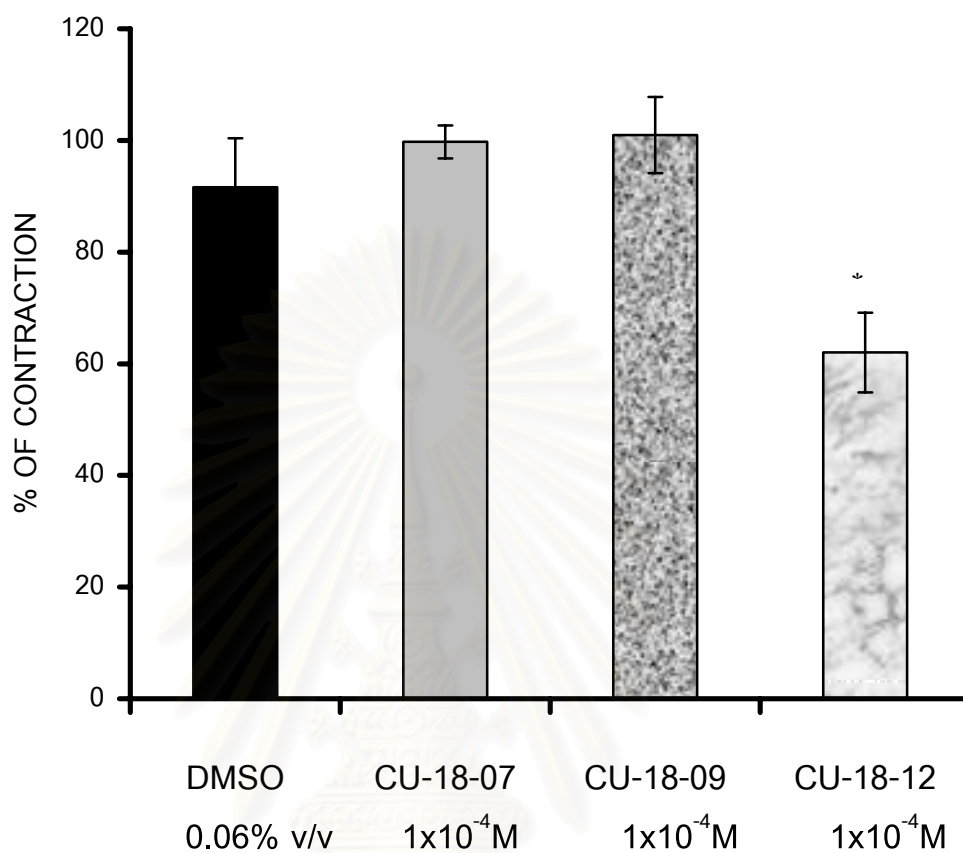
b. หลังได้รับ CU-18-07 1×10^{-4} M



รูปที่ 58 การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย 5-HT $1 \times 10^{-5} \text{ M}$ ใน Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit solution
 a. ก่อนได้รับ CU-18-09
 b. หลังได้รับ CU-18-09 $1 \times 10^{-4} \text{ M}$

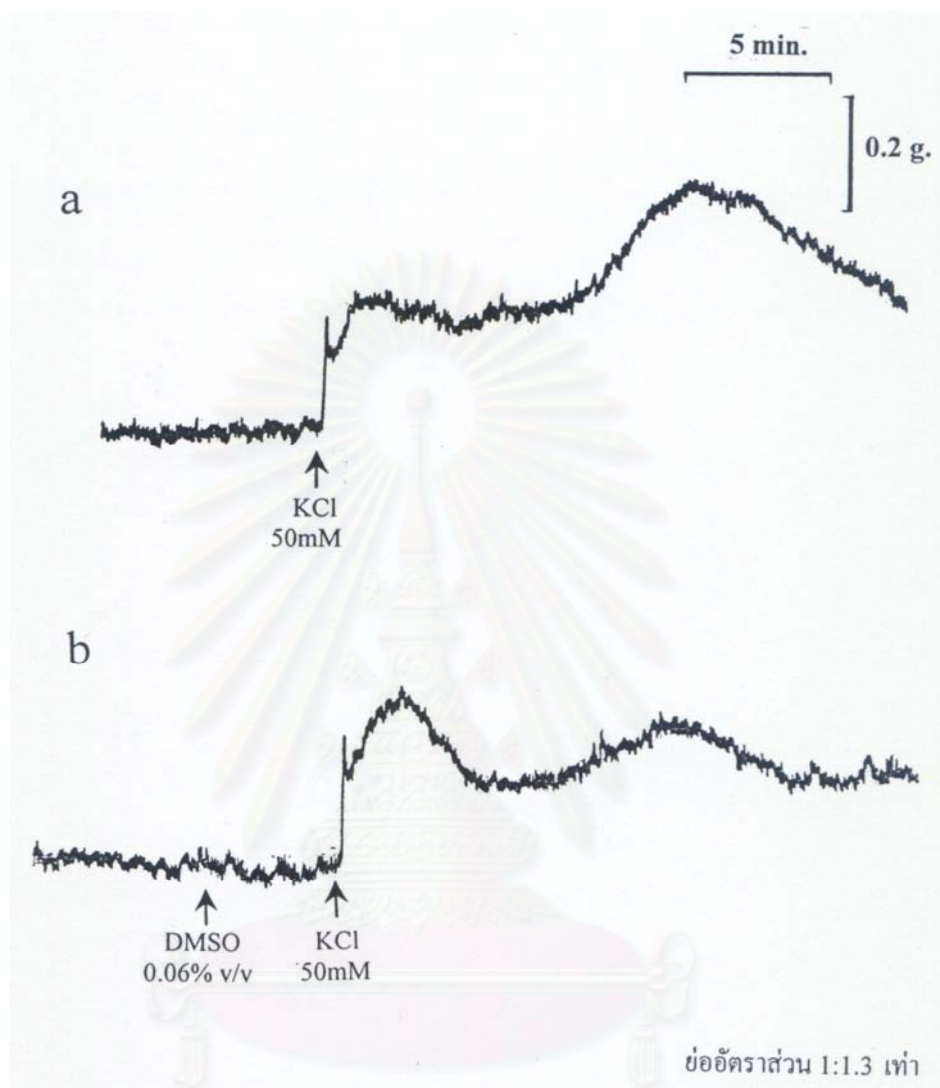


รูปที่ 59 การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนุขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย 5-HT $1 \times 10^{-5} \text{ M}$ ใน Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit solution
a. ก่อนได้รับ CU-18-12
b. หลังได้รับ CU-18-12 $1 \times 10^{-4} \text{ M}$

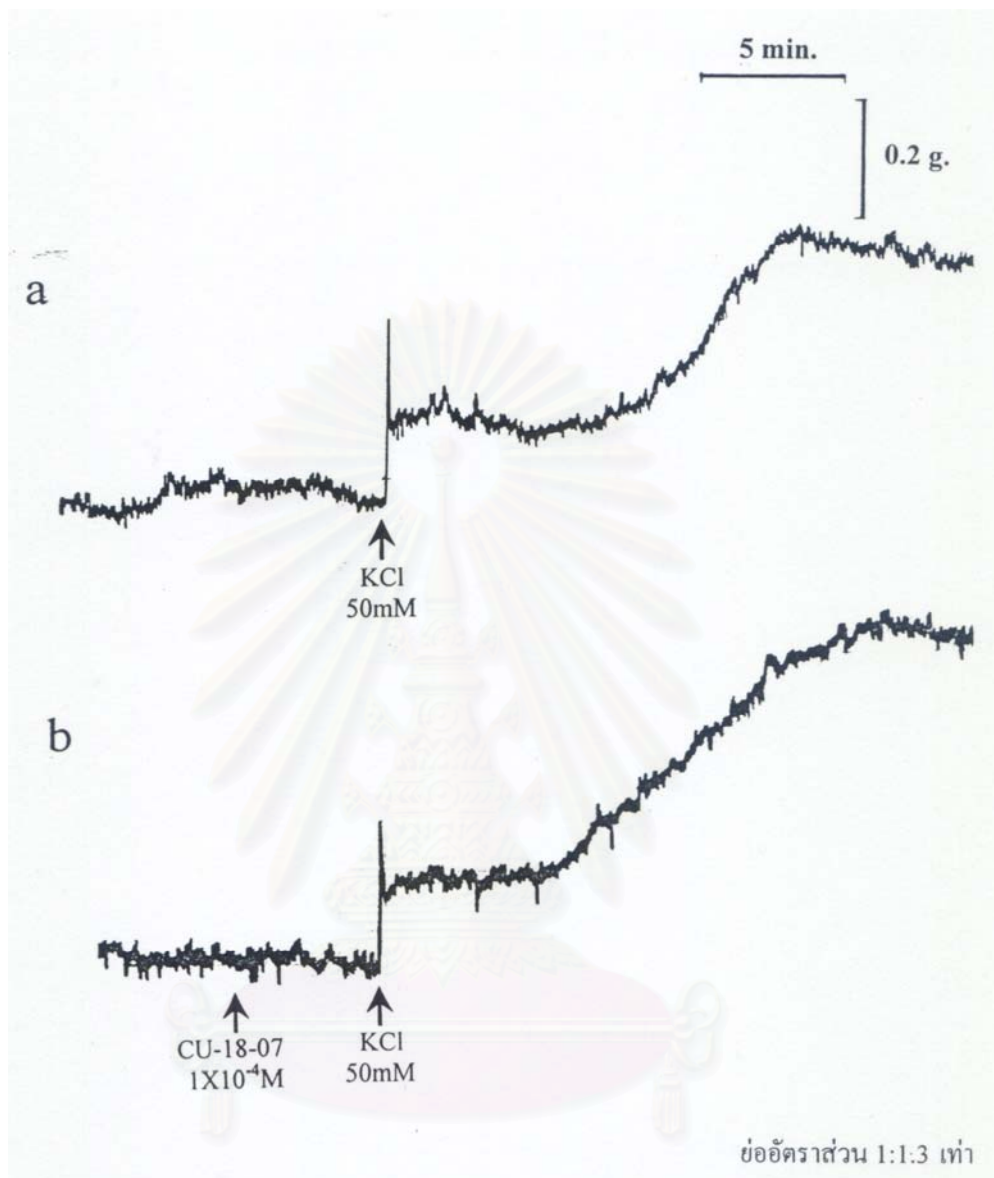


รูปที่ 60 กราฟแสดงผลของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 1×10^{-4} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย 5-HT 1×10^{-5} M ใน Ca^{2+} -free Krebs Henseleit solution (n=6)

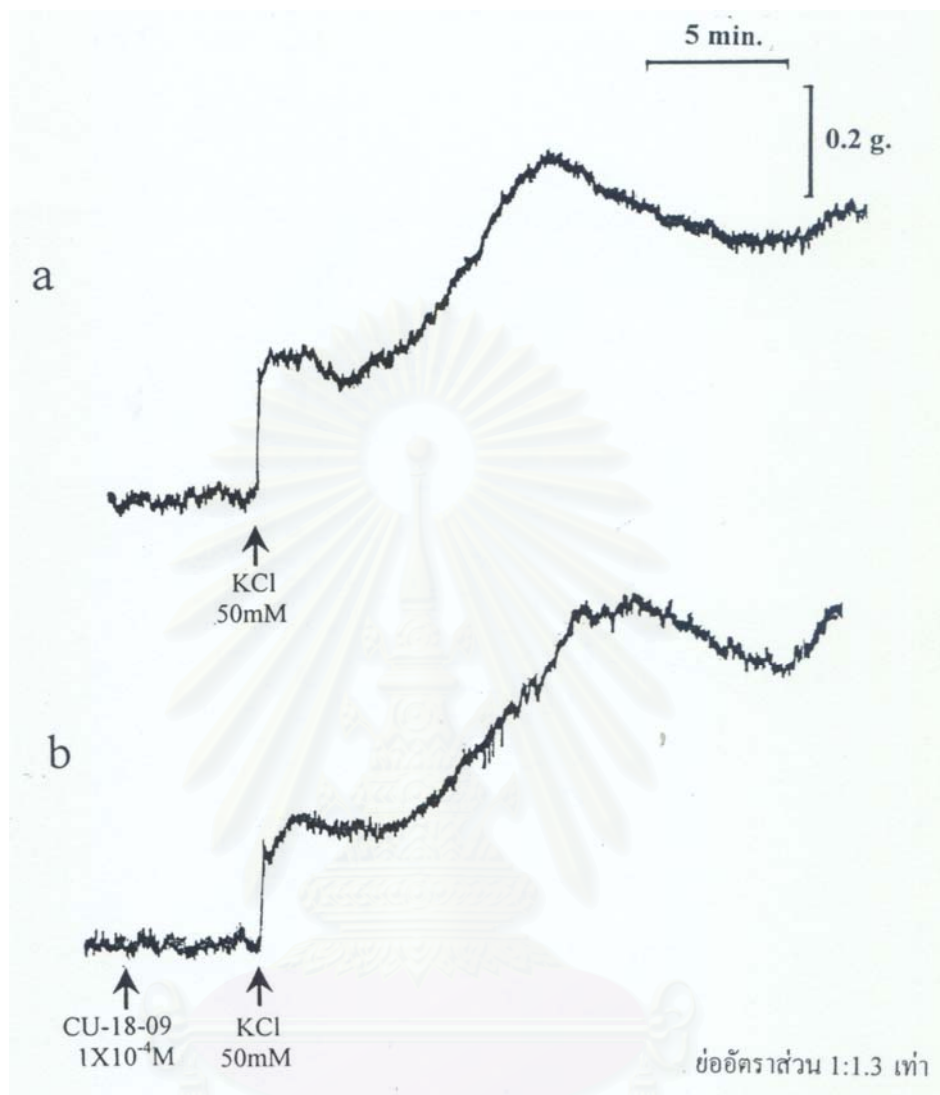
กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย
* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม ($p < 0.05$)



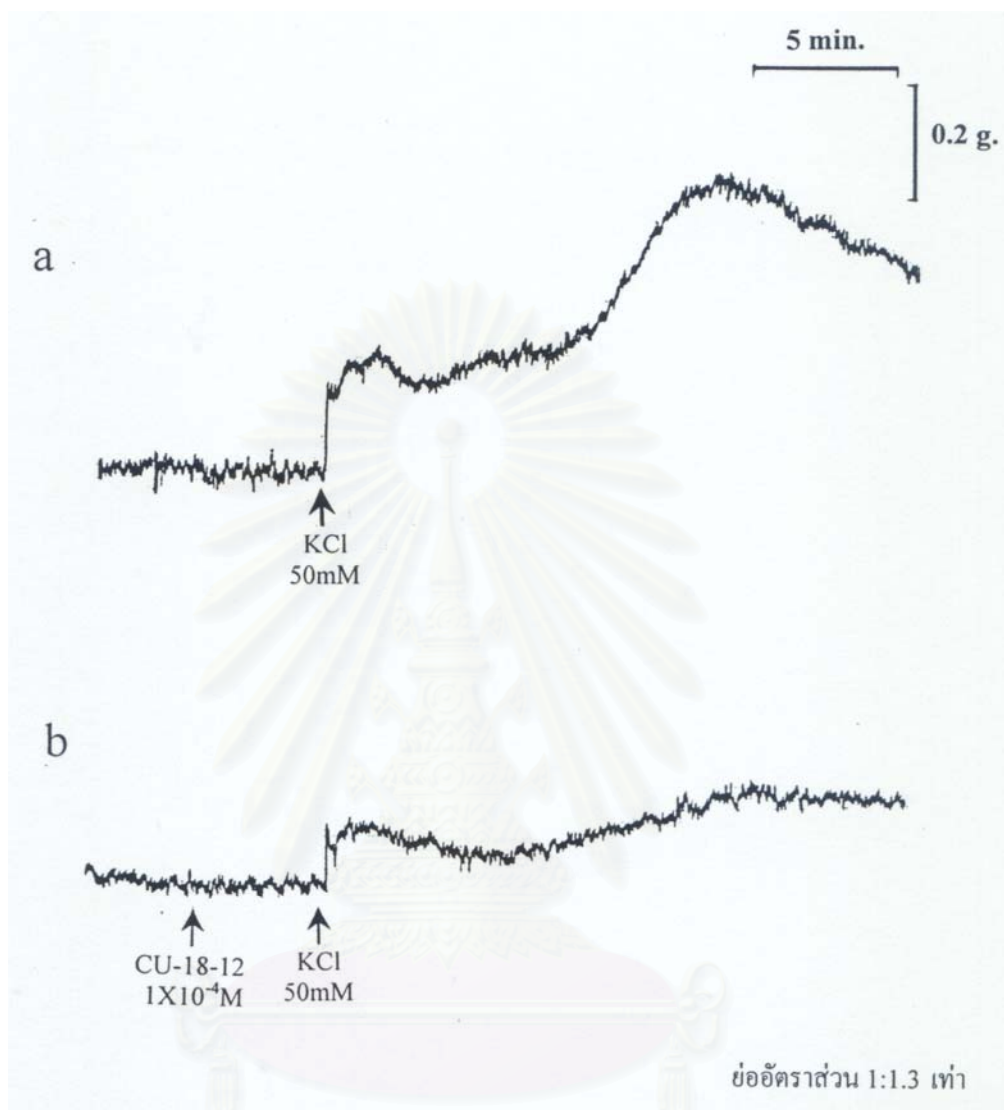
รูปที่ 61 การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน prostatic half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 50 mM ใน Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit solution
 a. ก่อนได้รับ DMSO
 b. หลังได้รับ DMSO 0.06% v/v



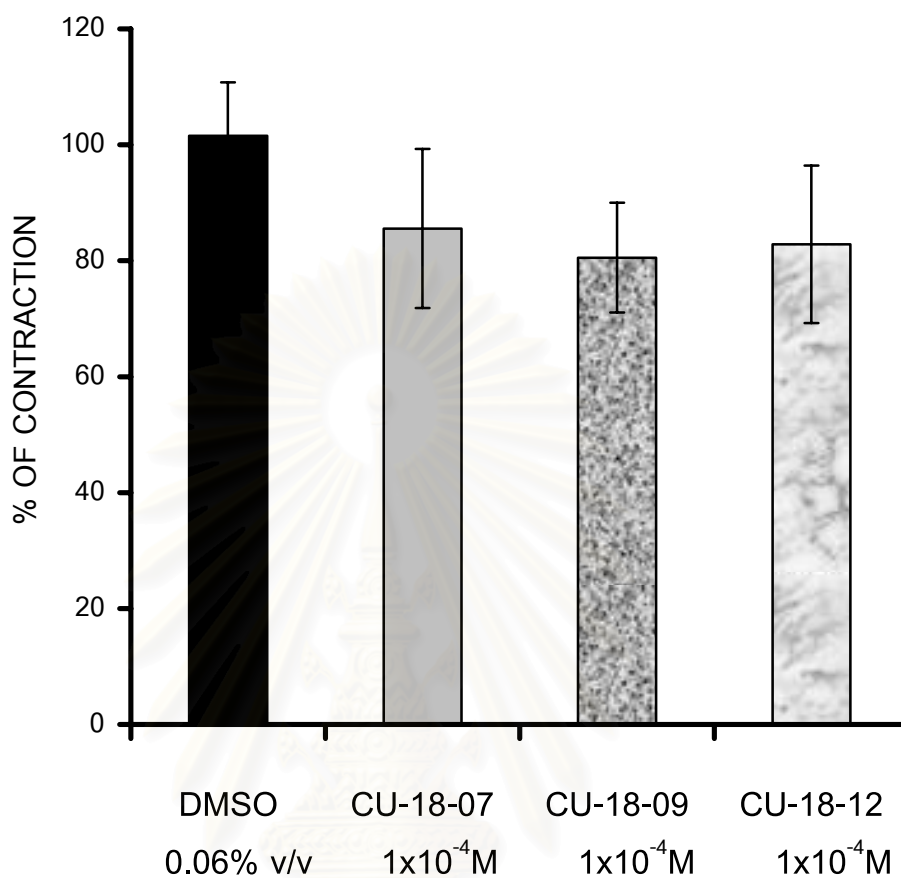
รูปที่ 62 การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน prostatic half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 50 mM ใน Ca²⁺-free Krebs-Henseleit solution
 a. ก่อนได้รับ CU-18-07
 b. หลังได้รับ CU-18-07 1x10⁻⁴ M



รูปที่ 63 การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน prostatic half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 50 mM ใน Ca²⁺-free Krebs-Henseleit solution
 a. ก่อนได้รับ CU-18-09
 b. หลังได้รับ CU-18-09 1x10⁻⁴ M



รูปที่ 64 การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน prostatic half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 50 mM ใน Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit solution
 a. ก่อนได้รับ CU-18-12
 b. หลังได้รับ CU-18-12 1×10^{-4} M



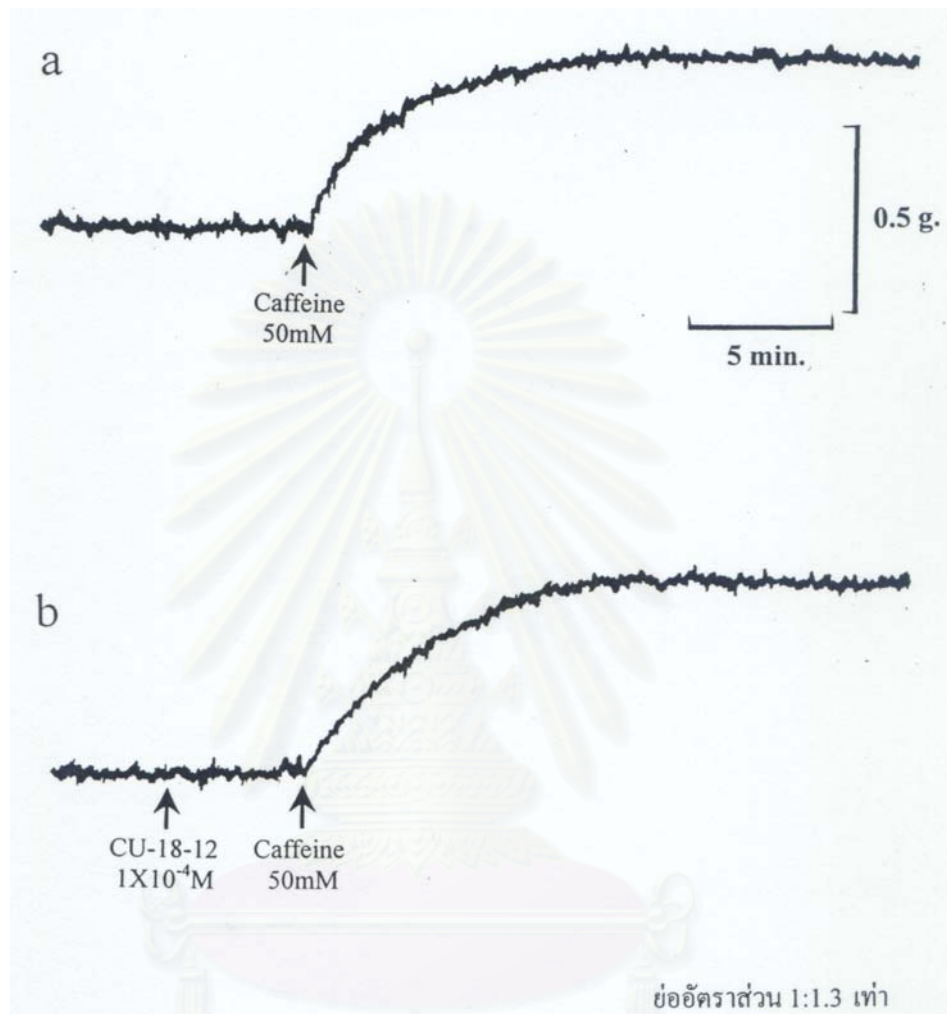
รูปที่ 65 กราฟแสดงผลของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 $1 \times 10^{-4} \text{M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วนprostatic half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 50 mM ใน Ca^{2+} -free Krebs Henseleit solution (n=6)

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

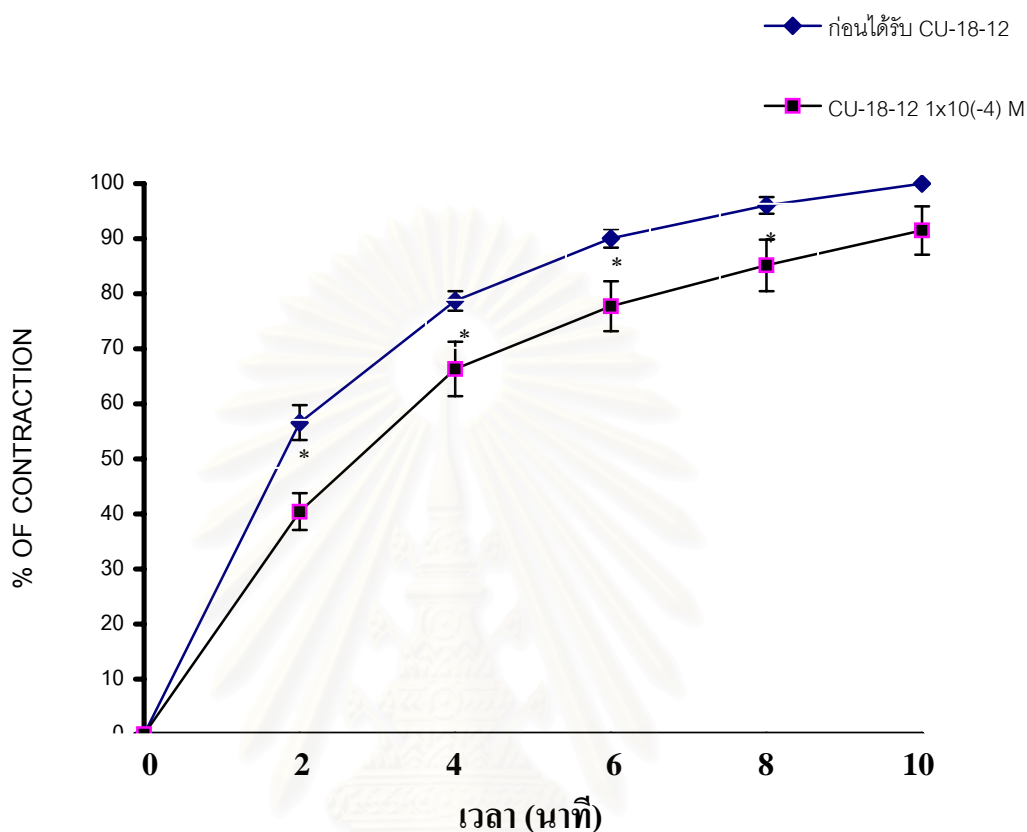
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4. ผลของ CU-18-12 ในสภาวะที่ไม่มี Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวเมื่อถูกกระตุ้นด้วย caffeine 50 mM

caffeine 50 mM กระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวใน Ca^{2+} -free Krebs Henseleit solution พบว่ากล้ามเนื้อจะเกิดการหดตัวโดยมีแรงหดตัวที่ค่อยๆเพิ่มสูงขึ้นอย่างช้า ๆ และเริ่มคงที่ในนาทีที่ 8-10 และจะคงที่อยู่ตลอดระยะเวลาที่ทำการบันทึกผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 66(a) โดยให้แรงหดตัวก่อนได้รับ caffeine ในนาทีที่ 10 ซึ่งเป็นช่วงที่กล้ามเนื้อเรียบมีแรงหดตัวคงที่แล้วคิดคำนวณเป็น 100% เปรียบเทียบกับแรงหดตัวที่เหลืออยู่ในช่วงเวลาต่างๆหลังได้รับ caffeine ผลของ CU-18-12 $1 \times 10^{-4} M$ ซึ่งให้ก่อน caffeine 50 mM ใน Ca^{2+} -free Krebs Henseleit solution เป็นเวลา 5 นาที พบว่ากล้ามเนื้อจะเกิดการหดตัวโดยมีแรงหดตัวเพิ่มสูงขึ้นอย่างช้าๆ โดยแรงหดตัวที่เกิดขึ้นในช่วงแรกจะเพิ่มขึ้นช้ากว่าก่อนได้รับ CU-18-12 ซึ่งทำให้สามารถเห็นความชันของแรงหดตัวที่เกิดขึ้นหลังได้รับ CU-18-12 นี้มีความชันลดน้อยลงกว่าก่อนได้รับ CU-18-12 ดังแสดงในรูปที่ 66(b) เมื่อวัดแรงหดตัวที่เกิดขึ้นในนาทีที่ 2, 4, 6, 8 และ 10 เปรียบเทียบกับก่อนได้รับ CU-18-12 พบว่า CU-18-12 $1 \times 10^{-4} M$ สามารถยับยั้งแรงหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิในนาทีที่ 2, 4, 6 และ 8 แต่ไม่สามารถยับยั้งแรงหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิในนาทีที่ 10 ซึ่งเป็นช่วงเวลาที่กล้ามเนื้อเรียบมีแรงในการหดตัวสูงสุดและเริ่มคงที่ได้ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังกราฟในรูปที่ 67 ซึ่งมีความแตกต่างจากผลต่อการกระตุ้นด้วย NE และ 5-HT ที่สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบจากก่อนได้รับสารทดสอบในสภาวะที่ปราศจาก Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์เหมือนกันได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



รูปที่ 66 การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 50 mM ใน Ca²⁺-free Krebs-Henseleit solution
 a. ก่อนได้รับ CU-18-12
 b. หลังได้รับ CU-18-12 1x10⁻⁴ M



รูปที่ 67 กราฟแสดงผลของ CU-18-12 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนุขาวส่วน epididymal half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย caffeine 50 mM ใน Ca^{2+} -free Krebs Henseleit solution ในนาทีที่ 2, 4, 6, 8 และ 10 (n=6)

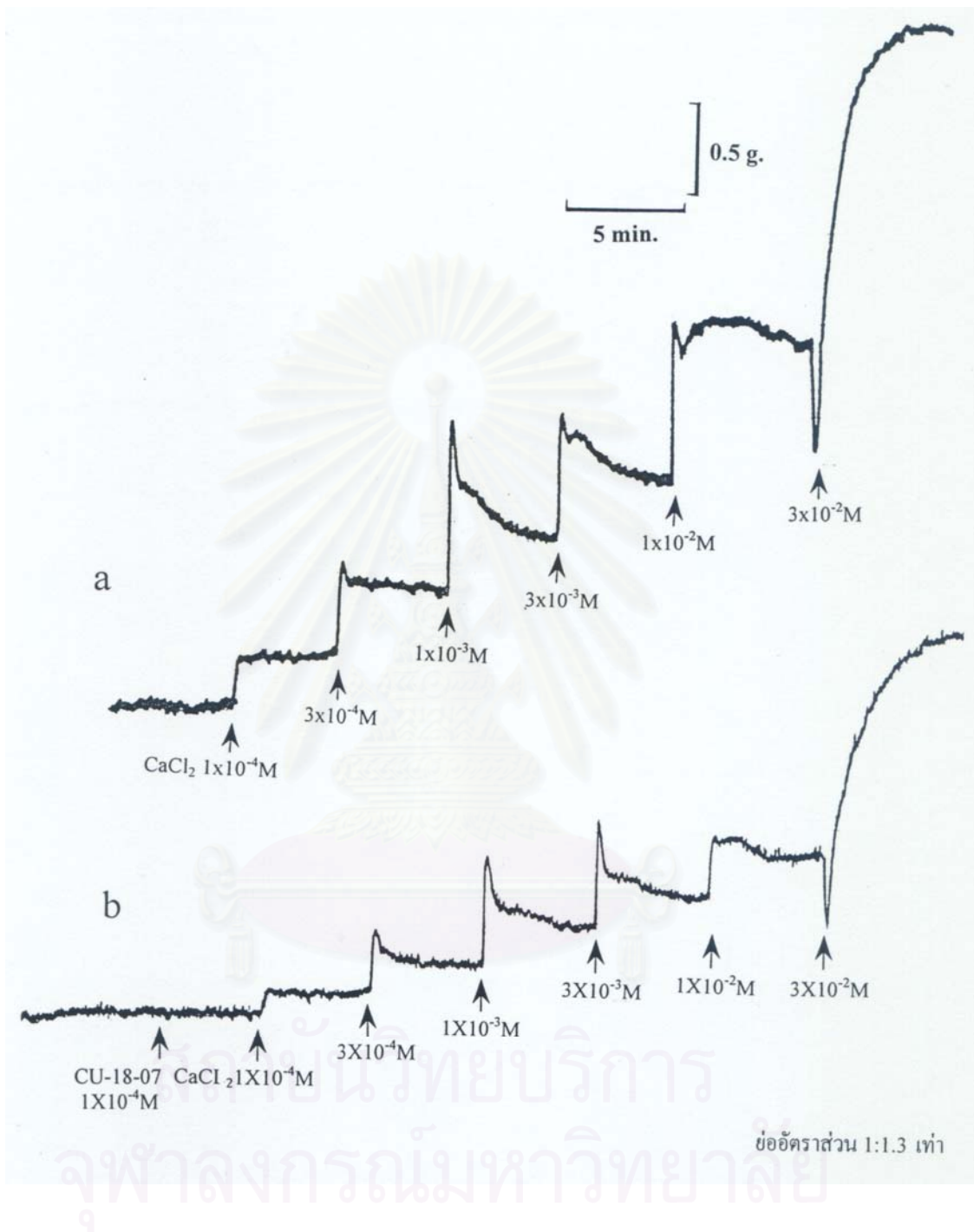
กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มก่อนได้รับสารทดสอบ ($p < 0.05$)

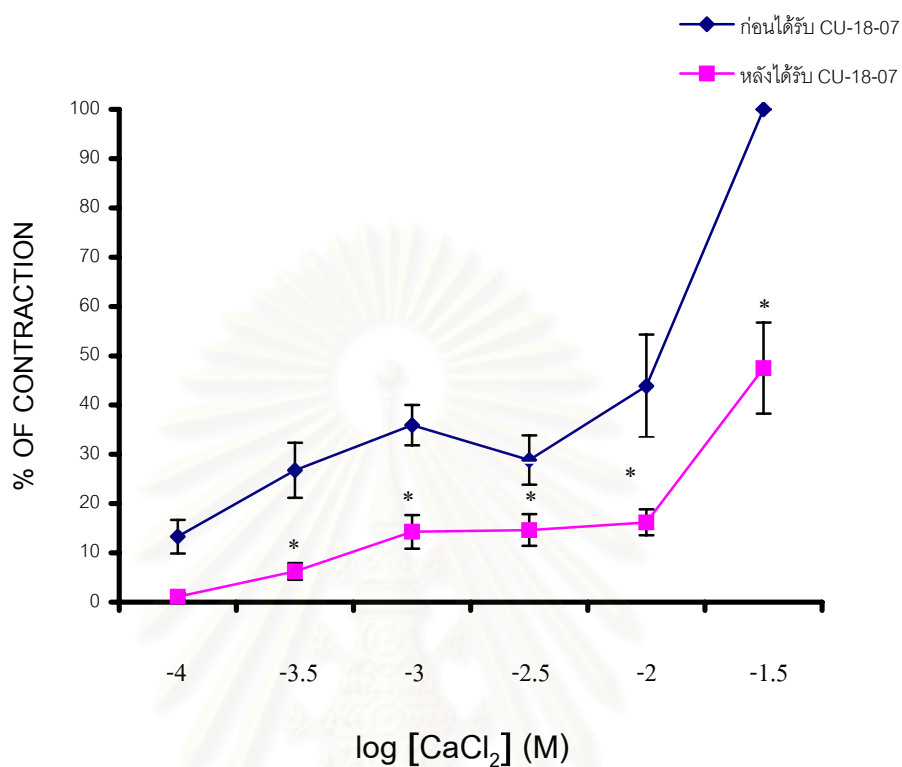
5. ผลของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อ nasojejunal ที่แยกจากหนูขาวต่อ cumulative dose response curve ของ CaCl_2

CaCl_2 แบบสะสม ($1 \times 10^{-4} \text{M} - 3 \times 10^{-2} \text{M}$) กระตุ้นการของกล้ามเนื้อเรียบในท่อ nasojejunal ที่แยกจากหนูขาวส่วน prostatic half ใน Ca^{2+} -free depolarization solution พบว่ากล้ามเนื้อเรียบจะเกิดการหดตัวเพิ่มขึ้นตามขนาด CaCl_2 ที่เพิ่มสูงขึ้น โดยให้แรงหดตัวก่อนได้รับสารทดสอบจากการกระตุ้นด้วย CaCl_2 ในขนาดสูงสุดคิดค่านวณเป็น 100% เปรียบเทียบกับแรงหดตัวที่เหลืออยู่จากการกระตุ้นด้วย CaCl_2 ขนาดต่างๆหลังได้รับสารทดสอบ ผลของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ขนาด $1 \times 10^{-4} \text{M}$ ซึ่งให้ก่อนเป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นให้ CaCl_2 แบบสะสมกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบพบว่าสารทดสอบทั้ง 3 สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้ดังที่แสดงในรูปที่ 68, 70 และ 72 ตามลำดับ นอกจากนี้ nifedipine $1 \times 10^{-6} \text{M}$ ยังสามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบเมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบสะสมได้เช่นเดียวกัน ดังที่แสดงในรูปที่ 74 จากการทดลองพบว่า CU-18-07, CU-18-09, CU-18-12 ขนาด $1 \times 10^{-4} \text{M}$ และ nifedipine $1 \times 10^{-6} \text{M}$ สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบเมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative dose-response curve ได้โดยมีลักษณะเป็นแบบ non competitive antagonist ดังกราฟในรูปที่ 69, 71, 73 และ 75 ตามลำดับ และเมื่อคำนวณค่า pD_2' ที่ได้จากผลการทดลองพบว่า CU-18-09 มีความสามารถในการยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบเมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative dose-response curve ได้รุนแรงที่สุดในกลุ่มโดยมีค่า pD_2' เท่ากับ $5.01 \pm 0.14\%$ รองลงมาคือ CU-18-07 มีค่า pD_2' เท่ากับ $4.02 \pm 0.19\%$ และ CU-18-12 มีค่า pD_2' เท่ากับ $3.74 \pm 0.02\%$ ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบกับ nifedipine พบว่า nifedipine ยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้รุนแรงกว่าสารทดสอบทั้ง 3 ที่นำมาศึกษาในครั้งนี้ โดยมีค่า pD_2' สูงสุดเท่ากับ $6.23 \pm 0.01\%$ ดังที่แสดงในตารางที่ 2

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 68 การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อनाอสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน prostatic half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 ใน Ca^{2+} -free depolarizing solution
 a. ก่อนได้รับ CU-18-07
 b. หลังได้รับ CU-18-07 $1 \times 10^{-4} \text{ M}$

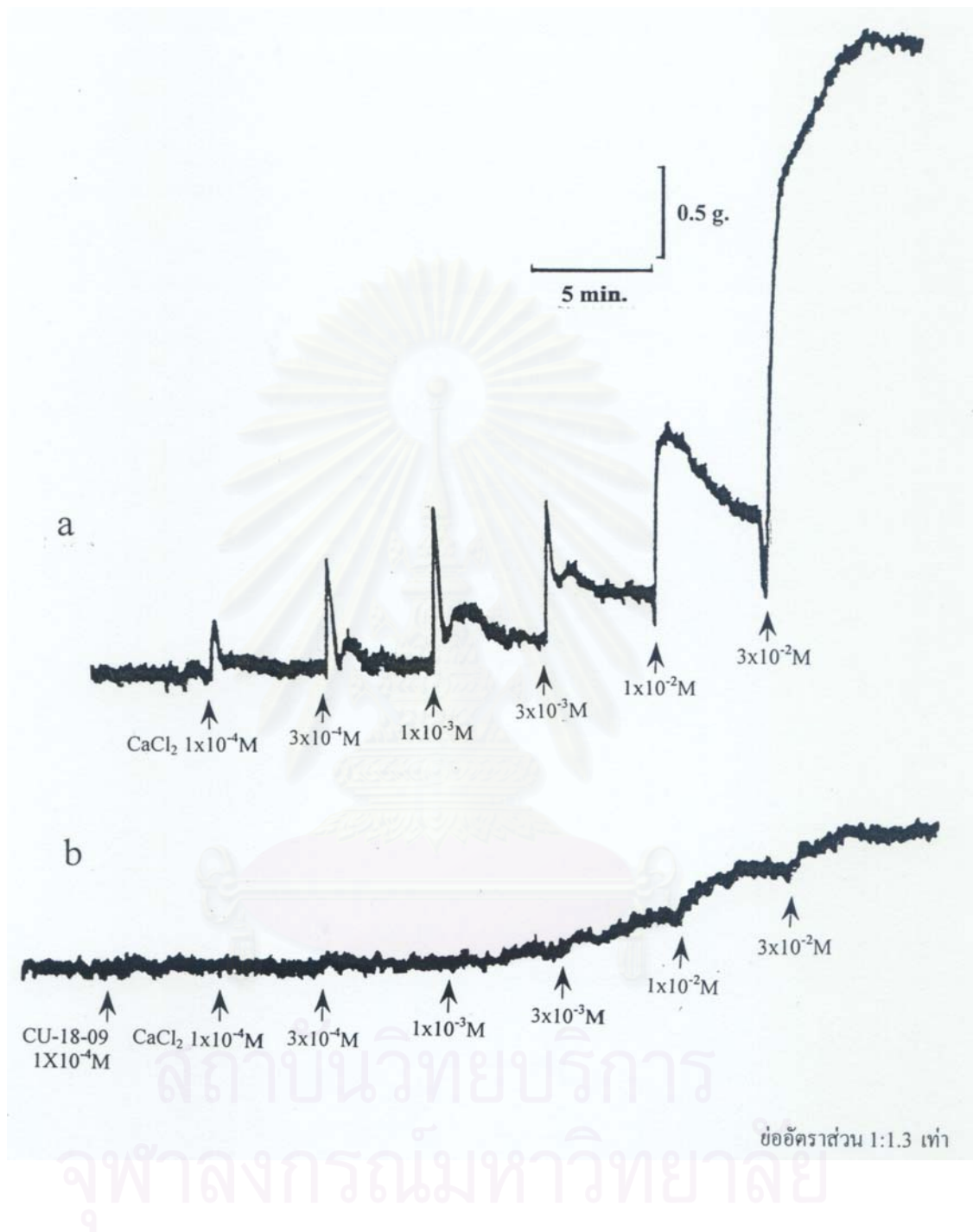


รูปที่ 69 กราฟแสดงผลของ CU-18-07 1×10^{-4} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน prostatic half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative dose-response curve ในสารละลาย Ca^{2+} -free depolarizing solution (n=6)

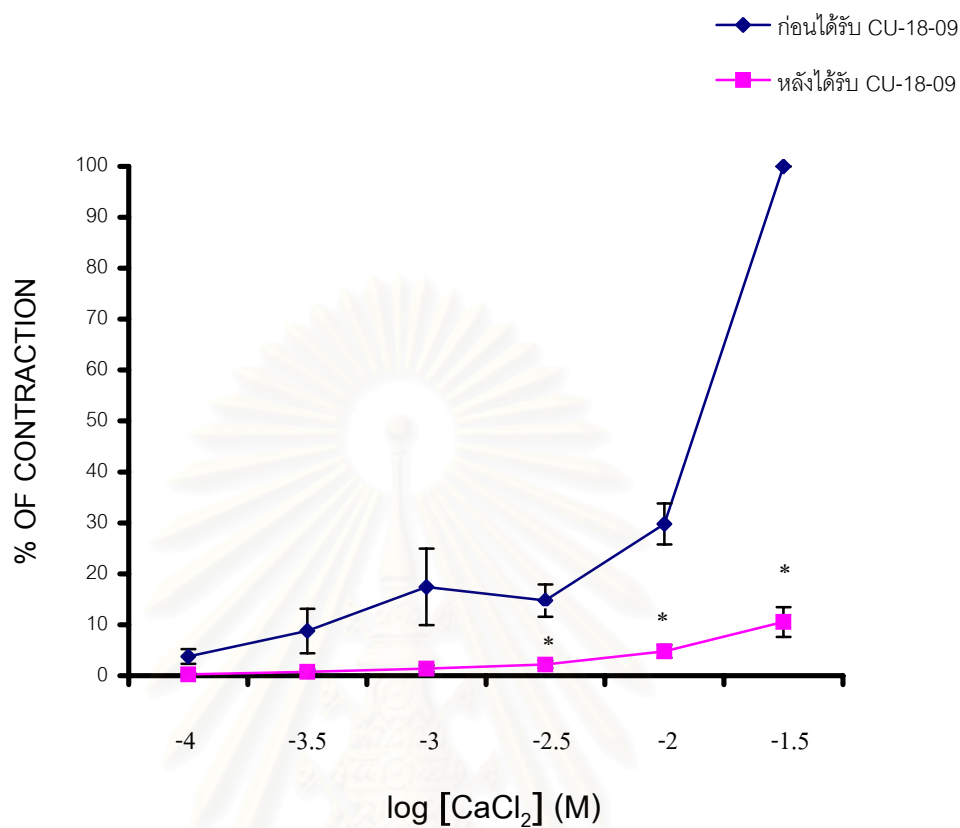
กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มก่อนได้รับสารทดสอบ ($p < 0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



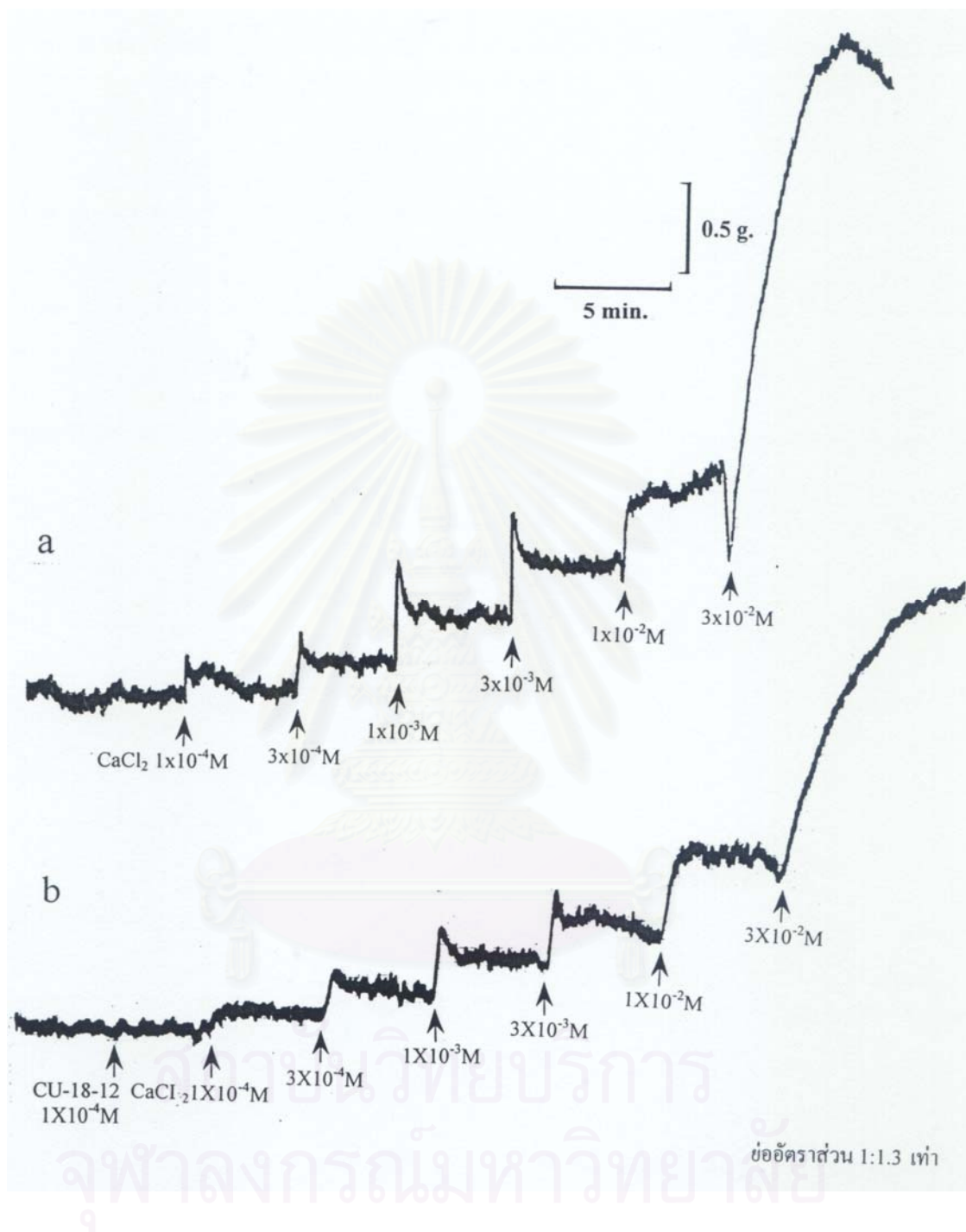
รูปที่ 70 การหัดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน prostatic half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 ใน Ca^{2+} -free depolarizing solution
 a. ก่อนได้รับ CU-18-09
 b. หลังได้รับ CU-18-09 $1 \times 10^{-4} \text{ M}$



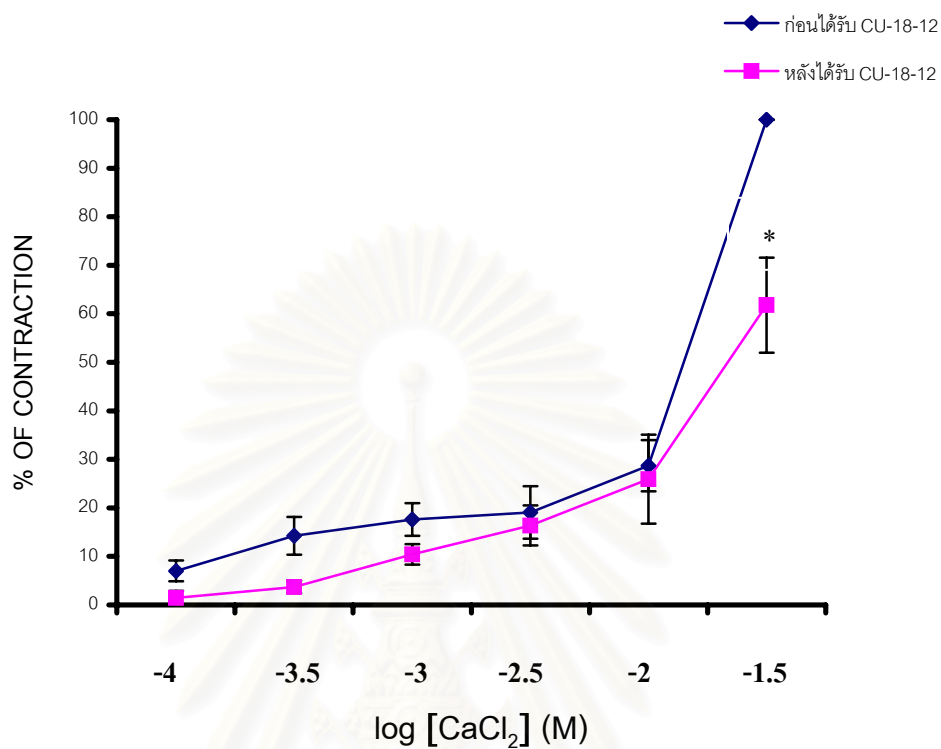
รูปที่ 71 กราฟแสดงผลของ CU-18-09 1×10^{-4} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อ นำอสุจิ ที่แยกจากหนูขาวส่วน prostatic half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative dose-response curve ในสารละลาย Ca^{2+} -free depolarizing solution (n=6)

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มก่อนได้รับสารทดสอบ ($p < 0.05$)



รูปที่ 72 การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน prostatic half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 ใน Ca^{2+} -free depolarizing solution
 a. ก่อนได้รับ CU-18-12
 b. หลังได้รับ CU-18-12 $1 \times 10^{-4} \text{ M}$

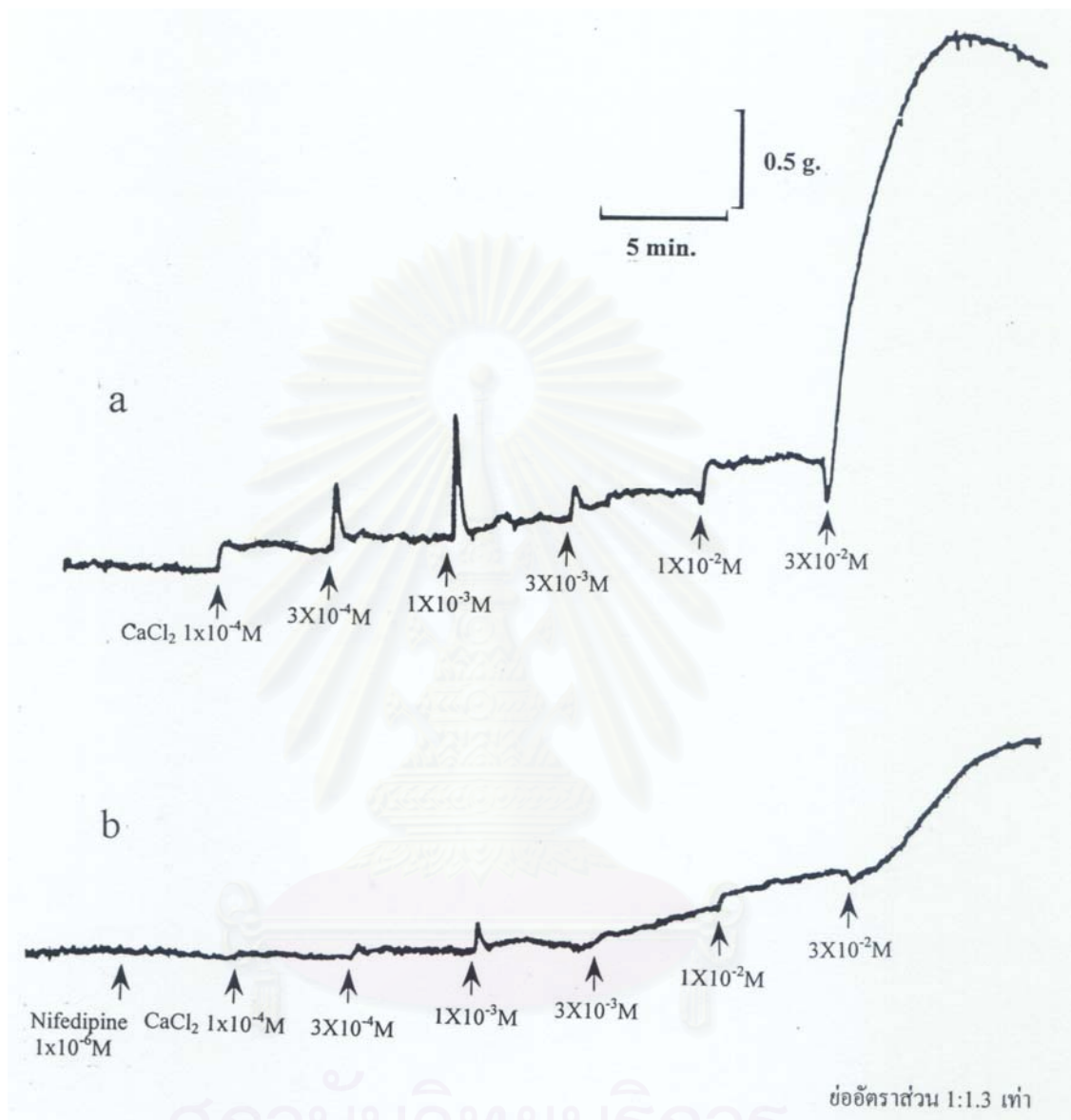


รูปที่ 73 กราฟแสดงผลของ CU-18-12 1×10^{-4} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อ นำอสุจิ ที่แยกจากหนูขาวส่วน prostatic half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative dose-response curve ในสารละลาย Ca^{2+} -free depolarizing solution (n=6)

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มก่อนได้รับสารทดสอบ ($p < 0.05$)

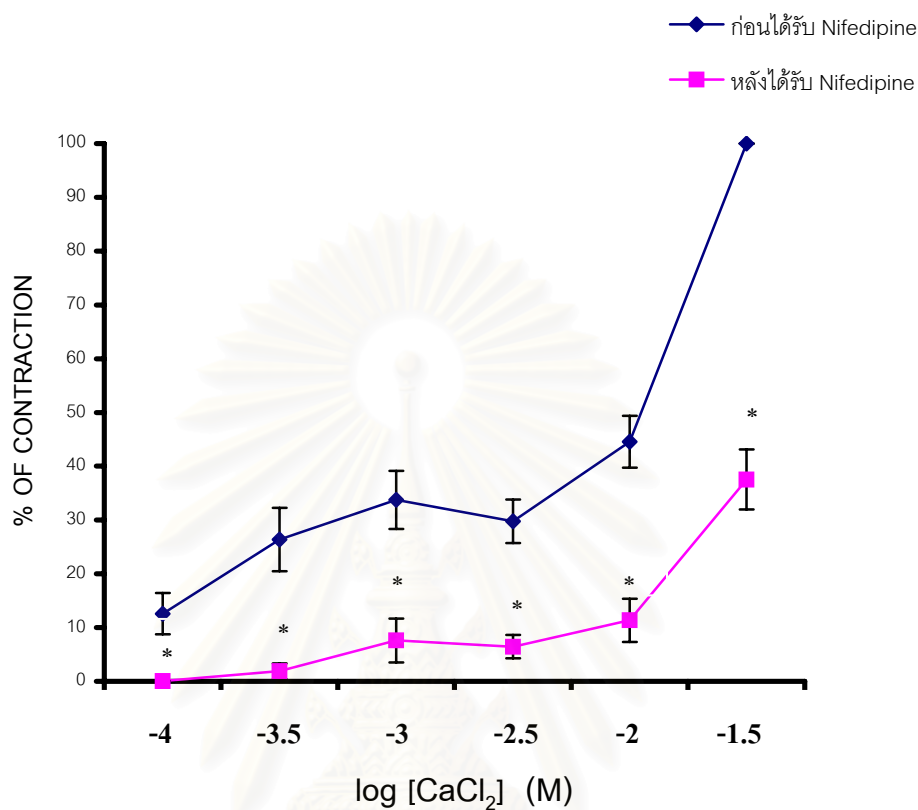
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 74 การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน prostatic half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 ใน Ca^{2+} -free depolarizing solution

a. ก่อนได้รับ Nifedipine

b. หลังได้รับ Nifedipine $1 \times 10^{-6} \text{ M}$



รูปที่ 75 กราฟแสดงผลของ Nifedipine 1×10^{-6} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน prostatic half เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative dose-response curve ในสารละลาย Ca^{2+} -free depolarizing solution (n=6)

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มก่อนได้รับสารทดสอบ ($p < 0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2 ค่า pD_2 ของ CU-18-07, CU-18-09, CU-18-12 และ nifedipine ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวเมื่อถูกกระตุ้นด้วย $CaCl_2$ แบบ cumulative dose-response curve ใน Ca^{2+} -free depolarizing solution

สารทดสอบ	pD_2 (n=6)
CU-18-07 1×10^{-4} M	4.02 ± 0.19
CU-18-09 1×10^{-4} M	5.01 ± 0.14
CU-18-12 1×10^{-4} M	3.74 ± 0.20
nifedipine 1×10^{-6} M	6.23 ± 0.01

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 5

อภิปรายและสรุปผลการทดลอง

1. ผลของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวเมื่อถูกกระตุ้นด้วยสารกระตุ้นต่างๆ ใน Krebs-Henseleit solution(KHS)

Krebs-Henseleit solution เป็นสภาวะปกติของเซลล์ซึ่งมี Ca^{2+} เป็นส่วนประกอบอยู่ภายนอกเซลล์ การกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวด้วยสารกระตุ้นต่างๆ ได้แก่ NE และ 5-HT ซึ่งเป็นตัวกระตุ้นการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} ผ่านทาง receptor-operated Ca^{2+} channel(ROC) และ $BaCl_2$, KCl เป็นตัวกระตุ้นการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} ผ่านทาง voltage-operated Ca^{2+} channel(VOC) จะทำให้กล้ามเนื้อเรียบเกิดการหดตัวตอบสนองต่อสารกระตุ้นแต่ละตัวได้โดยมีลักษณะที่แตกต่างกัน การวัดผลในส่วน rhythmic contraction ซึ่งเกิดจากการกระตุ้นด้วย NE, 5-HT และ $BaCl_2$ สำหรับในการศึกษานี้ใช้วิธีการวัดความแรงของการหดตัว(ความสูงของ rhythmic contraction) ณ ที่จุดเวลาหนึ่งซึ่งอาจไม่ใช่วิธีการวัดผลที่ดีนักแต่คงพอที่จะใช้บอกแนวโน้มต่างๆได้เท่านั้น เนื่องจากลักษณะการหดตัวของ rhythmic contraction มีการหดตัวแบบไม่สม่ำเสมอ(fluctuation)และจากข้อจำกัดของเครื่องมือที่ใช้ในการทดลองซึ่งไม่สามารถวัดความถี่ในการหดตัวของกล้ามเนื้อออกมาเป็นจำนวนครั้งได้ การเสนอผลในส่วน rhythmic contraction ที่ดีควรวัดออกมาเป็นงานในช่วงเวลาหนึ่ง หรือ งาน(work) = ความสูง x ความถี่ของการหดตัว ดังนั้นในการศึกษานี้จึงขอใช้ผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในส่วน phasic contraction เป็นหลักมากกว่า rhythmic contraction เนื่องจาก phasic contraction เป็นการหดตัวส่วนที่มีความชัดเจนที่สุดและเป็นส่วนที่เกิดการตอบสนองได้อย่างรวดเร็วต่อการกระตุ้นและการเปลี่ยนแปลงต่างๆ โดยผลของสารสังเคราะห์ต่อการหดตัวส่วน phasic contraction จากการกระตุ้นด้วยสารกระตุ้นต่างๆเมื่ออยู่ในสภาวะแวดล้อมของเซลล์ที่แตกต่างกันได้ถูกนำมาสรุปไว้ในตารางที่ 3 เพื่อให้สามารถเห็นภาพโดยรวมได้ง่ายขึ้นและความสะดวกในการอภิปรายและสรุปผลการทดลอง

ตารางที่ 3 ตารางสรุปผลของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ต่อการหดตัวส่วน phasic contraction ของกล้ามเนื้อเรียบในท่อน้ำอสุจิที่แยกจากหนูขาวซึ่งถูกกระตุ้นด้วยสารกระตุ้นต่างๆ ใน KHS และ Ca^{2+} -free KHS และค่า pD_2 ใน Ca^{2+} -free depolarizing solution

solution	สาร	CU-18-07 1×10^{-4} M	CU-18-09 1×10^{-4} M	CU-18-12 1×10^{-4} M
	สังเคราะห์ สารกระตุ้น			
Krebs-Henseleit solution	NE	94.34±3.62 %	0.59±1.13 %*	72.21±5.76 %*
	5-HT	54.85±9.90 %*	3.92±1.36 %*	24.15±5.12 %*
	BaCl ₂	67.81±9.50 %	22.02±6.16 %*	54.80±9.29 %*
	KCl	21.69±8.59 %*	4.14±1.04 %*	49.03±6.42 %*
Ca ²⁺ -free Krebs-Henseleit solution	NE	79.35±13.72 %	78.96±13.30 %	56.95±13.93 %
	5-HT	99.75±2.96 %	100.98±6.83 %	62.01±7.14 %*
	KCl	85.56±13.73 %	80.54±9.47 %	82.84±13.57 %
	Caffeine	-	-	40.43±3.35 %
	นาที่ที่ 2	-	-	66.36±4.94 %*
	นาที่ที่ 4	-	-	77.74±4.55 %*
Ca ²⁺ -free depolarizing solution	นาที่ที่ 6	-	-	85.16±4.68 %*
	นาที่ที่ 8	-	-	91.49±43.37%
	นาที่ที่ 10	-	-	-
Ca ²⁺ -free depolarizing solution	pD_2	4.02±0.19	5.01±0.14	3.74±0.20

- แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม ($p < 0.05$)

CU-18-07 สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิซึ่งถูกกระตุ้นด้วย KCl ได้ดีที่สุดในกลุ่มของสารกระตุ้น ซึ่งกลไกหลักในการกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของ KCl คือเพิ่ม permeability ต่อ Ca^{2+} กระตุ้นให้มีการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} ผ่านทาง voltage-operated Ca^{2+} channel (VOC) ดังนั้นการยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบซึ่งถูกกระตุ้นด้วย KCl จึงน่าจะมีผลต่อการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} จากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ รองลงมาคือ 5-HT ซึ่งปกติจะถูกยับยั้งการหดตัวได้ด้วย Ca^{2+} channel inhibitor เหมือนกับการกระตุ้นด้วย KCl (Hay and Wadsworth, 1982a) แต่พบว่าในส่วนของ rhythmic contraction กลับมีความถี่ในการหดตัวเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน ซึ่ง rhythmic contraction จากการกระตุ้นด้วย 5-HT เป็นการหดตัวส่วนที่เกิดจากการกระตุ้น Ca^{2+} channel ผ่าน 5-HT receptor (Hay and Wadsworth, 1982b) และผลต่อ rhythmic contraction ดังกล่าวยังคล้ายกับผลต่อการหดตัวส่วน rhythmic contraction จากการกระตุ้นด้วย $BaCl_2$ ซึ่งการหดตัวส่วนนี้เป็นส่วนที่ต้องอาศัย Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์เช่นกัน ถ้าคิดเป็นงาน(work)ของการหดตัวในส่วนนี้พบว่างานของการหดตัวในส่วนนี้จะเพิ่มขึ้น ทั้งนี้ยังไม่ทราบกลไกที่ทำให้เกิดผลดังกล่าวแต่ลักษณะที่เกิดขึ้นดังกล่าวนี้คล้ายกับการศึกษาผลของ verapamil ต่อการหดตัวส่วน rhythmic contraction ของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิซึ่งถูกกระตุ้นด้วย $BaCl_2$ ซึ่งจากผลการศึกษาดังกล่าวพบว่า verapamil ในขนาดต่ำๆ (10.2 - 20.4 μ M) จะลดความแรงในการหดตัว (amplitude) ของ rhythmic contraction ในขณะที่มีความถี่ในการหดตัว (frequency) เพิ่มมากขึ้น และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นสูงขึ้นถึง 100 μ M เป็นต้นไปพบว่าจะยับยั้งความถี่ในการหดตัวของ rhythmic contraction (Hay and Wadsworth, 1983a) ขณะที่ CU-18-07 ไม่สามารถยับยั้งการหดตัวส่วน phasic contraction จากการกระตุ้นด้วย $BaCl_2$ และ NE ดังที่แสดงในตารางที่ 3 แต่กลับพบว่าเมื่อมีผลต่อ rhythmic contraction มากกว่าโดยทำให้มีความถี่ในการหดตัวเพิ่มมากขึ้นจากการกระตุ้นด้วย $BaCl_2$ ดังที่กล่าวมาแล้ว ขณะที่ผลต่อ NE นั้นพบว่าสามารถยับยั้งทั้งความถี่และความแรงในการหดตัวลง โดยการหดตัวที่เกิดขึ้นจากการกระตุ้นด้วย NE เป็นผลมาจากการกระตุ้นผ่าน α_1 -adrenoceptor ซึ่งเป็น receptor ที่ couple อยู่กับ G_q protein ทำให้ได้ second messenger คือ IP_3 ซึ่งจะกระตุ้นให้มีการหลั่ง Ca^{2+} ออกจากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์และทำให้มีการหดตัวของกล้ามเนื้อเกิดขึ้น โดยการหดตัวส่วน phasic contraction จะเป็นผลจากการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} จากภายในเซลล์และส่วน rhythmic contraction เป็นส่วนที่ต้องอาศัย Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์ซึ่งจะสามารถถูกยับยั้งได้ด้วย Ca^{2+} channel inhibitor และในสภาวะที่ไม่มี Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์ (Hay and Wadsworth, 1983b) ดังนั้นการที่ CU-18-07 ความสามารถในการยับยั้งความถี่และความแรงในการหดตัวของ rhythmic contraction จากการกระตุ้นด้วย NE จึงเป็นไปได้ว่า CU-18-07 อาจมีผลต่อการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} จากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์มากกว่าจะมีผลต่อการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} ภายในเซลล์จากการกระตุ้นด้วย NE ผลดังกล่าวสามารถยืนยันได้จากความสามารถในการยับยั้งการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+}

จากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ด้วยวิธีการกระตุ้นด้วย CaCl_2 ใน Ca^{2+} -free depolarizing solution ซึ่งมีค่า pD_2' เท่ากับ 4.02 ± 0.19 ในขณะที่ไม่สามารถยับยั้งการหดตัวจากการกระตุ้นด้วยสารกระตุ้นต่างในสภาวะที่ไม่มี Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์ได้ ดังนั้นจากความสามารถของ CU-18-07 ในการยับยั้งการหดตัวจากการกระตุ้นด้วยสารต่างจึงน่าจะเป็นผลมาจากการยับยั้งการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} จากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์เป็นหลักมากกว่าที่จะมีผลต่อการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} ภายในเซลล์ โดยสามารถยับยั้งการหดตัวที่เกิดจากการกระตุ้นของสารต่างๆผ่านทั้งทาง receptor-operated Ca^{2+} channel (ROC) และ voltage-operated Ca^{2+} channel (VOC) เมื่อเรียงลำดับตามความสามารถในการยับยั้งการหดตัวของสารสังเคราะห์ต่อสารกระตุ้นต่าง ๆ พบว่า CU-18-07 มีความสามารถในการยับยั้งการหดตัวซึ่งถูกกระตุ้นด้วย KCl ได้ดีรองมาจาก CU-18-09 ขณะที่สามารถยับยั้งการหดตัวจากการกระตุ้นด้วย NE, 5-HT และ BaCl_2 ได้ต่ำกว่าสารสังเคราะห์ตัวอื่น ซึ่งผลดังกล่าวน่าจะเป็นผลมาจากความสามารถของ CU-18-07 ในการยับยั้งการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} จากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์เป็นหลักดังที่ได้กล่าวมาแล้ว ขณะที่การกระตุ้นด้วย KCl เป็นการกระตุ้นการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} จากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์โดยตรง ดังนั้นจึงสามารถยับยั้งการหดตัวจากการกระตุ้นด้วย KCl ได้ดีกว่าการหดตัวจากสารกระตุ้นตัวอื่น ๆ ที่มีผลมาจากการกระตุ้นการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} จากภายในเซลล์ด้วย

CU-18-09 สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบซึ่งถูกกระตุ้นด้วย NE ได้ดีที่สุดในกลุ่มของสารกระตุ้น รองลงมาคือ 5-HT, KCl และ BaCl_2 ตามลำดับดังที่แสดงในตารางที่ 3 โดยสามารถยับยั้งการหดตัวลงได้ทั้งส่วน phasic contraction และ rhythmic contraction จากการกระตุ้นด้วย NE, 5-HT และ BaCl_2 ได้ดีพอ ๆ กันทั้ง 2 ส่วนแม้ว่าสารกระตุ้นเหล่านี้จะมีกลไกในการกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่แตกต่างกันและยังอาศัยกลไกในการกระตุ้นการหดตัวที่เกิดขึ้นแต่ละส่วนที่แตกต่างกันดังที่เคยกล่าวมาแล้วในตอนต้น ซึ่งในสภาวะปกติที่มี Ca^{2+} เป็นส่วนประกอบอยู่ภายนอกเซลล์นั้นดูเหมือนว่า CU-18-09 จะมีความสามารถในการยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบจากสารกระตุ้นต่างๆ ได้ดีกว่าสารสังเคราะห์อีก 2 ชนิดด้วย แต่ในสภาวะที่ไม่มี Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์กลับพบว่า CU-18-09 ไม่สามารถยับยั้งการหดตัวที่เกิดขึ้นจากการกระตุ้นด้วยสารกระตุ้นต่างๆ ได้แก่ NE, 5-HT และ BaCl_2 ดังนั้นจึงอาจเป็นไปได้ว่าความสามารถในการยับยั้งการหดตัวของ CU-18-09 เป็นผลมาจากการยับยั้งการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} จากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ได้มากกว่าสารสังเคราะห์ตัวอื่นๆ ซึ่งจากผลต่อ cumulative dose-response curve ของ CaCl_2 เป็นส่วนที่ช่วยยืนยันความสามารถในการยับยั้งการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} จากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ของ CU-18-09 เนื่องจากพบว่า CU-18-09 มีค่า pD_2' สูงกว่าสารสังเคราะห์ตัวอื่น ๆ โดยมีค่า pD_2' เท่ากับ 5.01 ± 0.14 ดังในตารางที่ 3 จากผลดังกล่าวชี้ให้เห็นว่าความสามารถในการยับยั้งการหดตัวของ CU-18-09 น่าจะเป็นผลมา

จากการยับยั้งการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์เป็นหลักซึ่งเป็นผลมาจากการกระตุ้นของสารต่างๆที่ผ่านทาง ROC และ VOC

CU-18-12 สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบซึ่งถูกกระตุ้นด้วย 5-HT ได้ดีที่สุดในกลุ่มของสารกระตุ้น รองลงมาคือ KCl, $BaCl_2$ และ NE ตามลำดับดังในตารางที่ 3 ซึ่งคล้ายกับ CU-18-09 ที่สามารถยับยั้งการหดตัวจากการกระตุ้นด้วยสารกระตุ้นต่างๆได้ทุกตัว ทั้งนี้ นอกจากจะมีผลยับยั้ง phasic contraction ของ KCl ซึ่งเป็นการหดตัวที่ต้องอาศัย Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์ดังที่เคยกล่าวมาแล้ว CU-18-12 ยังสามารถยับยั้ง phasic contraction จากการกระตุ้นด้วย NE, 5-HT และ $BaCl_2$ ซึ่งเป็นผลมาจากการกระตุ้นให้มีการหลั่ง Ca^{2+} ออกจากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์นอกเหนือจากการกระตุ้นให้ Ca^{2+} จากภายนอกเคลื่อนที่ผ่านเข้าไปภายในเซลล์ ในขณะที่มีผลต่อ rhythmic contraction ไม่ชัดเจนเหมือน CU18-09 ทั้งนี้ น่าจะเป็นไปได้ว่า CU-18-12 นั้นอาจมีผลต่อการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} จากภายในเซลล์ซึ่งเกิดจากการกระตุ้นของสารกระตุ้นเหล่านี้ด้วยก็เป็นได้ ซึ่งจากผลต่อการหดตัวในสภาวะที่ไม่มี Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์นั้นพบว่า CU-18-12 สามารถยับยั้งการหดตัวเมื่อถูกกระตุ้นด้วย 5-HT โดยสอดคล้องกับผลการศึกษาซึ่งทำในกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารของหนูขาวเมื่อถูกกระตุ้นด้วย 5-HT ในสภาวะที่ไม่มี Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์เช่นเดียวกัน จากการศึกษาในครั้งนั้นพบว่า CU-18-12 หรือ CU 763-16-04 สามารถยับยั้งการหดตัวที่เกิดขึ้นได้อย่างที่นัยสำคัญทางสถิติ(คณิตา, 2542) ส่วนผลต่อ NE ในสภาวะที่ไม่มี Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์นั้นแม้ว่าจะไม่สามารถยับยั้งการหดตัวที่เกิดขึ้นได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติแต่ก็พบว่าแรงหดตัวหลังได้รับ CU-18-12 มีแนวโน้มลดลงมากกว่าสารสังเคราะห์ตัวอื่นๆ นอกจากนี้ CU-18-12 ยังแสดงให้เห็นว่ามีความสามารถในการยับยั้งการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์ได้อีกด้วยแม้ว่าความสามารถดังกล่าวจะต่ำกว่าสารสังเคราะห์ตัวอื่นๆก็ตามโดยมีค่า pD_2 เท่ากับ 3.74 ± 0.20 ในการยับยั้งการหดตัวจากการกระตุ้นด้วยสารกระตุ้นต่างๆนั้นพบว่า CU-18-12 มีความสามารถในการยับยั้งการหดตัวจากการกระตุ้นด้วย NE, 5-HT และ $BaCl_2$ ได้ดีรองจาก CU-18-09 ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจากความสามารถของ CU-18-12 ซึ่งเสริมกันในการยับยั้งการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} ทั้งจากภายนอกเซลล์และภายในเซลล์จึงทำให้ดูเหมือนว่า CU-18-12 มีความสามารถในการยับยั้งการหดตัวซึ่งถูกกระตุ้นด้วย NE, 5-HT และ $BaCl_2$ ได้สูงกว่า CU-18-07 ขณะที่สามารถยับยั้งการหดตัวจากการกระตุ้นด้วย KCl ได้น้อยที่สุดในกลุ่มสารสังเคราะห์ที่นำมาศึกษาในครั้งนี้นี้ซึ่งสัมพันธ์กับความสามารถในการยับยั้งการเคลื่อนที่ของจากภายนอกเซลล์ซึ่งต่ำกว่าสารสังเคราะห์ตัวอื่นๆโดยเปรียบเทียบได้จากค่า pD_2 ซึ่งมีค่าต่ำที่สุด

2. ผลของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ในสภาวะที่ไม่มี Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวเมื่อถูกกระตุ้นด้วยสารกระตุ้นต่างๆ

Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit solution เป็นสภาวะที่ไม่มี Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์ ดังนั้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่ถูกกระตุ้นใน Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit solution จึงเป็นผลมาจากการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} ภายในเซลล์โดยไม่มี Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์เข้ามาเกี่ยวข้อง ซึ่งพบว่า NE สามารถกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาวให้เกิดการหดตัวในสภาวะที่ไม่มี Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์ได้ซึ่งมีลักษณะเป็นแบบ transient contraction และจะยังคงมี tonic contraction ค้างอยู่เล็กน้อย (Karaki et al., 1997) การหดตัวที่เกิดขึ้นเป็นผลมาจากการกระตุ้นผ่าน α_1 -adrenoceptor และได้ IP_3 กระตุ้นให้มีการหลั่ง Ca^{2+} ออกจากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์ สำหรับการศึกษาที่พบว่า NE สามารถกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half ในสภาวะที่ไม่มี Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์ได้และมีลักษณะการหดตัวที่คล้ายกับในหลอดเลือดคือเป็นแบบ phasic และตามด้วย tonic contraction แทนที่จะเป็นแบบ rhythmic contraction ดังใน KHS ผลดังกล่าวเป็นการยืนยันให้เห็นว่า phasic contraction เป็นส่วนที่ต้องอาศัย Ca^{2+} ที่ถูกหลั่งออกมาจากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์ และ rhythmic contraction เป็นส่วนที่ต้องอาศัย Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์ เช่นเดียวกับการศึกษาที่ผ่านมา (Hay and Wadsworth, 1983b) และจากผลของสารสังเคราะห์ทั้ง 3 ชนิดนั้นอาจมีผลต่อการหลั่ง Ca^{2+} ออกจากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์ซึ่งถูกกระตุ้นด้วย NE โดยพบว่า การหดตัวที่เกิดขึ้นจากการกระตุ้นด้วย NE ในสภาวะที่ไม่มี Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์พบว่าผลที่ได้มีความเบี่ยงเบนแตกต่างกันมากซึ่งทำให้ได้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานกว้างแต่ก็ทำให้ได้ข้อมูลที่แสดงให้เห็นว่าแรงหดตัวที่เกิดขึ้นหลังได้รับสารสังเคราะห์แต่ละตัวมีแนวโน้มลดลงแม้ว่าจะไม่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติก็ตาม โดยเฉพาะ CU-18-12 มีผลทำให้การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบมีแนวโน้มลดลงมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสังเคราะห์ตัวอื่นๆ ซึ่งต่างจากการกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบด้วย NE ใน KHS โดยพบว่า CU-18-12 มีความสามารถในการยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้รองมาจาก CU-18-09 ในขณะที่ CU-18-09 มีความสามารถในการยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้แทบจะสมบูรณ์เมื่ออยู่ในสภาวะปกติที่มี Ca^{2+} เป็นส่วนประกอบอยู่ภายนอกเซลล์

การกระตุ้นด้วย 5-HT ซึ่งเป็นการกระตุ้นผ่าน 5-HT₂ receptor ที่เป็น G-protein coupled receptor เช่นเดียวกับ α_1 -adrenoceptor ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ว่า 5-HT น่าจะมีความสามารถในการกระตุ้นให้มีการหลั่ง Ca^{2+} ออกจากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์ผ่าน IP_3 ได้

เช่นเดียวกับ NE และจากผลที่ได้ก็พบว่า 5-HT สามารถกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ ในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน epididymal half ในสภาวะที่ไม่มี Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์ได้เช่นกันแม้ว่าการหดตัวที่เกิดขึ้นจะมีแรงในการหดตัวเกิดขึ้นน้อยมากเมื่อเปรียบเทียบกับกระตุ้นด้วย NE ก็ตาม ลักษณะของการหดตัวยังคงเป็นแบบ phasic และตามด้วย tonic contraction โดยลักษณะของ rhythmic contraction ดังใน KHS จะหายไป ผลดังกล่าวจึงช่วยยืนยันได้ว่า phasic contraction ส่วนหนึ่งน่าจะเป็นผลมาจาก Ca^{2+} ที่ถูกปล่อยออกมาจากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์และ rhythmic contraction เป็นผลมาจากการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์ จากผลของสารสังเคราะห์ทั้ง 3 ชนิดพบว่า มีเพียง CU-18-12 เท่านั้นที่สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในสภาวะที่ไม่มี Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์ซึ่งถูกกระตุ้นด้วย 5-HT ทั้งๆที่เมื่ออยู่ในสภาวะปกติที่มี Ca^{2+} เป็นส่วนประกอบอยู่ภายนอกเซลล์พบว่าสารสังเคราะห์ทั้ง 3 นี้สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้ดีจากการกระตุ้นด้วย 5-HT

สำหรับ KCl พบว่าสามารถกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาวให้เกิดการหดตัวในสภาวะที่ไม่มี Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์ได้ (กุลยา, 2541) และจากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า KCl สามารถกระตุ้นให้มีการหลั่งสารสื่อประสาท NE และ 5-HT จากปลายประสาทได้ ดังนั้นจึงได้นำ KCl มาใช้เป็นตัวกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในการศึกษาส่วนนี้ซึ่งก็พบว่า KCl สามารถกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวส่วน prostatic half ได้จริงโดยยังไม่ทราบกลไกที่แน่ชัด ซึ่งจากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า KCl สามารถกระตุ้นให้มีการหลั่งสารสื่อประสาทอย่าง NE และ 5-HT จากปลายประสาทได้แต่เนื่องจากสารสื่อประสาทเหล่านี้จะมีความสำคัญต่อ epididymal half มากกว่า prostatic half ดังนั้นการหดตัวที่เกิดขึ้นส่วนใหญ่จึงไม่น่าเป็นผลจากสารสื่อประสาทที่ถูกปล่อยออกมา หรืออีกกลไกหนึ่งที่มีความเป็นไปได้จากการศึกษาอื่นซึ่งพบว่า KCl สามารถกระตุ้นการหลั่ง Ca^{2+} ออกจาก microsomes และ mitochondria ในท่อนำอสุจิของหนูขาวได้ (Saad and Huddart, 1981) ดังนั้นจึงทำให้ลักษณะการหดตัวจากการกระตุ้นด้วย KCl มีลักษณะแปลกๆคือจะมีแรงหดตัวเพิ่มขึ้นแบบไม่เป็นระเบียบ ซึ่งไม่พบลักษณะดังกล่าวในการหดตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาวด้วยเช่นกัน (กุลยา, 2541) จากผลของสารสังเคราะห์ทั้ง 3 ชนิดพบว่าไม่สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบซึ่งถูกกระตุ้นด้วย KCl ในสภาวะที่ไม่มี Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์ ซึ่งผลดังกล่าวมีความแตกต่างจากผลต่อการกระตุ้นด้วย NE และ 5-HT ในสภาวะเดียวกันทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก CU-18-12 มี กลไกในการยับยั้งผ่านตัวกระตุ้นได้แตกต่างกัน โดยการกระตุ้นการหดตัวของ KCl มี กลไกการกระตุ้นและแหล่งที่มาของ Ca^{2+} แตกต่างจาก NE และ 5-HT ซึ่งเป็น G-protein coupled receptor อาศัย IP_3 กระตุ้นให้มีการหลั่ง Ca^{2+} ออกจาก SR หรืออาจกล่าวได้ว่าสารสังเคราะห์ทั้ง 3 ชนิดซึ่งรวมถึง CU-18-12 ไม่มีผลต่อการหลั่ง Ca^{2+} ออกจาก microsomes หรือ mitochondria และเพื่อจะดูผลของ CU-18-12 ต่อ caffeine จึงได้ทำการศึกษาต่อโดยการกระตุ้นการหดตัว

ด้วย caffeine ซึ่ง caffeine นี้มีกลไกการกระตุ้นให้มีการหลั่ง Ca^{2+} ออกจากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์ได้แตกต่างกันออกไปอีก ทั้งนี้จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า caffeine สามารถกระตุ้นการหลั่ง Ca^{2+} ออกจาก SR ด้วยกลไกที่เรียกว่า calcium-induced calcium release (CICR) โดยจะเพิ่มความไวของกระบวนการ CICR ต่อ Ca^{2+} ซึ่งจะทำให้มีการหลั่ง Ca^{2+} จาก SR ได้โดยไม่ต้องเพิ่มความเข้มข้นของ Ca^{2+} จากระดับปกติในขณะพัก (Ford and Podolsky, 1972 และ Karaki and Weiss, 1988) ในสภาวะที่ปราศจาก Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์ caffeine จะกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาวได้โดยมีลักษณะเป็น transient contraction (Karaki et al., 1997) ซึ่งแตกต่างจากการกระตุ้นในกล้ามเนื้อเรียบที่นำอสุจิของหนูขาวที่ได้ในการศึกษานี้ซึ่งมีลักษณะการหดตัวเป็นแบบ tonic contraction โดยการหดตัวจะค่อยๆ เพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ และคงที่ในที่สุด จากผลของ CU-18-12 พบว่าสามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบซึ่งถูกกระตุ้นด้วย caffeine ในช่วงแรกหลังจากที่ถูกกระตุ้นได้ซึ่งอาจเป็นผลมาจาก CU-18-12 กัดการหลั่ง Ca^{2+} ออกจาก SR ให้ช้าลงในช่วงแรกหลังถูกกระตุ้นเท่านั้นแต่ไม่สามารถยับยั้งหลังจากที่กล้ามเนื้อเกิดการหดตัวเต็มที่ ดังนั้น CU-18-12 น่าจะมีผลต่อการหลั่ง Ca^{2+} ออกจากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์ซึ่งถูกกระตุ้นด้วย NE, 5-HT และ caffeine ซึ่งสารกระตุ้นเหล่านี้มีกลไกในการกระตุ้นให้มีการหลั่งของ Ca^{2+} ออกจากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์ที่แตกต่างกัน ทั้งนี้เนื่องมาจากการกระตุ้นด้วย NE และ 5-HT จะอาศัยกระบวนการที่เรียกว่า IP_3 -induce calcium release (IICR) โดยอาศัยการจับระหว่าง IP_3 กับตัวรับจำเพาะที่อยู่บน SR แล้วกระตุ้นให้มีการหลั่ง Ca^{2+} ออกจาก SR ซึ่งแตกต่างจากกระบวนการ CICR ของ caffeine

3. ผลของ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวต่อ cumulative dose response curve ของ $CaCl_2$

การกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบด้วย $CaCl_2$ แบบ cumulative dose response curve เป็นวิธีการของ Hof และ Vuorela (1983) ซึ่งเป็นวิธีการทดลองที่มีความจำเพาะในการยับยั้งการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} จากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ผ่าน Ca^{2+} channels โดย Ca^{2+} -free depolarizing solution เป็นสภาวะที่เอื้ออำนวยให้มีการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} จากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ด้วยวิธีการ depolarize membrane ทำให้ voltage-dependent Ca^{2+} channels เปิดออกและเพื่อให้ได้ข้อมูลที่ชัดเจนมากขึ้นจึงควรทำการทดลองเพื่อดูว่าสารสังเคราะห์ดังกล่าวมีผลต่อการยับยั้งการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์หรือมีความสามารถในการยับยั้ง Ca^{2+} channels หรือไม่ ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าการตอบสนองของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนู

ชาวต่อ CaCl_2 แบบ cumulative dose response curve ซึ่งโดยรวมแล้วการหดตัวที่เกิดขึ้นจะเพิ่มขึ้นตามปริมาณของ CaCl_2 ที่เพิ่มสูงขึ้น แม้ว่าการหดตัวในบางช่วงจะไม่สัมพันธ์ไปกับปริมาณ CaCl_2 ที่เพิ่มขึ้นเหมือนกับการหดตัวของหลอดเลือดทั้งนี้อาจเนื่องมาจากคุณลักษณะของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แตกต่างจากของหลอดเลือดแดงนั่นเอง จากผลการทดลองนั้นพบว่าสารสังเคราะห์ทั้ง 3 ซึ่งได้แก่ CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 มีความสามารถในการเป็น Ca^{2+} channel inhibitor โดยมีลักษณะเป็นแบบ non competitive antagonist ซึ่งความสามารถในการยับยั้ง Ca^{2+} channel ของสารสังเคราะห์แต่ละตัวยังมีความแตกต่างกันอีกด้วย จากค่า pD_2 สามารถลำดับความแรงของสารได้ดังนี้คือ $\text{CU-18-09} > \text{CU-18-07} > \text{CU-18-12}$ ซึ่งจากลำดับความแรงของสารดังกล่าวพบว่าสารแต่ละตัวต้องอาศัยความเข้มข้นที่แตกต่างกันประมาณ 10 เท่าที่จะสามารถยับยั้ง Ca^{2+} channels ได้ในระดับที่เท่ากัน อย่างไรก็ตามแม้ว่า CU-18-09 จะสามารถยับยั้งการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} ผ่าน Ca^{2+} channels ได้แรงที่สุดในกลุ่มของสารสังเคราะห์แต่ความสามารถในการยับยั้ง Ca^{2+} channels นั้นยังคงน้อยกว่า nifedipine ประมาณ 10 เท่า

ความแตกต่างของสูตรโครงสร้างทางเคมีของสารสังเคราะห์ทั้ง 3 ที่นำมาทำการศึกษาในครั้งนี้ซึ่งมีการเปลี่ยนโครงสร้างหลักของสารจาก pyridine derivative เป็น aniline derivative รวมทั้งความแตกต่างของ functional group พบว่ามีส่วนสำคัญที่ทำให้ความสามารถในการยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบนั้นมีความแตกต่างกันไปด้วย CU-18-12 ซึ่งเป็น pyridine derivative สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้นอกเหนือจากการทำหน้าที่เป็น Ca^{2+} channel inhibitor แล้วยังมีความสามารถในการรบกวนการหลั่ง Ca^{2+} ออกจากแหล่งสะสมภายในเซลล์ได้ด้วยอีกทางหนึ่ง ขณะที่การแทนที่ pyridine ring ด้วย aniline ring พบว่าสารดังกล่าวจะมีความสามารถในการเป็น Ca^{2+} channel inhibitor ได้ดีกว่า นอกจากนี้ความแตกต่างของ functional group บน aniline ring ยังทำให้มีความสามารถในการยับยั้ง Ca^{2+} channel ได้แตกต่างกัน ทั้ง CU-18-07 และ CU-18-09 ซึ่งเป็น aniline derivative เหมือนกันแต่มี functional group เป็นหมู่ $-\text{OCH}_3$ กับ $-\text{NO}_2$ พบว่า CU-18-09 ซึ่งมี functional group เป็นหมู่ $-\text{NO}_2$ จะมีความสามารถในการยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบสูงกว่า CU-18-07 ซึ่งมี functional group เป็นหมู่ $-\text{OCH}_3$

สรุปผลการทดลอง

CU-18-07, CU-18-09 และ CU-18-12 สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อ นำอสุจิที่แยกจากหนูขาวได้โดยการยับยั้งการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} จากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ จากสารกระตุ้นที่ทำให้ Ca^{2+} เกิดการเคลื่อนที่ผ่านทาง Ca^{2+} channel ทั้งชนิดที่เป็น receptor operated Ca^{2+} channel (ROC) และ voltage operated Ca^{2+} channel (VOC) นอกจากนี้ยังอาจมีผลรบกวนการหลั่ง Ca^{2+} ออกจากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์ได้อีกด้วย โดย CU-18-12 ให้ผลที่เห็นชัดเจนที่สุดในกลุ่มในการยับยั้งการหลั่ง Ca^{2+} ออกจากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์ได้

จากผลการศึกษาดังกล่าวพอที่จะทำให้ทราบถึงกลไกในการยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาวซึ่งในการศึกษานี้ยังถือได้ว่าเป็นเพียงจุดเริ่มต้นของการทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่ยังจำเป็นต้องมีการศึกษาผลต่อเนื้อเยื่อชนิดอื่นๆเปรียบเทียบและศึกษากลไกการออกฤทธิ์โดยละเอียดมากขึ้นเนื่องจากสารเหล่านี้เป็นสารที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นใหม่และยังไม่มีผู้ทำการศึกษาสารเกี่ยวกับสารเหล่านี้มาก่อน แม้ว่าสารสังเคราะห์ดังกล่าวจะยังไม่สามารถที่จะนำมาใช้เป็นยาหรือนำมาใช้ให้เป็นประโยชน์ในทางเภสัชวิทยาได้ในระยะเวลาอันใกล้แต่ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้ น่าจะเป็นข้อมูลพื้นฐานและใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาต่อไป

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

- กุลยา สายชุ่มอินทร์. ผลของ CU 763-15-13 ต่อการหดตัวของลำไส้เล็ก หลอดเลือดแดงใหญ่ที่แยกจากกระต่าย และหลอดเลือดแดงใหญ่และท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต สาขาวิชาเภสัชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2541.
- คณิตา ยิ้มศรีใส. การเปรียบเทียบผลของ CU 763-16-04 และ CU 763-15-13 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารหนูขาวและผลของ CU 763-16-04 ต่อหลอดเลือดแดงใหญ่กระต่าย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2542.
- จันทร์ฉาย ประมุขกุล. ผลของ CU 763-15-13 และ CU 763-16-04 ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำสายสะดือมนุษย์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต สาขาวิชาเภสัชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2543.
- เฉลิมเกียรติ สงคราม. การสังเคราะห์อนุพันธ์ของ วิลโฟอิก แอซิก ที่ใช้ไฟริดอกซินเป็นโปรมอยเอที. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต ภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2539.
- ชำนาญ ภัทรพานิชและเพ็ญพิมล ผลทรัพย์. การสังเคราะห์อนุพันธ์ของ วิลโฟอิก แอซิก. (ม.ท.ป.เอกสารไม่ตีพิมพ์), 2542.
- วิฑูรย์ แซ่ตั้งและชัยพร บุญวรรณ. การสังเคราะห์และฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของอนุพันธ์ของเอซิลอะมิโน ไพริดีน และเอซิลอะนิลีน. วิทยานิพนธ์สาขาวิจัยและพัฒนาเภสัชภัณฑ์ ภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2543.
- สุธาทิพ เกษตรลักษณ์. ผลของ CU 763-15-01 ต่อหน้าที่ทางชีวพลังงานของไมโทคอนเดรียที่แยกจากตับหนูขาว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต สาขาวิชาเภสัชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2539.
- อัญชิษฐา ทิพย์วงศ์วิจิตร. ผลของอนุพันธ์เอ็นเอซิลอะมิโนไพริดีนต่อสมณะเอ็นไซม์ไมโทเอมิโนออกซิเดสและกระบวนการหายใจพอสไพริเลชัน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต

สหสาขาวิชาเภสัชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2543.

อุ้นเรื่อน แก้วพินิจ. ผลของ CU 763-15-13 ต่อหน้าที่ทางชีวพลังงานของไมโตรคอนเดรียที่แยก
จากตับหนูขาว. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต สหสาขาวิชาเภสัชวิทยา
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2541.

อุรวรัตน์ ศักดิ์สิทธิ์วัฒน์. ผลของ CU 763-10-01 ต่อกล้ามเนื้อเรียบที่แยกจากสัตว์ทดลอง.
วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาเภสัช คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์
มหาวิทยาลัย, 2539.

ภาษาอังกฤษ

Abond, R.; Shafit, M.; and Docherty, J. R. Investigation of subtype of α_1 adrenoceptor
Mediating contraction of rat aorta, vas deferens and spleen. Br. J. Pharmacol.
109(1993): 80-87.

Bolton, T.B. Mechanism of Action of Transmitters and other substances on Smooth
Muscle. Physio. Rev. 59(1979): 606-718.

Diaz-Toledo, A. and Jurkiwicz, A. Dissociation constants and relative efficacies estimated
from the function antagonism of β -adrenoceptor agonists on transmural
stimulation in rat vas deferens. Eur. J. Pharmacol. 191(1990): 137-165.

Ferris, C. D. and Synders, S. H. Inositol 1, 4, 5-triphosphate-activated calcium channels.
Ann. Rev. Physiol. 54(1992): 469-488.

Ford, L. E. and Podolsky, R. J. Calcium uptake and force development by skinned
muscle fiber in EGTA- buffered solution. J. Physiol. 223(1972): 1-9.

Fugura, M. S.; Lydford, S. J.; and Dougall, I. G. Pharmacological classification of α_1
adrenoceptors mediating contractions of rabbit isolated ear artery: Comparison
with rat isolated thoracic aorta. Br. J. Pharmacol. 120(1997): 247-258.

Hay, D. W. P. and Wadsworth, R. M. A comparison of the effects of some calcium
antagonists on drug-induced rhythmic contractions of the rat vas deferens.

Br. J. Pharmacol. 72(1981a): 563P-564P.

Hay, D. W. P. and Wadsworth, R. M. Potassium contractures in the rat isolated vas deferens: the role of noradrenaline release and extracellular calcium. Br. J. Pharmacol. 72(1981b): 143P-144P.

Hay, D. W. P. and Wadsworth, R. M. Effects of some organic calcium antagonists and other procedures affecting Ca^{++} translocation on KCl-induced contractions in the rat vas deferens. Br. J. Pharmacol. 76(1982a): 103-113.

Hay, D. W. P. and Wadsworth, R. M. The contractile effects of 5-hydroxytryptamine on the rat vas deferens. Br. J. Pharmacol. 77(1982b): 605-613.

Hay, D. W. P. and Wadsworth, R. M. The effects of calcium channel inhibitors and other procedures affecting calcium translocation on drug-induced rhythmic contractions in the rat vas deferens. Br. J. Pharmacol. 79(1983a): 347-362.

Hay, D. W. P. and Wadsworth, R. M. The effects of calcium channel inhibitors on twitches and noradrenaline contractions of the rat bisected vas deferens. Eur. J. Pharmacol. 87(1983b): 367.

Hay, D. W. P. and Wadsworth, R. M. Effects of KCl on ^{45}Ca uptake and efflux in the vas deferens. Br. J. Pharmacol. 81(1984): 441-447.

Hof, R. P. and Vuorela, H. J. Assessing calcium antagonism on vascular smooth muscle: A comparison three methods. J. Pharmacol. Methods. 9(1983): 41-52.

Kamishima, T.; Nelson, M. T.; and Patlak, J. B. Carbachol modulates voltage sensitivity of calcium channels in bronchial smooth muscle of rats. Am. J. Physiol. 263(1992): 63-77.

Karaki, H., et al. Calcium movements, Distribution, and Function in smooth muscle. Physiol. Rev. 49(2)(1997): 157-230.

Karaki, H.; Suzuki, T.; Ozaki, H.; Urakawa, N.; and Ishida, Y. Dissociation of K^{+} -induced

tension and cellular Ca^+ retention in vascular and intestinal smooth muscle in normoxia and hypoxia. Pfluegers Arch. 394(1982): 118-123. (abstract)

Karaki, H. and Weiss, G. B. Calcium release in smooth muscle. Life Sci. 42(1988): 11-122.

Kasuya, Y. and Suzuki, N. Variation in postjunctional natures along the length of the rat vas deferens as a cause of regional difference in the sensitivity to norepinephrine. Arch. Int. Pharmacodyn., 241(1979): 24-31.

Kowarski, d.; Shuman, H.; Somlyo, A. R.; and Somlyo, A. V. Calcium release by norepinephrine from dental sarcoplasmic reticulum in rabbit main pulmonary artery smooth muscle. J. Physiol. 366(1985): 153-176.

Kremer, S. G.; Breuer, W. V.; and Skorecki, K. L. Vasoconstrictor hormones depolarization renal glomerular mesangial cells by activating chloride channels. J. Cell Physiol. 138(1989): 97-105.

Kuriyama, H.; Kitamura, K.; and Inoue, R. Physiological feature of visceral smooth muscle cells, with special reference to receptors and ion channels. Physiol. Rev. 78(2) (1998): 812-920.

Kuriyama, H.; Kitamura, K.; and Nabata, H. Pharmacological and physiological significance of ion channels and factors that modulate them in vascular tissue. Pharmacol. Rev. 47(1995): 387-573.

Mishra, S. K., Das, P. K. and Sanyal, A. K. Barium-induced contraction of rat vas deferens in calcium-free solution. Arch. Int. Pharmacodyn. 244(1988): 85-98.

Mitchell, J. A.; Shen, H.; Forstermann, U.; and Murad, F. Characterization of nitric oxide syntase in non-adrenergic non-cholinergic nerve containing tissue from the rat anococceus muscle. Br. J. Pharmacol. 104(1991): 289-291.

Murumutsu, I.; Kigoshi, S.; and Oshita, M. Two distinct α_1 -adrenoceptors subtypes involved in noradrenaline contraction of the rabbit thoracic aorta. Br. J. Pharmacol. 102(1990): 215-221.

- Nelson, M. T.; Standen, N. B.; Brayden, J. E.; and Worley, J. F. Noradrenaline contracts arteries by activating voltage-dependent calcium channels. Nature. 336(1988): 382-385.
- Nguyen, D. W. P.; Thoa, D. E.; and Worley, J. F. The accumulation of C14-serotonin in the guinea pig vas deferens. J. Pharmacol. Exp. Ther. 138(1969): 360-375.
- Nishino, K.; Irikura, T.; and Takayanagi, I. Mode of action of 5-hydroxytryptamine on isolated rat vas deferens. Nature. 228(1970): 564-565.
- Ogawa, Y. Role of ryanodine receptors. Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol. 29(1994): 229-274. (abstract)
- Ozawa, H. and Katsuragi, T. Ouabain-induced potentiation on the contractions of the guinea-pig vas deferens. Eur. J. Pharmacol. 25(1974): 147-154.
- Pacaud, P. and Bolton, T. B. Relation between muscarinic receptor cationic current and internal calcium in guinea-pig jejunal smooth muscle cell. J. Physiol. 441(1991): 477-499.
- Patrica, G. A.; Morage, E. D.; and McGrath, J. G. An analysis of the anatomical basis for the mechanical response to motor nerve stimulation of the rat vas deferens. J. Physiol. 273(1977): 23-43.
- Pennefather, J. N.; Vardolov, L.; and Heath, P. Regional variation in the response of the rat vas deferens to field stimulation, to noradrenaline and to tyramine. Clin. Exp. Pharmac. Physiol. 1(1974): 451-462.
- Poli, E.; Todorov, S.; Pozzli, C.; and Bertaccini, G. Presynaptic histamine H₂ Receptors modulate the synaptic nerve transmission in the isolated rat vas deferens ; no role for H₃-Receptor. Agent Actions. 42(3-4) (1994): 95-100. (abstract)
- Quast, U. Do the K⁺ channel openers relax smooth muscle by opening K⁺ channel?. Trend. Pharmacol. Sci. 14(1993): 332-337.

- Rudy, B. Diversity and ubiquity of K channels. Neuroscience. 25(1988): 729-749.
- Saad, K. H. M. and Huuddart, H. Influence of noradrenaline and KCl on calcium translocation in rat vas deferens smooth muscle and its subcellular fractions. Gen. Pharmacol. 12(1981): 373-380. (abstract)
- Sakai, K.; Yamagishi, T.; and Uchida, M. Intracellular site of "Calcium reserval" : inhibition of uterine smooth muscle contraction in calcium-free medium by a minute amount of calcium ion released from mitochondria by drug. Gen. Pharmacol. 17(1986): 151-156. (abstract)
- Salaughter, R.; Sheveril, J. L.; Felix, J. P.; Garcia, M. L.; and Kaczorowshi, G. J. Hight level of sodium-calcium exchange in vascular smooth muscle sarcolemma membrane vesicles. Biochemistry. 28(1989): 3995-4002.
- Shimodan, M. and Sunano, S. The initiation of phasic and tonic contraction by potassium and the effect of calcium, multvent cations Ca-antagonist on potassium contracture in guinea-pig vas deferens. Jap. J. Physiol. 31(1981): 15-27. (abstract)
- Song, Z. M.; Bookes, S. J. H.; Gibbns, I. L.; and Costa, M. NADPH-diaphorase and other neuronal marks in nerve and ganglia supplying the guinea pig vas deferens. J. Auton. Nerve. Syst. 48(1994): 31-43. (abstract)
- Standen, n.; Quayle, J.; Davies, N.; Brayden, j.; Huang, Y.; and Nelson, M. Hyperpolarizing vasodilators activated ATP-sensitivity K⁺ channels in arterial smooth muscle. Science. 245(1989): 177-180. (abstract)
- Swamy, V. C.; Triggle, C. R.; and Triggle, D. J. The effects of lanthanum and thulium on the mechanical response of rat vas deferens. J. Physiol. 254(1976): 55-62.
- Syson, A. J. and Huddart, N. Contracture tension in rat vas deferens and ilea smooth muscle and its modification by external calcium tonicity of medium. Comp. Biochem. Physiol. 45A(1973): 345-362. (abstract)

- Thoa, N. B. and Maengwyn-Davies, J. G. The guinea-pig isolated vas deferens: a method for increasing sensitivity to drugs. J. Pharm. Pharmac. 20(1986): 873-876.
- Triggle, C. R.; Swamy, V. C.; and Triggle, D. J. Calcium antagonist and contractile response in the rat vas deferens and guinea-pig smooth muscle. Can. J. Physiol. Pharmac. 57(1979): 804-818. (abstract)
- Uvelius, B.; Sigurdsson, S. B.; and Johansson, B. Strontium and barium as substitutes for calcium on electrical and mechanical activity in rat portal vein. Blood Vessels. 11(1974): 245-259.
- Uvelius, B. and Sigurdsson, S. B. Stimulating effects of Ba^{2+} on contractile activity in the smooth muscle of rat portal vein. Acta. Physiol. Scand. 113(1981): 201-205. (abstract)
- Van Rossum, J. M. Cumulative dose-response curves. Technique for the marking of dose-response curve in isolated organs and the evaluation of parameters. Arch. Int. Pharmacodyn. 143(1963): 299-330.
- Vogalis, F.; Pubicover, N. G.; Hume, J. R.; and Sanders, K. M. Relationship between calcium current and cytosolic calcium in canine gastric smooth muscle cells. Am. J. Physiol. 262(1991): c1012-c1018.
- Wuytack, F.; Raeymaekers, L.; Shutter, C.; and Casteels, R. Demonstration of the phosphorylated intermediates of the Ca^{2+} -transport ATPase in a microsomal fraction and in a $(Ca^{2+}-Mg^{2+})$ -ATPase purified from smooth muscle by mean of calmodulin affinity chromatography. Biochem. Acta. 693(1982): 45-52.
- Yeon, H. S.; Akemichi, B.; Toshio, M.; and Heitaroh, I. 5-hydroxytryptamine modulation of electrically induced twitch response of mouse vas deferens : Involvement of multiple 5-hydroxytryptamine receptor. J. Pharmacol. Exp. Ther. 254(3) (1990): 1012-1016.

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวไสรัตติยา เจริญสมประสงค์ เกิดเมื่อวันที่ 12 กันยายน พ.ศ. 2517 จังหวัดฉะเชิงเทรา สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีพยาบาลศาสตรบัณฑิตจากวิทยาลัยพยาบาลสหภาพชาวไทยในปีการศึกษา 2539 และได้ศึกษาต่อในระดับปริญญาโทหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิตสาขาสหสาขาวิชาเภสัชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2543 ปัจจุบันประกอบวิชาชีพพยาบาลที่แผนก ไอ.ซี.ยู.ศัลยกรรม โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย