

ผลของสาร ซียู 18-07 ซียู 18-09 ซียู 18-12 และ ซียู 18-13 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ
ของหลอดเลือดแดงใหญ่ที่แยกจากหนูขาว



นางสาว อมรรัตน์ ขยันการนาวิ

สถาบันวิทยบริการ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเภสัชวิทยา สหสาขาวิชาเภสัชวิทยา


บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2545

ISBN 974-17-3370-4

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EFFECTS OF CU 18-07, CU 18-09, CU 18-12 AND CU 18-13 ON SMOOTH MUSCLE
CONTRACTION OF ISOLATED RAT AORTA



Miss Amonrat Khayungarnawee

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 974-17-3370-4

หัวข้อวิทยานิพนธ์ ผลของสาร ซียู 18-07 ซียู 18-09 ซียู 18-12 และ ซียู 18-13 ต่อการ
หดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดแดงใหญ่ที่แยกจากหนูขาว
โดย นางสาวอมรรัตน์ ชัยนการนาวิ
สาขาวิชา เกษัตริวิทยา (สหสาขา)
อาจารย์ที่ปรึกษา อ.ดร.สุรีย์ เจียรณมิ่งคล
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม รองศาสตราจารย์ ดร.ประสาน ธรรมอุปกกรณ์

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของการ
ศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(ศาสตราจารย์ ดร.สุชาติ กิระนนท์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ จันทน์ อธิพานิชพงศ์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(อ.ดร.สุรีย์ เจียรณมิ่งคล)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(รองศาสตราจารย์ ดร.ประสาน ธรรมอุปกกรณ์)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ วิทยา จันทสูตร)

นางสาวอมรรัตน์ ชัยนการนาวิ:ผลของสาร ซียู 18-07 ซียู 18-09 ซียู 18-12 และ ซียู 18 - 13 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดแดงใหญ่ที่แยกจากหนูขาว (EFFECTS OF CU18-07, CU 18-09, CU 18-12 AND CU 18-13 ON SMOOTH MUSCLE CONTRACTION OF ISOLATED RAT AORTA) อ.ที่ปรึกษา : อ.ดร.สุรีย เจริญมงคล, อ.ที่ปรึกษาร่วม:รองศาสตราจารย์ ดร.ประสาน ธรรมอุปกกรณ์ 145หน้า. ISBN 974-17-3370-4.

จากการศึกษาฤทธิ์เบื้องต้นทางเภสัชวิทยาการออกฤทธิ์ของสารสังเคราะห์ CU18-07, CU 18-09 และ CU 18-13 เป็นอนุพันธ์ของ acyl aniline และ CU 18-12 เป็นอนุพันธ์ของ acyl aminopyridine พบว่าสามารถลดการบีบตัวและคลายตัวที่เกิดขึ้นเองของลำไส้เล็กส่วน duodenum ของกระต่ายได้ ในการศึกษาที่ต้องการศึกษาผลของสารสังเคราะห์ทั้ง 4 ชนิดต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดแดงใหญ่ที่แยกจากหนูขาว โดยนำหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว พันธุ์ Wistar rats เพศผู้ น้ำหนักประมาณ 250-300 กรัม มาชุด endothelium ออกและนำไปแขวนใน organ bath ที่บรรจุ Krebs-Henseleit solution ปริมาณ 15 มิลลิลิตร ผลของสารสังเคราะห์ทั้ง 4 ชนิด (ขนาด $1 \times 10^{-5}M$ และ $1 \times 10^{-4}M$) สามารถเพิ่มการหดตัวของ noradrenaline (NA, $1 \times 10^{-6}M$) แตกต่างจากกลุ่มควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่เมื่อทดสอบกับหลอดเลือดที่ไม่ได้ชุด endothelium ออกพบว่า CU 18-09 และ CU 18-12 สามารถลดฤทธิ์การหดตัวได้ชัดเจน เมื่อกระตุ้นการหดตัวด้วย Potassium chloride (KCl, 40 mM) พบว่า CU 18-07 และ CU 18-09 ($1 \times 10^{-5}M$ และ $1 \times 10^{-4}M$) สามารถลดการหดตัวของหลอดเลือดได้ ในขณะที่ CU 18-12 และ CU 18-13 ขนาด $1 \times 10^{-5}M$ เพิ่มการหดตัวของหลอดเลือด เมื่อเพิ่มขนาดเป็น $5 \times 10^{-5}M$ และ $1 \times 10^{-4}M$ สามารถยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดได้ และสารสังเคราะห์ทั้ง 4 ชนิดสามารถลดการหดตัวของหลอดเลือดเมื่อกระตุ้นด้วย Tetraethylammonium (TEA, $1 \times 10^{-3}M$) ได้ชัดเจน รวมถึงลดการหดตัวเมื่อกระตุ้นการหดตัวด้วย Calcium chloride ($CaCl_2$) แบบสะสมขนาด เมื่อศึกษาผลของสารสังเคราะห์ต่อการหดตัวแบบ increase in the resting tone in aorta (IRT) พบว่าสารสังเคราะห์ทั้ง 4 ชนิด สามารถลดการเกิด IRT ได้ และสารสังเคราะห์ทั้ง 4 ชนิด สามารถลดการหดตัวของหลอดเลือดที่อยู่ในสารละลาย Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit เมื่อกระตุ้นการหดตัวด้วย NA ($1 \times 10^{-6}M$) และ Caffeine ($1 \times 10^{-2}M$) ได้ จากผลการศึกษาอาจกล่าวได้ว่า สารสังเคราะห์ทั้ง 4 ชนิด มีผลลดการเคลื่อนที่ของแคลเซียมจากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดโดยส่วนหนึ่งผ่านทาง voltage-operated Ca^{2+} channel (VOC) และบางส่วนมีผลต่อแคลเซียมจากภายในเซลล์ และการออกฤทธิ์ของสารสังเคราะห์ทั้ง 4 ต่อ NA เชื่อว่าเกี่ยวข้องกับ endothelium

ภาควิชา เภสัชวิทยา

สาขาวิชา เภสัชวิทยา (สหสาขา)

ปีการศึกษา 2545

ลายมือชื่อนิสิต.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา(ร่วม).....

4489121520 : MAJOR PHARMACOLOGY

KEYWORD: CU 18-07 ,CU 18-09 ,CU 18-12 ,CU 18-13 / VASCULAR SMOOTH MUSCLE / CALCIUM MOBILIZATION

MISS. AMONRAT KHAYUNGARNNAWEE : EFFECTS OF CU18-07, CU 18-09, CU 18-12 AND CU 18-13 ON SMOOTH MUSCLE CONTRACTION OF ISOLATED RAT AORTA : SUREE JIANMONGKOL , Ph.D., THESIS COADVISOR : ASSOC.PROF. PRASAN DHUMMA-UPAKORN, Ph.D.,145 pp. ISBN 974-17-3370-4.

It has been shown that CU 18-07, CU 18-09 and CU 18-13, the acyl aniline derivatives as well as CU 18-12 the acyl aminopyridine derivative reduced spontaneous contraction of isolated rabbit duodenum. This study was to investigate the effects of four synthetic compounds on the contractility of isolated rat aorta. The thoracic aortic strips were isolated from male Wistar rats (250-300g), denuded the endothelium layer and then suspended in an organ bath containing 15 ml Krebs-Henseleit solution. It was found that four synthetic compounds ($1 \times 10^{-5} \text{M}$ and $1 \times 10^{-4} \text{M}$) significantly potentiated the contractility induced by noradrenaline (NA, $1 \times 10^{-6} \text{M}$). However, CU 18-09 and CU 18-12 inhibited the contraction in aorta with endothelium layer. CU 18-07, CU 18-09 ($1 \times 10^{-5} \text{M}$ and $1 \times 10^{-4} \text{M}$) could suppress contraction induced by potassium chloride (KCl, 40 mM). CU 18-12 and CU 18-13 at the concentration of $1 \times 10^{-5} \text{M}$ potentiated the effects of KCl in inducing aortic contraction. However, at the concentration of $5 \times 10^{-5} \text{M}$ or $1 \times 10^{-4} \text{M}$, these compounds elicited the inhibitory effects on KCl – induced aortic contraction. Furthermore, the four compounds significantly inhibited the contraction induced by tetraethylammonium (TEA, $1 \times 10^{-3} \text{M}$) as well as suppressed CaCl_2 - induced contraction dose response curve. These four synthetic compounds suppressed an increase in the resting tone in aorta (IRT), and also inhibited the aortic contraction in Ca^{2+} free Krebs-Henseleit solution which induced by NA ($1 \times 10^{-6} \text{M}$) and caffeine ($1 \times 10^{-6} \text{M}$). The results from these experiments suggested that these four synthetic compounds interfered the entry of Ca^{2+} into intracellular space via voltage operated calcium channel (VOC) and partly interfered the intracellular Ca^{2+} mobilization. Moreover, these compounds might also influence the aortic contraction through mechanism involving endothelium layer.

Inter - Department of Pharmacology

Student's signature.....

Field of study Pharmacology

Advisor's signature.....

Academic year 2002

Co-advisor's signature.....

กิตติกรรมประกาศ

ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ อ.ดร.สุรีย์ เจียรณมงคล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และ รองศาสตราจารย์ ดร.ประสาน ธรรมอุปกรณ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำ ให้ความรู้ ตลอดจนความช่วยเหลือในทุกๆด้านเพื่อให้วิทยานิพนธ์สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชำนาญ ภัทรพานิช ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ และได้ส่งเคราะห์สารให้แก่การวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.มยุรี ตันติสิระ หัวหน้าภาควิชาเภสัชวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่กรุณาอำนวยความสะดวกในเรื่องการใช้สถานที่ เครื่องมือ และ อุปกรณ์ต่างๆ ในการทำวิจัย

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ จันทนี อิทธิพานิชพงศ์, ผู้ช่วยศาสตราจารย์ วิทยา จันทสูตร ที่ได้กรุณามาเป็นกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่าน ที่ได้ให้ความรู้ตลอดการศึกษาในระดับมหาบัณฑิต

ขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่กรุณาให้ทุนอุดหนุนการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้

สุดท้ายนี้ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณบิดามารดา ที่ให้กำลังใจเสมอมาจนสำเร็จการศึกษา และขอขอบคุณทุกท่านที่ได้มีส่วนช่วยเหลือในความสำเร็จของวิทยานิพนธ์

สารบัญ

บทที่	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญรูปภาพ.....	ฌ
สารบัญตาราง.....	ฉ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ.....	น
บทที่ 1 บทนำ	
บทนำ.....	1
วัตถุประสงค์.....	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับการวิจัย.....	3
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
การควบคุมแคลเซียมภายในเซลล์.....	5
แคลเซียมจากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์.....	6
กลไกการปลดปล่อยแคลเซียมจากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์.....	7
ความสัมพันธ์ระหว่างแคลเซียมภายในเซลล์และการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....	8
กลไกชักนำให้กล้ามเนื้อเรียบเพิ่มความไวต่อแคลเซียม.....	8
การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ที่แยกจากกายหนูขาว.....	8
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย..	
สัตว์ทดลอง เครื่องมือ สารเคมี สารทดสอบ และสารเคมีอื่นๆ.....	10
วิธีดำเนินการวิจัย	
1. การเตรียมหลอดเลือดแดงใหญ่ (aorta) หนูขาว.....	12
2. การทดลอง	
2.1 ศึกษาผลของสารทดสอบ เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วย NA, KCl และ TEA.....	13
ในสารละลาย Krebs-Henseleit	
2.2 ศึกษาผลของสารทดสอบ เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วย NA และ Caffeine.....	13
ในสารละลาย Ca ²⁺ -free Krebs-Henseleit	

บทที่	หน้า
2.3	14
ศึกษาผลของสารทดสอบ ต่อการเปลี่ยนแปลงการหดตัวของหลอดเลือด.....	
แดงใหญ่หนูขาวในขณะพัก[Increase in the resting tone in aorta (IRT)]	
2.4	16
ศึกษาผลของสารทดสอบ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่.....	
หนูขาวเมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 ใน calcium-free depolarization solution	
การวิเคราะห์ข้อมูล.....	16
การคำนวณค่า parameter.....	17
บทที่ 4 ผลการทดลอง	
1.	18
ผลการกระตุ้นในสารละลาย Krebs-Henseleit.....	
1.1 ผลการถูกกระตุ้นด้วย NA.....	18
1.2 ผลการถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM.....	37
1.3 ผลการถูกกระตุ้นด้วย TEA 1×10^{-3} M.....	58
2.	76
ผลการกระตุ้นด้วย ในสารละลาย Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit.....	
2.1 เมื่อถูกกระตุ้นด้วย noradrenaline (NA) 1×10^6 M.....	76
2.2 เมื่อถูกกระตุ้นด้วย caffeine 1×10^{-2} M.....	95
3.	101
ผลของสารทดสอบ ต่อการเปลี่ยนแปลงการหดตัวของหลอดเลือด.....	
แดงใหญ่หนูขาวในขณะพัก[Increase in the resting tone in aorta (IRT)]	
4.	116
ผลของสารทดสอบ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่.....	
หนูขาวเมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 ใน calcium-free depolarizing solution	
บทที่ 5 อภิปรายและสรุปผลการทดลอง.....	132
รายการอ้างอิง.....	139
ภาคผนวก.....	142
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	145

สารบัญภาพ

ภาพประกอบ	หน้า
1. แสดงสูตรโครงสร้างของอนุพันธ์ของ acyl aminopyridine derivatives.....	4
และ acyl aniline derivatives	
2. แสดงการควบคุมการหดตัวหรือคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด.....	5
3. กลไกการเพิ่มปริมาณแคลเซียมภายในเซลล์ของกล้ามเนื้อเรียบ.....	7
4. แสดงการเกิด increase in the resting tone in aorta (IRT).....	9
5. แสดงเครื่องมือที่ใช้ในการทดลองและ organ bath สำหรับ isolated rat aorta.....	11
6. แสดงรูปแบบการทดลองที่ใช้ในการประเมินผลของสารสังเคราะห์ต่อการเกิด IRT.....	16
7. แสดงผลของ DMSO ขนาด 0.03% v/v ต่อการหดตัวของ กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $NA\ 1 \times 10^{-6} M$ ในสารละลาย Krebs-Henseleit	20
8. กราฟแสดงผลของ DMSO ขนาด 0.03 % v/v ต่อการหดตัวของ..... กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $NA\ 1 \times 10^{-6} M$ ในสารละลาย Krebs-Henseleit	21
9. แสดงผลของ Nifedipine ขนาด $1 \times 10^{-6} M$ ต่อการหดตัวของ..... กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $NA\ 1 \times 10^{-6} M$ ในสารละลาย Krebs-Henseleit	22
10. กราฟแสดงผลของ Nifedipine ขนาด $1 \times 10^{-6} M$ ต่อการหดตัวของ..... กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $NA\ 1 \times 10^{-6} M$ ในสารละลาย Krebs-Henseleit	23
11. แสดงผลของ CU 18-07 ขนาด $1 \times 10^{-5} M$ ต่อการหดตัวของ..... กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $NA\ 1 \times 10^{-6} M$ ในสารละลาย Krebs-Henseleit	24
12. แสดงผลของ CU 18-07 ขนาด $1 \times 10^{-4} M$ ต่อการหดตัวของ..... กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $NA\ 1 \times 10^{-6} M$ ในสารละลาย Krebs-Henseleit	25
13. กราฟแสดงผลของ CU 18-07 ขนาด $1 \times 10^{-5} M$ และ $1 \times 10^{-4} M$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $NA\ 1 \times 10^{-6} M$ ในสารละลาย Krebs-Henseleit	26

สารบัญภาพ(ต่อ)

ญ

ภาพประกอบ	หน้า
14. แสดงผลของ CU 18-09 ขนาด $1 \times 10^{-5} M$ ต่อการหดตัวของ.....	27
กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NA $1 \times 10^{-6} M$ ในสารละลาย Krebs-Henseleit	
15. แสดงผลของ CU 18-09 ขนาด $1 \times 10^{-4} M$ ต่อการหดตัวของ.....	28
กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NA $1 \times 10^{-6} M$ ในสารละลาย Krebs-Henseleit	
16. กราฟแสดงผลของ CU 18-09 ขนาด $1 \times 10^{-5} M$ และ $1 \times 10^{-4} M$	29
ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NA $1 \times 10^{-6} M$ ในสารละลาย Krebs-Henseleit	
17. แสดงผลของ CU 18-12 ขนาด $1 \times 10^{-5} M$ ต่อการหดตัวของ.....	30
กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NA $1 \times 10^{-6} M$ ในสารละลาย Krebs-Henseleit	
18. แสดงผลของ CU 18-12 ขนาด $1 \times 10^{-4} M$ ต่อการหดตัวของ.....	31
กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NA $1 \times 10^{-6} M$ ในสารละลาย Krebs-Henseleit	
19. กราฟแสดงผลของ CU 18-12 ขนาด $1 \times 10^{-5} M$ และ $1 \times 10^{-4} M$	32
ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NA $1 \times 10^{-6} M$ ในสารละลาย Krebs-Henseleit	
20. แสดงผลของ CU 18-13 ขนาด $1 \times 10^{-5} M$ ต่อการหดตัวของ.....	33
กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NA $1 \times 10^{-6} M$ ในสารละลาย Krebs-Henseleit	
21. แสดงผลของ CU 18-13 ขนาด $1 \times 10^{-4} M$ ต่อการหดตัวของ.....	34
กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NA $1 \times 10^{-6} M$ ในสารละลาย Krebs-Henseleit	
22. กราฟแสดงผลของ CU 18-13 ขนาด $1 \times 10^{-5} M$ และ $1 \times 10^{-4} M$	35
ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NA $1 \times 10^{-6} M$ ในสารละลาย Krebs-Henseleit	

ภาพประกอบ

หน้า

23. กราฟแสดงผลของ CU 18-07, CU 18-09, CU 18-12 และ CU 18-13 ขนาด..... 36
 $1 \times 10^{-5} \text{M}$ และ $1 \times 10^{-4} \text{M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว
 เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $\text{NA } 1 \times 10^{-6} \text{M}$ ในสารละลาย Krebs-Henseleit
24. แสดงผลของ DMSO 0.03% v/v ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....39
 หลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $\text{KCl } 40 \text{ mM}$
 ในสารละลาย Krebs-Henseleit
25. กราฟแสดงผลของ DMSO 0.03% v/v ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....40
 หลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $\text{KCl } 40 \text{ mM}$
 ในสารละลาย Krebs-Henseleit
26. แสดงผลของ Nifedipine ขนาด $1 \times 10^{-6} \text{M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ..... 41
 หลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $\text{KCl } 40 \text{ mM}$
 ในสารละลาย Krebs-Henseleit
27. กราฟแสดงผลของ Nifedipine ขนาด $1 \times 10^{-6} \text{M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....42
 หลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $\text{KCl } 40 \text{ mM}$
 ในสารละลาย Krebs-Henseleit
28. แสดงผลของ CU 18-07 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....43
 หลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $\text{KCl } 40 \text{ mM}$
 ในสารละลาย Krebs-Henseleit
29. แสดงผลของ CU 18-07 ขนาด $1 \times 10^{-4} \text{M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....44
 หลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $\text{KCl } 40 \text{ mM}$
 ในสารละลาย Krebs-Henseleit
30. กราฟแสดงผลของ CU 18-07 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{M}$ และ $1 \times 10^{-4} \text{M}$ 45
 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว
 เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $\text{KCl } 40 \text{ mM}$ ในสารละลาย Krebs-Henselit
31. แสดงผลของ CU 18-09 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....46
 หลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $\text{KCl } 40 \text{ mM}$
 ในสารละลาย Krebs-Henseleit

สารบัญภาพ(ต่อ)

๗

ภาพประกอบ	หน้า
32. แสดงผลของ CU 18-09 ขนาด $1 \times 10^{-4} M$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ..... 47 หลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM ในสารละลาย Krebs-Henseleit	
33. กราฟแสดงผลของ CU 18-09 ขนาด $1 \times 10^{-5} M$ และ $1 \times 10^{-4} M$ 48 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM	
34. แสดงผลของ CU 18-12 ขนาด $1 \times 10^{-5} M$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ..... 49 หลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM ในสารละลาย Krebs-Henseleit	
35. แสดงผลของ CU 18-12 ขนาด $5 \times 10^{-5} M$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....50 หลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM ในสารละลาย Krebs-Henseleit	
36. แสดงผลของ CU 18-12 ขนาด $1 \times 10^{-4} M$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....51 หลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM ในสารละลาย Krebs-Henseleit	
37. กราฟแสดงผลของ CU 18-12 ขนาด $1 \times 10^{-5} M$, $5 \times 10^{-5} M$ และ $1 \times 10^{-4} M$ 52 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM	
38. แสดงผลของ CU 18-13 ขนาด $1 \times 10^{-5} M$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ..... 53 หลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM ในสารละลาย Krebs-Henseleit	
39. แสดงผลของ CU 18-13 ขนาด $5 \times 10^{-5} M$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ..... 54 หลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM ในสารละลาย Krebs-Henseleit	
40. แสดงผลของ CU 18-13 ขนาด $1 \times 10^{-4} M$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ..... 55 หลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM ในสารละลาย Krebs-Henseleit	

ภาพประกอบ

หน้า

41. กราฟแสดงผลของ CU 18-13 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{M}$, $5 \times 10^{-5} \text{M}$ และ $1 \times 10^{-4} \text{M}$56
 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว
 เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM
42. กราฟแสดงผลของ CU 18-07, CU 18-09, CU 18-12 และ CU 18-13.....57
 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{M}$, $5 \times 10^{-5} \text{M}$ และ $1 \times 10^{-4} \text{M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ
 หลอดเลือดแดงหนูขาวเมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM
43. แสดงผลของ DMSO ขนาด 0.03 % v/v ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....59
 หลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย TEA $1 \times 10^{-3} \text{M}$
 ในสารละลาย Krebs-Henseleit
44. กราฟแสดงผลของ DMSO ขนาด 0.03 % v/v ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....60
 หลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย TEA $1 \times 10^{-3} \text{M}$
45. แสดงผลของ Nifedipine ขนาด $1 \times 10^{-6} \text{M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....61
 หลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย TEA $1 \times 10^{-3} \text{M}$
 ในสารละลาย Krebs-Henseleit
46. กราฟแสดงผลของ Nifedipine ขนาด $1 \times 10^{-6} \text{M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....62
 หลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย TEA $1 \times 10^{-3} \text{M}$
47. แสดงผลของ CU 18-07 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....63
 หลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย TEA $1 \times 10^{-3} \text{M}$
 ในสารละลาย Krebs-Henseleit
48. แสดงผลของ CU 18-07 ขนาด $1 \times 10^{-4} \text{M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....64
 หลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย TEA $1 \times 10^{-3} \text{M}$
 ในสารละลาย Krebs-Henseleit
49. กราฟแสดงผลของ CU 18-07 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{M}$ และ $1 \times 10^{-4} \text{M}$ 65
 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว
 เมื่อถูกกระตุ้นด้วย TEA $1 \times 10^{-3} \text{M}$
50. แสดงผลของ CU 18-09 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ..... 66
 หลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย TEA $1 \times 10^{-3} \text{M}$
 ในสารละลาย Krebs-Henseleit

ภาพประกอบ	หน้า
51. แสดงผลของ CU 18-09 ขนาด $1 \times 10^{-4} M$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....	67
หลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย TEA $1 \times 10^{-3} M$	
ในสารละลาย Krebs-Henseleit	
52. กราฟแสดงผลของ CU 18-09 ขนาด $1 \times 10^{-5} M$ และ $1 \times 10^{-4} M$	68
ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว	
เมื่อถูกกระตุ้นด้วย TEA $1 \times 10^{-3} M$	
53. แสดงผลของ CU 18-12 ขนาด $1 \times 10^{-5} M$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....	69
หลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย TEA $1 \times 10^{-3} M$	
ในสารละลาย Krebs-Henseleit	
54. แสดงผลของ CU 18-12 ขนาด $1 \times 10^{-4} M$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....	70
หลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย TEA $1 \times 10^{-3} M$	
ในสารละลาย Krebs-Henseleit	
55. กราฟแสดงผลของ CU 18-12 ขนาด $1 \times 10^{-5} M$ และ $1 \times 10^{-4} M$	71
ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว	
เมื่อถูกกระตุ้นด้วย TEA $1 \times 10^{-3} M$	
56. แสดงผลของ CU 18-13 ขนาด $1 \times 10^{-5} M$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....	72
หลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย TEA $1 \times 10^{-3} M$	
ในสารละลาย Krebs-Henseleit	
57. แสดงผลของ CU 18-13 ขนาด $1 \times 10^{-4} M$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....	73
หลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย TEA $1 \times 10^{-3} M$	
ในสารละลาย Krebs-Henseleit	
58. กราฟแสดงผลของ CU 18-13 ขนาด $1 \times 10^{-5} M$ และ $1 \times 10^{-4} M$	74
ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว	
เมื่อถูกกระตุ้นด้วย TEA $1 \times 10^{-3} M$	
59. กราฟแสดงผลของ CU 18-07, CU 18-09, CU 18-12 และ CU 18-13.....	75
ขนาด $1 \times 10^{-5} M$ และ $1 \times 10^{-4} M$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ	
หลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย TEA $1 \times 10^{-3} M$	

ภาพประกอบ	หน้า
60. แสดงผลของ DMSO ขนาด 0.03 % v/v ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....	78
หลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $NA1 \times 10^{-6} M$	
ใน Ca^{2+} - free depolarizing solution	
61. กราฟแสดงผลของ DMSO ขนาด 0.03 % v/v ต่อการหดตัวของ.....	79
กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $NA1 \times 10^{-6} M$	
ใน Ca^{2+} - free depolarizing solution	
62. แสดงผลของ Nifedipine ขนาด $1 \times 10^{-6} M$ ต่อการหดตัวของ.....	80
กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $NA1 \times 10^{-6} M$	
ใน Ca^{2+} - free depolarizing solution	
63. กราฟแสดงผลของ Nifedipine ขนาด $1 \times 10^{-6} M$ ต่อการหดตัวของ.....	81
กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $NA1 \times 10^{-6} M$	
ใน Ca^{2+} - free depolarizing solution	
64. แสดงผลของ CU 18-07 ขนาด $1 \times 10^{-5} M$ ต่อการหดตัวของ.....	82
กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $NA1 \times 10^{-6} M$	
ใน Ca^{2+} - free depolarizing solution	
65. แสดงผลของ CU 18-07 ขนาด $1 \times 10^{-4} M$ ต่อการหดตัวของ.....	83
กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $NA1 \times 10^{-6} M$	
ใน Ca^{2+} - free depolarizing solution	
66. กราฟแสดงผลของ CU 18-07 ขนาด $1 \times 10^{-5} M$ และ $1 \times 10^{-4} M$ ต่อการหดตัวของ.....	84
กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $NA 1 \times 10^{-6} M$	
ใน Ca^{2+} - free depolarizing solution	
67. แสดงผลของ CU 18-09 ขนาด $1 \times 10^{-5} M$ ต่อการหดตัวของ.....	85
กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $NA1 \times 10^{-6} M$	
ใน Ca^{2+} - free depolarizing solution	
68. แสดงผลของ CU 18-09 ขนาด $1 \times 10^{-4} M$ ต่อการหดตัวของ.....	86
กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $NA1 \times 10^{-6} M$	
ใน Ca^{2+} - free depolarizing solution	

ภาพประกอบ

หน้า

69. กราฟแสดงผลของ CU 18-09 ขนาด $1 \times 10^{-5} M$ และ $1 \times 10^{-4} M$ ต่อการหดตัวของ.....87
 กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NA $1 \times 10^{-6} M$
 ใน Ca^{2+} - free depolarizing solution
70. แสดงผลของ CU 18-12 ขนาด $1 \times 10^{-5} M$ ต่อการหดตัวของ.....88
 กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NA $1 \times 10^{-6} M$
 ใน Ca^{2+} - free depolarizing solution
71. แสดงผลของ CU 18-12 ขนาด $1 \times 10^{-4} M$ ต่อการหดตัวของ.....89
 กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NA $1 \times 10^{-6} M$
 ใน Ca^{2+} - free depolarizing solution
72. กราฟแสดงผลของ CU 18-12 ขนาด $1 \times 10^{-5} M$ และ $1 \times 10^{-4} M$ ต่อการหดตัวของ.....90
 กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NA $1 \times 10^{-6} M$
 ใน Ca^{2+} - free depolarizing solution
73. แสดงผลของ CU 18-13 ขนาด $1 \times 10^{-5} M$ ต่อการหดตัวของ.....91
 กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NA $1 \times 10^{-6} M$
 ใน Ca^{2+} - free depolarizing solution
74. แสดงผลของ CU 18-13 ขนาด $1 \times 10^{-4} M$ ต่อการหดตัวของ.....92
 กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NA $1 \times 10^{-6} M$
 ใน Ca^{2+} - free depolarizing solution
75. กราฟแสดงผลของ CU 18-13 ขนาด $1 \times 10^{-5} M$ และ $1 \times 10^{-4} M$ ต่อการหดตัวของ.....93
 กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NA $1 \times 10^{-6} M$
 ใน Ca^{2+} - free depolarizing solution
76. กราฟแสดงผลของ CU 18-07, CU 18-09, CU 18-12 และ CU 18-13 ขนาด.....94
 $1 \times 10^{-5} M$ และ $1 \times 10^{-4} M$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว
 เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NA $1 \times 10^{-6} M$ ใน Ca^{2+} - free depolarizing solution
77. แสดงผลของ CU 18-07 ขนาด $1 \times 10^{-4} M$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ..... 96
 หลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย Caffeine ขนาด $1 \times 10^{-2} M$
 ใน Ca^{2+} - free depolarizing solution

สารบัญภาพ(ต่อ)

ด

ภาพประกอบ	หน้า
78. แสดงผลของ CU 18-09ขนาด 1×10^{-4} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....	97
หลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย Caffeine ขนาด 1×10^{-2} M ใน Ca^{2+} - free depolarizing solution	
79. แสดงผลของ CU 18-12 ขนาด 1×10^{-4} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....	98
หลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย Caffeine ขนาด 1×10^{-2} M ใน Ca^{2+} - free depolarizing solution	
80. แสดงผลของ CU 18-13 ขนาด 1×10^{-4} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....	99
หลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย Caffeine ขนาด 1×10^{-2} M ใน Ca^{2+} - free depolarizing solution	
81. กราฟแสดงผลของ CU 18-07, CU 18-09, CU 18-12 และ CU 18-13.....	100
ขนาด 1×10^{-4} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย Caffeine ขนาด 1×10^{-2} M ใน Ca^{2+} -free depolarizing solution	
82. แสดงผลของ DMSO ขนาด 0.03 % v/v ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....	103
หลอดเลือดแดงหนูขาวในขณะพัก [Increase in the resting tone in aorta (IRT)]	
83. กราฟแสดงผลของ DMSO ขนาด 0.03%v/vต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....	104
หลอดเลือดแดงหนูขาว ในขณะพัก [Increase in the resting tone in aorta (IRT)]	
84. แสดงผลของ Nifedipine 1×10^{-6} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดง.....	105
หนูขาวในขณะพัก [Increase in the resting tone in aorta (IRT)]	
85. กราฟแสดงผลของ Nifedipine 1×10^{-6} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....	106
หลอดเลือดแดงหนูขาว ในขณะพัก [Increase in the resting tone in aorta (IRT)]	
86. แสดงผลของ CU 18-07 1×10^{-5} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....	107
หลอดเลือดแดงหนูขาวในขณะพัก [Increase in the resting tone in aorta (IRT)]	
87. กราฟแสดงผลของ CU 18-07 1×10^{-5} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....	108
หลอดเลือดแดงหนูขาว ในขณะพัก [Increase in the resting tone in aorta (IRT)]	
88. แสดงผลของ CU 18-09 1×10^{-5} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....	109
หลอดเลือดแดงหนูขาวในขณะพัก [Increase in the resting tone in aorta (IRT)]	
89. กราฟแสดงผลของ CU 18-09 1×10^{-5} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....	110
หลอดเลือดแดงหนูขาว ในขณะพัก [Increase in the resting tone in aorta (IRT)]	

สารบัญภาพ(ต่อ)

ต

ภาพประกอบ	หน้า
90. แสดงผลของ CU 18-12 1×10^{-5} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....	111
หลอดเลือดแดงหนูขาวในขณะพัก [Increase in the resting tone in aorta (IRT)]	
91. กราฟแสดงผลของ CU 18-12 1×10^{-5} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....	112
หลอดเลือดแดงหนูขาวในขณะพัก [Increase in the resting tone in aorta (IRT)]	
92. แสดงผลของ CU 18-13 1×10^{-5} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....	113
หลอดเลือดแดงหนูขาวในขณะพัก [Increase in the resting tone in aorta (IRT)]	
93. กราฟแสดงผลของ CU 18-13 1×10^{-5} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ	114
หลอดเลือดแดงหนูขาวในขณะพัก [Increase in the resting tone in aorta (IRT)]	
94. กราฟแสดงผลของ CU 18-07, CU 18-09, CU 18-12 และ CU 18-13 ขนาด.....	115
1×10^{-5} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาวในขณะพัก	
[Increase in the resting tone in aorta (IRT)]	
95. แสดงผลของ Nifedipine ขนาด 1×10^{-6} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....	118
หลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative	
dose-response curve ใน calcium-free depolarization solution	
96. กราฟแสดงผลของ Nifedipine ขนาด 1×10^{-6} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....	119
หลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative	
dose-response curve ใน calcium-free depolarization solution	
97. แสดงผลของ CU 18-07 ขนาด 1×10^{-5} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....	120
หลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative	
dose-response curve ใน calcium-free depolarization solution	
98. แสดงผลของ CU 18-07 ขนาด 1×10^{-4} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....	121
หลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative	
dose-response curve ใน calcium-free depolarization solution	
99. กราฟแสดงผลของ CU 18-07 ขนาด 1×10^{-5} M และ 1×10^{-4} M ต่อการหดตัว.....	122
ของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2	
แบบ cumulative dose-response curve ใน calcium-free depolarization solution	

ภาพประกอบ	หน้า
100.แสดงผลของ CU 18-09 ขนาด 1×10^{-5} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....	123
หลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative dose-response curve ใน calcium-free depolarization solution	
101.แสดงผลของ CU 18-09 ขนาด 1×10^{-4} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....	124
หลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative dose-response curve ใน calcium-free depolarization solution	
102.กราฟแสดงผลของ CU 18-09 ขนาด 1×10^{-5} M และ 1×10^{-4} M ต่อการหดตัว.....	125
ของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative dose- response curve ใน calcium-free depolarization solution	
103.แสดงผลของ CU 18-12 ขนาด 1×10^{-5} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....	126
หลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative dose-response curve ใน calcium-free depolarization solution	
104.แสดงผลของ CU 18-12 ขนาด 1×10^{-4} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....	127
หลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative dose-response curve ใน calcium-free depolarization solution	
105.กราฟแสดงผลของ CU 18-12 ขนาด 1×10^{-5} M และ 1×10^{-4} M ต่อการหดตัว.....	128
ของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative dose-response curve ใน calcium-free depolarization solution	
106.แสดงผลของ CU 18-13 ขนาด 1×10^{-5} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....	129
หลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative dose-response curve ใน calcium-free depolarization solution	
107.แสดงผลของ CU 18-13 ขนาด 1×10^{-4} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ.....	130
หลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative dose-response curve ใน calcium-free depolarization solution	
108.กราฟแสดงผลของ CU 18-13 ขนาด 1×10^{-5} M และ 1×10^{-4} M ต่อการหดตัว.....	131
ของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative dose-response curve ใน calcium-free depolarization solution	

ภาพประกอบ	หน้า
109. แสดงผลของ CU 18-09 ขนาด $1 \times 10^{-4} M$ ต่อการหดตัวของ.....	143
กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาวที่มี endothelium เมื่อถูกกระตุ้นด้วย	
NA $1 \times 10^{-6} M$ ในสารละลาย Krebs-Henseleit	
110. แสดงผลของ CU 18-12 ขนาด $1 \times 10^{-4} M$ ต่อการหดตัวของ.....	144
กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาวที่มี endothelium เมื่อถูกกระตุ้นด้วย	
NA $1 \times 10^{-6} M$ ในสารละลาย Krebs-Henseleit	



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
1. แสดงค่า pD_2' ของ CU 18-07, CU 18-09, CU 18-12, CU 18-13 และ nifedipine ต่อการเคลื่อนที่เข้าออกของแคลเซียมในกล้ามเนื้อเรียบ หลอดเลือดแดงใหญ่ (aorta) เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $CaCl_2$ ใน calcium-free depolarization solution	117
2. แสดงส่วนประกอบ Physiological solution.....	142



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

SAR	Structure activity relationship
Ca ²⁺	calcium ion
GTP	guanosine 5'-triphosphate
PLC	phospholipase C
IP ₃	inositol 1,4,5-triphosphate
DAG	diacylglycerol
ATP	adenosine 5'-triphosphate
cAMP	cyclic adenosine 3',5'-monophosphate
cGMP	cyclic guanosine 3',5'-monophosphate
SR	sarcoplasmic reticulum
MLC	myosin light chain
MLCK	myosin light chain kinase
NA	noradrenaline
IRT	increase in the resting tone
CICR	Ca ²⁺ -induced Ca ²⁺ release
IICR	IP ₃ -induced Ca ²⁺ release
TEA	tetraethylammonium
KCl	potassium chloride
K ⁺	potassium ion
CaMKII	Ca ²⁺ -calmodulin-dependent protein kinase II
CaM	calmodulin
M	molar
mM	milimolar
ROC	receptor-operated Ca ²⁺ channel
VOC	voltage-operated Ca ²⁺ channel

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันมีการศึกษาพัฒนายาใหม่ โดยการเปลี่ยนแปลงสูตรโครงสร้างทางเคมี เนื่องจากสูตรโครงสร้างทางเคมีจะเป็นตัวกำหนด รูปร่าง ขนาด และประจุ ของโมเลกุล ซึ่งจะกำหนด intrinsic activity ของสาร และมีผลต่อ affinity ในการจับกับ receptor หากมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะโครงสร้างของโมเลกุลยา ก็จะมีผลเปลี่ยนแปลงฤทธิ์ของยาได้ ซึ่งหลักการนี้นำมาใช้ในการพัฒนายาใหม่ขึ้นมา เพื่อวัตถุประสงค์ให้ยาจับกับ receptor ที่ต้องการอย่างจำเพาะเจาะจง (selectivity & specificity) เพื่อเพิ่มความปลอดภัยในการใช้ยา และลดอาการไม่พึงประสงค์จากยาด้วย (Henry,2001)

จากการพัฒนาสารในกลุ่ม acyl aminopyridine derivatives และ acyl aniline derivatives ได้แก่ CU 18-07, CU 18-08, CU 18-09, CU 18-10, CU 18-11, CU 18-12 และ CU 18-13 (รูปที่ 1) พบว่าสารสังเคราะห์เหล่านี้สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในลำไส้กระต่ายส่วนต้น(duodenum)ได้ (วิฑูรย์ และชัยพร,2543) ซึ่งสารสังเคราะห์เหล่านี้มี functional group แตกต่างกันและอยู่บนตำแหน่งของ Benzene ring ที่แตกต่างกันดังรูป ทำให้มีความแรงในการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบแตกต่างกันด้วย ซึ่งเป็นผลเบื้องต้น และยังพบว่าอนุพันธ์ดังกล่าวมีผลทางเภสัชวิทยาต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดด้วย จึงเป็นที่น่าสนใจที่จะนำมาพัฒนาเป็นยาที่ใช้ในการรักษาโรคหัวใจและหลอดเลือดต่อไป (ปทุมมาศ,2544)

ในการเคลื่อนที่เข้าออกของแคลเซียมภายในเซลล์ สามารถศึกษาได้จากการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบเนื่องจากแคลเซียมเป็นตัวการสำคัญที่มีบทบาทในการควบคุมการหดตัวของกล้ามเนื้อซึ่งการหดตัวหรือคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดก็เป็นดังเช่นกล้ามเนื้อเรียบอื่นๆ คือ จะถูกควบคุมโดยแคลเซียมภายในเซลล์ และความไวของ contractile elements ต่อการเพิ่มขึ้นของแคลเซียม (Rang,*et al.*,1999)

ระดับแคลเซียมภายในเซลล์กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดขึ้นกับการเคลื่อนที่เข้าออกของแคลเซียมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ และแคลเซียมอิสระภายในเซลล์ ซึ่งแคลเซียมสามารถเคลื่อนที่ผ่านเข้าออกเซลล์ทาง Voltage -operated calcium channels (VOC) จากการเปลี่ยนแปลงทางศักย์ไฟฟ้าหรือการกระตุ้นด้วย high K^+ และแคลเซียมสามารถเคลื่อนที่ผ่านเข้าออกเซลล์ได้ทาง Receptor-operated calcium channels (ROC) จากการกระตุ้นด้วย noradrenaline (Rang,*et al.*,1999)

สำหรับการศึกษาการเคลื่อนที่เข้าออกของแคลเซียมภายในเซลล์ สามารถทำได้โดยศึกษาจากการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด ซึ่งมีหลายวิธี เช่นการศึกษาการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดที่ถูกกระตุ้นด้วย KCl ในสารละลาย Krebs-Henseleit หรือการศึกษาการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของที่ถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 ในสารละลาย Ca^{2+} free depolarizing เป็นต้น (Hof and Vuorela, 1983)

จากผลการศึกษาเบื้องต้นทางเภสัชวิทยาของสาร CU 18-08, CU 18-10 และ CU 18-11 ต่อการเคลื่อนที่เข้าออกของแคลเซียม โดยศึกษาจากการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด ซึ่งสารสังเคราะห์ดังกล่าวมี functional group เป็น methoxy group, nitro group และ nitrogen ที่ตำแหน่ง Meta ของ benzene ring เหมือนกัน พบว่าสารกลุ่มดังกล่าว มีผลต่อการเคลื่อนที่เข้าออกของแคลเซียมในกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดแดงใหญ่ที่แยกจากหนูขาว โดยที่ CU 18-08 และ CU 18-10 สามารถยับยั้งการเคลื่อนที่เข้าของแคลเซียมที่ผ่านทาง voltage-operated calcium channel (VOC) ส่วน CU 18-11 สามารถเพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบเมื่อถูกกระตุ้นด้วย noradrenaline ซึ่งเกี่ยวข้องกับการเพิ่มขึ้นของแคลเซียมอิสระในเซลล์จากการเคลื่อนที่เข้าของแคลเซียมโดยผ่านทาง VOC (ปทุมมาศ, 2544)

ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้จึงได้นำสารสังเคราะห์ CU 18-07, CU 18-09 และ CU 18-12 ซึ่งมี functional group ต่างกัน ได้แก่ methoxy group, nitro group และ nitrogen ที่อยู่บนตำแหน่ง Para ของ benzene ring ตามลำดับ เหมือนกัน ตลอดจน CU 18-13 ซึ่งเป็นสารสังเคราะห์ที่ไม่มี functional group อยู่บน benzene ring (รูปที่ 1) มาทำการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในการเคลื่อนที่เข้าออกของแคลเซียมในกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดแดงใหญ่ที่แยกจากหนูขาว เพื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างทางเคมีและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่มีผลต่อการเคลื่อนที่เข้าออกของแคลเซียมในกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดแดงใหญ่ และการเปลี่ยนแปลง vascular tone ของหลอดเลือดดังกล่าว

สมมติฐาน (Hypothesis)

สูตรโครงสร้างทางเคมีของ CU 18-07, CU 18-09, CU 18-12 และ CU 18-13 ซึ่งมี functional group ที่แตกต่างกันบนตำแหน่ง para ของ benzene ring มีผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ที่แยกจากหนูขาว

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย (Objective)

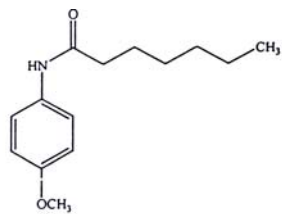
เพื่อศึกษาผลของสาร CU 18-07, CU 18-09, CU 18-12 และ CU 18-13 ต่อการเปลี่ยนแปลงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ที่แยกจากกายหนูขาว

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับการวิจัย

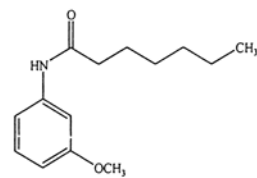
ข้อมูลเกี่ยวข้องกับ functional group ทั้ง 3 กลุ่มที่ตำแหน่ง para ของ benzene ring แสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างสูตรโครงสร้างทางเคมีของ CU 18-07, CU 18-09 , CU 18-12 และ CU 18-13 ในเชิงเภสัชวิทยาที่เกี่ยวข้องกับการเคลื่อนที่เข้าออกของแคลเซียม และการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ ซึ่งจะเป็นองค์ความรู้ที่จะนำไปประยุกต์ใช้หรือพัฒนาทางการแพทย์หรือทางเภสัชวิทยาต่อไป



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



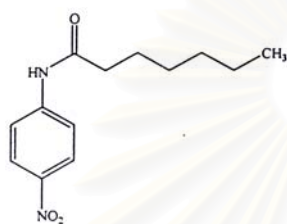
CU-18-07



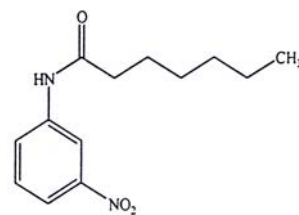
CU-18-08

N-heptanoyl-4-nitroaniline, MW = 235

N-heptanoyl-3-nitroaniline, MW = 235



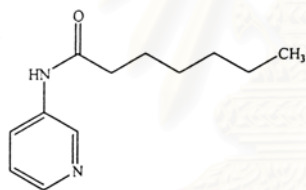
CU-18-09



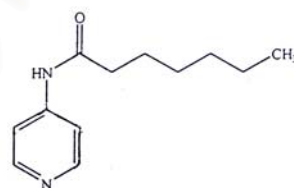
CU-18-10

N-heptanoyl-4-nitropyridine, MW = 250

N-heptanoyl-3-nitropyridine, MW = 250



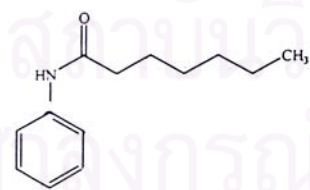
CU-18-11



CU-18-12

N-heptanoyl-3-aminopyrimidine, MW=206

N-heptanoyl-4aminopyrimidine, MW=206



CU-18-13

N-heptanoyl-aniline, MW = 205

รูปที่ 1 แสดงสูตรโครงสร้างของอนุพันธ์ของ acyl aminopyridine derivatives และ acyl aniline derivatives (วิฑูรย์ และชัยพร, 2543)

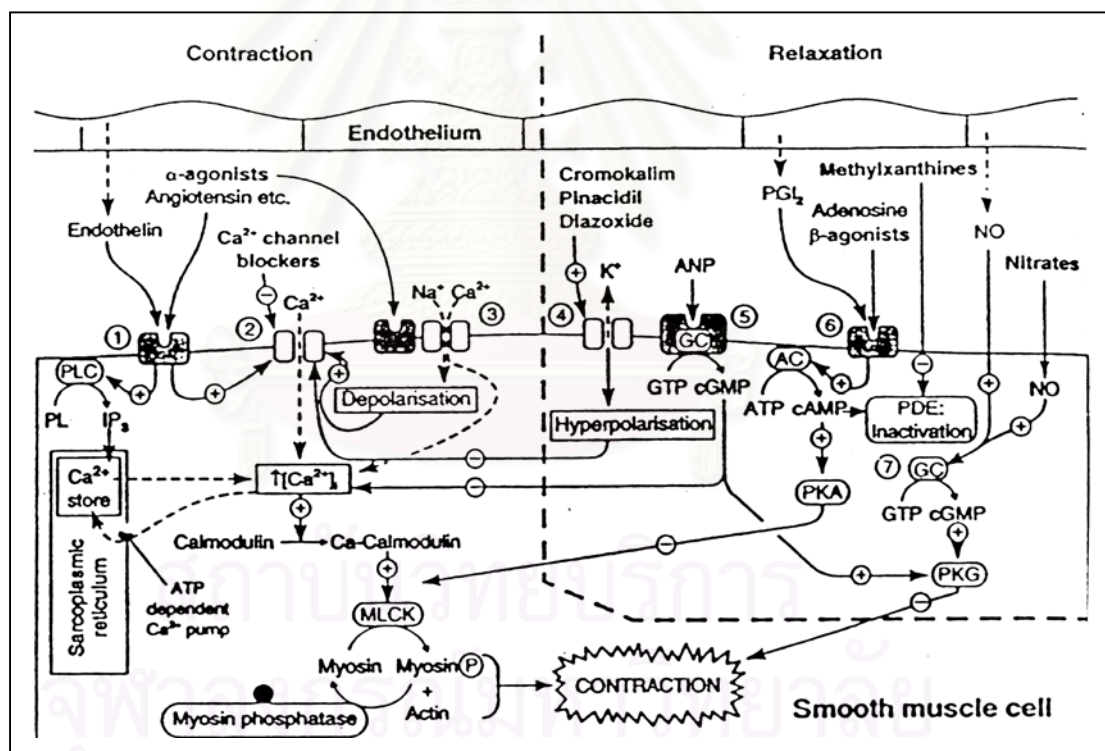
บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การหดตัวหรือคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดก็เป็นดังเช่นกล้ามเนื้อเรียบอื่นๆ คือจะถูกควบคุมโดยแคลเซียมภายในเซลล์ และความไวของ contractile elements ต่อการเพิ่มขึ้นของแคลเซียม (Rang, et al., 1999)

การควบคุมแคลเซียมภายในเซลล์

ระดับแคลเซียมภายในเซลล์กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด ขึ้นกับการเคลื่อนที่เข้าออกของแคลเซียมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ และแคลเซียมอิสระภายในเซลล์ ซึ่งแคลเซียมสามารถเคลื่อนที่ผ่านเข้าออกเซลล์ทาง Voltage-operated calcium channels (VOC) และ Receptor-operated calcium channels (ROC) (Rang, et al., 1999) (รูปที่ 2)



รูปที่ 2 แสดงการควบคุมการหดตัวหรือคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด

(Rang, et al., 1999)

VOC มีทั้งหมด 6 ชนิด ได้แก่ L-, N-, P-, Q-, R- และ T-type สำหรับในกล้ามเนื้อเรียบมีเพียงชนิดเดียว คือ L-Type calcium channel ซึ่งเป็นตัวที่มีบทบาทสำคัญในการเคลื่อนที่ผ่านเข้าออกของแคลเซียม (Lionel, 1998) โดยเมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงของศักย์ไฟฟ้าแล้วจึงเกิด

action potential ที่เยื่อหุ้มเซลล์ส่งผลให้เกิด depolarizing ขึ้น ทำให้ VOC เปิดออก แล้วจึงเกิดการเคลื่อนที่ของแคลเซียมภายนอกเซลล์ที่เข้ามาในเซลล์สูงขึ้น (Kuriyama, *et al.*,1995)

การกระตุ้นกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดหดตัวทำได้โดยการให้ high potassium (high K^+) เป็นตัวกระตุ้น ทำให้เกิด membrane depolarizing ส่งผลให้มีการเคลื่อนที่เข้าของแคลเซียมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ผ่านทาง VOC แสดงให้เห็นว่า high K^+ กระตุ้นการทำงานของกล้ามเนื้อเรียบโดยอาศัยแคลเซียมจากภายนอกเซลล์ (Noguera and D'Ocon,1993)

นอกจากนี้ กล้ามเนื้อเรียบสามารถหดตัวได้โดยปราศจากการเกิด membrane potential เช่น เมื่อกระตุ้นด้วย noradrenaline (NA) ซึ่งเป็น vasoconstrictors agonist จะมีความจำเพาะต่อ membrane bound receptor ได้แก่ α -adrenergic receptor ซึ่งเมื่อมีการกระตุ้น α -adrenergic receptor ดังกล่าว ทำให้มีการเปิดของ receptor-operated channels (ROC) สำหรับแคลเซียมโดยเฉพาะ ส่งผลให้แคลเซียมที่อยู่ภายนอกเซลล์จะเคลื่อนที่เข้ามาภายในเซลล์ นอกจากนี้ยังพบว่า เมื่อมีการกระตุ้นที่ α -adrenergic receptor ยังสามารถผลเพิ่มแคลเซียมจากภายในเซลล์ผ่านกระบวนการที่เกี่ยวข้องกับ inositol-1,4,5-triphosphate (IP_3) ซึ่งจะกระตุ้นให้มีการปล่อยแคลเซียมภายในเซลล์ซึ่งเก็บสะสมใน sarcoplasmic reticulum (SR) (David and Lois ,1997), (Guyton,2001) หลังจากการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแล้ว แคลเซียมที่มีมากเกินไปจะถูกนำออกนอกเซลล์โดยการทำงานของ Na^+/Ca^{2+} ATPase และ Na^+/Ca^{2+} exchanger (Rang,*et al.*,1999)

นอกจากการกระตุ้นกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดหดตัวด้วยไฟฟ้าและ noradrenaline ผ่านทาง α -adrenergic receptor แล้ว ยังมีสารชนิดอื่น เช่น Tetraethylammonium (TEA) ซึ่งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาวเมื่อถูกกระตุ้นด้วย TEA จะทำให้เกิดการหดตัวที่แตกต่างจาก KCl โดยการออกฤทธิ์ของ TEA ซึ่งเป็น K^+ channel inhibitor จะไปออกฤทธิ์ปิดกั้น K^+ channel ชนิด large conductance Ca^{2+} -activated K^+ (BK_{Ca})channel ทำให้ K^+ efflux ลดลง จะเพิ่ม membrane potential เกิด membrane depolarizing ส่งผลให้ VOC เปิดออก เพื่อตอบสนองของการเพิ่มขึ้นของ membrane potential แคลเซียมจากภายนอกเซลล์ที่เข้าสู่ภายในเซลล์ทำให้ระดับของแคลเซียมภายในเซลล์เพิ่มขึ้น กล้ามเนื้อเรียบจึงเกิดการหดตัวขึ้น (Christopher ,2001),(William,2000)

แคลเซียมจากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์

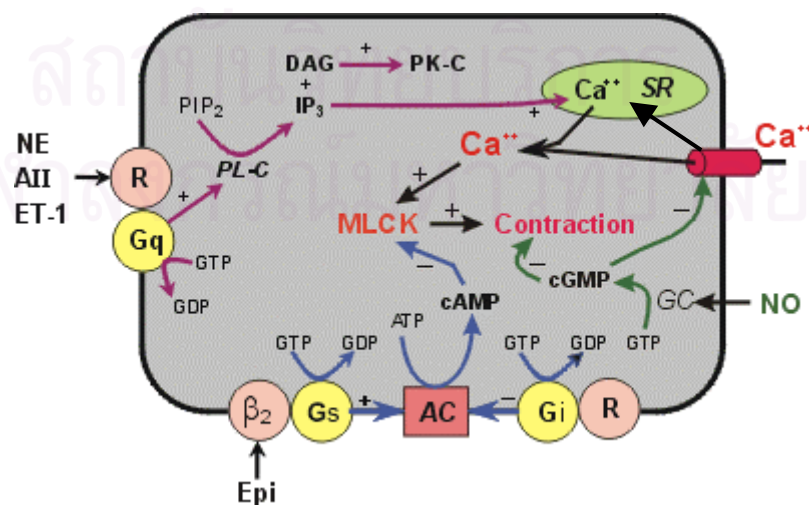
แคลเซียมภายในเซลล์กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดจะเก็บสะสมใน Sarcoplasmic reticulum (SR) ซึ่งการปล่อยแคลเซียมจากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์เกิดได้โดยไม่เกี่ยวข้อง

การเกิด membrane potential (Berne,1993) นอกจากนี้แคลเซียมยังสามารถเก็บสะสมใน mitochondria ได้ด้วย

กลไกการปลดปล่อยแคลเซียมจากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์ (SR) สามารถเกิดได้ 2 กลไก คือ

1. calcium-induced calcium release (CICR) เกิดจากแคลเซียมภายนอกเซลล์เคลื่อนที่ผ่าน VOC เข้ามาภายในเซลล์ จากนั้นปริมาณแคลเซียมที่ผ่านเข้ามานี้ไปมีผลกระตุ้นให้มีการปลดปล่อยแคลเซียมจากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์ (SR) (Richard,2002) (รูปที่ 3) และจากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า caffeine สามารถกระตุ้นให้มีการปลดปล่อยแคลเซียมจากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์ (SR) ได้ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับ ryanodine receptor (Kawakami, *et al.*,1998) โดย caffeine จะไปเพิ่มความไวของกระบวนการ CICR ซึ่งจะทำให้มีการหลั่งแคลเซียมจาก SR โดยไม่ต้องเพิ่มความเข้มข้นของแคลเซียมจากระดับปกติในขณะพัก (Karakaki and Weiss,1988) นอกจากนี้ยังพบอีกว่า caffeine นอกเหนือจากการเพิ่มปลดปล่อยแคลเซียมอิสระจาก SR แล้วยังมีผลต่อการเพิ่มการเคลื่อนที่ของแคลเซียมจากการภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์โดยผ่านทาง VOC อีกด้วย (Chen, *et al.*,1996)

2. IP₃-induced calcium release (IICR) เกิดจากการที่มีสารกระตุ้นมาทำปฏิกิริยาบน receptor ของ SR ที่อยู่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ซึ่งจับอยู่กับ phospholipase C ส่งผลให้มีการเพิ่มขึ้นของ phosphatidyl-inositol 1,4,5-triphosphate (IP₃) ทำให้มีการปลดปล่อยแคลเซียมจากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์ (SR) เข้าไปใน cytoplasm แคลเซียมภายในเซลล์สูงขึ้น เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดได้ และการปลดปล่อยแคลเซียมจะเกิดขึ้นได้อีกโดย ATP-driven active transport system ซึ่งจะเป็นตัวควบคุม cAMP และ cGMP (Richard,2002) (รูปที่ 3)



รูปที่ 3 กลไกการเพิ่มปริมาณแคลเซียมภายในเซลล์ของกล้ามเนื้อเรียบ (Richard,2002)

ความสัมพันธ์ระหว่างแคลเซียมภายในเซลล์และการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ

กลไกการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ จะเกิดขึ้นได้เมื่อปริมาณแคลเซียมอิสระภายในเซลล์มาจับกับ calmodulin เกิดเป็น calcium-calmodulin complex และการใช้พลังงาน ATP เพื่อกระตุ้นเอนไซม์ myosin light chain kinase (MLCK) ให้เกิดการ phosphorylation ได้เป็น phosphorylated myosin (myosin P) ซึ่งสามารถทำปฏิกิริยากับ actin ได้ ทำให้เกิดการหดตัวของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบได้ (Horowitz, *et al.*, 1996) และในทางกลับกันเมื่อแคลเซียมในเซลล์ลดลงจะทำให้ calmodulin แยกตัวหลุดจาก calcium-calmodulin complex และจะมีผลในการกระตุ้น myosin phosphate ทำให้เกิด dephosphorylation ของ MLCK ซึ่ง myosin ไม่สามารถทำปฏิกิริยากับ actin ได้ ทำให้กล้ามเนื้อเรียบคลายตัว ดังนั้นถ้ามีการเปลี่ยนแปลง กลไกต่างๆ เหล่านี้ จะมีผลในการเพิ่มการหดตัวหรือคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้ ซึ่งเกี่ยวข้องกับ Ca^{2+} sensitivity ของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ ชนิดนั้น นอกจากนี้การเพิ่มปริมาณของ cAMP และ cGMP มีผลต่อ Ca^{2+} sensitivity ด้วย (Rang, *et al.*, 1999)

กลไกชักนำให้กล้ามเนื้อเรียบเพิ่มความไวต่อแคลเซียม

ดังที่ได้กล่าวมาแล้วว่า การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบจะขึ้นกับปริมาณแคลเซียมภายในเซลล์ (intracellular calcium) และความไวของ contractile element ต่อแคลเซียม เมื่อแคลเซียมภายในเซลล์เพิ่มสูงขึ้น แคลเซียมจะจับกับ calmodulin เป็น calcium-calmodulin complex แล้วไปกระตุ้นเอนไซม์ myosin light chain kinase (MLCK) ทำให้เกิด phosphorylation ของ myosin ซึ่งสภาวะนี้ myosin จะสามารถทำปฏิกิริยากับ actin ในขั้นตอนต่าง ๆ เหล่านี้ (รูปที่ 2) มีกลไกที่เกี่ยวข้องในการเพิ่มความไวต่อแคลเซียม (Karaki, *et al.*, 1997)

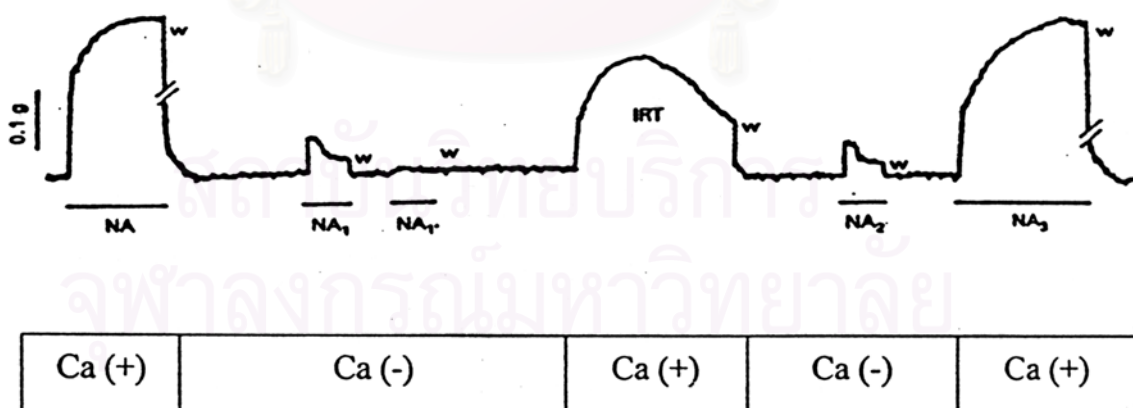
การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ที่แยกจากกายหนูขาว

ในการศึกษาหลอดเลือดแดงใหญ่ที่แยกจากกายหนูขาว พบว่าเมื่อกำลังกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดดังกล่าวถูกกระตุ้นด้วย noradrenaline (NA) จะทำให้เกิดการหดตัว 2 phase คือ 1) phasic phase และ 2) tonic phase ทั้งนี้ในส่วนของ phasic phase จะเกิดจากการเพิ่มของแคลเซียมที่ถูกละลายจากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์ผ่านทาง IP_3 pathway แล้วจึงเริ่ม tonic phase ซึ่งเกิดจากการที่แคลเซียมภายนอกเซลล์เข้าเซลล์อื่นที่เข้ามาภายในเซลล์ (Abound, *et al.*, 1993)

การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดที่ถูกกระตุ้นด้วย noradrenaline โดยผ่านทาง α_1 -adrenergic receptor จะทำให้เกิดการปล่อยแคลเซียมจากแหล่งสะสมภายในเซลล์และเซลล์

สามารถสูญเสียแคลเซียมอิสระภายในเซลล์ได้ เมื่อการทดลองเกิดในสภาวะที่ปราศจากแคลเซียมภายนอก ซึ่งได้แก่ สารละลาย Ca^{2+} -free Krebs- Henseleit ซึ่งเมื่อกระตุ้นการหดตัวด้วย noradrenaline จะทำให้แคลเซียมที่เก็บอยู่ในแหล่งสะสมภายในเซลล์ถูกปล่อยออกมาจนหมด ซึ่งสามารถตรวจสอบว่า แหล่งเก็บสะสมแคลเซียมภายในเซลล์ไม่มีแคลเซียมอยู่อีก โดยทำการกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดด้วย noradrenaline จะพบว่า กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดจะไม่เกิดการหดตัวขึ้นเลย นอกจากนี้เมื่อนำกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดดังกล่าวไป incubate ในสารละลาย Krebs- Henseleit ที่มีแคลเซียมเป็นองค์ประกอบพบว่าหลอดเลือดเกิดการหดตัวขึ้น แสดงถึงการที่แคลเซียมจากภายนอกสามารถเคลื่อนที่เข้ามาภายในเซลล์แคลเซียมในเซลล์เพิ่มขึ้น จึงทำให้เกิดการเพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ในขณะพัก ซึ่งกระบวนการนี้เกิดขึ้นได้โดยปราศจากสารกระตุ้นทำให้เรียกการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแบบนี้ว่า Increase in the resting tone in aorta (IRT) (รูปที่ 4) (Noguera ,*et al.* ,1998)

IRT มีความเกี่ยวข้องกับ α_1 -adrenoceptor โดยเมื่อนำ prazosin ($1\mu\text{M}$) ซึ่งเป็น α_1 adrenoceptor antagonist มาทดสอบพบว่า สามารถยับยั้งการเกิด IRT ได้หมด และเมื่อนำ nifedipine ($1\mu\text{M}$) ซึ่งเป็น Ca^{2+} channel blocker มาทดสอบพบว่าสามารถยับยั้งการเกิด IRT ได้เพียงบางส่วนโดย nifedipine จะยับยั้งการเคลื่อนที่เข้าของแคลเซียมภายนอกเซลล์ทาง VOC (Noguera and D'Ocon,1993)



รูปที่ 4 แสดงการเกิด increase in the resting tone in aorta (IRT) (Noguera *et al.*,1996)

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

1. สัตว์ทดลอง

หนูขาว (Wistar rats) เพศผู้ น้ำหนัก 250-300 กรัม จากสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล ศาลายา จังหวัดนครปฐม และปรับสภาพร่างกาย 1-2 สัปดาห์ก่อนทำการทดลอง

2. เครื่องมือ

2.1 Organ bath แบบ double walled Harvard type ประกอบด้วย ผนังแก้ว 2 ชั้น ชั้นในบรรจุสารละลายที่ใช้หล่อเลี้ยงเนื้อเยื่อ (physiological solution) มีความจุ 15 มิลลิลิตร สำหรับแช่เนื้อเยื่อที่แยกจากร่างแล้วมาทดลอง และมีช่องให้ Carbogen gas (95% O₂+5%CO₂) ผ่านเข้าไปได้ ชั้นนอกของ organ bath มีน้ำไหลเวียนที่ส่งมาจาก water bath ซึ่งมีอุณหภูมิ 37±0.5 °C pH 7.4±0.5 โดยผ่าน thermoregulating water pump เป็นตัวส่งน้ำมาบริเวณดังกล่าว ให้มีอุณหภูมิคงที่ตลอดการทดลอง

2.2 Water bath แบบ thermo bath model SCBI พร้อมด้วย thermoregulator water pump model 2E-NY ของบริษัท Little Giant pump

2.3 เครื่องมือวัดการหดตัวของเนื้อเยื่อแบบ isometric ของ Washington transducer (Harvard Apparatus Ltd , England)

2.4 เครื่องบันทึกผลการทดลองของ Universal osillograph (Harvard Apparatus Ltd, England)

2.5 เครื่องบันทึกผลการทดลองพร้อมด้วยเครื่องขยายสัญญาณไฟฟ้า Gilsons N2 (Harvard Apparatus Ltd, England)

2.6 เครื่องมือผ่าตัด microsurgery instruments

2.7 เครื่องชั่งละเอียด Mettler AJ 180

3. สารเคมี

Dimethyl sulfoxide (DMSO) :	(solvent)
Acetylcholine	(endothelium dependent vasodilator)
Noradrenaline :	(α -adrenoceptor agonist)
Nifedipine :	(Ca ²⁺ - channel blocker)

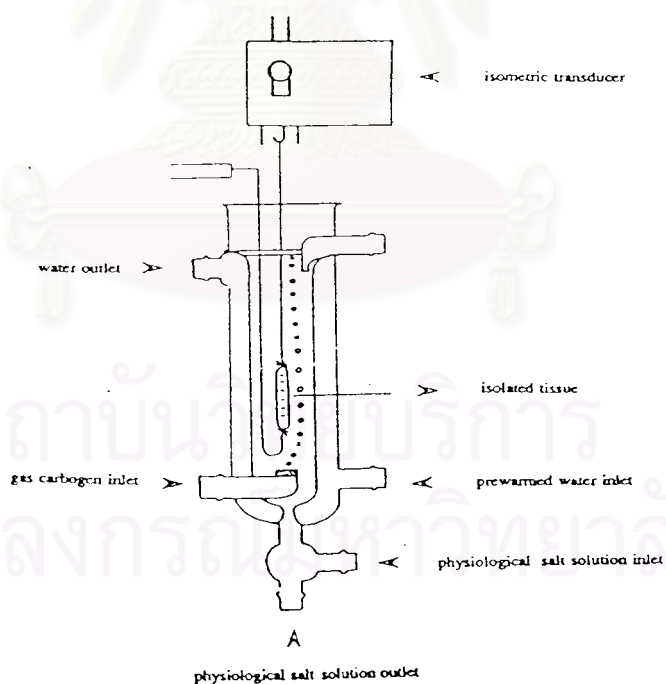
Tetraethylammonium (TEA) : (K⁺ - channel blocker)
 Potassium chloride (KCl) : (membrane depolarizing agent)
 สารเคมีทั้งหมดจาก Sigma St. Louis MO, USA

4. สารทดสอบ

สารสังเคราะห์ CU 18-07 ,CU 18-09 ,CU 18-12 และCU 18-13
 เป็นสารบริสุทธิ์ที่สังเคราะห์โดย ผศ.ดร. ชำนาญ ภัทรพานิช
 ภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

5. สารเคมีอื่นๆ

NaCl, KCl, CaCl₂, MgCl₂, KH₂PO₄, NaHCO₃, MgSO₄, glucose และ EDTA
 สารทั้งหมดจาก APS Finechem, Australia



รูปที่ 4 แสดงเครื่องมือที่ใช้ในการทดลองและ organ bath สำหรับ isolated rat aorta

วิธีดำเนินการวิจัย

การเตรียมหลอดเลือดแดงใหญ่ (aorta) หนูขาว

1. ใช้หนูขาวเพศผู้ (Male Wistar rats) น้ำหนักประมาณ 250-300 กรัม ดมสลบหนูด้วย ether แล้วทำ cervical dislocation จากนั้นผ่าตัดนำหลอดเลือดแดงใหญ่ ทำความสะอาดแล้วตัดเนื้อเยื่อเกี่ยวพันออกให้หมด ตัดหลอดเลือดเป็นเกลียว (spiral) แล้วตัดแบ่งยาวประมาณ 1 เซนติเมตร

2. ขูด endothelium ออกหมดโดยใช้ไม้พันสำลี ขูดเบาๆด้านในของหลอดเลือด (intima) เพื่อไม่ให้ endothelium มีบทบาทต่อกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดได้ (การทดสอบว่าหลอดเลือดมี endothelium อยู่หรือไม่ทำได้โดยใช้ acetylcholine (ACh) 100 μ M ซึ่งเป็น endothelium dependent vasodilator เป็นสารทดสอบก่อน ดูการคลายตัวของหลอดเลือดที่ได้รับ NA 1 μ M หลอดเลือดที่ไม่มี endothelium จะไม่ตอบสนองต่อ ACh คือ ACh ไม่สามารถก่อให้เกิดการคลายตัวของหลอดเลือดได้) (Furchgott, 1980)

3. นำกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดที่ขูด endothelium ออกหมด ใช้ด้ายผูกปลายทั้งสองด้าน โดยด้านหนึ่งผูกติดกับแท่งพลาสติกแล้วนำไปใส่ organ bath ซึ่งมี Krebs-Henseleit solution อยู่ 15 มิลลิลิตร และมี ก๊าซ carbogen ผ่านตลอด อุณหภูมิ 37 ± 0.5 °C pH 7.4 ± 0.5 ปลายด้านหนึ่งผูกติดกับ isometric transducer ซึ่งจะต่อเข้ากับเครื่องบันทึกผลและขยายสัญญาณไฟฟ้า ดึงกล้ามเนื้อให้มีความตึงขณะพัก (resting tone) ประมาณ 1 กรัม แล้ว incubate เนื้อเยื่อประมาณ 60 นาทีจนกระทั่งมีความคงที่

การทดลอง

1. ศึกษาผลของสารสังเคราะห์ CU 18-07, CU 18-09, CU 18-12 และ CU 18-13 ในการกระตุ้นหรือยับยั้งต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ (aorta) ในสารละลาย Krebs-Henseleit ที่ถูกกระตุ้นด้วย α adrenoceptor agonist (NA) และการทำให้เกิด membrane depolarizing (KCl และ TEA)

เมื่อเตรียมกล้ามเนื้อที่มีความตึงคงที่ในสารละลาย Krebs-Henseleit แล้วใส่สารกระตุ้น คือ noradrenaline (NA) 1×10^{-6} M บันทึกผลการหดตัว 20 นาทีแล้วล้างออกด้วยสารละลาย Krebs-Henseleit 3 ครั้ง incubate อีก 60 นาทีจนมีความตึงคงที่ใส่สารทดสอบ ได้แก่ DMSO 0.03 % (v/v), nifedipine (1×10^{-6} M), CU 18-07 (1×10^{-5} – 1×10^{-4} M), CU 18-09 (1×10^{-5} – 1×10^{-4} M), CU 18-12 (1×10^{-5} – 1×10^{-4} M) และ CU 18-13 (1×10^{-5} – 1×10^{-4} M) นาน 5 นาที หลังจากนั้นกระตุ้นการหดตัวด้วย NA เปรียบเทียบการหดตัวก่อนและหลังใส่สารทดสอบ

ในทำนองเดียวกันกับการทดสอบสารสังเคราะห์ในการยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่ใช้ NA เป็นตัวกระตุ้น เมื่อเตรียมกล้ามเนื้อที่มีความตึงคงที่ในสารละลาย Krebs-Henseleit แล้วใส่สารกระตุ้น คือ KCl (40 mM) หรือ TEA (1×10^{-3} M) บันทึกผลการหดตัว 20 นาทีแล้วล้างออกด้วยสารละลาย Krebs-Henseleit 3 ครั้ง incubate อีก 60 นาที จนมีความตึงคงที่ใส่สารทดสอบ ได้แก่ DMSO 0.03 % (v/v), nifedipine (1×10^{-6} M), CU 18-07 (1×10^{-5} – 1×10^{-4} M), CU 18-09 (1×10^{-5} – 1×10^{-4} M), CU 18-12 (1×10^{-5} – 1×10^{-4} M) และ CU 18-13 (1×10^{-5} – 1×10^{-4} M) นาน 5 นาที หลังจากนั้นกระตุ้นการหดตัวด้วย KCl หรือ TEA เปรียบเทียบการหดตัวก่อนและหลังใส่สารทดสอบ

ผลของสารทดสอบที่มีต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อ รายงานเป็นเปอร์เซ็นต์ในการหดตัวเมื่อเทียบกับการหดตัวที่มีสารกระตุ้นแต่ไม่มีสารทดสอบ

2. ศึกษาผลของสารสังเคราะห์ CU 18-07, CU 18-09, CU 18-12 และ CU 18-13 ที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงแคลเซียมที่ปล่อยออกจากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์ของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ (aorta) เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NA และ caffeine ในสารละลาย Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit

2.1 เมื่อถูกกระตุ้นด้วย noradrenaline (NA) 1×10^{-6} M

เมื่อเตรียมกล้ามเนื้อที่มีความตึงคงที่ในสารละลาย Krebs-Henseleit จนมีความตึงคงที่

แล้วใส่สารกระตุ้น คือ NA 1 μM บันทึกผลการหดตัว 20 นาที แล้วล้างออกด้วยสารละลาย Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit 3 ครั้ง incubate อีก 15 นาที ในสารละลาย Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit กระตุ้นการหดตัวด้วย NA บันทึกผลการหดตัว 20 นาที หลังจากนั้นล้างออกด้วยสารละลาย Krebs-Henseleit 3 ครั้ง incubate อีก 60 นาที ในสารละลาย Krebs-Henseleit จนมีความตึงคงที่ ใส่สารกระตุ้น NA $1 \times 10^{-6} \text{M}$ บันทึกผลการหดตัว 20 นาที ล้างออกด้วยสารละลาย Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit 3 ครั้ง incubate อีก 15 นาที ในสารละลาย Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit ใส่สารทดสอบ ได้แก่ DMSO 0.03 % (v/v), nifedipine ($1 \times 10^{-6} \text{M}$), CU 18-07 ($1 \times 10^{-5} - 1 \times 10^{-4} \text{M}$), CU 18-09 ($1 \times 10^{-5} - 1 \times 10^{-4} \text{M}$), CU 18-12 ($1 \times 10^{-5} - 1 \times 10^{-4} \text{M}$) และ CU 18-13 ($1 \times 10^{-5} - 1 \times 10^{-4} \text{M}$) นาน 5 นาที หลังจากนั้นกระตุ้นการหดตัวด้วย NA เปรียบเทียบการหดตัวก่อนและหลังใส่สารทดสอบ

ผลการศึกษารายงานเป็นเปอร์เซ็นต์ในการหดตัวของกล้ามเนื้อ เมื่อเทียบกับการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่ถูกกระตุ้นด้วย NA 1 μM ในสารละลาย Krebs-Henseleit

2.2 เมื่อถูกกระตุ้นด้วย caffeine $1 \times 10^{-2} \text{M}$

เมื่อเตรียมกล้ามเนื้อที่มีความตึงคงที่ในสารละลาย Krebs-Henseleit เปลี่ยนสารละลายเป็น Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit และ incubate กล้ามเนื้อที่มีความตึงคงที่ แล้วใส่สารกระตุ้น คือ caffeine $1 \times 10^{-2} \text{M}$ บันทึกผลการหดตัว 20 นาที แล้วล้างออกด้วยสารละลาย Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit 3 ครั้ง incubate อีก 60 นาที ในสารละลาย Krebs-Henseleit เปลี่ยนสารละลายเป็น Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit และ incubate กล้ามเนื้อที่มีความตึงคงที่ แล้วใส่สารทดสอบ ได้แก่ CU 18-07 ($1 \times 10^{-4} \text{M}$), CU 18-09 ($1 \times 10^{-4} \text{M}$), CU 18-12 ($1 \times 10^{-4} \text{M}$) และ CU 18-13 ($1 \times 10^{-4} \text{M}$) นาน 5 นาที หลังจากนั้นกระตุ้นการหดตัวด้วย caffeine เปรียบเทียบการหดตัวก่อนและหลังใส่สารทดสอบ

ผลของสารทดสอบที่มีต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อ รายงานเป็นเปอร์เซ็นต์ในการหดตัวเมื่อเทียบกับการหดตัวที่มีสารกระตุ้นแต่ไม่มีสารทดสอบ

3. ศึกษาผลของสารสังเคราะห์ CU 18-07, CU 18-09, CU 18-12 และ CU 18-13 ต่อการเกิด Ca^{2+} influx และการทดแทน Ca^{2+} เข้าสู่ internal storage ที่สัมพันธ์กับ α_1 -adrenergic receptor โดยวัดการเปลี่ยนแปลงการหดตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาวในขณะพัก

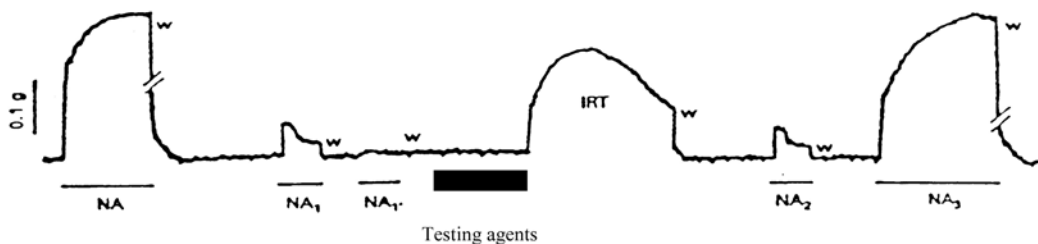
[Increase in the resting tone in aorta (IRT)] (รูปที่ 6)

เมื่อเตรียมกล้ามเนื้อที่มีความตึงคงที่ในสารละลาย Krebs-Henseleit แล้วใส่สารกระตุ้น คือ NA (1×10^{-6} M) บันทึกผลการหดตัว 20 นาที ซึ่งเป็นการหดตัวที่สูงที่สุด ล้างออกด้วยสารละลาย Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit 3 ครั้ง incubate อีก 15 นาที กระตุ้นการหดตัวด้วย noradrenaline (NA_1) (1×10^{-6} M) บันทึกผลการหดตัว ล้างออกด้วยสารละลาย Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit แล้ว incubate 15 นาที กระตุ้นการหดตัวด้วย noradrenaline (NA_1') (1×10^{-6} M) บันทึกผลการหดตัว แล้วล้างออกด้วยสารละลาย Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit และ incubate 15 นาที หลังจากนั้นเปลี่ยนเป็นสาร Krebs-Henseleit จะทำการ incubated กล้ามเนื้อ และบันทึกผลการเพิ่มการหดตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาวในขณะพัก [Increase in the resting tone in aorta (IRT)] 20 นาที ล้างออกด้วยสารละลาย Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit และ incubate 15 นาที กระตุ้นการหดตัวด้วย noradrenaline (NA_2) (1×10^{-6} M) บันทึกผลการหดตัว แล้วล้างออกด้วยสารละลาย Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit และ incubate 15 นาที หลังจากนั้นเปลี่ยนเป็นสารละลาย Krebs-Henseleit และใส่ด้วย noradrenaline (NA_3) (1×10^{-6} M) บันทึกผลการหดตัวแล้วล้างออกด้วยสารละลาย Krebs-Henseleit 3 ครั้ง และ incubate กล้ามเนื้อ 60 นาที

เมื่อเตรียมกล้ามเนื้อที่มีความตึงคงที่ในสารละลาย Krebs-Henseleit ทำซ้ำตั้งแต่ขั้นตอนแรกจนถึงขั้นตอนการเกิด IRT ใส่สารทดสอบได้แก่ DMSO 0.03% (v/v), nifedipine (1×10^{-6} M), CU 18-07 (1×10^{-5} M), CU 18-09 (1×10^{-5} M), CU 18-12 (1×10^{-5} M) และ CU 18-13 (1×10^{-5} M) นาน 5 นาที พร้อมบันทึกผลหลังจากนั้นเปลี่ยนเป็น สารละลาย Krebs-Henseleit บันทึกผลการเกิด IRT 20 นาที ล้างออกด้วยสารละลาย Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit และ incubate 15 นาที กระตุ้นการหดตัวด้วย noradrenaline (NA_2) (1×10^{-6} M) บันทึกผลการหดตัว แล้วล้างออกด้วยสารละลาย Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit และ incubate 15 นาที หลังจากนั้นเปลี่ยนเป็นสารละลาย Krebs-Henseleit และใส่ด้วย noradrenaline (NA_3) (1×10^{-6} M) บันทึกผลการหดตัว แล้วล้างออกด้วยสารละลาย Krebs-Henseleit 3 ครั้ง และ incubate กล้ามเนื้อ 60 นาที เปรียบเทียบการเกิด IRT ก่อนและหลังใส่สารทดสอบ

เปรียบเทียบผลของสารที่นำมาทดสอบต่อการเกิด IRT ซึ่งแสดงถึงการเคลื่อนที่ของแคลเซียมเข้าสู่เซลล์ในขณะพักภายใต้สภาวะที่กำหนด นอกจากนี้เมื่อนำมา incubate ต่อในสารละลาย Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit และกระตุ้นด้วย noradrenaline (NA_2) ซึ่งสามารถแสดงถึงผลต่อการปล่อยแคลเซียมจากแหล่งเก็บดังกล่าว (รูปที่ 6)

ผลการศึกษารายงานเป็นเปอร์เซ็นต์ในการหดตัวของกล้ามเนื้อ เมื่อเทียบกับการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่ถูกกระตุ้นด้วย noradrenaline (NA) (1×10^{-6} M) ในสารละลาย Krebs-Henseleit



Ca (+)	Ca (-)	Ca (+)	Ca (-)	Ca (+)
--------	--------	--------	--------	--------

รูปที่ 5 แสดงรูปแบบการทดลองที่ใช้ในการประเมินผลของสารสังเคราะห์ต่อการเกิด IRT

(Noguera et al.,1996)

4. ศึกษาผลของ CU 18-07, CU 18-09, CU 18-12 และ CU 18-13 ต่อการเคลื่อนที่เข้าออกของแคลเซียมในกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ (aorta) เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 ใน calcium-free depolarizing solution (high K^+ - Ca^{2+} free solution) (Hof and Vuorela,1983)

เมื่อเตรียมกล้ามเนื้อที่มีความตึงคงที่ในสารละลาย Krebs-Henseleit เปลี่ยนเป็นสารละลาย Ca^{2+} -free depolarizing และ incubate กล้ามเนื้อที่มีความตึงคงที่ ใส่ CaCl_2 แบบ cumulative dose ($1 \times 10^{-5} \text{M}$ - $1 \times 10^{-2} \text{M}$) เพื่อกระตุ้นการหดตัวจนเกิดการหดตัวสูงสุด แล้วล้างออกด้วยสารละลาย Krebs-Henseleit 3 ครั้ง แล้ว incubate 60 นาที จนกล้ามเนื้อที่มีความตึงคงที่ เปลี่ยนเป็นสารละลาย Ca^{2+} -free depolarizing และ incubate กล้ามเนื้อที่มีความตึงคงที่ ใส่สารทดสอบได้แก่ nifedipine ($1 \times 10^{-6} \text{M}$), CU18-07 (1×10^{-5} - $1 \times 10^{-4} \text{M}$), CU 18-09 (1×10^{-5} - $1 \times 10^{-4} \text{M}$), CU 18-12 (1×10^{-5} - $1 \times 10^{-4} \text{M}$) และ CU 18-13 (1×10^{-5} - $1 \times 10^{-4} \text{M}$) นาน 5 นาที แล้วสารใส่ CaCl_2 แบบ cumulative dose เพื่อกระตุ้นการหดตัวจนเกิดการหดตัวเปรียบเทียบการหดตัวก่อนและหลังใส่สารทดสอบ

การวิเคราะห์ข้อมูล

ผลการทดลองรายงานในรูปแบบ ค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (Mean \pm standard error of mean)

เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างก่อนและหลังใส่สารทดสอบใช้ Student's paired t test โดยพิจารณาความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)

เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มของสารทดสอบใช้ One-Way ANOVA โดยพิจารณาความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)

การคำนวณ drug parameter ใช้วิธีของ Van-Rossum และคณะ ,1983 โดย logarithm ของ non competitive antagonist แสดงในรูป pD_2'

$$pD_2' = -\log[B] + \log([E_{AM}]/[E_{AMB}] - 1)$$

เมื่อ $[B]$ คือ ขนาดความเข้มข้นของ non - competitive antagonist ในหน่วยโมลาร์

$[E_{AM}]$ และ $[E_{AMB}]$ คือ ค่าการหดตัวสูงสุด (maximum contraction) ที่เกิดจากตัวกระตุ้นเมื่อมีหรือไม่มีสารยับยั้งอยู่ด้วย ตามลำดับ



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

ผลการทดลอง

1. ผลของสารสังเคราะห์ CU 18-07, CU 18-09, CU 18-12 และ CU 18-13 ในการกระตุ้นหรือยับยั้งต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ (aorta) ในสารละลาย Krebs-Henseleit ที่ถูกกระตุ้นด้วย α -adrenoceptor agonist (NA) และการทำให้เกิด membrane depolarization (KCl และ TEA)

1.1 ผลของสารสังเคราะห์ CU 18-07, CU 18-09, CU 18-12 และ CU 18-13 ในการกระตุ้นหรือยับยั้งต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว (aorta) ที่ถูกกระตุ้นด้วย NA

NA 1×10^{-6} M กระตุ้นการหดตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว ในสภาวะที่ปราศจากสารทดสอบพบว่า กล้ามเนื้อเรียบเกิดการหดตัวอย่างรวดเร็วแบบ phasic contraction และตามมาด้วย tonic contraction ซึ่งในสภาวะที่ปราศจากสารทดสอบนี้ กล้ามเนื้อเรียบมีแรงหดตัวเฉลี่ย 374 ± 13.16 mg และการเปรียบเทียบแรงหดตัวระหว่างก่อนและหลังได้รับสารทดสอบ จะใช้วิธีการคำนวณแรงหดตัวขณะที่ยังไม่ได้รับสารทดสอบมีแรงหดตัวสูงสุดเป็น 100 % ซึ่งจะนำไปใช้เปรียบเทียบกับแรงหดตัวที่เกิดขึ้นหลังได้รับสารทดสอบ

ผลของ DMSO 0.03 % v/v ซึ่งให้ก่อน NA 1×10^{-6} M เป็นเวลา 5 นาที พบว่า กล้ามเนื้อเรียบมีการหดตัวเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ดังรูปที่ 7 โดยมีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ 101.89 ± 1.09 % ดังกราฟรูปที่ 8 ซึ่งแรงหดตัวนี้มีความแตกต่างจากก่อนได้รับ DMSO อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ผลของ Nifedipine ขนาด 1×10^{-6} M กล้ามเนื้อเรียบมีการหดตัวลดลงจากก่อนได้รับสารทดสอบ ดังรูปที่ 9 และมีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ 80.60 ± 2.47 % ดังกราฟรูปที่ 10 ซึ่งแรงหดตัวของ Nifedipine มีการหดตัวลดลงจากก่อนได้รับสารทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ผลของ CU 18-07 ขนาด 1×10^{-5} M และ 1×10^{-4} M พบว่า กล้ามเนื้อเรียบมีการหดตัวเพิ่มขึ้นจากก่อนได้รับสารทดสอบ ดังรูปที่ 11 และ 12 โดยมีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ 125.63 ± 5.96 % และ 123.27 ± 4.53 % ตามลำดับ ดังกราฟรูปที่ 13 ซึ่งแรงหดตัวของ CU 18-07 ขนาด 1×10^{-5} M และ 1×10^{-4} M มีการหดตัวเพิ่มขึ้นจากก่อนได้รับสารทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

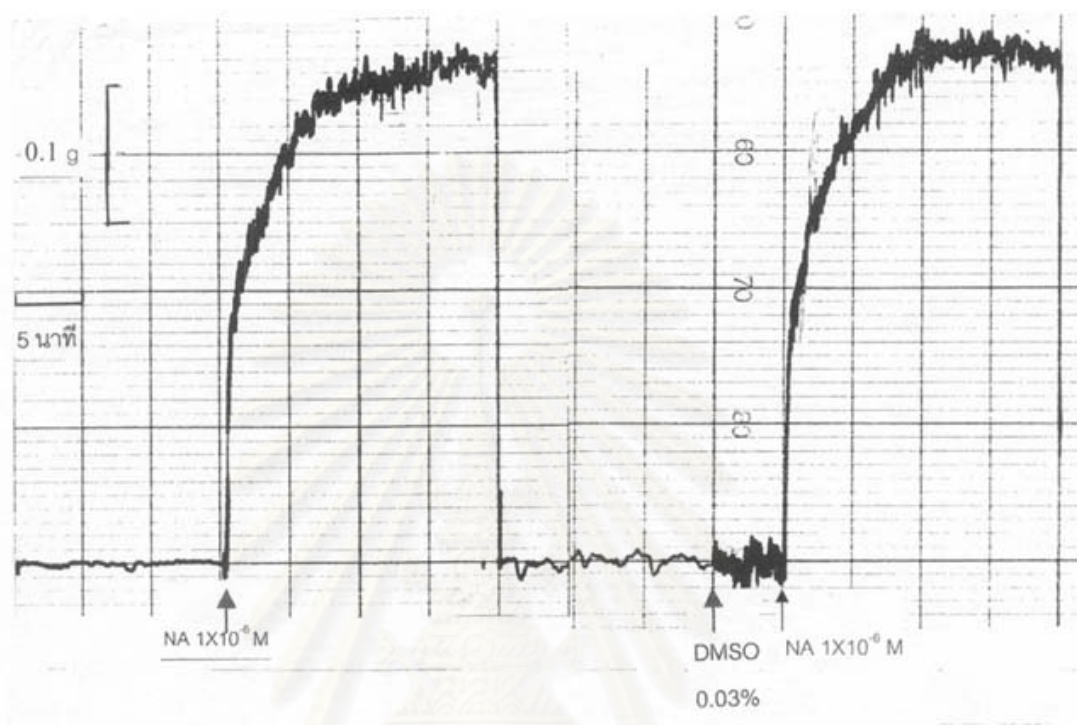
ผลของ CU 18-09, CU 18-12 และ CU 18-13 ขนาด 1×10^{-5} M พบว่า กล้ามเนื้อเรียบมีการหดตัวเพิ่มขึ้นจากก่อนได้รับสารทดสอบ ดังรูปที่ 14, 17 และ 20 โดยมีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ 119 ± 5.54 %, 115 ± 7.91 % และ 131.72 ± 4.46 % ตามลำดับ ขณะที่เพิ่มขนาดของ CU 18-09,

CU 18-12 และ CU 18-13 เป็น $1 \times 10^{-4} \text{M}$ พบว่า กล้ามเนื้อเรียบมีการหดตัวเพิ่มขึ้นจากก่อนได้รับสารทดสอบอย่างชัดเจน ดังรูปที่ 15,18 และ 21 โดยมีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $141 \pm 6.52\%$, $125.50 \pm 5.88\%$ และ $142.22 \pm 5.29\%$ ดังกราฟรูปที่ 16,19 และ 22 ตามลำดับ ซึ่งแรงหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่ได้รับสารทดสอบทั้ง 3 ชนิดเพิ่มขึ้นจากก่อนได้รับสารทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

จากผลการทดลองดังกล่าวสรุปได้ว่า DMSO ซึ่งใช้เป็นตัวทำละลายของสารสังเคราะห์ทั้ง 4 ที่ใช้ในการศึกษานี้ไม่มีผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว เมื่อกระตุ้นการหดตัวด้วย NA เมื่อเปรียบเทียบแรงหดตัวที่เพิ่มขึ้นหลังได้รับสารสังเคราะห์ทั้ง 4 กับกลุ่มที่ได้รับ DMSO ดังกราฟในรูปที่ 23 พบว่าสามารถเพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดได้

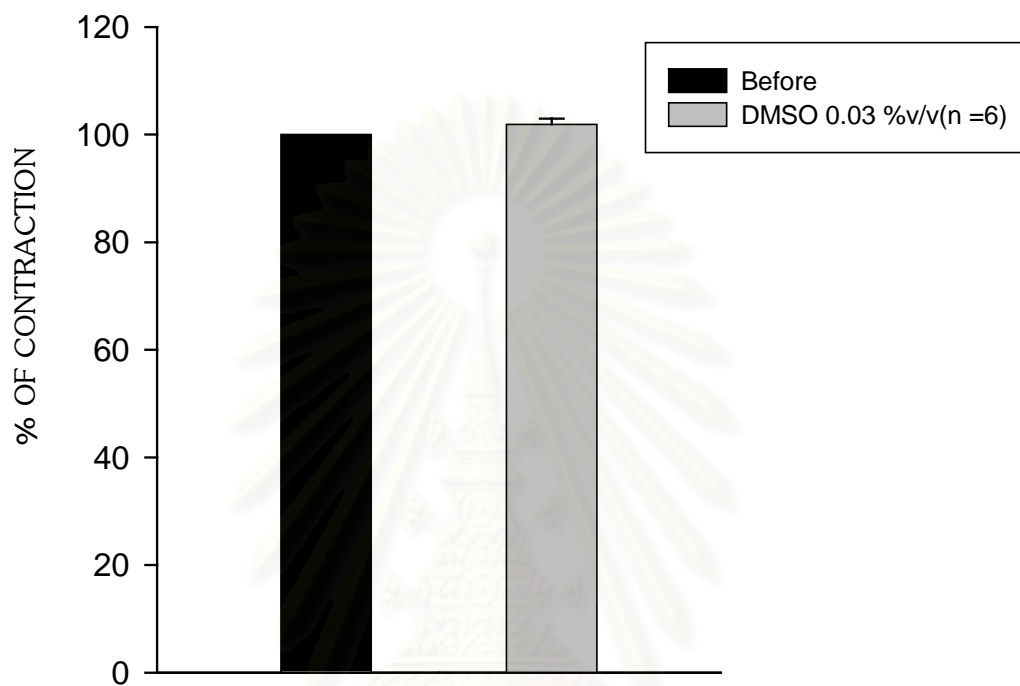


สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Ca²⁺ (+)

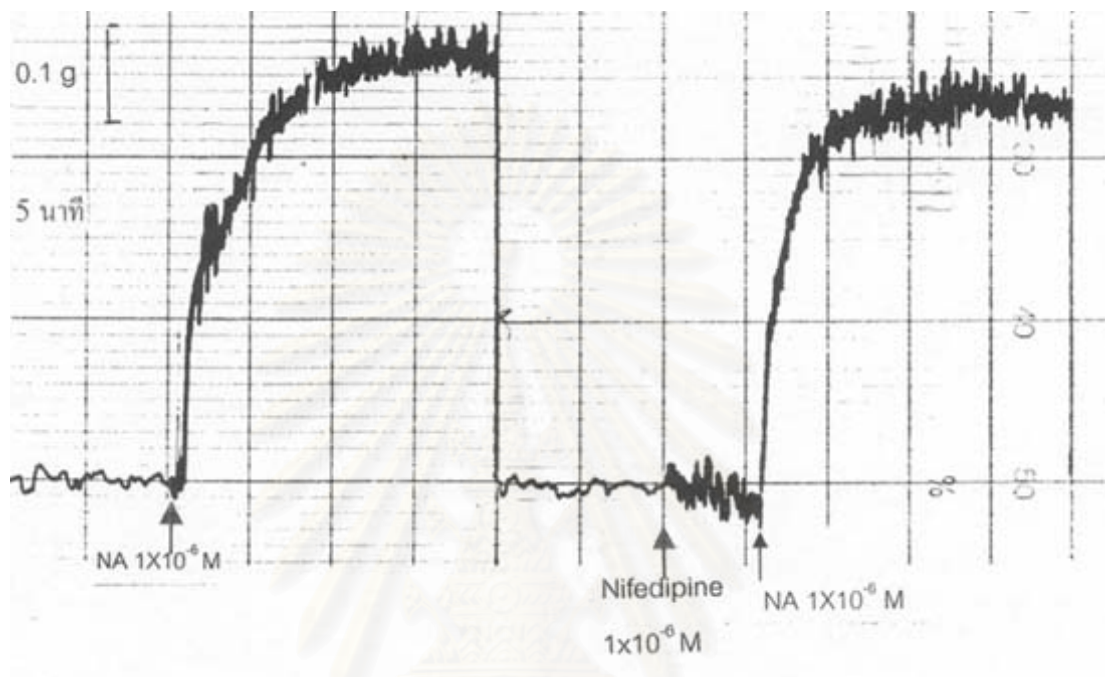
รูปที่ 7 แสดงผลของ DMSO ขนาด 0.03 % v/v ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NA $1 \times 10^{-6} \text{ M}$ ในสารละลาย Krebs-Henseleit



รูปที่ 8 กราฟแสดงผลของ DMSO ขนาด 0.03 % v/v ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ
หลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $NA\ 1 \times 10^{-6} M$

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

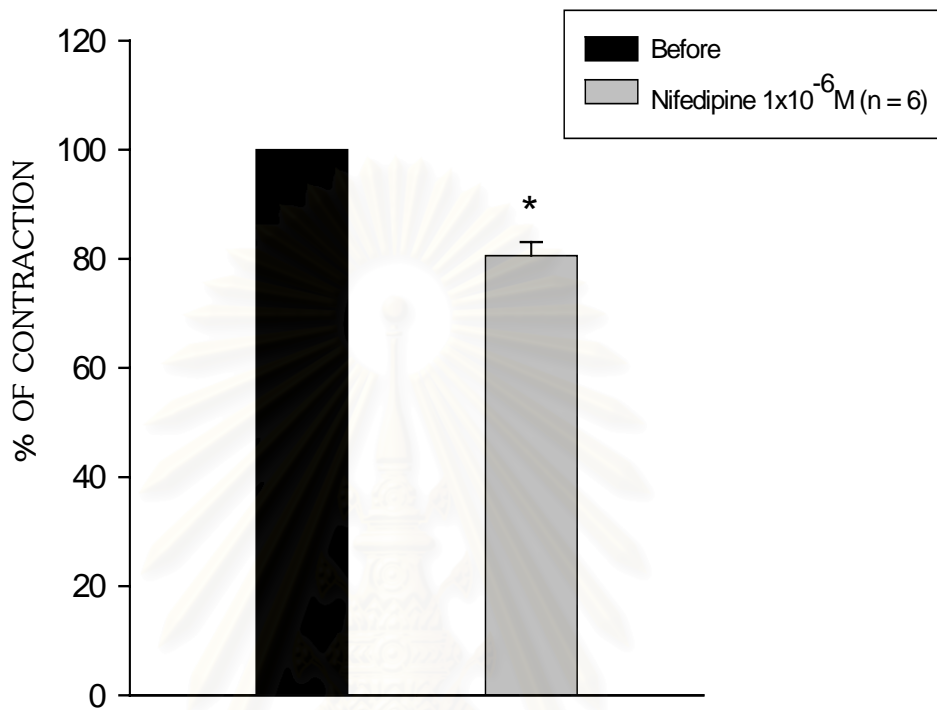
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Ca²⁺(+)

รูปที่ 9 แสดงผลของ Nifedipine ขนาด $1 \times 10^{-6} \text{ M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NA $1 \times 10^{-6} \text{ M}$ ในสารละลาย Krebs-Henseleit

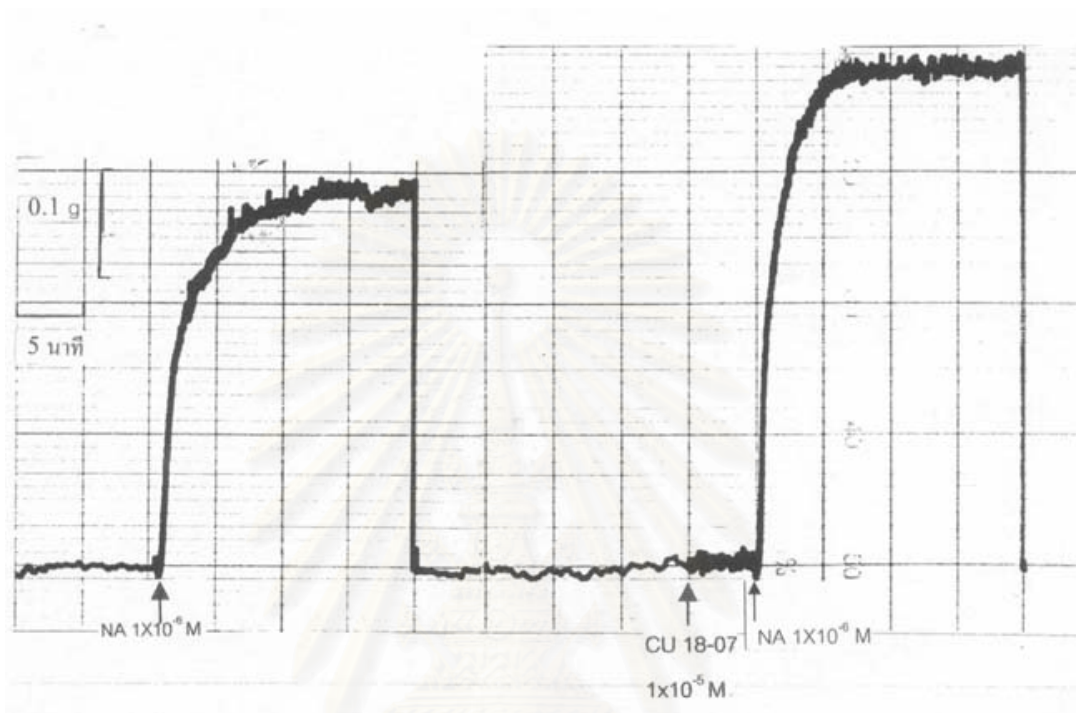
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 10 กราฟแสดงผลของ Nifedipine ขนาด $1 \times 10^{-6} \text{ M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ
หลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NA $1 \times 10^{-6} \text{ M}$

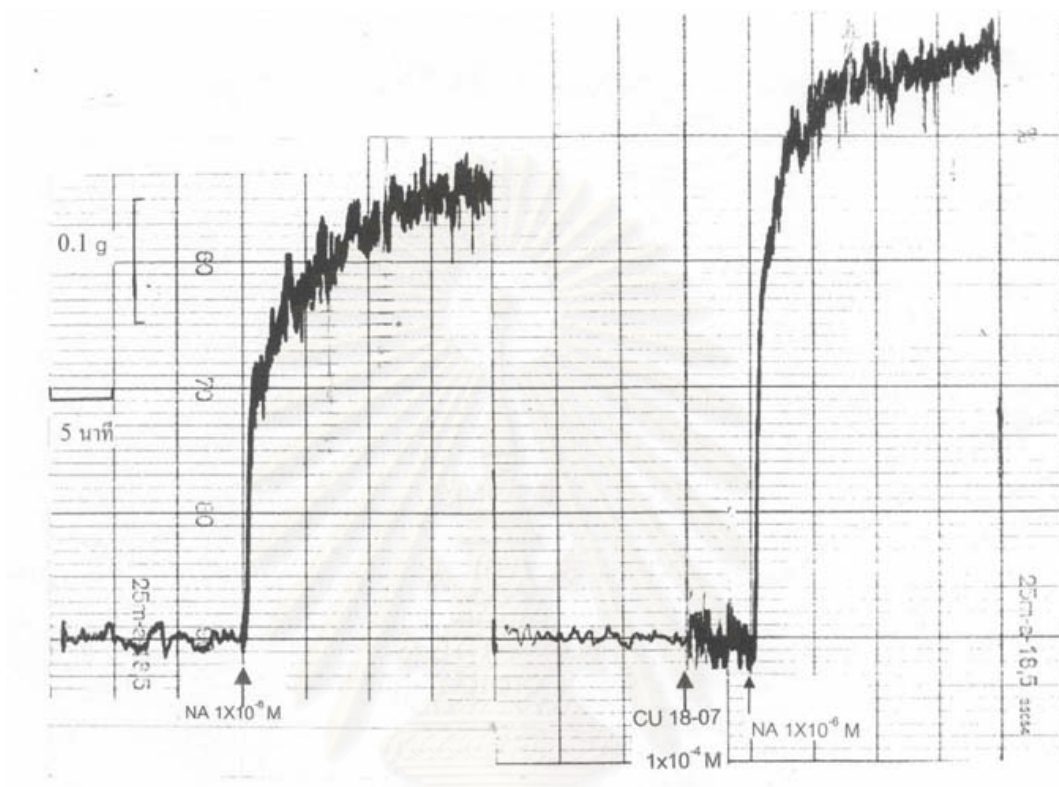
กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย
* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มก่อนได้รับสารทดสอบ ($p < 0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



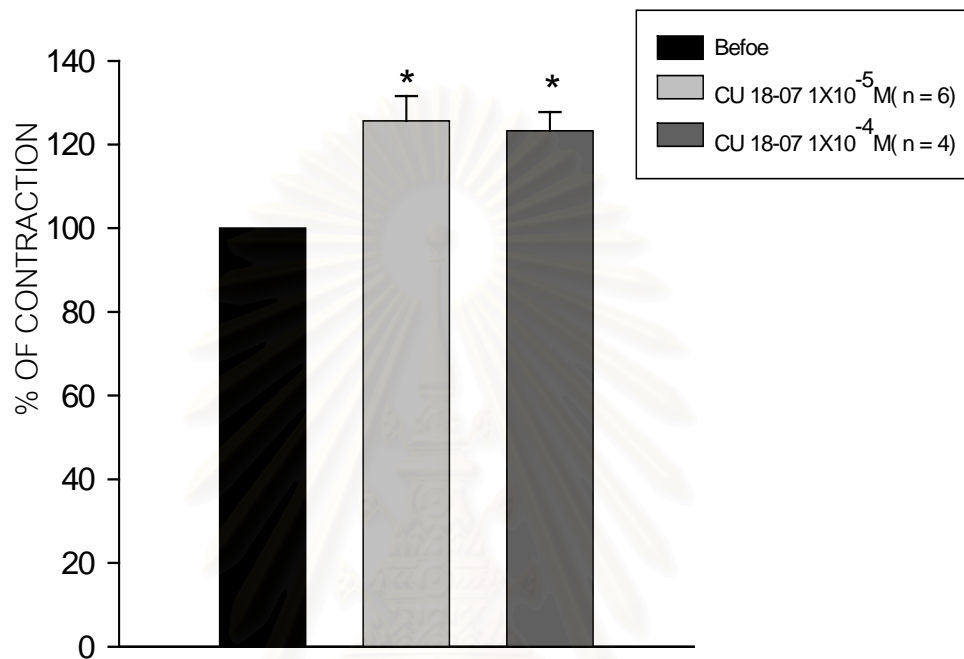
$Ca^{2+}(+)$

รูปที่ 11 แสดงผลของ $CU\ 18-07$ ขนาด $1 \times 10^{-5}\ M$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $NA\ 1 \times 10^{-6}\ M$ ในสารละลาย Krebs-Henseleit



Ca²⁺(+)

รูปที่ 12 แสดงผลของ CU 18-07 ขนาด $1 \times 10^{-4} \text{ M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NA $1 \times 10^{-6} \text{ M}$ ในสารละลาย Krebs-Henseleit

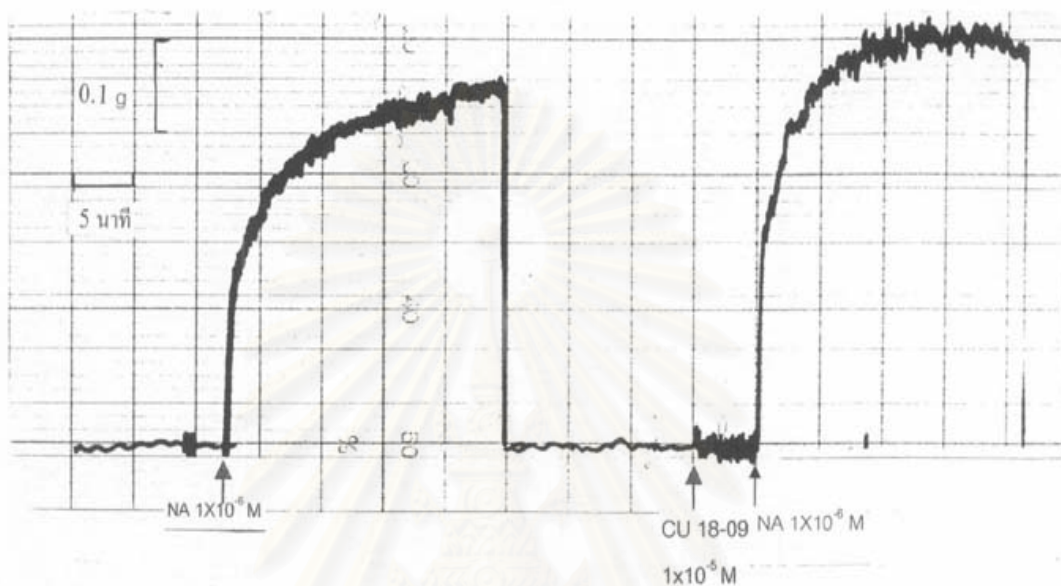


รูปที่ 13 กราฟแสดงผลของ CU 18-07 ขนาด 1×10^{-5} M และ 1×10^{-4} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NA 1×10^{-6} M

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มก่อนได้รับสารทดสอบ ($p < 0.05$)

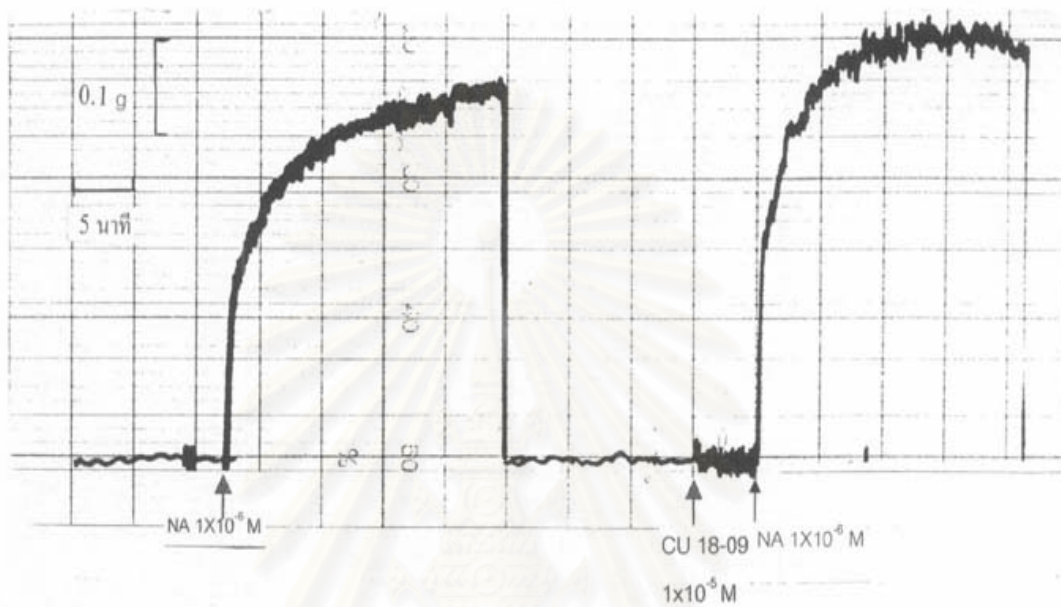
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Ca²⁺(+)

รูปที่ 14 แสดงผลของ CU 18-09 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{ M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NA $1 \times 10^{-6} \text{ M}$ ในสารละลาย Krebs-Henseleit

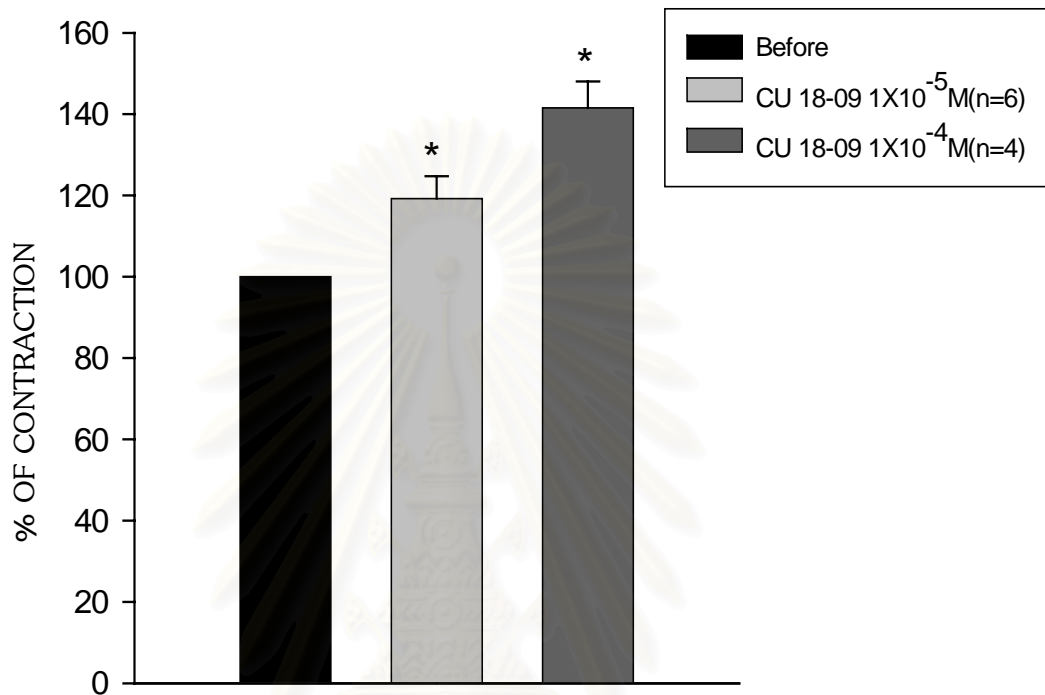
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Ca²⁺(+)

รูปที่ 15 แสดงผลของ CU 18-09 ขนาด 1×10^{-4} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดง
หนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NA 1×10^{-6} M ในสารละลาย Krebs-Henseleit

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

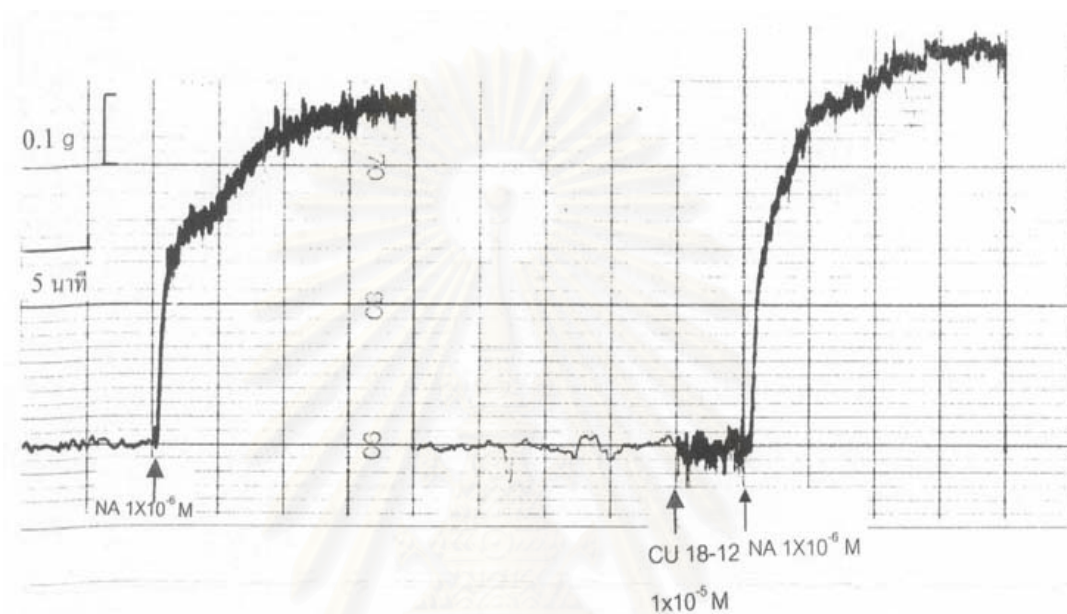


รูปที่ 16 กราฟแสดงผลของ CU 18-09 ขนาด 1×10^{-5} M และ 1×10^{-4} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NA 1×10^{-6} M

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มก่อนได้รับสารทดสอบ ($p < 0.05$)

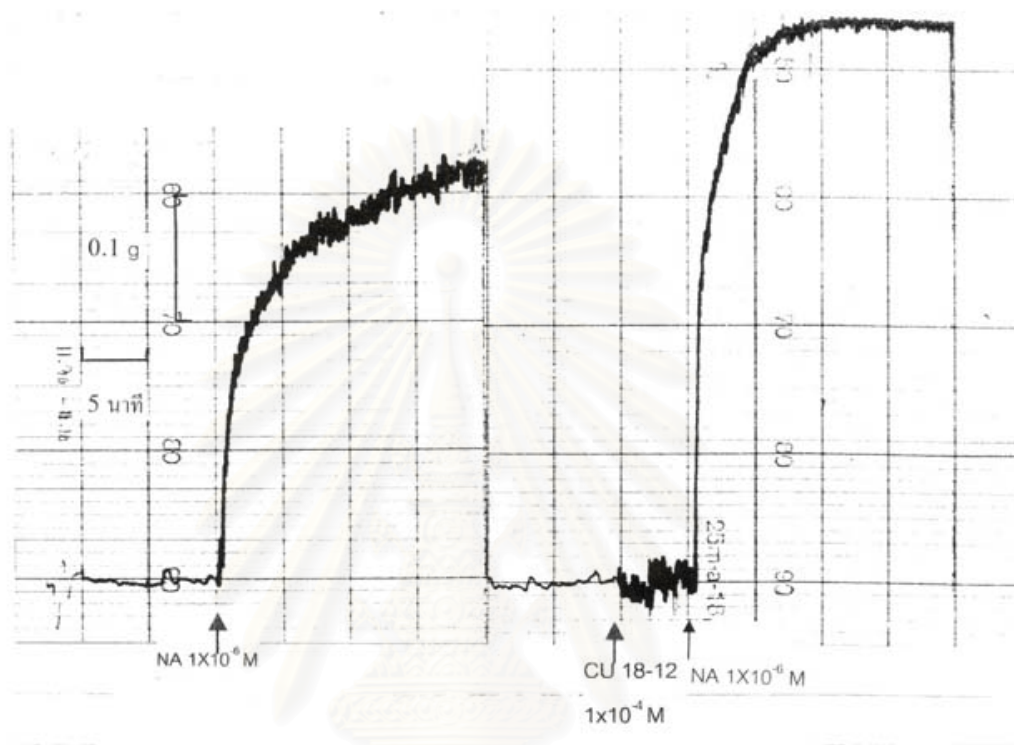
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Ca²⁺ (+)

รูปที่ 17 แสดงผลของ CU 18-12 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{ M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดง
หนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NA $1 \times 10^{-6} \text{ M}$ ในสารละลาย Krebs-Henseleit

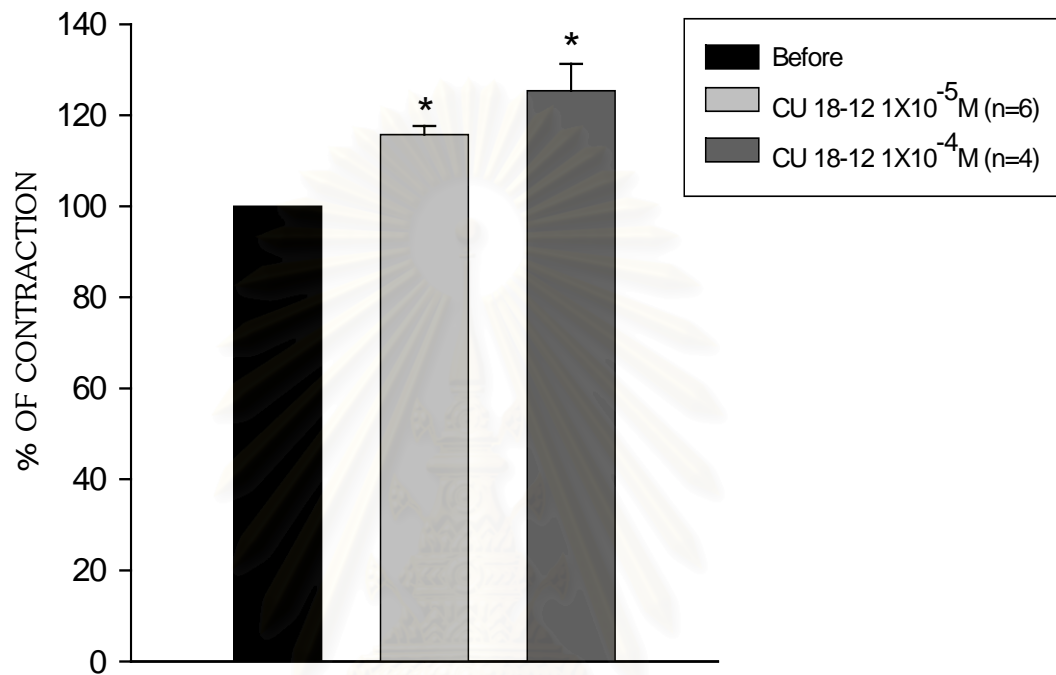
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Ca²⁺(+)

รูปที่ 18 แสดงผลของ CU 18-12 ขนาด $1 \times 10^{-4} \text{ M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $\text{NA } 1 \times 10^{-6} \text{ M}$ ในสารละลาย Krebs-Henseleit

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

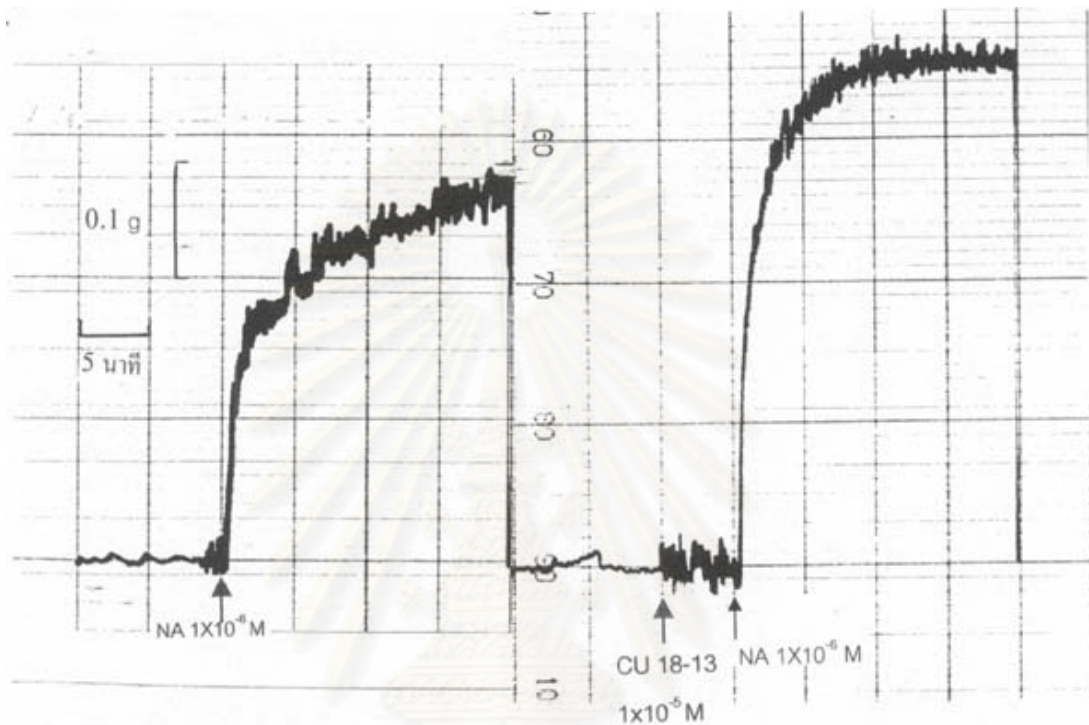


รูปที่ 19 กราฟแสดงผลของ CU 18-12 ขนาด 1×10^{-5} M และ 1×10^{-4} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NA 1×10^{-6} M

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

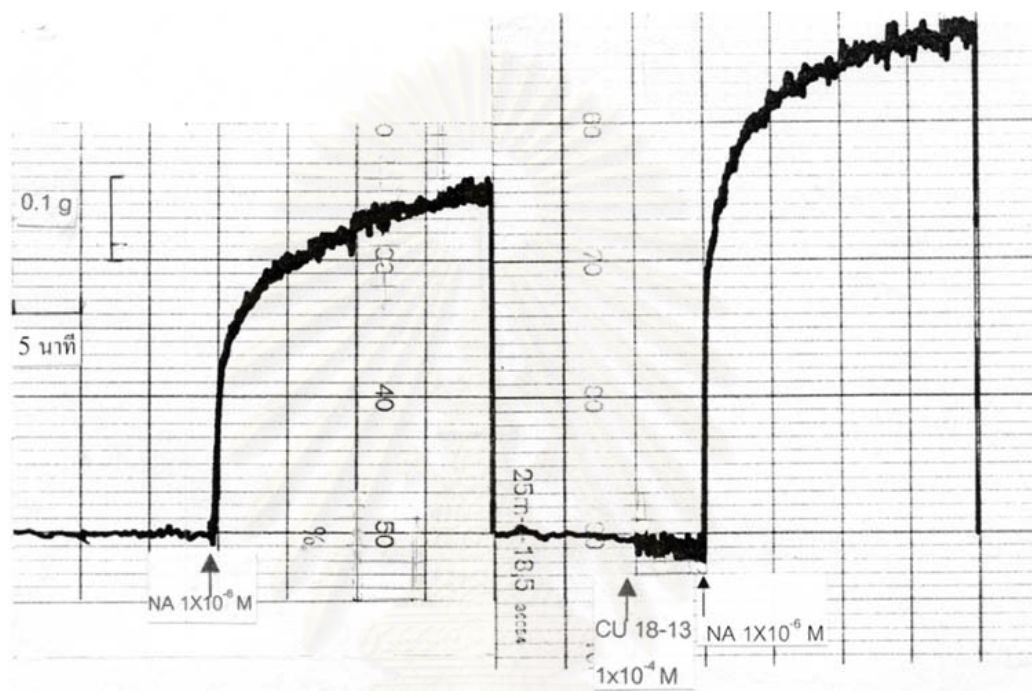
* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มก่อนได้รับสารทดสอบ ($p < 0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



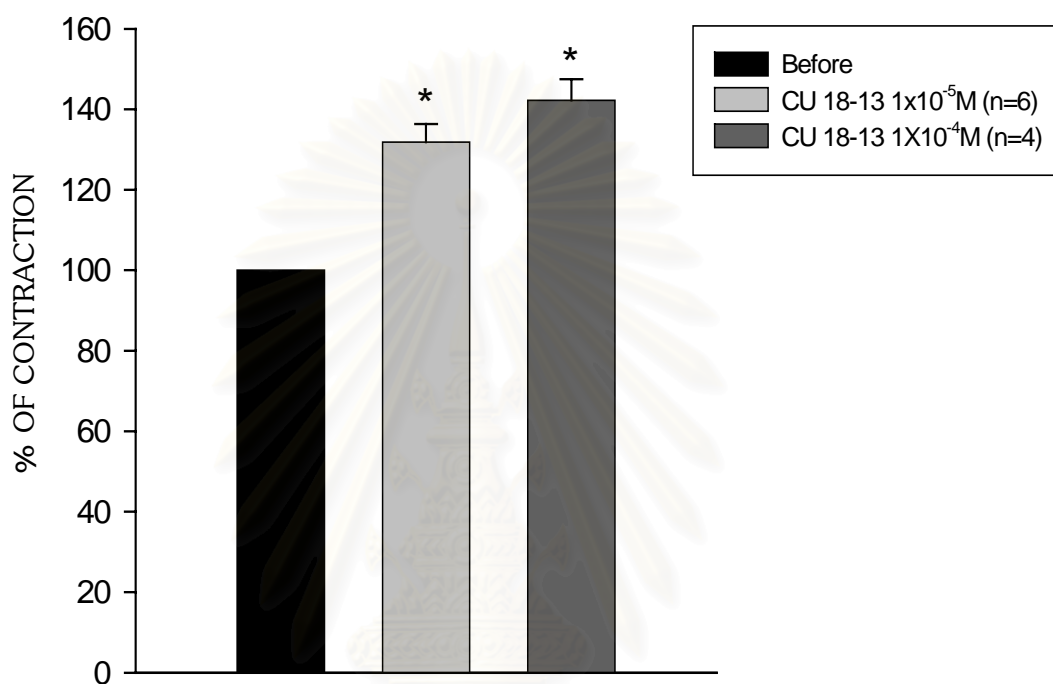
Ca²⁺(+)

รูปที่ 20 แสดงผลของ CU 18-13 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{ M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $\text{NA } 1 \times 10^{-6} \text{ M}$ ในสารละลาย Krebs-Henseleit



$Ca^{2+}(+)$

รูปที่ 21 แสดงผลของ CU 18-13 ขนาด $1 \times 10^{-4}\ M$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $NA\ 1 \times 10^{-6}\ M$ ในสารละลาย Krebs-Henseleit

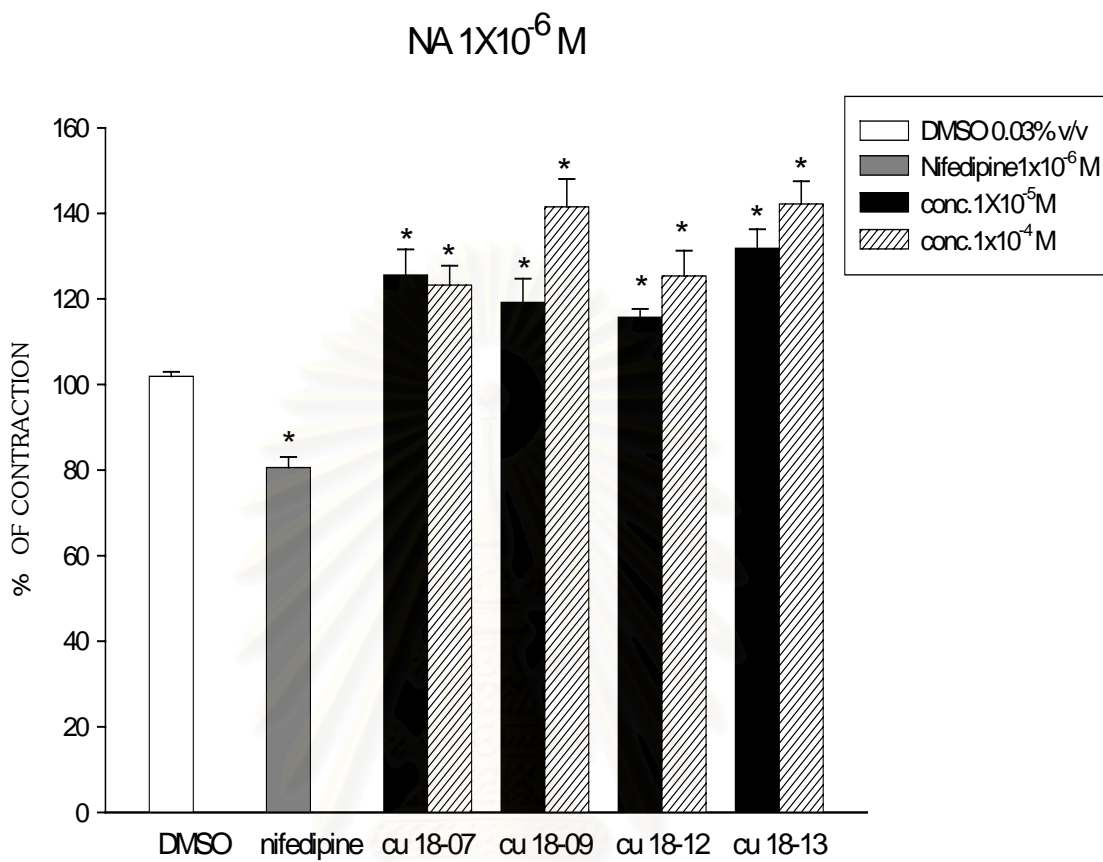


รูปที่ 22 กราฟแสดงผลของ CU 18-13 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{M}$ และ $1 \times 10^{-4} \text{M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $\text{NA } 1 \times 10^{-6} \text{M}$

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มก่อนได้รับสารทดสอบ ($p < 0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 23 กราฟแสดงผลของ DMSO, Nifedipine, CU 18-07, CU 18-09, CU 18-12 และ CU 18-13 ขนาด $1 \times 10^{-5}\ M$ และ $1 \times 10^{-4}\ M$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $NA\ 1 \times 10^{-6}\ M$

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มก่อนได้รับสารทดสอบ ($p < 0.05$)

1.2 ผลของสารสังเคราะห์ CU 18-07, CU 18-09, CU 18-12 และ CU 18-13 ในการกระตุ้นหรือยับยั้งต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว (aorta) ที่ถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM

KCl 40 mM กระตุ้นการหดตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว ในสภาวะที่ปราศจากสารทดสอบพบว่า กล้ามเนื้อเรียบเกิดการหดตัวอย่างรวดเร็วแบบ phasic contraction และตามมาด้วย tonic contraction ซึ่งในสภาวะที่ปราศจากสารทดสอบนี้ การเปรียบเทียบแรงหดตัวระหว่างก่อนและหลังได้รับสารทดสอบ จะใช้วิธีการคำนวณแรงหดตัวขณะที่ยังไม่ได้รับสารทดสอบมีแรงหดตัวสูงสุดเป็น 100 % ซึ่งจะนำไปใช้เปรียบเทียบกับแรงหดตัวที่เกิดขึ้นหลังได้รับสารทดสอบ

ผลของ DMSO 0.03 % v/v ซึ่งให้ก่อน KCl 40 mM เป็นเวลา 5 นาที พบว่า กล้ามเนื้อเรียบมีการหดตัวเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ดังรูปที่ 24 โดยมีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ 103.88 ± 2.42 % ดังกราฟรูปที่ 25 ซึ่งแรงหดตัวนี้มีความแตกต่างจากก่อนได้รับ DMSO อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) สำหรับผลของ Nifedipine ขนาด 1×10^{-6} M กล้ามเนื้อเรียบมีการหดตัวลดลงจากก่อนได้รับสารทดสอบ ดังรูปที่ 26 และมีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ 24.90 ± 4.32 % ดังกราฟรูปที่ 27 ซึ่งแรงหดตัวของ Nifedipine มีการหดตัวลดลงจากก่อนได้รับสารทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ผลของ CU 18-07 และ CU 18-09 ขนาด 1×10^{-5} M พบว่ากล้ามเนื้อเรียบมีการหดตัวลดลงจากก่อนได้รับสารทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังรูปที่ 28 และ 31 และมีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ 67.70 ± 4.71 % และ 60.39 ± 6.69 % ตามลำดับ ขณะที่เพิ่มขนาดของ CU 18-07 และ CU 18-09 ขนาด 1×10^{-4} M กล้ามเนื้อเรียบมีการหดตัวลดลงจากก่อนได้รับสารทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังรูปที่ 29 และ 32 และมีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ 37.95 ± 2.04 % และ 25.47 ± 3.44 % ตามลำดับ ดังกราฟรูปที่ 30 และ 33

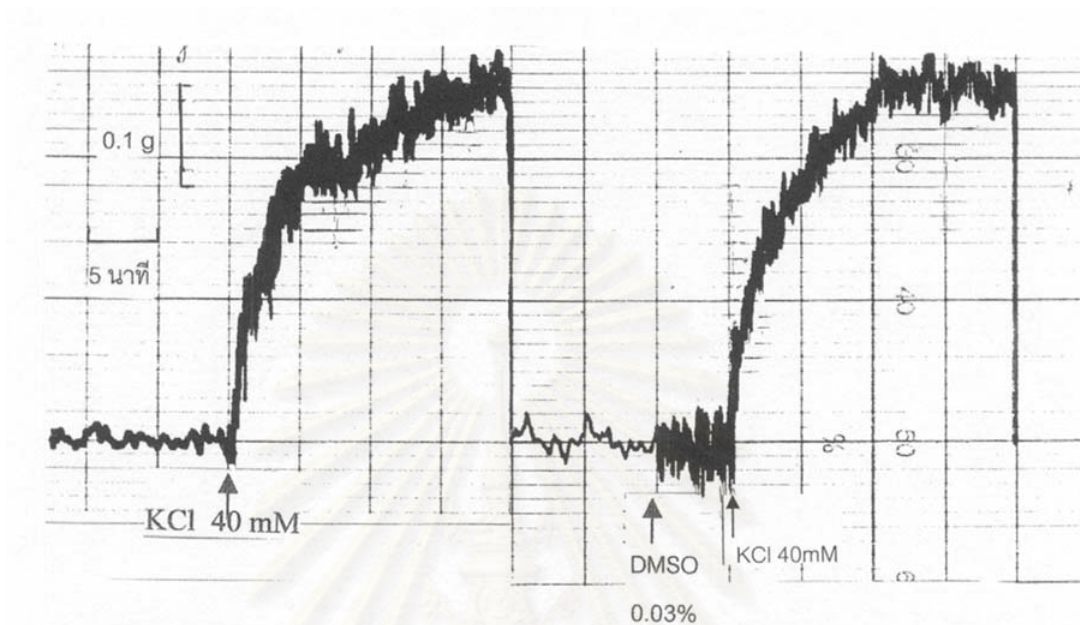
ผลของ CU 18-12 และ CU 18-13 ขนาด 1×10^{-5} M พบว่า กล้ามเนื้อเรียบมีการหดตัวเพิ่มขึ้นจากก่อนได้รับสารทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังรูปที่ 34 และ 38 และมีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ 139.94 ± 7.52 % และ 154.42 ± 6.50 % ตามลำดับ ขณะที่เพิ่มขนาดของ CU 18-12 และ CU 18-13 ขนาด 5×10^{-5} M กล้ามเนื้อเรียบมีการหดตัวลดลงจากก่อนได้รับสารทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังรูปที่ 35 และ 39 มีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ 52.46 ± 7.01 % และ 53.21 ± 2.48 % ตามลำดับ และเมื่อเพิ่มขนาดของ CU 18-12 และ CU 18-13 เป็น 1×10^{-4} M กล้ามเนื้อเรียบสามารถหดตัวลดลงได้อย่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังรูปที่ 36 และ 40 มีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ 38.85 ± 5.05 % และ 19.57 ± 2.97 % ตามลำดับดังกราฟในรูปที่ 37 และ 41

จากผลการทดลองดังกล่าวสรุปได้ว่า DMSO ซึ่งใช้เป็นตัวทำละลายของสารสังเคราะห์ทั้ง 4 ที่ใช้ในการศึกษานี้ไม่มีผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว เมื่อกระตุ้น

การหัดตัวด้วย KCl เมื่อเปรียบเทียบแรงหัดตัวที่ลดลงหลังได้รับสารสังเคราะห์ทั้ง 4 กับกลุ่มที่ได้รับ DMSO ดังกราฟในรูปที่ 42 CU 18-07 และ CU 18-09 พบว่าสามารถยับยั้งการหัดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดได้ ในขณะที่ CU 18-12 และ CU 18-13 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{M}$ สามารถเพิ่มการหัดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดได้ เมื่อเพิ่มขนาดของ CU 18-12 และ CU 18-13 เป็น $5 \times 10^{-5} \text{M}$ และ $1 \times 10^{-4} \text{M}$ สามารถยับยั้งการหัดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดได้



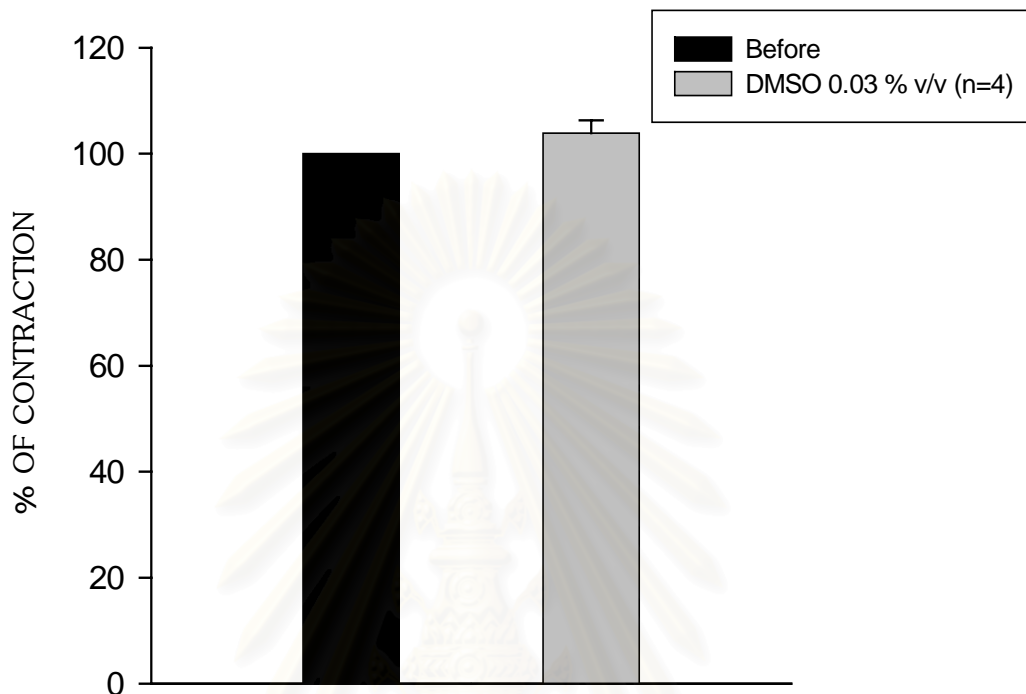
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Ca²⁺ (+)

รูปที่ 24 แสดงผลของ DMSO 0.03% v/v ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว
เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM ในสารละลาย Krebs-Henseleit

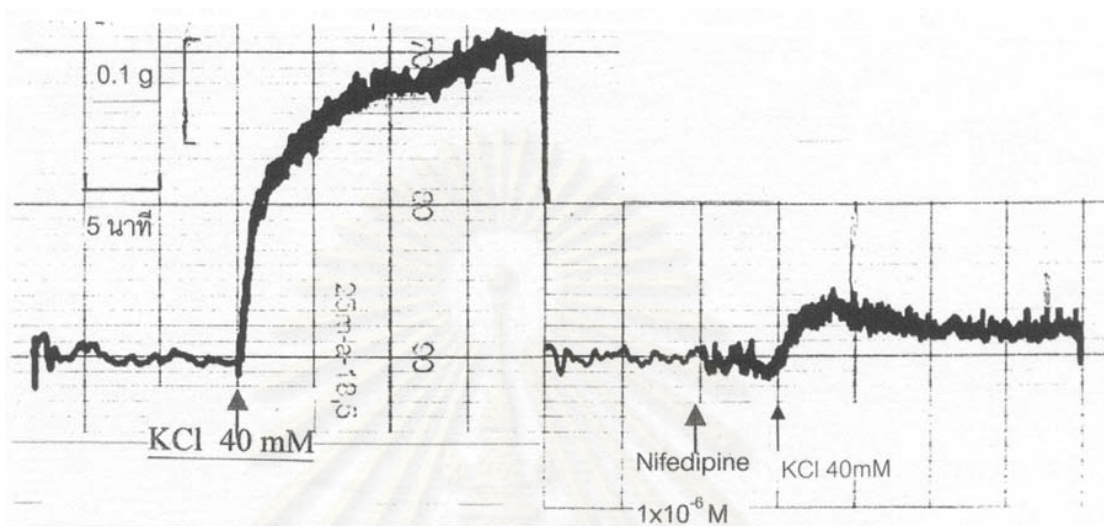
สถาบันนวัตกรรมการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 25 กราฟแสดงผลของ DMSO 0.03% v/v ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

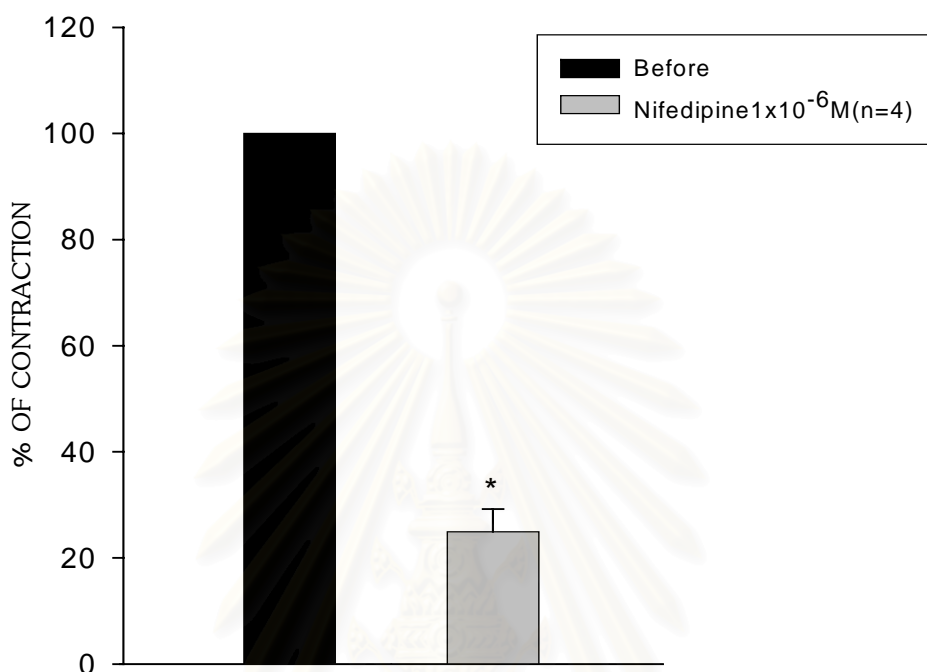
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Ca²⁺(+)

รูปที่ 26 แสดงผลของ Nifedipine ขนาด $1 \times 10^{-6} \text{ M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดง
หนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM ในสารละลาย Krebs-Henseleit

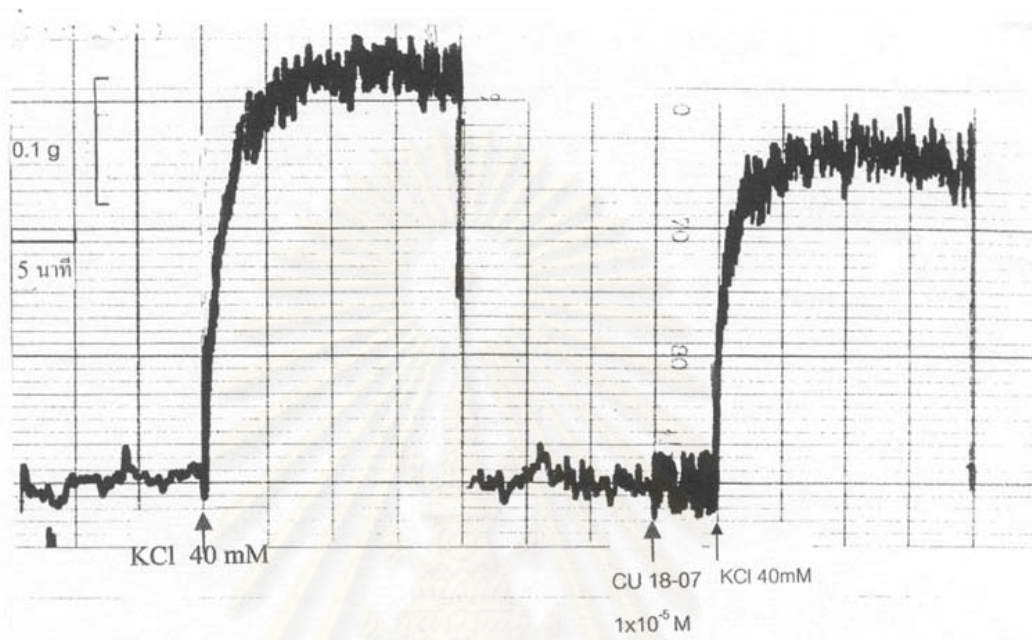
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 27 กราฟแสดงผลของ Nifedipine ขนาด $1 \times 10^{-6} \text{M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM

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

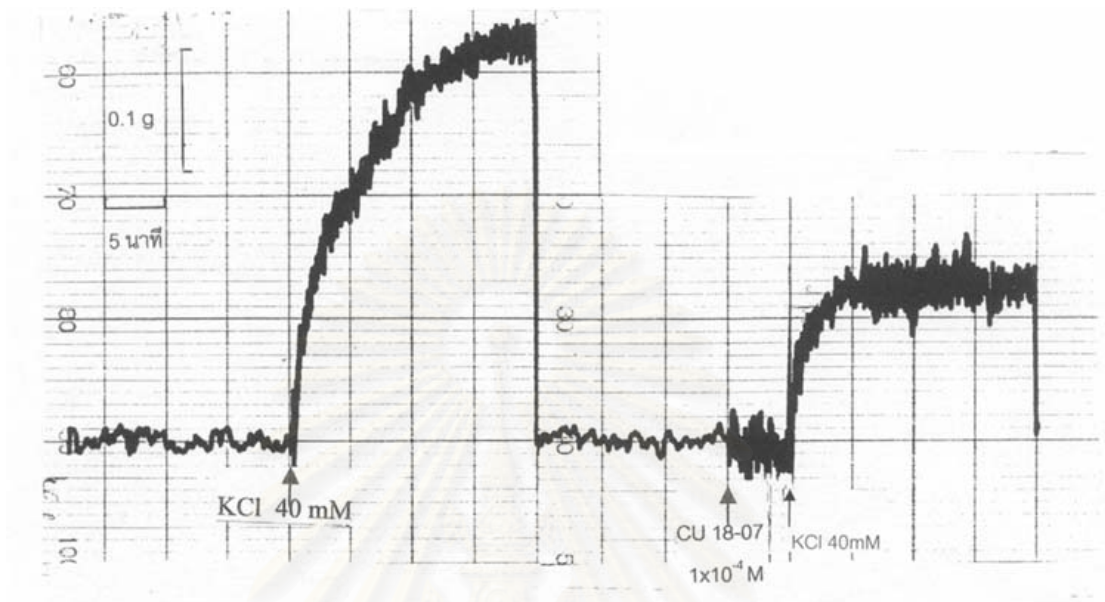
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Ca²⁺(+)

รูปที่ 28 แสดงผลของ CU 18-07 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{ M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดง
หนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM ในสารละลาย Krebs-Henseleit

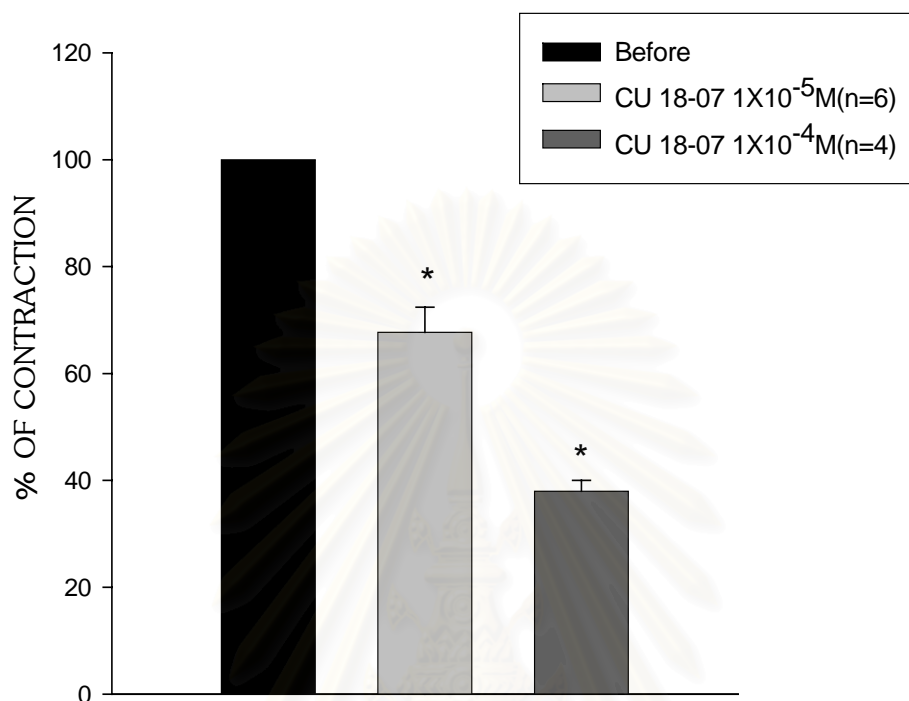
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Ca²⁺(+)

รูปที่ 29 แสดงผลของ CU 18-07 ขนาด $1 \times 10^{-4} \text{ M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดง
หนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM ในสารละลาย Krebs-Henseleit

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

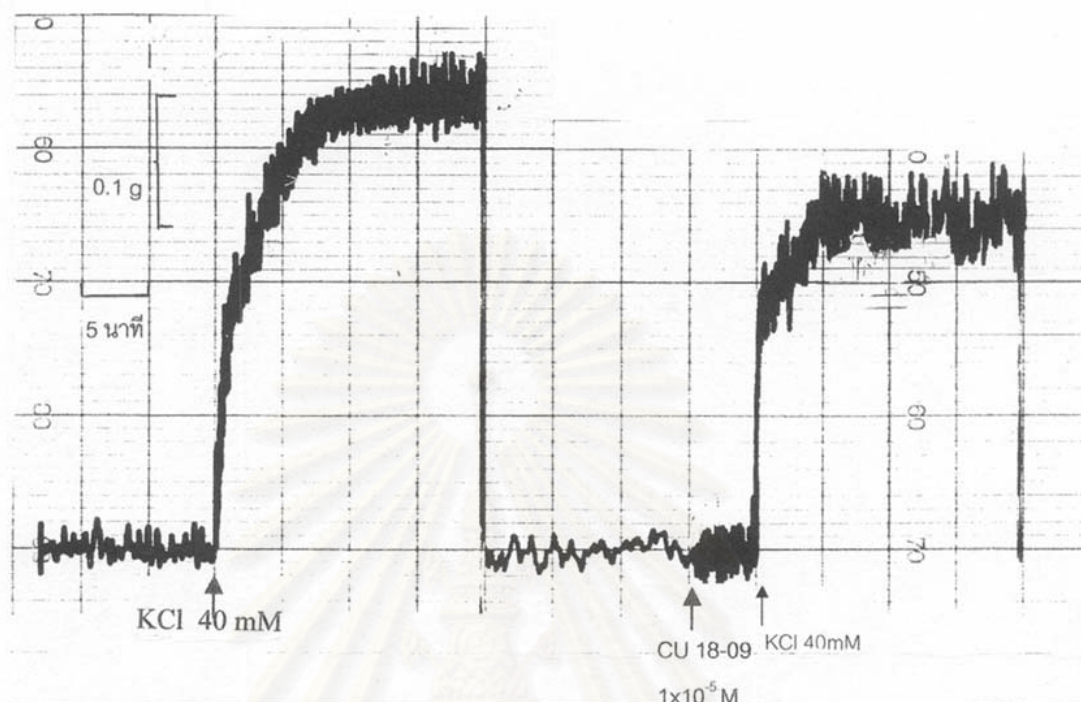


รูปที่ 30 กราฟแสดงผลของ CU 18-07 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{M}$ และ $1 \times 10^{-4} \text{M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

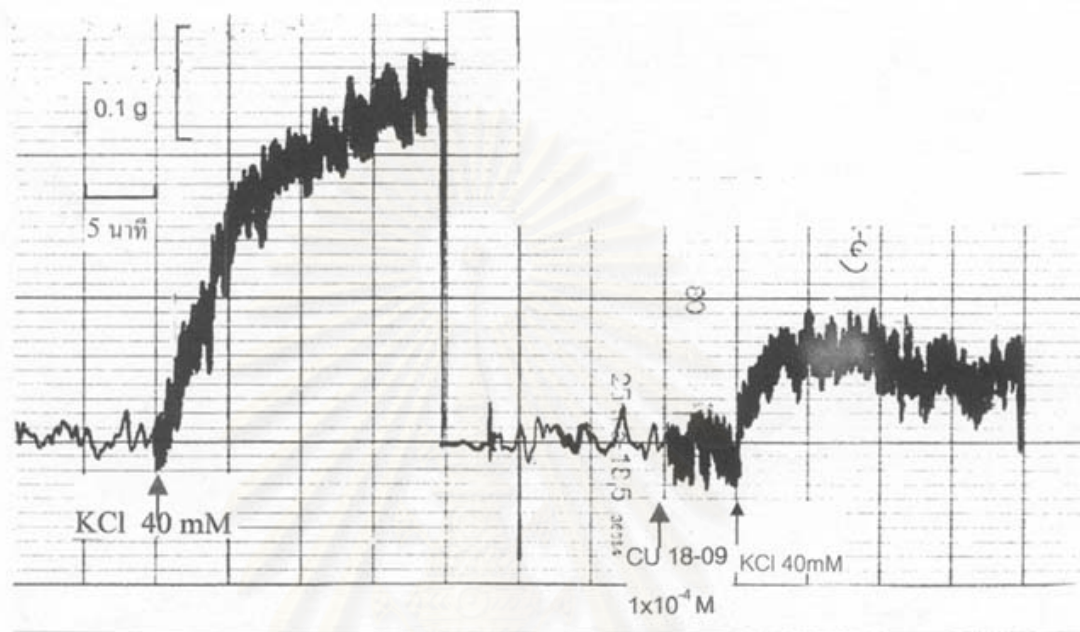
* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มก่อนได้รับสารทดสอบ ($p < 0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 31 แสดงผลของ CU 18-09 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{ M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM ในสารละลาย Krebs-Henseleit

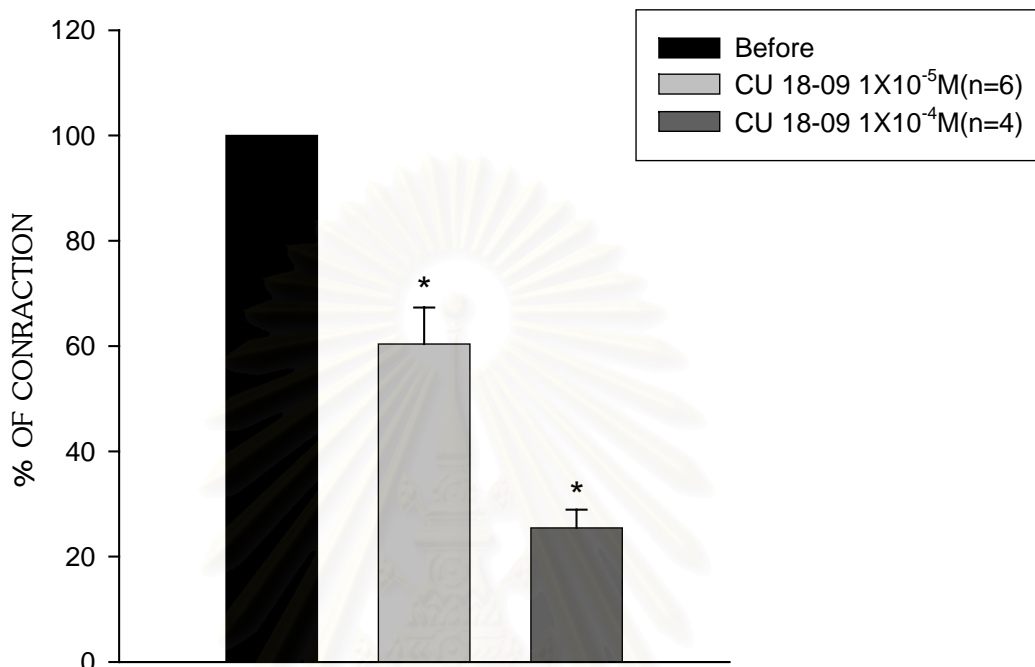
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Ca²⁺(+)

รูปที่ 32 แสดงผลของ CU 18-09 ขนาด 1×10^{-4} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM ในสารละลาย Krebs-Henseleit

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

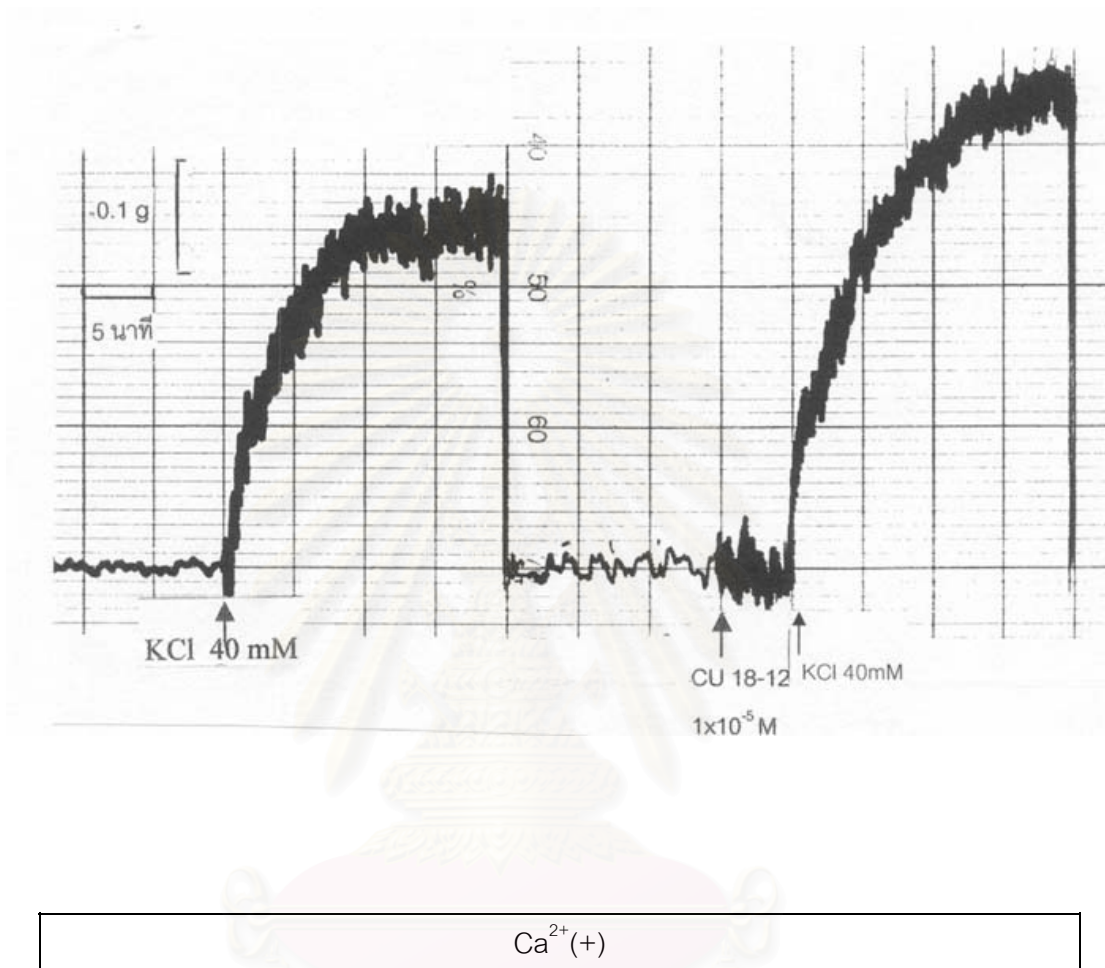


รูปที่ 33 กราฟแสดงผลของ CU 18-09 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{M}$ และ $1 \times 10^{-4} \text{M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

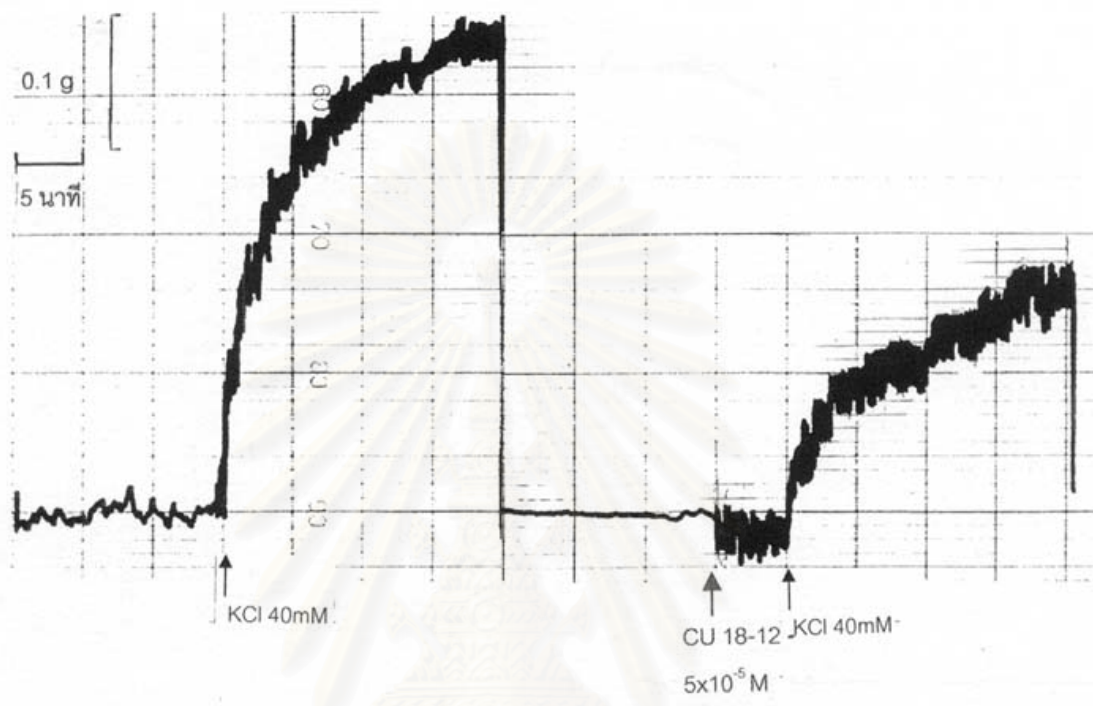
* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มก่อนได้รับสารทดสอบ ($p < 0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 34 แสดงผลของ CU 18-12 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{ M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM ในสารละลาย Krebs-Henseleit

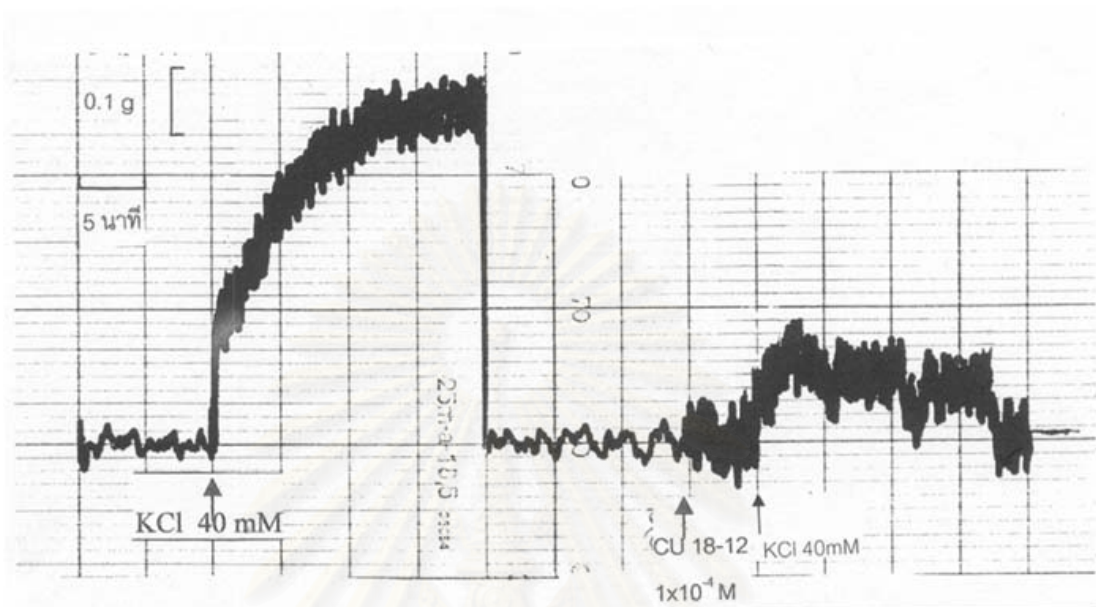
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Ca²⁺(+)

รูปที่ 35 แสดงผลของ CU 18-12 ขนาด $5 \times 10^{-5} \text{ M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM ในสารละลาย Krebs-Henseleit

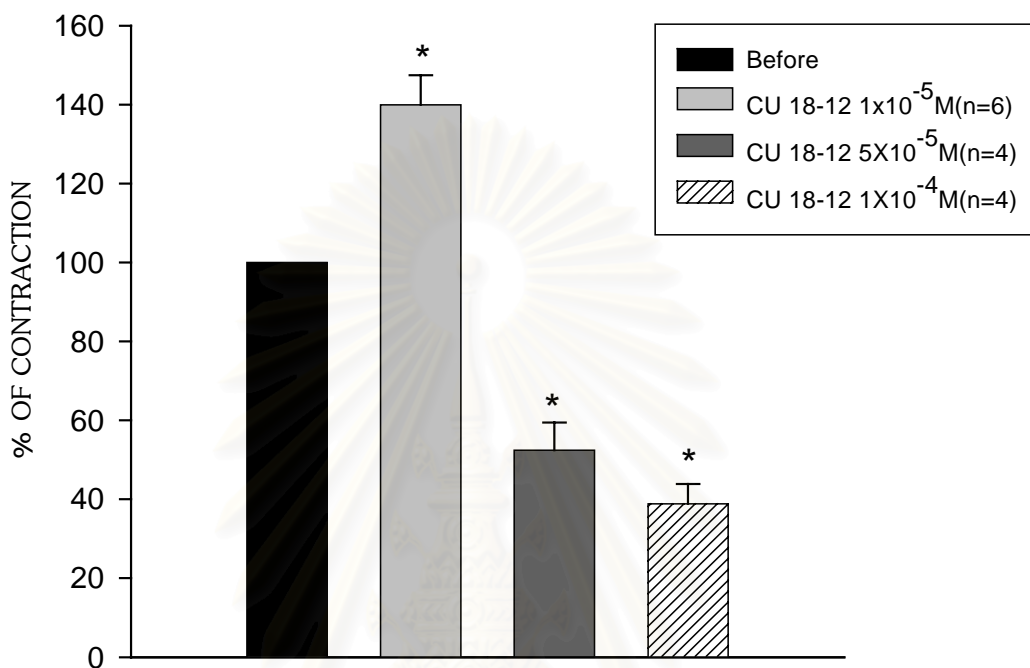
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Ca²⁺(+)

รูปที่ 36 แสดงผลของ CU 18-12 ขนาด $1 \times 10^{-4} \text{ M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM ในสารละลาย Krebs-Henseleit

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

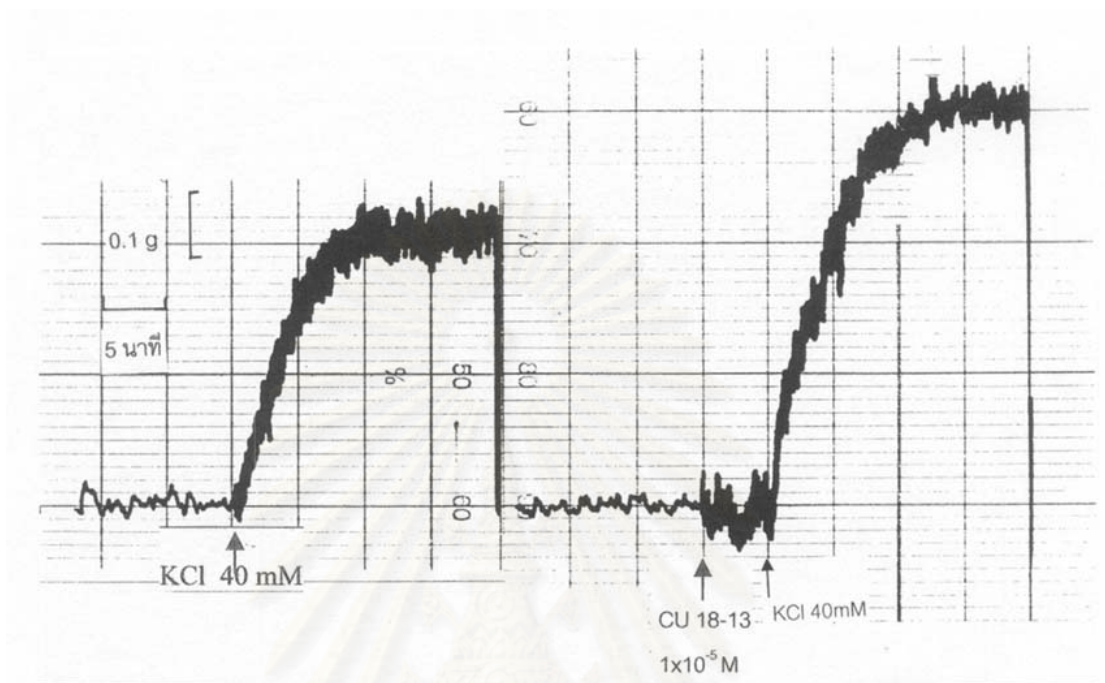


รูปที่ 37 กราฟแสดงผลของ CU 18-12 ขนาด 1×10^{-5} M, 5×10^{-5} M และ 1×10^{-4} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มก่อนได้รับสารทดสอบ ($p < 0.05$)

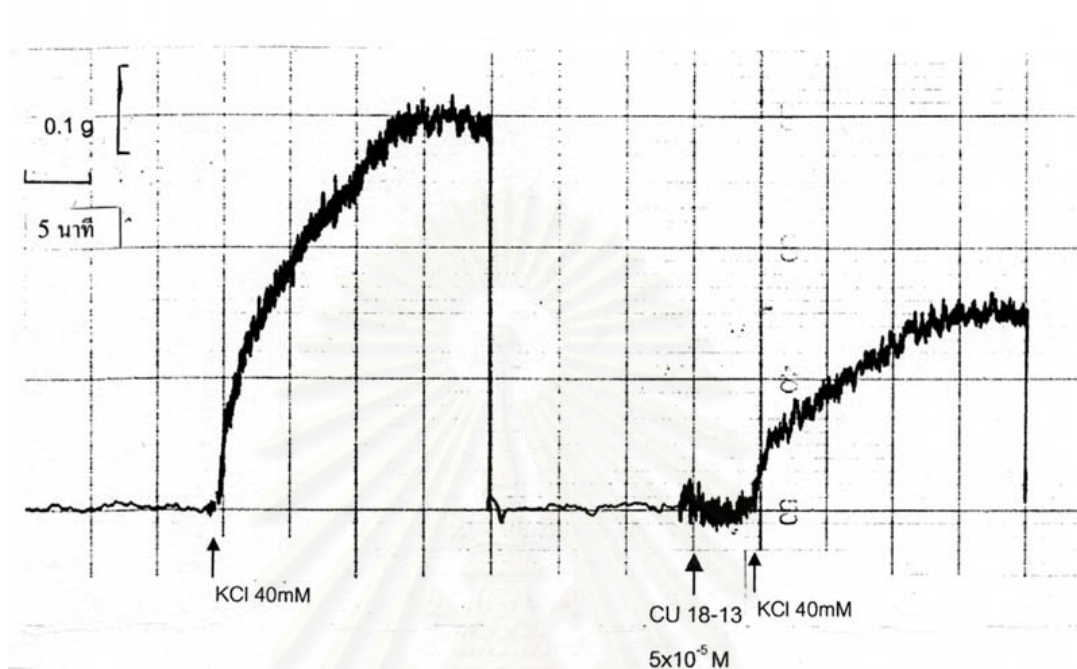
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Ca²⁺(+)

รูปที่ 38 แสดงผลของ CU 18-13 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{ M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดง
หนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM ในสารละลาย Krebs-Henseleit

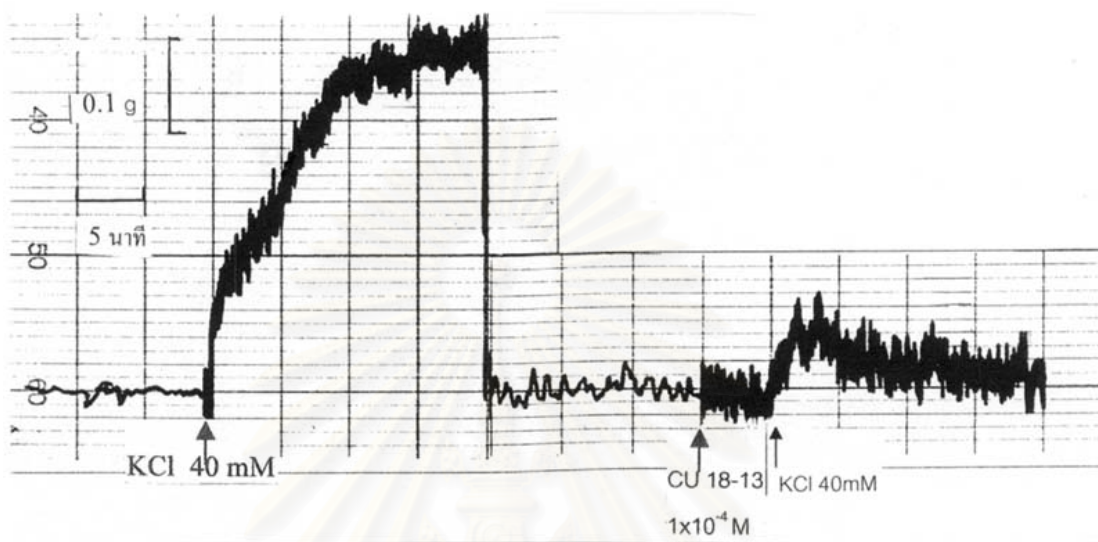
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Ca²⁺(+)

รูปที่ 39 แสดงผลของ CU 18-13 ขนาด 5x10⁻⁵M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM ในสารละลาย Krebs-Henseleit

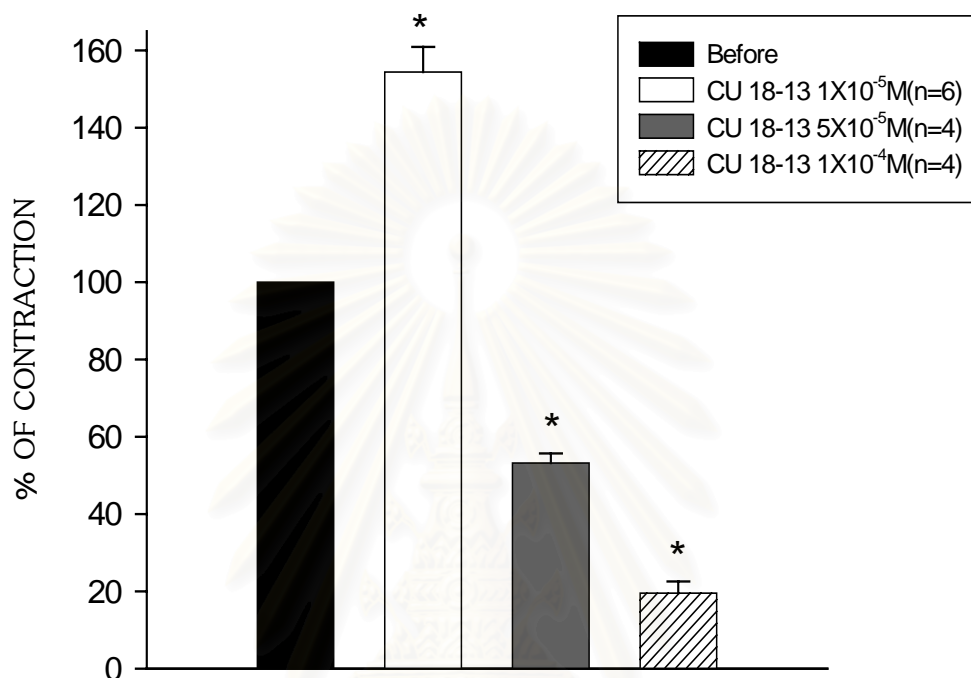
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Ca²⁺(+)

รูปที่ 40 แสดงผลของ CU 18-13 ขนาด 1×10^{-4} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM ในสารละลาย Krebs-Henseleit

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

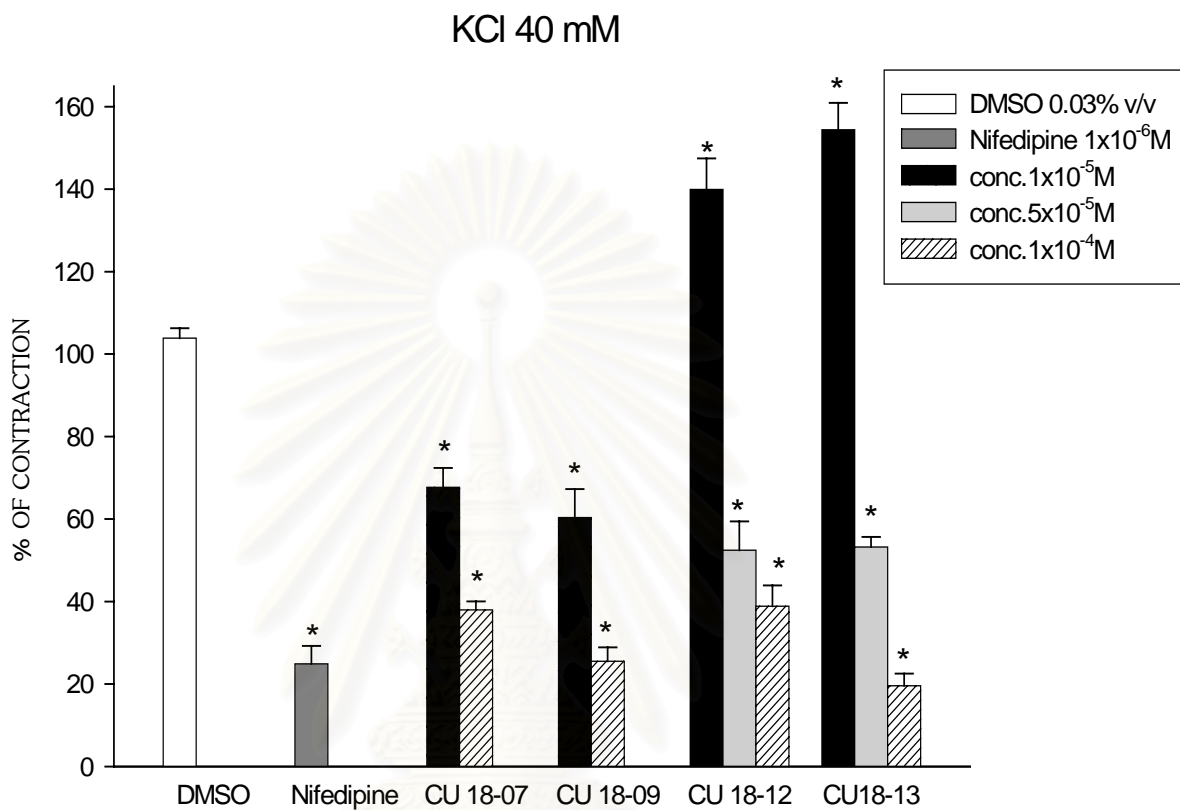


รูปที่ 41 กราฟแสดงผลของ CU 18-13 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{M}$, $5 \times 10^{-5} \text{M}$ และ $1 \times 10^{-4} \text{M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มก่อนได้รับสารทดสอบ ($p < 0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 42 กราฟแสดงผลของ DMSO, Nifedipine, CU 18-07, CU 18-09, CU 18-12 และ CU 18-13 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{M}$, $5 \times 10^{-5} \text{M}$ และ $1 \times 10^{-4} \text{M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาวเมื่อถูกกระตุ้นด้วย KCl 40 mM

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มก่อนได้รับสารทดสอบ ($p < 0.05$)

1.3 ผลของสารสังเคราะห์ CU 18-07, CU 18-09, CU 18-12 และ CU 18-13 ในการกระตุ้นหรือยับยั้งต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว (aorta) ที่ถูกกระตุ้นด้วย TEA 1×10^{-3} M

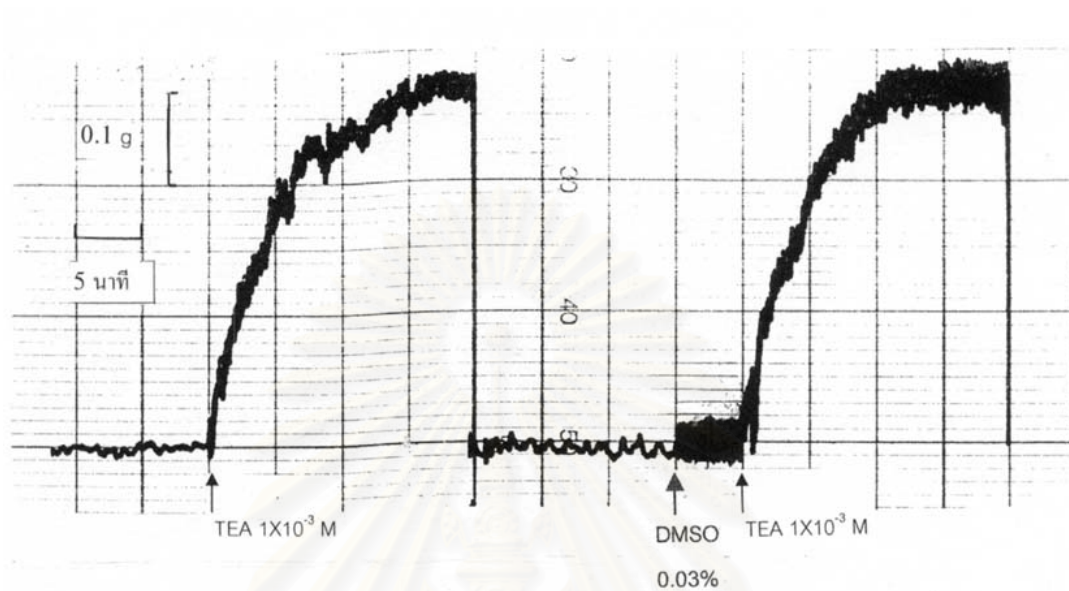
TEA 1×10^{-3} M กระตุ้นการหดตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว ในสภาวะที่ปราศจากสารทดสอบพบว่า กล้ามเนื้อเรียบเกิดการหดตัวอย่างรวดเร็วแบบ phasic contraction และตามมาด้วย tonic contraction ซึ่งในสภาวะที่ปราศจากสารทดสอบนี้ การเปรียบเทียบแรงหดตัวระหว่างก่อนและหลังได้รับสารทดสอบ จะใช้วิธีการคำนวณแรงหดตัวขณะที่ยังไม่ได้รับสารทดสอบมีแรงหดตัวสูงสุดเป็น 100 % ซึ่งจะนำไปใช้เปรียบเทียบกับแรงหดตัวที่เกิดขึ้นหลังได้รับสารทดสอบ

ผลของ DMSO 0.03 % v/v ซึ่งให้ก่อน TEA 1×10^{-3} M เป็นเวลา 5 นาที พบว่า กล้ามเนื้อเรียบมีการหดตัวเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ดังรูปที่ 43 โดยมีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $102.34 \pm 1.39\%$ ดังกราฟรูปที่ 44 ซึ่งแรงหดตัวนี้มีความแตกต่างจากก่อนได้รับ DMSO อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ผลของ Nifedipine ขนาด 1×10^{-6} M กล้ามเนื้อเรียบมีการหดตัวลดลงจากก่อนได้รับสารทดสอบ ดังรูปที่ 45 และมีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $14.62 \pm 0.34\%$ ดังกราฟรูปที่ 46 ซึ่งแรงหดตัวของ Nifedipine มีการหดตัวลดลงจากก่อนได้รับสารทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ผลของ CU 18-07, CU 18-09, CU 18-12 และ CU 18-13 ขนาด 1×10^{-5} M พบว่า กล้ามเนื้อเรียบมีการหดตัวลดลงจากก่อนได้รับสารทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังรูปที่ 47, 50, 54 และ 56 และมีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $25.03 \pm 3.45\%$, $26.23 \pm 3.96\%$, $20.25 \pm 1.9\%$ และ $27.84 \pm 3.89\%$ ตามลำดับ ในขณะที่เพิ่มขนาดของ CU 18-07, CU 18-09, CU 18-12 และ CU 18-13 เป็น 1×10^{-4} M พบว่า กล้ามเนื้อเรียบมีการหดตัวลดลงจากก่อนได้รับสารทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังรูปที่ 48, 51, 55 และ 57 และ CU 18-07 และ CU 18-13 มีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $7.36 \pm 3.77\%$ และ $14.62 \pm 0.34\%$ ตามลำดับ ในขณะที่ CU 18-09 และ CU 18-12 ไม่เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบขึ้นเลย ดังกราฟรูปที่ 49, 52, 55 และ 58

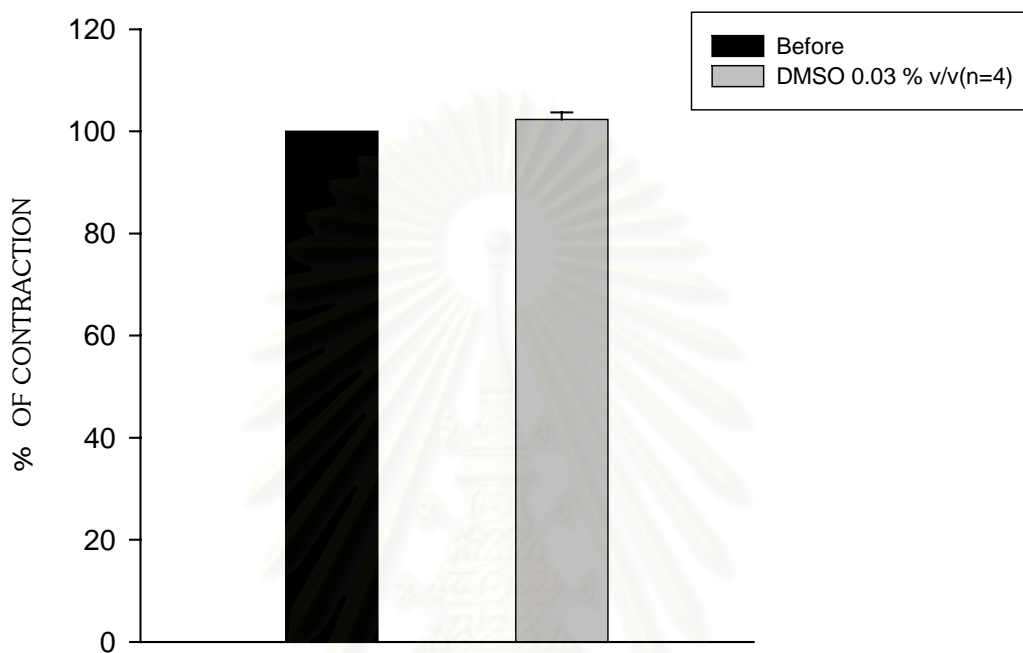
จากผลการทดลองดังกล่าวสรุปได้ว่า DMSO ซึ่งใช้เป็นตัวทำละลายของสารสังเคราะห์ทั้ง 4 ที่ใช้ในการศึกษานี้ไม่มีผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว เมื่อกระตุ้นการหดตัวด้วย TEA เมื่อเปรียบเทียบแรงหดตัวที่ลดลงหลังได้รับสารสังเคราะห์ทั้ง 4 กับกลุ่มที่ได้รับ DMSO ดังกราฟในรูปที่ 59 พบว่าสามารถลดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดได้



Ca²⁺(+)

รูปที่ 43 กราฟแสดงผลของ DMSO ขนาด 0.03 % v/v ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอด
เลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย TEA $1 \times 10^{-3} \text{ M}$ ในสารละลาย Krebs-Henseleit

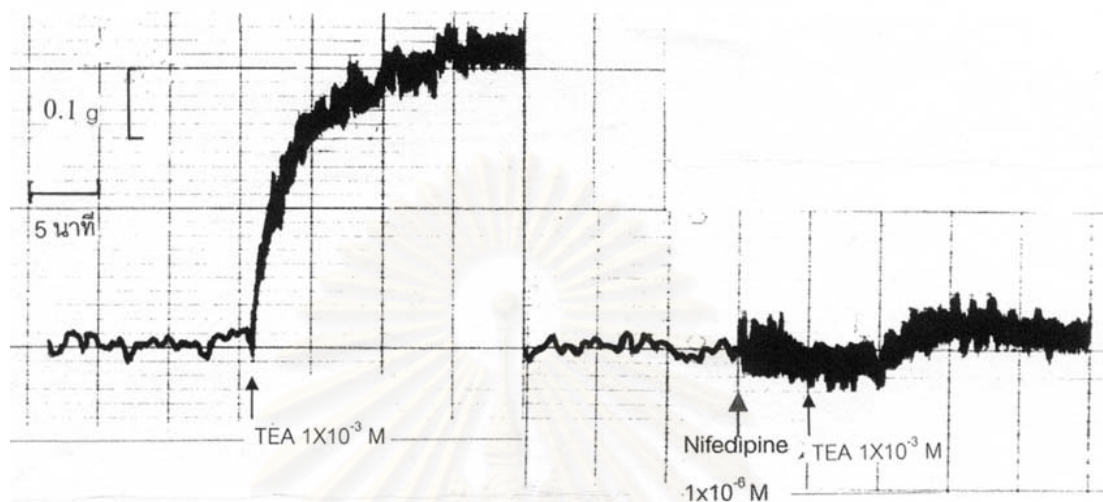
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 44 กราฟแสดงผลของ DMSO ขนาด 0.03 % v/v ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย TEA $1 \times 10^{-3} \text{M}$

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

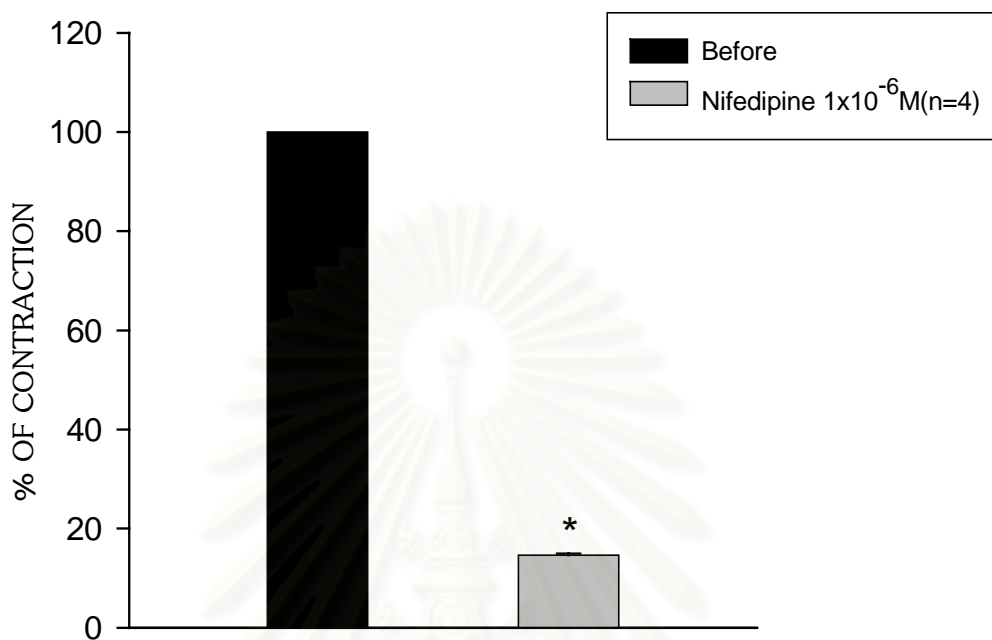
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Ca^{2+} (+)

รูปที่ 45 กราฟแสดงผลของ Nifedipine ขนาด $1 \times 10^{-6} \text{ M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอด
เลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $\text{TEA } 1 \times 10^{-3} \text{ M}$ ในสารละลาย Krebs-Henseleit

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

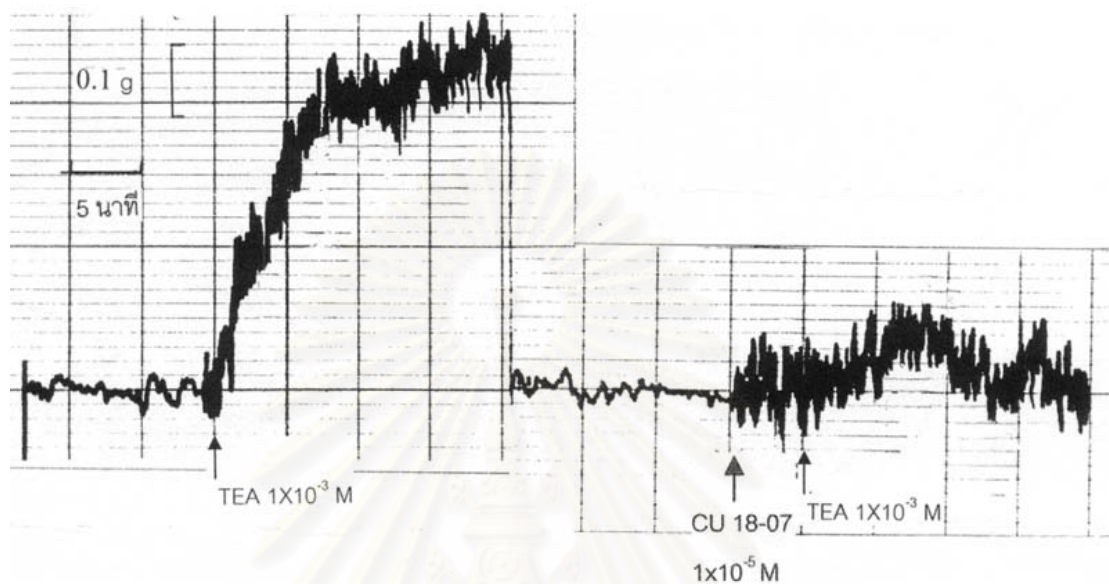


รูปที่ 46 กราฟแสดงผลของ Nifedipine ขนาด $1 \times 10^{-6} \text{M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย TEA $1 \times 10^{-3} \text{M}$

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มก่อนได้รับสารทดสอบ ($p < 0.05$)

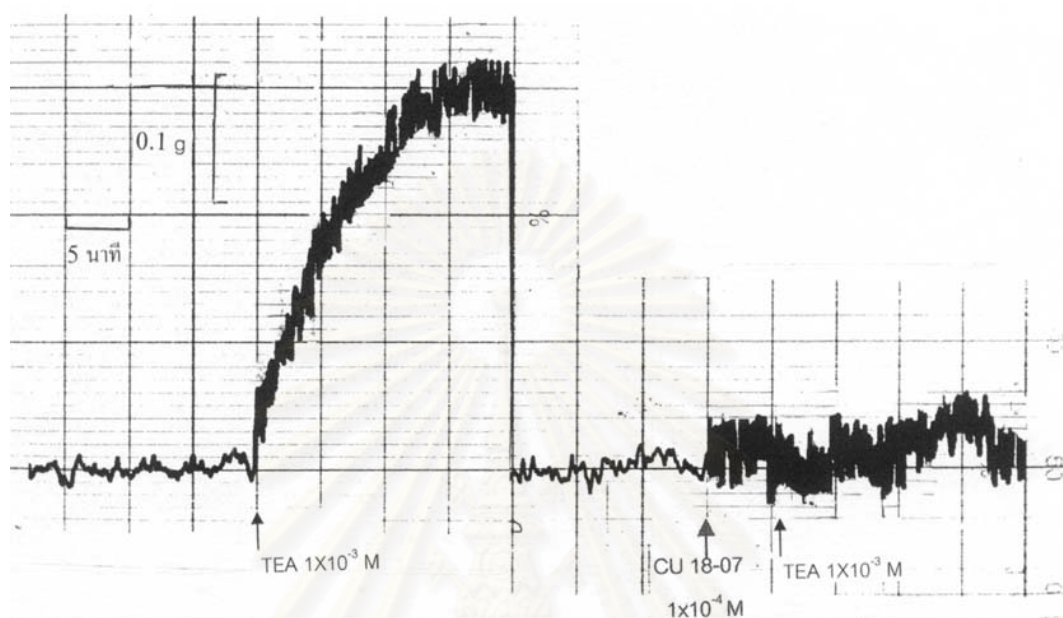
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Ca²⁺ (+)

รูปที่ 47 แสดงผลของ CU 18-07 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{ M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดง
หนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย TEA $1 \times 10^{-3} \text{ M}$ ในสารละลาย Krebs-Henseleit

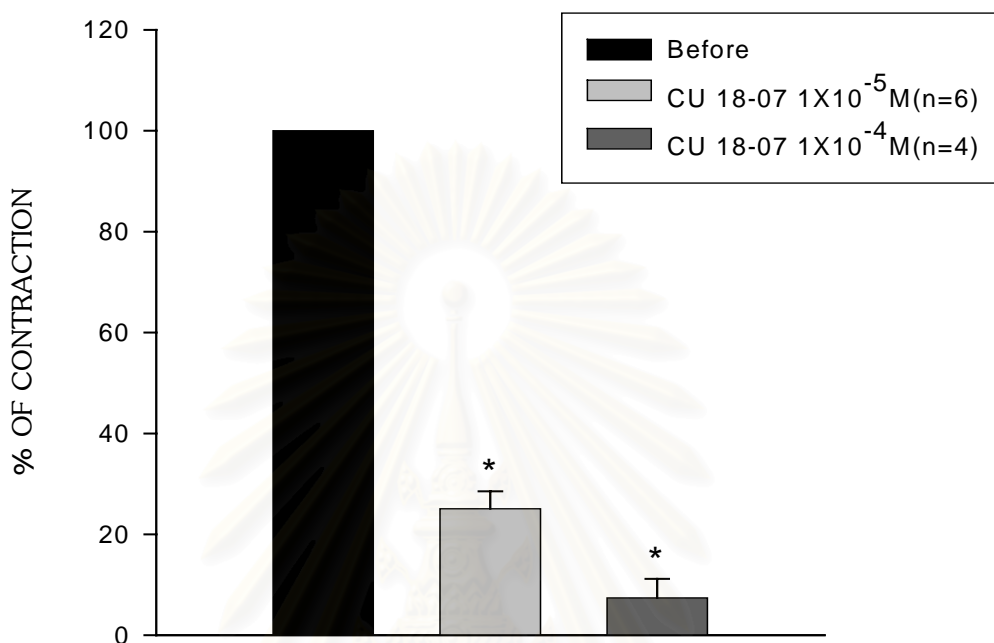
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Ca²⁺(+)

รูปที่ 48 แสดงผลของ CU 18-07 ขนาด 1x10⁻⁴M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดง
หนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย TEA 1x10⁻³M ในสารละลาย Krebs-Henseleit

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

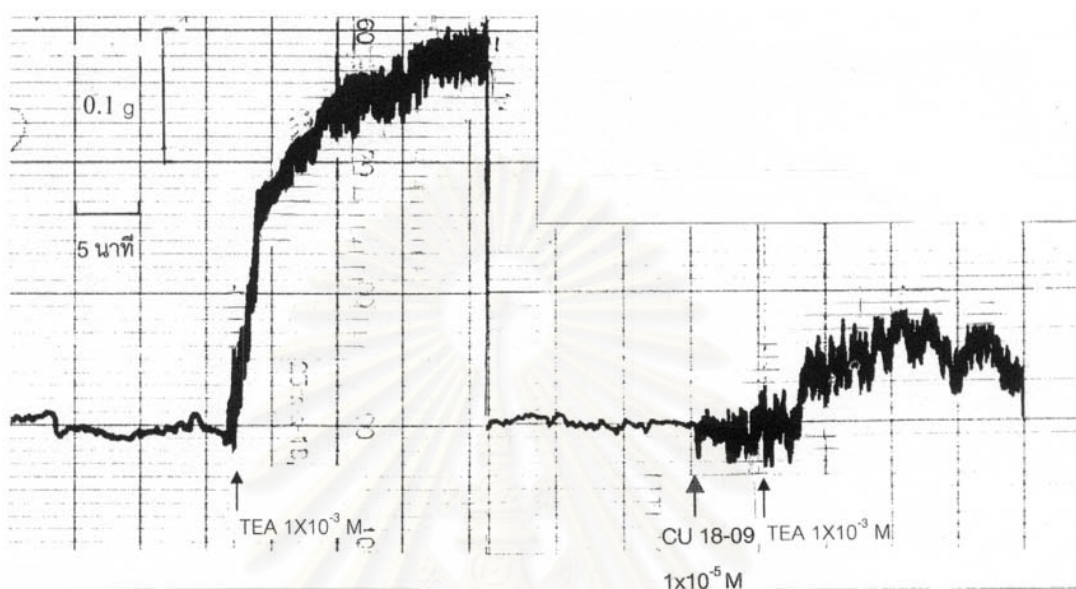


รูปที่ 49 กราฟแสดงผลของ CU 18-07 ขนาด 1×10^{-5} M และ 1×10^{-4} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย TEA 1×10^{-3} M

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มก่อนได้รับสารทดสอบ ($p < 0.05$)

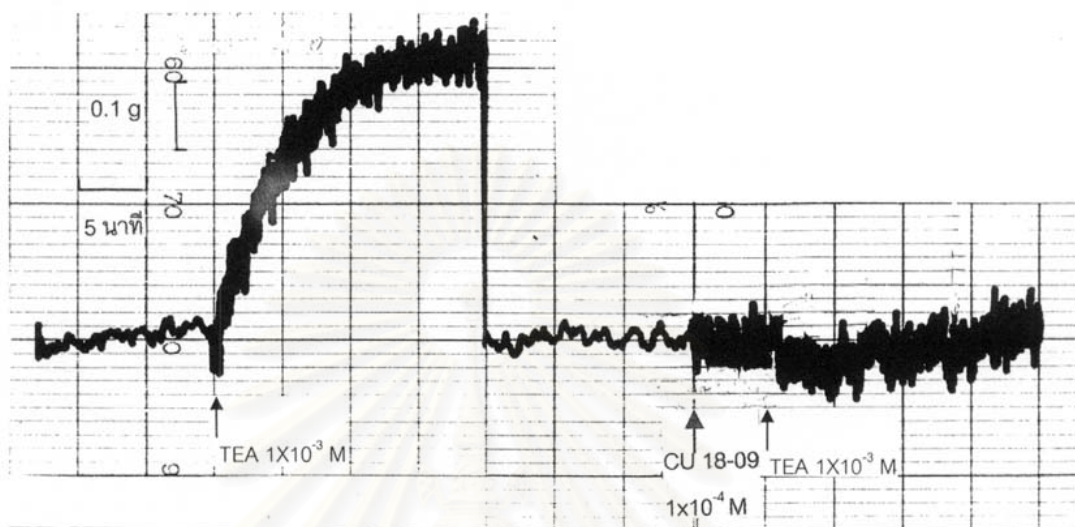
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Ca²⁺(+)

รูปที่ 50 แสดงผลของ CU 18-09 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{ M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย TEA $1 \times 10^{-3} \text{ M}$ ในสารละลาย Krebs-Henseleit

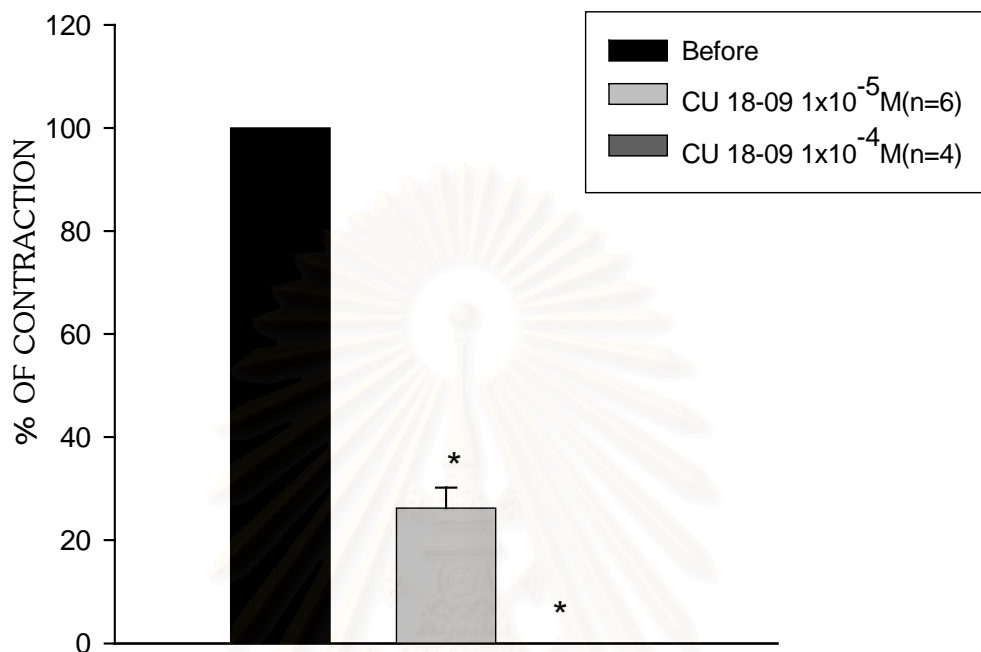
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Ca²⁺(+)

รูปที่ 51 แสดงผลของ CU 18-09 ขนาด 1×10^{-4} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย TEA 1×10^{-3} M ในสารละลาย Krebs-Henseleit

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

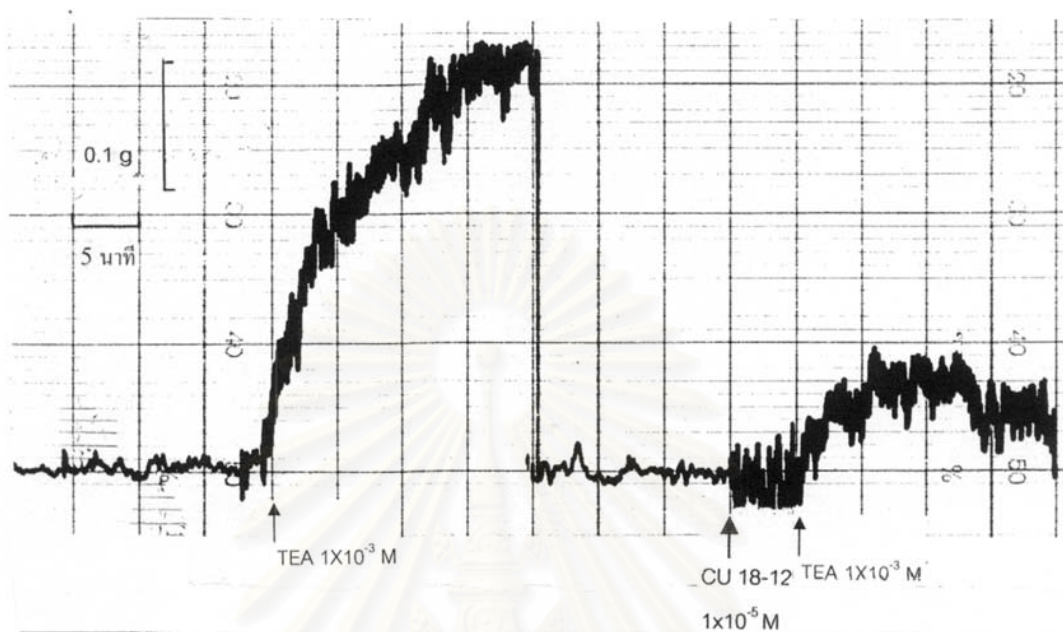


รูปที่ 52 กราฟแสดงผลของ CU 18-09 ขนาด 1×10^{-5} M และ 1×10^{-4} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย TEA 1×10^{-3} M

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มก่อนได้รับสารทดสอบ ($p < 0.05$)

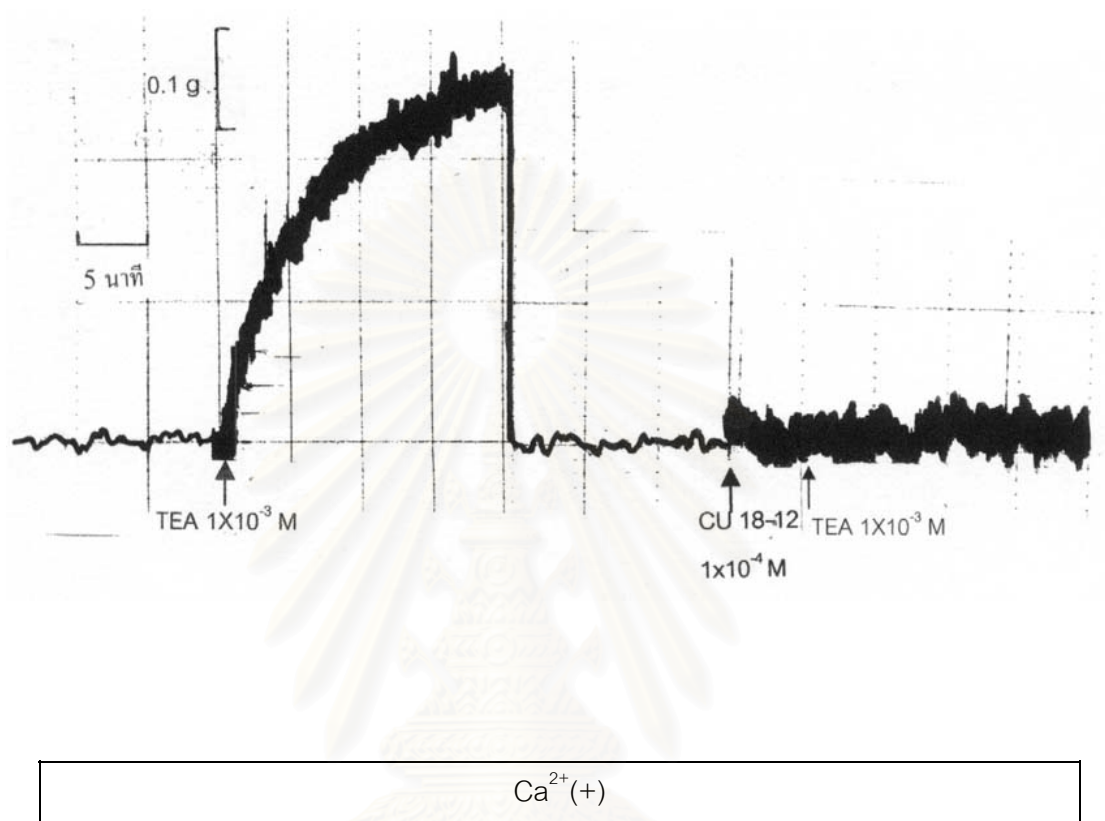
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Ca²⁺(+)

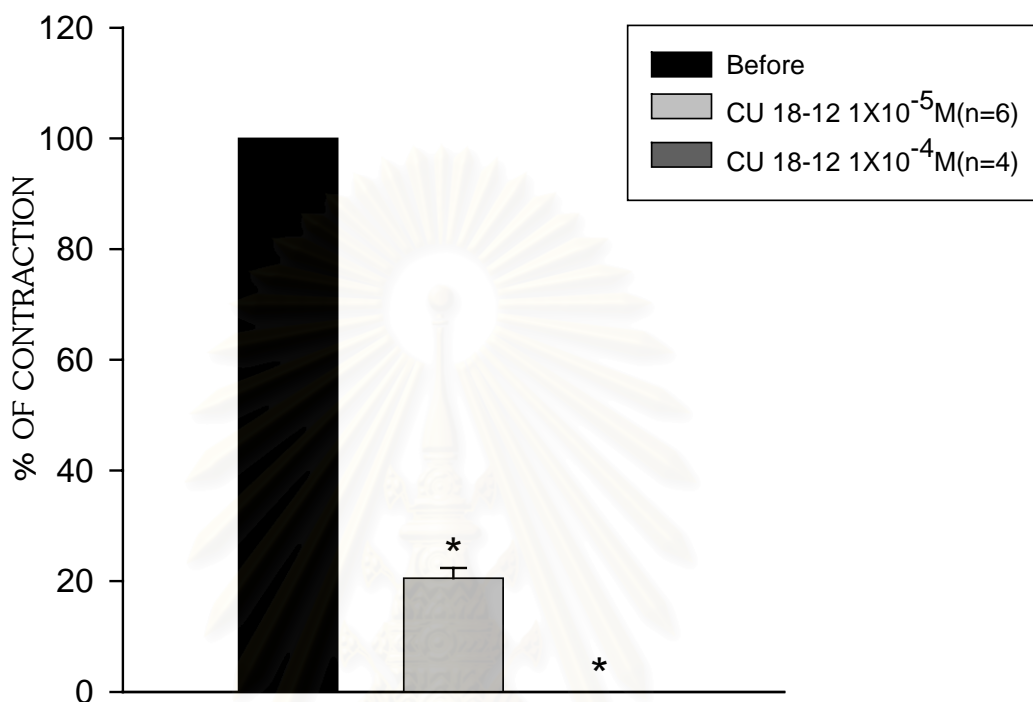
รูปที่ 53 แสดงผลของ CU 18-12 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{ M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย TEA $1 \times 10^{-3} \text{ M}$ ในสารละลาย Krebs-Henseleit

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 54 แสดงผลของ CU 18-12 ขนาด 1×10^{-4} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดง
หนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย TEA 1×10^{-3} M ในสารละลาย Krebs-Henseleit

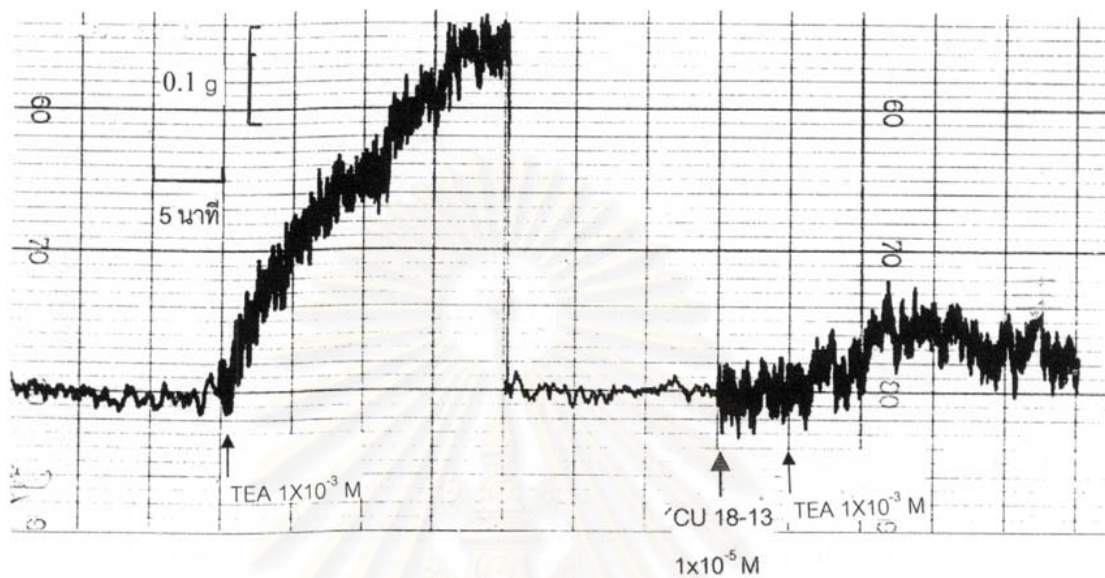
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 55 กราฟแสดงผลของ CU 18-12 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{M}$ และ $1 \times 10^{-4} \text{M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย TEA $1 \times 10^{-3} \text{M}$

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

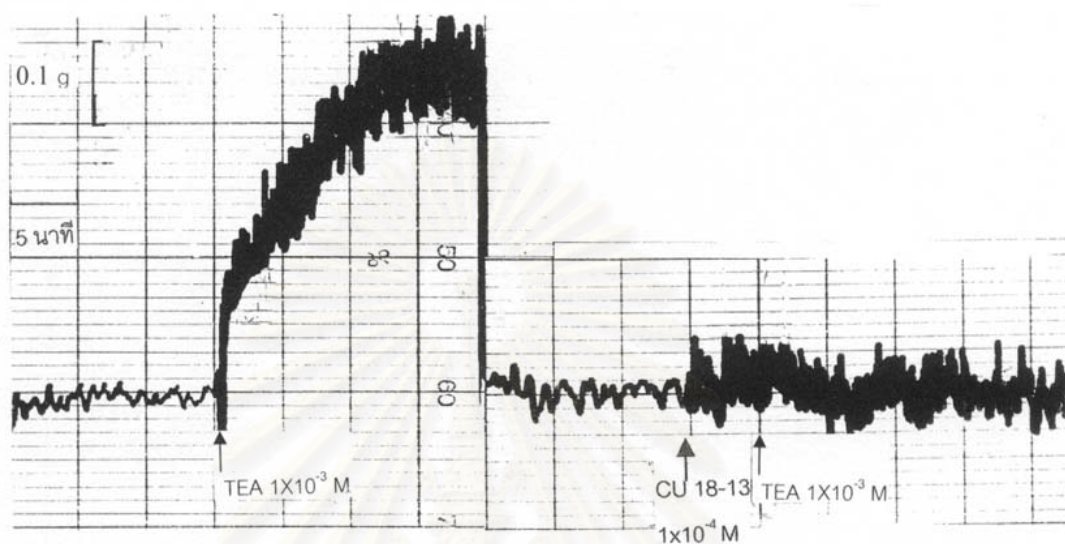
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Ca²⁺(+)

รูปที่ 56 แสดงผลของ CU 18-13 ขนาด 1x10⁻⁵M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดง
หนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย TEA 1x10⁻³M ในสารละลาย Krebs-Henseleit

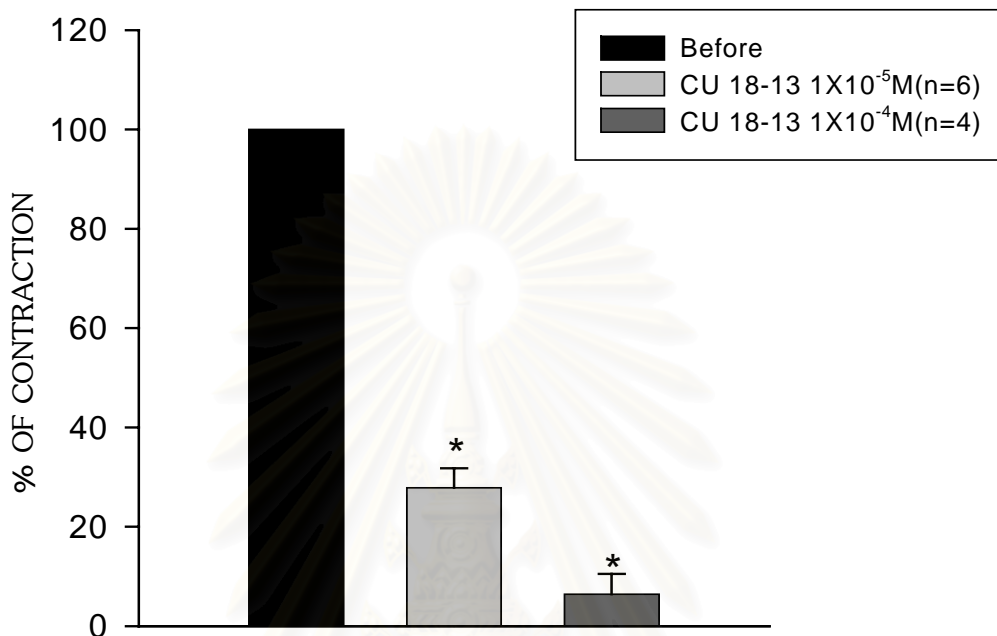
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Ca²⁺(+)

รูปที่ 57 แสดงผลของ CU 18-13 ขนาด $1 \times 10^{-4} \text{ M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย TEA $1 \times 10^{-3} \text{ M}$ ในสารละลาย Krebs-Henseleit

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

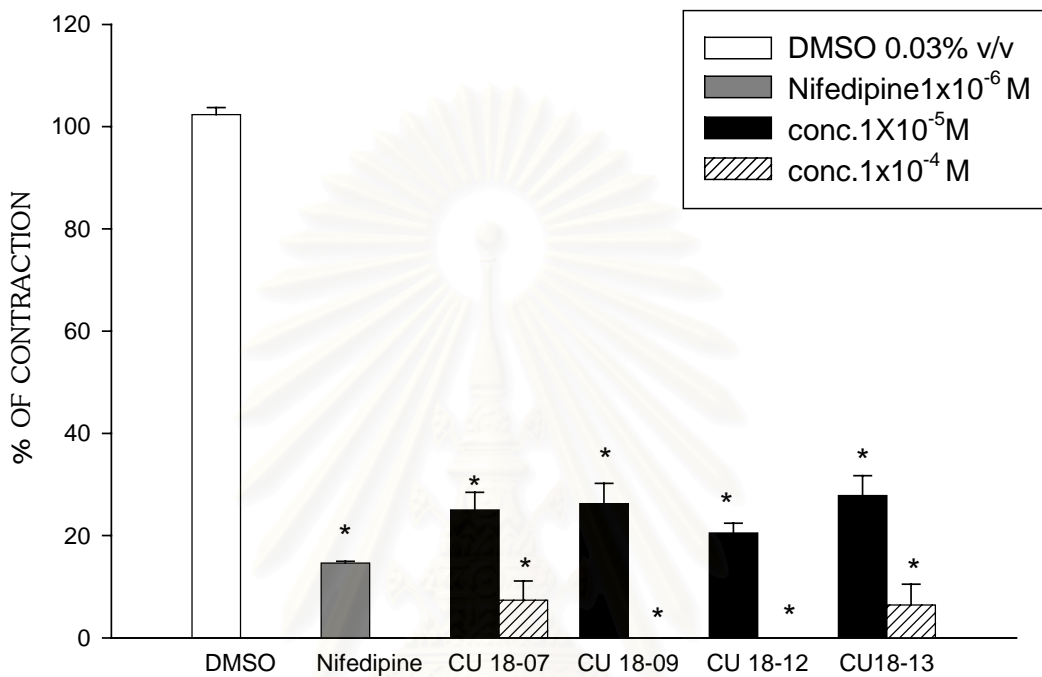


รูปที่ 58 กราฟแสดงผลของ CU 18-13 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{M}$ และ $1 \times 10^{-4} \text{M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย TEA $1 \times 10^{-3} \text{M}$

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มก่อนได้รับสารทดสอบ ($p < 0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

TEA 1×10^{-3} M

รูปที่ 59 กราฟแสดงผลของ DMSO, Nifedipine, CU 18-07, CU 18-09, CU 18-12 และ CU 18-13 ขนาด 1×10^{-5} M และ 1×10^{-4} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย TEA 1×10^{-3} M

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มก่อนได้รับสารทดสอบ ($p < 0.05$)

2. ผลของสารสังเคราะห์ CU 18-07, CU 18-09, CU 18-12 และ CU 18-13 ที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงแคลเซียมที่ปล่อยออกจากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์ของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว (aorta) เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NA และ Caffeine ในสารละลาย Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit

2.1 เมื่อถูกกระตุ้นด้วย noradrenaline (NA) 1×10^{-6} M

NA 1×10^{-6} M กระตุ้นการหดตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว ในสารละลาย Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit ในสภาพที่ปราศจากสารทดสอบพบว่า กล้ามเนื้อเรียบเกิดการหดตัวอย่างรวดเร็วแบบ phasic contraction และตามมาด้วย tonic contraction ซึ่งมีการหดตัวและคลายตัวอย่างรวดเร็ว ในสภาพที่ปราศจากสารทดสอบนี้ กล้ามเนื้อเรียบมีแรงหดตัวเฉลี่ยและการเปรียบเทียบแรงหดตัวระหว่างก่อนและหลังได้รับสารทดสอบ จะใช้วิธีการคำนวณแรงหดตัวขณะที่ยังไม่ได้รับสารทดสอบมีแรงหดตัวสูงสุดเป็น 100 % ในสารละลาย Krebs-Henseleit และ ซึ่งจะนำไปใช้เปรียบเทียบกับแรงหดตัวที่เกิดขึ้นหลังได้รับ NA 1×10^{-6} M กระตุ้นในสารละลาย Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit

ผลของ DMSO 0.03 % v/v ซึ่งให้ก่อน NA 1×10^{-6} M เป็นเวลา 5 นาที พบว่า กล้ามเนื้อเรียบมีการหดตัวเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ดังรูปที่ 60 โดยมีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $28.45 \pm 4.77\%$ ดังกราฟรูปที่ 61 ซึ่งแรงหดตัวนี้มีความแตกต่างจากก่อนได้รับ DMSO อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

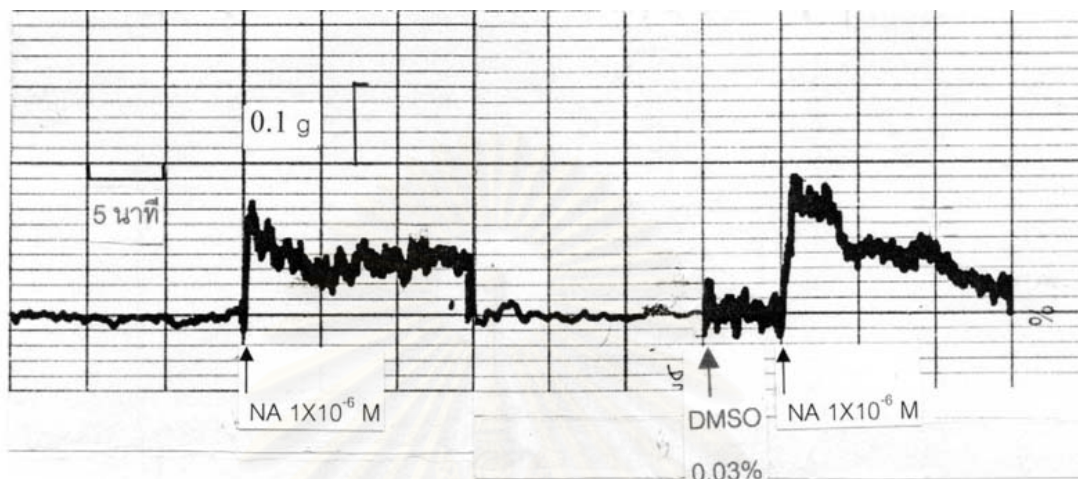
ผลของ Nifedipine ขนาด 1×10^{-6} M กล้ามเนื้อเรียบมีการหดตัวลดลงจากก่อนได้รับสารทดสอบ ดังรูปที่ 62 และมีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $7.29 \pm 2.55\%$ ดังกราฟรูปที่ 63 ซึ่งแรงหดตัวของ Nifedipine มีการหดตัวลดลงจากก่อนได้รับสารทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ผลของ CU 18-07, CU 18-09, CU 18-12 และ CU 18-13 ขนาด 1×10^{-5} M พบว่า กล้ามเนื้อเรียบมีการหดตัวลดลงจากก่อนได้รับสารทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังรูปที่ 64, 67, 70 และ 73 และมีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $11.59 \pm 1.73\%$, $15.96 \pm 1.2\%$, $18.73 \pm 4.56\%$ และ $15.92 \pm 2.72\%$ ตามลำดับ ในขณะที่เพิ่มขนาดของ CU 18-07, CU 18-09, CU 18-12 และ CU 18-13 เป็น 1×10^{-4} M พบว่า กล้ามเนื้อเรียบมีการหดตัวลดลงจากก่อนได้รับสารทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังรูปที่ 65, 68, 71 และ 74 และมีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $8.02 \pm 2.98\%$, $9.02 \pm 1.22\%$, $10.82 \pm 2.07\%$ และ $11.63 \pm 2.32\%$ ตามลำดับ ดังกราฟรูปที่ 66, 69, 72 และ 75

จากผลการทดลองดังกล่าวสรุปได้ว่า DMSO ซึ่งใช้เป็นตัวทำละลายของสารสังเคราะห์ทั้ง 4 ชนิดที่ใช้ในการศึกษานี้ไม่มีผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว เมื่อกระตุ้นการหดตัว NA เมื่อเปรียบเทียบแรงหดตัวที่ลดลงหลังได้รับสารสังเคราะห์ทั้ง 4 กับกลุ่มที่ได้รับ DMSO ดังกราฟในรูปที่ 76 พบว่าสามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดได้



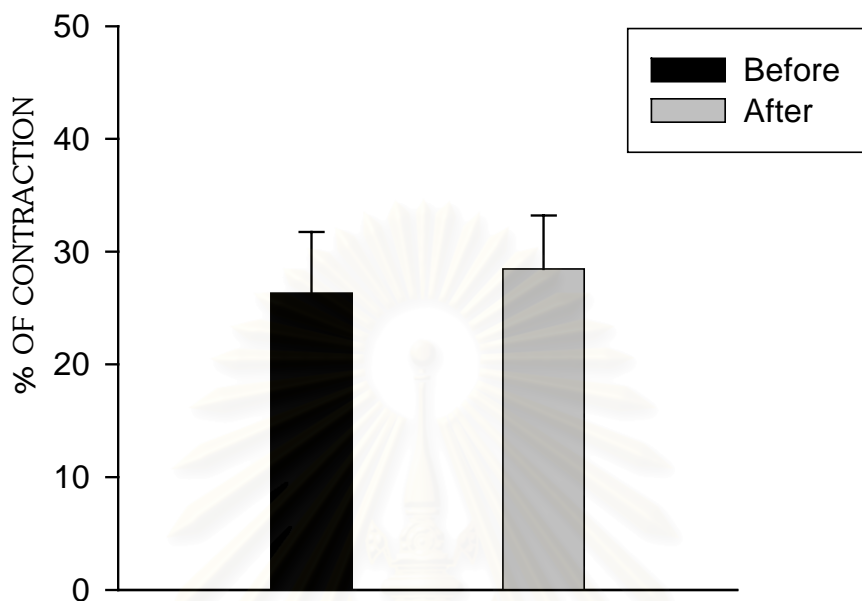
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Ca²⁺ (-)

รูปที่ 60 แสดงผลของ DMSO ขนาด 0.03 % v/v ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NA 1X10⁻⁶M ใน Ca²⁺ - free depolarizing solution

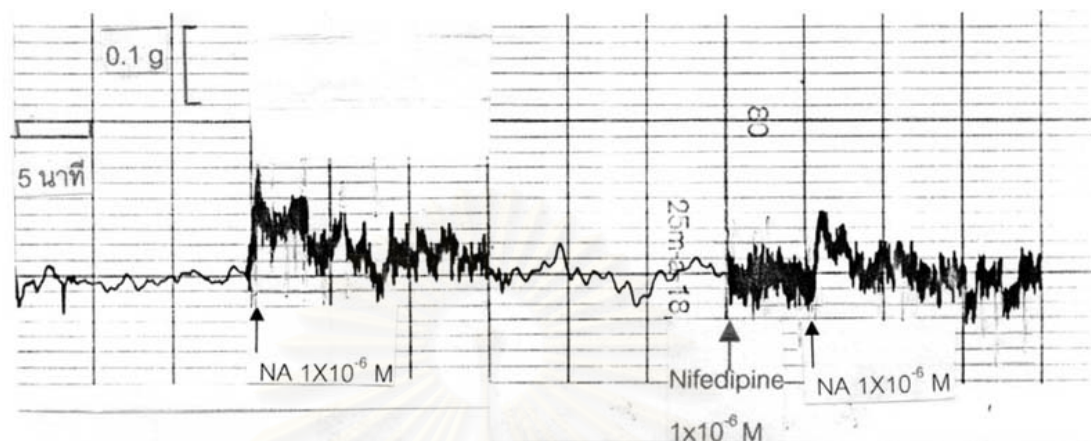
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 61 กราฟแสดงผลของ DMSO ขนาด 0.03 % v/v ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอด
เลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $NA\ 1 \times 10^{-6} M$ ใน Ca^{2+} - free depolarizing solution
(n =4)

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

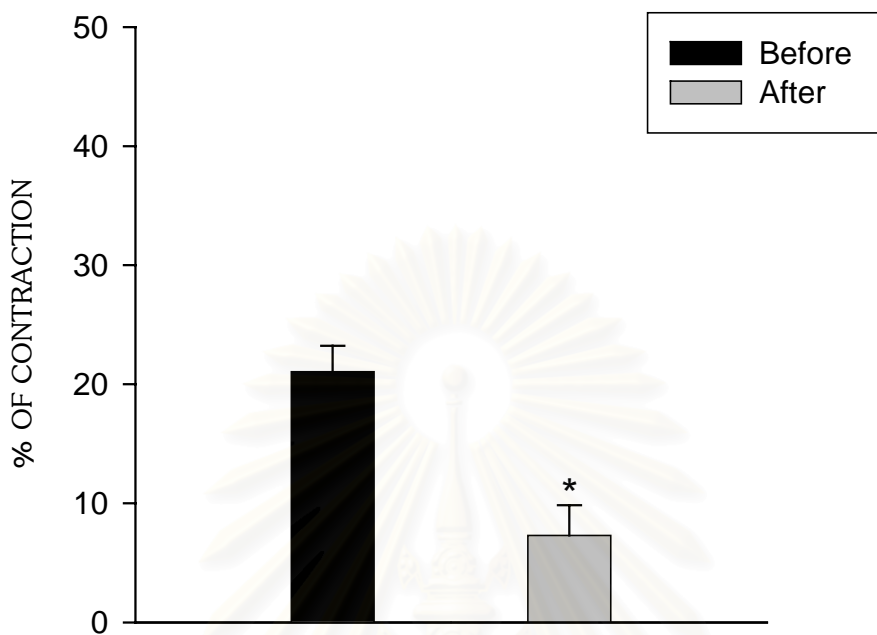
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Ca²⁺ (-)

รูปที่ 62 แสดงผลของ Nifedipine ขนาด 1x10⁻⁶M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดง
หนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NA 1X10⁻⁶M ใน Ca²⁺ - free depolarizing solution

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

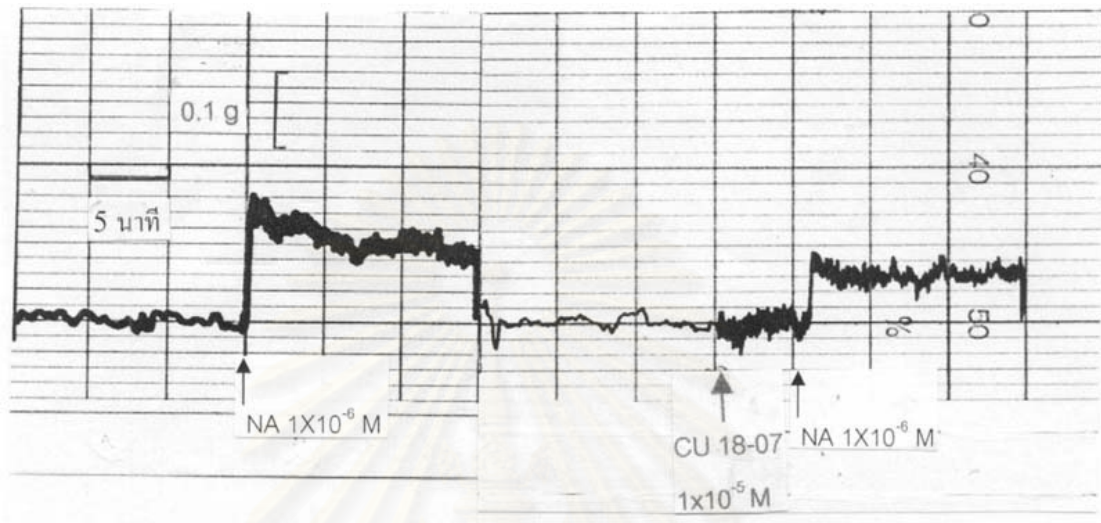


รูปที่ 63 กราฟแสดงผลของ Nifedipine ขนาด $1 \times 10^{-6} \text{M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอด
เลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NA $1 \times 10^{-6} \text{M}$ ใน Ca^{2+} - free depolarizing solution
(n =4)

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มก่อนได้รับสารทดสอบ ($p < 0.05$)

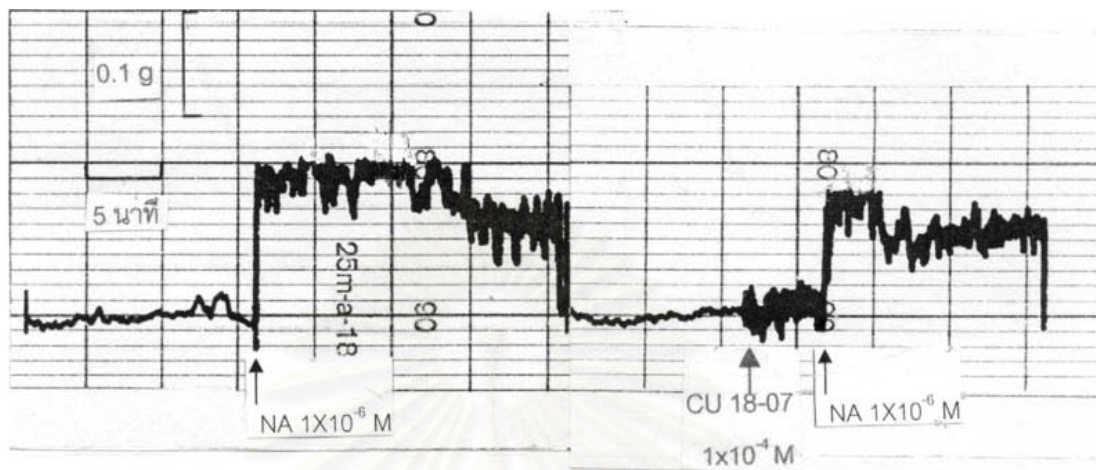
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Ca²⁺(-)

รูปที่ 64 แสดงผลของ CU 18-07 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{ M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NA $1 \times 10^{-6} \text{ M}$ ใน Ca²⁺-free depolarizing solution

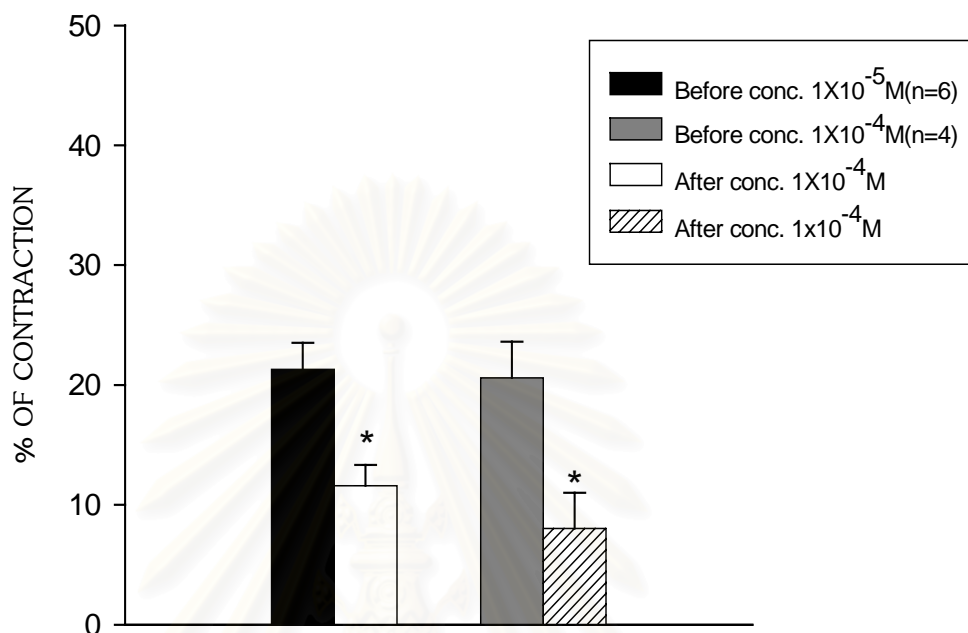
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Ca²⁺(-)

รูปที่ 65 แสดงผลของ CU 18-07 ขนาด $1 \times 10^{-4} \text{ M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดง
หนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $\text{NA } 1 \times 10^{-6} \text{ M}$ ใน Ca^{2+} -free depolarizing solution

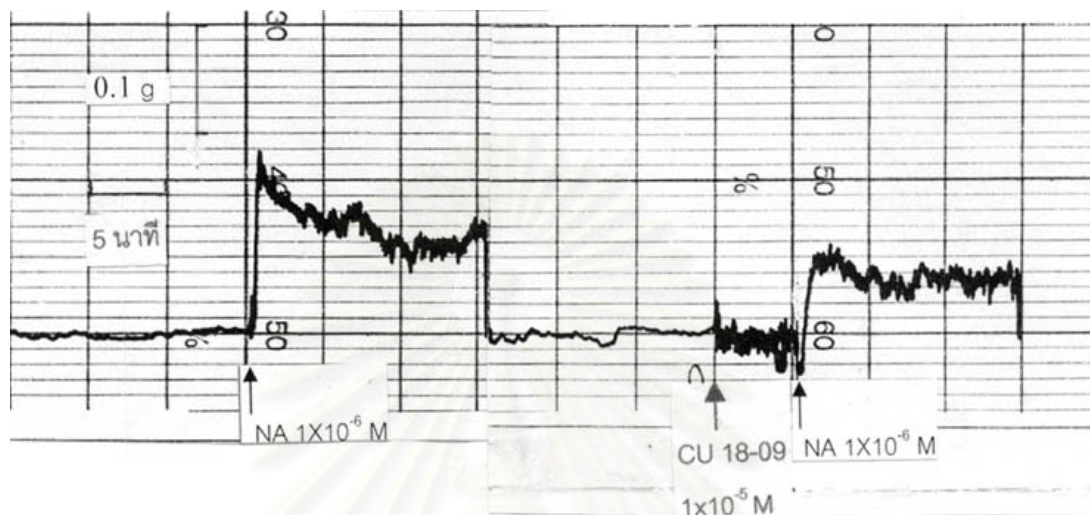
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 66 กราฟแสดงผลของ CU 18-07 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{ M}$ และ $1 \times 10^{-4} \text{ M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NA $1 \times 10^{-6} \text{ M}$ ใน Ca^{2+} - free depolarizing solution

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

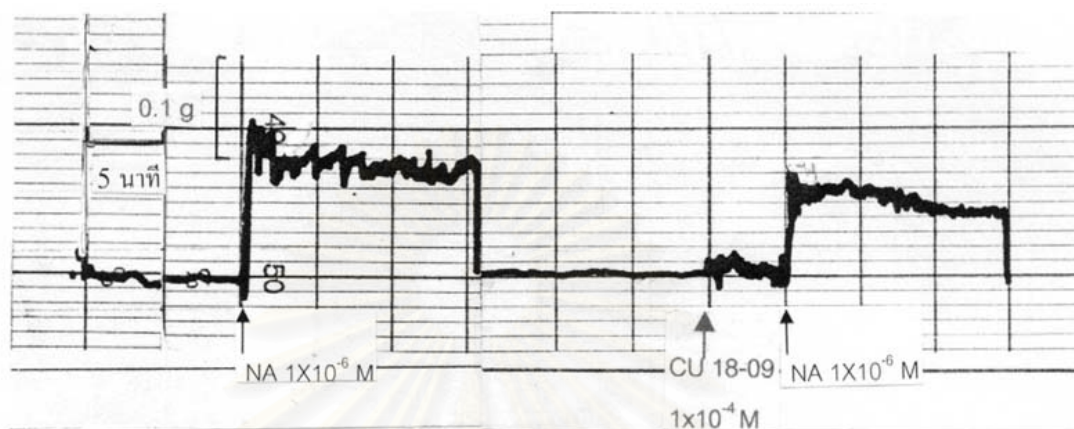
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Ca²⁺(-)

รูปที่ 67 แสดงผลของ CU 18-09 ขนาด 1x10⁻⁵M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดง
หนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NA 1x10⁻⁶M ใน Ca²⁺- free depolarizing solution

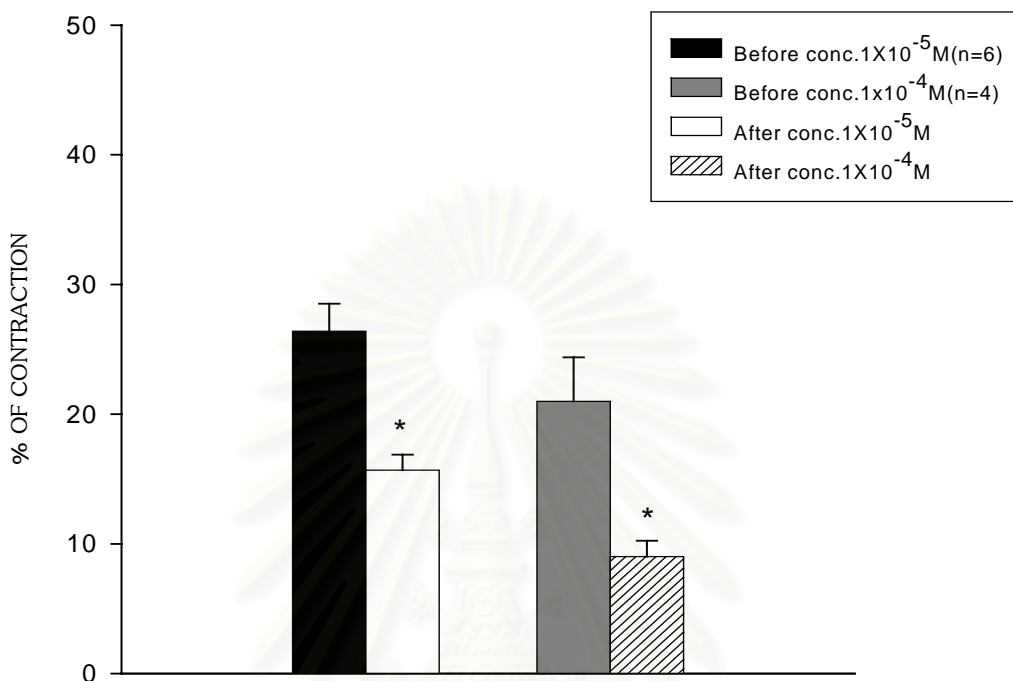
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Ca²⁺ (-)

รูปที่ 68 แสดงผลของ CU 18-09 ขนาด $1 \times 10^{-4} \text{ M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $\text{NA } 1 \times 10^{-6} \text{ M}$ ใน Ca^{2+} - free depolarizing solution

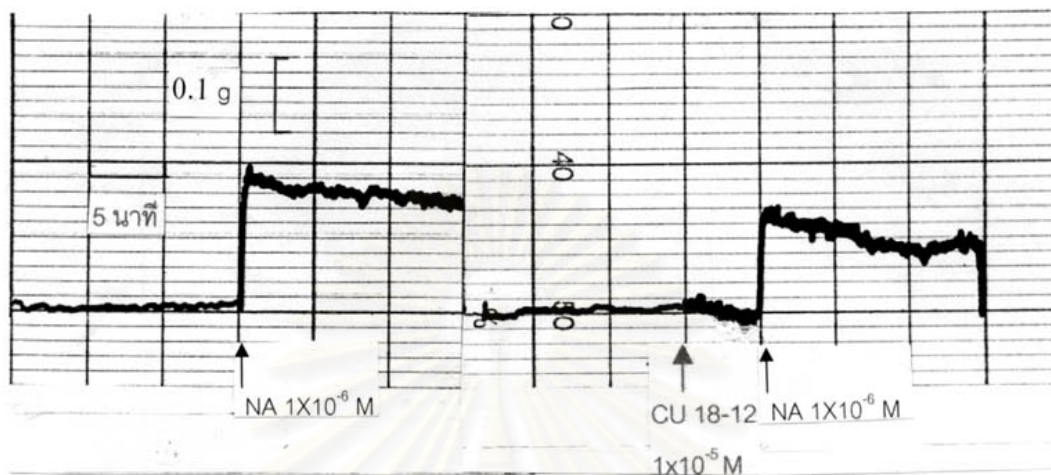
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 69 กราฟแสดงผลของ CU 18-09 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{ M}$ และ $1 \times 10^{-4} \text{ M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NA $1 \times 10^{-6} \text{ M}$ ใน Ca^{2+} - free depolarizing solution

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

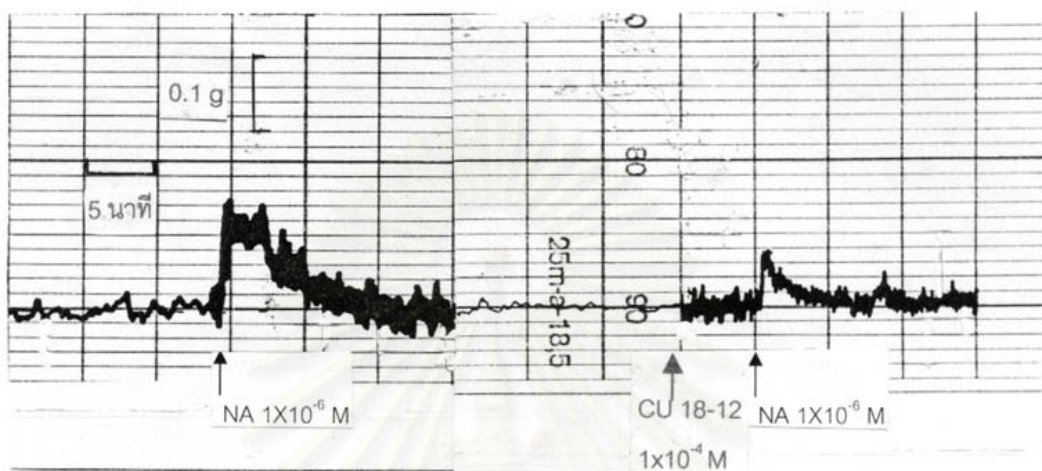
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



$\text{Ca}^{2+}(-)$

รูปที่ 70 แสดงผลของ CU 18-12 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{ M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $1 \times 10^{-6} \text{ M}$ NA ใน Ca^{2+} -free depolarizing solution

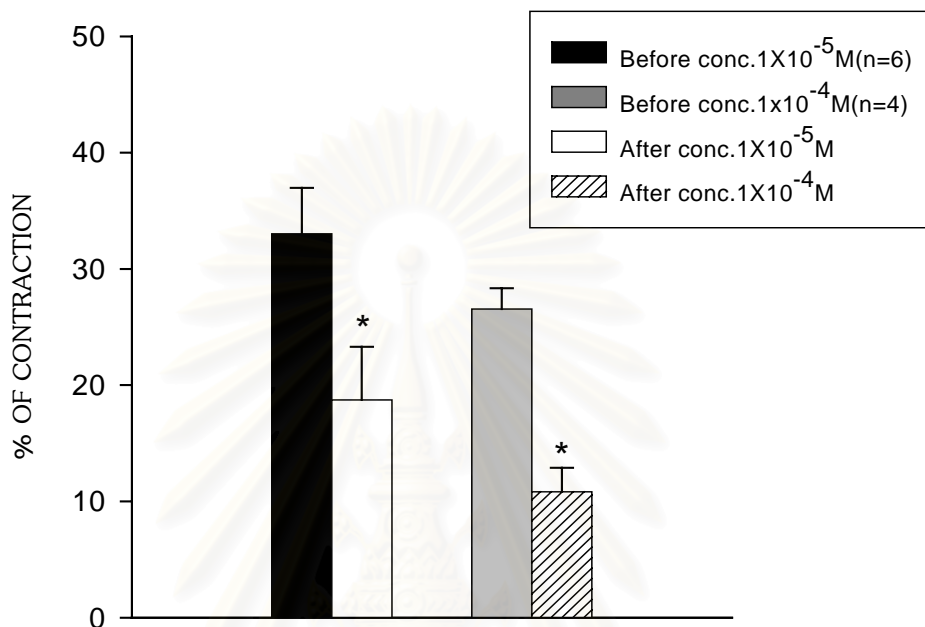
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Ca²⁺(-)

รูปที่ 71 แสดงผลของ CU 18-12 ขนาด $1 \times 10^{-4} \text{ M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $\text{NA } 1 \times 10^{-6} \text{ M}$ ใน Ca^{2+} -free depolarizing solution

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

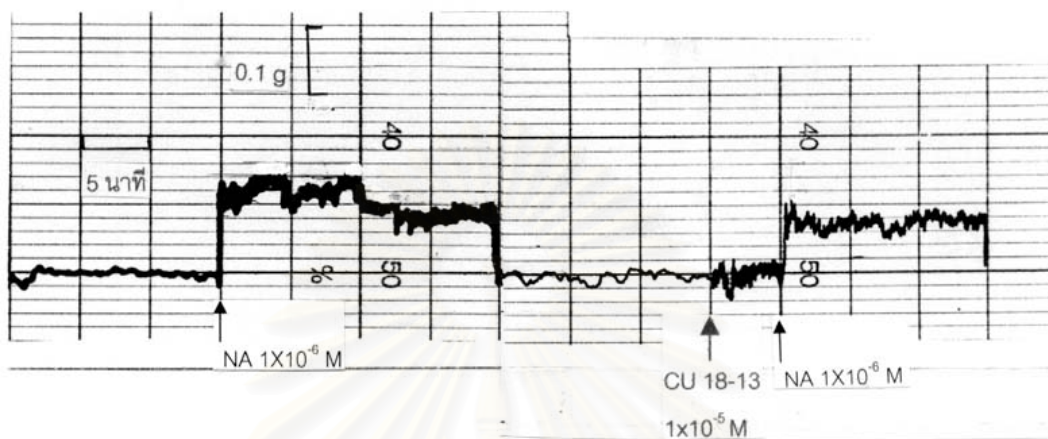


รูปที่ 72 กราฟแสดงผลของ CU 18-12 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{ M}$ และ $1 \times 10^{-4} \text{ M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $\text{NA} 1 \times 10^{-6} \text{ M}$ ใน Ca^{2+} -free depolarizing solution

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มก่อนได้รับสารทดสอบ ($p < 0.05$)

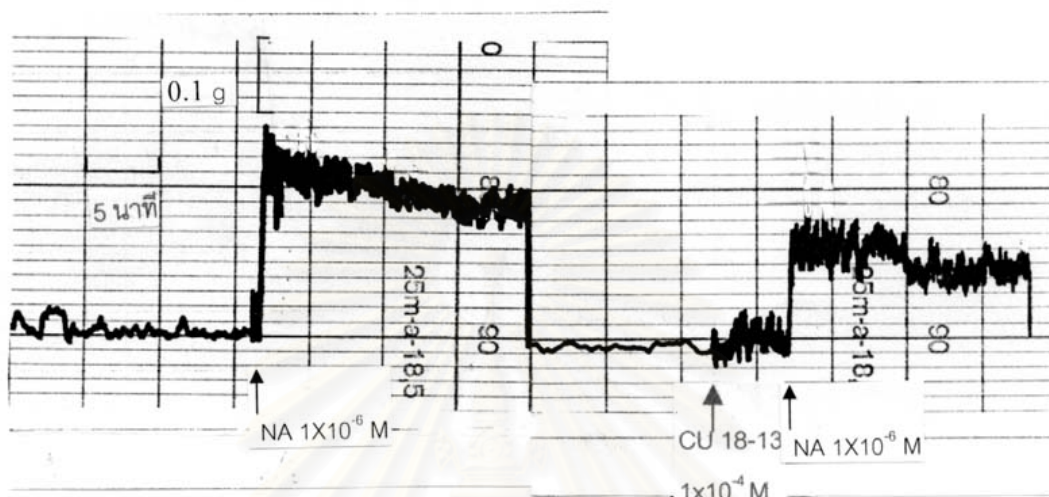
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Ca²⁺ (-)

รูปที่ 73 แสดงผลของ CU 18-13 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{ M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดง
หนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $\text{NA } 1 \times 10^{-6} \text{ M}$ ใน Ca^{2+} -free depolarizing solution

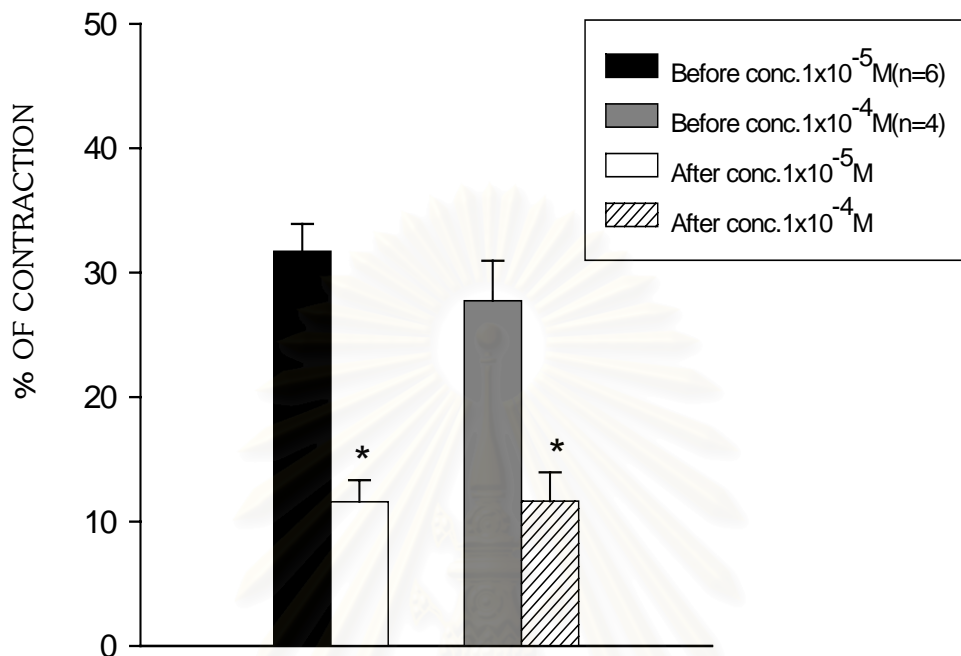
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Ca²⁺(-)

รูปที่ 74 แสดงผลของ CU 18-13 ขนาด $1 \times 10^{-4} \text{ M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดง
หนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NA $1 \times 10^{-6} \text{ M}$ ใน Ca²⁺-free depolarizing solution

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

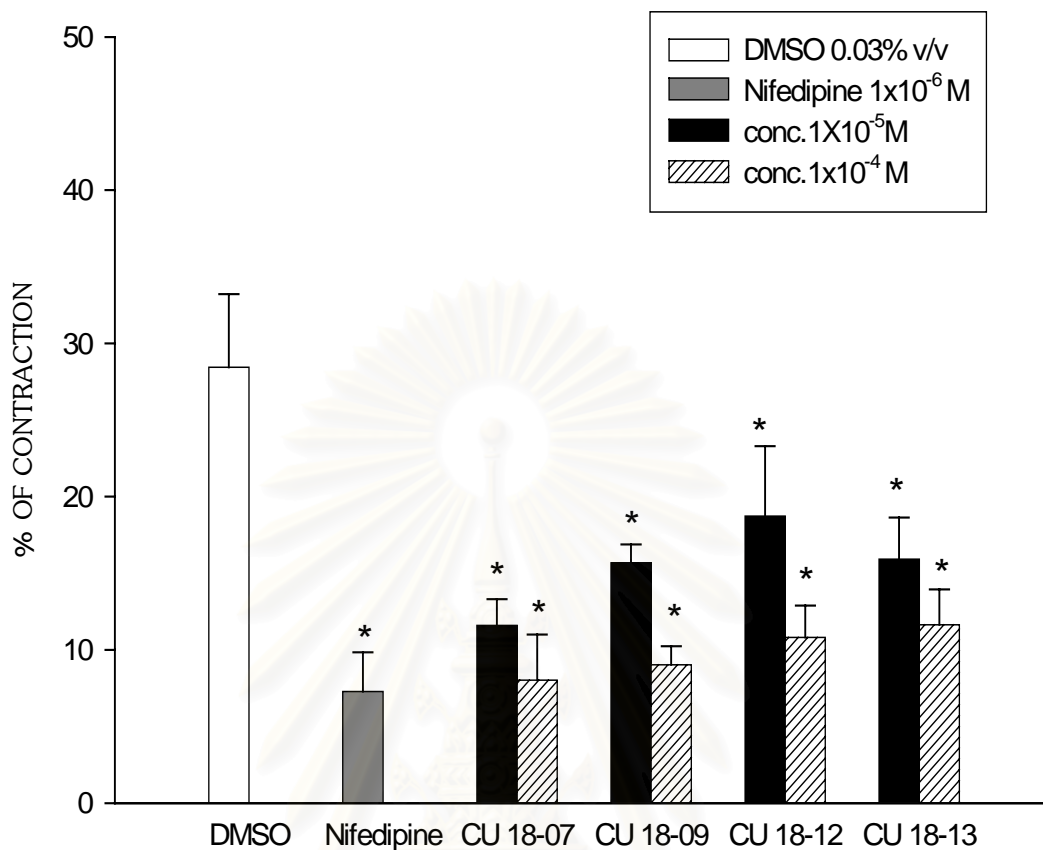


รูปที่ 75 กราฟแสดงผลของ CU 18-13 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{ M}$ และ $1 \times 10^{-4} \text{ M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาวเมื่อถูกกระตุ้นด้วย $\text{NA } 1 \times 10^{-6} \text{ M}$ ใน Ca^{2+} - free depolarizing solution

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มก่อนได้รับสารทดสอบ ($p < 0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 76 กราฟแสดงผลของ DMSO, Nifedipine, CU 18-07, CU 18-09, CU 18-12 และ CU 18-13 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{ M}$ และ $1 \times 10^{-4} \text{ M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NA $1 \times 10^{-6} \text{ M}$ ใน Ca^{2+} - free depolarizing solution

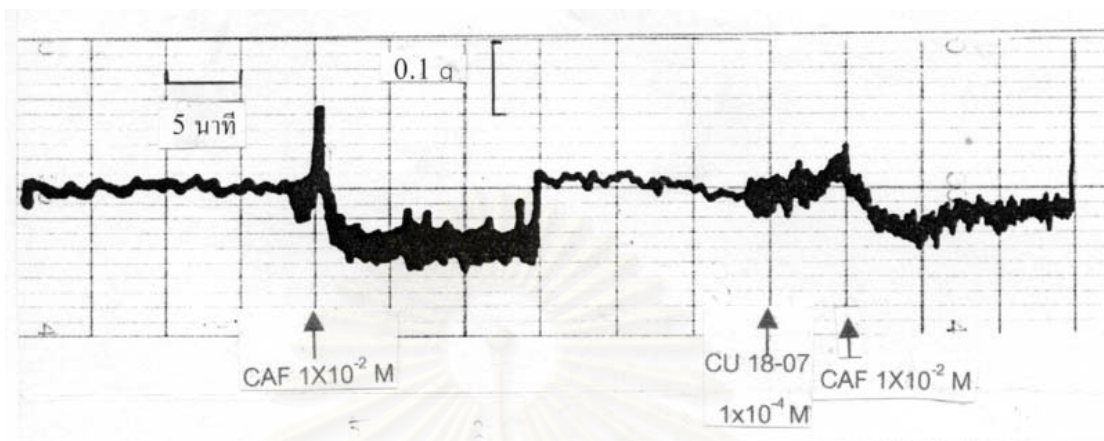
กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มก่อนได้รับสารทดสอบ ($p < 0.05$)

2.2 เมื่อถูกกระตุ้นด้วย Caffeine $1 \times 10^{-2} M$

Caffeine $1 \times 10^{-2} M$ ทำให้กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ในสารละลาย Krebs-Henseleit เกิดการหดตัวแบบ transient contraction แล้วจะเกิดการคลายตัวตามมา ในขณะที่กระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ด้วย Caffeine $1 \times 10^{-2} M$ ในสารละลาย Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit เกิดการหดตัวแบบ transient contraction เช่นกันแต่เกิดขึ้นได้น้อยกว่าในสภาวะที่มีแคลเซียมจากภายนอกคือ ในสารละลาย Krebs-Henseleit ในสภาวะที่ปราศจากสารทดสอบนี้ การเปรียบเทียบแรงหดตัวระหว่างก่อนและหลังได้รับสารทดสอบ จะใช้วิธีการคำนวณแรงหดตัวขณะที่ยังไม่ได้รับสารทดสอบมีแรงหดตัวสูงสุดเป็น 100 % ซึ่งจะนำไปใช้เปรียบเทียบกับแรงหดตัวที่เกิดขึ้นหลังได้รับสารทดสอบ

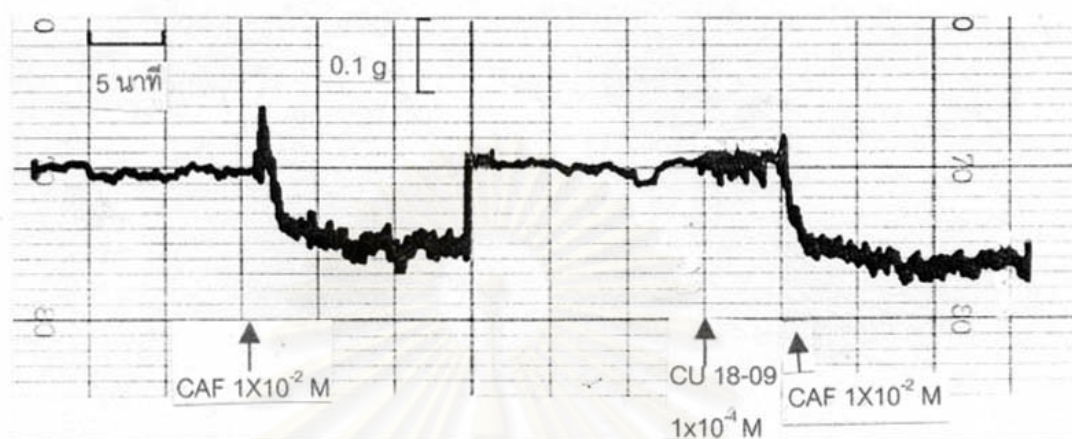
ผลของ CU 18-07, CU 18-09, CU 18-12 และ CU 18-13 ขนาด $1 \times 10^{-4} M$ พบว่า กล้ามเนื้อเรียบมีการหดตัวลดลงจากก่อนได้รับสารทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังรูปที่ 77, 78, 79 และ 80 และมีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $45.71 \pm 2.54\%$, $46.59 \pm 3.41\%$, $47.61 \pm 5.05\%$ และ $43.33 \pm 4.08\%$ ตามลำดับ ดังกราฟรูปที่ 81



Ca²⁺(-)

รูปที่ 77 แสดงผลของ CU 18-07 ขนาด $1 \times 10^{-4} \text{ M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย Caffeine ขนาด $1 \times 10^{-2} \text{ M}$ ใน Ca^{2+} - free depolarizing solution (n =4)

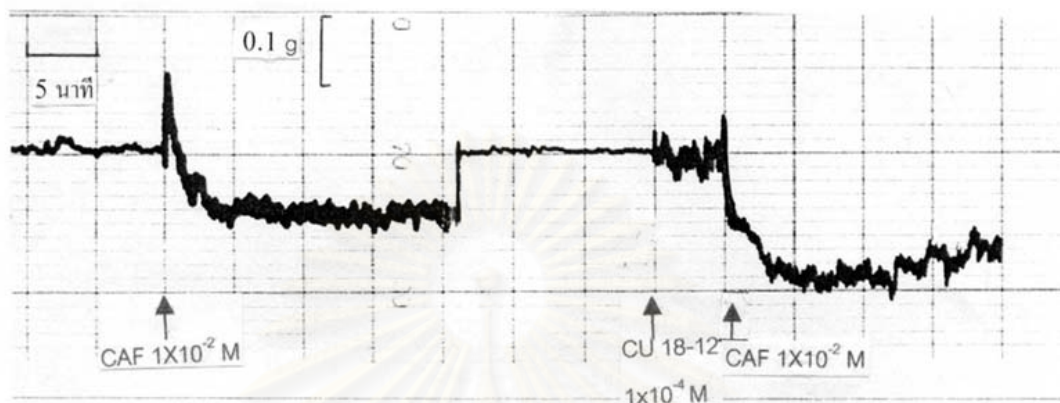
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



$\text{Ca}^{2+}(-)$

รูปที่ 78 แสดงผลของ CU 18-09 ขนาด 1×10^{-4} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย Caffeine ขนาด 1×10^{-2} M ใน Ca^{2+} - free depolarizing solution (n=4)

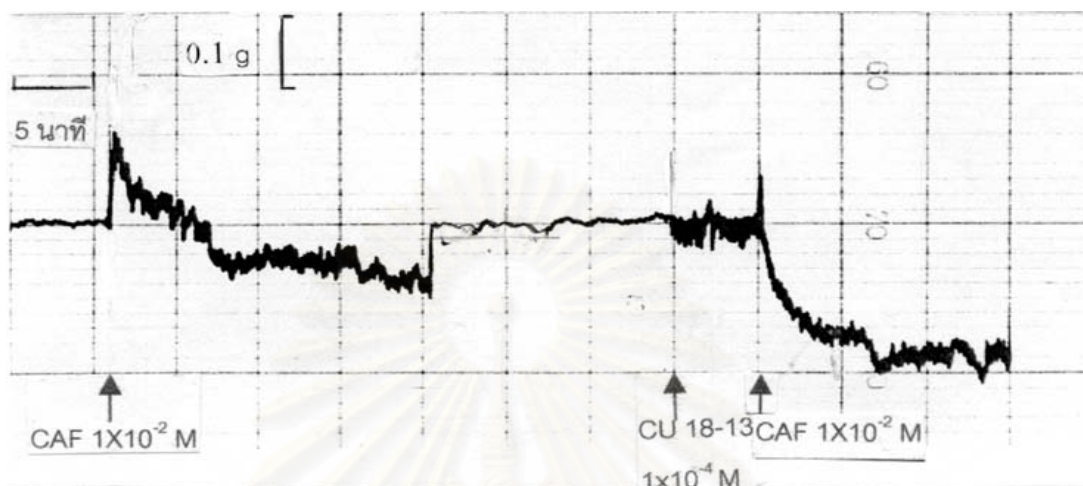
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



$\text{Ca}^{2+}(-)$

รูปที่ 79 แสดงผลของ $\text{Cu } 18\text{-}12$ ขนาด 1×10^{-4} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย Caffeine ขนาด 1×10^{-2} M ใน Ca^{2+} - free depolarizing solution (n =4)

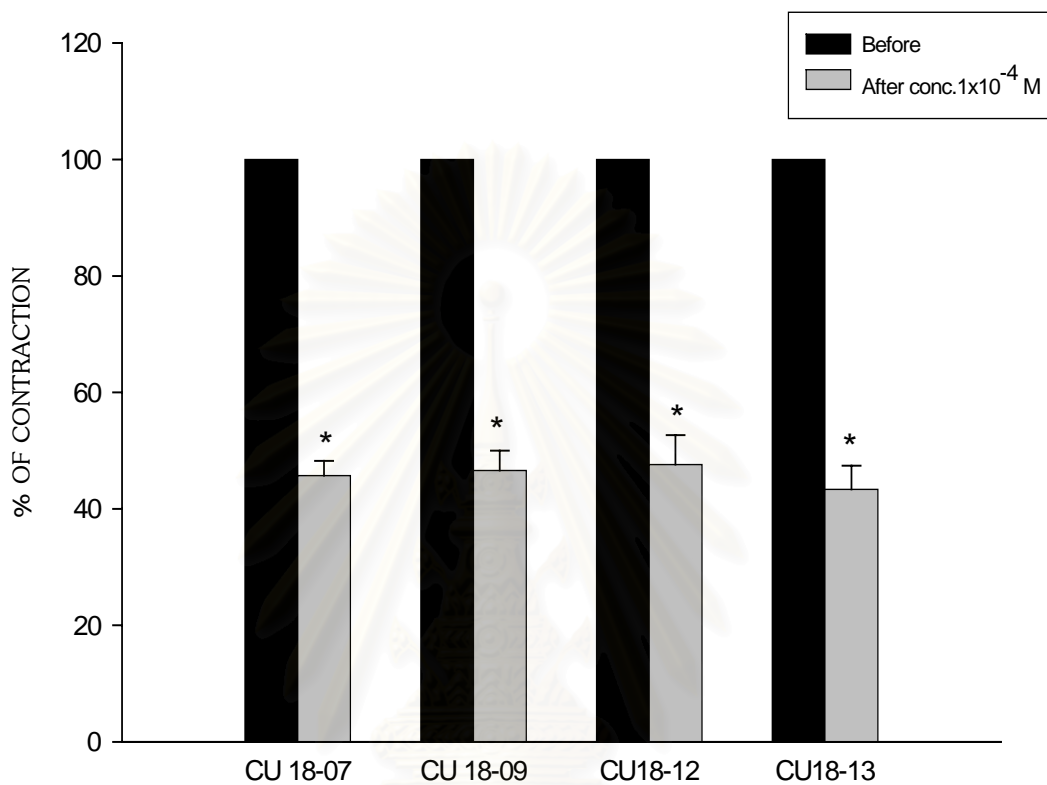
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Ca²⁺(-)

รูปที่ 80 แสดงผลของ CU 18-13 ขนาด 1×10^{-4} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย Caffeine ขนาด 1×10^{-2} M ใน Ca²⁺- free depolarizing solution (n=4)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Caffeine 1×10^{-2} M

รูปที่ 81 กราฟแสดงผลของ CU 18-07, CU 18-09 , CU 18-12 และ CU 18-13 ขนาด 1×10^{-4} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงแดงหนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย Caffeine ขนาด 1×10^{-2} M ใน Ca^{2+} - free depolarizing solution

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มก่อนได้รับสารทดสอบ ($p < 0.05$)

3. ผลของสารสังเคราะห์ CU 18-07, CU 18-09, CU 18-12 และ CU 18-13 ต่อการเกิด Ca^{2+} influx และการทดแทน Ca^{2+} เข้าสู่ internal storage ที่สัมพันธ์กับ α_1 -adrenergic receptor โดยวัดการเปลี่ยนแปลงการหดตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาวในขณะพัก [Increase in the resting tone in aorta (IRT)]

การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดที่ถูกกระตุ้นด้วย NA โดยผ่านทาง α_1 -adrenoceptor เกิดการหดตัวอย่างรวดเร็วแบบ phasic contraction และตามมาด้วย tonic contraction ทำให้เกิดการปล่อยแคลเซียมจากแหล่งสะสมภายในเซลล์ และเซลล์สามารถสูญเสียแคลเซียมอิสระภายในเซลล์ได้ เมื่อการทดลองเกิดในสภาวะที่ปราศจากแคลเซียมภายนอก ซึ่งได้แก่ สารละลาย Ca^{2+} -free Krebs- Henseleit ซึ่งเมื่อกระตุ้นการหดตัวด้วย NA จะทำให้แคลเซียมที่เก็บอยู่ในแหล่งสะสมภายในเซลล์ถูกปล่อยออกมาจนหมด ซึ่งสามารถตรวจสอบว่าแหล่งเก็บสะสมแคลเซียมภายในเซลล์ไม่มีแคลเซียมอยู่อีก โดยทำการกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดด้วย NA จะพบว่า กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดจะไม่เกิดการหดตัวขึ้นเลย เมื่อนำกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดดังกล่าวไป incubate ในสารละลาย Krebs- Henseleit ที่มีแคลเซียมเป็นองค์ประกอบพบว่าหลอดเลือดเกิดการหดตัวขึ้น Increase in the resting tone in aorta (IRT) ในสภาวะที่ปราศจากสารทดสอบนี้ กล้ามเนื้อเรียบมีแรงหดตัวเฉลี่ยและการเปรียบเทียบแรงหดตัวระหว่างก่อนและหลังได้รับสารทดสอบ จะใช้วิธีการคำนวณแรงหดตัวขณะที่ยังไม่ได้รับสารทดสอบมีแรงหดตัวสูงสุดเป็น 100 % ในสารละลาย Krebs-Henseleit และ ซึ่งจะนำไปใช้เปรียบเทียบกับแรงหดตัวที่เกิดขึ้นหลัง incubate ในสารละลาย Krebs-Henseleit

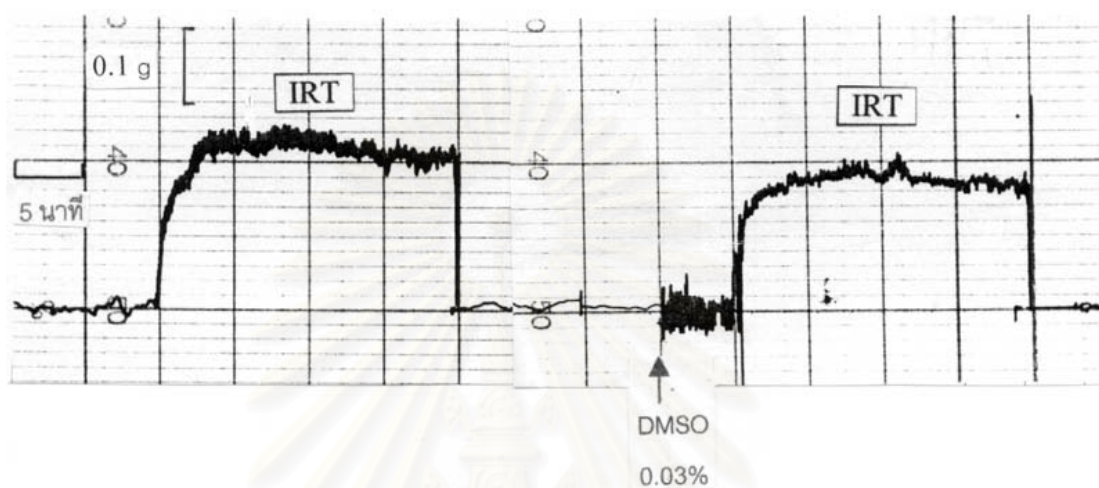
ผลของ DMSO 0.03 % v/v ซึ่งให้ก่อนการเกิด IRT เป็นเวลา 5 นาที พบว่า กล้ามเนื้อเรียบมีการหดตัวลดลงจากก่อนได้รับสารทดสอบ ดังรูปที่ 82 มีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $39.31 \pm 6.81\%$ ดังกราฟรูปที่ 83 ซึ่งแรงหดตัวนี้มีความแตกต่างจากก่อนได้รับ DMSO อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ผลของ Nifedipine ขนาด $1 \times 10^{-6} M$ กล้ามเนื้อเรียบมีการหดตัวลดลงจากก่อนได้รับสารทดสอบ ดังรูปที่ 84 และมีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $13.65 \pm 4.81\%$ ดังกราฟรูปที่ 85 ซึ่งแรงหดตัวของ Nifedipine มีการหดตัวลดลงจากก่อนได้รับสารทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ผลของ CU 18-07, CU 18-09, CU 18-12 และ CU 18-13 ขนาด $1 \times 10^{-5} M$ พบว่า กล้ามเนื้อเรียบมีการหดตัวลดลงจากก่อนได้รับสารทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังรูปที่ 86, 88, 90 และ 91 และมีแรงหดตัวเฉลี่ยเท่ากับ $20.66 \pm 4.09\%$, $22.04 \pm 3.62\%$, $21.74 \pm 7.4\%$ และ $28.48 \pm 2.08\%$ ตามลำดับ ดังกราฟรูปที่ 87, 89, 91 และ 93

จากผลการทดลองดังกล่าวสรุปได้ว่า DMSO ซึ่งใช้เป็นตัวทำละลายของสารสังเคราะห์ทั้ง 4 ชนิดที่ใช้ในการศึกษานี้มีผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว และในการทดลองการเกิด IRT เมื่อเปรียบเทียบแรงหดตัวที่ลดลงหลังได้รับสารสังเคราะห์ทั้ง 4 ชนิดกับกลุ่มที่ได้รับ DMSO ดังกราฟในรูปที่ 94 พบว่าสามารถยับยั้งการเกิด IRT ได้



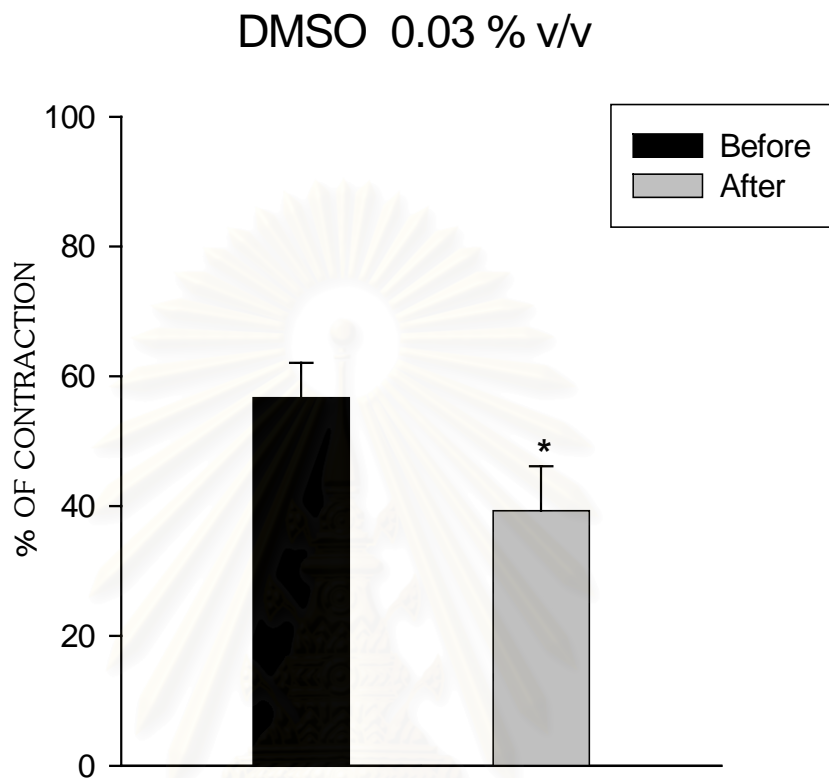
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



$\text{Ca}^{2+} (+)$	$\text{Ca}^{2+} (-)$	$\text{Ca}^{2+} (+)$
----------------------	----------------------	----------------------

รูปที่ 82 แสดงผลของ DMSO ขนาด 0.03 % v/v ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดง
หนูขาวในขณะพัก [Increase in the resting tone in aorta (IRT)]

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

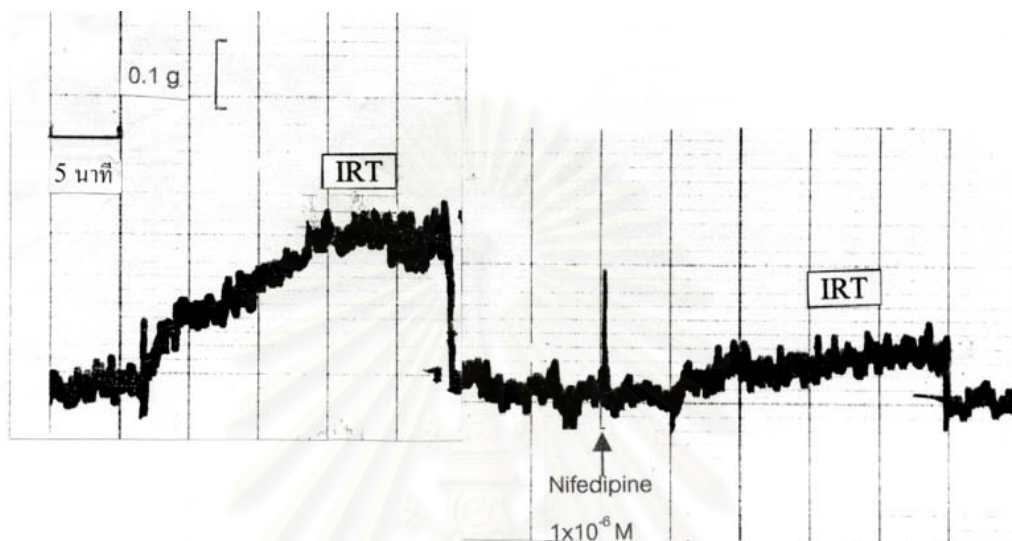


รูปที่ 83 กราฟแสดงผลของ DMSO ขนาด 0.03% v/v ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว ในขณะพัก [Increase in the resting tone in aorta (IRT)] (n=4)

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มก่อนได้รับสารทดสอบ ($p < 0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

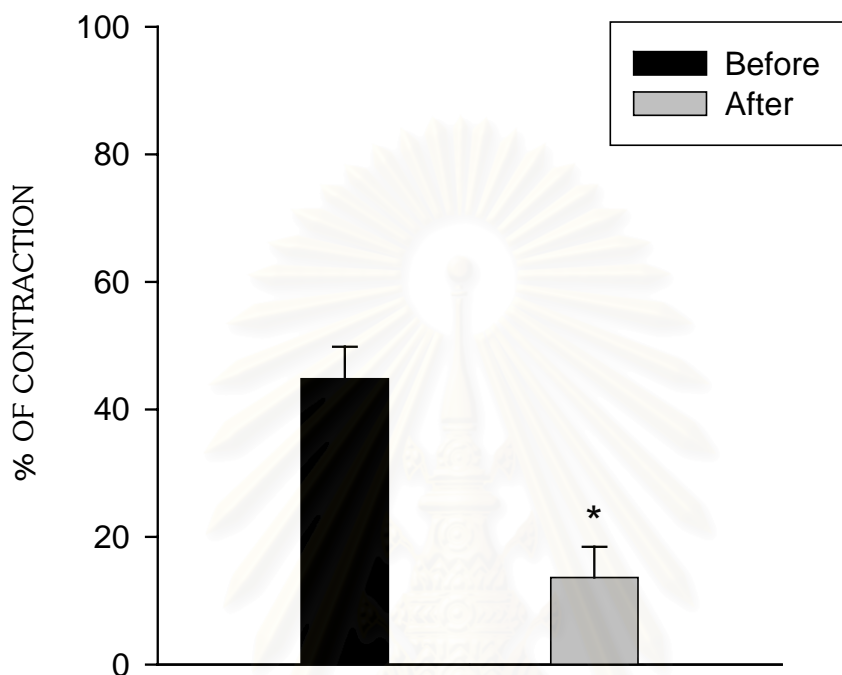


Ca ²⁺ (+)	Ca ²⁺ (-)	Ca ²⁺ (+)
----------------------	----------------------	----------------------

รูปที่ 84 แสดงผลของ Nifedipine $1 \times 10^{-6} \text{M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดง
หนูขาวในขณะพัก [Increase in the resting tone in aorta (IRT)]

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

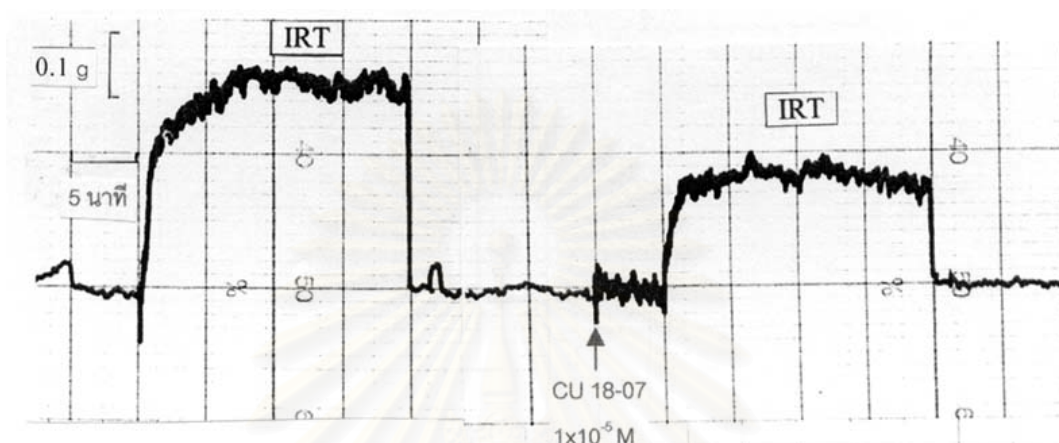
Nifedipine 1×10^{-6} M



รูปที่ 85 กราฟแสดงผลของ Nifedipine 1×10^{-6} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดง
หนูขาว ในขณะพัก [Increase in the resting tone in aorta (IRT)] (n=4)

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

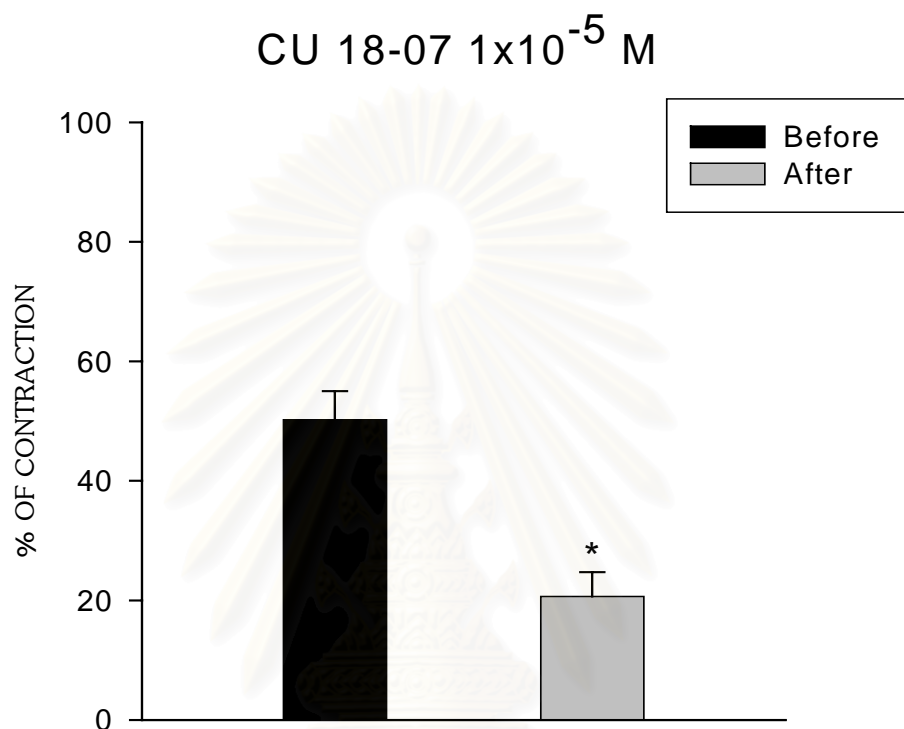
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Ca ²⁺ (+)	Ca ²⁺ (-)	Ca ²⁺ (+)
----------------------	----------------------	----------------------

รูปที่ 86 แสดงผลของ CU 18-07 $1 \times 10^{-5} \text{ M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาว
 ในขณะพัก [Increase in the resting tone in aorta (IRT)]

สถาบันวิทยบริการ
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

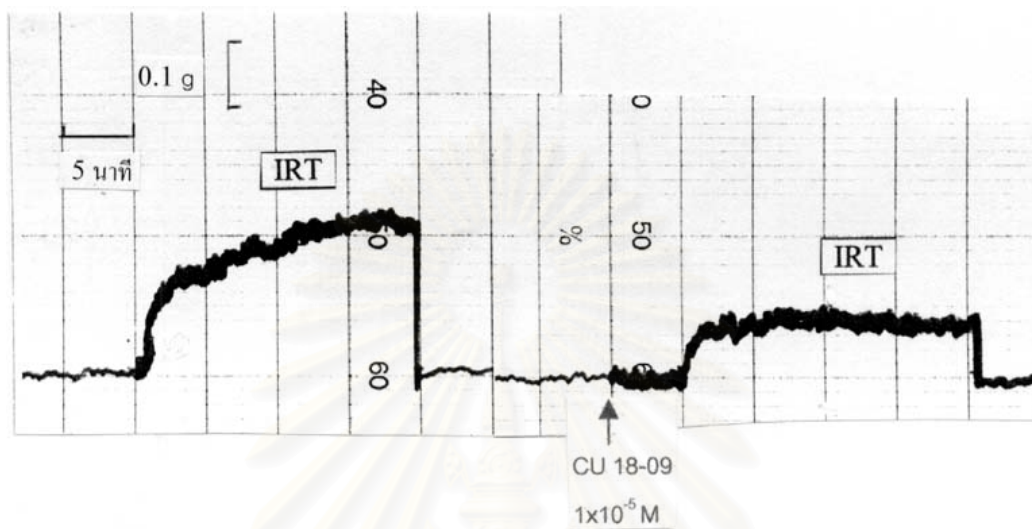


รูปที่ 87 กราฟแสดงผลของ CU 18-07 1×10^{-5} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดง
หนูขาว ในขณะพัก [Increase in the resting tone in aorta (IRT)] (n=6)

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มก่อนได้รับสารทดสอบ ($p < 0.05$)

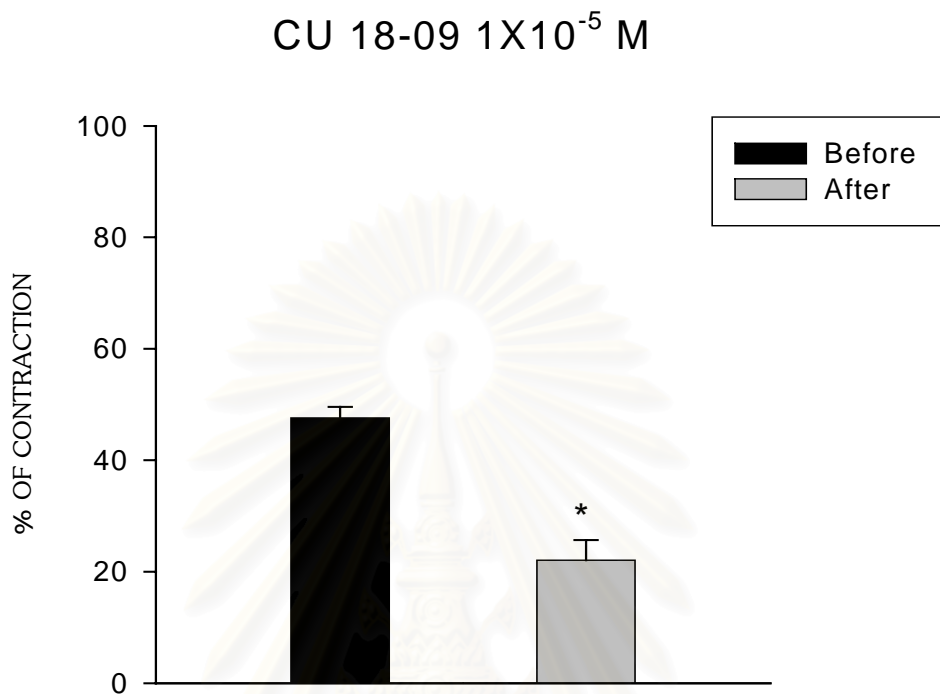
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



$\text{Ca}^{2+}(+)$	$\text{Ca}^{2+}(-)$	$\text{Ca}^{2+}(+)$
---------------------	---------------------	---------------------

รูปที่ 88 แสดงผลของ CU 18-09 $1 \times 10^{-5} \text{M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดง
หนูขาวในขณะพัก [Increase in the resting tone in aorta (IRT)]

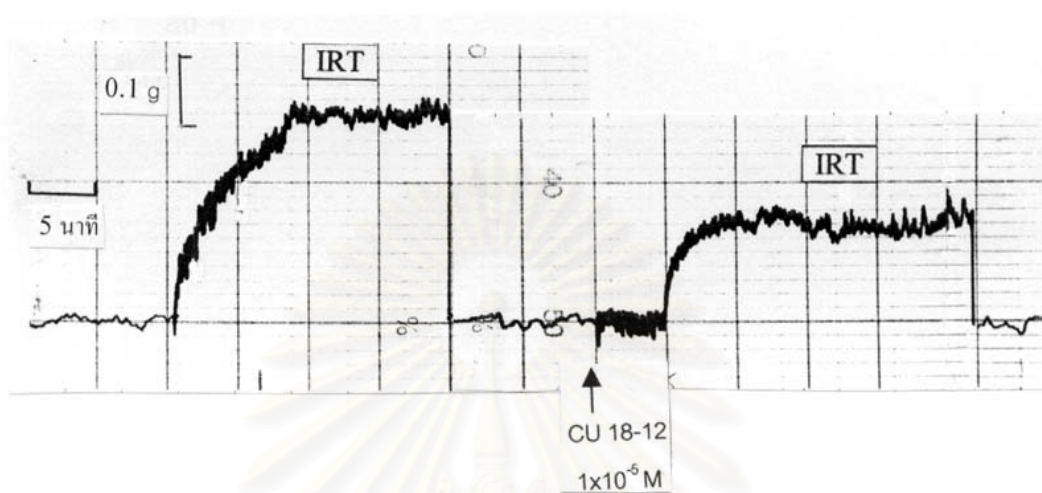
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 89 กราฟแสดงผลของ CU 18-09 1×10^{-5} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดง
หนูขาว ในขณะพัก [Increase in the resting tone in aorta (IRT)] (n=6)

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

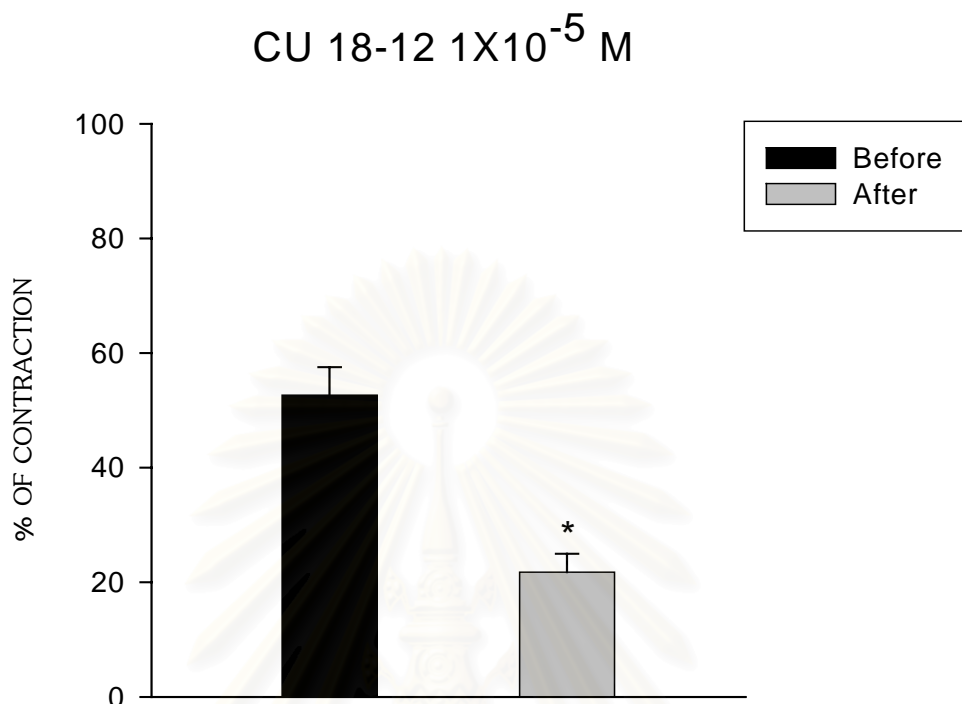
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Ca ²⁺ (+)	Ca ²⁺ (-)	Ca ²⁺ (+)
----------------------	----------------------	----------------------

รูปที่ 90 แสดงผลของ CU 18-12 $1 \times 10^{-5} \text{ M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดง
หนูขาวในขณะพัก [Increase in the resting tone in aorta (IRT)]

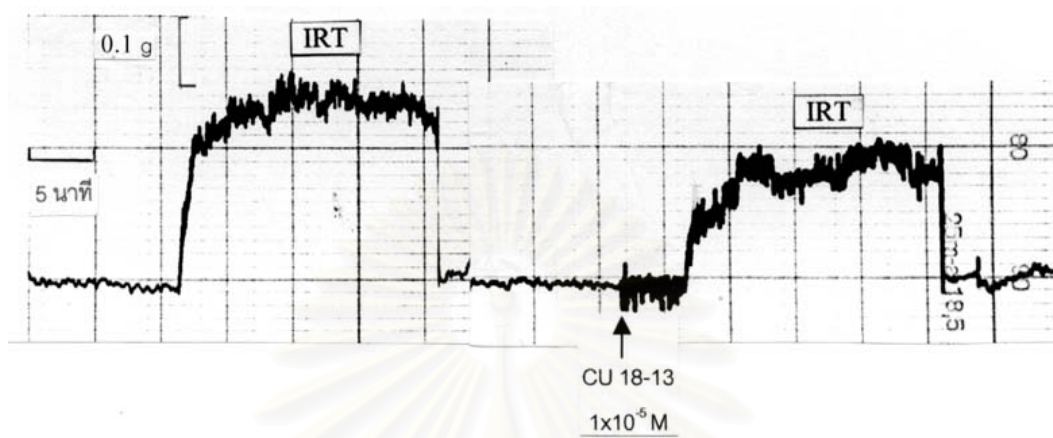
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 91 กราฟแสดงผลของ CU 18-12 1×10^{-5} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดง
หนูขาวในขณะพัก [Increase in the resting tone in aorta (IRT)] (n=6)

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

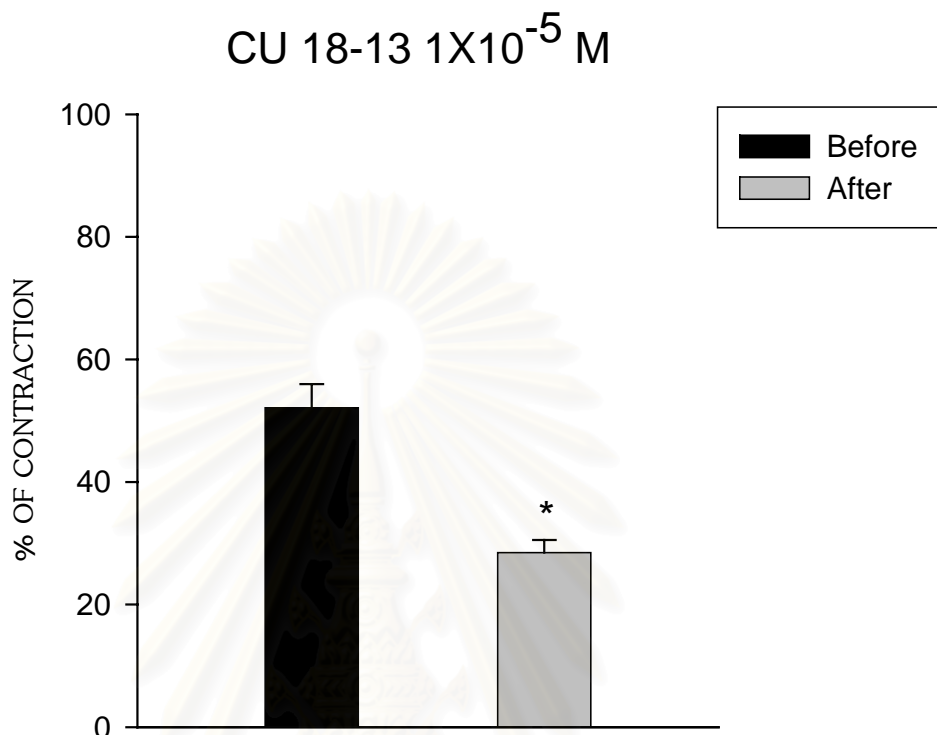
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



$\text{Ca}^{2+}(+)$	$\text{Ca}^{2+}(-)$	$\text{Ca}^{2+}(+)$
---------------------	---------------------	---------------------

รูปที่ 92 แสดงผลของ CU 18-13 $1 \times 10^{-5} \text{ M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดง
หนูขาวในขณะพัก [Increase in the resting tone in aorta (IRT)]

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

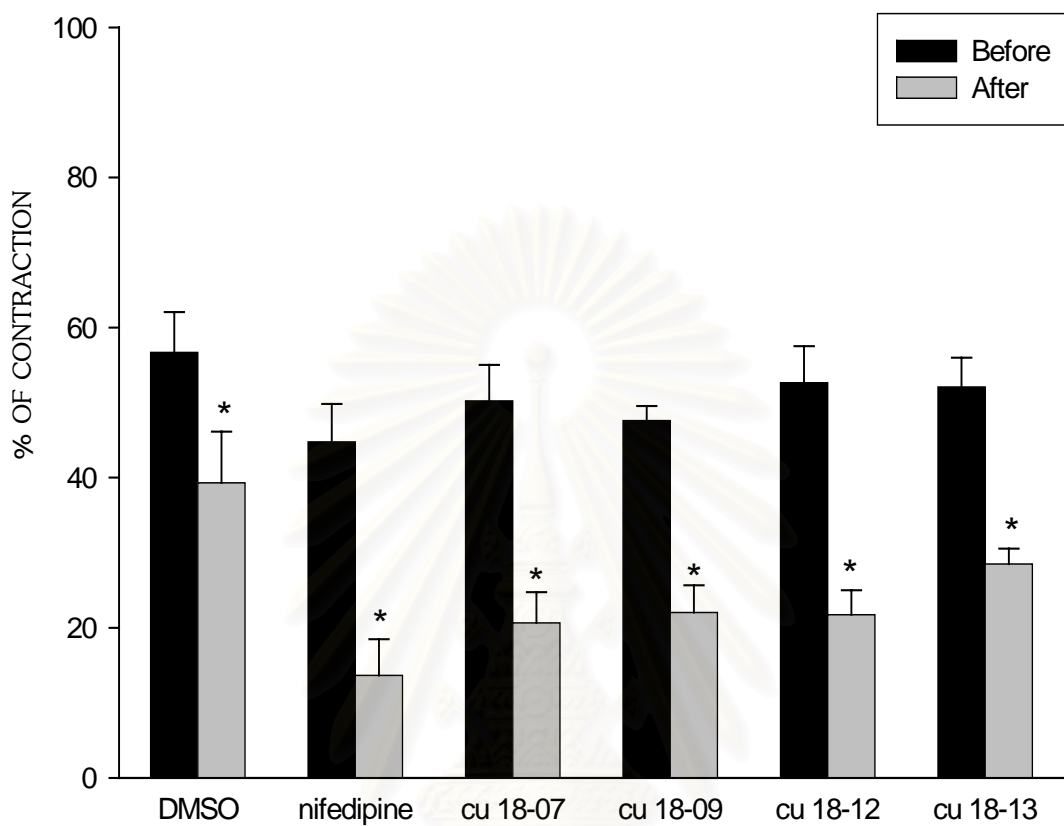


รูปที่ 93 กราฟแสดงผลของ CU 18-13 1×10^{-5} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาวในขณะพัก [Increase in the resting tone in aorta (IRT)] (n=6)

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มก่อนได้รับสารทดสอบ ($p < 0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 94 กราฟแสดงผลของ DMSO, Nifedipine, CU 18-07, CU 18-09, CU 18-12 และ CU 18-13 ขนาด $1 \times 10^{-5} M$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงหนูขาวในขณะพัก [Increase in the resting tone in aorta (IRT)]

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มก่อนได้รับสารทดสอบ ($p < 0.05$)

4. ผลของ CU 18-07, CU 18-09, CU 18-12 และ CU 18-13 ต่อการเคลื่อนที่เข้าออกของแคลเซียมในกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ (aorta) เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 ใน calcium-free depolarizing solution (high K^+ - Ca^{2+} free solution)

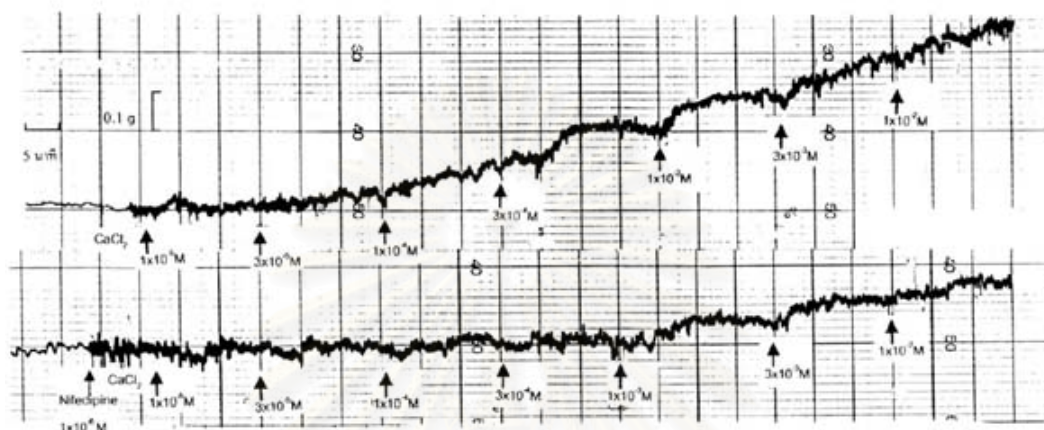
เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 ใน calcium-free depolarizing solution (high K^+ - Ca^{2+} free solution) ทำให้มีการเคลื่อนที่ของ K^+ จากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดจึงเกิด membrane depolarization แล้วมีผลทำให้ VOC เปิดออก มีผลทำให้แคลเซียมจากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์มากขึ้น เมื่อให้ CaCl_2 แบบสะสมขนาดพบว่า กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดจะมีการหดตัวตามปริมาณแคลเซียมที่เพิ่มขึ้น ลักษณะเป็น dose dependent โดยคิดคำนวณให้แรงหดตัวก่อนได้รับสารทดสอบจากการกระตุ้นด้วย CaCl_2 ในขนาดสูงสุดเป็น 100% เปรียบเทียบแรงหดตัวที่เหลืออยู่จากการกระตุ้นด้วย CaCl_2 ขนาดต่างๆ หลังได้รับสารทดสอบ

ผลของ Nifedipine ขนาด $1 \times 10^{-6} \text{M}$ พบว่าสามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบเมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบสะสมขนาด ดังรูปที่ 95 และ CU 18-07, CU 18-09, CU 18-12 และ CU 18-13 สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบเมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบสะสมขนาดได้เช่นเดียวกัน ดังรูปที่ 97, 98, 100, 101, 103, 104, 106 และ 107 จากการทดลองพบว่า Nifedipine, CU 18-07, CU 18-09, CU 18-12 และ CU 18-13 สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบเมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative dose-response curve ได้โดยมีลักษณะเป็นแบบ non competitive antagonist ดังกราฟในรูปที่ 96, 99, 102, 105 และ 108 ตามลำดับ และเมื่อคำนวณค่า pD_2' ที่ได้จากการทดลอง พบว่า CU 18-09 มีความสามารถในการยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบเมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative dose-response curve ได้มากที่สุด สำหรับ CU 18-07, CU 18-12 และ CU 18-13 สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบเมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative dose-response curve ได้ใกล้เคียงกัน และเมื่อเปรียบเทียบความแรงในการยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกับ Nifedipine พบว่า Nifedipine สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้มากกว่าสารสังเคราะห์ทั้ง 4 ชนิด โดยมีค่า pD_2' สูงสุดเท่ากับ $6.28 \pm 1.26\%$ ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ค่า pD_2' ของ CU 18-07, CU 18-09, CU 18-12 และ CU 18-13 และ nifedipine ต่อการเคลื่อนที่เข้าออกของแคลเซียมในกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ (aorta) เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $CaCl_2$ ใน calcium-free depolarizing solution

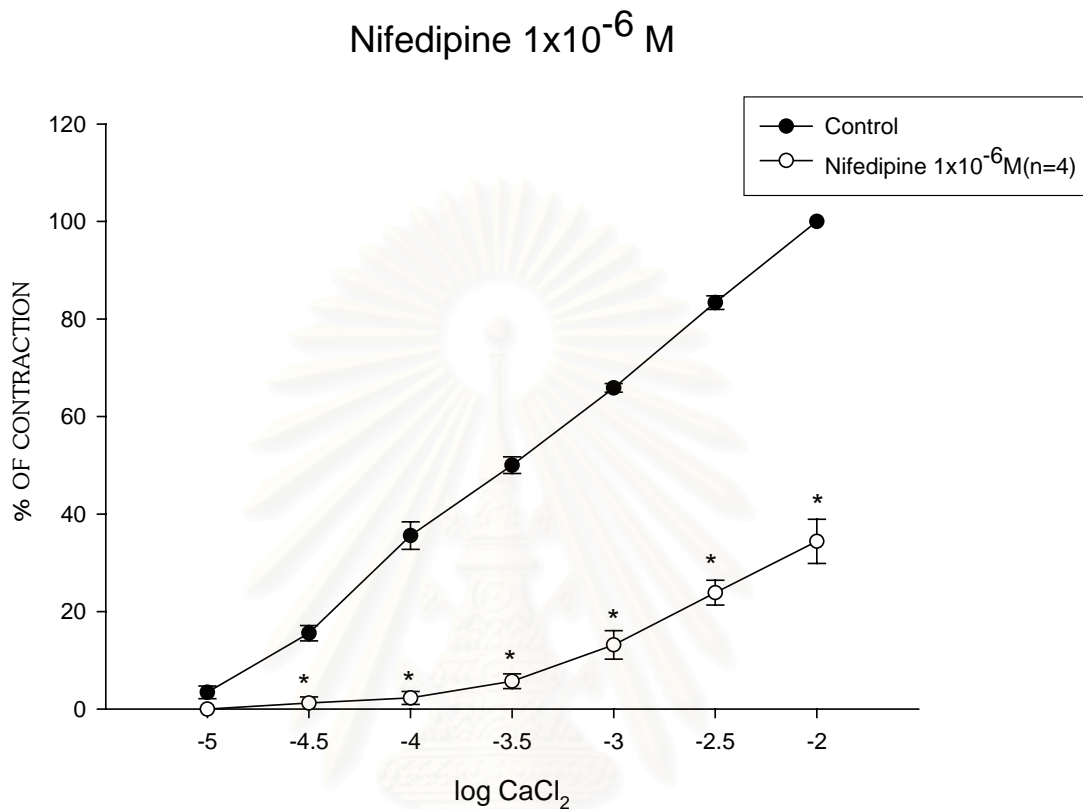
สารทดสอบ	pD_2'
CU 18-07 1×10^{-5} M	4.70 ± 0.08
CU 18-07 1×10^{-4} M	4.02 ± 0.14
CU 18-09 1×10^{-5} M	4.73 ± 0.10
CU 18-09 1×10^{-4} M	4.50 ± 0.15
CU 18-12 1×10^{-5} M	4.71 ± 0.08
CU 18-12 1×10^{-4} M	4.49 ± 0.07
CU 18-13 1×10^{-5} M	4.73 ± 0.09
CU 18-13 1×10^{-4} M	4.02 ± 0.12
Nifedipine 1×10^{-6} M	6.28 ± 1.26

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 95 แสดงผลของ Nifedipine ขนาด $1 \times 10^{-6} \text{ M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative dose-response curve ใน calcium-free depolarizing solution

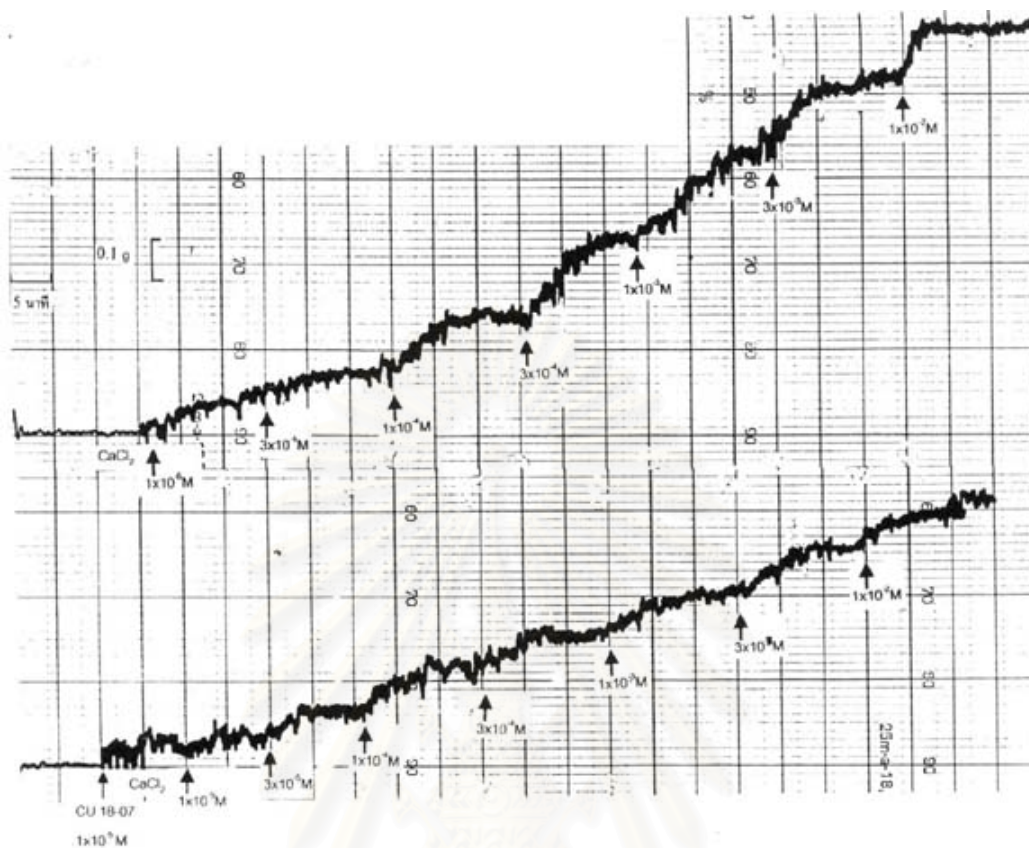
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 96 กราฟแสดงผลของ Nifedipine ขนาด 1×10^{-6} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ หลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative dose-response curve ใน calcium-free depolarizing solution

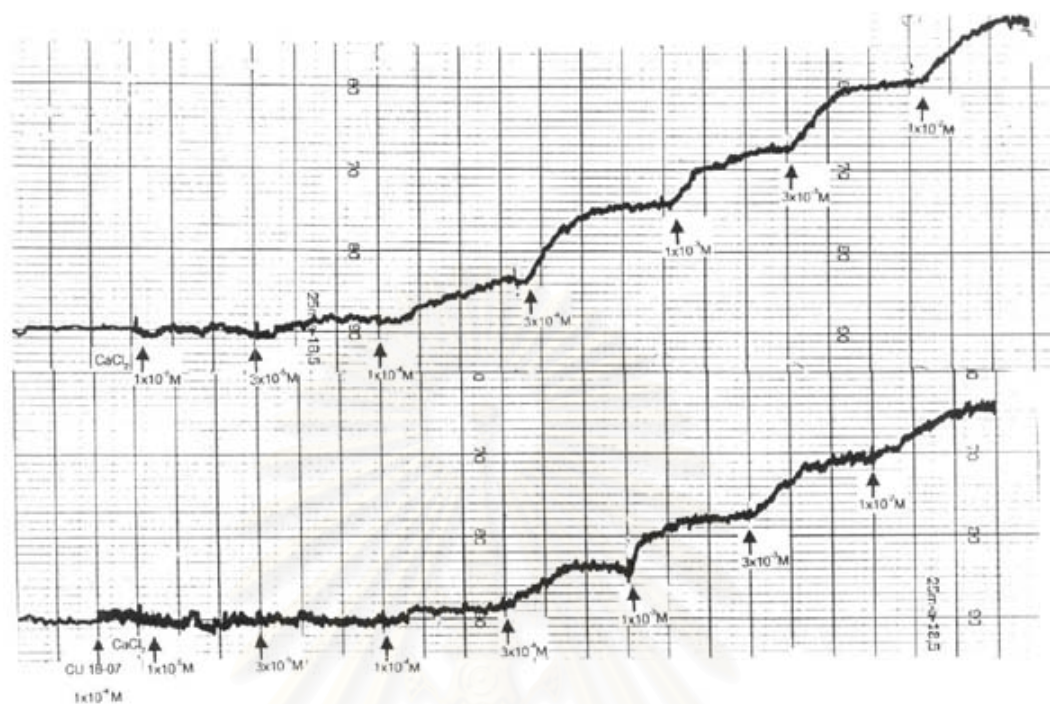
กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มก่อนได้รับสารทดสอบ ($p < 0.05$)



รูปที่ 97 แสดงผลของ CU 18-07 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{ M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative dose-response curve ใน calcium-free depolarizing solution

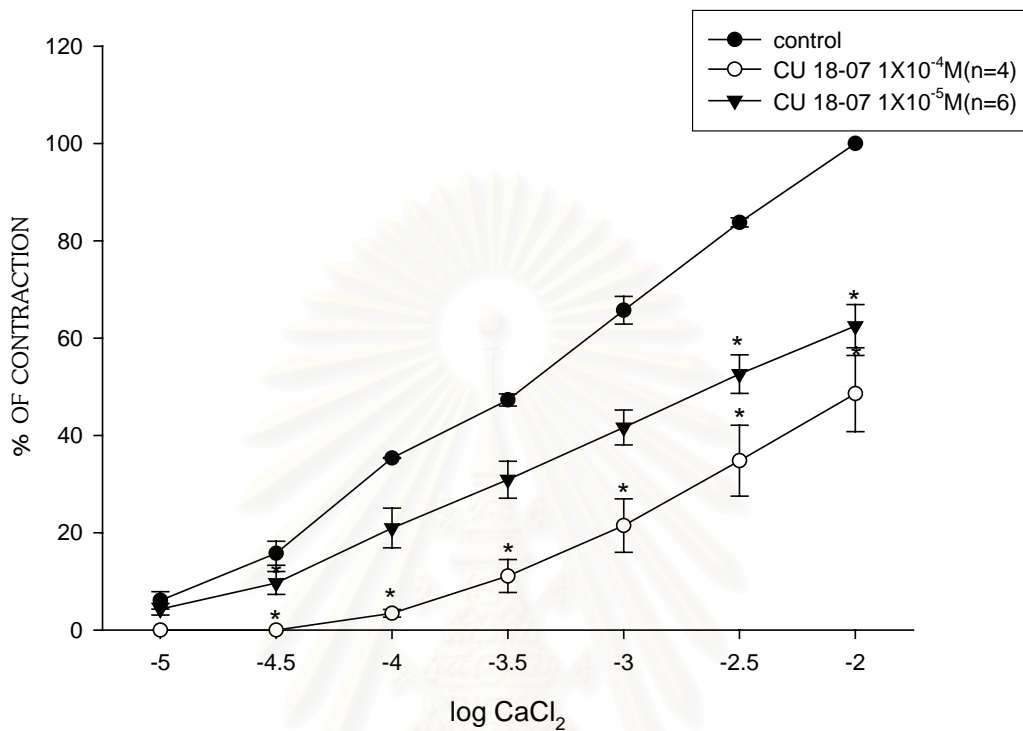
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 98 แสดงผลของ CU 18-07 ขนาด $1 \times 10^{-4} \text{ M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative dose-response curve ใน calcium-free depolarizing solution

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

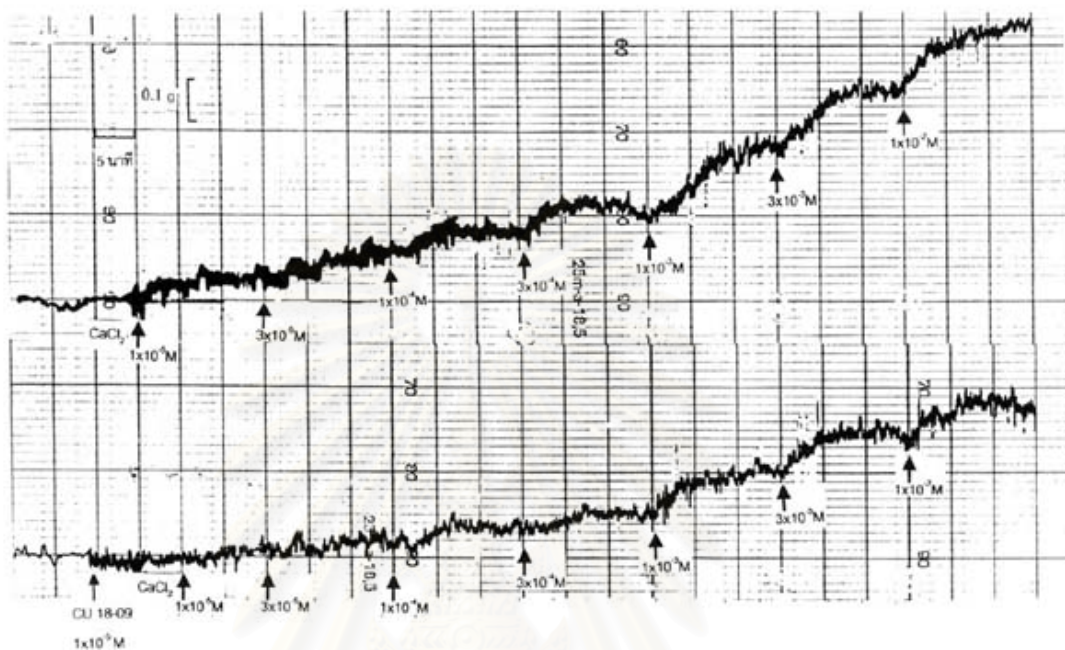
CU 18-07



รูปที่ 99 กราฟแสดงผลของ CU 18-07 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{M}$ และ $1 \times 10^{-4} \text{M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative dose-response curve ใน calcium-free depolarizing solution

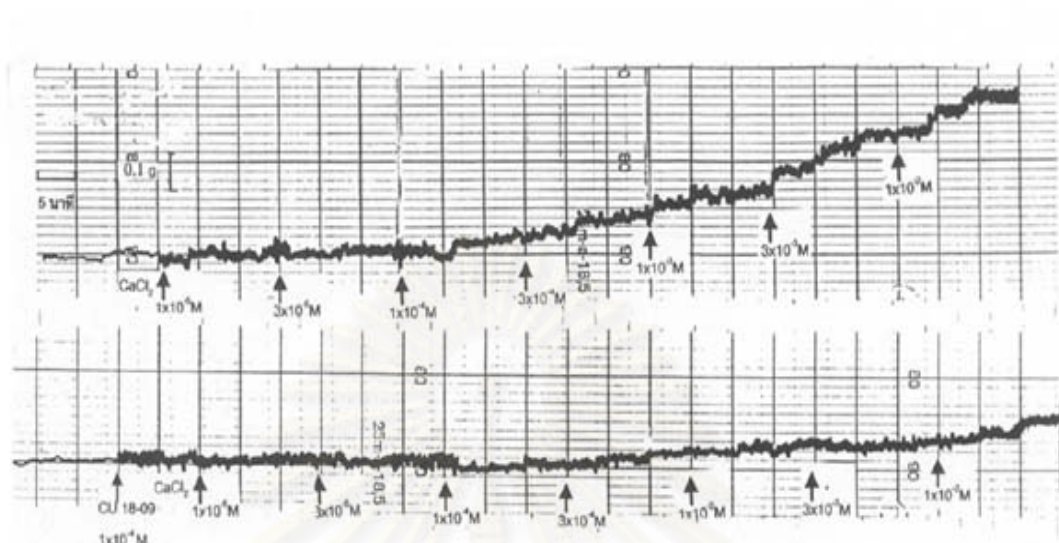
กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มก่อนได้รับสารทดสอบ ($p < 0.05$)



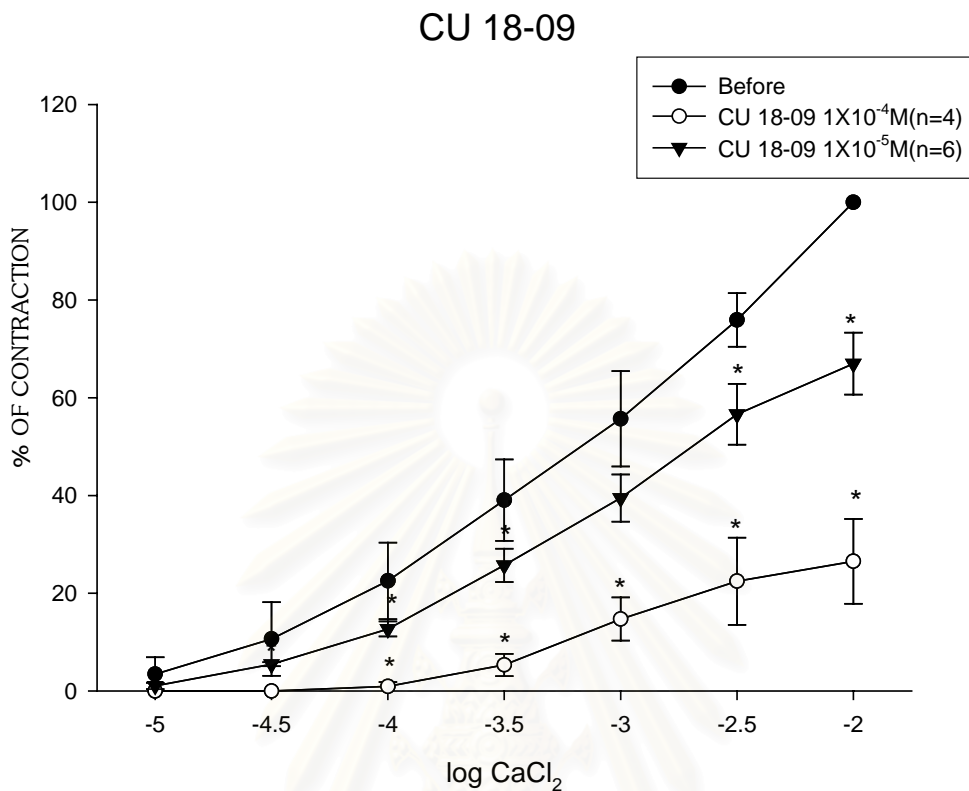
รูปที่ 100 แสดงผลของ CU 18-09 ขนาด 1×10^{-5} M ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative dose-response curve ใน calcium-free depolarizing solution

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่101 แสดงผลของ CU 18-09 ขนาด $1 \times 10^{-4} \text{M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative dose-response curve ใน calcium-free depolarizing solution

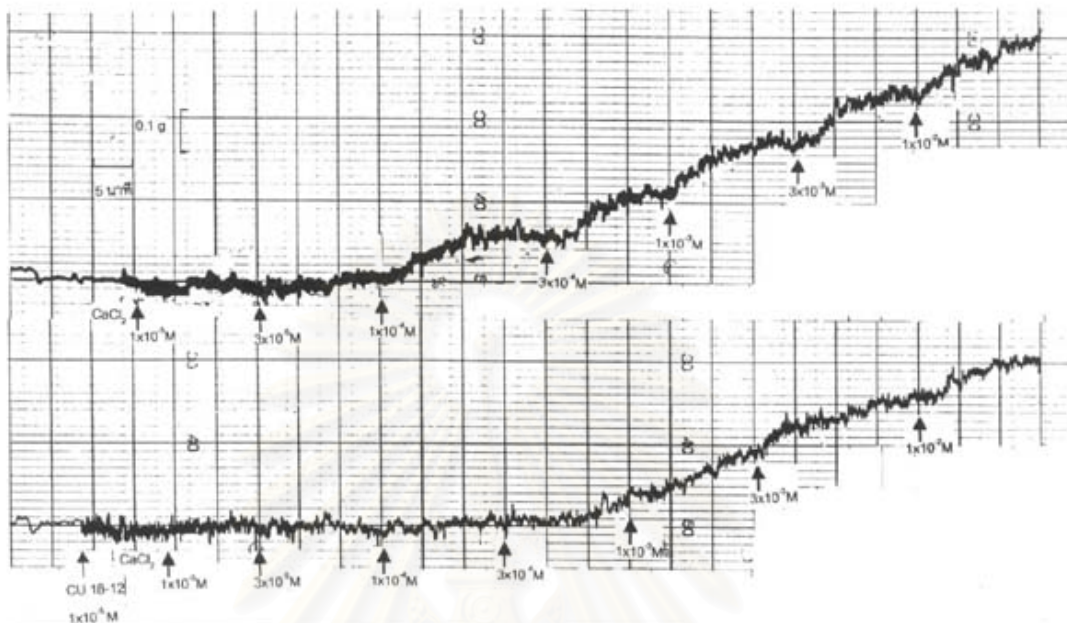
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 102 กราฟแสดงผลของ CU 18-09 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{M}$ และ $1 \times 10^{-4} \text{M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative dose- response curve ใน calcium-free depolarizing solution

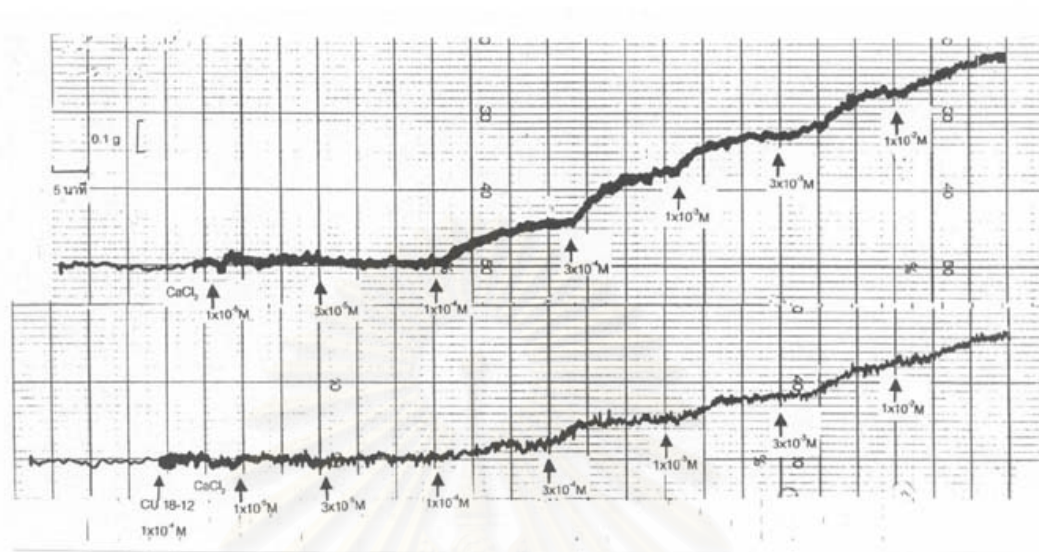
กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย
 * แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มก่อนได้รับสารทดสอบ ($p < 0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



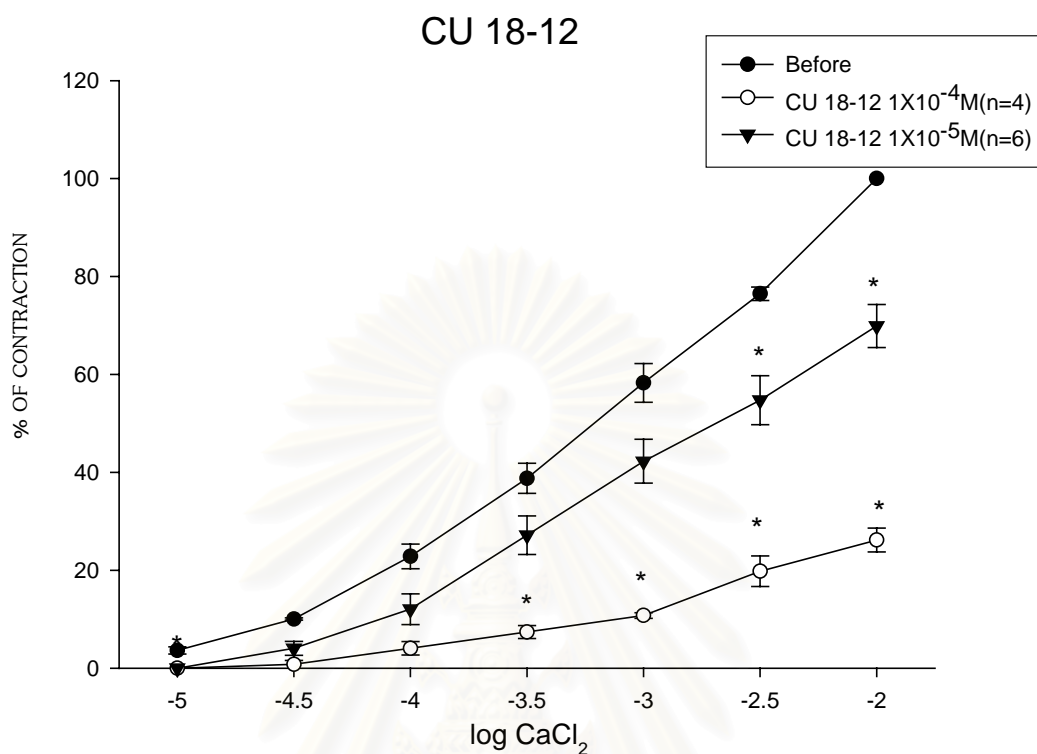
รูปที่ 103 แสดงผลของ CU 18-12 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{ M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative dose-response curve ใน calcium-free depolarizing solution

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่104 แสดงผลของ CU 18-12 ขนาด $1 \times 10^{-4} \text{ M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative dose-response curve ใน calcium-free depolarizing solution

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

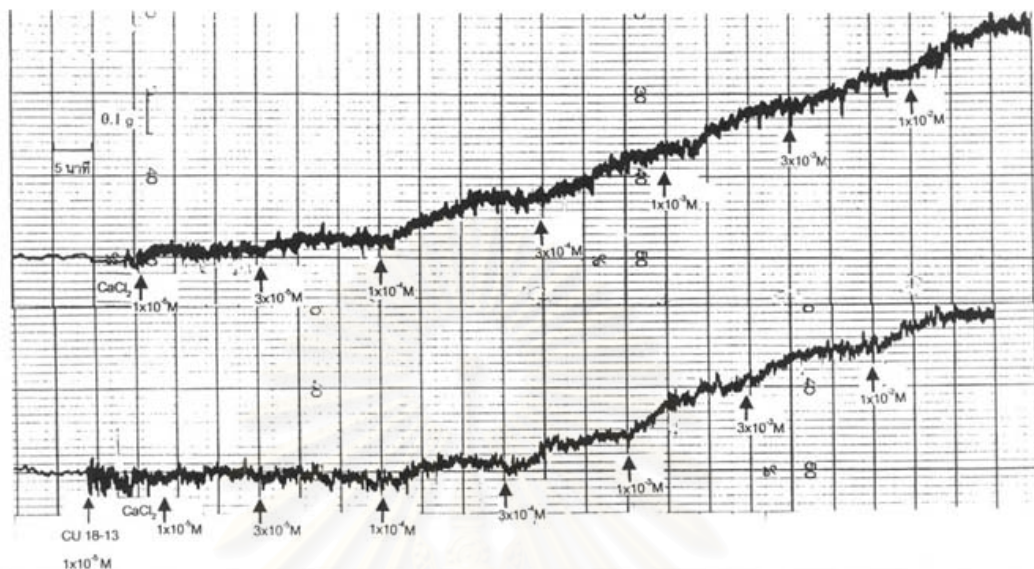


รูปที่ 105 กราฟแสดงผลของ CU 18-12 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{M}$ และ $1 \times 10^{-4} \text{M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative dose-response curve ใน calcium-free depolarizing solution

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

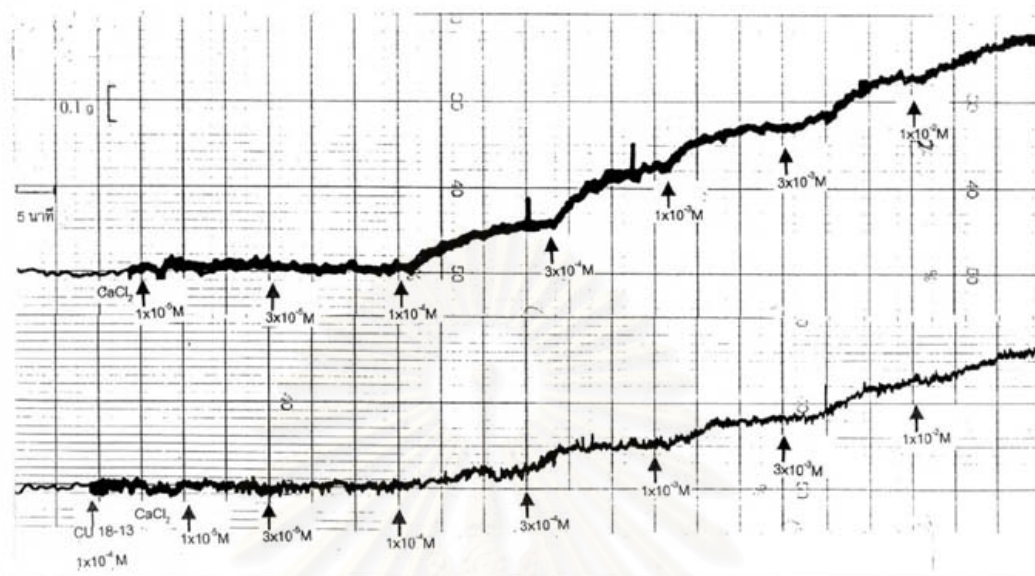
* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มก่อนได้รับสารทดสอบ ($p < 0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



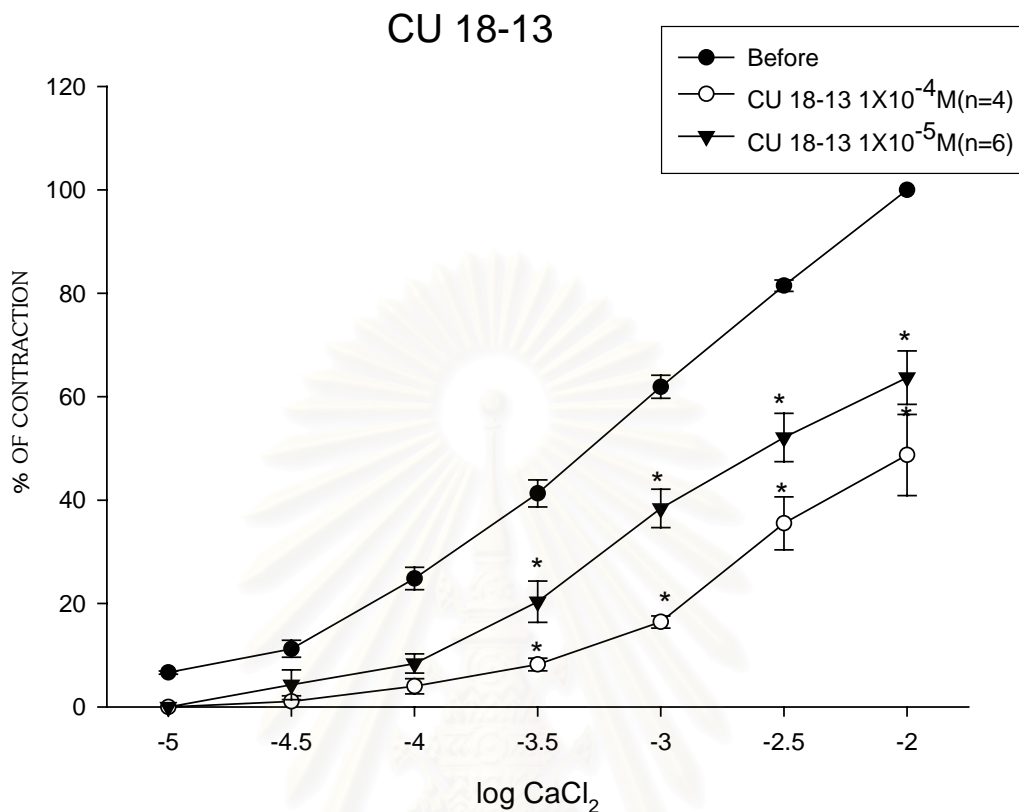
รูปที่ 106 แสดงผลของ CU 18-13 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{ M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative dose-response curve ใน calcium-free depolarizing solution

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 107 แสดงผลของ CU 18-13 ขนาด $1 \times 10^{-4} \text{ M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative dose-response curve ใน calcium-free depolarizing solution

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 107 กราฟแสดงผลของ CU 18-13 ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{M}$ และ $1 \times 10^{-4} \text{M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบ cumulative dose-response curve ใน calcium-free depolarizing solution

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มก่อนได้รับสารทดสอบ ($p < 0.05$)

บทที่ 5

อภิปรายและสรุปผลการทดลอง

1. ผลของสารสังเคราะห์ CU 18-07, CU 18-09, CU 18-12 และ CU 18-13 ในการกระตุ้นหรือยับยั้งต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ (aorta) ในสารละลาย Krebs-Henseleit

กลไกการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบปัจจุบันเป็นที่ทราบกันดีแล้วว่ามีความสัมพันธ์กับปริมาณแคลเซียมอิสระภายในเซลล์ (intracellular free calcium) ซึ่งแคลเซียมอิสระภายในเซลล์ที่เพิ่มขึ้นระหว่างการหดตัวนี้อาจมาจากแคลเซียมภายนอกเคลื่อนที่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์โดยตรง หรืออาจมาจากแคลเซียมที่หลั่งออกมาจากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์ (Rang, *et al.*, 1999) กลไกที่ทำให้แคลเซียมเข้าสู่ภายในเซลล์โดยอาศัยการกระตุ้นกล้ามเนื้อเรียบโดยใช้ตัวกระตุ้นที่มีกลไกการกระตุ้นต่างกันซึ่งพบว่า แคลเซียมสามารถเข้าสู่ภายในเซลล์โดยกระบวนการที่สำคัญ 2 pathway คือ โดยกระบวนการของ VOC และ ROC ดังได้กล่าวแล้วในบทนำ

ในการทดลองกับกล้ามเนื้อหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาวได้กำหนดที่จะศึกษาในสภาพที่ไม่ endothelium เพื่อตัดปัจจัยบางอย่าง เช่น สารพวก endothelium-derived relaxing factor (EDRF) ที่อาจมีผลต่อการทดลองและสารมาตรฐาน ซึ่งสารมาตรฐานที่ใช้ในการทดลองนี้แบ่งออกได้เป็น 2 พวก คือ NA เป็นสารกระตุ้นที่ออกฤทธิ์ผ่าน α -adrenoceptor กลไกการออกฤทธิ์จึงเป็นพวก receptor operated channel (ROC) ซึ่งมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทำให้ได้สาร IP_3 ซึ่งจะไปกระตุ้นให้แคลเซียมหลั่งออกมาจาก SR ส่งผลให้กล้ามเนื้อเรียบเกิดการหดตัวขึ้น และยังไม่มียผลทำให้แคลเซียมจากภายนอกเคลื่อนที่เข้าสู่ภายในเซลล์ผ่านทาง Ca^{2+} channel ได้

ในการทดลองนี้สนับสนุนผลการทดลองที่ผ่านมา คือ เมื่อกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบด้วย NA จะเกิดการตอบสนองอย่างรวดเร็วเป็น phasic contraction ซึ่งขึ้นกับ intracellular calcium และตามด้วย tonic contraction ซึ่งขึ้นกับ extracellular calcium (David and Lois, 1997), (Guyton, 2001)

จากผลการทดลองพบว่า nifedipine สามารถลดฤทธิ์การหดตัวของ NA ได้แต่ไม่สมบูรณ์ ซึ่งเป็นการทดลองที่ผ่านมามีว่า NA ออกฤทธิ์ส่วนหนึ่งผ่านทาง Ca^{2+} channel ผลการทดลองของสารสังเคราะห์ทั้ง 4 ชนิด พบว่าสามารถลดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดที่กระตุ้นด้วย KCl และโดยเฉพาะกระตุ้นด้วย TEA ได้อย่างมากในทุกสาร นอกจากนี้ยังพบว่า สารสังเคราะห์ทั้ง 4 ชนิด สามารถลดการหดตัวที่เกิดขึ้นเมื่อกระตุ้นด้วย $CaCl_2$ ในสภาพ calcium-free depolarizing solution ซึ่งเป็นการทดลองที่แสดงให้เห็นว่าสารสังเคราะห์ทั้ง 4 ชนิด สามารถลด

การเข้าของแคลเซียมที่ผ่านทาง Ca^{2+} channel ในกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาวได้ และเมื่อพิจารณาสารสังเคราะห์ทั้ง 4 ชนิด ที่ได้มีการทดลองกับกล้ามเนื้อเรียบของกระเพาะอาหารถีบจักร(ธนพันธ์,2545) ก็ให้ผลเช่นเดียวกันก็แสดงว่ามีฤทธิ์ลดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้

จากผลการทดลองพบว่า CU 18-07, CU 18-09, CU 18-12 และ CU 18-13 มีผลเสริมฤทธิ์และมีแนวโน้มที่เป็น dose dependent ซึ่งเมื่อพิจารณาผลของสารกลุ่มนี้คือ CU18-11 พบว่าเสริมฤทธิ์ของ NA อย่างเด่นชัด (ปทุมมาศ,2544) นอกจากนี้ CU 18-12 สามารถเสริมฤทธิ์ของ NA ของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำอสุจิที่แยกจากหนูขาว (โสรัถยา,2545) เมื่อพิจารณาผลของสาร CU 18-07, CU 18-09, CU 18-12 และ CU 18-13 ต่อการออกฤทธิ์ของ KCl มี CU 18-12 และ CU 18-13 ที่ให้ในขนาด $1 \times 10^{-5} M$ มีผลเพิ่มฤทธิ์ของ KCl แต่เมื่อให้ในขนาด $1 \times 10^{-4} M$ สารทุกตัวลดฤทธิ์ของ KCl ได้ชัดเจน และเมื่อพิจารณาผลของสารสังเคราะห์ทั้ง 4 ชนิดต่อการออกฤทธิ์ของ TEA พบว่าสารทุกตัวลดฤทธิ์ของ TEA ได้อย่างชัดเจน และเมื่อพิจารณากลไกการออกฤทธิ์ของสารแต่ละชนิดในการทำให้กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดหดตัวจะพบว่ามียกลไกแตกต่างกันแต่ส่วนหนึ่งคือ จะมีผลทำให้มีการเคลื่อนที่ของแคลเซียมจากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ อย่างไรก็ตาม NA เป็นสารที่ออกฤทธิ์ทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดได้หลายทาง และ endothelium ของหลอดเลือดมีส่วนสำคัญในการควบคุมการหดหรือคลายตัวของหลอดเลือด เพื่อหาคำอธิบายการที่สารสังเคราะห์ทั้ง 4 ชนิดไปเสริมฤทธิ์ของ NA จึงได้ทำการทดลองเพิ่มเติมโดยศึกษาผลของ CU 18-09 และ CU 18-12 ซึ่งพบว่ามีฤทธิ์เด่นชัดในทุกการทดลองมาทำการทดสอบกับหลอดเลือดที่มี endothelium พบว่าสามารถลดการหดตัวที่เกิดจาก NA ได้อย่างชัดเจนทั้ง 2 ชนิด แสดงว่าการออกฤทธิ์ของ CU 18-09 และ CU 18-12 ต่อ NA เกี่ยวข้องกับสารที่อยู่ใน endothelium (แม้ว่าในขณะนี้ยังไม่ทดลองกับ CU 18-07 และ CU 18-13 แต่คาดว่าจะให้ผลคล้ายกัน) ดังนั้นในขณะนี้จึงไม่สามารถอธิบายผลของสารสังเคราะห์ทั้ง 4 ชนิดที่เสริมฤทธิ์ของ NA จึงจำเป็นที่จะต้องทำการศึกษาต่อไปแต่เชื่อว่าเกี่ยวข้องกับสารที่มีอยู่ใน endothelium เนื่องจากมีการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าในชั้น endothelium มีสารในกลุ่ม endothelium-derived relaxing factor (EDRF) ต่อมาค้นพบว่า เป็น Nitric oxide (NO) มีฤทธิ์ทำให้หลอดเลือดคลายตัว หากมีการกระตุ้น α_2 -adrenoceptor ในชั้น endothelial cell ก็สามารถกระตุ้นให้มีการหลั่ง NO ได้ และเมื่อให้สารกระตุ้น เช่น NA ซึ่งออกฤทธิ์ผ่านทาง α_2 -adrenoceptor ก็สามารถกระตุ้นการหลั่ง NO ส่งผลให้กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดคลายตัวได้เช่นกัน (Serafim and Daniel, 2001)

สำหรับผลต่อการออกฤทธิ์ของ KCl ของสารสังเคราะห์ทั้ง 4 ชนิด จากผลการทดลองได้ผลสนับสนุนผลการทดลองที่เคยรายงานไว้โดยพบว่า KCl ขนาด 40 mM จะทำให้หลอดเลือดเกิดการหดตัวได้อย่างชัดเจน ซึ่งกลไกนั้นเกิดจากเมื่อ potassium ภายนอกมีความเข้มข้นสูงพอจะทำ

ให้เกิด membrane depolarization แล้วจะไปกระตุ้นให้มีการเปิดของ VOC ทำให้แคลเซียมจากภายนอกเคลื่อนที่เข้าสู่ภายในเซลล์ ซึ่งเป็นกลไกที่สำคัญที่เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อหลอดเลือด (Noguera and D'Ocon, 1993) จากการทดลองพบว่า การยับยั้งการกระตุ้นด้วย KCl ของสารสังเคราะห์ทั้ง 4 ชนิด มีความแตกต่างกันโดยที่ CU 18-12 และ CU 18-13 (ขนาด $1 \times 10^{-5} \text{M}$) เสริมฤทธิ์ของ KCl แต่เมื่อขนาดสูงขึ้นเป็น $5 \times 10^{-5} \text{M}$ และ $1 \times 10^{-4} \text{M}$ กลับลดฤทธิ์เช่นเดียวกับ CU 18-07 และ CU 18-09

เมื่อพิจารณาผลของสารสังเคราะห์ทั้ง 4 ชนิดต่อการหดตัวของหลอดเลือดที่เกิดจาก CaCl_2 กระตุ้นในสภาวะ high K^+ - Ca^{2+} free solution แสดงว่าสารทั้ง 4 ชนิดสามารถลดการผ่านเข้าของ Ca^{2+} ทาง Ca^{2+} channel ได้และเป็นแบบ dose dependent และผลการทดลองนี้เป็นข้อมูลที่แสดงว่าสารสังเคราะห์ทั้ง 4 ชนิด ออกฤทธิ์ส่วนหนึ่งไปลดการเข้าของแคลเซียมจากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ (Hof and Vuorela, 1983) ดังนั้นจากการทดลองทั้ง 2 การทดลองนี้เป็นข้อมูลที่กล่าวได้ว่าสารสังเคราะห์ทั้ง 4 ชนิดมีกลไกลดการเข้าของแคลเซียมที่ผ่านทาง VOC แต่มีความแตกต่างกันในแต่ละสารสังเคราะห์และผลการทดลองในหลอดเลือดของสารสังเคราะห์ทั้ง 4 ชนิดนี้ให้ผลคล้ายกันในการทดสอบกับการยับยั้งการบีบตัวของกระเพาะอาหารหนูถีบจักร (ธนพันธ์, 2545)

สำหรับผลของสารสังเคราะห์ต่อการออกฤทธิ์ของ TEA ในกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาวพบว่า TEA ทำให้เกิดการหดตัวของหลอดเลือดได้ชัดเจนในสภาพที่มี endothelium โดยพบว่าสารสังเคราะห์ทั้ง 4 ชนิด สามารถยับยั้งฤทธิ์ของ TEA ได้ เด่นชัดมากกว่าผลของ KCl และยังพบว่า CU 18-09 และ CU 18-12 ขนาด $1 \times 10^{-4} \text{M}$ สามารถยับยั้งฤทธิ์ของ TEA ได้เกือบสมบูรณ์ และจากผลการทดลองระหว่างการกระตุ้นด้วย KCl และ TEA สนับสนุนกลไกการที่แตกต่างกันของ KCl และ TEA แม้ว่าสารกระตุ้นทั้ง 2 ชนิดจะมีผลทำให้เกิด membrane depolarization และยังทำให้เกิดการเคลื่อนที่ของแคลเซียมจากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ แต่ TEA จะออกฤทธิ์เริ่มต้นที่ K^+ channel มีผลทำให้ K^+ efflux ลดลงเกิด membrane depolarization กล้ามเนื้อเรียบหดตัวลดลง (Christopher, 2001), (Cook and Quast, 1990) ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าด้วยกลไกที่แตกต่างกันระหว่างการกระตุ้นด้วย KCl 40 mM และ TEA ($1 \times 10^{-3} \text{M}$) ให้ผลการหดตัวของหลอดเลือดที่ใกล้เคียงกันแต่สารสังเคราะห์ทั้ง 4 ชนิดได้ชัดเจนกว่า KCl จึงอาจกล่าวได้ว่าการออกฤทธิ์ของสารสังเคราะห์ 4 ชนิด กลไกส่วนหนึ่งน่าจะเกี่ยวข้องกับการเปิดของ K^+ channel อย่างไรก็ดีควรศึกษาให้ทราบถึงฤทธิ์ที่แท้จริงต่อไป

2. ผลของสารสังเคราะห์ CU 18-07, CU 18-09, CU 18-12 และ CU 18-13 ที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงแคลเซียมที่ปล่อยออกจากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์ของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว (aorta) เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NA และ Caffeine ในสารละลาย Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit

ในการศึกษานี้มีวัตถุประสงค์ที่จะทำการทดลองในสภาพที่ไม่มีแคลเซียมอยู่ใน medium เพื่อดูว่าสารสังเคราะห์ทั้ง 4 ชนิดจะให้ผลอย่างไร เมื่อเปรียบเทียบกับสภาพที่มี medium ปกติ

สารละลาย Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit เป็นสภาวะที่ไม่มีแคลเซียมจากภายนอกเซลล์ ดังนั้นการกระตุ้นกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาวด้วย NA แล้วเกิดการหดตัวจึงเป็นผลจากแคลเซียมที่หลั่งออกมาจากแหล่งเก็บสะสมแคลเซียมภายในเซลล์โดยไม่มีแคลเซียมจากภายนอกเซลล์เข้ามาเกี่ยวข้องจะมีการหดตัวเป็นแบบ transient contraction และยังคงมี tonic contraction ค้างอยู่เล็กน้อย (Karaki, *et al.*, 1997) ซึ่งจะแตกต่างจากการหดตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาวในสารละลาย Krebs-Henseleit มีแคลเซียมเป็นองค์ประกอบโดยจะเกิดการหดตัวแบบ phasic contraction ซึ่งเกิดจากการหลั่งแคลเซียมออกจากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์ และตามมาด้วย tonic contraction เป็นส่วนที่อาศัยแคลเซียมจากภายนอก

จากการทดลองพบว่า CU 18-07, CU 18-09, CU 18-12 และ CU 18-13 สามารถลดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ได้ เป็นแบบ dose dependent อาจกล่าวได้ว่า CU 18-07, CU 18-09, CU 18-12 และ CU 18-13 มีผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่เกิดจากการหลั่งของแคลเซียมภายในเซลล์เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NA โดยการหดตัวนี้ไม่ขึ้นกับแคลเซียมจากภายนอกเซลล์ ซึ่งสามารถยืนยันผลการทดลองว่า CU 18-07, CU 18-09, CU 18-12 และ CU 18-13 มีผลต่อการหลั่งแคลเซียมจากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์โดยใช้ caffeine กระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ในสารละลาย Ca^{2+} -free Krebs-Henseleit ซึ่ง caffeine สามารถกระตุ้นการหลั่งแคลเซียมจาก SR โดยการไปเพิ่มความไวของกระบวนการ CICR เกิดการหดตัวแบบ transient contraction และสามารถเพิ่มการเคลื่อนที่เข้าของแคลเซียมจากภายนอกเซลล์ได้อีกด้วย (Karaki and Weiss, 1988) ในการทดลองนี้พบว่าการหดตัวของหลอดเลือดที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย caffeine จะแตกต่างจากการกระตุ้นด้วย NA และ KCl โดยพบว่า caffeine จะทำให้เกิดการหดตัวแบบเฉียบพลัน (transient contraction) ซึ่งเป็นผลที่ caffeine ไปกระตุ้นให้มีการหลั่งแคลเซียมออกจาก SR (Watanabe, *et al.*, 1992) และยังพบว่าอีกว่าการหดตัวที่เกิดขึ้นจะตามาด้วยการคลายตัวที่ต่ำกว่าแรงหดตัวเดิม (base line) ซึ่งแตกต่างจากผลของ NA หรือ KCl และผลการทดลองที่ได้สนับสนุนผลการทดลองก่อนๆ ที่ได้ทำซึ่งเป็นผลที่ caffeine ไปยับยั้ง cyclic AMP phosphodiesterase มีผลทำให้เพิ่ม cyclic AMP และเป็นผลทำ

ให้กล้ามเนื้อเรียบคลายตัว (Sato, *et al.*,1988) จากผลการทดลองของ CU 18-07, CU 18-09, CU 18-12 และ CU 18-13 สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่เมื่อถูกกระตุ้นด้วย caffeine ได้ใกล้เคียงกัน จึงอาจกล่าวได้ว่า CU 18-07, CU 18-09, CU 18-12 และ CU 18-13 น่าจะมีผลรบกวนการหลังแคลเซียมออกจากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์ซึ่งถูกกระตุ้นด้วย NA และ caffeine

แม้ว่าการทดลองต่างๆที่ได้ทำจะเป็นการทดลองที่เรียกว่าแบบ indirect คือไม่ได้วัดค่าโดยตรงของการเข้าออกของ ion ต่างๆภายในและภายนอกเซลล์ แต่ก็สามารถใช้ผลการทดลองที่ได้โดยวัดผลการเพิ่มหรือลดการหดตัวของกล้ามเนื้อเป็นตัวที่จะอธิบายถึงกลไกการออกฤทธิ์ได้ระดับหนึ่ง

3. ผลของสารสังเคราะห์ CU 18-07, CU 18-09, CU 18-12 และ CU 18-13 ต่อการเกิด Ca^{2+} influx และการทดแทน Ca^{2+} เข้าสู่ internal storage ที่สัมพันธ์กับ α_1 -adrenoceptor โดยวัดการเปลี่ยนแปลงการหดตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาวในขณะพัก [Increase in the resting tone in aorta (IRT)]

การศึกษาการเคลื่อนที่เข้าออกของแคลเซียมในกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดสามารถศึกษาได้จากการหดตัวของหลอดเลือดในขณะพัก [Increase in the resting tone in aorta (IRT)] ซึ่ง IRT การเกิดจากผลของ Ca^{2+} influx และการทดแทน Ca^{2+} เข้าสู่ internal storage ที่สัมพันธ์กับ α_1 -adrenoceptor ซึ่งจะเกิดโดยใช้สารกระตุ้น คือ NA เป็นการกระตุ้นผ่านทาง α_1 -adrenoceptor เท่านั้น (Noguera *et al.*,1996) จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า ในกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว มี α_1 -adrenoceptor ชนิด α_{1D} -adrenoceptor (Regina, *et al.*,2000) หลังจากนั้นจะไปกระตุ้นให้มีการปลดปล่อยแคลเซียมจาก SR เมื่อทำการทดลองในสารละลาย Ca^{2+} -free Krebs- Henseleit กระตุ้นการหดตัวด้วย NA จะทำให้แคลเซียมที่เก็บอยู่ใน SR ถูกปล่อยออกจนหมด และเมื่อเปลี่ยน medium เป็นสารละลาย Krebs-Henseleit ที่มีแคลเซียมเป็นองค์ประกอบ ทำให้แคลเซียมจากภายนอกสามารถเคลื่อนที่เข้ามาภายในเซลล์แคลเซียมในเซลล์เพิ่มขึ้นจึงทำให้เกิด IRT ซึ่งกระบวนการนี้เกิดขึ้นได้โดยปราศจากสารมากระตุ้น

จากผลการทดลองพบว่า CU 18-07, CU 18-09, CU 18-12 และ CU 18-13 สามารถยับยั้งการเกิด IRT ได้ อาจกล่าวได้ว่า CU 18-07, CU 18-09, CU 18-12 และ CU 18-13 ไปมีผลรบกวน Ca^{2+} influx และการทดแทน Ca^{2+} เข้าสู่ internal storage ซึ่งน่าจะเป็นไปได้ว่าสาร

สังเคราะห์ทั้ง 4 ชนิด ไปมีผลยับยั้งการเคลื่อนที่ของแคลเซียมจากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ผ่านทาง Ca^{2+} channel ที่ couple กับ α_1 -adrenoceptor

4. ผลของ CU 18-07, CU 18-09, CU 18-12 และ CU 18-13 ต่อการเคลื่อนที่เข้าออกของแคลเซียมในกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ (aorta) เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 ใน calcium-free depolarizing solution (high K^+ - Ca^{2+} free solution)

การศึกษากการเคลื่อนที่เข้าออกของแคลเซียมในกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดง เมื่อถูกกระตุ้นด้วย CaCl_2 ใน calcium-free depolarizing solution (high K^+ - free Ca^{2+} solution) ซึ่งเป็นการวิธิการของ Hof และ Vuorela โดยการใช้สารละลาย high K^+ - Ca^{2+} free solution ทำให้มีการเคลื่อนที่ของ K^+ จากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงจึงเกิด membrane depolarizing แล้วมีผลทำให้ VOC เปิดออก มีผลทำให้แคลเซียมจากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์มากขึ้น เมื่อให้ CaCl_2 แบบสะสมขนาดพบว่า กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงจะมีการหดตัวตามปริมาณแคลเซียมที่เพิ่มขึ้น ลักษณะเป็น dose dependent จากการทดลองพบว่า CU18-07, CU18-09, CU18-12 และ CU18-13 สามารถลดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ได้เป็นแบบ dose dependent มีลักษณะเป็นแบบ non competitive antagonist ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับ nifedipine แต่มีความแรงน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับค่า pD_2' ดังแสดงในตารางที่ 1 อาจกล่าวได้ว่า CU18-07, CU18-09, CU18-12 และ CU 18-13 ออกฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดแดงโดยไปยับยั้งการเคลื่อนที่ของแคลเซียมเข้าสู่เซลล์ผ่านทาง Ca^{2+} channel

ความแตกต่างของสูตรโครงสร้างทางเคมีของสารสังเคราะห์ CU 18-07, CU 18-09, และ CU 18-13 มีโครงสร้างเป็น aniline derivatives สำหรับ CU 18-12 มีโครงสร้างเป็น pyrimidine derivative โดยมี functional group ที่แตกต่างกันแต่อยู่บนตำแหน่ง para เหมือนกัน ทำให้มีฤทธิ์ในการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบต่างกันโดย CU 18-09 และ CU 18-12 ซึ่งมี functional group เป็น nitro group และ nitrogen สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้ใกล้เคียงกันในขณะที่ CU 18-07 มี functional group เป็น methoxy group และ CU 18-13 ไม่มี functional group ออกฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้น้อยกว่า

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

ในการศึกษาผลของ CU18-07, CU18-09, CU18-12 และ CU 18-13 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาวโดยใช้สารกระตุ้นทำให้เกิดการหดตัวที่แตกต่างกันและ

ในสภาวะที่มีและไม่มีแคลเซียมใน medium ซึ่งทำการทดลองในหลอดเลือดที่มี endothelium เป็นส่วนใหญ่ จากผลการทดลองอาจกล่าวได้ว่า สารสังเคราะห์ทั้ง 4 ชนิดสามารถลดการหดตัวของหลอดเลือดได้โดยไปออกฤทธิ์ส่วนหนึ่งขัดขวางหรือลดการเคลื่อนที่เข้าของแคลเซียมจากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์โดยเป็นผลการทดลองเมื่อกระตุ้นด้วย CaCl_2 แบบสะสมขนาดใน calcium-free depolarizing solution ผลจากการกระตุ้นด้วย KCl และผลจากการลดลงของ IRT นอกจากนี้ อาจกล่าวได้ว่า สารสังเคราะห์ทั้ง 4 ชนิด มีผลลดการ influx ของแคลเซียมได้เด่นชัดจากการที่ไปมีผลต่อ K^+ channel นอกจากนี้ผลของสารสังเคราะห์ทั้ง 4 ชนิดลดแรงหดตัวของหลอดเลือดเมื่อกระตุ้นการหดตัวด้วยด้วย NA และ caffeine ในสภาวะที่ไม่มีแคลเซียมใน medium น่าจะเป็นผลจากการที่สารสังเคราะห์ทั้ง 4 ชนิดไปรบกวนการหลั่งแคลเซียมจากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์

การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสังเคราะห์ในครั้งนี้เป็นการศึกษาผลของกลุ่มสารเคมีที่สังเคราะห์ขึ้นมาใหม่ซึ่งมีการพัฒนาและศึกษาฤทธิ์อยู่ในขณะนี้ ผลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้จึงเป็นข้อมูลบางส่วนที่จะนำไปรวมกับการศึกษาฤทธิ์ในส่วนอื่นๆ เพื่อที่คณะผู้สังเคราะห์สารในกลุ่มนี้จะได้นำไปพัฒนาต่อไป จากข้อมูลของสารสังเคราะห์กลุ่มนี้ที่มีต่อระบบหัวใจ (สิริรัตน์, 2545) ต่อกระเพาะอาหาร (ธนพันธ์, 2545) ต่อท่อनाอสุจิ (โสรัตติยา, 2545) และต่อหลอดเลือด (ปทุมมาศ, 2544) ทั้งหมดเป็นการทดลองเบื้องต้นในแต่ละระบบและใช้ขนาดค่อนข้างสูง ($1 \times 10^{-5} \text{M}$ และ $1 \times 10^{-4} \text{M}$) ผลที่ได้มีความเป็นไปได้ที่จะพัฒนาสารสังเคราะห์กลุ่มนี้ต่อไปเพื่อเป็นประโยชน์ทางด้านระบบหัวใจและหลอดเลือดเนื่องจากมีฤทธิ์เพิ่มแรงบีบตัวของหัวใจ โดยไม่เพิ่มอัตราเต้นของหัวใจ อีกทั้งยังมีผลคลายหลอดเลือดอีกด้วยนอกจากนี้สารสังเคราะห์กลุ่มนี้ยังมีฤทธิ์เป็น antispasmodic ในระบบทางเดินอาหารและจากผลการทดลองมีความเป็นไปได้ที่การออกฤทธิ์ของสารในกลุ่มนี้จะมีผลต่อ K^+ channel อย่างไรก็ตามยังต้องทำการศึกษาอีกมากเพื่อที่จะได้ข้อมูลมาอธิบายกลไกและการออกฤทธิ์ที่แท้จริงในการที่จะนำสารสังเคราะห์กลุ่มนี้ไปพัฒนาเป็นยาต่อไป

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

ธนพันธ์ สุขสอาด. ผลของสารสังเคราะห์ CU 18-07, CU 18-08, CU 18-09, CU 18-10, CU 18-11, CU 18-12 และ CU 18-13 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะอาหารที่แยกจากหนูถีบจักร.วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเภสัชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2545.

ปทุมมาศ พิษพรม. ผลของสารสังเคราะห์ CU 18-08, CU 18-10 และ CU 18-11 ต่อการเคลื่อนที่เข้าออกของแคลเซียมในกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาวที่แยกจากกาย. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเภสัชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2544.

วิฑูรย์ แซ่ตั้งและชัยพร บุญวรรณ. การสังเคราะห์และฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของอนุพันธ์ของเอซิลอะมิโนไพรีดีนและเอซิลอะนิลีน. วิทยานิพนธ์ เภสัชศาสตรบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2543.

สิริรัตน์ สุเชาวินทร์. ผลของสาร ซียู 18-11 ซียู 18-12 และ ซียู 18-13 ต่ออัตราการเต้นและแรงบีบตัวของหัวใจห้องบนขวาและซ้ายที่แยกจากหนูขาว. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเภสัชวิทยา สหสาขาเภสัชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2545.

โสรัศมิยา เจริญสมประสงค์. ผลของ CU 18-07, CU 18-09 และ CU 18-12 ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาว. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเภสัชวิทยา สหสาขาเภสัชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2545.

ภาษาอังกฤษ

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

Berne, R.M.; and Levy, M.M. Physiology. 3rd ed. pp 309 – 324. The United State of America : Mosby-Year Book,1993.

- Chen, T.H.; Lec, B.; Yang, C.; and Walter, H.H. Effects of caffeine on intracellular calcium release and calcium influx in clonal β -cell line RINm5F. Life Sciences.58 (1996) : 983-990.
- Christopher, G.S. Potassium channel function in vascular disease. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 21(2001) : 28-38.
- Cook, N.S.; and Quast, U. Potassium channel pharmacology. In N.S. Cook(eds.), Potassium channels, structure, classification, function and therapeutic potential, pp.181-255, Ellis Horwood, Chichester,UK,1990.
- David, E.M.; and Lois J.H. Cardiovascular Physiology. 4th ed. pp.109-138, McGraw Hill, Singapore,1997.
- Furchgott, R.F. Role of endothelium in response of vascular smooth muscle. Circulation Res. 52 (1980): 557-573.
- Guyton, A.C.; and Hall J.E. Medical physiology.10thed. pp. 87-94, Saunders, Philadelphia : 2000.
- Henry, R.B.; and Mark, V.Z. Drug receptors & pharmacodynamics. In Katzung, R.B.(eds.), Basic & Clinical Pharmacology, pp.27-28 .New York : McGraw-Hill,2001.
- Hof, R.P.; and Vuorela, H.J. Assessing calcium antagonism on vascular smooth muscle : A comparison of three methods. J. Pharmacol. Methods. 9(1983):41-52.
- Horowitz, A .*et al.* Mechanism of smooth contraction. Physiol rev. 76 (1996) : 967-1003.
- Karaki, H.; Ozaki, H.;Hori, M.;Mitsui-Saito, M.; Amano, K.I.; HaraDA, K.I.; Miyamoto, S.; Nakazawa, H.; Wan, K.J.; and Sato, K. Calcium movements distribution, and functions in smooth muscle. Pharmacol. Rev. 49(1997):157-230.
- Karaki, H.; and Weiss, G.B.Calcium release in smooth muscle.Life sciene.42(1988):112-122.
- Kawakami, M.; and Okabe, E. Superoxide anion radical-triggered Ca^{2+} release from cardiac sarcoplasmic reticulum through ryanodine receptor Ca^{2+} channel . Molecular pharmacology. 53 (1998) : 497-503.
- Kuriyama, H.; Kitamira, K.; and Nabata, H. Pharmacological and Physiological significance of ions channels and factors that modulate them in vascular tissues. Pharmacol. Rev. 47(1995) :387-573.

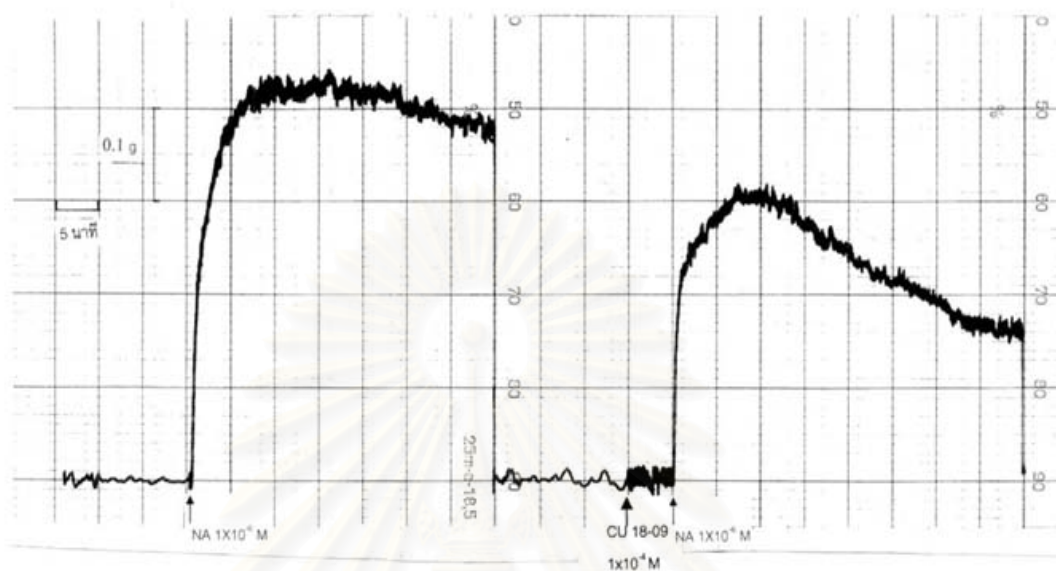
- Lionel, H.O. Vascular smooth muscle and endothelium. In Lionel,; H.O.(eds.), The Heart Physiology from Cell to Circulation, pp 233-254, Philadelphia: Lippintt Raven,1998.
- Noguera, M.A.; and D'Ocon, M.P. Evidence that depletion of internal calcium stores sensitive to noradrenaline elicits a contractile response dependent on extracellular calcium in rat aorta. Br J. Pharmacol. 110 (1993): 861-867.
- Noguera, M.A. ;Ivorry, M.D.; and D'Ocon, M.P. Functional evidence of inverse agonism in vascular smooth muscle. Br. J. Pharmacol. 119 (1996):158-164.
- Noguera, M.A. ;Ivorry, M.D.; and D'Ocon, M.P. Characterization of two different Ca^{2+} entry pathways dependent on depletion of internal Ca^{2+} pools in rat aorta. Naunyn Schmiedeberg's Arch.Pharmacol. 357(1998):92-99.
- Rang, H.P.; Dale, M.M.; and Ritter, J.M. The vascular system. In Rang, H.P.; Dale, M.M.; and Ritter, J.M.(eds.), Pharmacology, pp. 278- 300.Edinburgh:Churchill Livingstone ,1999.
- Regina, G.; Maria, A.N.; Maria, D.I.; and Pilar, D.O. Functional evidence of a constitutively active population of α_{1D} -adrenoceptor in rat aorta. JPET. 295 (2000): 810-817.
- Richard, K.E. Cardiovascular Physiology Concepts.[online]. Available from :
URL :[http:// www.oucom.ohio.edu/cvphysiology/bp026.html](http://www.oucom.ohio.edu/cvphysiology/bp026.html)
- Sato, K.; Ozaki, H.; and Karaki, H. Changes in cytosolic calcium levels in vascular smooth muscle strip measured simultaneously with contraction using fluorescent calcium indicator fura 2. J. Pharmacol. Exp. Ther. 246 (1988) : 294-300.
- Serafim, G.; and Daniel, M. Vascular adrenoceptors :an update. Pharmacol. Rev. 53(2001) : 319-356.
- Van Rossum, J.M. Cumulative dose-response curves. Arch. Int. Pharmacodyn. Ther. 143(1963): 299-330.
- William, F.J. Ion channels and vascular tone. Hypertension .35[part2](2000):173-178.
- Watanabe, M.; Rosenblum, W.I. and Nelson, G.H. In vivo effect of methylene blue on endothelium-depenent and endothelium-independent dilations of brain microvessels in mice. Circ. Res. 62(1988) : 86-90.

ภาคผนวก

ตารางที่ 2 ส่วนประกอบ Physiological solution (มิลลิโมล/ลิตร)

สารเคมี	Physiological solution		
	Kreb Henseleit	Ca ²⁺ -free Kreb Henseleit	Potassium Depolarizing
NaCl	119	119	27
KCl	4.7	4.7	100
CaCl ₂	2.5	-	-
MgSO ₄	1.0	1.0	-
NaHCO ₃	25	25	14.0
KH ₂ PO ₄	1.2	1.2	-
Glucose	11.1	11.1	10
EDTA	-	0.1	-
MgCl ₂	-	-	2.25

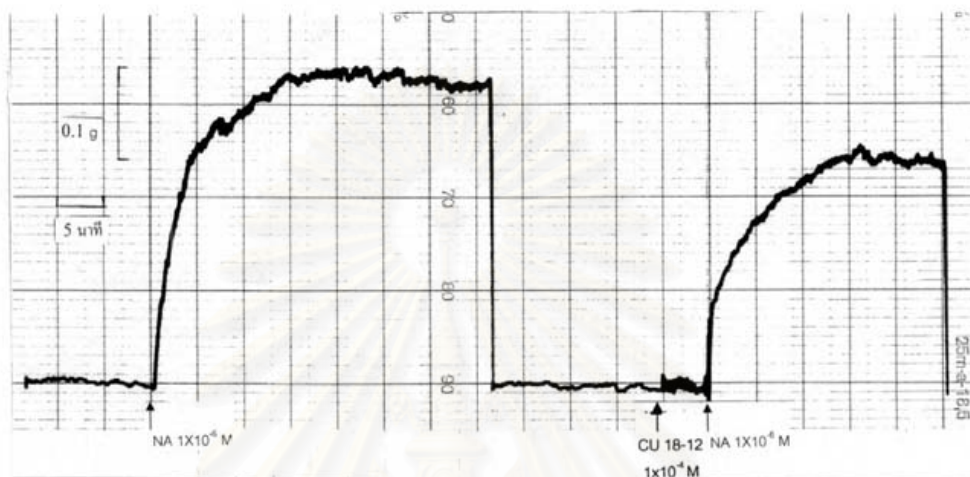
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Ca²⁺(+)

รูปที่ 109 แสดงผลของ CU 18-09 ขนาด $1 \times 10^{-4} \text{ M}$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาวที่มี endothelium เมื่อถูกกระตุ้นด้วย NA $1 \times 10^{-6} \text{ M}$ ในสารละลาย Krebs-Henseleit

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Ca²⁺(+)

รูปที่ 110 แสดงผลของ CU 18-12 ขนาด $1 \times 10^{-4} M$ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาวที่มี endothelium เมื่อถูกกระตุ้นด้วย $NA 1 \times 10^{-6} M$ ในสารละลาย Krebs-Henseleit

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาว อมรรัตน์ ชัยนการนาวิ เกิดเมื่อวันที่ 8 กุมภาพันธ์ 2521 ที่จังหวัดชัยนาท สำเร็จ
การศึกษาระดับปริญญาตรีพยาบาลศาสตร์ จากคณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามธิบดี เมื่อปี
การศึกษา 2543 และได้ศึกษาต่อในระดับปริญญาโทหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาสห
สาขาเภสัชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2544



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย