



วารสารเภสัชวิทยา

THAI JOURNAL OF PHARMACOLOGY

ISSN 0125-3832

ม.ค. - มิ.ย. 2528

ปีที่ 7 เล่มที่ 1,2

JAN. - JUN. 1985

VOL.7 NO.1,2

วารสารเภสัชวิทยา

THAI JOURNAL OF PHARMACOLOGY

วารสารทางวิชาการของ
สมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย

Official Publication of the
Pharmacological and Therapeutic
Society of Thailand

บรรณาธิการ EDITOR

บพิตร กลางกัลยา

Borpit Klangkalya

รองบรรณาธิการ ASSOCIATE EDITOR

ชัยชาญ แสงดี

Chaichan Sangdee

คณะกรรมการ EDITORIAL BOARD

กรทอง ทองลิ้ม

Krongtong Chawalit

กาญจนา เกษะอาด

Kanchana Ketsa-ard

กำพล ศรีวัฒนกุล

Kampon Sriwatanakul

จงกล หนูขวัญ

Chongkol Nookkwun

จุฑามาศ สัตยวิวัฒน์

Jutamaad Satayavivad

ดาเนศ ตรีนิยานนท์

Danis Davitayananta

ทัศนัย สุริยจันทร์

Dhasanai Suriyachan

นพมาศ ว่องวิทย์เตชะ

Noppamars Wongwitdecha

ประกร ชูทะพงษ์

Prakorn Chudapongse

ปราโมทย์ ชีรพงษ์

Pramote Teerapong

ปิติ ทฤษฎีกุณ

Piti Trisdikoon

พรเพ็ญ เปรมโยธิน

Pornpen Pramyothin

พิสมัย เหล่าทิพรเกษม

Pisamai Laupattarakasem

ภักดี โพธิศิริ

Pakdee Pothisiri

เมธี สรรพานิข

Methi Sunbhanich

ยุพิน สังวรินทะ

Yupin Sanvarinda

ลัดดาวัลย์ สัตยบุปผากุล

Laddawan Sunyapridakul

วรา พานิชเกรียงไกร

Vara Panichkriangkrai

ศรีจันทร์ พรจิราศิลป์

Srichan Phornchirasilp

สมิง เก้าเจริญ

Sming Kaojarern

สมเกียรติ ทาจำปา

Somkiat Tachampa

อัมพวัน อภิสรียะกุล

Amphawan Apisariyakul

อำนวย ธิธาพันธ

Amnuay Thithapandha

ผู้จัดการ MANAGER

สุเพ็ญ ภักทิจวานิช

Supen Patarakitvanich

สำนักงาน PUBLISHED BY

ภาควิชาเภสัชวิทยา

Department of Pharmacology

วิทยาลัยแพทยศาสตร์พระมงกุฎเกล้า

Pramongkutkiao College of Medicine

ถนนราชวิถี กทม. 10400 โทร. 2458272

Rajavithi Road Bangkok 10400 Tel. 2458272

พิมพ์ที่ PRINTED BY

ไดมอนด์เพรส

Diamond Press

83/7 ถนนพหลโยธิน กรุงเทพฯ

308/169 Jaransanitwong Road Bangkok



สมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย
THE PHARMACOLOGICAL AND THERAPEUTIC SOCIETY OF THAILAND

คณะกรรมการบริหาร

EXECUTIVE COMMITTEE

นายก	President
พ.ท. ดร.ทัศนัย สุริยจันทร์	Dhasanai Suriyachan
อุปนายก	Vice-President
รศ. นสพ. ดาณิศ ทวีติยานนท์	Danis Davitiyananta
ผู้ริ่งตำแหน่งนายก	President Elect
รศ. ดร. จุฑามาศ สัตยวิวัฒน์	Jutamaad Satayavivad
เลขาธิการ	Secretary-General
ภญ. ดร. ชวนี ทองโรจน์	Chavanee Tongroach
เหรัญญิก	Treasurer
พ.ศ.หญิง สุเพ็ญ ภัทรกิจวานิช	Supen Patarakitvanit
ปฏิคม	Reception Secretary & Public
	Ralation
รศ. นสพ. สมเกียรติ ทาจำปา	Somkiat Tachampa
นายทะเบียน	Registrar
ผศ. ลัดดาวัลย์ การะโชติ	Laddawan Karachot
กรรมการวิชาการ	Chairman of Scientific Section
รศ. ดร. นพ. กำพล ศรีวัฒนกุล	Kampon Sriwatanakul
บรรณาธิการวารสาร	Editor
พ.ศ. ดร. บพิตร กลางกลยา	Borpit Klangkalya
กรรมการ	Member
รศ. นพ. ไพโรจน์ ศิริวงษ์	Pairojana Sirivongs
ผศ. ภญ. อุษา หงส์วาริวัฒน์	Usana Hongvareewat
รศ. ดร. อรพรรณ มาตังคสมบัติ	Oraphan Matangkasombat
ภก. ดร. ภัคดี โพธิศิริ	Pakdee Pothisiri
ผศ. พญ. นงลักษณ์ ชินสมบุญ	Nonglux Chinsomboon
ดร. อุดม จันทราภักษ์ศรี	Udom Chantharaksri

วารสารเภสัชวิทยา

THAI JOURNAL OF PHARMACOLOGY

ปีที่ 7 เล่มที่ 1-2 ม.ค.-มิ.ย. 2528

Vol. 7 No.1-2 Jan.-Jun. 1985

สารบัญ CONTENTS

รายงานวิจัย ORIGINAL ARTICLE

- 1 Antagonism by Capsaicin and Procainamide of the Depressive Effect of Verapamil on Isolated Rat Atria
Rachanee Naiwatanakul, Parimongkol Wongchuengam, Prasan Dhumma-Upakorn and Prakorn Chudapongse

- 11 ผลทางเภสัชวิทยา ของ saponins จากใบราตรี
ฉันทวัน อภิสริยะกุล และ สิริพันธ์ ณรงค์ชัย
Pharmacological Effects of Saponins from Ratree Leaves
Amphawan Apisariyakul and Siripan Narongchai

บทความปริทัศน์ REVIEW ARTICLE

- 29 Calcium Channel Blockers: Effects and Clinical Applications
Pieter Joubert and Santy Daya
- 39 Current Status of Platelets in Atherosclerosis
กาญจนา เกษสอาด
Kanchana Ketsa-ard
- 53 Traditional Medicine in Atherosclerosis
ขวัญฤดี เดชาศิริวงศ์ ณ ออยุธยา
Quanrudi Dejatiwongse Na Ayudhya

มติที่ประชุม

บรรณาธิการแถลง

วารสาร เกษตรวิทยา เล่มนี้ตีพิมพ์ช้ากว่ากำหนดเช่นเคย และได้รวมเล่มที่ 1-2 อยู่ในเล่มเดียวกัน การรวมเล่มนี้เป็นนโยบายที่ได้ตกลงกันไว้ในที่ประชุมคณะกรรมการบริหารสมาคมฯ ซึ่งให้เปลี่ยนแปลงได้ตามจำนวนเรื่องที่ได้รับตีพิมพ์ อีกประการหนึ่งก็จะเป็นการประหยัดงบประมาณในการจัดทำวารสารโดยไม่ต้องอาศัยงบประมาณสนับสนุนจากกรมโฆษณาชวนเชื่อ ซึ่งข้อนี้ก็เป็นที่รู้กันอยู่แล้วในภาวะเศรษฐกิจปัจจุบันเราจะหวังการสนับสนุนจากบริษัทห้างร้านต่าง ๆ มากเหมือนเดิมก็คงจะยากสำหรับปีต่อไปก็คงแล้วแต่บรรณาธิการและคณะกรรมการบริหารสมาคมฯ ชุดใหม่จะพิจารณาตามความเหมาะสม และก็คงจะต้องฟังความคิดเห็นจากท่านสมาชิกของสมาคมด้วย ถ้าท่านมีความจำเป็นหรือไม่ที่จะตีพิมพ์วารสารต่อไปในปริมาณและคุณภาพอย่างไร น่าจะได้ช่วยกันพิจารณาอย่างจริงจังอีกสักครั้ง บางครั้งผู้ทำงานก็ไม่แน่ใจเหมือนกันว่าตัวเองใช้เวลามากมายอยู่กับงานเหล่านี้ ในที่สุดผลงานของตัวเองเป็นประโยชน์ต่อใครบ้างหรือไม่ กระผมอยากให้ท่านสมาชิกช่วยกันพิจารณาและแสดงความคิดเห็น ปัญหาต่อกิจกรรมของสมาคมมากขึ้น เพื่อที่บรรณาธิการคนใหม่ที่จะมารับหน้าที่ต่อไปจะได้ทำงานด้วยความสบายใจเต็มที่

เรื่องที่ตีพิมพ์ในวารสารเล่มนี้อาจยังมีข้อผิดพลาดอยู่บ้าง ทั้งทางด้านการพิมพ์ต้นฉบับภาษาที่ใช้และลักษณะที่แตกต่างกัน กระผมขอยอมรับข้อผิดพลาดทั้งหมดแต่ผู้เดียว เพราะมิได้กระจายงานให้คณะบรรณาธิการช่วยและได้ตรวจแก้ต้นฉบับล่าช้าจนถึงกำหนดเดินทางไปต่างประเทศ การจัดลงหน้าวารสารและการแก้ไขต่าง ๆ จึงไม่สะดวกเท่าที่ควร พร้อมกับนี้กระผมก็ขออนุญาตทำเล่มนี้เป็นเล่มสุดท้าย เล่ม 3-4 ซึ่งจะตีพิมพ์ในช่วงการประชุมวิชาการประจำปีของสมาคมได้ขอรับรองให้นายกสมาคมเป็นบรรณาธิการและแต่งตั้งคณะกรรมการจัดทำต่อไป กระผมขอถือโอกาสขอบพระคุณทุก ๆ ท่านที่ได้มีส่วนช่วยเหลือให้กำลังใจ และให้ความร่วมมือตลอดระยะเวลาที่กระผมได้ทำหน้าที่บรรณาธิการ ขอโปรดได้รับความปรารถนาดีจากกระผมด้วยความจริงใจ

บพิตร กลางกัลยา

ANTAGONISM BY CAPSAICIN AND PROCAINAMIDE OF THE DEPRESSIVE EFFECT OF VERAPAMIL ON ISOLATED RAT ATRIA

Rachanee Naiwatanakul, Parimongkol Wongchuengam,

Prasan Dhumma-Upakorn and Prakorn Chudapongse

Department of Pharmacology, Faculty of Pharmaceutical

Sciences, Chulalongkorn University, Bangkok 10500

Thailand

SUMMARY

The brief stimulatory effect of capsaicin (2 and 10 $\mu\text{g/ml}$) on the rate and isometric tension by isolated rat right and left atria respectively was slightly affected by a calcium antagonist, verapamil (0.05 $\mu\text{g/ml}$), whether both drugs were added simultaneously or capsaicin added 15 min after verapamil. However, in the presence of capsaicin, the negative chronotropism and inotropism induced by verapamil were markedly attenuated. Reserpine pretreatment did not abolish this antagonistic activity of capsaicin, indicating that endogenous catecholamines were not involved. Procainamide (10 $\mu\text{g/ml}$) which produced insignificant atrial stimulation was also found to mitigate the verapamil-induced atrial depression. The possible mechanism by which capsaicin and procainamide antagonize verapamil effect on isolated rat atria is discussed.

Capsaicin has well documented effect on the cardiovascular system (Virus and Gebhart, 1979). Most cardiovascular responses to capsaicin have been studied in whole animals in which capsaicin has been shown to reflexly induce either cardiovascular depression or stimulation depending on the site of administration. For instance, capsaicin injection into splanchnic (Toh et al., 1955) or hindlimb circulation (Webb-Peploe et al., 1972) elicits cardiovascular excitation while cardiovascular inhibition has been reported when capsaicin is injected into portal circulation of the liver (Ashton et al.,

1982). The in vitro effect of capsaicin on isolated cardiac tissues, however, has received relatively little attention. In 1969, Molnar et al. and Fukuda and Fujiwara reported that low doses of capsaicin exerted the positive chronotropic and inotropic effect on isolated guinea pig atria. On the other hand, Toda et al. (1972) could not demonstrate the stimulatory effect of capsaicin on the isolated atria from rabbit and dog. The discrepancy is presumably due to the species differences. The atrial stimulation mediated by capsaicin is unaffected by propranolol or cocaine (Molnar et al., 1969) or by reserpine pretreatment (Fukuda and Fujiwara, 1969). This communication reports the effect of capsaicin on the rate and isometric force by isolated rat right and left atria respectively. The results show that capsaicin produces a brief stimulation on the rate and contractile force which is not inhibited by verapamil. However the negative chronotropic and inotropic effect of verapamil on the isolated rat atria is reduced in the presence of capsaicin as well as procainamide.

MATERIALS AND METHODS

Male Wistar rats weighing 250-300 gm were sacrificed by a blow on the head. The atria were rapidly dissected out and separated into the right and left sides. They were then mounted in organ bath chambers containing 25 ml of Locke solution gassed with 100% oxygen and maintained at 37°C by a thermoregulating water pump (Churchill Instrument Co., Ltd.) The right atria, which beat spontaneously, and the left ones were used in studying the rate and isometric force respectively. The left atria were electrically driven with square wave pulse delivered through platinum electrodes to beat at the constant rate of 250/min. The stimulus strength was 5 V and the duration was 5 msec (the stimulator used was a locally made model). The rate and contractile force were recorded with isometric force displacement transducer (Grass FT 03 C) connected to a Beckman Dynograph recorder (type R). The atria were allowed to equilibrate until stable rate and contractile force were observed before the experiments began. A preload of 1 gm was initially applied to the atria in every experiment performed.

Rats were reserpinized by intraperitoneally injected with 5 mg/kg/day reserpine (Serpasil[®] inj., Ciba-Geigy) for two consecutive days. On the third day, the animals were sacrificed and the atria were used in experiments.

The changes in rate and isometric tension were presented as means $\pm$ S.E.M. relative to controls. The control rate and force were determined just before drug additions and were taken as 100%. Statistical analysis was performed by unpaired Student's t test; the differences were considered significant when p values were less than 0.05.

Verapamil hydrochloride (Isoptin[®] inj., Knoll) and procainamide hydrochloride (Pronestyl[®] inj., Squibb) were obtained as solution in ampuls for human injection. They were added to the bathing solution as such. Capsaicin (Sigma Chemical Co.) was dissolved in absolute ethanol; and only small volume (1-5 μ l) was added. Control experiments showed that the same volume of ethanol had practically no effect on the rate and isometric tension during 30 min of experimentation.

RESULTS

Antagonism of the negative chronotropic and inotropic effect of verapamil by capsaicin

The effects of capsaicin (2 μ g/ml), verapamil (0.05 μ g/ml) and capsaicin added 15 min after verapamil on the spontaneous rate of isolated rat right atria are recorded in Fig. 1. Verapamil produced the well known negative chronotropic effect in which the mean reduction in rate was approximately 26% after 30 min of drug exposure. Capsaicin caused a brief stimulation of the rate which reached the peak at 1 min and then gradually declined to controls. Capsaicin still elicited the positive chronotropic response when added 15 min after verapamil. In fact, the percentage increase in rate appeared somewhat greater than controls with capsaicin alone. However, the unexpected and interesting observation was that the increased rate did not return to the pre-capsaicin value; whereas the atrial rate stimulation evoked by capsaicin alone usually subsided within 15 min. This finding indicated

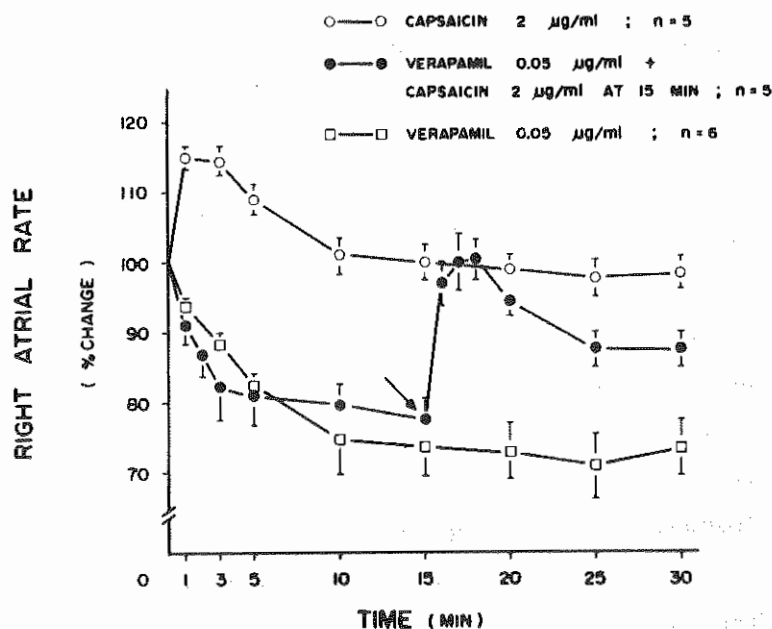


Figure 1. Lack of inhibitory effect of verapamil on the positive chronotropic response evoked by capsaicin. When both drugs were present, capsaicin was added 15 min (arrow) after verapamil.

antagonism of the verapamil-mediated negative chronotropism by capsaicin. This conclusion was confirmed in other experiments reported in Fig. 2 in which there was striking inhibition of verapamil effect when both compounds were added simultaneously. Although verapamil could not prevent the initial rate increase induced by capsaicin, it caused the augmented rate to decline faster than that observed with capsaicin alone. Other experiments not shown here revealed that reserpine pretreatment did not obliterate this antagonistic activity of capsaicin. The 30 min rate from reserpinized atria with 0.05 µg/ml verapamil was $73.93 \pm 6.14\%$ of controls, $n = 5$; the corresponding rate when 2 µg/ml capsaicin was also added simultaneously was $92.68 \pm 3.37\%$, $n=5$ ($p < 0.05$, unpaired Student's *t* test).

The ability of capsaicin to alleviate the negative inotropic effect of verapamil on the electrically driven isolated left atria is illustrated in Fig. 3. Capsaicin (10 µg/ml) caused transient augmentation of contractile force which was rapidly followed by depression. Lower dose (2 µg/ml) produced similar response except the augmented force fell less rapidly and

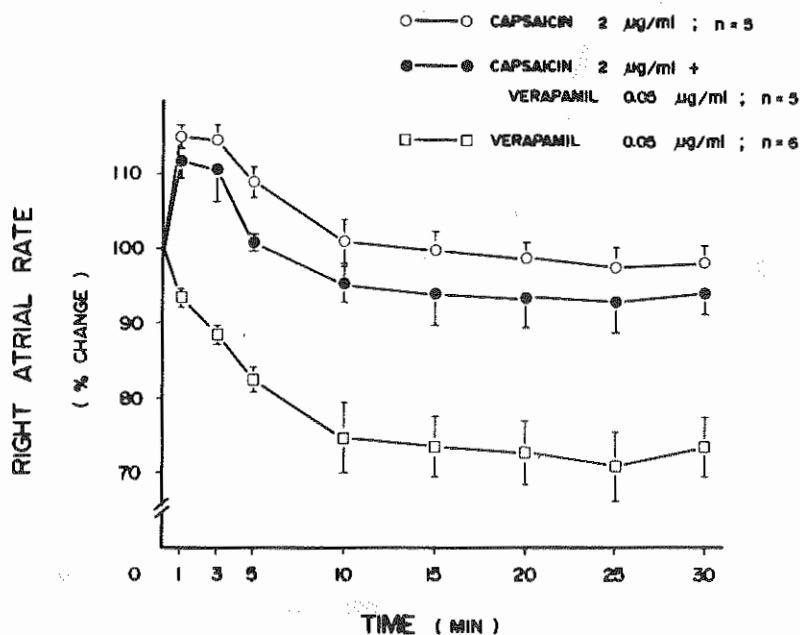


Figure 2. Antagonism of the negative chronotropic effect of verapamil by capsaicin. When both drugs were present, they were added simultaneously.

there was smaller reduction in isometric tension at 30 min of experimentation. The mean reduction in isometric force observed with verapamil (0.05 µg/ml) was about 47% at 30 min. Thus, verapamil was evidently more active on the left atrial force than on the right atrial rate. When both capsaicin and verapamil were present, the verapamil-induced negative inotropic response was clearly diminished while the acute stimulatory effect of capsaicin was insignificantly affected. Lower dose of capsaicin (2 µg/ml) was also found to significantly relieved, although to the less extent, the effect of verapamil on isometric tension. From Fig. 3, the 30 min isometric force increased from $52.95 \pm 2.79\%$ of controls with verapamil alone to $76.61 \pm 5.02\%$ when 10 µg/ml capsaicin was also present. The corresponding value when only 2 µg/ml capsaicin was added with verapamil was $64.96 \pm 4.61\%$, $n = 6$ (results not included in Fig. 3). Likewise, from Fig. 2, the 30 min rates were raised from $73.39 \pm 3.91\%$ with verapamil alone to $94.29 \pm 2.89\%$ when 2 µg/ml capsaicin was co-administered. Thus, in term of the percent increase, capsaicin was apparently more effective in antagonizing verapamil effect on the rate than on the contractile force.

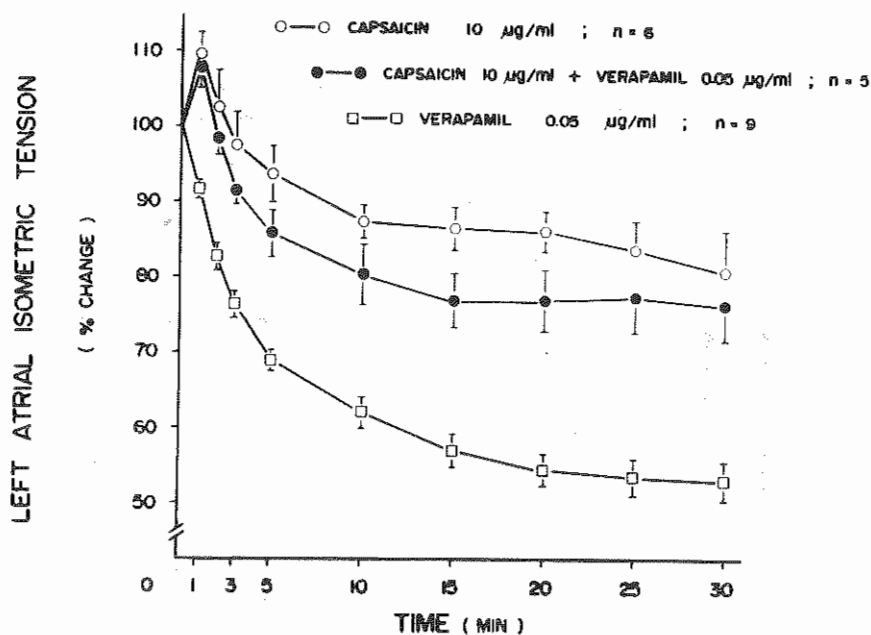


Figure 3. Antagonism of the negative inotropic effect of verapamil by capsaicin. When both drugs were present, they were added simultaneously.

Alleviation of the negative chronotropic and inotropic effect of verapamil by procainamide

The effects of procainamide (10 µg/ml), verapamil (0.05 µg/ml) and procainamide plus verapamil on the right atrial rate and left atrial isometric tension are depicted in Figs.4 and 5 respectively. When only procainamide was present, there was no significant stimulation of both the rate and contractile force. In fact, the drug appeared to cause slight atrial depression, particularly the isometric tension. When both drugs were added simultaneously, the depressive effect of verapamil was diminished. In both cases, the antagonism was significant from 15 to 30 min of experimentation. The 30 min rates increased from $73.39 \pm 3.91\%$ of controls with verapamil alone to $91.73 \pm 4.50\%$ when procainamide was also present; the corresponding values for the isometric force were the increase from $52.95 \pm 2.79\%$ to $70.03 \pm 1.46\%$. Thus procainamide was about equally efficacious in attenuating verapamil effect on the rate and contractile force.

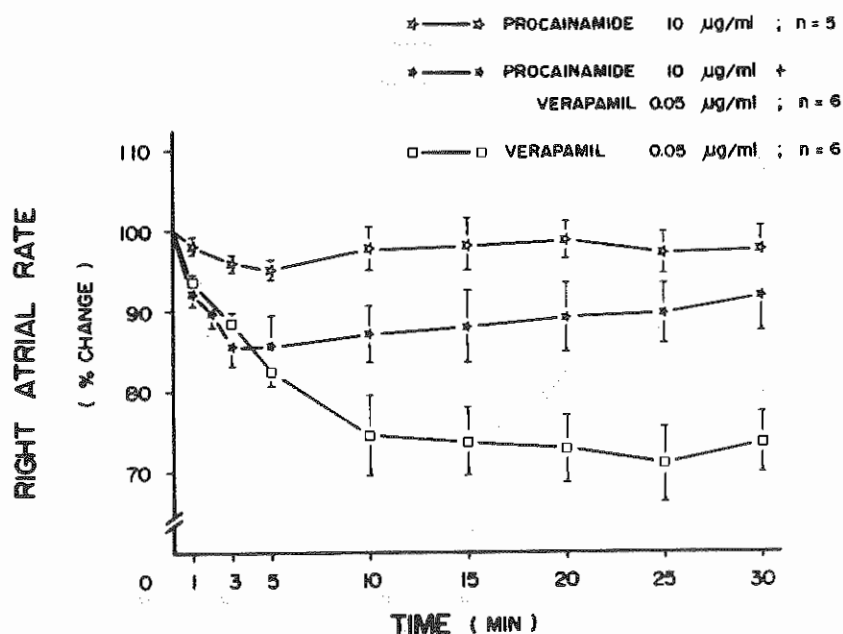


Figure 4. Attenuation of the negative chronotropic effect of verapamil by procainamide. Verapamil and procainamide were added concomitantly.

DISCUSSION

The results of the present study clearly show that capsaicin can elicit the positive chronotropic and inotropic response by isolated rat right and left atria respectively. Similar effect of capsaicin on isolated guinea pig atria has been reported previously (Molnar et al., 1969; Fukuda and Fujiwara, 1969). Whether this stimulation results from capsaicin acting directly on the atria is not clear at present. Recent evidence indicates that capsaicin can release and then deplete substance P from certain neurones (Nagy, 1982; Buck and Burks, 1983). However, Kulakowski et al. (1983) found substance P to have no influence on aortic pressure, cardiac work and cardiac output in isolated rat heart. Reserpine pretreatment or prior addition of propranolol plus methysergide do not significantly alter the stimulant action of capsaicin on isolated rat atria (Naiwatanakul, 1984), suggesting that endogenous catecholamines and serotonin release is unlikely to participate. Whether capsaicin stimulates the atria by acting directly or indirectly, our results

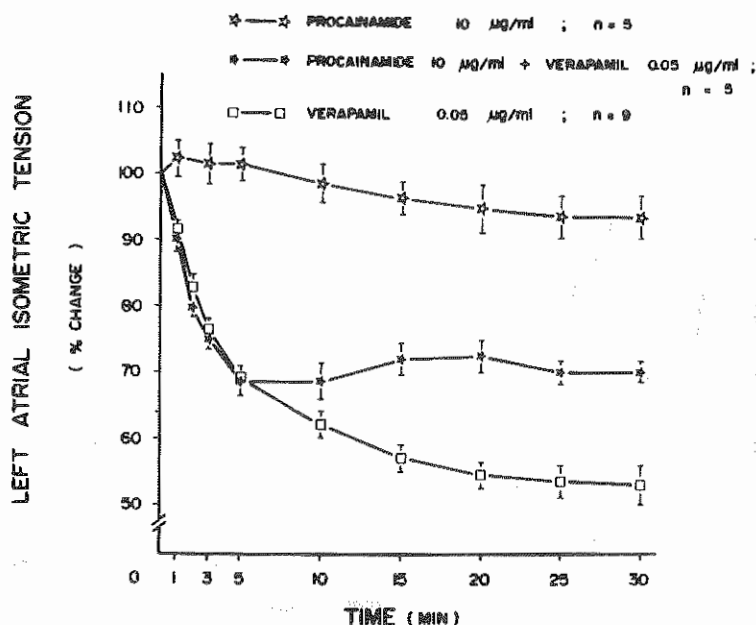


Figure 5. Attenuation of the negative inotropic effect of verapamil by procainamide. Verapamil and procainamide were added concomitantly.

show that verapamil, a drug which blocks slow inward calcium current (Fleckenstein, 1977) at the dose which prominently depress the atria has little or no effect on this process.

Perhaps the most interesting observation in this study is the alleviation of the verapamil-induced negative chronotropism and inotropism by capsaicin as well as procainamide. To our knowledge, this particular drug antagonism in isolated rat right and left atria has not been reported before. The possible mechanism of action is at best a matter of speculation. It is known that the rate and force depression produced by verapamil and other calcium antagonists is readily relieved by agents that increase transmembrane calcium supply, notably the β -adrenergic agonists (Fleckenstein, 1977). However, endogenous catecholamines release is unlikely to be the mechanism since reserpinization was found ineffective and procainamide is not known to release catecholamines. The capacity of procainamide to antagonize verapamil effect without exciting the atria suggests that the atrial stimulating activity of capsaicin may also not involve; although the two

compounds may possibly have different mechanism of actions. Thus both drugs, or at least procainamide, presumably act directly to attenuate verapamil effect on isolated rat atria. Structural inspection of verapamil, capsaicin and procainamide reveals common feature, i.e., their molecules composed of aromatic ring connected to the nitrogen-containing lipophilic side chain. We, therefore, hypothesize that capsaicin and procainamide may interfere with the binding of verapamil on sarcolemmal binding site (Cohen et al., 1984). Certainly much more work is needed to determine the exact mechanism of this drug interaction as well as its pharmacological and/or toxicological significance.

Acknowledgments - This study was partly supported by a fund from the Faculty of Graduate Studies, Chulalongkorn University.

REFERENCES

- Ashton, J.H., Iwamoto, G.A., Longhurst, J.C. and Mitchell, J.H. Reflex cardiovascular depression induced by capsaicin injection into canine liver. *Amer.J.Physiol.* 242:H955-H960, 1982.
- Buck, S.H. and Burks, T.F. Capsaicin : hot new pharmacological tool. *Trends Pharmacol.Sci.* 4:84-87, 1983.
- Cohen, C.J., Janis, R.A., Taylor, D.G. and Scriabine, A. Where do calcium antagonists act ? In : Opie, L.H. (ED.). *Calcium Antagonists and Cardiovascular Disease*, pp. 151-163. Raven Press, New York, 1984.
- Fleckenstein, A. Specific pharmacology of calcium in myocardium, cardiac pacemakers, and vascular smooth muscle. *Annu.Rev.Pharmacol. Toxicol.* 17:149-166, 1977.
- Fukuda, N. and Fujiwara, M. Effect of capsaicin on the guinea-pig isolated atrium. *J.Pharm.Pharmacol.* 21:622-624, 1969.
- Kulakowski, E.C., Lampson, W.G., Schaffer, S.W. and Lovenberg, W. Action of substance P on the working rat heart. *Biochem.Pharmacol.* 32:1097-1100, 1983.

- Molnar, J., Gyorgy, L., Unyi, G. and Kenyeres, J. Effect of capsaicin on the isolated ileum and auricle of the guinea pig. *Acta Physio. Acad.Sci.Hung.* 35:369-374, 1969.
- Nagy, J.I. Capsaicin's action on the nervous system. *Trends Neurosci.* 5:362-365, 1982.
- Naiwatanakul, R. The influence of capsaicin on the actions of cardiac drugs on rat atria. M.S. Thesis. Chulalongkorn University, Thailand, 1984.
- Toda, N., Usui, H., Nishino, N. and Fujiwara, M. Cardiovascular effects of capsaicin in dogs and rabbits. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 181:512-521, 1972.
- Toh, C.C., Lee, T.S. and Kiang, A.K. The pharmacological actions of capsaicin and analogues. *Brit.J.Pharmacol.* 10:175-182, 1955.
- Virus, R.M. and Gebhart, G.F. Pharmacologic actions of capsaicin : apparent involvement of substance P and serotonin. *Life Sci.* 25:1273-1284, 1979.
- Webb-Peploe, M.D., Brender, D. and Shepherd, J.T. Vascular responses to stimulation of receptors in muscle by capsaicin. *Amer.J.Physiol.* 222:189-195, 1972.

ผลทางเภสัชวิทยาของ SAPONINS จากใบราตรี

อัมพวัน อภิสริยะกุล* และ สิริพันธุ์ ณรงค์ชัย**

* ภาควิชาเภสัชวิทยา และ ** ภาควิชานิติเวชศาสตร์

คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

PHARMACOLOGICAL EFFECTS OF SAPONINS FROM RATREE LEAVES

Amphawan Apisariyakul and Siripan Narongchai

Departments of Pharmacology and Forensic Medicine

Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand.

SUMMARY

The pharmacological effects of Ratree (*Cestrum nocturnum* Linn.) leaves extracts were studied in both rat sciatic nerve-gastrocnemius preparations in situ and isolated rat phrenic nerve-hemidiaphragm preparations. The extracts produced twitch potentiation followed by depressive effect on neuromuscular transmission. All doses of the extracts (0.33-0.267 mg/kg body weight) initially produced a slight twitch potentiation which was followed by neuromuscular blockade in the in situ study. In the isolated rat phrenic nerve-hemidiaphragm preparation, the alcoholic extract in the dose of 0.36 mg/ml produced only the increase in twitch amplitude; higher doses (1.43-11.42 mg/ml) decreased the muscle contraction. The alcoholic extract significantly increased the neuromuscular blocking effect of pancuronium and succinylcholine. The neuromuscular depression produced by this extract was not antagonized by physostigmine, tetraethylammonium and Ca^{++} . The neurogenic post-tetanic potentiation (PTP) was partially blocked by this extract as well as by succinylcholine. Besides these effects, the extract caused muscle contraction with slightly increased in amplitude and prolonged duration; subsequently, it also produced spontaneous muscle contraction (fasciculation). This muscle fasciculation and contraction were abolished by pancuronium. LD₅₀ of the extract, when given i.p. to rats, was found to be 2.65 g/kg body weight. The active constituent may be saponins and certain alkaloids. The muscle relaxant property of the extract was probably due to saponins, since the decreased in twitch amplitude produced by the extract was similar to that of standard saponins. Besides neuromuscular effects, the extracts from this plant produced hypotension and decreased in intestinal tension in rats.

ในปัจจุบัน พืชสมุนไพรมีความสำคัญในหลายด้าน หลายสาขา การวิจัยทางเภสัชวิทยาของพืชสมุนไพรเป็นหลักฐานสำคัญในการที่จะทดสอบฤทธิ์ เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์ ในการวิจัยนี้เป็นการศึกษาการออกฤทธิ์ของพืชสมุนไพรชนิดหนึ่งคือ ราตรี ต่อบริเวณปลายประสาทและกล้ามเนื้อลาย (neuromuscular synapse)

ต้นราตรี มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Cestrum nocturnum* Linn. อยู่ในวงศ์ Solanaceae เป็นพืชสมุนไพรที่มีถิ่นกำเนิดอยู่ในหมู่เกาะอินดีส เจริญได้ดีในเขตร้อนของอเมริกา อินเดีย และหมู่เกาะอินเดียตะวันออก นอกจากนั้นยังเจริญได้ดีในประเทศที่อยู่ในเขตร้อน เช่น ประเทศไทย มีชื่อภาษาอังกฤษคือ Queen of the night, Night blooming หรือ Jessamine (วิเชียร ๒๕๑๘, ลัดดาวัลย์ ๒๕๒๓, ณรงค์ ๒๕๒๓, พาณิ ๒๕๒๔) เป็นไม้พุ่มยืนต้น เนื้อแข็ง ลักษณะใบเป็นใบเดี่ยว รูปใบรี เนื้อใบเรียบสีเขียวแก่ ลักษณะดอกเป็นดอกช่อสีขาวอมเขียว มีกลิ่นหอมมากในเวลากลางคืน จากหนังสือ "พืชสมุนไพรและประโยชน์" ของลัดดาวัลย์ (๒๕๒๓) ได้กล่าวว่า ใบราตรีสามารถใช้รักษาอาการเกร็งของกล้ามเนื้อลายและใช้รักษาโรคลมบ้าหมูได้ ในประเทศเม็กซิโกใช้ใบราตรีเป็นสมุนไพรรักษาโรคลมชัก (Chase, 1903) Walsh, 1909 และ Watt, 1962 ได้รายงานว่า ใบราตรีมีพิษ เมื่อสัตว์ได้รับเข้าไปจะมีอาการซึม หายใจช้า สัตว์บางตัวเกิดอาการพิษรุนแรงคือมีอาการชัก หมดสติ และเสียชีวิตในเวลาต่อมา Hutcheon (1909) ได้รายงานว่าเมื่อสัตว์ได้รับใบราตรีเข้าไปสัตว์จะร้องครวญครางแสดงถึงความเจ็บปวด สัตว์จะนอนเหยียดคอตก แขนขาแข็งเกร็ง

ในปี 1963 Chakravarti และคณะได้สกัดสารจากใบราตรีโดยใช้ ethanol ในการสกัดพบว่า ใบราตรีมีสาร saponins และในปี 1968 Roy และ Chatterjee ได้ศึกษาผลของ saponins จากใบราตรีต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อกระบังลม พบว่าสามารถลดการหดตัวของกล้ามเนื้อนี้ได้ นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าสารสกัดใบราตรีทำให้กล้ามเนื้อลายเกิดอาการเกร็งได้ (Hutcheon, 1909)

จากรายงานดังกล่าวข้างต้นจะเห็นว่า สารจากใบราตรีมีผลทางเภสัชวิทยาหลายอย่างโดยเฉพาะอย่างยิ่งผลต่อระบบประสาทควบคุมกล้ามเนื้อ จึงทำให้เป็นที่น่าสนใจใน

การศึกษาว่า สารสกัดใบราตรีอาจมีบทบาทสำคัญต่อการนำส่ง impulse จากเส้นประสาท ไปยังกล้ามเนื้อลาย

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสกัดใบราตรีต่อบริเวณปลายประสาทและกล้ามเนื้อลาย โดยศึกษาเปรียบเทียบกับยาที่มีฤทธิ์ต่อระบบนี้ คือ pancuronium และ succinylcholine รวมทั้งศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของสารสกัดนี้ ตลอดจนทำการศึกษาอาการพิษอย่างเฉียบพลัน และหา LD₅₀ ของสารสกัดใบราตรีในหนูขาว นอกจากนี้ยังทำการทดสอบหากลุ่มสารสำคัญในใบราตรีที่ออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยานี้ด้วย

การศึกษการออกฤทธิ์ของสารสกัดใบราตรีต่อบริเวณปลายประสาทและกล้ามเนื้อลายยังไม่เคยมีรายงานมาก่อน ฉะนั้นในการวิจัยครั้งนี้จึงได้ศึกษาการออกฤทธิ์ของสารสกัดใบราตรีต่อบริเวณนี้โดยทำการทดลองทั้งในสัตว์ทดลอง (in situ) และนอกสัตว์ทดลอง (in vitro) โดยใช้สัตว์ทดลองชนิดเดียวกัน นอกจากนี้ยังได้ศึกษากลุ่มสารสำคัญในใบราตรีที่มีฤทธิ์ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย เปรียบเทียบกับสารเคมีมาตรฐาน

เมื่อศึกษากลุ่มสารสำคัญในใบราตรีแล้ว จึงได้นำไปทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาต่อบริเวณส่วนต่อปลายประสาทกล้ามเนื้อลายและการออกฤทธิ์ต่อระบบอื่น ๆ ด้วย

วิธีการศึกษา

ใบราตรีที่ใช้ในการวิจัยนี้เก็บได้จากต้นเดียวกันตลอดการทดลอง ใบราตรีที่ใช้เป็นใบที่ไม่อ่อนหรือแก่จนเกินไป เก็บระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ถึงพฤษภาคม นำมาล้างให้สะอาด ตากในที่ร่มจนแห้งประมาณ 3 วัน บดให้ละเอียด เก็บในขวดสีน้ำตาลที่อุณหภูมิห้อง พร้อมทั้งใช้ทำการวิจัย ส่วนตัวอย่างของกิ่งใบ และดอก ได้นำไปทำเป็น Herbarium เพื่อเก็บไว้เป็นหลักฐานต่อไป.

การเตรียมสารสกัดใบราตรีที่ใช้ เตรียมโดยวิธีการหมัก (marceration) ซึ่งดัดแปลงมาจากการเตรียมน้ำสกัดสมุนไพรตามวิธี ซึ่งเคยศึกษามาแล้ว (วิบูลย์ และ อัมพวัน ๒๕๒๑) โดยชั่งผงใบราตรีหนัก ๑๐ กรัม เติลงใน flask เติม 95% Ethanol ลงไป ๕๐ มิลลิลิตร ปิดจุกแล้วเขย่าให้เข้ากัน หมักทิ้งไว้ ๑ คืน กรองผ่านผ้าก๊อซ นำสารสกัดที่ได้

ไปปั่นเพื่อแยกตะกอนออกโดยใช้เครื่อง centrifuge เช่นเดียวกับการสกัดโดยใช้น้ำ จะได้สารสกัดซึ่งมีลักษณะเป็นของเหลวสีเขียวแก่ มีความเข้มข้น ๒๐๐ มก. ต่อ มิลลิลิตร, ขนาดที่ใช้ของสารสกัดในการศึกษานี้คิดจากน้ำหนักของใบราตรีแห้ง

ในกรณีที่ต้องการสารสกัดใบราตรีที่มีความเข้มข้นสูงขึ้น ให้นำสารสกัดที่เตรียมได้ไประเหยเอาตัวทำละลายออกโดยตั้งบนหม้ออังไอน้ำ แล้วเก็บในภาชนะที่สะอาดและมีฝาปิด เก็บไว้ในตู้เย็นพร้อมที่จะใช้ในการศึกษาต่อไป

R_E หมายถึงสารสกัดใบราตรีที่ได้จากการสกัดด้วย 95% Ethanol

ในการศึกษาการออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสกัดใบราตรี ใช้หนูขาวพันธุ์ Sprague Dawley เพศผู้ น้ำหนักประมาณ ๑๖๐ - ๓๕๐ กรัมทดลองการทดลอง

การเตรียมส่วนของเส้นประสาทฟรินิค-กล้ามเนื้อกระบังลม (isolated rat phrenic nerve-hemidiaphragm preparation) เพื่อบันทึกการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Bülbbring (1946) และ Chantaratham (1974) การบันทึก directly-evoked twitch ทำได้เช่นเดียวกับการบันทึก neurally-evoked twitch แต่การบันทึกนี้ใช้ stainless steel bipolar stimulating electrode กระตุ้นกล้ามเนื้อกระบังลมโดยตรง การเตรียมนี้ทำได้โดยเกี่ยวปลายหนึ่งของ electrode ที่บริเวณส่วนฐาน (ซึ่งอยู่ในแนวเดียวกับส่วนยอด) ของกล้ามเนื้อกระบังลม อีกปลายหนึ่งของ electrode เสียบเข้ากล้ามเนื้อกระบังลมให้อยู่ในแนวนอนและชิดกับส่วนฐาน ก่อนทำการทดลองแต่ละครั้งทำให้เกิดการยับยั้งการทำงานของบริเวณปลายประสาทและกล้ามเนื้อลายอย่างสมบูรณ์ (Complete neuromuscular blockade) โดยใช้ pancuronium ในขนาด ๐.๐๐๕ มิลลิโมลต่อมิลลิลิตร เพื่อป้องกันการหดตัวของกล้ามเนื้อลายซึ่งอาจเป็นผลจากการที่เส้นประสาทฟรินิคถูกกระตุ้น การเตรียมส่วนของเส้นประสาทไซอะติก-กล้ามเนื้อแกสตรอกนีเมียส (rat sciatic nerve-gastrocnemius preparation in situ) เพื่อบันทึกการหดตัว (neurally-evoked twitch) ของกล้ามเนื้อลาย เป็นวิธีที่ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Mc. Loed (1970)

ในการศึกษาผลของสารสกัดใบราตรีและยาต่อ post-tetanic potentiation (PTP) นั้นทำได้โดยฉีดสารสกัดใบราตรีหรือยาเข้าทางเส้นเลือดแดงที่ขาของหนูขาว หลังจากเกิดการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย ร้อยละ ๕๐ แล้วทำการกระตุ้นเส้นประสาทไขสันหลังด้วย frequency 20 Hz นาน ๑๐ วินาที หรือทำให้เกิด repetitive stimulation แล้วเปรียบเทียบการหดตัวของกล้ามเนื้อลายก่อนและหลังการกระตุ้นนี้

ในการศึกษาอาการพิษและหา LD₅₀ ของสารสกัดใบราตรี ใช้วิธีซึ่งดัดแปลงมาจากวิธีของ Loomis, 1978 คือ ใช้หนูขาวพันธุ์ Sprague Dawley เพศผู้ น้ำหนักระหว่าง ๑๖๐-๒๐๐ กรัม ซึ่งเพาะพันธุ์และเลี้ยงในสิ่งแวดล้อมเดียวกันตลอดการทดลอง หนูขาวที่ใช้ในการทดลองแล้วครั้งหนึ่งจะไม่ใช้ซ้ำอีก เพื่อหลีกเลี่ยงการเกิด biological variation ซึ่งมีอิทธิพลต่อผลของ toxicity test (Loomis, 1978)

การทดสอบสารสกัดใบราตรีต่อความดันโลหิต วัดความดันโลหิตของหนูขาวจาก common carotid artery ฉีดสารสกัดใบราตรีเข้าทางหลอดเลือดดำที่ขา บันทึกความดันโลหิตเพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นโดยดัดแปลงตามวิธีการของ L.J. Mcleod (1970) การทดสอบสารสกัดใบราตรีต่อลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูขาวดัดแปลงตามวิธีการของ Perry et al, 1970

การศึกษาทดสอบและแยกสารสำคัญจากใบราตรี ใช้ Thin-layer chromatography (TLC) และ Colum Chromatography ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Stahl (1969), Harborne (1973), Morris (1964) และกำจร (2523)

ผลการศึกษา

ในการศึกษานี้เป็นการศึกษาเภสัชวิทยาขั้นต้นของสารสกัดใบราตรี ซึ่งทำการทดลองในสัตว์ทดลองโดยศึกษาทั้งในและนอกสัตว์ทดลอง จำแนกผลการทดลองได้ดังต่อไปนี้

๑. ผลของสารสกัดใบราตรีในสัตว์ทดลองและ LD₅₀ : เมื่อฉีดสารสกัดขนาด ๑-๕ กรัมค่อน้ำหนักตัว ๑ กิโลกรัม เข้าทางช่องท้องในหนูขาวพบว่า มีอาการเกร็ง ขนลุก ขาไม่มี

แรง หายใจช้าลง และสัตว์ทดลองบางตัวเสียชีวิต เมื่อให้สัตว์ทดลองกินสารสกัดใบราตรีในขนาด ๐.๒ กรัมต่อน้ำหนักตัว ๑ กิโลกรัม โดยให้ติดต่อกันเป็นเวลา ๔ วัน จากการสังเกตอาการที่เกิดขึ้นพบว่า สัตว์ทดลองมีอาการขนลุก ขาไม่มีแรง กล้ามเนื้ออ่อนแรง หายใจช้าลง บางตัวเสียชีวิต ค่า LD_{50} (I.P.) = ๒.๖๕ กรัมต่อน้ำหนักตัว ๑ กิโลกรัม

๒.ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสกัดใบราตรีต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย

เมื่อนิตสารสกัดจากใบราตรีในขนาด ๐.๐๓๓ - ๐.๒๖๗ กรัมต่อน้ำหนักตัว ๑ กิโลกรัม แล้วบันทึกการหดตัวของกล้ามเนื้อลายในหนูขาวพบว่า การหดตัวของกล้ามเนื้อลายเพิ่มขึ้นภายในระยะเวลา ๑-๕ นาที หลังจากนั้นตามมาด้วยการหดตัวของกล้ามเนื้อลายลดลงมากน้อยขึ้นอยู่กับขนาดของสารสกัดที่ให้เข้าไปในสัตว์ทดลอง ดังแสดงในรูปที่ 1 เมื่อเปรียบเทียบการหดตัวของกล้ามเนื้อลายคิดเป็นร้อยละ ของสารสกัดจากใบราตรีพบว่า สามารถทำให้การหดตัวลดลงได้อย่างสมบูรณ์ ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1

การเปรียบเทียบการหดตัว (twitch depression) ของกล้ามเนื้อลายที่ลดลง ซึ่งเกิดจากสารสกัดใบราตรีที่สกัดด้วยน้ำ (R_C), สารสกัดใบราตรีที่สกัดด้วยน้ำร้อน (R_H) และสารสกัดใบราตรีที่สกัดด้วย 95% Ethanol (R_E) โดยใช้ส่วนของเส้นประสาทไขอะดิก-กล้ามเนื้อแกสตรอกนีเมียสในหนูขาว

ขนาดของสารสกัดใบราตรี ที่ฉีดเข้าไปในหนูขาว (กรัม/กิโลกรัม)	จำนวนครั้งที่ ทำการทดลอง	การหดตัวของกล้ามเนื้อลายที่ลดลง * คิดเป็นร้อยละ (ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าความผิดพลาดมาตรฐาน)		
		R_C	R_H	R_E
0.033	6	84.4 $\pm$ 4.20	58.8 $\pm$ 13.33	30.9 $\pm$ 4.66
0.067	6	92.5 $\pm$ 4.61	95.1 $\pm$ 2.81	80.4 $\pm$ 12.28
0.133	6	100.0 $\pm$ 0.00	99.6 $\pm$ 0.39	96.1 $\pm$ 2.57
0.267	6	100.0 $\pm$ 0.00	100.0 $\pm$ 0.00	100.0 $\pm$ 0.00

* การหดตัวของกล้ามเนื้อลายที่ลดลงมากที่สุด วัดหลังจากฉีดสารสกัดใบราตรีแล้ว ๓๐ นาที

๓. การเสริมฤทธิ์ของสารสกัดใบราตรีที่สกัดด้วย 95% Ethanol (R_E) และ pancuronium, succinylcholine (SCh) ในการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย

เมื่อหยดน้ำสกัด R_E ลงใน tissue chamber ซึ่งมีส่วนของเส้นประสาทฟรีนิค-กล้ามเนื้อกระบังลมของหนูขาวและบันทึกการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย พบว่าน้ำสกัด R_E ในขนาด ๑.๔๓, ๒.๘๖, ๕.๗๑ และ ๑๑.๔๒ มิลลิกรัมต่อ ๑ มิลลิลิตร ทำให้การหดตัวของกล้ามเนื้อลายลดลงคิดเป็นร้อยละ 39.4 ± 5.53 , 57.1 ± 3.80 , 88.8 ± 4.36 และ 100.0 ± 0 ตามลำดับ pancuronium ในขนาด ๐.๐๐๐๖, ๐.๐๐๑๒ และ ๐.๐๐๕๐ มิลลิโมล/มิลลิลิตร สามารถลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายได้คิดเป็นร้อยละ 2.7 ± 1.12 , 38.8 ± 6.31 , 86.6 ± 4.67 และ 100.0 ± 0 ตามลำดับ (ตารางที่ 2) เมื่อหยดน้ำสกัด R_E ก่อนแล้วตามด้วย pancuronium พบว่าการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายเพิ่มมากขึ้นเป็น 48.6 ± 3.18 , 87.2 ± 5.92 , 100.0 ± 0 ตามลำดับ

ตารางที่ 2

การลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย ซึ่งเกิดจากสารสกัดใบราตรีที่สกัดด้วย 95% Ethanol (R_E) pancuronium โดยใช้ส่วนของเส้นประสาทฟรีนิค-กล้ามเนื้อกระบังลมของหนูขาว

ขนาดที่ใช้		จำนวนครั้งที่ทำการทดลอง	การลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย*		
R _E (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	pancuronium (มิลลิโมลต่อมิลลิลิตร)		คิดเป็นร้อยละ (ค่าเฉลี่ย ± ค่าความผิดพลาดมาตรฐาน)		
			R _E	pancuronium	R _E + pancuronium
1.43	0.0006	6	39.4 ± 5.53	2.7 ± 1.12	48.6 ± 3.18 **
2.86	0.0012	6	57.1 ± 3.80	39.8 ± 6.31	87.2 ± 5.92 **
5.71	0.0025	6	88.8 ± 4.36	86.6 ± 4.67	100.0 ± 0
11.42	0.0050	6	100.0 ± 0	100.0 ± 0	100.0 ± 0

* หมายถึงการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย วัดหลังจากหยดน้ำสกัด R_E ๓๐ นาที

** ผลรวมของสารสกัดใบราตรีและ pancuronium สูงกว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อลายที่เกิดจากน้ำสกัด R_E หรือ pancuronium อย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 3

การลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย ซึ่งเกิดจากสารสกัดใบราตรีที่สกัดด้วย 95% Ethanol (R_E) และ succinylcholine (Sch) โดยใช้ส่วนของเส้นประสาทพรีนิค-กล้ามเนื้อกระบังลมของหนูขาว

ขนาดที่ใช้		จำนวนครั้งที่ทำ การทดลอง	การลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย *		
R_E (มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร)	Sch (มิลลิโมล/ มิลลิลิตร)		คิดเป็นร้อยละ (ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าความผิดพลาดมาตรฐาน)		
			R_E	Sch	$R_E + Sch$
1.43	0.0031	6	39.5 ± 5.53	29.7 ± 3.06	$100.0 \pm 0^{**}$
2.86	0.0062	6	57.1 ± 3.80	62.3 ± 4.96	$100.0 \pm 0^{**}$
5.71	0.0094	6	88.8 ± 4.36	81.7 ± 1.57	$100.0 \pm 0^{**}$
11.42	0.0125	6	100.0 ± 0	100.0 ± 0	100.0 ± 0

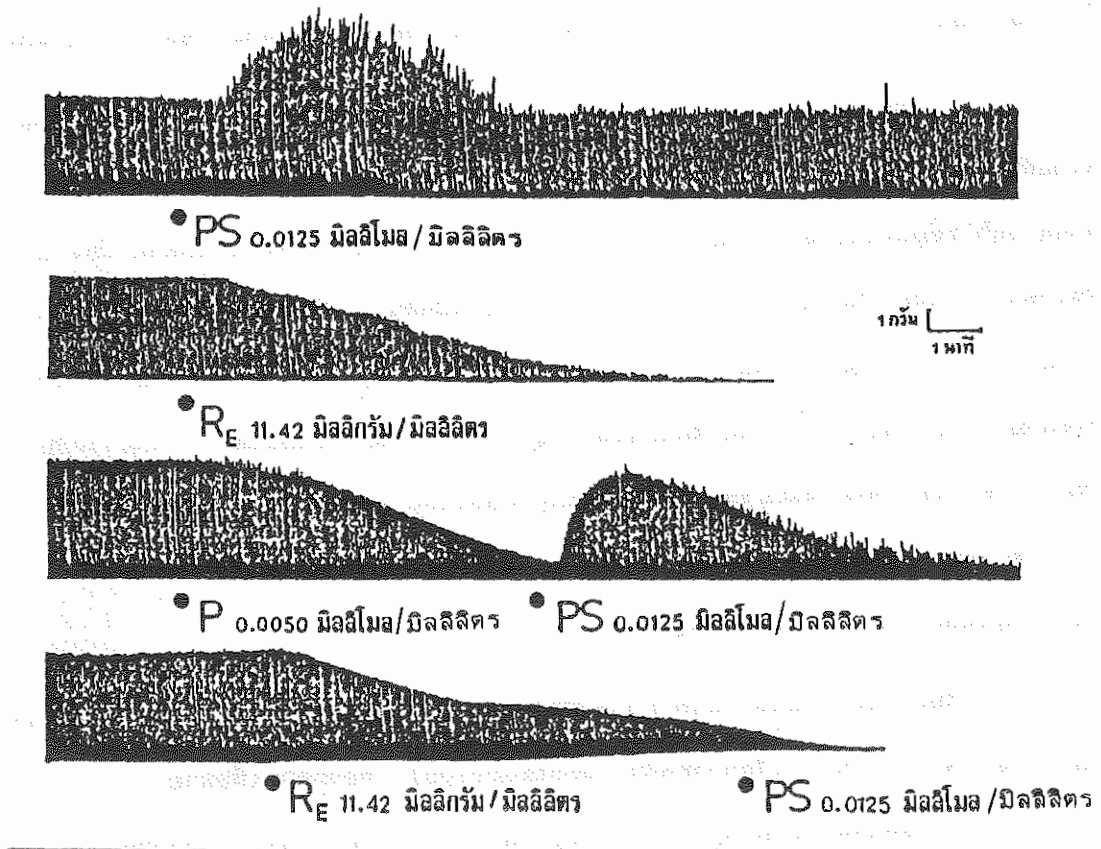
* หมายถึงการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย วัดหลังจากหยดน้ำสกัด R_E แล้ว ๓๐ นาที

** ผลรวมของสารสกัดใบราตรีและ Sch สูงกว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อลายที่เกิดจากน้ำสกัด R_E หรือ Sch อย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

Succinylcholine ในขนาด ๐.๐๐๓๑, ๐.๐๐๖๒, ๐.๐๐๙๔ และ ๐.๐๑๒๕ มิลลิโมลต่อมล. สามารถลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายได้คิดเป็นร้อยละ 29.7 ± 3.06 , 62.3 ± 4.96 , 81.7 ± 1.57 และ 100.0 ตามลำดับ (ตารางที่ 3) เมื่อหยดน้ำสกัด R_E ก่อนแล้วตามด้วย succinylcholine พบว่าทำให้ลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายได้มากขึ้นเป็น 100.0 ± 0 ในทุกขนาดของน้ำสกัด R_E เมื่อให้ร่วมกับ succinylcholine ในแต่ละขนาดที่ใช้

๔. การเปรียบเทียบผลของ physostigmine (PS), tetraethylammonium (TEA) และ Ca^{++} ในการต้านฤทธิ์การลดการหดตัว (twitch depression) ของกล้ามเนื้อลาย ซึ่งเกิดจากสารสกัดใบราตรีที่สกัดด้วย 95% Ethanol (R_E) และ pancuronium

เมื่อหยด physostigmine ซึ่งเป็นยาในกลุ่ม reversible anticholinesterase agents ในขนาด ๐.๐๑๒๕ มิลลิโมลต่อมิลลิลิตรลงใน tissue chamber ที่มี



รูปที่ 1 ผลของ physostigmine (PS) ต่อการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย ซึ่งเกิดจาก pancuronium (P) และน้ำสกัดใบราตรีที่สกัดด้วย 95% Ethanol (R_E) โดยใช้ส่วนของเส้นประสาทพรีนิค-กล้ามเนื้อกระบังลมของหนูขาว

ส่วนของเส้นประสาทพรีนิค-กล้ามเนื้อกระบังลมของหนูขาวและบันทึกการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย
นี้พบว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อลายเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด หลังจากให้ pancuronium ในขนาด
0.0050 มิลลิโมล/มิลลิลิตร ซึ่งเป็นขนาดที่ทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายได้มากอย่างเห็น
ได้ชัดแล้วให้ physostigmine ในขนาดเดียวกัน พบว่าสามารถต้านฤทธิ์การลดการหดตัวของ
กล้ามเนื้อลายที่เกิดจาก pancuronium แต่ physostigmine ไม่สามารถต้านฤทธิ์การ
ลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายที่เกิดจากสารสกัด R_E ได้เลย (รูปที่ 1) tetraethyl-
ammonium (TEA) ซึ่งเป็น potent anticholinergic agent ในขนาด ๒.๕ มิลลิโมลต่อมิลลิลิตร
เพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อลายได้เล็กน้อย และในการทดลองบางครั้ง TEA ไม่มีผลต่อการหดตัว

ของกล้ามเนื้อลาย เมื่อให้ TEA ในขนาดเดียวกันนี้สามารถต้านการหดตัวของกล้ามเนื้อลายที่เกิดจาก pancuronium แต่ TEA ไม่สามารถต้านการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายจากน้ำสกัด R_E

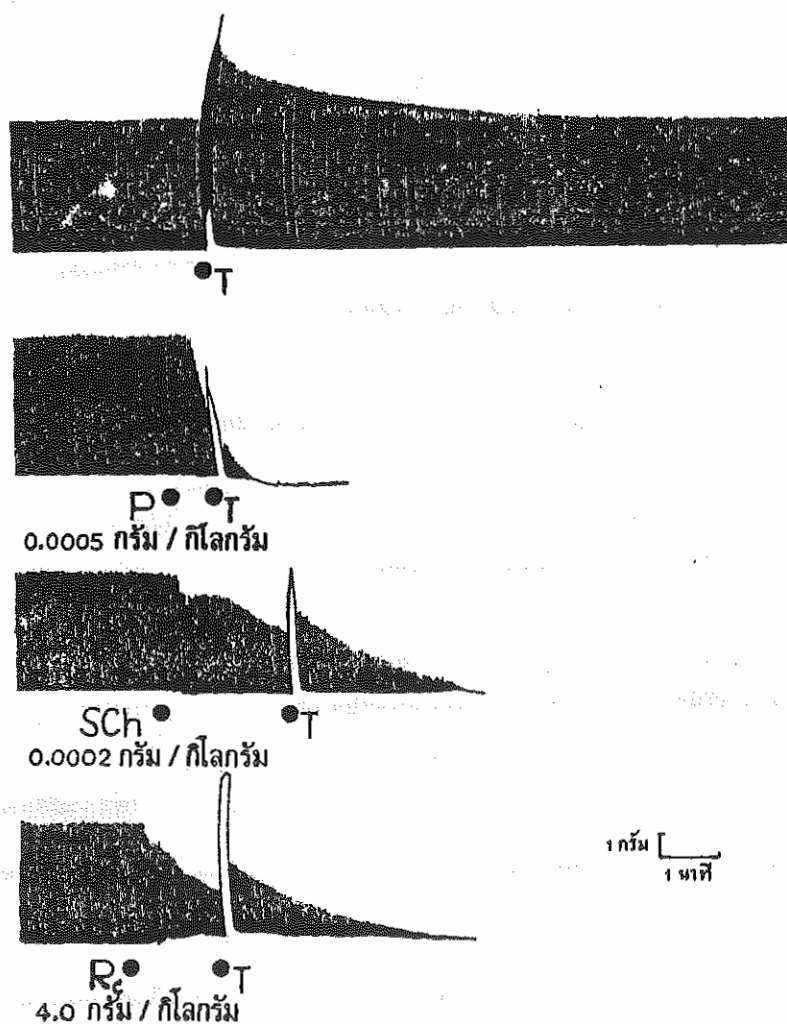
เมื่อทำ repetitive stimulation โดยกระตุ้นเส้นประสาทไขอะติกด้วยไฟฟ้า ความถี่สูง ๆ (20 Hz) เป็นเวลา ๑๐ วินาที ทำให้เกิด PTP อย่างเห็นได้ชัดเจน และจากการทำ repetitive stimulation ภายหลังเกิดการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย ซึ่งเกิดจากการฉีด pancuronium, ๐.๐๐๐๕ กรัมต่อน้ำหนักตัว ๑ กิโลกรัม, succinylcholine, ๐.๐๐๐๒ กรัมต่อน้ำหนักตัว ๑ กิโลกรัม และน้ำสกัด R_C ๔.๐ กรัมต่อน้ำหนักตัว ๑ กิโลกรัม ตามลำดับเข้าทางเส้นเลือดแดงของหนูขาวพบว่า pancuronium สามารถยับยั้งการเกิด PTP ได้อย่างสมบูรณ์ แต่ succinylcholine หรือน้ำสกัด R_C สามารถยับยั้งการเกิด PTP ได้บางส่วน แสดงว่าน้ำสกัด R_C สามารถยับยั้งการเกิด PTP คล้ายกับ succinylcholine ดังแสดงในรูปที่ 2

๔. การเปรียบเทียบผลของสารสกัดใบราตรีที่สกัดด้วย 95% Ethanol (R_E) และ acetylcholine (ACh) ในการเกิดการหดตัว (contraction) ของกล้ามเนื้อลาย

เมื่อหยดสารสกัด R_E และ acetylcholine ลงใน tissue chamber ที่มีส่วนของเส้นประสาทพรีนิค-กล้ามเนื้อกระบังลมของหนูขาวและบันทึกการหดตัว (contraction) ของกล้ามเนื้อลายนี้ พบว่าน้ำสกัด R_E ในขนาด ๑.๔๓ มิลลิกรัมต่อ ๑ มิลลิลิตร ทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายได้สูงมาก นอกจากนี้น้ำสกัด R_E ยังมีผลทำให้เกิดอาการพริ้วของกล้ามเนื้อลาย (fasciculation) (รูปที่ 3 A)

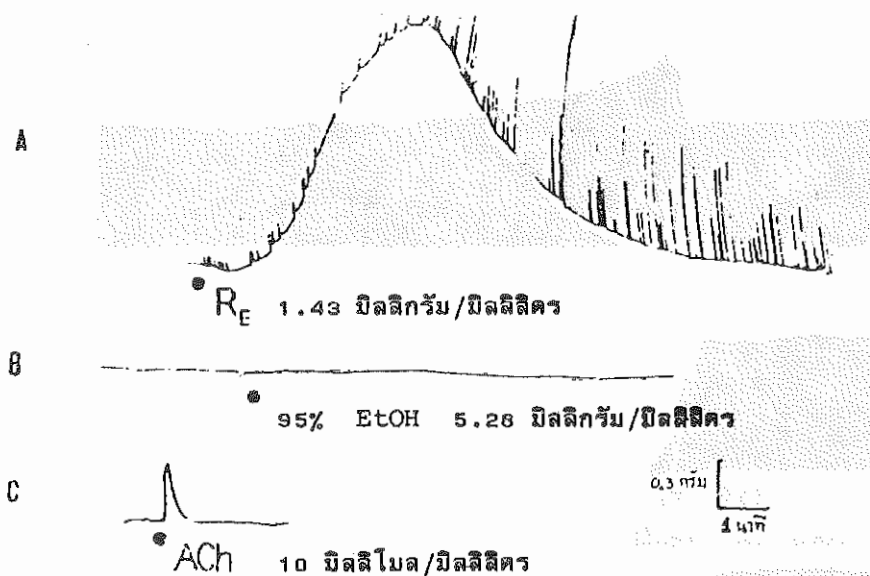
การหดตัวที่เกิดจากน้ำสกัด R_E เกิดขึ้นเป็นเวลานานกว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อลายที่เกิดจาก acetylcholine ๑๐ มิลลิโมส เมื่อเปรียบเทียบผลของน้ำสกัด R_E และ 95% Ethanol พบว่า 95% Ethanol ไม่มีผลทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย (รูปที่ 3B)

เมื่อหยดน้ำสกัด R_E ในขนาด ๑.๔๓ มิลลิกรัมต่อ ๑ มิลลิลิตร ตามหลัง pancuronium ในขนาด ๐.๐๐๕๐ มิลลิโมสต่อมิลลิลิตร พบว่า pancuronium สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อลายที่เกิดจากน้ำสกัด R_E ได้บางส่วนและสามารถยับยั้งอาการพริ้วของกล้ามเนื้อลาย (fasciculation) ที่เกิดจากน้ำสกัด R_E ได้



รูปที่ 2 เปรียบเทียบผลของ pancuronium (P), succinylcholine (Sch) และน้ำสกัดใบราตรีที่สกัดด้วยน้ำ (R_c) ต่อ post-tetanic potentiation (PTP) จาก Tetanic stimulation (T) โดยใช้ส่วนของเส้นประสาทไขกระดูก-กล้ามเนื้อแกสตรอกนีเมียสในหนูขาว

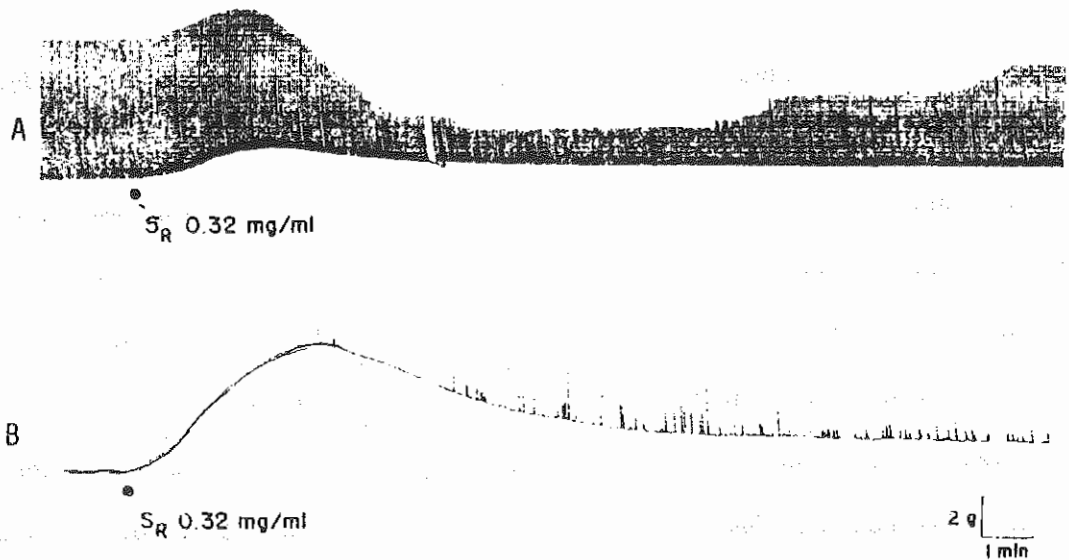
๖. การแยกสารสำคัญจากใบราตรี เมื่อแยกส่วนประกอบจากใบราตรีโดยวิธี TLC พบว่ามีส่วนสำคัญแยกให้เห็นชัด ได้ ๕ ส่วน นำไปทดสอบอัลกาลอยด์ (alkaloids) ซะโปนิน (saponins) แอนทราควิโนน (anthraquinones) และแทนนิน (tannins) เมื่อนำไปแยกโดย column chromatography โดยใช้ silica gel พบอัลกาลอยด์และผลของอัลกาลอยด์นี้สามารถลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายเล็กน้อย ในการสกัดแยกหา saponins



รูปที่ 3 ผลของสารสกัดใบราตรี (R_E) และ ACh, ในการหดตัวของกล้ามเนื้อลายในส่วนเส้นประสาทพรีนิค-กล้ามเนื้อ กระบังลมของหนูขาว

ทำได้โดยสกัดด้วย 95% Ethanol, diethyl ether, n-butanol ได้สารมีลักษณะเกล็ดสีน้ำตาล นำไปทดสอบทางเคมีเพื่อให้แน่ใจว่าเป็นสาร saponins (กำจกร, ๒๕๒๓) จากนั้นนำไปทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาพบว่า ลดการหดตัวหรือลด amplitude ของ neurally-evoked twitch เมื่อให้ saponins ที่แยกได้เข้าไปในหลอดทดลองซึ่งมีกล้ามเนื้อกระบังลมอยู่พบว่า ทำให้กล้ามเนื้อหดตัวได้ และเกิดการกระตุ้นกล้ามเนื้อเป็นเวลานาน ผลของ saponins ที่แยกได้จากใบราตรีต่อกล้ามเนื้อลายได้ แสดงไว้ในรูปที่ 4

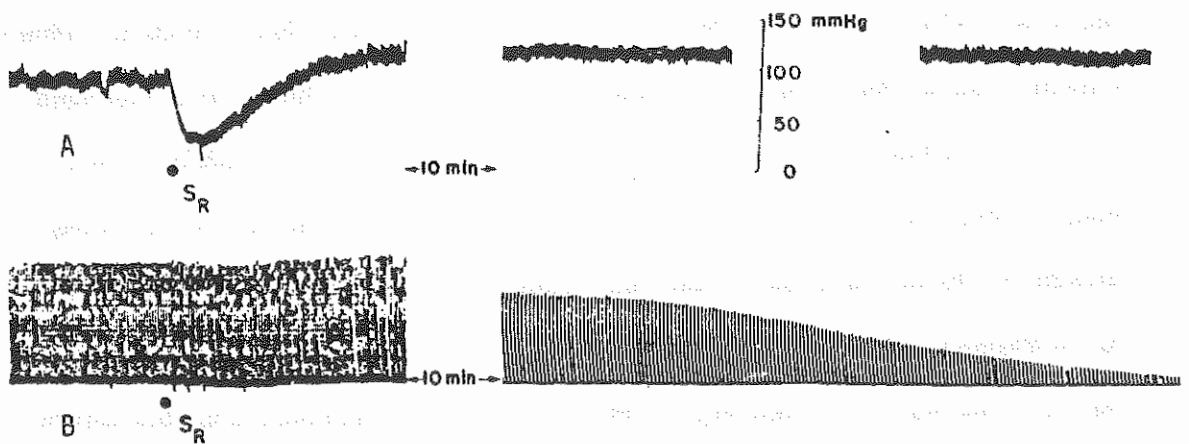
๗. การทดสอบสารสกัดจากใบราตรีต่อความดันโลหิต และต่อลำไส้เล็กของหนูขาว เมื่อฉีดสารสกัดใบราตรีในขนาด ๐.๓ มิลลิกรัม/กิโลกรัม เข้าทางหลอดเลือดดำ ที่ขาของหนูขาวพบว่า ความดันโลหิตลดลงอย่างเห็นได้ชัด การลดความดันโลหิตนี้เกิดขึ้นชั่วคราว แล้วกลับเข้าสู่ระดับปกติ ในขณะที่ความดันโลหิตลดลงนั้น สาร saponins ยังไม่มีผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย หลังจากนั้นการทำงานของกล้ามเนื้อลายจะลดลงจนไม่สามารถทำงานได้ แต่ความดันโลหิตของสัตว์ทดลองยังสามารถบันทึกได้ (รูปที่ 5) นอกจากนี้ยังพบว่า สารสกัดจากใบราตรี มีผลลดการหดตัวของลำไส้เล็กได้



รูปที่ 4 ผลของ saponins ที่แยกได้จากใบราตรีต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย

A. ผลของ saponins ในการลดการทำงานของกล้ามเนื้อลาย

B. ผลของ saponins กระตุ้นให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย
ได้เอง



รูปที่ 5 ผลของ saponins ที่แยกได้จากใบราตรีต่อความดันโลหิตและการหดตัวของกล้ามเนื้อลายในหนูขาว

A. saponins จากใบราตรีในขนาด 0.3 mg/kg ลดความดันโลหิต

B. saponins 0.3 mg/kg ลด amplitude ของ neurally-evoked twitch โดยใช้ส่วนของเส้นประสาทไขะดิก-กล้ามเนื้อแอสโตรอกนีเมียส

วิจารณ์

จากการศึกษานี้จะเห็นได้ว่าสารสกัดจากใบราตรี ลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย เสริมฤทธิ์กับ pancuronium, succinylcholine การลดการหดตัวหรือการอ่อนแรงของกล้ามเนื้อลายนี้ ไม่สามารถต้านฤทธิ์ได้โดย physostigmine, tetraethylammonium นอกจากนั้นสารสกัดจากใบราตรียังสามารถยับยั้งการเกิด post-tetanic potentiation ได้บางส่วน อย่างไรก็ตามจากการทดลองนี้คาดว่าสารสกัดจากใบราตรีออกฤทธิ์ที่บริเวณส่วนต่อปลายประสาทและกล้ามเนื้อลาย ในปี 1968 Roy และ Chatterjee ได้รายงานว่า สารสกัดจากใบราตรีมีผลต่อกล้ามเนื้อกระบังลมของหนูขาวเช่นเดียวกันกับในการศึกษานี้คือ ลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย สารสกัดใบราตรีในขนาดต่ำอาจทำให้มีการเพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อเล็กน้อยและเกิดขึ้นในระยะเวลาสั้นมาก ในขนาดที่สูงขึ้นจะทำให้ลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายได้มากขึ้นจนเกิดการลดการหดตัวได้อย่างสมบูรณ์ เมื่อเปรียบเทียบผลของสารสกัดทั้งสามลักษณะคือสกัดด้วยน้ำร้อน น้ำเย็น และ 95% ethanol ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย แล้วพบว่า สารสกัดทั้งสามนี้สามารถลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายได้เช่นเดียวกัน

เมื่อทราบว่าสารสกัดใบราตรีที่สกัดด้วย 95% ethanol มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ต่อบริเวณปลายประสาทและกล้ามเนื้อลายในการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย ดังนั้นในการศึกษา หากกลไกการออกฤทธิ์จึงได้เลือกสารสกัดที่สกัดด้วย 95% ethanol เพื่อหลีกเลี่ยงการออกฤทธิ์ของสารอินทรีย์ซึ่งอาจจะละลายได้ในน้ำแต่ไม่ละลายออกมาในอัลกอฮอล์ ดังนั้นในการศึกษา พิษสมุนไพรรักษาโรคทางเภสัชวิทยามักนิยมใช้การสกัดด้วยอัลกอฮอล์ เพื่อให้แน่ใจว่าสารสำคัญที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยานั้นไม่ใช่สารเคมีที่เป็นสารอินทรีย์ จากผลการทดลองพบว่า สารสกัดใบราตรีที่สกัดด้วย 95% ethanol หรือน้ำสกัด R_E สามารถลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายได้มากกว่าคอนโทรล อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงว่าการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายที่เกิดขึ้นนี้เป็นผลเนื่องมาจากสารสำคัญซึ่งสกัดได้จากใบราตรี

จากการศึกษาพบว่า การลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายที่เกิดจากสารสกัดใบราตรี นั้นเสริมฤทธิ์โดยยาในกลุ่มคลายตัวกล้ามเนื้อ คือ pancuronium ซึ่งเป็นยาในกลุ่ม nondepolarized neuromuscular blocking drugs และ succinylcholine ซึ่งเป็นยาในกลุ่ม depolarized neuromuscular blocking drugs

เมื่อฉีดสารสกัดใบราตรีเข้าทางช่องท้องของหนูขาว พบว่ามีอาการอ่อนเปลี้ยของกล้ามเนื้ออย่างชัดเจน หนูไม่มีแรง สัตว์ทดลองหายใจช้าลงและหยุดหายใจ จะเห็นว่าอาการเหล่านี้คล้ายกับอาการพิษที่เกิดจากการที่สัตว์บางชนิดได้รับใบราตรีเข้าไปซึ่งรายงานโดย Chase (1903) ดังนั้นจึงอาจเป็นไปได้ว่าสารสกัดใบราตรีออกฤทธิ์กดการหายใจโดยออกฤทธิ์ยับยั้งการนำส่ง impulse ที่บริเวณปลายประสาทและกล้ามเนื้อลายดังกล่าวแล้วข้างต้น ในปี 1968 Roy และ Chatterjee ได้รายงาน bahwa ใบราตรีมีผลในการทำลายเม็ดเลือดแดงและต่อมาได้มีผู้พบว่า สาร saponins ซึ่งได้จากใบราตรีทำให้เกิดอาการพิษได้ คือ ทำให้หนูถีบจักรหายใจเร็วตามด้วยการหายใจลำบาก และเสียชีวิตเนื่องจากหยุดหายใจ (ลิวรรณ, ๒๕๒๒) ดังนั้นอาการพิษที่เกิดขึ้นอาจเป็นผลจากการทำลายเม็ดเลือดแดงทำให้สัตว์ทดลองมีการหายใจเร็วขึ้นมาก่อนเนื่องจากการนำเข้าของออกซิเจนและขับออกของคาร์บอนไดออกไซด์ที่เม็ดเลือดแดงลดน้อยลง ทำให้ระดับของคาร์บอนไดออกไซด์เพิ่มขึ้นจึงมีการปรับตัวให้หายใจเร็วขึ้น (Ganong, 1979) saponins คือไกลโคไซด์ซึ่งเป็นสารพิษที่อาจพบในพืชที่มีพิษ (Ikan, 1969) จากผลการทดลองนี้เมื่อสกัด saponins จากใบราตรีแล้วนำมาทดสอบฤทธิ์ต่อบริเวณปลายประสาทและกล้ามเนื้อลาย โดยใช้ส่วนของเส้นประสาทพรีนิค-กล้ามเนื้อกระบังลมของหนูขาว พบว่า saponins ที่สกัดได้จากใบราตรีสามารถลดการทำงานของกล้ามเนื้อกระบังลมได้ นอกจากนี้ยังสงสัยอีกด้วยว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อเพิ่มขึ้นซึ่งอาจจะเป็นสาเหตุของอาการเกร็งของกล้ามเนื้อ อาการเหล่านี้สอดคล้องกับอาการที่เกิดขึ้นหลังจากสัตว์ทดลองได้รับใบราตรีไม่ว่าจะให้โดยวิธีฉีดเข้าช่องท้องหรือโดยให้สัตว์ทดลองกินเข้าไป อาการเกร็งที่เกิดขึ้นในสัตว์ทดลองหลังจากได้รับสารสกัดใบราตรีนั้นเป็นที่น่าสนใจเกิดว่าจะเกิดขึ้นมาก่อนอาการอ่อนแรงของกล้ามเนื้อลายเสมอไป และประกอบกับการเสริมฤทธิ์ของสารสกัดใบราตรีและ succinylcholine ดังกล่าวข้างต้น จึงอาจคาดได้ว่าสารสกัดใบราตรีอาจออกฤทธิ์คล้ายกับยาในกลุ่ม depolarized neuromuscular blocking drugs มากกว่ายาในกลุ่ม nondepolarized neuromuscular blocking drugs

จากผลการทดลองพบว่า LD_{50} ของสารสกัดใบราตรีที่สกัดด้วยน้ำ มีค่าเท่ากับ ๒.๖๕ กรัมค่อน้ำหนักตัว ๑ กิโลกรัม (I.P.) จะเห็นได้ว่าค่าที่ได้ต่างกับ LD_{50} ในหนูถีบจักร ในรายงานของ ลิวรรณ (๒๕๒๒) ซึ่งอาจขึ้นอยู่กับชนิดของสัตว์ทดลอง ขนาดและความเข้มข้น

ของสารสกัดที่ใช้ สาเหตุการเกิดอาการพิษของสารสกัดใบราตรีส่วนหนึ่งอาจเป็นผลเนื่องมาจากการยับยั้ง การนำส่ง impulse ที่บริเวณปลายประสาทและกล้ามเนื้อลาย

จากรายงานของ Halim และคณะ (1971) พบว่าอัลคาลอยด์ที่พบในใบราตรี คือ nicotine, normicotin, cotinine และ myosmine ในการศึกษานี้พบว่า สารสกัดจากใบราตรีออกฤทธิ์โดยเพิ่มการหดตัวแล้วตามด้วยการลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายขึ้นอยู่กับขนาดที่ใช้ จะคาดได้ว่าสารออกฤทธิ์ดังกล่าวนี้อาจเป็น nicotine แต่จากการศึกษาโดย Thin Layer Chromatography พบว่าค่า R_F ของส่วนที่แยกได้จากสารสกัดใบราตรีซึ่งคาดว่า มีอัลคาลอยด์นั้นต่างกับค่า R_F ของ nicotine. จึงเป็นการยากที่จะบอกได้ว่าสารมีฤทธิ์คล้าย nicotine อย่างไรก็ตามในการศึกษานี้ได้ทำการแยกอัลคาลอยด์ในสารสกัดใบราตรีโดยวิธี Column Chromatography พบว่าอัลคาลอยด์ที่แยกได้มีปริมาณน้อยมากเช่นเดียวกับผลงานวิจัยของ Halim และคณะ (1971) เมื่อนำไปทดสอบผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อลายพบว่า การลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายไม่เด่นชัด จากการทดลองนี้ทำให้คาดว่าสารออกฤทธิ์ลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายอาจไม่ใช่อัลคาลอยด์จึงได้ทำวิธีการสกัด saponins จากใบราตรีแล้วนำไปทดสอบโดยวิธี froth test และ hemolysis test พบว่าได้ผลบวก แสดงว่าในใบราตรีมี saponins จึงได้นำเอาส่วนของ saponins ที่สกัดได้นี้ไปทดสอบต่อกล้ามเนื้อลายเปรียบเทียบกับ saponins บริสุทธิ์ซึ่งใช้เป็นคอนโทรล พบว่าสารสกัดที่คาดว่า เป็น saponins จากใบราตรีทำให้เกิดการเพิ่มความตึงตัวของกล้ามเนื้อลายและสามารถทำให้เกิดการลดการทำงานของกล้ามเนื้อลายคล้ายกับ saponins บริสุทธิ์ และทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายได้มากและเป็นเวลานานรวมทั้งทำให้เกิดการกระตุ้นของกล้ามเนื้อลายได้คล้ายกับ saponins เช่นเดียวกัน การออกฤทธิ์ของสารสกัด saponins ที่ได้จากใบราตรีซึ่งทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายนี้สนับสนุนรายงานของ Roy และ Chatterjee (1968) ดังนั้นสารออกฤทธิ์ต่อกล้ามเนื้อลายในใบราตรีน่าจะเป็น saponins

ส่วนการออกฤทธิ์ของสารสกัดใบราตรีต่อความดันโลหิตทำให้ลดความดันโลหิตนั้น อาจเนื่องมาจากการลดความแรงบีบตัวของหัวใจและขยายตัวของหลอดเลือดตามรายงานของ ลิวรรณ (๒๕๒๒) ผลต่อความดันโลหิตเห็นได้ชัด ในขณะที่การหดตัวของกล้ามเนื้อลายที่วัดได้ อยู่ในระดับปกติ แสดงว่าการลดความดันโลหิตเกิดขึ้นก่อนที่กล้ามเนื้อลายจะอ่อนแรงลงและความดัน

โลหิตจะกลับสู่ระดับปกติภายในระยะเวลา ๑๕ นาที หลังจากนั้นกล้ามเนื้อลายจะมีการหดตัวลดลงมาก โดยเฉพาะในขนาดสูง ๆ นอกจากนี้สารสกัดจากใบราตรี มีผลลดการหดตัวของลำไส้เล็กได้ จะเห็นว่า สารสกัดใบราตรี มีฤทธิ์ต่อการหดตัวของทั้ง กล้ามเนื้อลาย และ กล้ามเนื้อเรียบ จึงเป็นที่ น่าสนใจศึกษาลักษณะทางเคมี ผลทางเภสัชวิทยา และการประยุกต์ใช้ในการทางการแพทย์ ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. กำจร มณูญพิญ, Phytochemical Screening Techniques หนังสือประกอบ การสัมมนาเชิงปฏิบัติการพฤกษเคมี ครั้งที่ ๒ ๑๒-๑๖ พฤษภาคม ขมรมพฤกษเคมี และคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล หน้า ๑๔๔-๒๐๖, ๒๕๒๓.
2. ณรงค์ โทณานนท์ รายชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย งานวิจัยไม้ชั้นพื้นฐาน กองวิจัยผลิตผลป่าไม้ กรมป่าไม้ ประเทศไทย, ๒๕๒๓.
3. พาณี เตชะเสน สมุนไพร กระประยุกต์ความรู้ทางเภสัชวิทยาไปกับยาแผนโบราณ ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, ๒๕๒๑.
4. พาณี เตชะเสน พิษวิทยา หลักการวินิจฉัยและรักษา ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, ๒๕๒๔.
5. สัตคารัลย์ บุญรัตนการกิจ และณอมจิต สุภาวิตา ชื่อพืชสมุนไพรและประโยชน์ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, ๒๕๒๓.
6. สิวรณ นุ่มกุลรัตน์, การศึกษาฤทธิ์ของสารที่สกัดได้จากใบราตรีต่อระบบหัวใจ เส้นเลือด และการหายใจ วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต ภาควิชาสรีรวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, ๒๕๒๒.
7. วิเชียร จีรวงศ์ หนังสือสมาคมสมุนไพร งานนิทรรศการสมุนไพร ครั้งที่ ๑ ๑๓-๑๔ ตุลาคม, ๒๕๑๘.
8. วิบูลย์ ฤทธิพิศ และ อัมพวัน อภิสริยะกุล ผลของกลอยต่อบริเวณปลายประสาทและ กล้ามเนื้อ เชียงใหม่เวชสาร ๑๗ : ๖๓-๗๐, ๒๕๒๑.
9. อัมพวัน อภิสริยะกุล เภสัชวิทยาของบริเวณส่วนต่อปลายประสาทและกล้ามเนื้อลาย คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, ๒๕๒๗.
10. Bülbring E. Observations on the isolated rat phrenic nerve-hemidiaphragm preparation of the rat. Brit J. Pharmac. 1 : 38, 1946.
11. Chakravati; R.N., S. Datta and M.N. Mitra, "Yuccagenin from cestrum nocturnum Linn". Bull Culcutta School Trop. Med. 11 : 56-57, 1963.
12. Chase, W.H. In Watt J.M., and B. Brayer (ed). The Medicinal and Poisonous Plants of Southern and Eastern Africa. 8 edn., E&S Livingstone Ltd. London and Edinburgh, 1962, p. 945., 1903.

13. Goldstein, A., L. Aronow, and S.M. Kalman. Principles of Drug Action : The Basis of Pharmacology 2 edn, Standford University, School of Medicine, California, 1974. pp. 357-436.
14. Harborne, J.B. Phytochemical Methods. Chapman and Hall, London, 1973., pp. 182-192.
15. Halim, A.F., R.P. Collins and M.S. Berigarl "Alkaloids produced by *Cestrum nocturnum* and *cestrum diurnum*". *Plants Medica.* 20 : 44-49, 1971.
16. Hutcheon, 1909. In Watt, J.D. and B. Breyer (ed). The Medicinal and Poisonous Plants of Southern and Eastern Africa. 8 edn, E&S Livingstone Ltd., London and Edinburgh, 1962, p. 945.
17. Litchfield, J.T. Dr., and F. Wilcoxon, "A Simplified method of evaluating dose-effect experiments" *J. Pharmacol. Ther.* 96 : 99-113 , 1949.
18. Loomis, T.A. Essentials of Toxicology. 3 edn., University of Washington, School of Medicine, Washington, 1978., pp. 16-18, 195-208.
19. Mc. Loed. et al. Pharmacological Experiments on Intact Preparations. E.&S Livingstone Ltd., London, 1970., pp 37-41.
20. Morris, C.J.O.R., and P. Morris. Separation Methods in Biochemistry. Sir. Pitman and Sons Ltd., London, 1964., pp 138-192.
21. Perry, W.L.M. et al, Pharmacological Experiments on Isolated Preparations. E & S Livingstone Ltd., London, 1970., pp 30-33.
22. Roy, A.R., and M.L. Chatterjee, Pharmacological observations on saponins from *cestrum diurnum* and *cestrum nocturnum*. *Indian J. Exph. Biol.* 6 : 160-162., 1968.
23. Stahl, E. Thin-Layer Chromatography : A Laboratory Handbook, New York, 1969., p 421-431.
24. Walsh, L.H. 1909. In Watt, J.M., and B. Breyer (ed) The Medicinal and Poisonous Plants of Southern and Eastern Africa. 8 edn., E&S Livingstone Ltd., London and Edinburgh, 1962, p 145.
25. Watt, J.M. and B Breyer. The Medicinal and Poisonous Plants of Southern and Eastern Africa 8 edn., E&S. Livingstone Ltd., London and Edinburgh, 1962., p 945.

CALCIUM CHANNEL BLOCKERS : EFFECTS AND CLINICAL APPLICATIONS

Pieter Joubert and Santy Daya

Department of Pharmacology and Therapeutics

Medical University of Southern Africa

PO Medunsa 0204, South Africa

PHYSIOLOGICAL CONSIDERATIONS

Calcium is an important cation and is involved in many physiological and biochemical processes. Consequently drugs affecting the function of calcium can have multiple and complicated effects.

One of the important functions of calcium is to act as an ionic messenger which triggers events such as muscle contraction. It can do this because of the existence of concentration gradients between intracellular and extracellular fluid as well as within the cell (figure 1). The extracellular calcium concentration is high relative to the intracellular concentration. Inside the cell calcium pools are present and subsequently the calcium distribution within the cells is not uniform. To simplify the physiology the cellular membrane and the cytosol will be considered separately.

1. The cell membrane

It is thought that the primitive sea in which the first life forms appeared had a low calcium concentration and that these cells had a similar intracellular calcium content. As the calcium content of the primitive sea increased, the organisms developed protective mechanisms to assure constancy of the internal environment in the face of a changing external milieu. (1)

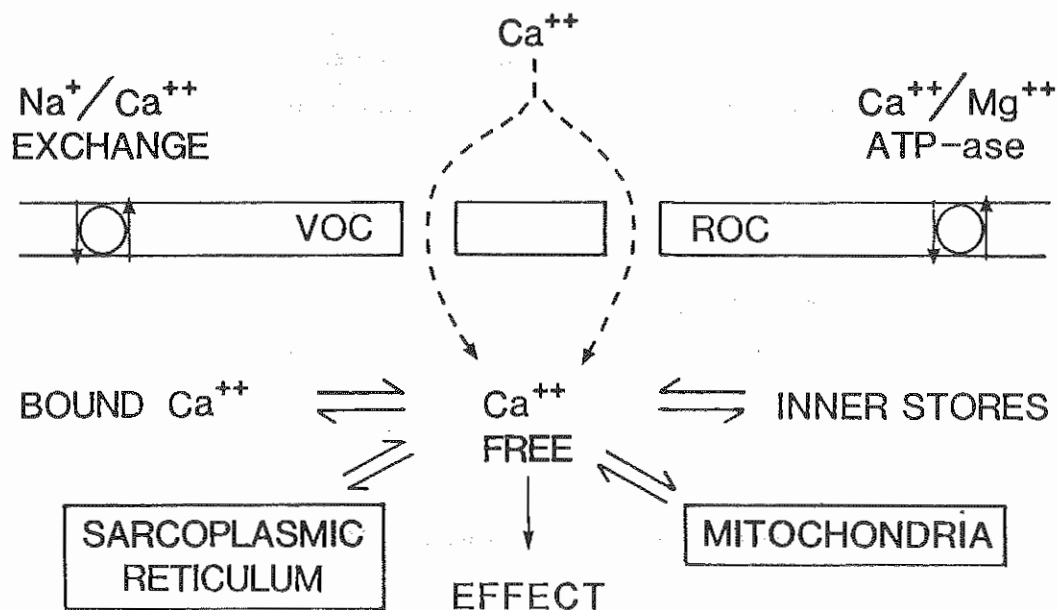


Figure 1 Schematic representation of factors governing calcium movement

The relatively low intracellular calcium content is maintained by a poor membrane permeability for calcium, energy-requiring pump and exchange mechanisms, as well as the presence of inactive calcium channels at rest.

Inward calcium movement through channels can be triggered by a change in voltage or by the effects of agonists on certain receptors. We thus differentiate between voltage operated channels (VOC's) and receptor operated channels (ROC's). It also seems that these channels are in some way linked and that activation of ROC's might result in the activation of VOC's.⁽²⁾

2. Intracellular calcium distribution

Intracellular calcium gradients exist because of calcium pools maintained by energy-requiring processes (figure 1). The sarcoplasmic reticulum is an important example of such a calcium pool. Entry of calcium via VOC's or ROC's trigger the release of intracellular calcium, which then produces effects such as muscle contraction.⁽²⁾

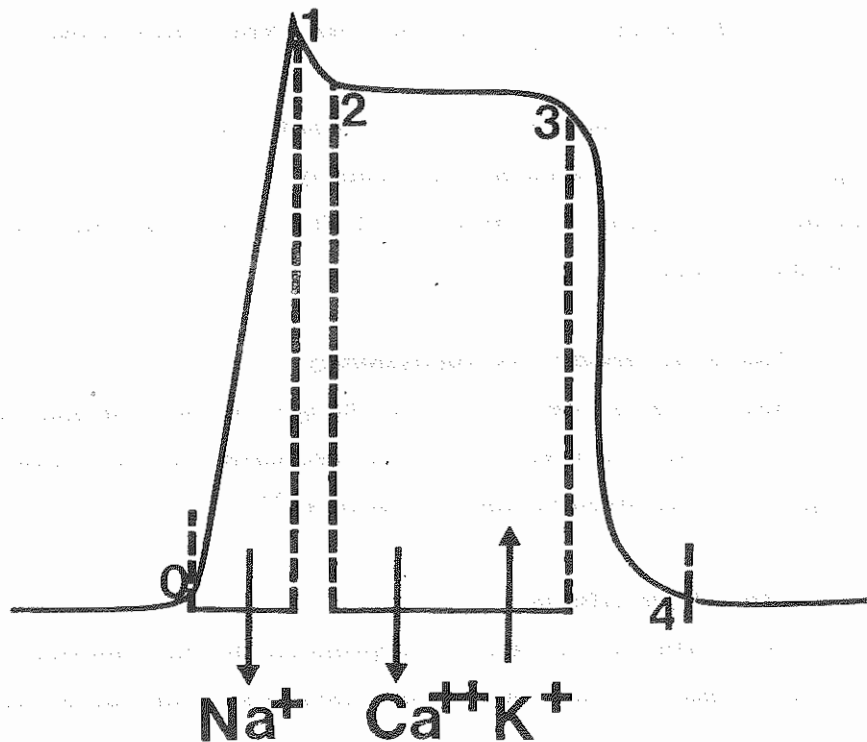


Figure 2 Role of calcium in the cardiac action potential

Apart from eliciting intracellular effects, calcium movement also plays an important role in the generation of the cardiac action potential (figure 2). Whereas phase 0 (the rapid upstroke) is due to the fast inward movement of sodium, the plateau phase (phase 2) is due to a balance between slow inward calcium movement and the outward movement of potassium. A change in calcium movement can therefore affect the configuration of the action potential, particularly its duration and consequently the duration of the refractory period.⁽³⁾ A change in calcium movement can therefore induce changes in automaticity and conduction. As the role of calcium is much more important in supraventricular tissues, the effect of calcium blockers on supraventricular automaticity and conduction is pronounced, whereas the effect on ventricular action potentials is relatively small.

EFFECTS OF CALCIUM CHANNEL BLOCKERS

The calcium channel blockers impair the movement of calcium through membrane channels, particularly the VOC's.⁽⁴⁾ From the foregoing physiological considerations it should be clear that they produce two distinct effects :

1. Effects on cardiac electrophysiology

These effects are due to a change in the configuration of the action potential, manifesting as a decrease in automaticity and a prolongation of atrioventricular conduction.⁽⁵⁾

2. Intracellular effects

These effects are due to suppression of the function of calcium as an ionic messenger and usually manifests as smooth muscle relaxation.

There appears to be differences in the site of action of calcium channel blockers in terms of these two effects. One can in fact see the pharmacodynamic profile as two poles of a spectrum of effects (figure 3) with verapamil having a major effect on the one side (cardiac electrophysiology)⁽⁶⁾ and nifedipine on the other side (intracellular response such as relaxation of vascular smooth muscle).⁽⁷⁾ The effect on cardiac muscle (negative inotropism) seems to be shared by both drugs and this effect is therefore placed midway between the two poles (figure 3). Most of the newer calcium channel blockers can be classified as either verapamil-like or nifedipine-like and will fit into a position on this spectrum of effects.

ESTABLISHED CLINICAL USES

Based on figure 3, we can recognise three pharmacodynamic mechanisms underlying the clinical effects of these drugs :

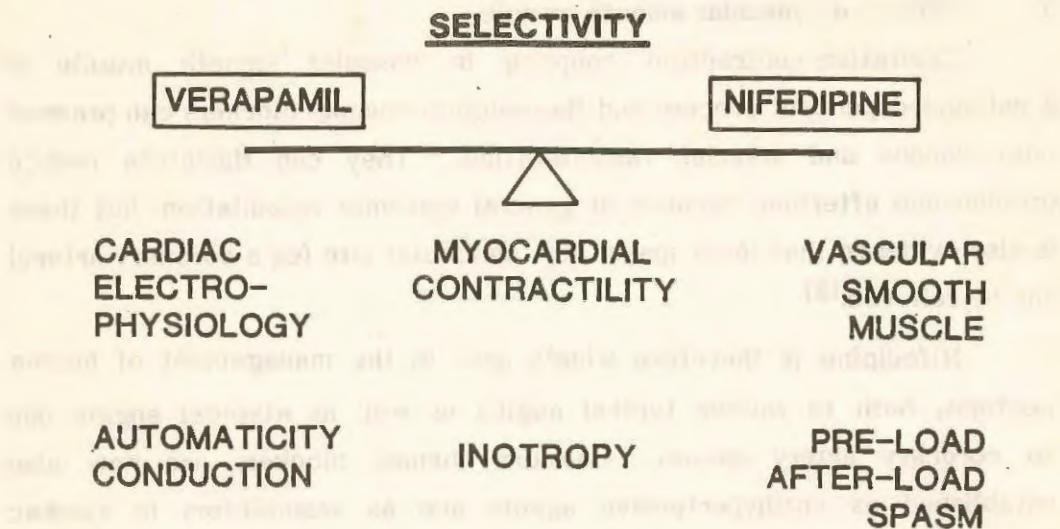


Figure 3 Pharmacodynamic profile of the calcium antagonists

1. Effects on cardiac electrophysiology

As a result of its depressant effect on supraventricular automaticity and atrioventricular conduction, verapamil is currently the drug of choice in supraventricular tachyarrhythmias.⁽⁸⁾ It either terminates the arrhythmia by suppressing discharge from the ectopic focus or by delaying atrioventricular conduction and protecting the ventricles from excessive stimulation.

2. Effects on myocardial contractility

Calcium channel blockers have marked negative inotropic effects in vitro.⁽⁹⁾ In vivo, however, these effects are more pronounced with a drug such as verapamil because of the concomitant depression of the sino-atrial node. In contrast to this, reflex sympathetic activation, particularly tachycardia, induced by drugs such as nifedipine tend to attenuate the negative inotropic effect. Negative inotropism might be potentially useful to decrease cardiac work load and to prevent ischaemic damage, but might on the other hand decrease cardiac output and cause untoward effects related to this, such as heart failure and cardiogenic shock.

3. Effects on vascular smooth muscle

Excitation-contraction coupling in vascular smooth muscle is a calcium-dependent process and the calcium channel blockers can produce both venous and arterial vasodilatation. They can therefore reduce preload and afterload because of general systemic vasodilation, but there is also evidence that local spasm at a particular site (eg a coronary artery) can be relieved.⁽⁸⁾

Nifedipine is therefore widely used in the management of angina pectoris, both to relieve typical angina as well as atypical angina due to coronary artery spasm. Calcium channel blockers are now also established as antihypertensive agents and as vasodilators in cardiac failure.⁽⁹⁾

POTENTIAL CLINICAL USES

There appears to be evidence that there might be site selectivity with regard to the vascular effects of these drugs and that we might eventually have drugs that are selective for sites such as the coronary or cerebral blood vessels.⁽¹⁰⁾

It has been furthermore suggested that calcium channel blockers might prevent the accumulation of calcium in blood vessels that occurs with degeneration with age and which appears to be accelerated in the presence of conditions such as diabetes and hypertension.⁽¹¹⁾ There is some evidence from animal experiments for this notion, but this has not been confirmed in humans and would be a formidable task in terms of the time period that would be required. We have some doubts about the relationship between degenerative vascular disease and increased intracellular calcium in human blood vessels. This might simply be the result and not the cause of degeneration. Although black South Africans show the same calcium accumulation⁽¹²⁾ with age as whites⁽¹¹⁾, the incidence of coronary artery disease is a fraction of that seen in white South Africans.

EFFECTS ON THE RESPIRATORY TRACT

The effect of calcium channel blockers on smooth muscle is not limited to blood vessels. This follows as calcium is also involved in the contraction of smooth muscle at other sites such as the gastrointestinal and respiratory tracts.

We have investigated the effects of these substances on respiratory smooth muscle as potential bronchodilators in the management of asthma. Furthermore, because beta-adrenergic blockers are contraindicated in patients with bronchospasm, it is important to ascertain whether for appropriate indications the calcium channel blockers would be safe alternatives to the beta-adrenergic blockers.

Both nifedipine and verapamil are physiological antagonists of spasm of guinea pig tracheal muscle induced via cholinergic receptors (metacholine) and the H_1 -receptor (histamine).⁽¹³⁾ Both drugs potentiate the relaxant effect of theophylline⁽¹⁴⁾, but differ in terms of their interaction with isoprenaline. Whereas verapamil potentiates the relaxant effect of isoprenaline, this effect is antagonized by nifedipine. Biochemically nifedipine blocks the increase in cyclic AMP induced by isoprenaline⁽¹⁵⁾, whereas it is not affected by verapamil. This effect of nifedipine is even more apparent when a dose-response curve is obtained from tracheal muscle in the presence of the spasmogen and isoprenaline. Under these circumstances increasing concentrations of nifedipine produce increasing spasm due to the progressive removal of isoprenaline-induced relaxation. Only at high concentrations of nifedipine does relaxation occur, resulting in a biphasic bell-shaped dose-response curve (figure 4).

Our work has shown that :

- (i) Nifedipine ($ED_{50} = 5 \times 10^{-7}M$) and verapamil ($ED_{50} = 5 \times 10^{-4}M$) both antagonise histamine and metacholine induced spasm. Nifedipine appears to be more potent in this regard and the ED_{50} suggests that this effect might be seen with systemic therapeutic

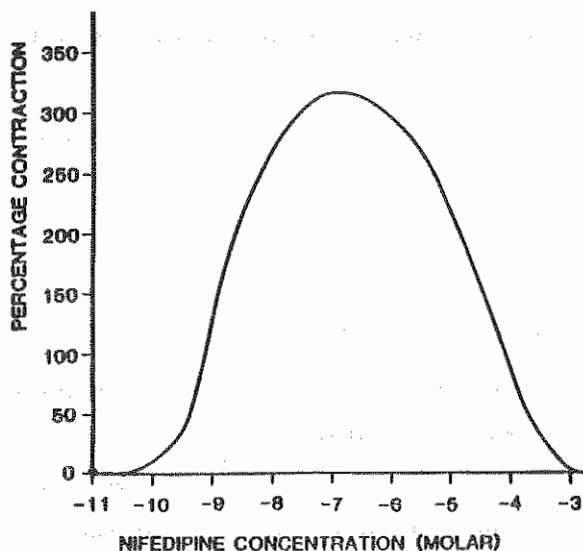


Figure 4 Biphasic nifedipine dose response curve in the presence of methacholine and isoprenaline

concentrations. The ED₅₀ of verapamil suggests that this effect is unlikely to occur with systemic therapeutic concentrations.

- (ii) Both drugs have a potentially beneficial interaction with theophylline.
- (iii) Verapamil has a potentially beneficial and nifedipine a potentially harmful interaction with isoprenaline.

It therefore seems that in relation to the spectrum of effects already discussed (figure 3), differences between nifedipine and verapamil are also manifest in the respiratory tract. There is some evidence that calcium channel blockers can relieve exercise-induced bronchospasm (16,17), but it is not clear whether this is an effect on histamine release or whether it is a bronchodilatory effect. Our work suggests that neither verapamil, because of its low potency, nor nifedipine, because of its potentially harmful interaction with beta-stimulants, have potential as systemic bronchodilators. In the context of pre-existing asthma, verapamil appears to be the safer alternative, but clearly work in humans is mandatory before firm conclusions can be made.

CONCLUSIONS

The major problem with calcium channel blockers is that they affect so many different physiological processes at so many different sites. A better understanding of mechanisms of action would help us to understand why these drugs have differential effects and might lead to the development of greater site-specificity and ultimately more rational therapeutic use.

References

1. Rasmussen, H : Calcium and cAMP as Synarchic Messengers. J Wiley, N.Y., 1981.
2. Cavero, I and Spedding, M : 'Calcium Antagonists' : A class of drugs with a bright future. Life Sci. 33 : 2571-2581, 1983.
3. Trautwein, W : Membrane currents in cardiac fibres. Physiological Rev. 53 : 793-835, 1973.
4. Fleckenstein, A : Specific pharmacology of calcium in myocardium, cardiac pacemakers and vascular smooth muscle. Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 17 : 149-166, 1977.
5. Refsum, H and Landmark, K : The effect of a calcium antagonistic drug, nifedipine, on the mechanical and electrical activity of the isolated rat atrium. Acta Pharmacol. et Toxicol. 37 : 369-376, 1975.
6. Landmark, K and Amlie, JP : A study of the verapamil-induced changes in conductivity and refractoriness and monophasic action potentials of the dog heart in situ. Eur. J. Cardiol. 414 : 419-427, 1976.
7. Taira, N, Motomura, S, Narimatsu, A and Iijima, T : Experimental pharmacological investigations of effects of nifedipine on atrioventricular conduction in comparison with those of other coronary vasodilators, In : 2nd International Adalat Symposium.

- Eds : W Lochner, W Broasch and G Kroneberg. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg and New York, 40-48, 1975.
8. Millar, JA and Bramley, PM : Clinical pharmacology of calcium antagonists. *Meth. and Findings Expl. Clin. Pharmacol.* 6(4) : 205-209, 1984.
 9. Zsotér, TT : Appraisal and reappraisal of cardiac therapy. *Am. Heart J.* 99 : 805-810, 1980.
 10. Nayler, WG : Calcium Antagonism : A new approach. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. Suppl.* 6 : 3-13, 1982.
 11. Fleckenstein, A, Frey, M and von Witzleben, H : Vascular calcium overload - a pathogenic factor in arteriosclerosis and its neutralization by calcium antagonists. 5th International Adalat Symposium (Kaltenbach, M and Neufeld, HN, eds.) : 36-52, Excerpta Medica, Amsterdam, 1983.
 12. Joubert, P, du Toit, L, and Booyens, S : Calcium content of coronary vessels in black South Africans. *IRCS Med. Sci.* 12 : 178, 1984.
 13. Joubert, P, Lowings, A and Sebata, B : Bronchodilator potential of nifedipine in vitro. *S.A. Med J.* 62 : 247-248, 1982.
 14. Joubert, P, Daya, S and Lowings, A : Potentiation of the relaxant effect of theophylline by nifedipine in isolated guinea pig tracheal preparations. *IRCS Med. Sci.* 11 : 760, 1983.
 15. Daya, S and Joubert, P : Inhibition of the isoprenaline-induced increase in cyclic AMP by nifedipine in bronchial smooth muscle. *IRCS Med. Sci.* 12 : 637, 1984.
 16. Barnes, PJ, Wilson, NM and Brown, MJ : A calcium antagonist, nifedipine modifies exercise-induced asthma. *Thorax.* 36(10) : 726-730, 1981.
 17. Patel, KR : Calcium antagonists in exercise-induced asthma. *Br. Med. J.* 282(6268) : 932-933, 1981.

CURRENT STATUS OF PLATELETS IN ATHEROSCLEROSIS

กาญจนา เกษสาธิต

ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล

มหาวิทยาลัยมหิดล

KANCHANA KETSA-ARD

Department of Pharmacology, Faculty of Medicine Siriraj Hospital,
Mahidol University, Bangkok 10700

SUMMARY

Platelet function in atherosclerosis is briefly reviewed. Although there was controversy whether atherosclerosis is activated by changing of blood platelet function accompanied by an increasing of hyperlipidemia.

Mustard and his co-worker had suggested since 1969 & 1972 that platelets play an important part in development of some forms of atherosclerosis and occlusive thrombi. However the response to injury hypothesis of atherogenesis have provided an approach to exploring the interactions between blood platelets with both overlying and underlying endothelial cells. This in turn would release substances from each of these cells, which play a role in the induction of the proliferative response. The proliferated vascular smooth muscle cells and lipids accumulation would, a period of months or years, lead to the development of fibrous plaque, the advanced lesion of atherosclerosis. Meanwhile it may be superimposed by some vasoactive molecules, prostanoids, such as activation of thromboxane A_2 synthesized by blood platelets and inhibition of prostacyclin by vascular endothelium.

The studies of current status of platelets in atherosclerosis and the potential role of some vasoactive prostanoids in generating occlusive lesions have begun to throw light on the approaching to the new trends in the effective treatment and prevention of atherosclerosis and thromboembolic conditions.

ในระยะ 30-40 ปีมาี้ การตรวจรักษาโรคในระบบหัวใจและการไหลเวียนของเลือด (cardiovascular system) ได้วิวัฒนาการไปมาก โดยเฉพาะโรคหัวใจที่เป็นมาแต่กำเนิด (congenital heart disease) มีอัตราตายลดลงอย่างน่าอัศจรรย์ ทั้งนี้เพราะความก้าวหน้าในเทคนิคของการวินิจฉัย เช่น angiography, computerize, ultrasound echocardiography ฯลฯ

รวมทั้งการรักษาที่ทันสมัย เช่นการผ่าตัดด้วยเทคนิคต่างๆ แต่ก็ยังพบว่าภาวะหลอดเลือดแข็ง (atherosclerosis) ยังคงมีอัตราเท่าเดิมในการก่อให้เกิดโรคในระบบนี้ ภาวะหลอดเลือดแข็งนี้ไม่ค่อยมีอาการ จนกว่าจะถึงขั้นหลอดเลือดตันหรือแตกในอวัยวะสำคัญๆ ก็อาจรุนแรงถึงแก่ความตายได้ทันที เช่น หลอดเลือดตันหรือแตกในสมองหรือกล้ามเนื้อหัวใจ

องค์การอนามัยโลก (WHO) ได้ให้คำจำกัดความ atherosclerosis ไว้ตั้งแต่ปี ค.ศ.1958 ว่าเป็น "variable combination of changes of the intima of the arteries". ซึ่งมีลักษณะที่สำคัญคือ lipid infiltration or accumulation of lipids, complex carbohydrates, blood & blood products (ซึ่งพบในภายหลังว่าเกล็ดเลือด และสารที่หลั่งออกมาจากเกล็ดเลือดเป็นสาเหตุสำคัญ) ; ลักษณะสำคัญอันดับต่อไปคือ fibrosis, necrosis, thrombosis และ Ca deposit. พยาธิสภาพที่เกิดตามมาจาก thrombosis & necrosis ทำให้เกิดจุดอ่อนบนผนังหลอดเลือดจึงโป่งพองออกเป็น aneurysm แล้วแตกได้ในที่สุด หรือมี Ca มาจับบริเวณนั้น

ขบวนการตามขั้นตอนต่างๆ ที่ทำให้เกิดภาวะหลอดเลือดแข็งนี้ ปรากฏขึ้นและดำเนินอยู่ในวัยใดของชีวิตบ้าง จากการชันสูตรศพ 2000 ราย^{(1),(2)} รายงานว่า

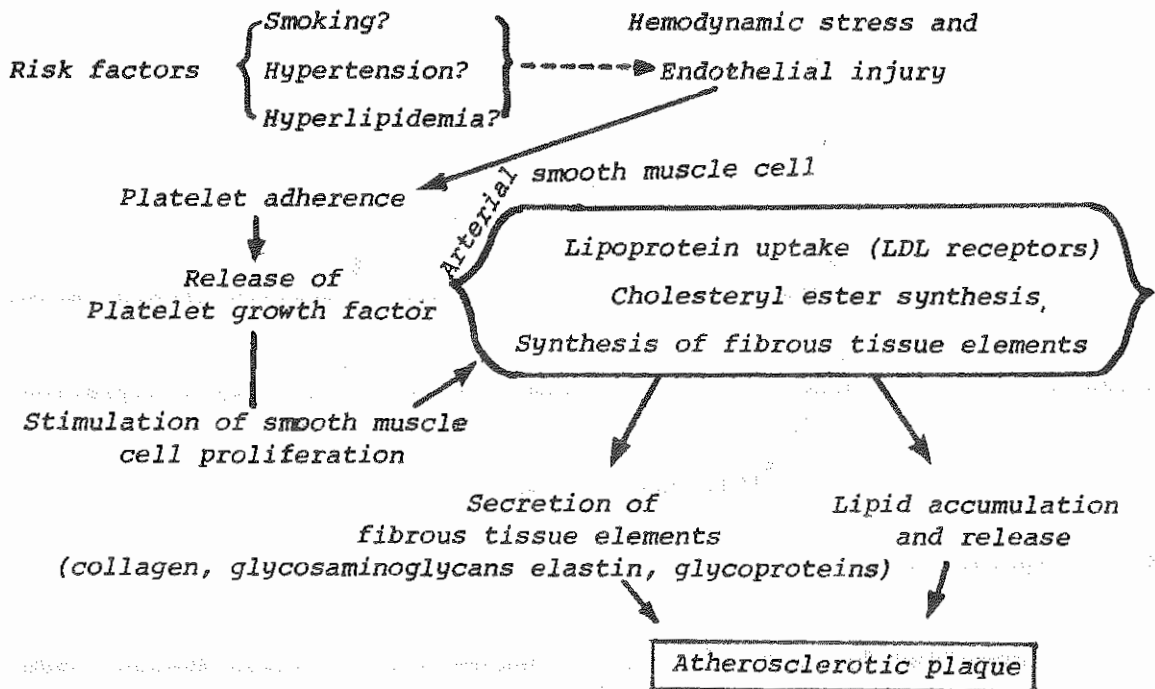
พบ aortic fatty streak ในเด็กอายุต่ำกว่า 3 ปี หลายราย ในเด็กอายุเกิน 3 ปี ทุกราย พบ coronary fatty streak ในคนอายุต่ำกว่า 10 ปี น้อยราย ในคนอายุ 10-20 ปี มากราย ในคนอายุ 20-30 ปี เกือบทุกราย พบ fibrous plaque และ advanced lesions ในคนอายุ 30-40 ปี พบ complicated lesion พร้อมกับมีอาการปรากฏด้วยในคนอายุ 40-50 ปี

จากรายงานของ International Atherosclerosis Project⁽³⁾ ทำการวิเคราะห์หลอดเลือด coronary และ aorta จำนวน 23000 ซัด จากคนใน 14 ประเทศ 19 เชื้อชาติ พบ fatty streaks ทั่วๆ ไปตั้งแต่คนอายุน้อยๆ คล้ายๆ กันหมด สำหรับ fibrous plaque และ complicated lesions มีความแตกต่างกันตามภูมิประเทศ และเชื้อชาติ

MECHANISM OF ATHEROSCLEROTIC PLAQUE FORMATION

กลไกการเกิด atherosclerosis ค่อนข้างซับซ้อนและยังจะต้องศึกษากันต่อไปอีกมาก มีผู้ตั้งสมมุติฐานการเกิดภาวะนี้ตั้งแต่ ปี 1957⁽⁴⁾ และ 1971⁽⁵⁾ สมมุติฐานในปัจจุบันก็มีรากฐานมากจากความเชื่อเดิมนี้ คือเป็นสิ่งที่เกิดจากปฏิกิริยาของเม็ดเลือด และไขมันต่อผนังหลอดเลือดโดยมี risk factors เป็นสิ่งที่กระตุ้นให้ขบวนการนี้ดำเนินไป (รูปที่ 1)

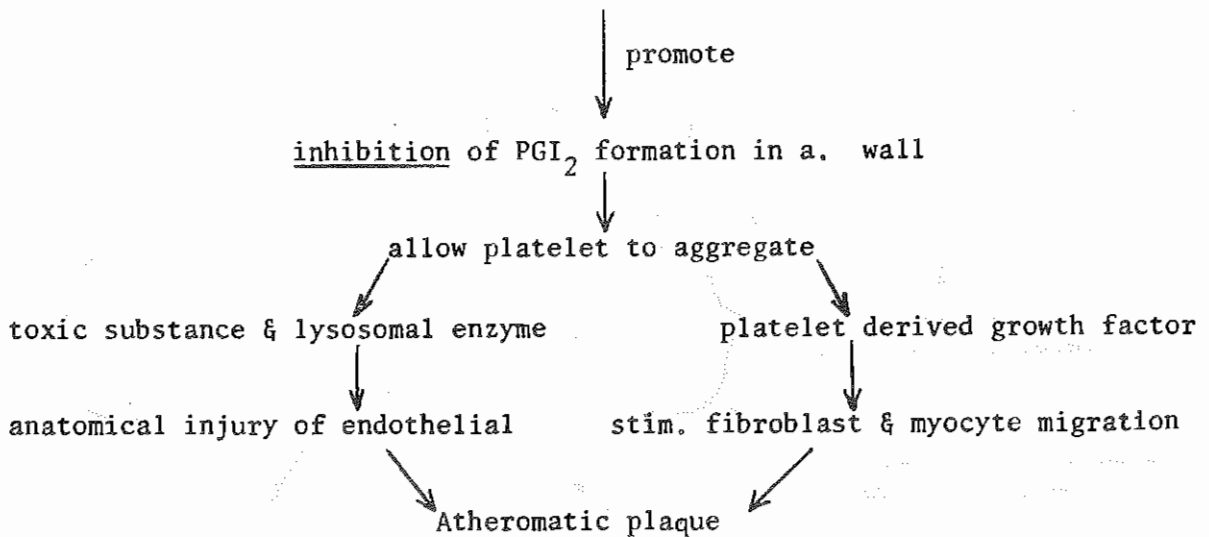
PATHOGENESIS OF ATHEROSCLEROSIS



รูปที่ 1 Summary of the biophysical and biochemical events in the evolution of coronary atherosclerosis. From. V. Fuster 1982

เริ่มจากความแรงของการไหลเวียนเลือด (hemodynamic stress) เช่นในภาวะความดันโลหิตสูง ทำให้เกิดการลอกหลุดของเซลล์บุผนังหลอดเลือด (endothelial injury) ตรงตำแหน่งที่เลือดไหลผ่านมากกระทบแรงๆ เช่นตรงตำแหน่งทางแยกหรือทางคดโค้งมากๆ เป็นต้น ต่อไปเกิดปฏิกิริยาระหว่างผนังหลอดเลือดและเกล็ดเลือดซึ่งมีผู้รายงานมานานและยอมรับกันแล้วว่าเกล็ดเลือดเป็นส่วนสำคัญในการทำให้เกิด atherosclerosis หรือ arterial thrombosis โดยเกล็ดเลือดมาจับกลุ่ม (aggregation) แล้วหลั่งสารต่างๆ ออกมาจากภายใน ได้แก่ platelet derived growth factor ทำให้เซลล์ของผนังหลอดเลือดเพิ่มจำนวนหนาแน่นขึ้นมา, หลั่ง thromboxane A₂ (TXA₂) ออกมากระตุ้นการจับกลุ่มของเกล็ดเลือดต่อไปอีก ในขณะที่เดียวกันที่ผนังของหลอดเลือดก็จะสร้าง prostacyclin (PGI₂) ออกมารักษาสมดุลกับ TXA₂ คือออกฤทธิ์ตรงข้ามกับ TXA₂ เช่นขัดขวางการจับกลุ่มของเกล็ดเลือด และขยายหลอดเลือด คนที่มี PGI₂ ต่ำและ TXA₂ สูง แสดงว่ามีแนวโน้มที่จะเกิด atherosclerosis ได้รวดเร็วกว่าคนที่มีการ 2 ชนิดนี้สมดุลกัน⁽⁶⁾ ฤทธิ์ของ PGI₂ คือการเกิดภาวะหลอดเลือดแข็งนับวันก็พบว่ามีความสำคัญยิ่งขึ้น⁽⁷⁾⁻⁽⁸⁾ จึงได้มีการตั้งสมมุติฐานเพื่อแสดงความสัมพันธ์ของ PGI₂ และการเกิดภาวะหลอดเลือดแข็ง (รูปที่ 2)

increase lipid peroxidation in human body or in dietary fat



รูปที่ 2 Hypothesis of Atherosclerosis and Prostacyclin.

ในขณะที่ไขมันซึ่งถูกเปลี่ยนเป็น PGI_2 ทำหน้าที่ต่อต้านการเกิดหลอดเลือดแข็ง ไขมันชนิดอื่นๆ ในเลือดก็จะทำหน้าที่ตรงกันข้ามคือ เข้าไปสะสมในผนังหลอดเลือดด้วยกระบวนการที่สลับซับซ้อนต่อไปจึงเกิด fibrosis, thrombosis, ulceration, aneurysm และ calcification ตามลำดับ ซึ่งจะไม่ขอกล่าวรายละเอียดในที่นี้

ปรากฏการณ์หรือข้อมูลสนับสนุนสมมุติฐานนี้ คือ

1. พบปริมาณ lipid peroxide ใน atherosclerosis สูงมากกว่าในคนปกติ⁽⁹⁾ และพบได้ในเลือดหนู น้อยมากเพราะไม่มี atherosclerosis
2. การให้ O_2 กับทารกคลอดก่อนกำหนด ทำให้ lipid peroxide ในเลือดเพิ่มขึ้น⁽¹⁰⁾ เป็นเหตุให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดในลูกตา (retinal blood vessel) มีการเปลี่ยนแปลงคล้าย atherosclerosis ทำให้ตาบอดได้ ซึ่งป้องกันภาวะนี้ได้โดยให้ potent antioxidant
3. พบ PGI_2 หลั่งออกมาใน atheromatic artery น้อยกว่าในหลอดเลือดปกติ⁽¹¹⁾
4. พบ PGI_2 ถูกสร้างในหลอดเลือดดำมากกว่าในหลอดเลือดแดงถึง 8 เท่า⁽¹²⁾ ดังนั้นจึงพบว่า atherosclerosis เกิดขึ้นในหลอดเลือดแดงมากกว่าหลอดเลือดดำ
5. พบว่าในผู้ป่วย coronary heart disease มีเกล็ดเลือดสร้าง TXA_2 มากกว่าของคนปกติ⁽¹³⁾ แสดงว่า endoperoxides จากเกล็ดเลือดถูกใช้สร้าง TXA_2 มากกว่าใช้สร้าง PGI_2 ที่ผนังหลอดเลือด

6. ในกระด้ายที่มี atherosclerosis พบว่า การทำลายฤทธิ์ของ PGI_2 synthetase เกิดขึ้นก่อนจะมีการกระตุ้นการจับกลุ่มของเกล็ดเลือด⁽¹⁴⁾ เป็นการสนับสนุนข้อ 5

7. Imidazole ยับยั้งการทำงานของ TX-synthetase ดังนั้นจึงไม่มีการสร้าง TXA_2 แต่จะมี PGE_2 , PGD_2 & PGI_2 เพิ่มขึ้นแทน⁽⁴³⁾ ในภาวะหลอดเลือดแข็งก็เช่นเดียวกัน มีการทำลาย PGI_2 synthetase โดยมี lipid peroxides (endogenous substance ที่ขัดขวางเอ็นไซม์นี้ได้) atherosclerotic artery จึงพยายามสร้างสิ่งทดแทน PGI_2 คือสร้าง PGE_2 มีฤทธิ์ขยายหลอดเลือด และ PGD_2 ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งการจับกลุ่มของเกล็ดเลือด

8. ในปัจจุบันนี้ได้ใช้ PGI_2 ในการบรรเทาภาวะหลอดเลือดแข็ง⁽¹⁵⁾ เป็นการยืนยันว่า PGI_2 เป็น antiatherosclerotic hormone

RISK FACTORS AND POSSIBLE MECHANISMS OF ACTION

งานวิจัยเกี่ยวกับ atherosclerosis ได้ขยายออกไปมากมายในระยะเวลา 20-30 ปี มาแล้ว นักวิจัยทั้งหลายต่างมีความเห็นพ้องต้องกันว่า risk factors ทั้ง 5 ข้อที่จะกล่าวต่อไปนี้เป็นปัจจัยสำคัญที่จะผลักดันหรือชะลอการเกิด atherosclerosis ได้ การรักษาจะประสบความสำเร็จ หรือล้มเหลวก็ขึ้นอยู่กับ การควบคุม risk factors เหล่านี้ด้วย คือ

1. การสูบบุหรี่ ทำให้เกิดผลได้ 3 อย่าง

1.1 เกล็ดเลือดมีความไวในการจับกลุ่มมากขึ้น การสร้าง PGs หนักไปทางสร้าง TXA_2 มากกว่า⁽¹⁶⁾ PGs ตัวอื่นๆ

1.2 nicotine ในบุหรี่มีสารที่ออกฤทธิ์ต่อผนังหลอดเลือดโดยตรง ทำให้มีการหลั่ง catecholamine⁽¹⁷⁾ มีผลทำให้เกล็ดเลือดมีความไวต่อสารนี้มากขึ้น และมีการทำลายผนังหลอดเลือดได้ นอกจากนี้ carbon monoxide ยังทำให้เกิดภาวะ hypoxia อีกด้วย

1.3 ลดการสร้าง high density lipoproteins เป็นการเร่งภาวะ atherosclerosis

2. กรณพันธุ์ มีหลักฐานยืนยันแล้วว่า กรณพันธุ์มีส่วนเกี่ยวข้องกับ atherosclerosis⁽¹⁸⁾ แต่ยังอธิบายกลไกไม่ได้ มีผู้ตั้งสมมุติฐานว่า ผนังหลอดเลือดมีความไวต่อการกระตุ้นที่เปื้อนภายในโดย

2.1 มีการเพิ่มจำนวนของกล้ามเนื้อเรียบหรือ fibroblast แบบ hyperplastic และ neoplastic

2.2 มีการสร้าง collagen เพิ่มขึ้น

คนในกลุ่มที่มีกรณพันธุ์แบบนี้จะพบว่าผนังหลอดเลือดชั้น intima หนาขึ้น ตั้งแต่อายุน้อยๆ ผู้ป่วย coronary heart disease ที่มีอายุต่ำกว่า 50 ปี น้อยรายจริงๆ ที่จะไม่มีความเสี่ยง factor ในข้อนี้

3. ไชมันในเลือดผิดปกติ (Dislipoproteinemia) ถ้ามีภาวะ cholesterol สูง ตั้งแต่อายุน้อยๆ จะเกิดภาวะหลอดเลือดแข็งได้เร็ว⁽¹⁹⁾ เพราะผนังหลอดเลือดจับ cholesterol ได้อย่างผิดปกติ ซึ่งจะไม่กล่าวรายละเอียดในที่นี้

4. ความดันโลหิตสูง⁽²⁰⁾ ผลที่จะเกิดตามมาคือ

4.1 mechanical (pulsatile & distension) ทำให้ผนังหลอดเลือดหนาขึ้น เนื่องจากการเพิ่มจำนวนของ smooth muscle cells

4.2 สารจากผนังหลอดเลือดที่หนาขึ้น คือ elastin, collagen และ glycosaminoglycans ทำให้ atherosclerotic plaque หนาขึ้นอีก

4.3 เมื่อเกิดการอักเสบของ endothelium เป็นผลให้การซึมผ่านเพิ่มตามทำให้มีการดูดซึมของ cholesterol และ growth factor จากเกล็ดเลือดเพิ่มขึ้น มีผลต่อไปทำให้เกิดการเพิ่มจำนวนของกล้ามเนื้อเรียบในผนังหลอดเลือด

5. เบาหวาน ผู้ป่วยที่เป็นโรคนี้ตั้งแต่อายุน้อยๆ จะพบภาวะแทรกซ้อนที่สำคัญคือ atherosclerosis⁽²¹⁾ สาเหตุจากเรื่องนี้ก็คือ มีการเปลี่ยนแปลงของไขมันในเลือดเนื่องจากโรคเบาหวานเข้ามาส่งเสริม atherosclerosis ด้วย

NEW TRENDS IN THE PREVENTION OF ATHEROSCLEROSIS

การป้องกันไม่ให้เกิดภาวะ atherosclerosis เป็นความฉลาดมากกว่าการรักษาเมื่อเกิดภาวะนี้แล้ว เมื่อเกิดภาวะนี้แล้วจึงรักษาเป็นสิ่งที่ทำได้ยาก หรืออาจเรียกได้ว่าทำไม่ได้เลยทางที่สมควรป้องกันโดยการสกัดกันขั้นตอนต่างๆ ที่เป็นสาเหตุดังนี้

Inhibition of TXA₂ formation

Pharmacological Intervention

ยาหลายชนิดที่ขัดขวางการสร้าง TXA₂ เช่นยาในกลุ่ม nonsteroidal anti-inflammatory drugs โดยกลไกการออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ cyclo-oxygenase⁽²²⁾ มีแอสไพริน (ASA) เท่านั้นที่ได้รับความนิยมมากที่สุด และดูเหมือนจะใช้ป้องกัน transient ischemic attack ได้ แต่การใช้สำหรับบำบัดการอุดตันของหลอดเลือดหัวใจยังได้ผลไม่แน่นอน การทดลองใช้ ในหลายๆ โครงการล้วนแต่ประกาศว่าได้ผล แต่ก็ไม่สามารถแสดงให้เห็นนัยสำคัญทางสถิติได้ สาเหตุที่ไม่ได้ผลในการรักษาจริงๆ จังๆ อาจจะเป็นเพราะการใช้ ASA ด้วยขนาดมากเกินไปและไม่ได้จับหะกับโรค เนื่องจาก ASA ไม่ได้มีฤทธิ์เฉพาะขัดขวางการทำงานของ cyclo-oxygenase ในเกล็ดเลือดที่สร้าง TXA₂ เท่านั้น แต่ยังมีฤทธิ์คือเอนไซม์นี้ในเนื้อเยื่ออื่นๆ ด้วย ที่สำคัญคือในผนังหลอดเลือดซึ่งใช้สร้าง PGI₂ ด้วยเหตุว่าเกล็ดเลือดไม่มี nucleus ที่จะสร้างเอนไซม์นี้ขึ้นมาเองได้ใหม่ ฉะนั้นฤทธิ์ ASA ที่ทำลายเอนไซม์นี้ในเกล็ดเลือดจึงคงอยู่ตลอดอายุของเกล็ดเลือดคือ 7-10 วัน ตรงข้ามกับเซลล์ที่ผิวในของหลอดเลือดซึ่งมีความไวตอบสนองฤทธิ์ของ ASA เช่น

เดียวกัน (23) - (25) แต่มี nucleus ที่จะสร้างเอนไซม์นี้ขึ้นมาแทนได้ภายใน 24-48 ชม. ดังนั้น การให้ ASA ขนาดมาก ๆ และทุกๆ วันก็อาจจะทำให้เกิดการอุดตันของหลอดเลือด (thrombogenic และ atherogenic) ได้ (26) ฉะนั้นเราควรสนใจแสวงหาสิ่งที่จะยับยั้งเฉพาะ TXA₂ แต่ส่งเสริม PGI₂ ไว้

ได้มีการวิเคราะห์วิจัย เพื่อจะหาขนาดของ ASA ที่ขัดขวางการสร้าง TXA₂ ในเกล็ดเลือดได้ แต่ไม่มีผลต่อ PGI₂ จากผนังหลอดเลือด กลุ่มนักวิจัยนี้ (27) ได้ทำการศึกษาในผู้ป่วยที่จะต้องรับการผ่าตัดหลอดเลือด coronary เพื่อทำ bypass surgery grafting เขาให้ ASA แก่ผู้ป่วยก่อนผ่าตัดในขนาดต่างๆ กันเมื่อผ่าตัดแล้วตรวจหาปริมาณ TXA₂ ในเกล็ดเลือด และ PGI₂ ในผนังหลอดเลือดว่าจะลดลงอย่างไรบ้าง (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ผลของ ASA ต่อปริมาณ TXA₂ ในเกล็ดเลือด และ PGI₂ ในผนังหลอดเลือด

dose-ASA	% inhibition	
	TXA ₂ in platelets	PGI ₂ in vascular wall
40 mg	75	aortic: PGI ₂ partial inhibit
80 mg	95	saphenous: PGI ₂ not inhibited
325 mg	99	80 (Weksler et al. 1983)
20 mg/d/1 week	95	50 (Szczeklik 1979)

จะเห็นได้ว่าการใช้ ASA โดยไม่ให้เกิดผลกระทบต่อ PGI₂ เป็นความยาก ถึงแม้จะใช้เพียง 20 มก./วัน ดังนั้นระยะเวลา (duration) ของการให้ ASA จึงเป็นสิ่งสำคัญที่ต้องพิจารณาจากการทดลองในนักศึกษาแพทย์ (28) และผู้ป่วย (29) พบว่า ASA ขนาด 300-600 มก. ครั้งเดียวก็สามารถลดการจับกลุ่มของเกล็ดเลือดไปได้ นานอย่างน้อยที่สุด 1 สัปดาห์ ถึงแม้จะเคยมีรายงาน (30) ว่า ASA ขนาด 3 มก./กก. ลดการจับกลุ่มของเกล็ดเลือดได้โดยมีผลต่อ PGI₂ น้อยที่สุดหรือไม่มีเลย แต่เป็นผลจากการใช้ ASA เพียงครั้งเดียว ถ้าใช้ซ้ำๆ ทุกๆ วันก็ไม่แน่ว่าผลจะเป็นอย่างไร ในปี 1979 Szczeklik (31) และพวก ได้รายงานว่า ASA 600 มก. ทุก 3-4 วัน ก็เพียงพอสำหรับการขัดขวางการจับกลุ่มของเกล็ดเลือดได้โดยยับยั้งการสร้าง TXA₂ เป็นผลให้ป้องกัน myocardial infarction ได้ มีรายงานการใช้ ASA ป้องกันและบรรเทาภาวะแทรกซ้อนทางหลอดเลือดที่จอภาพของตา (32) (diabetic retinopathy) ขนาดของ ASA ที่ได้ผลดีก็คือ 300-600 มก. สัปดาห์ละ 2 ครั้ง เท่านั้น

Dietary Intervention

น้ำมันพืชเช่นน้ำมันดอกทานตะวัน ถูกแนะนำและชักชวนให้ใช้อย่างแพร่หลายในยุโรป และอเมริกา ถึงแม้ว่ายังไม่มีผลการทดลองออกมายืนยันว่ามีประโยชน์ก็ตาม เพราะเขาเชื่อว่า linoleic acid ถูกเปลี่ยนไปเป็น dihomo- γ -linolenic acid และต่อไปเป็น PGE_1 ซึ่งมีฤทธิ์ขยายหลอดเลือด และขัดขวางการจับกลุ่มของเกล็ดเลือดเป็นการต้านฤทธิ์ของ TXA_2 ได้

มีสิ่งที่น่าสนใจในเร็วๆ นี้เอง คือการสังเกตพบว่า Greenland Eskimos ไม่ค่อยเป็นโรคเกี่ยวกับหลอดเลือดอุดตัน แต่เป็นตรงข้ามคือเลือดออกง่าย (bleeding disorder) มากกว่า เพราะเขาบริโภคปลาทะเลลึกมากกว่าอาหารประเภทอื่น จึงได้รับน้ำมันตับปลาที่มี eicosapentaenoic acid มาก ซึ่งจะถูกเปลี่ยนภายในร่างกายไปเป็น PGI_3 ซึ่งมีฤทธิ์และความแรงใกล้เคียงกับ PGI_2 และยังให้ TXA_3 ซึ่งมีฤทธิ์อ่อนกว่า TXA_2 มาก

Siess⁽³³⁾ ได้รายงานในปี 1980 ว่าผลการทดลองให้คนผิวขาว 7 คน กินปลา mackerel อยู่าน 7 วัน ตรวจพบว่า TXA_2 ลดลง fatty acid ในเลือดและเกล็ดเลือดมีลักษณะคล้ายชาว Eskimos แต่ในปี 1982 Hoar ได้รายงานว่าการให้น้ำมันตับปลาในหนูไม่ทำให้ PGI_3 & TXA_3 เพิ่มขึ้น แต่กลับมี PGI_2 & TXA_2 ลดลงอย่างชัดเจน แนวโน้มการเกิด arterial thrombosis ลดลงเมื่อเทียบกับหนูในกลุ่มที่ให้อาหารปกติ แต่ไม่ต่างกับกลุ่มที่ให้น้ำมันดอกทานตะวัน

Stimulation of the release of endogenous PGI_2

ตามที่ทราบกันแล้วว่า PGI_2 ช่วยกวาดล้างเอา cholesterol ออกมาจากผนังหลอดเลือดได้และยังช่วยเร่งการทำลาย cholesterol ester ด้วย⁽³⁴⁾ จึงมีผู้สังเคราะห์อนุพันธ์ของ PGI_2 (stable analogue) เพื่อใช้บำบัดและบรรเทา atherosclerotic tissue.⁽³⁵⁾

มีผู้พบว่า angiotensin II สามารถเร่งการหลั่ง PGI_2 จากปอดคนได้⁽³⁶⁾

การกระตุ้นระบบ Renin-Angiotensin ก็อาจเป็นการควบคุมการหลั่ง PGI_2 ได้ ซึ่งเราอาจใช้เป็นแนวทางในการเพิ่มการหลั่ง PGI_2 เพื่อประโยชน์ในการรักษาต่อไป

มียาอีกหลายชนิดที่มีฤทธิ์ต่อ TXA_2 & PGI_2 เช่น Nitroglycerine ยับยั้งการสร้าง TXA_2 แต่กระตุ้นการสร้าง PGI_2 ⁽³⁷⁾ Dipyridamole เสริมฤทธิ์ PGI_2 คือเกล็ดเลือด⁽³⁸⁾ และขนาดสูงๆ ลดการสร้าง TXA_2 ทดลองฉีดยาเข้าหลอดเลือดคนทำให้เพิ่ม PGI_2 ในเลือดได้ถึง 137% Nitroprusside อาจจะมีเสริมฤทธิ์ PGI_2 ได้⁽³⁹⁾ Nafazatrom ลดการสร้าง PGI_2 ⁽⁴⁰⁾

Inhibition of lipid peroxide formation

มนุษย์มีความแตกต่างจากสัตว์อื่นอีกอย่างหนึ่งคือ มี lipid peroxides ในเลือดคนที่ไขมันในเลือดสูงก็มี lipid peroxides มาก ถึงแม้ในคนปกติก็มีไขมันชนิดนี้แต่เป็นจำนวนน้อย

Polyunsaturated fatty acid เปลี่ยนไปเป็น atherogenic lipid peroxides ได้ง่าย ๆ โดยวิธี auto-oxidation ดังนั้นจึงไม่ควรบริโภคไขมันพวกนี้เกิน 20 ไมโครกรัม ต่อน้ำหนักร่างกาย 1 กก.⁽⁴¹⁾ lipid peroxides ส่วนใหญ่อยู่ใน LDL ซึ่งเป็น proatherogenic factor ส่วนน้อยอยู่ใน HDL ซึ่งจะมีระดับต่ำในภาวะ coronary heart disease แสดงว่าเป็น antiatherogenic factor มีผู้แนะนำว่าควรใช้วิตามินอี (vit.E) เป็น antioxidants ป้องกันการมี lipid peroxides มากเกินไป vit.E ถูกทดลองใช้มานานกว่า 30 ปี แล้ว แต่ผลการรักษา myocardial infarct, angina และ intermittent claudication ยังเป็นที่ถกเถียงกันอยู่ เพราะส่วนมากมักจะมุ่งผลคือเกล็ดเลือดเป็นส่วนใหญ่ อย่างไรก็ตาม vit.E อาจจะมีผลต่อ lipid peroxides โดยไม่มีฤทธิ์ผ่านเกล็ดเลือดก็ได้ การให้ vit.E ขนาด 300 มก./วัน สามารถลด lipid peroxides และ lipoprotein fraction (LDL) ได้ นอกจากนี้ยังทำให้มีการกระจายของไขมันไปอยู่ใน HDL fraction มากขึ้น⁽⁴²⁾ ซึ่งน่าจะเป็นประโยชน์ต่อการป้องกันหรือรักษา atherosclerosis ได้

เป็นเวลา 2-3 ทศวรรษมาแล้ว ที่เราถูกชักจูงให้ใช้ polyunsaturated fatty acid เพื่อลดอันตรายจากไขมันในเลือดสูง และได้มีการวิเคราะห้วิจัยกันมากมายตลอดมาที่ยังไม่มีใครรายงานออกมาให้เห็นอย่างชัดเจนได้ว่ามีผลดีจริงๆ จนถึงปี 1980 Robert E Olson ก็ประกาศออกมาอย่างกล้าหาญว่า "Lipid hypothesis is not proved and strategy for reduction of ischemic heart disease has failed" และต่อมาปี 1982 The Food & Nutrition Board ของอเมริกา ก็ประกาศว่า อัตราส่วนของ polyunsaturated : saturated fats ที่เหมาะสมนั้นยังไม่ได้กำหนด แต่ในช่วงเวลานี้เองก็มีสมมุติฐานใหม่เกี่ยวกับ platelet hypothesis ขึ้นมาแทนคือ platelet fatty acid ถูกใช้สร้าง TXA₂ ไปเสริม platelet aggregation ดังนั้นคนจึงหันมาสนใจใช้ ASA + marine oil ทั้งๆ ที่ยังไม่มีใครทราบหรือพิสูจน์ได้แน่ๆ ว่า eicosapentanoic acid จาก marine oil จะมีประโยชน์จริงๆ หรือไม่ ซึ่งเป็นเรื่องที่จะต้องวิเคราะห้วิจัยกันต่อไป

อย่างไรก็ตามจากการประชุมผู้เชี่ยวชาญในงานวิจัยเรื่องนี้ในแง่มุมต่างๆ ณ กรุงลอนดอน ประเทศอังกฤษ เมื่อปี ค.ศ. 1984 ก็พอจะสรุปได้ว่าถึงแม้มนุษย์จะได้ค้นพบสาเหตุปัจจัย และกลไกการเกิดความคิดปกติในเรื่องนี้แล้วมากมาย ก็ยังเอาชนะภาวะที่ถูกควบคุมชีวิตไม่ได้ แสดงว่า จะต้องมีการวิจัยและกลไกอื่นๆ อีกที่มนุษย์ค้นไม่พบ ซึ่งจะต้องเสาะแสวงหากันต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Holman, R.L., McGill, H.C., Jr., Strong, J.P., et al. The natural history of atherosclerosis : The early aortic lesions as seen in New Orleans in the middle of the 20th century. *Am. J. Pathol.*, 34 : 209-235, 1958.
2. Strong, J.P., and McGill, H.C., Jr. : The natural history of aortic atherosclerosis : Relationship to race, sex and coronary lesions in New Orleans. *Exp. Mol. Pathol.* (2 suppl.), 1:15-27, 1963.
3. McGill, H.C., Jr. *The Geographic Pathology of Atherosclerosis*. Williams & Wilkins Comp. Baltimore, 1968.
4. Duguid, J.B., and Robertson, W.B. Mechanical factors in atherosclerosis. *Lancet* 1:1205-1209, 1957.
5. Virchow, R. *Cellular Pathology : As Based Upon Physiology & Pathological Histology*, translated from the second German edition by F. Chance, Dover Publications, New York, 1971.
6. Sinzinger, H., Silberbauer, K., Wagner, O., et al. Prostacyclin (PGI₂) generation by different types of human atherosclerotic lesions. *Lancet* 2:469-470, 1978.
7. Gryglewski, R.J., Bunting, S., Moncada, S., et al. Arterial walls are protected against deposition of platelet thrombi by a substance which they make from prostaglandin endoperoxides. *Prostaglandins* 12:683-713, 1976.
8. Moncada, S., Gryglewski, R.J., Bunting, S. et al. A lipid peroxide inhibits the enzyme in blood vessel microsomes that generates from prostaglandin endoperoxides the substance which prevents platelet aggregation. *Prostaglandins* 12:715-735, 1976.
9. Filipovic, J., and Rutemoller, M. Comparative studies on fatty acid synthesis in atherosclerotic and hypoxic human aorta. *Atherosclerosis* 24:457-462, 1976.
10. Hiramitsu, T., Majima, Y., Hasegawa, Y., Hirata, K., and Yaki, K. Lipid peroxide formation in the retina in ocular siderosis. *Experientia* 32:1324-1327, 1976.
11. Sinzinger, H., Feigh, W., and Silberbauer, K. Prostacyclin generation in atherosclerotic arteries. *Lancet* 2:469, 1979.

12. Moncada, S., Higgs, E.A., and Vane, J.R. Human arterial and venous tissues generate prostacyclin (Prostaglandin X), a potent inhibitor of platelet aggregation. *Lancet* 1:18-24, 1977.
13. Szczeklik, A., Gryglewski, R.J., Musial, J., et al. Thromboxane generation and platelet aggregation in survivors of myocardial infarction. *Thromb. Haemostasis* 40:66-74, 1978.
14. Zmuda, A., Dembinska-Kiec, A., and Gryglewski, R.J. Experimental arteriosclerosis in rabbits : Platelet aggregation, thromboxane A₂ generation and antiaggregatory potency of prostacyclin. *Prostaglandins* 14:1035-1045, 1977.
15. Szczeklik, A., Szczeklik, J., Nizankowski, R., and Gtusko, P. Prostacyclin for unstable angina. *N. Engl. J. Med.* 303:881, 1980.
16. Wennmalm, A. Effects of nicotine on cardiac prostaglandins and platelet thromboxane synthesis. *Br. J. Pharmacol.* 64:559-563, 1978.
17. Cryer, P.E., Haymond, M.W., Santiago, J.V., et al. Norepinephrine and epinephrine release and adrenergic mediation of smoking-associated hemodynamic and metabolic events. *N. Engl. J. Med.* 295:573-577, 1976.
18. Slack, J., and Evans, K.A. The increased risk of death from ischemic heart disease in first degree relatives of 121 men and 96 women with ischemic heart disease. *J. Med. Genet.* 3:239-257, 1966.
19. Gotto, A.M., Jr. Plasma lipids, lipoproteins, and coronary artery disease. *Atheroscler. Rev.* 4:17-28, 1979.
20. Wilhelmsen, L., Wedel, H., and Tibblin, G. Multivariate analysis of risk factors for coronary heart disease. *Circulation* 48:950-958, 1973.
21. Paz-Guevara, A.T., Hsu, T.-H., and White, P. Juvenile diabetes mellitus after forty years. *Diabetes* 24:559-565, 1976.
22. Vane, J.R. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action of aspirin-like drugs. *Nature (New Biol.)* 231:232-235, 1971.
23. Preston, F.E., Greaves, M., Jackson, C.A., Stoddard, D.J. Low dose aspirin inhibits platelets and venous cyclooxygenase in man. *Thromb Res* 27:447, 1982.
24. FitzGerald, G.A., Brash, A.R., Oates, J.A., Pederson, A.K. Endogenous

- prostacyclin biosynthesis and platelet function during selective inhibition of thromboxane synthase in man. *J. Clin. Invest.* 72:1336, 1983.
25. Jaffe, E.A., Weksler, B.B. Recovery of endothelial cell prostacyclin after inhibition by low doses of aspirin. *J. Clin. Invest.* 63:532, 1979.
26. Kelton, J.G., Hirsh, J., Carter, C.J., Buchanan, M. Thrombogenic effect of high-dose aspirin in rabbit. Relationship to inhibition of vessel wall synthesis of prostaglandin I_2 -like activity. *J. Clin. Invest.* 62:892, 1978.
27. Weksler, B.B., Pett. S.B., Alonso, D., et al. Differential inhibition by aspirin of vascular and platelet prostaglandin synthesis in atherosclerotic patients. *N. Engl. J. Med.* 308:800, 1983.
28. Ketsa-ard, K. and Dejatiwongse, Q.: Acetylsalicylic acid as an antithrombotic agent. *Siriraj Hospital Gazette* 32:667-664, 1980.
29. Ketsa-ard, K. and Dejatiwongse, Q.: Acetylsalicylic acid as a preventive agent for thrombo-embolic complication of Thalassemia post splenectomy. Abstract of Third Annual Meeting of Pharmacological and Therapeutic Society of Thailand 1981, Mahidol Univ. An. Res. Abs. 1982.
30. Masotti, G., Galanti, G., Poggesi, L., Abbate, R., and Sernerri, G.H.N. Differential inhibition of prostacyclin production and platelet aggregation by aspirin. *Lancet* 2:1213-1216, 1979.
31. Szczeklik, A., Gryglewski, R.J., Grodzinska, L., et al. Platelet aggregability, thromboxane A_2 and malonaldehyde formation following administration of aspirin to man. *Thromb. Res.* 15:405-413, 1979.
32. Ketsa-ard, K., Bedavanija, A. and Nitiyanant, W. New Approach to Medical Treatment and Prevention of Diabetic Retinopathy. Abstract of Second World Conference on Clin. Pharm. U.S.A. 1983.
33. Siess, W., Roth, P., Scherer, B., Kurzmann, I., Bohlig, B., and Weber, P.C. Platelet membrane fatty acids, platelet aggregation and thromboxane formation during a mackerel diet. *Lancet* : 441-444, 1980.
34. Hajjar, D., Weksler B., Falcone, D. et al. Prostacyclin modulates cholesteryl ester hydrolytic activity by its effect on cyclic adenosine monophosphate in rabbit aortic smooth muscle cell. *J. Clin. Invest.* 70 : 479, 1982.

35. Orekhov, A.N., Tertov, V.V., Smirnov, V.N. Prostacyclin analogues as antiatherosclerotic drugs. *Lancet* 2:521, 1983.
36. Hensby, C.N., Barnes, P.J., Dollery, C.T., and Dargie, H. Production of 6-oxo-PGF_{1α} by human lung in vivo. *Lancet* 2:1162-1163, 1979.
37. Mehta, J., Nehta, P., Roberts, A., et al. Comparative effects of nitroglycerin and nitroprusside on prostacyclin generation in adult human vessel wall. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2:625, 1983.
38. Blass, K-E., Block, H-U., Forster, W., Ponicke, K. Dipyridamole : a potent stimulator of prostacyclin (PGI₂) biosynthesis. *Br. J. Pharmacol.* 68:71, 1980.
39. Levin, R.I., Weksler, B.B., Jaffe, E.A. The interaction of sodium nitroprusside with human endothelial cells and platelets : nitroprusside and prostacyclin synergistically inhibit platelet function. *Circulation* 66:1299, 1982.
40. Vermylen, J., Chamone, D.A.F. Verstraete M : Stimulation of prostacyclin release from vessel wall by Bay g 6575, an antithrombotic compound. *Lancet* 1:518, 1979.
41. West, C.E., and Redgrave, T.G. The hazards of polyunsaturated fats. *Int. Lab.* March/April, 45-49, 1975.
42. Hermann, W.J., Ward, K., and Fawcett, J. The effect of tocopherol on high-density lipoprotein cholesterol, *Am. J. Clin. Pathol.* 72:848-852, 1979.
43. Nijkamp F.P. et al Diversion of prostaglandin endoperoxide metabolism by selective inhibition of thromboxane A₂ biosynthesis in lung, spleen and platelets. *Eur. J. Pharmacol.* 44:179-185, 1977.

อภินันทนาการ

จาก

บริษัท ไอสกลสม (เติ็กเองหญฺ) จำกัด

2100 ถนนรามคำแหง กรุงเทพมหานคร ฯ

โทร. 377-7121.31.41.51

TRADITIONAL MEDICINE IN ATHEROSCLEROSIS

ขวัญฤดี เดชาติวงศ์ ณ อยุธยา

ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล

มหาวิทยาลัยมหิดล

Quanrudi Dejatiwongse Na Ayudhya

Department of Pharmacology, Faculty of Medicine Siriraj Hospital,

Mahidol University, Bangkok 10700

SUMMARY

Since recognition of the plasma lipoprotein as the major risk factor of coronary heart disease, search for effective hypolipidemic agents have been extensively performed. Though the pharmaceutical preparations available today are numerous, the search for more effective therapeutic measures and less toxic are still going on with the emphasis on primary prophylaxis for hypercholesterolemia. In this respect, the indigenous preparations are brought up into consideration.

There are reports on many plant extracts which possess some lipid lowering properties both in serum and in tissue. The studies are merely performed on experimental animals fed with high fat diets. These plants included Aloe barbedensis, Ferula foetida, Emblica officinalis, Leguminous seeds, Onion (*Allium cepa*), garlic (*Allium sativum*), plant proteins and fibres. Among those plants, garlic and onion are extensively studied and show convincing results. They seem to possess not only hypolipidemic effect but also protective action against platelet aggregation both in animals and in human subject. The active principle of both garlic and onion is sulfur containing compound, mainly diallyl disulphide and the mechanism of action is claimed to inhibit hydroxymethylglutaryl coenzyme reductase activity.

Since many environmental factors especially diets, could interfere with the determination of serum lipid level, therefore evaluation of the hypolipidemic effects of indigenous preparations must be carefully performed and long term clinical trials are necessary.

ปัจจุบันอุบัติการณ์ของโรคหลอดเลือดหัวใจอุดตันในบ้านเราเพิ่มขึ้นมาก ทั้งนี้เป็นไปได้อาจเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อม โดยเฉพาะอย่างยิ่งเกี่ยวกับอาหาร ถึงแม้ว่าจะมีปัจจัยอื่น ๆ หลายประการแต่ก็เป็นที่ยอมรับว่าภาวะไขมันในเลือดสูงกับการที่มีการจับกลุ่มของเม็ดเลือดอย่างผิดปกติเป็นสาเหตุที่สำคัญ ดังนั้นแนวทางการป้องกันและรักษาจึงมุ่งใช้ยาที่มีฤทธิ์ลดไขมันในเลือด และยาที่มี

ฤทธิ์ป้องกันการจับกลุ่มของเกล็ดเลือดเป็นหลัก ปัจจุบันมียาสังเคราะห์ที่ใช้อยู่แล้วหลายขนาน และที่กำลังศึกษาริวิจัยอยู่เพื่อให้ได้ยาที่มีคุณภาพดีกว่าและมีความปลอดภัยมากขึ้น

สำหรับการใช้ยากกลางบ้าน (traditional medicine) เพื่อลดไขมันในเลือดหรือป้องกันภาวะหลอดเลือดหัวใจตีบนั้น นับว่าใช้กันแพร่หลายน้อยกว่ายารักษาโรคอื่นๆ อย่างไรก็ตามเนื่องจากยาสังเคราะห์ที่ใช้อยู่ในปัจจุบันยังไม่สามารถแก้ปัญหาได้เต็มที่ และยังมีฤทธิ์ไม่พึงประสงค์อยู่ จึงมีผู้สนใจศึกษาริวิจัยยาจากสมุนไพรกันมากขึ้นและก็พบว่าพืชหลายชนิดที่มีฤทธิ์ลดไขมันในเลือดได้ ตัวอย่างพืชที่ได้มีรายงานการศึกษาริวิจัยคือ

มะขามป้อม	<i>Emblica officinalis</i> (1)
มหาหิงส์	<i>Ferula foetida</i> (2)
ว่านหางจระเข้	<i>Aloe barbedensis</i> (3)
เมล็ดกระถิน	<i>Leucaena leucocephala</i> (4)
ถั่วเหลือง	<i>Glycine max</i> (5)
ถั่วแก้ว	<i>Cyamopsis tetragonoloba</i>
ผล guggula	<i>Commiphora mukul</i> (6)
ถั่วดำ	<i>Phaseolus mungo</i> (7)
ถั่วแระ	<i>Cajanus cajan</i> (8)
โสม	<i>Panax ginseng</i> (9)
ลูกขี้ด	<i>Fenugreek seed</i> (10)
สาหร่าย	<i>Scenedesmus acutus</i> (11)
กระเทียม	<i>Allium sativum</i> (12)
หัวหอม	<i>Allium cepa</i> (13)
พริก	<i>Capsicum sp.</i> (14)
โปรตีนจากพืช	<i>Plant protein</i> (15)
เมล็ดแมงลัก	<i>Plantago psyllium</i> (16)
ฯลฯ	

การวิจัยส่วนใหญ่เป็นเพียงการศึกษาเบื้องต้นเท่านั้น โดยทำการศึกษาฤทธิ์ของยาสกัดคือระดับไขมันทั้งในเลือดและในเนื้อเยื่อในสัตว์ทดลอง เช่น หนูและกระต่ายที่ทำให้ระดับไขมันในเลือดสูงโดยให้อาหารไขมัน จำนวนและชนิดของสัตว์ทดลองยังไม่มากพอที่จะสรุปผลได้ อย่างไรก็ตามมีพืชหลายชนิดที่ให้ผลเป็นที่น่าสนใจ และน่าจะได้ทำการศึกษาดูต่อไป เช่น น้ำสกัดว่านหางจระเข้ ซึ่งได้ทำการศึกษาในลิงที่ทำให้ระดับไขมันในเลือดสูงก่อน ผลปรากฏว่าสามารถลดระดับ VLDL และ LDL-Cholesterol ได้ ในขณะที่ระดับ HDL-Cholesterol เพิ่มขึ้นด้วยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งนี้เชื่อว่าสาร Allyl persulphide ซึ่งมีอยู่ในน้ำสกัดเป็นสาเหตุออกฤทธิ์

สำหรับพืชที่มีแนวโน้มว่าจะนำมาใช้เป็นยาลดไขมันในเลือดคือ กระเทียมและหัวหอม เนื่องจากมีรายงานการศึกษาในสัตว์ทดลองหลายชุด และมีการศึกษาบ้างแล้วในคน ผลการวิจัยทั้งในคนและในสัตว์ปรากฏว่า สารสกัดทั้งที่เป็นน้ำมัน (essential oil) และน้ำสกัด ต่างมีฤทธิ์ลดระดับไขมันในเลือดและในเนื้อเยื่อได้ นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ลดปริมาณ fibrinogen ทำให้ fibrinolytic activity เพิ่มขึ้น ระยะเวลาที่เลือดแข็งตัวนานขึ้น และลดการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดได้อีกด้วย (17-20)

สารสำคัญ ที่ออกฤทธิ์ทั้งของกระเทียมและหัวหอม เชื่อว่าเป็น sulphur compound ซึ่งในกระเทียมส่วนใหญ่เป็น diallyl disulphide และในหัวหอมเป็น allyl propyl disulphide กลไกการออกฤทธิ์อาจเกิดจากการเร่งการขับถ่ายสาร sterol ทางอุจจาระเพิ่มขึ้น Qureshi (12) ได้ทำการศึกษาในลูกไก่ พบว่าสารสกัดจากกระเทียมออกฤทธิ์ลดการทำงานของเอนไซม์ HMG-CoA reductase และ fatty acid synthetase ทำให้การสังเคราะห์ cholesterol และ fatty acid ลดลง.

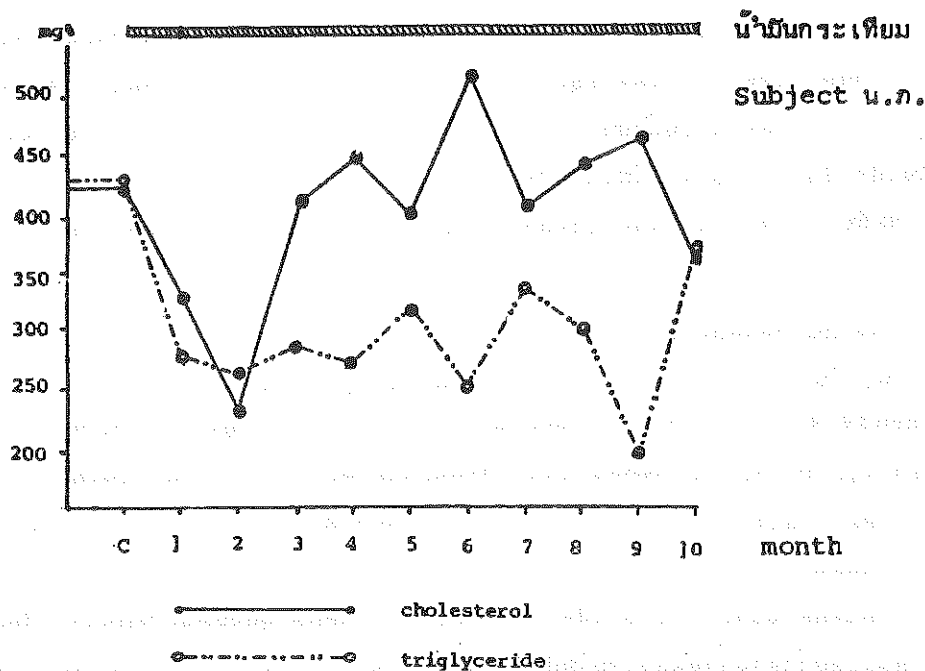
นายแพทย์ มงคล โมกขะสมิต และคณะ⁽²¹⁾ ได้ศึกษาฤทธิ์ของน้ำสกัดกระเทียมในคนปกติ นาน 8 สัปดาห์และพบว่าสามารถลดระดับไขมันในเลือดได้ ทำให้ fibrinolytic activity เพิ่มขึ้น

ผู้เขียนและคณะได้ทำการศึกษาเช่นเดียวกัน โดยใช้น้ำมันกระเทียมใส่แคปซูลให้คนไข้ เบาหวานและโรคความดันโลหิตสูงที่มีระดับไขมันในเลือดสูง กินทุกวันติดต่อกันนาน 6 เดือนถึง 1 ปี กับการศึกษา ผลของน้ำสกัดหัวหอมในคนปกติ นาน 6 สัปดาห์ ผลปรากฏว่าน้ำมันกระเทียมมีฤทธิ์ลดระดับ cholesterol และ triglyceride ในเลือดได้ในช่วง 3 เดือนแรกเท่านั้น หลังจากนั้น ระดับไขมันในเลือดกลับสูงขึ้นอีก ดังตัวอย่างคนไข้ 1 ราย (กราฟรูปที่ 1) ส่วน triglycerides ยังคงลดลงต่อไปอีกจนถึงประมาณเดือนที่ 9

น้ำสกัดหัวหอมในคนปกติ ไม่มีผลต่อทั้งระดับไขมัน, fibrinolytic activity และการจับกลุ่มของเกล็ดเลือด แม้ผู้นั้นจะมีการจับกลุ่มของเกล็ดเลือดที่มากกว่าปกติอยู่ก่อนแล้วก็ตาม ผลการศึกษาครั้งนี้จึงต่างไปจากที่มีผู้รายงานไว้ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากหัวหอมที่ใช้ในการศึกษานี้ เป็นชนิด *Allium ascalonicum* L. ไม่ใช่ *Allium cepa* L. ปริมาณสารสำคัญที่มีอยู่อาจแตกต่างกัน และในการศึกษา ครั้งนี้ทำในอาสาสมัครเพียง 10 คน ผู้รายงานจะได้ทำการศึกษานี้ในโอกาสต่อไป

ดังนั้น การที่จะนำสารสกัดกระเทียมและหัวหอมมาใช้ป้องกันและรักษาภาวะไขมันสูงหรือ หลอดเลือดแข็งได้หรือไม่ คงจะต้องรอผลการวิจัยทั้งในคนและสัตว์ต่อไป ซึ่งในขณะนี้เชื่อว่ามีนักวิจัย หลายกลุ่มกำลังทำการศึกษอยู่ และคงจะได้ข้อมูลประกอบการพิจารณาเพิ่มขึ้นในภายหน้า

สารอีกพวกหนึ่งที่น่าสนใจพบที่สำคัญต่อไปคือ polyunsaturated fatty acid โดยเฉพาะ eicosapentanoic acid ซึ่งจากการสังเกตว่า ชาวเอสกิโม แถบกรีนแลนด์ เป็นโรคหัวใจน้อยมาก เชื่อว่า eicosapentanoic acid ซึ่งมีอยู่ในน้ำมันปลาเป็นตัวการที่สำคัญ eicosapentanoic acid เป็นต้นตอของ PGI_3 และ TXA_3 จึงเชื่อว่ามีฤทธิ์ต่อการจับกลุ่มของ



รูปที่ 1 ผลของน้ำมันกระเทียมต่อระดับไขมันในเลือดในผู้ป่วย 1 ราย

เกล็ดเลือด Woodcock และคณะได้ศึกษาคนไข้ที่มีอาการของเส้นเลือดอุดตันปลายทาง พบว่าน้ำมันปลาทำให้อาการดีขึ้น และยังมีผลลดความหนืดของเลือดด้วย⁽²²⁾

สำหรับการวิจัยที่เกี่ยวกับ เมตะบอลิซึมของไขมัน มีสิ่งหนึ่งที่เราควรกล่าวถึงก็คือ ปัญหาของสิ่งแวดล้อมต่างๆ ที่มีอิทธิพลต่อระดับไขมันในเลือด ซึ่งถ้าหากผู้ทำการวิจัยไม่ได้คำนึงถึงและไม่ได้ควบคุมให้ดีพอ อาจทำให้การประเมินผลผิดไปได้ ตัวอย่างปัจจัยเหล่านี้คือ

1. อาหาร เป็นที่ทราบกันดีอยู่แล้วว่ามีความสำคัญที่สุด ตัวอย่าง เช่นอาหารประเภทไข่, กุ้ง, หอย, เครื่องในสัตว์ และไขมันจากสัตว์ เพิ่มระดับ Total cholesterol ในเลือดได้ดี ในขณะที่อาหารพวก carbohydrate จะเพิ่มปริมาณ triglyceride แต่ก็มีอาหารบางอย่างที่มีผลลดระดับไขมันในเลือดได้ เช่น polyunsaturated fatty acid ซึ่งส่วนใหญ่เป็นกรดไขมันจากพืช, โปรตีนจากพืช⁽²³⁾ และกากอาหาร⁽²⁴⁾ เป็นต้น

2. เครื่องดื่ม มีผู้รายงานว่า การดื่มกาแฟเพิ่มระดับ triglyceride⁽²⁵⁾ ในเลือด สำหรับแอลกอฮอล์ ถ้ากินปริมาณมากทำให้ระดับ triglyceride เพิ่มขึ้น โดยเฉพาะ VLDL⁽²⁶⁾ แต่ก็มีผลการศึกษาว่าแอลกอฮอล์มีผลเพิ่มระดับ HDL⁽²⁷⁾ ได้ด้วย ทั้งนี้คงขึ้นอยู่กับปริมาณและระยะเวลาที่ดื่ม

3. วิตามินและเกลือแร่บางอย่าง นอกจาก Nicotinic acid แล้ว มีรายงานว่า Vitamin C, ⁽²⁸⁾ Vitamin D ⁽²⁹⁾ และ Silicon ⁽³⁰⁾ อาจมีผลต่อระดับ cholesterol ในเลือดได้
4. อายุ เพศ, และระดับฮอร์โมน พบว่า estrogen ทำให้ HDL ⁽³¹⁾ เพิ่มขึ้น ในขณะที่ androgen ⁽³²⁾ ลด
5. การออกกำลังกาย มีผลทำให้ HDL เพิ่มขึ้น ⁽³³⁾ ในขณะที่คนอ้วนมากๆ ระดับ HDL จะลดลง
6. ภาวะที่เป็นโรคต่างๆ ที่มีผลต่อเมตาบอลิซึมของไขมัน เช่นโรคเบาหวาน, ความดันโลหิตสูง, โรคไต และโรคของต่อมไทรอยด์ เป็นต้น

เอกสารอ้างอิง

1. Thakur C.P. and Manuall K. Effect of Emblica officinalis on cholesterol induced atherosclerosis in rabbits. Indian J Med Res 79:142-6, 1984.
2. Bordia A., and Arora S.K. The effect of essential oil (active principle) of Asafoetida on alimentary lipemia. Indian J Med Res 65:707-11, 1975.
3. Dixit V.P. and Suresh Joshi. Effect of Aloe barbedensis and clofibrate on serum lipids in frition-induced hyperlipidaemia in Presbytis monkeys. Indian J Med Res 78:417-21, 1983.
4. Singhal P.C., et al. Preliminary studies on hypoglycaemic and hypocholesterolemic activities of Leucaena leucocephala (Lam) de Wit. Indian J Med Res 76 (Suppl) : 119-23, 1982.
5. Schwandt P. et al. Soy-bean protein and Serum cholesterol (Letter) Atherosclerosis 40:371-2, 1981.
6. Arora R.B. et al. Effect of some fractions of Commiphora mukul on various serum lipid levels in hypercholesterolemic chicks and their effectiveness in myocardial infarction. Indian J Exp Biol 11:166-8, 1973.
7. Menon PV. et a. Hypolipidaemic action of the polysaccharide from Phaseolus mungo (blackgram) effect on lipid metabolism. Indian J Biochem Biophys 13:46-8, 1976.
8. Prema L. et al. Hypolipidaemic activity of the protein isolated from Cajanus cajan in high fat-cholesterol diet fed rats. Indian J. Biochem Biophys 10:393-6, 1973.

9. Ando T. et al. Preparation of anti-lipolytic substances from *Panax ginseng*. *Planta Med.* 38:18-23, 1980.
10. Valette G. et al. Hypocholesterolemic effect of fenugreek seeds in dogs. *Atherosclerosis* 50:105-11, 1984.
11. Rolle I, et al. The cholesterol-lowering effect of the unicellular green algae *Scenedemus acutus* 276-3a I. *Natur Metab.* 24:291-301, 1980.
12. Qureshi AA. et al. Inhibition of cholesterol and fatty acid biosynthesis in liver enzymes and chicken hepatocytes by polar fractions of garlic. *Lipids* 18:343-8, 1983.
13. Sebastian KL. et al. The hypolipidemic effect of onion (*Allium cepa* Linn.) in sucrose fed rabbits. *Indian J Physiol Pharmacol* 23:27-30, 1979.
14. Sambaiah K. et al. Hypocholesterolemic effect of red pepper & capsaicin. *Indian J Exp. Biol* 18:898-9, 1980.
15. Mokady S. et al. Effect of plant protein on cholesterol metabolism in growing rats fed atherogenic diets. *Ann-Nuher Metab.* 26:138-44, 1982.
16. Prati-Munari A.C. et al. Decrease in serum lipids, glycemia and body weight by plantago psyllium in obese and diabetic patients. *Arch. Invest. Med.* 14:259, 1983.
17. Gupta, N.N. et al. Effect of onion on serum cholesterol, blood coagulation factors and fibrinolytic activity in alimentary lipemia. *Indian J Med Res* 54:48, 1966.
18. Nagda KK. et al. Effect of onion and garlic on blood coagulation and fibrinolysis in vitro. *Indian J Physio Pharmacol* 27:141-5, 1983.
19. Phillips C. et al. Inhibition of platelet aggregation by onion extracts (letter). *Lancet* 1:1051-2, 1978.
20. Makheja AN et al. Inhibition of platelet aggregation and thromboxane synthesis by onion and garlic (letter) *Lancet* 1:781, 1979.
21. มงคล โมกษะสมิต และคณะ การศึกษาสรรพคุณของกระเทียมทางคลินิก วารสารกระทรวงสาธารณสุข ปีที่ 2 ฉบับที่ 7 กรกฎาคม 2526.
22. Woodcock BE, et al. Beneficial effect of fish oil on blood viscosity in peripheral vascular disease. *Br Med J.* 288:592-4, 1984.

23. Sirtori, C.R., E. Agradi, F. Conti, O. Man-Tero and E. Gatti. Soybean-protein diet in the treatment of type II hyperlipoproteinaemia. *Lancet* 1:275, 1977.
24. Kay, R.M., and A.S. Truswell. Effect of citrus pectin on blood lipids and fecal sterol excretion in man. *Am. J. Clin. Nutr.* 30:17, 1977.
25. Naismith, D.J., P.A. Akinyanju, S. Szanto and J. Yudkin. The effect in volunteers of coffee and decaffeinated coffee on blood glucose, insulin, plasma lipids and some factors involved in blood clotting. *Nutr. Metabol.* 12:144, 1970.
26. Sirtori, C.R., E. Agradi, C. Mariani, N. Canal and L. Frattola. Alcoholic hyperlipidaemia. *Lancet* 2:820, 1972.
27. Castelli, W.P., J.T. Doyle, T. Gordon, G.C. Hames, M. Hjortland, S.B. Hulley, A. Kagan and W.J. Zukel. Alcohol and blood lipids. *Lancet* 2:153, 1977.
28. Hodges, R.E., J. Hood, J.E. Canham, H.E. Sauberlich and E.M. Baker. Clinical investigations of ascorbic acid deficiency in Men. *Am. J. Clin. Nutr.* 24:432, 1971.
29. Curcic, V.G., and B. Curcic. Effect of vitamin D on serum cholesterol and arterial blood pressure. *Nutrition & Metabolism* 18:57, 1975.
30. Schwarz, K. Silicon, fibre and atherosclerosis *Lancet* 1:454, 1977.
31. Oliver, M.F., and G.S. Boyd. Influence of reduction of serum lipids on prognosis of coronary heart-disease. A five-year study using oestrogen. *Lancet* 2:499, 1961.
32. Solyom, A. Effect of androgens on serum lipids and lipoproteins. *Lipids* 7:100, 1972.
33. Lopez-S, A., R. Vial, H. L. Balart, G. Arroyave. Effect of exercise and physical fitness on serum lipids and lipoproteins. *Atherosclerosis* 20:1, 1974.

อธิบดีกรมการ จาก

ห้างหุ้นส่วนจำกัด ชัชชัย

45/58 ซอยศรีนครพัฒนา ถนนสุขาภิบาล 1 แขวงคลองกุ่ม
เขตบางกะปิ กทม. 10240 โทร. (02) 374-7048, 374-1877

รับสั่งและจำหน่าย

- เครื่องแก้วและอุปกรณ์วิทยาศาสตร์
- เคมีภัณฑ์ทั่วไปสำหรับห้องทดลอง
- เคมีภัณฑ์วิจัยสำหรับงานเฉพาะอย่าง
- เคมีภัณฑ์วิจัยของ **SIGMA CHEMICAL COMPANY**
ALDRICH CHEMICAL COMPANY
MAKOR CHEMICAL LTD.
- **USP STANDARD CHEMICALS & TOXINS**

เพื่อสุขภาพ ของลูกน้อย



สำหรับลูกน้อย...
การเจริญเติบโตทั้งทางร่างกาย
และสติปัญญา คือสิ่งที่สำคัญที่สุด
สำหรับชีวิตในวัยเด็ก วัยเด็กจึง
ต้องการสารอาหารที่ครบถ้วนเพื่อ
เสริมสร้างร่างกายให้เติบโตใหญ่
แบนเนอร์โปรตีน ไซรัป เป็น
อาหารเสริมโปรตีนจากสหรัฐอเมริกา

เริ่มให้ลูกน้อยรับประทาน
แบนเนอร์โปรตีน ไซรัป...วันนี้
เพื่อสุขภาพของลูกน้อย

ประกอบด้วย อมิโนแอซิด
ที่จำเป็นครบทุกชนิด ในรูปของ
เลโว-ฟอรีม แบนเนอร์โปรตีน
ไซรัป รับประทานง่าย
ร่างกายดูดซึมไปใช้ประโยชน์
ได้รวดเร็ว เหมาะสำหรับเด็ก
ที่อยู่ในวัยเจริญเติบโต

