



วารสารเภสัชวิทยา

THAI JOURNAL OF PHARMACOLOGY

ISSN 0125 - 3832

ก.ค. - ธ.ค. 2528

ปีที่ 7 เล่มที่ 3, 4

JUL. - DEC. 1985

VOL. 7 NO. 3, 4



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 ทวีตยานนท์	Danis Davitiyananta
ผู้รั้งตำแหน่งนายก	President Elect
รศ. ดร. จุฑามาต สัตยวิวัฒน์	Jutamaad Satayavivad
เลขาธิการ	Secretary-General
ภญ. ดร. ชวนี ทองโรจน์	Chavanee Tongroach
เหรัญญิก	Treasurer
พ.ศ.หญิง สุเพ็ญ ภักธกิจวานิช	Supen Patarakitvanit
ปฎิคม	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 กลางกัลยา	Borpit Klangkalya
กรรมการ	Member
รศ. นพ. ไพโรจน์ ศิริวงษ์	Pairojana Sirivongs
ผศ. ภญ. อุษา หงส์วาริวัฒน์	Usana Hongvareewat
รศ. ดร. อรพรรณ มาตังคสมบัติ	Oraphan Matangkasombat
ภก. ดร. ปกดี โพธิศิริ	Pakdee Pothisiri
ผศ. พญ. นงลักษณ์ ชินสมบุญ	Nonglux Chinsomboon
ดร. อุดม จันทราภิรักษ์ศรี	Udom Chantharaksri

วารสารเภสัชวิทยา

THAI JOURNAL OF PHARMACOLOGY

ปีที่ 7 เล่มที่ 3-4 ก.ค.-ธ.ค. 2528

Vol. 7 No.3-4 Jul.-Dec.1985

สารบัญ CONTENTS

รายงานวิจัย ORIGINAL ARTICLE

- 61ฤทธิ์ของยาลดอัตราการเต้นหัวใจ-หลอดเลือดและสารออกฤทธิ์สำคัญ :
การศึกษาเปรียบเทียบกับดิจิตาลิส
จنگกล เทียงคำห์ และ วิภา ศิลปอาษา

บทความปริทัศน์ REVIEW ARTICLE

- 79 Update on the Mechanism of Action of Antidepressant Drugs
Chainarong Cherdchu
- 99 Prostaglandins : Gastrointestinal Research
ฉวีวรรณ พฤษสุนันท์
- 112 บทคัดย่อผลงานวิจัยที่เสนอในที่ประชุมวิชาการครั้งที่ 8
ของสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย
- 125 ตรรथณี เรื่อง
- 127 ตรรथณีผู้พิมพ์

วารสารเภสัชวิทยา

THAI JOURNAL OF PHARMACOLOGY

Vol. 7 No. 3-4 July-Dec. 1982

ปีที่ ๗ ฉบับที่ ๓-๔ กรกฎาคม-ธันวาคม ๒๕๒๕

การสัมมนาระดับชาติ เรื่อง "ยาเสพติดแก้ปวดชนิดไม่เสพติดในปัจจุบัน"

วันที่ 10-11 พฤศจิกายน 2529 ณ ห้องประชุมธนาคารกสิกรไทย สำนักงานใหญ่

จัดโดย

สมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทยร่วมกับกระทรวงสาธารณสุข

รายละเอียดติดต่อ : ญญ.สุบุญญา หุตังคบดี กองวิชาการ สำนักงาน-

คณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข กทม.10200

โทร.282-4180-5 ต่อ 24, 37

ฤทธิ์ของยี่โถต่อระบบหัวใจ-หลอดเลือดและสารออกฤทธิ์สำคัญ การศึกษาเปรียบเทียบกับดิจิตาลิส

จงกล เทียงดาห์ และ วีณา ศิลปอาชา

ภาควิชาเภสัชวิทยาและภาควิชาเภสัชวิทยาจักษุ คณะเภสัชศาสตร์

มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพฯ 10400

CARDIOVASCULAR ACTIONS AND ACTIVE CONSTITUENTS OF NERIUM OLEANDER L. : A COMPARATIVE STUDY WITH DIGITALIS

Chongkol Tiangda and Weena Silpa-archa

Departments of Pharmacology and Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy
Mahidol University, Bangkok 10400

ABSTRACT

The chloroform extract of the leaf and the bark of *Nerium oleander* L. was tested for cardiac glycosides using Liebermann Burchard test, Kedde's reagent and Keller-Killiani's test which gave positive result indicating the existence of cardiac glycosides in the extract. Further identification of cardiac glycosides in the chloroform and alcohol extracts by thin layer chromatography using silica gel G and silica gel GF 254 (50:50) as adsorbent, ethyl acetate/methanol/H₂O (75/10/7) as solvent systems and 50% H₂SO₄ as sprayer showed many coloured spots, one of them had R_f value near reference cardiac glycoside, oleandrin.

The biological assay of cardiac glycosides in the leaf and the bark of *Nerium oleander* L. by guinea-pig method according to BP 1980 showed that total cardiac glycosides in term of oleandrin was 0.37 and 0.44 per cent, respectively. The potency of cardiac glycosides in the leaf as compared to digitalis was 0.95, and in the bark was 1.14 which suggested that cardiac glycosides in the bark of *Nerium oleander* L. were more potent than those in the leaf and in digitalis.

The action of cardiac glycosides in the leaf and in the bark of *Nerium oleander* L. on the right ventricular strip of guinea-pig *in vitro*

was similar to the action of digitalis, that is, they possessed cardiotoxic action at low doses, and toxic action was produced at high doses, as shown by contracture. The infusion of diluted alcoholic extract into the vein of guinea-pig *in vivo* produced similar changes in the electrocardiogram recorded in the animal.

ยี่โถ (*Nerium oleander* L.) เป็นพืชที่ปลูกกันแพร่หลายใช้เป็นไม้ประดับ ตามตำรับยาแพทย์แผนโบราณของไทย (1) มีข้อบ่งใช้เป็นยาบำรุงหัวใจ ทำให้ชีพจรเต้นเร็วและดีขึ้น และหนังสือพรรณไม้ของฟิลิปปินส์ (2) ได้อ้างถึงงานของ Aymack, Warden และ Hooper ซึ่งกล่าวว่ายาชงจากผลยี่โถใช้เป็นยาขับปัสสาวะและบำรุงหัวใจแทน ดิจิตาลิส ได้ นอกจากนั้นยังปรากฏในตำรับยาของ เม็กซิกันและฝรั่งเศสด้วย ในอินเดียใช้ใบคั้นกลั่นเอาสารบวม (3) ในญี่ปุ่นใช้เป็นยาบำรุงหัวใจ (4) มีผู้พบว่าในใบและเปลือกมีสารที่มีคุณสมบัติทางเคมีและเภสัชวิทยาคล้าย cardiac glycosides รวมทั้งอาการพิษที่เกิดจากการรับประทานใบยี่โถก็คล้ายคลึงกัน (5) cardiac glycosides สำคัญที่มีในใบยี่โถคือ oleandrin (folinerin) ซึ่งมีผู้นำมาทดลองใช้รักษาผู้ป่วยโรคหัวใจวาย (6,7) พบว่าได้ผลดี ผู้ป่วยทนต่อยาได้ดี ชีพจรเต้นช้าลงและปัสสาวะเพิ่มขึ้น ในประเทศไทยสมัยสงครามโลกครั้งที่สอง ซึ่งมีความขาดแคลนถึงเจอรดิจิตาลิส นายแพทย์ เสนอ ตัณฑเศรษฐี แห่งวชิรพยาบาลได้ศึกษาผลการขับปัสสาวะของทิงเจอร์ใบยี่โถในผู้ป่วยชาย 2 ราย ที่ได้ออกเสบและมีการบวม พบว่าได้ผลเป็นที่น่าพอใจ (8) ซึ่งแสดงว่าอาจนำยี่โถมาใช้แทน ดิจิตาลิสได้ แต่การนำมาใช้ทางคลินิกจำเป็นต้องทราบปริมาณของ cardiac glycosides ที่มีในผงยาให้แน่นอน เพื่อจะได้จัดขนาดยาสำหรับผู้ป่วยให้ถูกต้อง และมีความปลอดภัยในการใช้ ถึงแม้ว่ามีผู้ทำการศึกษาเรื่องนี้มาบ้างแล้ว (9) แต่วิธีที่ใช้ในการหาปริมาณของ cardiac glycosides นั้นได้ดัดแปลงจากวิธีมาตรฐานไปบ้าง และใช้ยาชงของใบยี่โถชนิดกลีบดอกซ้อน (ซึ่งเป็น *Nerium indicum* Mill.) ดังนั้นการวิจัยที่จึงได้หาปริมาณของ cardiac glycosides ที่มีในใบและเปลือกยี่โถชนิดกลีบดอกสีแดง กลีบชั้นเดียว (*Nerium oleander* L.) ด้วยวิธีมาตรฐานของ BP 1980 (10) และเปรียบเทียบกับผงดิจิตาลิสมาตรฐาน พร้อมกับหาสารสำคัญที่มีในใบและเปลือกยี่โถชนิดนี้ และเปรียบเทียบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาระหว่างยี่โถที่ปลูกในประเทศไทยกับดิจิตาลิส ในด้านการเพิ่มแรงบีบตัวของหัวใจและการเกิดพิษโดยใช้ right ventricular strip ของหนูตะเภา

วิธีการทดลอง

การวิจัยนี้ใช้ยี่โถชนิดดอกสีแดงกลีบชั้นเดียว อายุประมาณ 10 ปี ปลุกที่ประชาชน
กรุงเทพฯ ส่วนที่นำมาใช้ในการวิจัยคือใบและเปลือก ซึ่งอาจแบ่งงานวิจัยออกเป็น 4 ส่วน ได้แก่
การแยกสกัดสารสำคัญ, การทดสอบทางพิษเคมี, การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดทางเภสัชวิทยา และ
การหาปริมาณ cardiac glycosides

1. การแยกสกัดสารสำคัญในใบและเปลือกยี่โถ

1.1 การสกัดใบและ เปลือกยี่โถด้วยน้ำและการทำเป็นน้ำสกัดแห้ง

นำใบและเปลือกมาอบให้แห้งที่ 55°C นาน 24 ชม. บดให้เป็นผง ซึ่งผงยา
บดมา 100 กรัม เติมน้ำครบนหนึ่งลิตร ตั้งบนหม้ออังไอน้ำนาน 2 ชม. คนเป็นครั้ง-
คราว แล้วตั้งทิ้งจนได้อุณหภูมิห้อง กรองผ่านผ้าขาวบาง และนำสารละลายที่กรองได้
ตั้งทิ้งในตู้เย็นค้างคืน เทส่วนที่ใสมารองผ่าน Bushner funnel ส่วนใสที่ได้นำมา
เข้าเครื่อง lyophilizer เพื่อลดน้ำออกจนแห้งเป็นผง ซึ่งจะได้ผงยาสกัดแห้งเก็บ
ไว้ใน desiccator ที่อุณหภูมิห้อง (25°C) เพื่อใช้ในการทดสอบทางเภสัชวิทยา
ต่อไป

1.2 การสกัดสารสำคัญด้วยตัวทำละลายอินทรีย์

1.2.1 สารสกัดคลอโรฟอร์ม สกัดใบและเปลือกยี่โถแห้งที่บดละเอียดแล้วด้วยคลอ-
โรฟอร์ม โดยการสกัดแบบต่อเนื่องด้วยเครื่อง Soxhlet และนำไประเห
จนแห้ง เพื่อใช้ทดสอบทางเคมีขั้นต้นด้วย phytochemical screening
และ thin-layer chromatography (TLC)

1.2.2 สารสกัดแอลกอฮอล์ สกัดด้วยแอลกอฮอล์ตามวิธีของ BP 1980 (10)
เก็บน้ำยาสกัดไว้ในตู้เย็น เพื่อใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณ cardiac
glycosides ต่อไป

2. การทดสอบทางเคมี

2.1 phytochemical screening

ตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของสารสำคัญที่มีในใบและเปลือกยี่โถ โดยใช้ปฏิกิริยาการเกิดสี นำสารสกัดคลอโรฟอร์มจากข้อ 1.2.1 มาทำการทดสอบ steroidal moiety ด้วย Liebermann Burchard test ทดสอบ unsaturated lactone ring ด้วย Kedde's reagent และทดสอบ deoxysugar ด้วย Keller-Killiani's test

2.2 thin-layer chromatography (TLC) ของยี่โถ (ใบและเปลือกลำต้น)

นำสารสกัดคลอโรฟอร์มจากใบและ เปลือกลำต้นยี่โถ (ข้อ 1.2.1) และสารสกัดแอลกอฮอล์จากใบดิจิตาลิสและจากใบและ เปลือกลำต้นยี่โถ (ข้อ 1.2.2) มาตรวจสอบหาสารสำคัญด้วยวิธี TLC โดยเปรียบเทียบค่า Rf's value กับ oleandrin, digitoxin และ digoxin ซึ่งมีเงื่อนไขดังนี้ adsorbent : silica gel G และ silica gel GF₂₅₄ ในอัตราส่วนเท่ากัน ; solvent system : ethyl acetate/methanol/H₂O (75/10/7) ; detection : UV.

3. การทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสกัด

ทดสอบฤทธิ์ cardiotonic action และ toxicity *in vitro* โดยใช้ right ventricular strip ของหนูตะเภา ขนาดประมาณ 2 x 5 มม. แช่เนื้อเยื่อในน้ำยา Tyrode ใน isolated organ bath ที่ 35°C ขนาด 20 มล. ซึ่งมี O₂ 95% และ CO₂ 5% ผ่านตลอดเวลา ให้ preload ประมาณ 0.5-0.75 กรัม และกระตุ้นด้วยไฟฟ้า 5-8 โวลต์ ความถี่ 1 ครั้ง/วินาที duration 0.5 msec. รอจนกระทั่งได้ความแรงในการบีบตัวคงที่ ซึ่งจะใช้เวลาประมาณ 30 นาที แล้วกระตุ้นต่อไปอีกระยะหนึ่งประมาณ 1-1.5 ชม. ซึ่งจะทำให้ความแรงในการบีบตัวลดลงประมาณ 40-50% เพื่อให้หัวใจอยู่ในภาวะ failure ก่อน แล้วจึงดำเนินการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากใบและเปลือกยี่โถจากข้อ 1.1 เปรียบเทียบกับสารสกัดจากใบดิจิตาลิส โดยนำผงยาสกัดแห้งมาละลายในน้ำกลั่นก่อนให้ได้ความเข้มข้น 5 มก./มล. หยคน้ำยาครั้งแรกในขนาด 0.1 มล. รอจนเห็นผลคงที่ แล้วจึงเพิ่มขนาดของยาครั้งละ 0.1 มล. จนกระทั่งได้ผลสูงสุด

4. การหาปริมาณ cardiac glycosides

นำสารสกัดแอลกอฮอล์ จากข้อ 1.2.2 มาทำให้เจือจางด้วย normal saline 1:7 ซึ่งจะเหลือความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ไม่เกิน 10% และนำมาวิเคราะห์หาปริมาณ cardiac glycosides โดยใช้ guinea-pig method ตาม BP 1980 (10) โดยใช้ digitalis powder DAB 8 ซึ่งมี digitoxin 8.38 มก./ก. และ oleandrin เป็น reference standard วัด EKG Lead II และบันทึกผลด้วยเครื่อง Dynograph (Beckman, Type R 411) ให้น้ำยาสกัดทาง external jugular vein ด้วยอัตราคงที่สม่ำเสมอ 0.2 มล./นาที่ โดยใช้เครื่อง perfusion pump (Sage Instruments, Model 351) จนกระทั่งหัวใจหยุดเต้น (EKG เป็นเส้นตรง) อ่านปริมาตรน้ำยาสกัดที่ใช้คำนวณเป็น มล./กก. ของน้ำหนักหนูตะเภา ซึ่งถือเป็น lethal dose คำนวณหาค่า potency ratio ของ unknown/standard และ fiducial limit ตาม BP 1980, Appendix XIV O (หน้า A 160 - A 161)

ผลการวิจัย

1. ผลการแยกสกัดสารสำคัญ

ผลการเตรียมน้ำสกัดแห้งจากใบและเปลือกยี่โถ และจากใบดิจิตาลิส

การสกัดใบและเปลือกยี่โถด้วยน้ำแล้วนำมาระเหยแห้งโดยวิธี lyophilization ปรากฏว่าจากผงใบยี่โถ, ผงเปลือกยี่โถ และผงดิจิตาลิสมาตรฐาน 1 กรัม ได้ผงสกัดแห้ง 0.527, 0.162 และ 0.090 กรัม ตามลำดับ

2. ผลการทดสอบทางเคมี

2.1 phytochemical screening จากสารสกัดคลอโรฟอร์มของใบและเปลือกยี่โถ

การทดสอบโดยใช้ปฏิกิริยาทางเคมีพบว่า Liebermann Burchard test ได้สีม่วง Kedde's reagent ได้สีม่วงแดง และ Keller-Killiani's test ได้วงแหวนสีแดงตรงรอยต่อระหว่างชั้นและสารละลายชั้นบนมีสีเขียว ซึ่งเป็นผลบวกทั้ง-

หมด แสดงว่ามีsteroidal moiety, unsaturated lactone ring และ deoxy-sugar เป็นส่วนประกอบของสารสกัดในใบและเปลือกยี่โถ

2.2 thin-layer chromatography

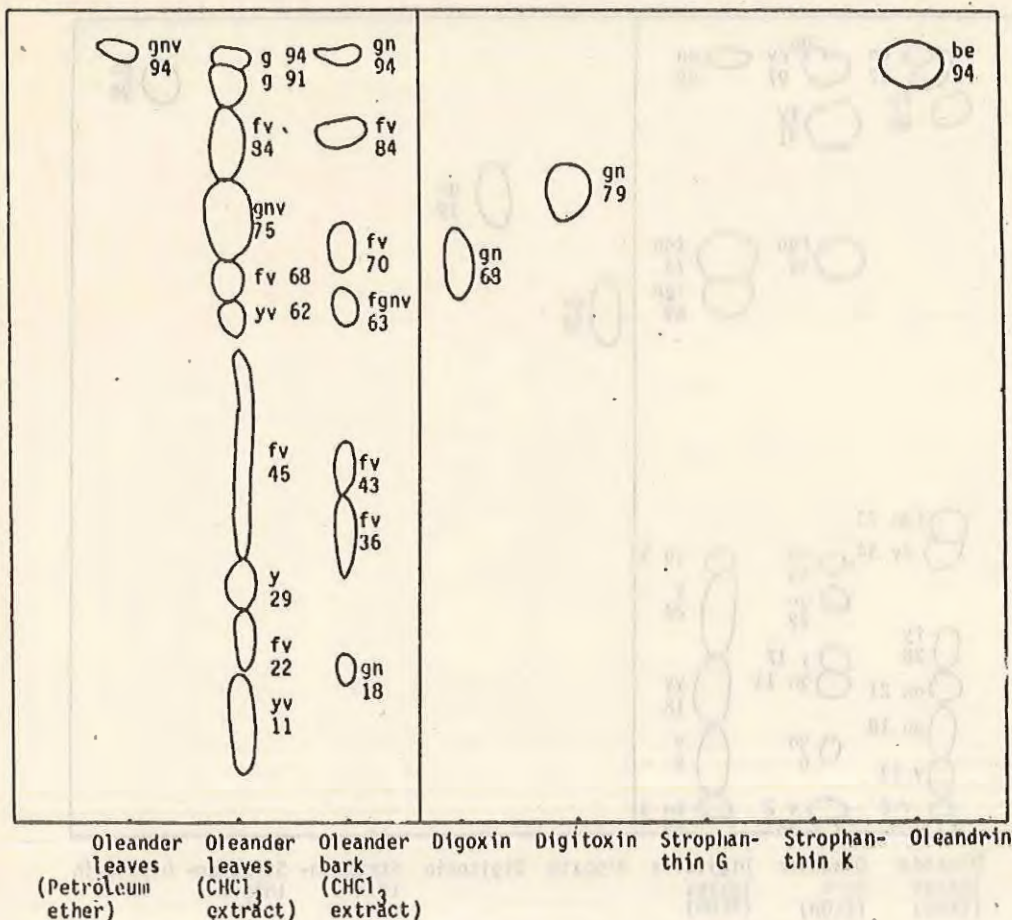
หลังจากพ่น chromatogram ของสารสกัดคลอโรฟอร์มและแอลกอฮอล์จากใบและเปลือกยี่โถด้วย 50% H_2SO_4 ในเมทานอล พบว่ามีจุดสีต่างๆ และได้ค่า R_f ดังปรากฏในรูปที่ 1 และ 2 ตามลำดับ

3. ผลการทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสกัด

ผลการทดสอบ cardiotonic action

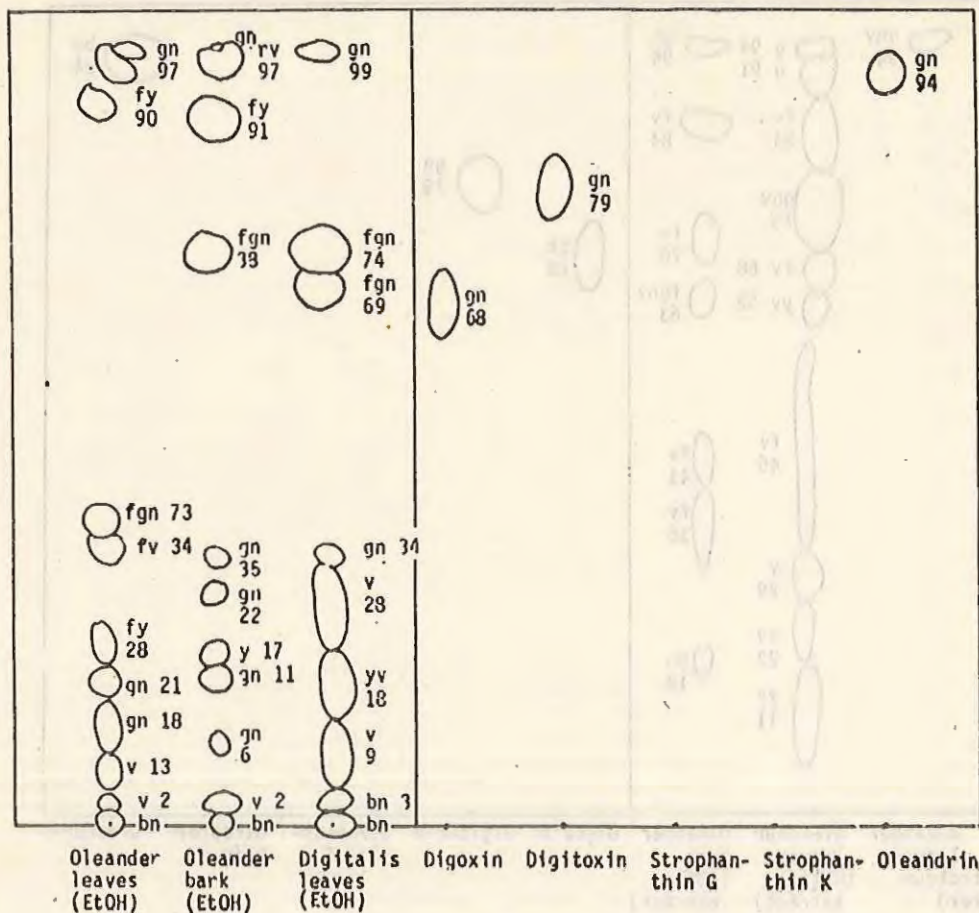
เมื่อหยดสารสกัดจากใบและเปลือกยี่โถลงใน isolated organ bath และวัดความแรงในการบีบตัวที่เวลา 5, 10, 15, 30, 45, 60, 75 และ 90 นาที พบว่ามีฤทธิ์เพิ่มแรงบีบตัวของหัวใจ โดยออกฤทธิ์ได้เร็วหลังได้รับยาประมาณ 5 นาที เกิดฤทธิ์สูงสุดในเวลาประมาณ 50 นาที และมีฤทธิ์อยู่ได้นาน แม้หลังเวลา 90-120 นาที ก็ยังมีแรงบีบตัวสูงกว่า control ก่อนได้รับยา (รูปที่ 3)

สารสกัดจากเปลือกยี่โถ 0.05 มล. มีผลเพิ่มแรงบีบตัวน้อยมาก และเพิ่มแรงบีบตัวได้สูงสุดเมื่อใช้ 0.1 มล. (เท่ากับ 0.025 มก. ของผงน้ำสกัดแห้ง/มล.ของน้ำยา Tyrode หรือ 0.155 มก. ของเปลือกยี่โถบด/มล. ของน้ำยา Tyrode) ซึ่งสามารถเพิ่มแรงบีบตัวของหัวใจได้ถึง $258.2 \pm 54.0\%$ ($n = 10$) การเพิ่มขนาดของยาอีก 0.1 มล. ไม่ทำให้แรงบีบตัวเพิ่มขึ้นแต่กลับลดลง พร้อมกับเกิด contracture และ ventricle หยุดเต้นในที่สุด (รูปที่ 4) ส่วนสารสกัดจากใบในขนาด 0.1 มล. เท่ากับสารสกัดจากเปลือกเพิ่มแรงบีบตัวได้น้อยมากเพียงประมาณ 16% ต้องเพิ่มขนาดของยาจนถึง 0.5 มล. (คือ 0.125 มก. ของผงน้ำสกัดแห้ง/มล.ของน้ำยา Tyrode หรือ 0.237 มก. ผงใบยี่โถบด/มล. ของน้ำยา Tyrode) จึงเพิ่มแรงบีบตัวได้สูงสุดที่ $246.8 \pm 37.6\%$ ($n = 6$) การเพิ่มขนาดของยาให้ผลเช่นเดียวกับสารสกัดจากเปลือก คือเกิด contracture และหัวใจหยุดเต้นในที่สุด



รูปที่ 1 TLC ของสารสกัดคลอโรฟอร์มจากเปลือกลำต้นและใบยี่โถเทียบกับ references (digoxin, digitoxin, oleandrin) ตัวเลขใน chromatogram คือค่า hR_f 's value (เท่ากับ $100 \times R_f$'s), solvent system : EtOH/MeOH/H₂O (75/10/7); adsorbent : silica gel G + silica gel GF²⁵⁴ 1:1 (be = blue, bn = brown, g = grey, gn = green, r = red, y = yellow, yv = yellow-violet, rv = red-violet, gnv = green-violet, f = faint)

สารสกัดจากใบดิจิตาลิสออกฤทธิ์ช้ากว่าสารสกัดจากยี่โถ คือเห็นผลหลังได้รับยา 10 นาที และจะเห็นฤทธิ์สูงสุดในเวลาประมาณ 50 นาทีเช่นกัน การให้ยา 0.1 มล. ไม่ทำให้แรงบีบตัวเพิ่มขึ้น แต่เมื่อเพิ่มเป็น 0.2 มล. สามารถเพิ่มแรงบีบตัวได้เล็กน้อย การเพิ่มขนาดของยาเป็น 0.3 มล. (เท่ากับ 0.075 มก. ของผงน้ำสกัดแห้ง/มล. น้ำยา Tyrode หรือ 0.833 มก. ผงดิจิตาลิส/มล. น้ำยา Tyrode) จะได้แรง

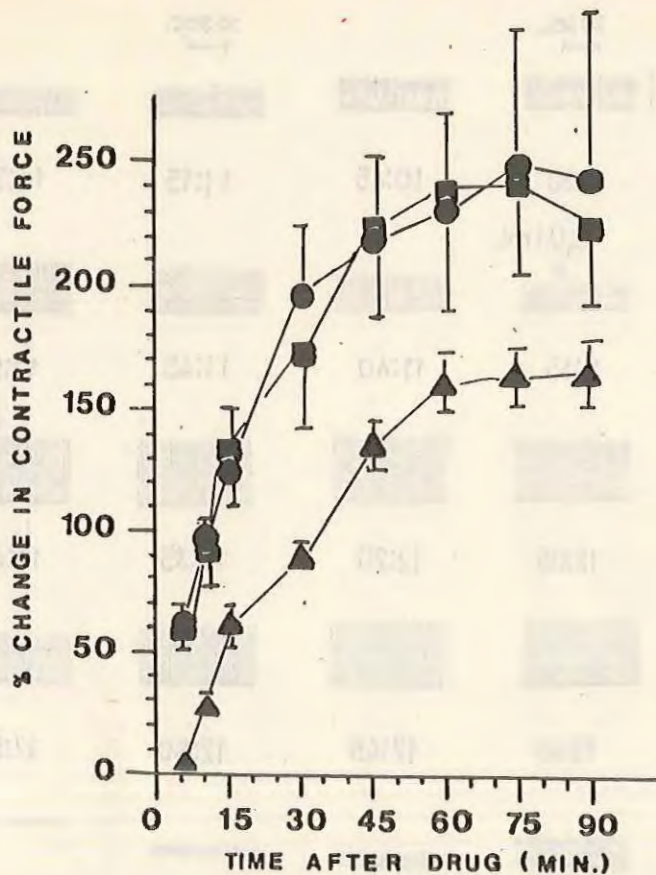


รูปที่ 2 TLC ของสารสกัด 80% EtOH จากเปลือกลำต้นและใบยี่โถเทียบกับจากใบดิจิตาลิสและ references (digitoxin, digoxin, oleandrin) ตัวเลขใน chromatogram คือค่า R_F 's value, solvent system : EtOH/MeOH/H₂O (75/10/7) ; adsorbent : silica gel G + silica gel GF₂₅₄ 1:1 (คำย่อของสีต่าง ๆ เช่นเดียวกับในรูปที่ 1)

บีบตัวสูงสุดที่ $166.5 \pm 12.9\%$ ($n = 5$) ซึ่งต่ำกว่าฤทธิ์ของใบและเปลือกยี่โถ การเพิ่มขนาดยาอีก 0.1 มล. ไม่ทำให้แรงบีบตัวเพิ่มขึ้นกว่าเดิม แต่ทำให้เกิด contracture และหัวใจหยุดเต้นเช่นเดียวกับยี่โถ (รูปที่ 5)

4. ผลการหาปริมาณ cardiac glycosides ในใบและเปลือกยี่โถ

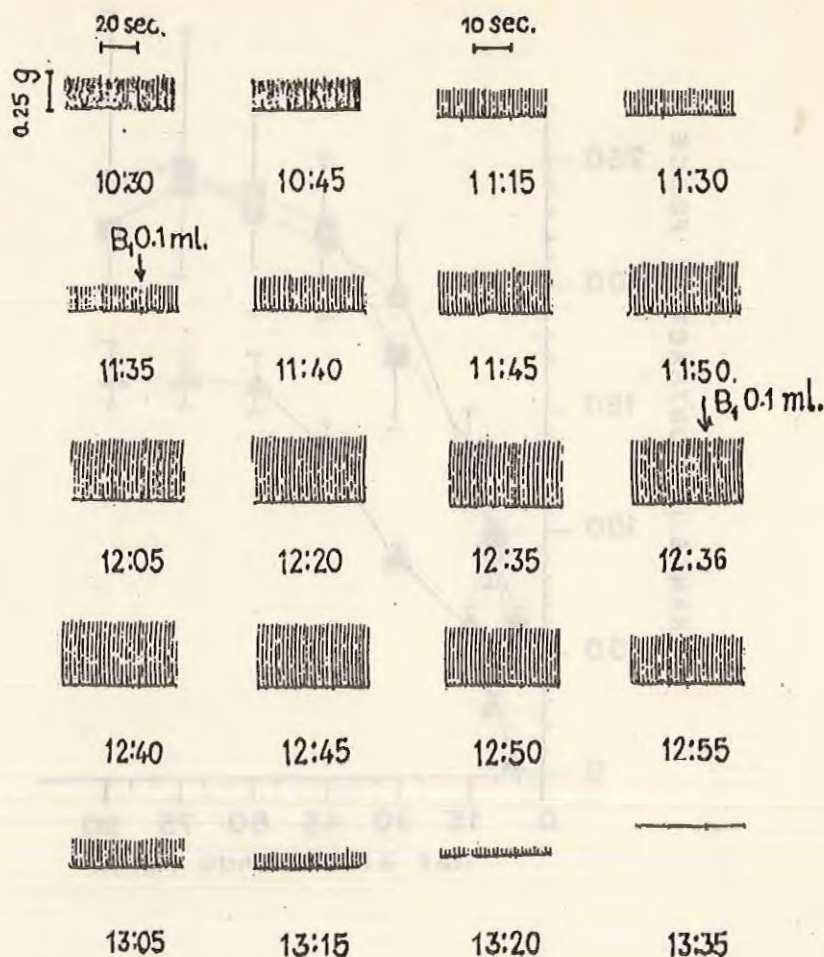
การฉีดสารสกัดของใบและเปลือกยี่โถจากข้อ 1.2.2 เข้าทาง external jugular vein ของหนูตะเภาโดยวิธี infusion พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของ EKG เช่นเดียวกับ



รูปที่ 3 ฤทธิ์ในการเพิ่มแรงบีบตัวของไอบีโด, เปลือกยี่โด และใบดิจิตาลิส ใน right ventricular strip ของหนูตะเภา ที่เวลา 5-90 นาที หลังได้รับยาในขนาดความเข้มข้นที่เพิ่มแรงบีบตัวได้สูงสุด โดยไม่เกิด contracture (●—● เปลือกยี่โด 0.155 มก./มล.ของน้ำยา Tyrode, n = 10 ; ■—■ ไอบีโด 0.237 มก./มล.ของน้ำยา Tyrode, n = 6 ; ▲—▲ ใบดิจิตาลิส 0.833 มก./มล.ของน้ำยา Tyrode, n = 5)

การให้ดิจิตาลิส หรือ oleandrin และในที่สุด EKG เป็นเส้นตรง แสดงว่าหัวใจหยุดเต้น ขนาดของยาที่ทำให้หัวใจหนูตะเภาหยุดเต้น (lethal dose) คิดเป็น มล./น้ำหนักหนูตะเภา เป็น กก. และคิดเป็นกรัมของผงยาบด/น้ำหนักหนู เทียบกับ digitalis และ oleandrin แสดงในตารางที่ 1

เมื่อนำค่าเหล่านี้มาคำนวณหา potency ratio ของ test/standard ตาม



รูปที่ 4 ตัวอย่างการบันทึกผลแสดงฤทธิ์ของผงน้ำสกัดแห้งละลายน้ำของเปลือกยี่โถ (ความเข้มข้นของน้ำยา 5 มก./มล.) ต่อการเปลี่ยนแปลงแรงบีบตัวของ right ventricular strip ของหนูตะเภาที่เวลาต่าง ๆ

BP 1980, Appendix XIV O โดยคำนวณจาก $\text{antilog } (\bar{X}_S - \bar{X}_U)$ (\bar{X}_S = mean log lethal dose ของ reference standard, \bar{X}_U = mean log lethal dose ของใบหรือเปลือกยี่โถ) จะได้ค่า potency ratio ของใบยี่โถ/คิจิตาลิสเท่ากับ 0.95 และของเปลือกยี่โถ/คิจิตาลิสเท่ากับ 1.14 เมื่อคำนวณหาค่า fiducial limit จาก $\text{antilog } (M \pm tS_M)$ ($M = \bar{X}_S - \bar{X}_U$ และ S_M = variance ของ M) ที่ $P = 0.05$ พบว่า fiducial limit ของ potency ของใบและเปลือกยี่โถ อยู่ระหว่าง 80-115 และ 95-138% ตามลำดับ



รูปที่ 5 ตัวอย่างการบันทึกผลแสดงฤทธิ์ของผงน้ำสกัดแห้งละลายน้ำของดิจิตาลิสมาตรฐาน (digitalis powder DAB 8 ความเข้มข้นน้ำยาที่ใช้ 5 มก./มล.) ต่อการเปลี่ยนแปลงแรงบีบตัวของ right ventricular strip ของหนูตะเภาที่เวลาต่าง ๆ

เมื่อคำนวณปริมาณ total cardiac glycosides ในใบและเปลือกยี่โถในรูปแบบของ oleandrin พบว่าในใบและเปลือก 1 กรัม จะมี cardiac glycosides 3.7 และ 4.4 มก. หรือเท่ากับ 0.37 และ 0.44% โดยมี fiducial limit ที่ $P = 0.05$ เท่ากับ 96-112 และ 96-119% ตามลำดับ

ตารางที่ 1 lethal dose ของ ดีจิตาลิส (1.25×10^{-2} ก./มล.), oleandrin (5×10^{-5} ก./มล.), ไบและเบลิออกซีได (1.25×10^{-2} ก./มล.) ในหนูตะเภาที่ผสม ตามวิธีของ BP 1980

ยา	จำนวนสัตว์ทดลอง	เวลาที่ให้ยา (นาที)	ปริมาตรยาที่ให้ (มล.)	น้ำหนักหนูตะเภา (ก.)	lethal dose	
					(มล./กก.)	(ก./กก.)
ดีจิตาลิส	7	21 ± 2	4.2 ± 0.3	311 ± 12	13.54 ± 0.95	0.169 ± 0.012
oleandrin	6	29 ± 2	5.8 ± 0.4	443 ± 11	13.10 ± 0.85	* 6.551 ± 0.425
ไบซีได	12	27 ± 4	5.3 ± 0.3	380 ± 12	14.16 ± 0.72	0.177 ± 0.010
เบลิออกซีได	6	27 ± 1	5.4 ± 0.1	463 ± 17	11.71 ± 0.42	0.146 ± 0.005

* $\text{ก.} \times 10^{-4} / \text{กก.}$

วิจารณ์

จากการตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดคลอโรฟอร์มจากใบและเปลือกยี่โถ พบว่าให้ผลบวกกับ Lieberman Burchard test, Kedde's reagent และ Keller-Killiani's test แสดงว่ามีสารพวก cardiac glycosides อยู่ในใบและเปลือกยี่โถ ซึ่งเมื่อนำสารสกัดคลอโรฟอร์มจากใบและเปลือกยี่โถไปทำ TLC เพื่อหาค่า Rf's value เปรียบเทียบกับ oleandrin ซึ่งเป็น cardiac glycoside ตัวสำคัญในยี่โถ ก็พบว่าได้จุดต่าง ๆ หลายจุดที่น่าสนใจ และมีค่า Rf's value ใกล้เคียง oleandrin คือจากเปลือกยี่โถได้แก่ จุดที่ 5 Rf's value 0.84 และจากใบยี่โถได้แก่จุดที่ 5 Rf's value 0.84 และ 0.91 ถึงแม้ว่ามีอยู่จุดหนึ่งซึ่ง Rf's value เท่ากับ 0.94 ซึ่งเป็นค่าของ oleandrin แต่การที่ผู้วิจัยไม่สนใจจุดนี้ เพราะว่าการทดสอบด้วยสารสกัดปิโตรเลียม อีเทอร์ ของใบยี่โถได้ Rf's value 0.94 เช่นกัน ซึ่งแสดงว่าจุดนี้เป็นสารพวกคลอโรฟิลหรือไขมัน การที่สารที่น่าสนใจมีค่า Rf's value น้อยกว่า oleandrin ที่ใช้เปรียบเทียบ อาจอธิบายได้ว่าได้เกิดปฏิกิริยามาบางอย่างขณะสกัดสาร หรือเพราะเก็บตัวอย่างไว้นานเกินไป ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นได้อาจเป็น

acetyl group ตำแหน่งที่ 16 อาจถูก hydrolysed ไปเป็น -OH; อาจเกิด hydrolysed ตรง C-3 ที่มีน้ำตาลมาเกาะ; อาจเกิด hydrolysed ที่ methyl ether ของน้ำตาล oleandrin ซึ่งจะทำให้ polarity ของสารเปลี่ยนแปลงไป เป็นผลให้ Rf's value เปลี่ยนแปลง การพิสูจน์ยืนยันการคาดคะเนดังกล่าวจะต้องพิสูจน์โครงสร้างของสารที่มี Rf value ดังกล่าวด้วยวิธีทาง spectroscopy

ค่า Rf จากสารสกัดแอลกอฮอล์ ของใบดิจิตาลิสที่น่าสนใจคือ 0.69 และ 0.74 ซึ่งอาจเป็น digitoxin และ gitoxin แต่เนื่องจากผู้วิจัยไม่มี gitoxin สำหรับเปรียบเทียบ จึงไม่อาจยืนยันได้ ส่วนในใบและเปลือกยี่โถได้จุดที่น่าสนใจคือ Rf ที่ 0.91 และ 0.90 ตามลำดับ ซึ่งอาจเป็น oleandrin

Oleandrin หรือ folinerin มีฤทธิ์ต่อหัวใจเช่นเดียวกับดิจิตาลิส มี cardio-
tonic action ใน isolated heart ของแมว สุนัข กบ (11) และใน embryo

chick heart (12) การวิจัยนี้ใช้ right ventricular strip ของหนูตะเภาที่พบว่าไบและเปลือกยี่โลมีฤทธิ์เช่นเดียวกับ digitalis นั่นคือมี positive inotropic action สามารถเพิ่มแรงบีบตัวของกล้ามเนื้อหัวใจซึ่งอยู่ในภาวะ failure ให้ดีขึ้นมากกว่า 200% สารสกัดของไบและเปลือกยี่โลออกฤทธิ์เร็ว และเมื่อล้างสารออกฤทธิ์จะค่อยๆ หดไป นอกจากนั้นอาการพิษที่เห็นก็คล้ายคลึงกัน คือมี contracture และพบว่ามี spontaneous contraction เกิดขึ้นในบาง preparation

จากการทดสอบทางเคมีพบว่า cardiac glycosides ในไบและเปลือกยี่โล ย่อมเป็นการสนับสนุนการทดลองทางเภสัชวิทยาว่า positive inotropic effect ของไบและเปลือกยี่โลใน right ventricular strip ของหนูตะเภา เป็นผลจาก cardiac glycosides ที่มีอยู่ ซึ่งน่าจะเป็น oleandrin นั่นเอง

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสารสกัดจากไบและเปลือก จะเห็นว่าสารสกัดจากไบยี่โลคิดเป็นปริมาณผงยาบด/มล. ของน้ำยาหล่อเลี้ยงเนื้อเยื่อสูงกว่าสารสกัดจากเปลือก (คือของไบ 0.237 มก./มล. และของเปลือก 0.155 มก./มล.) แต่ให้ผลในการเพิ่ม contractile force ห่อยๆ กัน (รูปที่ 3) แสดงว่า cardiac glycosides ที่มีในเปลือกย่อมมีปริมาณสูงกว่าในไบ การหาปริมาณของ cardiac glycosides ตาม BP ด้วยวิธีชีววิเคราะห์ (guinea-pig method) ก็ได้ผลสนับสนุน คือ lethal dose ของไบยี่โล คิดเป็น มล./น้ำหนักหนูตะเภาสูงกว่าเมื่อใช้เปลือก หรือมีปริมาณ cardiac glycosides ในเปลือกสูงกว่าไบนั่นเอง ดังนั้นอาจใช้ผลการทดสอบ cardiotonic action ของ cardiac glycosides ต่อ right ventricular strip ของหนูตะเภาในการทำ biological assay ของ cardiac glycosides ได้อีกวิธีหนึ่ง เช่นเดียวกับที่มีผู้แนะนำให้ใช้ embryo chick heart (12)

ปริมาณของ cardiac glycosides ในไบและเปลือกยี่โลเมื่อเปรียบเทียบกับใบดิจิตาลิส พบว่าไบยี่โลมีความแรงของ cardiac glycosides น้อยกว่าใบดิจิตาลิส (potency ratio เท่ากับ 0.95) แต่เปลือกยี่โลมีความแรงมากกว่าใบดิจิตาลิส (potency ratio เท่ากับ 1.14) ดังนั้นด้านนำยี่โลไปใช้ทางคลินิก ขนาดของยาที่ใช้ถ้าเป็นไบต้องใช้สูงกว่าเปลือก และขนาดใช้ของไบยี่โลย่อมสูงกว่าขนาดใช้ของใบดิจิตาลิส แต่ขนาดใช้ของเปลือกยี่โลจะต่ำกว่าใบดิจิตาลิส

กรุงไกร และ ประเสริฐศักดิ์ (9) ได้ทดลองหาขนาดของยี่โถที่ทำให้หัวใจหยุดเต้น โดยวิธี infusion เข้าหลอดเลือดดำ คิด lethal dose เป็นกรัมของผงยา/น้ำหนักหนู เป็นกิโลกรัม พบว่าใบยี่โถดอกแดงเมื่อใช้ยาชง 0.5% เท่ากับ 0.234 และ 1% เท่ากับ 0.1438 ดอกชมพู (0.5%) เท่ากับ 0.119 ดอกขาว (0.3%) เท่ากับ 0.100 และของดิจิตาลิส (1%) เท่ากับ 0.305 เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาซึ่งใช้วิธีเดียวกัน แต่ใช้ยี่โถชนิดดอกสีแดง กลับขึ้นเดียว สกัดด้วยแอลกอฮอล์ 80% ความเข้มข้นของน้ำยาสกัดที่ใช้ infusion เท่ากับ 1.25% ได้ค่า lethal dose เท่ากับ 0.177 ± 0.010 กรัม/กิโลกรัมของน้ำหนักหนู ($n = 12$) และของดิจิตาลิส เท่ากับ 0.169 ± 0.012 กรัม/กิโลกรัม ($n = 7$) การที่ได้ขนาด lethal dose แตกต่างกันไปเป็นผลจากมีปริมาณของ cardiac glycosides แตกต่างกันไป ซึ่งอาจเกิดจากวิธีการสกัด แหล่งที่ปลูกและอายุแตกต่างกันก็ได้ การวิจัยนี้ยังได้หาปริมาณในเปลือกด้วย ซึ่งได้ค่า lethal dose เท่ากับ 0.146 ± 0.005 กรัม/กิโลกรัม ($n = 6$)

เนื่องจาก oleandrin หรือ folinerin เป็น cardiac glycoside ตัวสำคัญที่มีในยี่โถ การวิจัยนี้จึงหาปริมาณของ cardiac glycosides ทั้งหมดในรูปของ oleandrin ตามที่มีผู้รายงานไว้พบปริมาณของ oleandrin ต่างๆ กัน คือ 0.08% (12), 1.15% (13) และ 0.03% (14) ซึ่งอาจเป็นผลจากมีแหล่งกำเนิด อายุ วิธีการสกัด และวิธีการวิเคราะห์ต่างกัน นอกจาก oleandrin ยังพบ cardiac glycosides อื่นอีกหลายชนิด (15) ส่วนในเปลือกพบ glycosides 2 ชนิด คือ cortenerin ซึ่งคล้ายกับ folinerin และ rosagenin ซึ่งมีฤทธิ์คล้าย strychnine สำหรับการวิจัยนี้ใช้ยี่โถดอกสีแดง กลับดอกขึ้นเดียว ที่ปลูกในประเทศไทย อายุประมาณ 10 ปี และสกัดด้วยแอลกอฮอล์ 80% ตามวิธีของ BP 1980 (10) ก็พบปริมาณของ cardiac glycosides ทั้งหมดในรูปของ oleandrin แตกต่างออกไป นั่นคือ ใบได้เท่ากับ 0.37% และในเปลือกเท่ากับ 0.44% ซึ่งสูงกว่าใบ อันน่าจะเกิดจากเหตุผลดังกล่าวแล้วข้างต้น

เมื่อสังเกตการเปลี่ยนแปลงของ EKG ก่อนหัวใจหยุดเต้น พบว่าได้ abnormal EKG แบบเดียวกันกับสัตว์ที่ได้ดิจิตาลิส ก่อนที่ EKG จะเป็นเส้นตรง ระยะแรกๆ พบการเปลี่ยนแปลงของ PR interval และพบว่ามีอาการลดอัตราการเดินทางของหัวใจ การทดลองของกรุงไกร และ

ประเสริฐศักดิ์ (9) ก็พบการเปลี่ยนแปลงของ EKG แบบเดียวกัน และพบ bradycardia, flat T-wave, ST-depression และ/หรือ inverted T wave, prolonged PR-interval, ventricular extrasystole, ventricular fibrillation และ cardiac standstill และหนูตะเภาทุกตัวหัวใจหยุดเต้นในท่าบีบตัว อาการพิษที่พบในคนมักเป็นอาการของระบบทางเดินอาหาร และคล้ายคลึงกับอาการพิษจากดิจิตาลิส ได้แก่ คลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง วิงเวียน เดินโซเซ ม่านตาขยาย อุจจาระร่วงมีเลือดออก หัวใจอ่อน มีโคมา และตาย (16)

Folinerin ซึ่งสกัดได้จากใบยี่โถ มีคุณสมบัติทนทานต่อกรดได้ดี เก็บได้นานเป็นปี และสามารถให้โดยการรับประทานได้ มีการสะสมน้อยกว่า digitoxin (17) มีผู้นำ folinerin มาใช้รักษา cardiac insufficiency โดยให้ผู้ป่วยรับประทานหรือสอดเข้าทางทวารหนัก พบว่าได้ผลดี มีฤทธิ์เช่นเดียวกับดิจิตาลิสคือ ชีพจรลดลง พร้อมกับขับปัสสาวะ น้ำหนักตัวลดลง ยาออกฤทธิ์เร็ว และผู้ป่วยทนทานต่อยาได้ดี (6) ผู้ป่วยที่ได้รับยาจนถึง 5.6 มิลลิกรัมภายใน 14 วัน ไม่มีอาการข้างเคียงของระบบทางเดินอาหารหรือระบบไหลเวียน และไม่เห็นการเปลี่ยนแปลงของ EKG ที่บ่งถึงการเกิดอาการพิษ นอกจากนั้นมีผู้ทดลองนำ foliandrin ซึ่งอาจเป็น folinerin นั้นเอง ไปใช้ในผู้ป่วยสูงอายุซึ่งเป็นโรคหัวใจวาย (7) พบว่ามี cardiotonic และ diuretic action ได้ผลดี ยาออกฤทธิ์เร็ว ถูกขับออกเร็ว มีการสะสมน้อย ไม่พบอาการพิษยกเว้นรายเดียวที่มีอาการอาเจียนเนื่องจากขนาดยาสูงไป และเมื่อลดขนาดยาลงก็ทนทานต่อยาได้ดี ในประเทศไทยสมัยสงครามโลกครั้งที่สอง ซึ่งขาดแคลนดิจิตาลิส มีผู้นำหิงเจอร์ใบยี่โถมาทดลองใช้ในผู้ป่วยได้อีกเสมที่มีการบวม 2 ราย พบว่ามีฤทธิ์ขับปัสสาวะและได้ผลเป็นที่น่าพอใจ (8)

สรุป

จากการวิจัยนี้อาจสรุปได้ว่า ยี่โถมีฤทธิ์เช่นเดียวกับดิจิตาลิสทั้งในด้านความเป็นพิษและผลในการรักษา ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาอื่นๆ จึงอาจนำหิงเจอร์จากใบหรือเปลือกยี่โถมาแทนหิงเจอร์ดิจิตาลิส แต่ต้องปรับขนาดที่ใช้ให้เหมาะสมโดยต้องทำการหาปริมาณ cardiac glyco-

sides ที่มีอยู่ก่อน ซึ่งอาจใช้วิธีชีววิเคราะห์ดังการวิจัยที่เปรียบเทียบกับยามาตรฐานเช่นดิจิตาลิส นอกจากนั้นยังอาจสกัดเอาสารสำคัญ เช่น oleandrin หรือ folinerin ออกมาใช้แทน digitoxin หรือ digoxin การสกัดให้ได้สารบริสุทธิ์ย่อมเสียเวลาและค่าใช้จ่ายมากกว่า และ ทำยาเตรียมได้ยากกว่าการใช้ในรูปของทิงเจอร์ แต่จะได้ยาที่มีความคงตัวดีและได้ปริมาณยาที่แน่นอนเมื่อนำไปใช้

คำขอบคุณ

ผู้วิจัยขอขอบคุณมหาวิทยาลัยมหิดล ซึ่งสนับสนุนโครงการวิจัยนี้โดยการอุดหนุนด้านเงินทุน
วิจัย

เอกสารอ้างอิง

1. เสี่ยม พงษ์นุรอด, ไม้เทศเมืองไทย : สรรพคุณของยาเทศและยาไทย เกษมบรรณกิจ, พระนคร, 2514.
2. Quisumbing, E. Medicinal Plants of the Phillippines. Vol.II Manila Bureau of Printing, pp. 729-32, 1951.
3. Chopra, R.N., Chopra, I.C. and Varma, B.S. Glossary of Indian Medicinal Plants, New Delhi Council of Scientific & Industrial Research, 1956.
4. Takatori, J. Colored Atlas Medicinal Plants of Japan, Hirokawa Pub., Tokyo, 1970.
5. Lewis, W.H., and Elvin Lewis, M.P.F. Medicinal Botany : Plants affecting man's health. John Wiley and Sons, N.Y., 51, 1977.
6. Schwab, R. Klinische Erfahrungen mit dem Herzmittel Folinerin aus Folia Nerii Oleandri. Klin. Wschr. 14 : 564-567, 1935.
7. Droller, H. Foliandrin in geriatric practice. Cardiologia 22 : 118-124, 1953.
8. กรุงไกร เจนพานิชย์, บทความบางเรื่องเกี่ยวกับสมุนไพร โรงพิมพ์ทางมงกุฎราชวิทยาลัย, กรุงเทพฯ, 84, 2522.
9. กรุงไกร เจนพานิชย์ และประเสริฐศักดิ์ ตูจินดา เภสัชวิทยาของใบยี่โถไทย สารศิริราช 26(7) : 1333-1341, 1974.

10. British Pharmacopoeia, Vol. II. Appendix XIV.F. Biological assay of prepared digitalis, The University Press, Cambridge, pp. A 151-A 152, 1980.
11. Sevilla Marcos, J.M. and Soler y Monsalve, J.M. Nerium oleander and its active components. *Excerpta Med*, Sect II 1964; 7 : 449. through : *Chem. Abs.* 49 : 13512, 1955.
12. Wolfred, M.M. The evaluation of the glycoside, oleandrin, on the embryo chick heart. *J.Amer. Pharm. Ass.* 38 : 581-584, 1949.
13. Straub, W. *Arch. Exp. Path. Pharmacol.* 14 : 149, 1918, through : Watt, J.M. and Breyer-Brandwijk, M.G. (eds). *The Medicinal and Poisonous Plants of Southern and Eastern Africa.* E & S Livingstone Ltd, Edinburg, 91, 1962.
14. Ghielmetti, G., Castoldi, C.F. and Capra, C. Preparation and chemical and biological assay of oleandroside, a cardiotonic glucoside from *Nerium oleander*. *Chem. Abs.* 53 : 2537, 1949.
15. Watt, J.M. and Breyer-Brandwijk, M.G. *The Medicinal and Poisonous Plants of Southern and Eastern Africa.* Livingstone Ltd., Edinburg, 91, 1962.
16. Steyn, D.G. *Fmg in S. Afr.* 16 : 11, 1941. through: Watt, J.M. and Breyer-Brandwijk, M.G. (eds.) *The Medicinal and Poisonous Plants of Southern and Eastern Africa.* E & S Livingstone Ltd, Edinburg, 91, 1962.
17. Flury, F. and Neumann, W. Über folinerin. *Klin. Wschr.* 14 : 562-64, 1985.

UPDATE ON THE MECHANISM OF ACTION OF ANTIDEPRESSANT DRUGS

Chainarong Cherdchu

Department of Pharmacology

University of Nebraska Medical Center

Omaha, NE 68105, U.S.A.

From therapeutic effectiveness and their possible mode of action of the antidepressants, three main postulated biochemical theories underlying the depressive illness have been developed. They are:

1. The central monoamine-deficiency hypothesis:

The etiology of the illness is believed to be an absolute or partial deficiency of norepinephrine (NE) and serotonin(5HT) centrally. This based on the evidence that drug like reserpine, which depletes central monoamines, could precipitate the illness while drugs like tricyclic antidepressants, monoamine oxidase inhibitors and tryptophan, which elevate the central monoamines relieve the symptoms.

2. The adrenergic supersensitivity hypothesis:

It is postulated that supersensitivity of central adrenergic receptors is the cause of the illness. Therefore, antidepressants exert their actions by down-regulation of the sensitivity of the adrenergic receptors as is evident by the association between the chronic antidepressant administration and the adaptive changes in central adrenergic receptors.

3. The cholinergic hypothesis:

The imbalance between the central catecholamine and cholinergic systems would lead to the symptomatic affective disorders. When cholinergic activity predominates depressions is the consequence, and mania results when catecholamine activity is predominant. Reserpine causes depression by lowering central catecholamines levels and thus cholinergic activity is enhanced.

The classical amine hypothesis seems to be receiving more and more questions concerning its validity during the past decades. This is probably due to the inconsistency of clinical data together with the apparent objections on effectiveness of the antidepressants. Several shortcomings on this hypothesis have been addressed as followings: a) the discrepancy of the time course between biochemical and pharmacological effects elicited by antidepressant treatments like tricyclic antidepressants; b) the marked variations in clinical responses despite a uniform pharmacologic inhibition of reuptake of monoamines; c) not all antidepressants inhibit reuptake of monoamines but show clinical effectiveness such as mianserin, iprindole; d) not all inhibitors of monoamine reuptake have antidepressive activity, e.g. cocaine; e) tricyclic antidepressants have multiple sites of action.

Most of the works today try to characterize the binding of the tricyclic antidepressants on the nerve terminals. Some tricyclic antidepressant exhibits specificity toward binding on noradrenergic or serotonergic neurons. However, subcellular studies of the animal brains indicated that the binding sites of these tricyclic antidepressants were not associ-

ated with their respective inhibition of monoamine reuptake. Furthermore, it is possible that the abnormalities of the events in monoamine nerve terminals such as synthesis, storage, release and reuptake may contribute to the etiology of the illness. But the evidence obtained so far never convincingly demonstrated that defect in these events is operative in the etiology of affective disorders. Thus the search for biochemical markers of this disease has shifted from presynaptic to postsynaptic mechanisms.

The cholinergic theory is far less acceptable because most clinically effective newer antidepressants are relatively lack of the anticholinergic property as usually seen in the typical antidepressants. In fact, this anticholinergic property is believed to be related more to the side effects of the drugs rather than to their mechanism of action. Therefore, details on those two mentioned theories will not be discussed here.

Current data concerning methodology and problems in elucidation of the down-regulation of adrenergic receptors is present in this review.

Down-regulation of beta-adrenergic receptors and antidepressant action

This phenomenon was first reported in 1974 by Alan Frazer and his colleagues and by Fridolin Sulzer's group. They observed a consistent result in down-regulation of the beta-adrenergic receptors in slices of rat cerebral cortex and limbic forebrain following chronic treatment with imipramine, desipramine(DMI) and iprindole. The mechanisms responsible for these adaptive changes in receptors as well as their significance to the clinical antidepressive actions are currently under intense investigation.

This down-regulation mechanism is evident by a reduction of Bmax values of beta-adrenoceptors in the brain without significant changes in the Kd values following chronic antidepressant administrations. Since beta-adrenoceptors in brain tissues are coupled to adenylate cyclase system alteration on the receptors should therefore be an indicative of the change in enzyme activity. This has been proved to be the case as many antidepressant treatments elicit subsensitivity of the NE-sensitive adenylate cyclase in the brain and/or down-regulate the beta-adrenoceptors as shown in Table 1.

It has been proposed that this down-regulation of beta-adrenergic receptors may account for the antidepressive action. In order to prove this hypothesis most experiments were conducted as a long-term treatment in animal models. This is due to the observation that the onset of the beneficial effect of antidepressant is clinically seen after 2-3 weeks of drug administrations.

In general the research strategies that have been used by most investigators to prove the addressed hypothesis can be classified into 2 types.

a) In vitro radioligand binding studies

Brains of chronically treated animals were used. Crude synaptic membrane was prepared from the treated brains and was incubated with various concentrations of the labeled beta-antagonist, usually ^3H -dihydroxy-alprenolol (^3H -DHA), to obtain the total binding activity; the non-specific binding was measured by incubation of the homogenate with certain

TABLE 1 *Effect of antidepressant treatments on the NE-receptor-coupled adenylate cyclase system in brain.*

Treatments	Subsensitivity to NE	Down-regulation of β -adrenoceptors
MAO inhibitors		
Pargyline	Yes	Yes
Nialamid	Yes	Yes
Tranlylcypromine	Yes	Yes
Clorgyline (A)	Yes	Yes
Deprenyl (B)	No	No
Inhibitors of 5-HT and/or NE uptake		
Amitriptyline	Yes	Yes
Imipramine	Yes	Yes
Clorimipramine	Yes	Yes
Zimelidine	Yes	Yes
More selective inhibitors of NE uptake		
Desipramine	Yes	Yes
Nortriptyline	Yes	Yes
Oxaprotiline	Yes	Yes
Electroconvulsive treatment	Yes	Yes
REM sleep deprivation	-	Yes
Other potential antidepressants		
Iprindole	Yes	Yes
Mianserin	Yes	No; Yes
Fluoxetine	No	No
Trazodone	?	?
Bupropion	?	?

MAO, monoamine oxidase; 5-HT, serotonin; REM, rapid eye movement.
(After (1))

concentration of ^3H -DHA in the presence of approximately 1000 folds greater in concentration of unlabeled alprenolol or propranolol. The density of the receptors and the affinity of the binding were then elaborated from the Scatchard analysis.

b) Beta-adrenergic-sensitive adenylate cyclase studies

One of the functional response to beta-receptor stimulation by

adrenergic drugs is the increase in cAMP formation due to an increase in adenylate cyclase activity residing in that tissue. Therefore, most data presented usually include the ability of antidepressant-treated brain homogenates in generating the cAMP as a result of changes in numbers of the beta-receptors. Experimentally, the membrane homogenates were incubated with labeled ATP in the presence or absence of NE or isoproterenol, the formed cAMP was then measured and the adenylate activity was calculated.

Chronic administration of antidepressants have been found to down-regulate the beta-receptors in several brain regions. However, this phenomenon does not occur with all antidepressants in use today; some novel tricyclic and non-tricyclic antidepressants fail to produce this effect after chronic treatment. Thus some variability of effect on down-regulation of beta-receptors upon chronic treatments does exist.

To address this problem Surany¹-Cadotte et al (2) had conducted experiments showing the effect of chronic treatment with different classes of antidepressants on beta-adrenergic receptors in rat brains. DMI, zimelidine and bupropion at dose of 10 mg/Kg were injected intraperitoneally twice daily for 21 days into rats. Twenty-four hours after the last dose animals were sacrificed, the brains were removed, frozen and stored at -70°C. For binding assay, crude synaptic membranes were prepared by homogenization. Pellet was resuspended in assay buffer of which aliquots were taken for incubation with ³H-DHA and buffer alone or buffer together with propranolol. The incubation was terminated by rapid filtration on glass fiber filters. The radioactivity was counted. Specific binding was obtained as radioactivity bound in the presence and absence of propranolol.

The Kd and Bmax were calculated by Scatchard analysis. Results are shown below.

Treatment	Bmax (fmoles/mg protein)	Kd (nM)
Saline	82 ± 11	1.9 ± 0.5
DMI	55 ± 8*	1.9 ± 0.4
Zimelidine	63 ± 9	2.1 ± 0.5
Bupropion	67 ± 10	2.2 ± 0.4

* P < 0.05

Results shown indicate that only DMI significantly decreases the density of beta-receptors while there is no significant change of the affinity on binding. Therefore, it suggests that clinically effective antidepressants may display variable effect on beta-receptors or other neuronal activities may modulate this effect. Zimelidine also decreases the NE-activation of the adenylate cyclase (result not shown) without reducing the number of beta-receptors (contrast to that shown in Table 1.) further indicates that these two systems are under separate regulatory control. The fact that antidepressants act on both pre-and postsynaptic neurons even complicates the issue.

Down-regulation of beta-adrenergic receptors and serotonergic input

Recently, many investigators have begun to question the role of serotonergic input on the down-regulation of beta-adrenergic receptors by chronic treatment of antidepressants. Since several tricyclic antidepressants bind with high affinity to serotonergic axons therefore a reciprocal

functional relationship between certain serotonergic and adrenergic axons can exist. Hence, down-regulation of the noradrenergic system elicited by repeated administrations of typical antidepressants may not be exclusively due to an action on noradrenergic neurons but may also be due to an action on serotonergic axons as well.

To test whether the serotonergic axons are involved in the down-regulation of noradrenergic receptors elicited by antidepressant drugs most experiments were designed using lesioning of specific central serotonergic neurons by 5,7-dihydroxytryptamine (5,7-DHT) before repeated administration of the antidepressants in question.

The test system usually comprises of a) lesioning of serotonergic neurons by 5,7-DHT; b) binding study; c) NE or isoproterenol-sensitive cAMP generating system study; d) verification of effectiveness of lesioning.

Rats were pretreated with DMI, i.p., 40-60 min prior to intraventricular injection of the neurotoxin as to prevent destruction of the noradrenergic neurons. Animals were allowed to recover for 7-12 days and then were injected with DMI 15-20 mg/Kg/day, i.p., for 21 days. At 24-48 hrs after the last injection of DMI the animals were decapitated and their brains were removed. Cortex was dissected and frozen (some investigators used fresh tissues for studies of cAMP response to NE or isoproterenol).

In binding studies ^3H -DHA was used as the ligand; non-specific binding was determined in the presence of alprenolol and was subtracted from total binding to give specific binding. Incubation was terminated by

rapid filtration on glass fiber filters, washed with cold buffer and radioactivity was determined.

The study of adrenergic-sensitive adenylate cyclase was done by using crude synaptic membrane preparations from rat cerebral cortex incubated with NE or isoproterenol and having ^{32}P -ATP as the substrate together with other essential cofactors. The amount of ^{32}P -cAMP formed was quantitated by counting its radioactivity.

The effectiveness of lesioning was also verified by measurement of 5HT and NE in the cortex. Most data showed a marked and selective reduction in the 5HT contents without affecting the contents of NE found in the same brain areas.

Results shown below are from the works of Brunello and colleagues (3) and Janowsky et al (4)

From Fig 1 and Table 2 it can be concluded that in the absence of serotonergic neuronal input, DMI failed to reduce the density of beta-adrenergic receptors without any significant changes in binding affinities in all cases.

The responsiveness of the cAMP-generating system to both NE and isoproterenol was reduced in lesioned animals (Tables 2, 3). This is in contrast to the results of Brunello's group (Fig 2). The difference may be due to the design of the experiment. In Janowsky's group animals were allowed to recover 10-12 days following lesioning, the repeated injection of DMI 15 mg/Kg daily was done for 7 days and fresh brain homogenates were used. In Brunello's group animals were allowed to recover 7 days, DMI at 20 mg/Kg daily was chronically injected for 21 days and frozen

tissues were used for assay of adenylate cyclase activity. These factors may contribute in certain extent to the difference of the results.

This apparent discrepancy clearly indicates that subsensitivity of the adenylate cyclase system is generally but not always linked to a reduction in the density of beta-receptors thereby changing in both parameters is not necessary in the same direction. It is possible that alteration of the receptor sensitivity precedes the actual loss of the receptor sites during development of neuronal subsensitivity.

Table 2 *Effect of DHT lesions of the central serotonergic system on the recognition and action functions of the NE receptor-coupled adenylate cyclase system. The lesions were made 10 to 12 days before treatment with desipramine (15 mg/kg. intraperitoneally) daily for 7 days. Twenty-four hours after the last desipramine injection, the animals were decapitated and the cyclic AMP responses to NE and the density of β -adrenergic receptors were determined. Each response equals the stimulated concentration of cyclic AMP minus the basal level. For the determination of specific ^3H -DHA binding, no fewer than five different concentrations of ligand (0.3 to 3.5 nM) were used. Numbers in parentheses indicate the number of animals, each sample being analyzed in duplicate (cyclic AMP) or in triplicate (DHA binding). Values are means \pm standard errors.*

Treatment	Cyclic AMP (pmole/mg protein)		^3H -DHA binding	
	Basal concentration	Response to 100 μM NE	Maximum number of sites (fmole/mg protein)	Affinity (nM)
No lesion; saline	18.0 \pm 2.5(10)	65.2 \pm 6.3(17)	100 \pm 10(8)	1.31 \pm 0.13
No lesion; desipramine	17.4 \pm 2.0(12)	27.0 \pm 3.6*(17)	68 \pm 4†(8)	1.32 \pm 0.07
Lesion; saline	18.1 \pm 1.3(13)	50.7 \pm 4.6(23)	131 \pm 4†(7)	1.56 \pm 0.08
Lesion; desipramine	17.7 \pm 1.7(13)	23.9 \pm 3.1+(20)	133 \pm 25(7)	1.71 \pm 0.21

* Significantly different from corresponding value for nonlesioned animals given saline ($P < .001$)† $P < .025$. + Significantly different from corresponding value for lesioned animals given saline ($P < .001$) (After (4)).

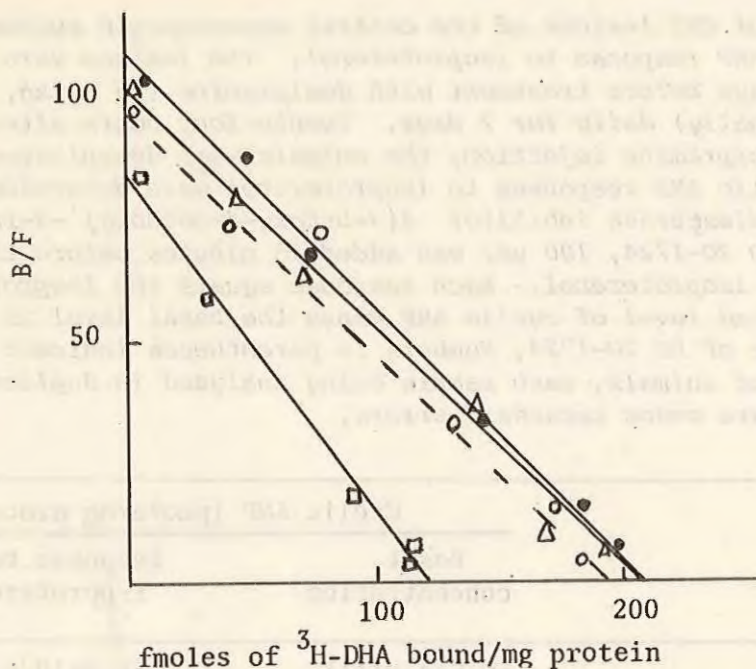


Fig. 1 Scatchard analysis of ³H-DHA binding to cortical membranes in sham-operated (control) or 5,7-DHT-lesioned rats receiving repeated injections of saline or DMI: 5,7-DHT lesion prevents the down-regulation of ³H-DHA binding sites. For treatment schedule see Methods. ●—● Control, K_d 1.85 nM, B_{max} = 200 fmol/mg protien; □—□ Chronic DMI, K_d 1.54 nM, B_{max} = 123 fmol/mg protein; ○---○ Lesioned, K_d 1.94nM, B_{max} = 195 fmol/mg protein; △—△ Lesioned + DMI K_d 2.1 nM, B_{max} = 205 fmol/mg protein. (After (3)).

Furthermore, destruction of serotonergic neurons by 5,7-DHT has eliminated the possibility that 5HT itself as well as other comodulator substances either released from or dependent on serotonergic neurons for its release may be essential for this down-regulation. Whether the serotonergic neurons or 5HT itself is essential for this mechanism is another dispute. Recently, Manier et al (5) and Racagni and Brunello (6) had shown that in rats in which 5HT contents had been depleted after chronic treatment with p-chlorophenylalanine (pCPA), chronic DMI treatment could

Table 3 *Effect of DHT lesions of the central serotonergic system on the cyclic AMP response to isoproterenol. The lesions were made 10 to 12 days before treatment with desipramine (15 mg/kg, intraperitoneally) daily for 7 days. Twenty-four hours after the last desipramine injection, the animals were decapitated and the cyclic AMP responses to isoproterenol were determined. The phosphodiesterase inhibitor 4(3-butoxy-4-methoxy)-2-imidazolidone (RO 20-1724, 100 μ M) was added 15 minutes before the addition of isoproterenol. Each response equals the isoproterenol-stimulated level of cyclic AMP minus the basal level in the presence of RO 20-1724. Numbers in parentheses indicate the number of animals, each sample being analyzed in duplicate. Values are means \pm standard errors.*

Treatment	Cyclic AMP (pmole/mg protein)	
	Basal concentration	Response to 10 μ M isoproterenol
No lesion; saline	50.5 \pm 4.0(11)	66.9 \pm 10.6 (12)
No lesion; desipramine	43.4 \pm 4.3(10)	39.7 \pm 6.2*(10)
Lesion; saline	50.0 \pm 2.5(11)	62.7 \pm 8.9 (12)
Lesion; desipramine	50.1 \pm 5.0(11)	30.0 \pm 5.1†(10)

* Significantly different from corresponding value for nonlesioned animals given saline ($P < .001$). † Significantly different from corresponding value for lesioned animals give DHT ($P < .005$). (After (4)).

no longer produce desensitization of beta-receptors. Thus it seems that 5HT per se is important. However, Nimgaoukar et al (7) demonstrated down-regulation of beta-receptors occurred following chronic DMI treatment when 5HT was depleted by pCPA but not when the neurons were lesioned with 5,7-DHT. This discrepancy suggests another inherent factor(s) such as a cotransmitter, hormonal influences or the membrane fluidity might contribute to the variability of the responses. A cotransmitter mechanism might be operative in subsensitivity of cAMP-generating system independently of reduction in beta-receptor numbers. Two populations of adrenergic recep-

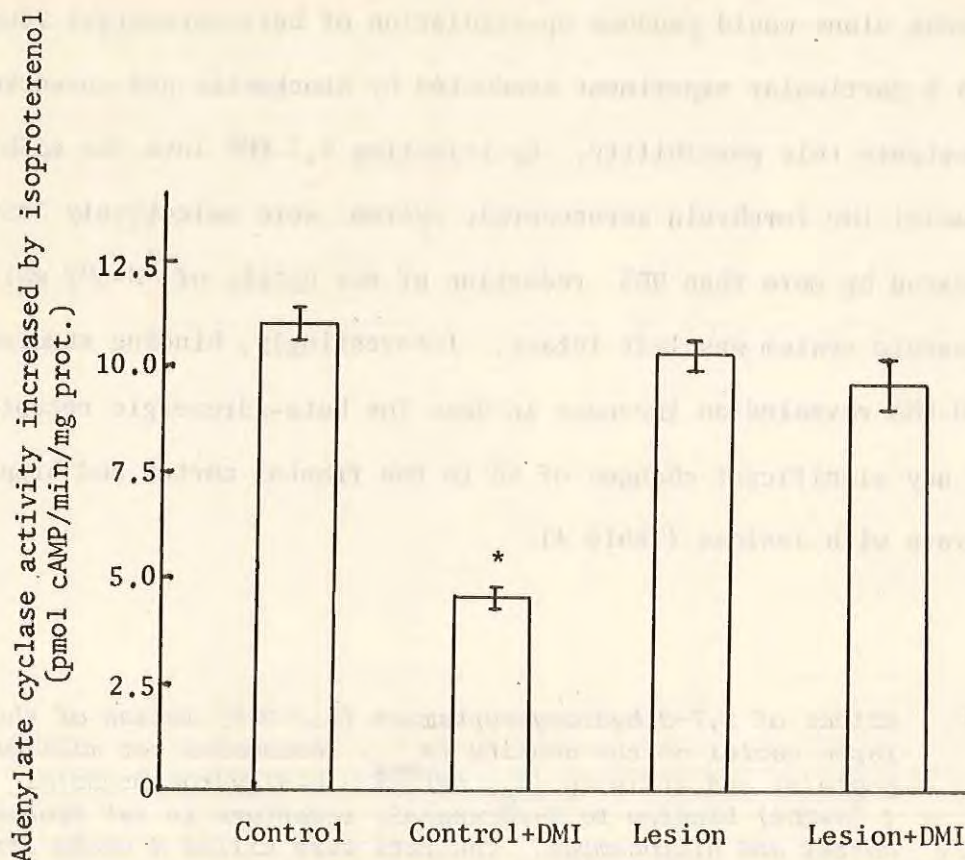


Fig. 2 Isoproterenol-stimulated adenylate cyclase activity in membranes prepared from cortices of sham-operated or 5,7-DHT-lesioned rats, both receiving repeated injections of saline or desmethylimipramine (DMI). The basal activities (31 ± 3 , 32 ± 5 , 33 ± 3 and 33 ± 4 pmol/min/mg prot. in sham-operated (control), sham + DMI, 5,7-DHT-lesioned and 5,7-DHT + DMI, respectively) have been subtracted from the values obtained in the presence of $1 \mu\text{M}$ isoproterenol. * $P < 0.05$ in respect to sham-operated animals. (After (3)).

tors coupled to adenylate cyclase have been described, and only one type has beta-receptor characteristic. These subpopulations of receptor may be under separate endocrine control which will result in different responses upon changing in hormonal levels.

A question then arises whether selective lesioning of serotoner-

gic neurons alone would produce up-regulation of beta-adrenergic receptors. There is a particular experiment conducted by Stockmeier and co-workers(8) to demonstrate this possibility. By injecting 5,7-DHT into the midbrain raphe nuclei the forebrain serotonergic system were selectively lesioned as indicated by more than 90% reduction of the uptake of ^3H -5HT while the noradrenergic system was left intact. Interestingly, binding studies using ^3H -DHA revealed an increase in B_{max} for beta-adrenergic receptor without any significant changes of K_d in the frontal cortex and hippocampus of rats with lesions (Table 4).

Table 4 *Effect of 5,7-dihydroxytryptamine (5,7-DHT) lesion of the raphe nuclei on the density (B_{max} , femtomoles per milligram of protein) and affinity (K_d , nM) of ^3H -dihydroalprenolol (^3H -DHA) binding to β -adrenergic receptors in rat frontal cortex and hippocampus. The rats were killed 4 weeks after lesions. Values (mean \pm standard error of the mean) were determined by least-squares linear regression analyses of Scatchard plots ($n = 8$ to 9 for frontal cortex; $n = 5$ for hippocampus). The hippocampi from three rats were pooled for each analysis.*

Treatment	^3H -DHA binding	
	B_{max}	K_d
	<i>Frontal cortex</i>	
Control	154.6 \pm 7.0	1.3 \pm 0.1
5,7-DHT	201.6 \pm 8.1*	1.6 \pm 0.2
	<i>Hippocampus</i>	
Control	154.2 \pm 9.9	6.0 \pm 0.9
5,7-DHT	291.4 \pm 25.0*	6.4 \pm 0.3

* $P < 0.001$ compared to control. (After (8)).

Consistent with this result is the effect of systemic injection of p-chloramphetamine which selective lesioned the central serotonergic neurons also produced an increase in both binding of ^3H -DHA to beta-adrenergic receptors and production of cAMP in response to isoproterenol (Fig 3).

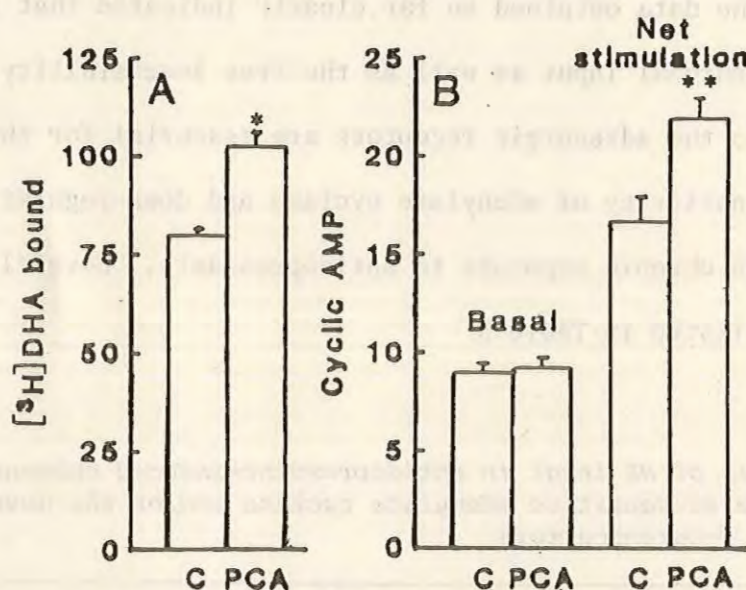


Fig. 3 Effect of lesions of serotonin axons with p-chloramphetamine (PCA) on (A) the binding of ^3H -dihydroalprenolol (^3H -DHA, femtomoles per milligram of protein) to β -adrenergic receptors and (B) isoproterenol-stimulated production of cyclic AMP (pico-moles per milligram of protein) in the hippocampus. The concentration of ^3H -DHA used was 5.9 nM. β -Adrenergic receptor-mediated stimulation of cyclic AMP was determined by incubating hippocampal minces with 10 μM L-isoproterenol for 10 minutes in the presence of 50 μM isobutylmethylxanthine. Net stimulation equals total cyclic AMP in the tissue after incubation with isoproterenol minus the basal level. Values represent the mean \pm standard error of the mean ($n = 15$ to 16). (*) $P < 0.001$, (**) $P < 0.01$ compared to control (C). (After (8)).

Down-regulation of beta-receptor and noradrenergic input

The role of adrenergic neurons in down-regulation of beta-receptor has also been an intense investigation being conducted at present. Experimental design usually utilizes the same principles as in studying the role of serotonergic neurons. However, some modifications do exist, 6-hydroxydopamine was usually used as a neurotoxin to lesion the noradrenergic neurons in the brain. Unilateral lesions of specific brain areas were performed. The data obtained so far clearly indicated that an intact noradrenergic neuronal input as well as the free accessibility of the neurotransmitter to the adrenergic receptors are essential for the development of both subsensitivity of adenylate cyclase and down-regulation of beta-receptors upon chronic exposure to antidepressants. Several lines of evidence are listed in Table 5

Table 5 *Role of NE input in antidepressant-induced subsensitivity of the NE-sensitive adenylate cyclase and/or the down-regulation of β -adrenoceptors*

-
1. No down-regulation and/or subsensitivity if β -adrenoceptors are blocked by propranolol.
 2. No down-regulation following destruction of NE neurons by 6-hydroxydopamine.
 3. No subsensitivity to NE following lesions of the locus ceruleus.
 4. α_2 -Blockade plus DMI or MAO inhibitors intensifies and shortens onset of down-regulation of β -adrenoceptors.
 5. Clorgyline (MAO-A inhibitor) but not deprenyl (MAO-B inhibitor) causes subsensitivity to NE and down-regulation of β -adrenoceptor density.
 6. (+)-Oxaprotiline (potent NE-uptake inhibitor) but not (-)-oxaprotiline (weak NE-uptake inhibitor) causes subsensitivity to NE and down-regulation of β -adrenoceptor density.
-

DMI, desipramine; MAO, monoamine oxidase. (After (1)).

In conclusion, much evidence seems to support the supersensitivity of the central adrenergic receptors as being a cause of the affective disorders. However, one must be cautious when correlating these data obtained from treatment of experimental animals to that occur in humans. At present, evidence of these adaptive changes that might occur in humans is limited. Moreover, it is not certain whether down-regulation of beta-receptors is a consequence or the cause of the antidepressive actions.

There are at least three points of interest in this kind of study worth mentioning. First, all experiments so far reported utilized brains of normal rats being treated with antidepressants or neurotoxins instead of brains of depressive rats, so it would rather be difficult to extrapolate the effect of drugs to what it should be in the disease states. The diseased animals should be a better model for this type of study as is the case of spontaneous hypertensive rat (SHR) used in study the effect of antihypertensive agents. Second, more specific ligand may be necessary for binding studies since ^3H -DHA interacts with both high and low affinity state of adrenergic receptors. Besides this, biological effect of ^3H -DHA should have been demonstrated. Lastly, beta-agonist drugs which both activate the beta-receptor coupled adenylate cyclase system and produce delayed down-regulation of beta-receptors should be tested for their antidepressive effect either by iontophoretically or in vivo study when the drug readily penetrates the blood brain barrier.

References

1. Sulser, F. Antidepressant treatments and regulation of norepinephrine-receptor-coupled adenylate cyclase system in brain. In: *Adv. Biochem. Psychopharmacol.* vol.39 (eds E. Usdin, M. Asberg, L. Bertisson and F. Sjöqvist) Raven Press, New York, 1984, pp.249-261.
2. Suranyi-Cadotte, B.E., Dam, T.V., Bodnoff, S and Quirion, R. Variability of chronic antidepressant treatments on beta-adrenergic receptor sites. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiat.* 9 : 765-768, 1985.
3. Brunello, N., Barbaccia, M.L., Chuang, D.-M. and Costa, E. Down-regulation of beta-adrenergic receptors following repeated injections of desmethylinipramines: permissive role of serotonergic axons. *Neuropharmacology* 21 : 1145-1149, 1982.
4. Janowsky, A.J., Okada, F., Manier, D.H., Steranka, L. and Sulser, F. Role of serotonergic input in the regulation of the beta-adrenergic receptor-coupled adenylate cyclase system. *Science* 218 : 900-901, 1982.
5. Manier, D.H., Gillespie, D.D., Steranka, L.R. and Sulser, F. A pivotal role for serotonin(5HT) in the regulation of beta adrenergic by antidepressants: reversibility of the action of parachlorophenylalanine by 5-hydroxytryptophan. *Experientia* 40 : 1223-1226, 1984.
6. Racagni, G. and Brunello, N. Transynaptic mechanisms in the action of antidepressant drugs. *Trends in Pharmacol.* 5 : 527-531, 1984.
7. Nimgaonkar, V.L., Goodwin, G.M., Davies, C.L. and Green, A.R. Down-regulation of beta-adrenoceptors in rat cortex by repeated administration of desipramine, electroconvulsive shock and clenbuterol

requires 5-HT neurones but not 5-HT. Neuropharmacology 24 : 279-283, 1985.

8. Stockmeir, C.A., Martino, A.M, and Kellar, K.J. A strong influence of serotonin axons on beta-adrenergic receptors in rat brain. Science 230 : 323-325, 1985.

อภิธานการ

จาก

บริษัท โอสกลา (เติกเฮงหยู) จำกัด

2100 ถนนรามคำแหง กรุงเทพฯ ฯ

โทร. 377-7121.31.41.51

PROSTAGLANDINS : GASTROINTESTINAL RESEARCH

ฉวีวรรณ พุกขสุนันท์

ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล

มหาวิทยาลัยมหิดล

CHAWEWAN PRUCKSUNAND

Department of Pharmacology, Faculty of Medicine Siriraj Hospital

Mahidol University, Bangkok

SUMMARY

Prostaglandins (PGs) are a group of 20-carbon oxygenated fatty acids that are present in most mammalian cells and tissues. Although their highest concentration is found in seminal fluid, the gastrointestinal mucosa contains relatively large amounts. Prostacyclin (PGI_2) is the most abundant PG formed by the gastric mucosa. It was suggested that PGI_2 and PGE_2 also present in the mucosa, may affect the regulation of gastric mucosal blood flow and acid secretion.

Some PGs affect gastrointestinal functions. PGE_1 , PGE_2 , and PGA_1 as well as certain methyl analogs of PGE_2 inhibit gastric secretion in animals and humans, prevent ulcer formation in animals, and reportedly accelerate ulcer healing in humans. The antiulcer effect is presumed to be due to the antisecretory activity of these compounds.

A property of PGs was discovered, called "cytoprotection" which designates the property of many PGs to protect the mucosa of the stomach and the intestine from becoming inflamed and necrotic, when this mucosa is exposed to noxious agents. This property is separate, and unrelated to gastric secretion.

Summary of the observations that led to the concept of cytoprotection and its mechanism has collected here:

1. PGs may stimulate mucus secretion. Some evidence suggests that certain PGs stimulate synthesis and release of gastric mucus. Newly formed mucus could provide a physical shield against irritants found in the gastric lumen.

2. PGs may affect the sodium pump. Sodium is normally transported from the mucosal side of gastrointestinal mucosal cells to the serosal side. The property of PGs in stimulating the sodium pump was proposed as a possible mechanism for cytoprotection.

3. PGs may activate adenylate cyclase. Several PGs stimulate adenylate cyclase activity in the gastric mucosa of several species. PGE₂ stimulates formation of cyclic AMP in nonparietal cells, these nonparietal cells originate from the surface epithelium, where cytoprotections take place.

4. PGs may act on the gastric mucosal circulation. Several PGs affect blood flow may explain the cytoprotective effect of PGI₂.

5. PGs may protect the gastric mucosal barrier. Several PGs of the E type as well as PGI₂ were shown to protect the gastric mucosal barrier. Cytoprotection may result from a tightening of the gastric mucosal barrier.

ในช่วงนี้วงการแพทย์แขนงรักษาโรคแผลกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้น มีสิ่งตื่นตัวเร้าใจ ทั้งในแง่การทดลองใช้ และในแง่พิสูจน์ผลของยานี้ว่ามีคุณภาพล้าหน้ากว่ายาใด ๆ ทั้งหมดที่ใช้กันในอดีตจริงหรือ สิ่งที่ถูกตั้งคือ ผลิตภัณฑ์ของ Prostaglandins (PGs) ผู้เขียนมีความสนใจศึกษาความเป็นมาของการใช้ PGs ในการรักษาแผลกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กจึงได้รวบรวมข้อมูลผลการวิจัยต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับบทบาทของ PGs ในระบบทางเดินอาหาร เพื่อเป็นแนวทางให้นักวิชาการผู้สนใจเกี่ยวกับโรคแผลกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กในการศึกษาค้นคว้าต่อไป นอกจากนี้อาจมีประโยชน์ในการพัฒนาสมุนไพรของไทยเพื่อใช้เป็นยารักษาโรคดังกล่าวด้วย

PGs เป็นสารประเภท oxygenated fatty acids โมเลกุลประกอบด้วยคาร์บอน ๒๐ อะตอม พบสารชนิดนี้กว่า ๒๐ ชนิด ตามธรรมชาติในส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย ในอวัยวะหรือเนื้อเยื่อและในเซลล์ต่าง ๆ ได้แก่ seminal fluid ปอด กล้ามเนื้อ ผนังหลอดเลือด รวมทั้งเยื่อผนังกระเพาะอาหารและลำไส้ซึ่งที่ผนังกระเพาะอาหาร และลำไส้มีพบเป็นจำนวนมากมีใช้น้อย

มีหลักฐานว่า Prostaglandin I₂ (PGI₂) และ Prostaglandin E₂ (PGE₂) สร้างที่เยื่อเมือกในกระเพาะอาหารของสัตว์หลายชนิด(๑-๓) จึงเชื่อว่าสารทั้งสองนี้มีบทบาทในการควบคุมการทำงานของกระเพาะอาหารและลำไส้เกี่ยวกับการหลั่งของกรดและการไหลเวียนของเลือดในเยื่อเมือกของกระเพาะอาหาร (๓-๖) การเพิ่มอัตราการไหลเวียนของเลือดในเยื่อเมือก

เชื่อว่าเกิดจากการที่ PGI_2 และ PGE_2 มีคุณสมบัติเป็น potent vasodilators ซึ่งทำให้ความดันเลือดลดลงเมื่อได้รับยานี้ (๕) การยับยั้งการหลั่งกรดของกระเพาะอาหาร พบได้ทั้งในสัตว์ทดลองและในคน (๕-๘) อนุพันธ์ของ PGE_2 มีฤทธิ์ยับยั้งการหลั่งกรดด้วยเช่นกัน (๗-๘) PGI_2 , PGE_2 และอนุพันธ์จะลดการหลั่งกรดได้ภายใน ๑๕-๒๐ นาที ในหนูที่ได้รับ pentagastrin 0.5 $\mu\text{g/Kg/min}$ เป็นสารกระตุ้นการหลั่งกรด (๑๐) PGs ที่มีฤทธิ์แรงคือ ๑๖,๑๖ dimethyl PGE_2 ในการเป็น antiulcer และ cytoprotection (๑๑) ให้ผลดีเมื่อบริหารโดยการกิน และให้ผลเร็วกว่าบริหารโดยการฉีดเข้าใต้ผิวหนัง แสดงว่ายาออกฤทธิ์เฉพาะที่ต่อเยื่อเมือกของกระเพาะอาหาร

จากการทดลองในสุนัข PGI_2 และ PGE_2 มีฤทธิ์ยับยั้งการหลั่งกรด PGI_2 เพิ่มการไหลเวียนเลือดในเยื่อเมือกของกระเพาะอาหาร ส่วน PGE_2 มีฤทธิ์ตรงกันข้าม (๔) แต่การทดลองในหนูพบว่า PGI_2 และ PGE_2 ลดการหลั่งกรด แต่เพิ่มการไหลเวียนเลือดในเยื่อเมือกของกระเพาะอาหาร โดยที่ PGI_2 มีผลต่อการไหลเวียนของเลือดมากกว่า PGE_2 (๔) รายละเอียดเกี่ยวกับผลของ PGs ต่อการทำงานของ oxyntic cell หรือ parietal cell adenylate cyclase อยู่ในเอกสารอ้างอิง หมายเลข ๑๒-๑๔

histamine กระตุ้น adenylate cyclase ของ parietal cell ทำให้มีการหลั่ง cyclic AMP เพิ่มขึ้น PGE_2 และ PGI_2 ใช้ในขนาดน้อย ๆ จะยับยั้งการหลั่ง cyclic AMP ใน parietal cell ได้ (๑๓) มีผู้เสนอว่าควรศึกษาหาผลต่อ pepsin ด้วย เพราะเกี่ยวข้องกับการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร (๑๐)

PGs A, E, I และอนุพันธ์มีผลยับยั้งการหลั่งกรดในสัตว์และคน เรียกผลนี้ว่า antisecretory effect และพบว่าสามารถป้องกันการเกิดแผลในคนและสัตว์ที่ได้รับ noxious agents (๑๑, ๑๕-๑๗) นอกจากนี้ PGs ยังช่วยเร่งการหายของแผลในกระเพาะอาหาร และลำไส้เล็ก (๑๘-๒๐) ในระยะต่อมา มีการกล่าวถึงผลของ PGs ในด้าน cytoprotection คือ ป้องกันเยื่อบุกระเพาะอาหารและลำไส้ไม่ให้อักเสบ หรือเกิดแผลเมื่อได้รับ noxious agents

การป้องกันการเกิดแผลและเร่งการหายของแผล อาจเกิดจากผล antisecretory หรือ cytoprotection แต่เชื่อว่าเกิดจากผลอย่างหลังมากกว่าโดยที่ผลทั้งสองนี้มีความแตกต่าง

กัน เพราะพบว่า PGs มีผล antisecretory เมื่อให้ยาขนาดสูง แต่ให้ผล cytoprotection เมื่อให้ยาในขนาดต่ำมาก (๑, ๑๑) ซึ่งในขนาดที่ให้ผล cytoprotection เต็มที่นั้นจะไม่มีผล antisecretory แสดงว่าผลทั้งสองอาจเกิดจากกลไกที่ต่างกัน

ได้มีการเสนอสมมุติฐานเกี่ยวกับกลไกในการทำให้เกิด cytoprotection ดังนี้ (๑, ๑๑, ๒๑, ๒๒)

๑. กระตุ้นการหลั่งเมือก (mucus)
๒. เพิ่ม sodium pump จาก mucosal side ของผนังกระเพาะอาหาร ไปสู่ serosal side
๓. กระตุ้น adenylate cyclase ของ nonparietal cells
๔. เพิ่มการไหลเวียนของเลือดที่เยื่อเมือกของกระเพาะอาหาร
๕. พิทักษ์รักษา gastric mucosal barrier ไว้โดยตรง หมายถึง การที่ทำให้เซลล์ของเยื่อเมือกในกระเพาะอาหารมีความมั่นคง เซลล์อยู่ในสภาพสมบูรณ์และทนทานต่อสารต่าง ๆ เช่น กรด ต่าง น้ำร้อน แอลกอฮอล์ และยาบรรเทาการชักเส็บ

ผลของ PGs ต่อการหลั่งเมือก

ฤทธิ์ป้องกันมิให้ผนังกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กเกิดแผลเมื่อถูกกับ noxious agents เกิดจาก PGs กระตุ้นให้มีการหลั่งเมือก (๒๓-๒๖) เชื่อว่าเมือกทำหน้าที่เป็น physical barrier ระหว่างเยื่อผนังกับสารระคายต่าง ๆ เหล่านั้น ฤทธิ์นี้เป็นฤทธิ์เฉพาะที่ เพราะพบว่า ทำให้มีการหลั่งเมือกได้ดี เมื่อบริหาร PGs โดยการกิน (๑๑) และมีการหลั่งเร็วภายใน ๑-๓๐ นาทีหลังให้ เมือกที่หลั่งใหม่ ๆ นี้จะมีคุณสมบัติเป็น barrier ที่ดี พบว่า mucus granules เพิ่มขึ้นหลังกิน PGE_2 ได้ ๑ ชั่วโมง โดยการทำ biopsy และดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ (๒๓) หรือโดยการย้อมสี alcian blue ซึ่งจะติดสี acid mucopolysaccharides ของ mucus granules (๒๔)

adenylate cyclase คือเอนไซม์ที่ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการสร้าง cyclic AMP ภายในเซลล์ (๒๗) จากการทดลองในสุนัขพบว่า $\text{PGE}_2 (10^{-4}\text{M})$ และ $\text{PGI}_2 (10^{-5}\text{M})$ ลดระดับ

cyclic AMP ใน parietal cell แต่เพิ่มระดับของสารนี้ใน nonparietal cell (๑๓, ๒๔, ๒๕) ในการศึกษาแบบ in vitro พบว่า PGI_2 และ PGE_2 กระตุ้น adenylate cyclase ใน nonparietal cell ที่ได้จากเยื่อเมือกของกระเพาะอาหารที่ได้จากผู้ป่วย peptic ulcer (๓๐) แต่ histamine กระตุ้นเอนไซม์นี้ที่อยู่ใน parietal cell (๓๑) ดังนั้น PGs จึงเพิ่มการหลั่งของน้ำหลั่งที่เป็นด่างและเมือกจาก nonparietal cell ของกระเพาะอาหาร (๒๕, ๓๒, ๓๓)

ผลของ PGs ต่อ sodium pump

PGs เพิ่ม sodium pump ของเซลล์เยื่อเมือก ทำให้เซลล์สามารถทำงานได้ตามปกติ PGs ทำให้ active transport ของโซเดียมเพิ่มขึ้นจากผนังด้าน mucosa ไปยังด้าน serosa (๓๔, ๓๕) การขนส่งนี้ต้องใช้พลังงานจากกลไกที่มี cyclic AMP เพิ่มขึ้น (๓๖)

ตามปกติ เซลล์จะต้องขนส่งโซเดียมจากด้าน mucosa ไปสู่ serosa แต่ noxious agents ยับยั้งการขนส่งโซเดียม ทำให้โซเดียมและน้ำคั่งอยู่ในเซลล์ เซลล์จึงบวมน้ำ และประกอบกับภาวะที่มีการคั่งอยู่ในกระเพาะอาหารด้วยก็ทำให้เกิดการตายของเซลล์และมีแผลเสื่อออกได้ (๓๗-๓๘) PGs บล็อกขบวนการเกิดแผลจากสารเหล่านี้ได้โดยรักษาสภาพปกติของเซลล์ในการขนส่งโซเดียมให้คงอยู่ปกติ และบล็อกกันไม่ให้เกิดแผล (๔๐-๔๒)

ผลของ PGs ต่อ adenylate cyclase

PGs มีผล cytoprotection โดยกระตุ้น adenylate cyclase ที่พบในเยื่อเมือกกระเพาะอาหารของสัตว์หลายชนิด (๓๕, ๔๓, ๔๔) แต่ PGs และ histamine กระตุ้น adenylate cyclase ของเซลล์คนละชนิดกัน (๓๑, ๔๓) โดยที่ PGs กระตุ้นการสร้าง cyclic AMP ใน nonparietal cell (๒๔, ๒๕, ๔๕) cyclic AMP ทำหน้าที่เป็น mediator ทำให้เซลล์เยื่อเมือกของกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กดำรงสภาพแข็งแรงทนทานต่อสารระคายต่าง ๆ (๓๕) โดยเซลล์ยังมีชีวิตทำหน้าที่ได้ตามปกติ เช่น ควบคุม Na^+ flux และหลั่งสารต่อต้าน noxious agents ต่าง ๆ เช่น การหลั่งเมือก ดังได้กล่าวมาแล้ว (๔๖, ๔๗)

ผลของ PGs ต่อการไหลเวียนของเลือดในเยื่อเมือกของกระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก

การที่การไหลเวียนของเลือดในเยื่อเมือกของกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กเพิ่มขึ้น ทำให้กระเพาะอาหารและลำไส้เล็กมีความต้านทานต่อ noxious agents โดยเลือดจะนำอาหารและออกซิเจนมาสู่เซลล์พร้อมกับนำของเสียหรือสารพิษออกไปจากเซลล์

มีรายงานว่า PGs หลายชนิดทั้ง I และ E เพิ่มอัตราการไหลเวียนของเลือดในเยื่อเมือก และสามารถป้องกันกระเพาะอาหารและลำไส้ไม่ให้เกิดแผล (๔๘-๕๑) การศึกษาทำโดยวัด clearance ของ ^{14}C -aminopyrine พบว่า PGI_2 เพิ่มการไหลเวียนของเลือดในเยื่อเมือก และลดอัตราการเกิดแผลของกระเพาะอาหารโดยแอลกอฮอล์ได้ (๔๘) และจากการศึกษาโดยใช้วิธีต่าง ๆ เช่นการวัด gastric vascular perfusion pressure, electromagnetic flow probe และ radioactive microsphere technique พบว่า PGI_2 และ PGE_2 ทำให้การไหลเวียนของเลือดในเยื่อเมือกเพิ่มขึ้น โดยที่ ๒ วิธีหลังให้ผลแม่นยำกว่าการวัด clearance ของ aminopyrine (๔๘-๕๑)

จากการใช้ fluoroscopy ศึกษา microcirculation ของเยื่อเมือกในกระเพาะอาหาร พบว่า dimethyl PGE_2 รักษาอัตราการไหลเวียนของเลือดให้ปกติอยู่ได้แม้ในกระเพาะอาหารจะมีสารแอลกอฮอล์อยู่ด้วย แสดงว่าด้านฤทธิ์ทำลายกระเพาะอาหารของแอลกอฮอล์ได้ (๕๒) ถ้าหากจะมี PGs บางชนิดมีผลลดการไหลเวียนของเลือดในเยื่อเมือก ผลอันนี้เป็นผลตามหลังผลลดการหลั่งกรดของ PGs นั้น ไม่ใช่ผลโดยตรงต่อการไหลเวียนของเลือด (๕๓, ๕๔)

PGs ที่มีผล cytoprotection นั้นหลายชนิดที่ไม่มีผลลดการหลั่งกรด ชนิดที่มีผลลดการหลั่งกรด ขนาดที่มีผล cytoprotection ต่ำกว่าขนาดที่ลดการหลั่งกรดหลายเท่า ขนาดของ ๑๖, ๑๖ dimethyl PGE_2 ที่มีผล cytoprotection (E.D._{50} ในหนู = 0.05 ug/Kg) ต่ำกว่าขนาดที่มีผลลดกรดถึง ๕๐๐ เท่า (๑๑) ผล cytoprotection ของ PGs เชื่อว่าเกิดจากการเพิ่มอัตราการไหลเวียนของเลือดในเยื่อเมือกของกระเพาะอาหารนั่นเอง (๔๘, ๔๙, ๕๖)

ผลของ PGs ต่อ mucosal barrier

mucosal barrier หมายถึงเยื่อหุ้มของเซลล์ที่อยู่ในเยื่อเมือกและ junctional complex ทำหน้าที่เป็นด่านกันอันตราย จากสารระคายต่าง ๆ PGs จะเสริมความแข็งแรงแก่ gastric mucosal barrier ให้ทนทานต่อสารที่มาสัมผัสกับผนังกันนี้โดยตรง โดยพบว่า PGs ป้องกันเซลล์ของชั้นเยื่อเมือกที่อยู่ใต้ชั้น surface epithelium ลงไปจนตลอดความหนาของเยื่อเมือกที่ปิดติดกับชั้นใต้เยื่อเมือก แต่เซลล์ที่อยู่บนพื้นผิว (monolayer surface epithelium) ไม่ได้ถูกป้องกันโดย PGs (๕๗)

กลไกการทำลาย gastric mucosal barrier เกิดจากการที่มีการซึมกลับของ H^+ เข้าสู่เซลล์ของเยื่อเมือก ขณะเดียวกัน Na^+ และ K^+ ก็ต้องเคลื่อนออกมาสู่ lumen ของกระเพาะอาหารเป็นการแลกเปลี่ยน ผลของ H^+ เข้าเซลล์ทำให้ผนังเยื่อเมือกอักเสบหรือรุนแรงถึงเป็นแผลได้ (๕๘) แอสไพรินเป็นสารทำให้เกิดการซึมกลับของ H^+ พบว่า dimethyl PGE_2 ป้องกันการเกิดแผลของ mucosal barrier จากแอสไพรินได้ (๕๙) การให้ dimethyl PGE_2 ทางปากซึ่งยาจะออกฤทธิ์เฉพาะที่ที่เยื่อเมือกโดยตรงหรือบริหารโดยการฉีด จะป้องกันการทำลาย mucosal barrier จากสารระคายได้ ทั้งในสัตว์ทดลอง (๖๐) และในคน (๖๑)

กลไกในการป้องกัน gastric mucosal barrier โดย PGs อาจเป็นไปได้ดังนี้

๑. PGs ป้องกันฤทธิ์ทำลาย gastric mucosal barrier จาก lysosomal cathepsin D enzyme ได้

lysosomal enzyme พบในอวัยวะและเนื้อเยื่อต่าง ๆ เช่น ดับ โต เม็ดเลือดขาว (PMN) และเยื่อเมือกของกระเพาะอาหาร เป็นต้น ตามปกติเอนไซม์จะอยู่ใน lysosomes ในภาวะเครียด พบว่ามีสาร serotonin (5-HT) ซึ่งทำให้หลอดเลือดหดตัว มีผลให้เยื่อเมือกของกระเพาะอาหารขาดเลือดและออกซิเจน จะมี lysosomal cathepsin D enzyme ซึ่งเป็น proteolytic enzyme ถูกปล่อยออกมาจากเซลล์ของเยื่อเมือกมาทำลายเซลล์รอบ ๆ มีผลทำให้ gastric mucosal barrier ถูกทำลาย (มีการซึมกลับของ H^+) จึงมีแผลเกิดขึ้น

เมื่อบริหาร PGE_1 ในขนาด 75 $\mu g/Kg$ ฉีดใต้ผิวหนังของหนูจำนวน ๔ ครั้ง จะ

ป้องกันการทำลาย gastric mucosal barrier จาก serotonin ได้ โดย PGE_1 ไปยับยั้งการปล่อย lysosomal cathepsin D enzyme จากเยื่อเมือกกระเพาะอาหาร (๖๒)

๒. PGE_2 เพิ่มความหนาของเยื่อเมือกของกระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก และจำนวนของเซลล์ในเยื่อเมือก ก็เพิ่มขึ้นด้วย

จากการทดลองในหนู โดยให้ ๑๖, ๑๖ dimethyl PGE_2 100 $\mu\text{g/Kg}$ และ 5 $\mu\text{g/Kg}$ ทุก ๘ ชม. เข้าสู่กระเพาะอาหารโดยตรง ซึ่งเป็นวิธีให้เฉพาะที่ เป็นเวลานาน ๒๑ วัน สำหรับขนาด 5 $\mu\text{g/Kg}$ เป็นขนาดที่ไม่ยับยั้งการหลั่งกรด แต่มีผล cytoprotection พบว่าเยื่อเมือกหนาขึ้น โดยมี connective tissue และ epithelial cell เพิ่มทุกบริเวณของกระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก แต่ที่บริเวณ gastric antrum หนามากที่สุด และพบว่ามี การแบ่งตัวของเซลล์มาก (๖๓) แต่ผลดังกล่าวนี้ต้องให้ PGE_2 เป็นเวลานาน การให้ในระยะสั้น ๆ เพียง ๔๘ ชั่วโมงไม่เห็นผล แม้จะให้ขนาดสูงกว่าคือ 0.2 mg/Kg (๖๔) . เพราะยังไม่เพิ่มการสังเคราะห์โปรตีนและดีเอ็นเอ

๓. PGs ทำให้ mucosal fold แบนราบลง ดังนั้นโอกาสที่จะเกิดแผลจึงลดลง จากการสังเกตพบว่า ลักษณะแผลที่พบในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กเป็นรูปยาวรี (linear pattern) ไม่ว่าจะเกิดจากสาเหตุใดหรือสารระคายระเภทใด แผลมักเกิดในบริเวณที่เป็น mucosal fold นั่นเอง mucosal fold เป็นบริเวณที่ไวต่อการเกิดแผล เพราะเป็นบริเวณที่มีจุดอ่อนในการเคลื่อนไหว มีการยืดและหักพับง่าย (๖๕) มีข้อบกพร่องทาง permeability โดยมีค่า potential difference ต่ำ (๖๖) และบกพร่องในปริมาณของเลือดที่มาเลี้ยง ส่วนที่เป็น mucosal fold มีลักษณะแปลกไปจากบริเวณอื่นของเยื่อเมือก เกิดแผลในบริเวณนี้ได้ง่าย PGs ทำให้ mucosal fold แบนราบลง และมีโอกาสในการเกิดแผลน้อยลง

สรุป

ยาพวก PGs อาจเป็นยารักษา peptic ulcer ที่ดีชนิดหนึ่ง ข้อเสียคือ ราคาแพง และทำให้ท้องเดิน ในประเทศไทยมีการวิจัยทางคลินิกอยู่ในปัจจุบัน . ตัวยายังไม่มีจำหน่ายในท้องตลาด

เอกสารอ้างอิง

1. Robert, A. Cytoprotection by prostaglandins. *Gastroenterology* 77 : 761-767, 1979.
2. Moncada, S., Vane, J.R. and Whittle, B.J.R. Relative potency of prostacyclin, prostaglandins E_2 and D_2 as inhibitors of platelet aggregation in several species. *J. Physiol.* 273 : 2-4p, 1977.
3. Moncada, S. et al. Formation of prostacyclin (PGI_2) and its product, 6-oxo- $PGF_{1\alpha}$ by the gastric mucosa of several species. *J. Physiol.* 275 : 4p, 1977.
4. Vane, J.R. and Bergström, S. Prostacyclin. Raven Press, New York, 1979, 173.
5. Whittle, B.J.R. et al. Actions of prostacyclin (PGI_2) and its product, 6-oxo- $PGF_{1\alpha}$ on the rat gastric mucosa in vivo and in vitro. *Prostaglandins* 15 : 955-967, 1978.
6. Main, I.H.M. and Whittle, B.J.R. Investigation of the vasodilator and antisecretory role of prostaglandins in the rat gastric mucosa by use of non-steroidal antiinflammatory drugs. *Br. J. Pharmacol.* 53 : 217, 1975.
7. Robert, A.R. et al. Gastric antisecretory and antiulcer properties of PGE_2 , 15-methyl PGE_2 and 16, 16-dimethyl PGE_2 . Intravenous, oral and intrajejunal administration. *Gastroenterology* 70 : 359, 1976.
8. Karim, S.M.M. et al. Effect of orally and intravenously administered prostaglandin 15(R)-15 methyl E_2 on gastric secretion in man. *Adv. Biosci.* 9 : 255-264, 1973.
9. Robert, A., Nylander, B. and Andersson, S. Marked inhibition of gastric secretion by two prostaglandin analogs given orally to man. *Life Sci.* 14 : 533-538, 1974.
10. Vane, J.R. and Bergstrom, S. Prostacyclin. Raven Press, New York, 1979, 159.
11. Robert, A. et al. Cytoprotection by prostaglandins in rats ; prevention of gastric necrosis produced by alcohol, HCl, NaOH, hypertonic NaCl and thermal injury. *Gastroenterology* 77 : 433-443, 1979.
12. Main, I.H.M. and Whittle, B.J.R. Prostaglandin E_2 and the stimulation of rat gastric acid secretion by dibutyryl cyclic $3', 5'$ -AMP. *Eur. J. Pharmacol.* 26 : 204, 1974.
13. Soll, A.H. Specific inhibition by prostaglandins E_2 and I_2 of histamine-stimulated (^{14}C) aminopyrine accumulation and cyclic adenosine monophosphate generation by isolated canine parietal cells. *J. Clin. Invest.* 65 : 1222-1229, 1980.
14. Wollin, A.W., Soll, A.H. and Samloff, I.M. Actions of histamine, secretin, and prostaglandin E_2 on cyclic AMP production by isolated canine fundic mucosal cells. *Am. J. Physiol.* 237 : E437-E443, 1979.

15. Cohen, M.M. Mucosal cytoprotection by prostaglandin E_2 . *Lancet* 2 : 1253, 1978.
16. Cohen, M.M., Cheung, G. and Lyster, D.M. Prevention of aspirin-induced fecal blood loss prostaglandin E_2 . *Gut* 21 : 602-606, 1980.
17. Gilbert, D.A. et al. Prevention of acute aspirin-induced gastric mucosal injury by 15-R-15 methyl prostaglandin E_2 : an endoscopic study. *Gastroenterology* 86 : 339-345, 1984.
18. Fung, W.P., Karim, S.M.M. and Tye, C.Y. Effect of 15 (R) 15 methyl-prostaglandin E_2 methyl ester on healing of gastric ulcers. Control endoscopic study. *Lancet* 2 : 10-12, 1974.
19. Gibinski, K. et al. Double-blind clinical trial on gastroduodenal ulcer healing with prostaglandin E_2 analog. *Gut* 12 : 636-639, 1977.
20. Vantrappen, G. et al. A multicenter trial of 15(R)-15-methyl-prostaglandin E_2 in duodenal ulcer. *Gastroenterology* 78 : 1283, 1980.
21. Miller, T.A. and Jacobson, E.D. Gastrointestinal cytoprotection by prostaglandins. *Gut* 20 : 75-87, 1979.
22. Paton, W., Mitchell, J. and Turner, P. Proceedings of IUPHAR 9 th International Congress of Pharmacology. vol. 3. Macmillan, London, 1984, 355.
23. Fung, W.P., Lee, S.K. and Karim, S.M.M. Effect of prostaglandin 15(R)-15-methyl E_2 -methyl ester on the gastric mucosa in patients with peptic ulceration. An endoscopic and histological study. *Prostaglandins* 5 : 465-472, 1974.
24. Bolton, J.P., Palmer, D. and Cohen, M.M. Effect of the E_2 prostaglandins on gastric mucosa production in rats. *Surg. Forum* 27 : 402-403, 1976.
25. Bolton, J.P., Palmer, D. and Cohen, M.M. Stimulation of mucosa and nonparietal cell secretion by the E_2 prostaglandins. *Am. J. Dig.* 23 : 359-364, 1978.
26. Nezamis, J.E. and Robert, A. Gastric mucus may mediate the cytoprotective effect of prostaglandins. *Gastroenterology* 78 : 1228, 1980.
27. Lewis, P.J. and O'Grady, J. Clinical Pharmacology of Prostacyclin. Raven Press, New York, 1981, 219.
28. Soll, A.H. and Whittle, B.J.R. Activity of prostacyclin, a stable analogue, 6 β - PGI₁ and 6-ox-PGF_{1 α} on canine isolated parietal cell. *Br. J. Pharmacol.* 66 : 97-98P, 1979.
29. Wollin, A.W., Soll, A.H. and Samloff, I.M. Actions of histamine, secretin, and prostaglandin E_2 on cyclic AMP production by isolated canine fundic mucosal cells. *Am. J. Physiol.* 237 : E437-E443, 1979.
30. Simon, B. and Kather, H. Modulation of human gastric mucosa andenylate cyclase activity by prostacyclin. *Digestion* 19 : 137-139, 1979.

31. Thompson, W.J. Chang, L.K. and Jacobson, E.D. Rat gastric mucosal adenylyl cyclase. *Gastroenterology* 72 : 244-250, 1977.
32. Nompleggi, D. et al. Cytoprotection and the effect of methyl PGF_{2α} on gastric parietal and non-parietal secretion. *Gastroenterology* 78 : 1228, 1980.
33. Kauffman, G.L., Reeve, J.J. and Grossman, M.I. Gastric bicarbonate secretion : effect of topical and intravenous 16,16-dimethyl prostaglandin E₂. *Am. J. physiol.* 239 : G44-G48, 1980.
34. Bowen, J.C. et al. Electrophysiological effect of burimamide and 16, 16-dimethyl prostaglandin E₂ on the canine gastric mucosa. *Gastroenterology* 68 : 1480-1484, 1975.
35. Chaudhury, T.K. and Jacobson, E.D. Prostaglandin cytoprotection of gastric mucosa. *Gastroenterology* 74 : 58-63, 1978.
36. Hall, W.J. et al. Endogenous prostaglandins, adenosine 3' : 5' -monophosphate and sodium transport across isolated frog skin. *J. Physiol (Lond)* 258 : 731-753, 1976.
37. Sernka, T.J. et al. Effects of ethanol on active transport in the dog stomach. *Am. J. Physiol.* 226 : 397-400, 1974.
38. Kuo, Y.J. et al. Effect of ethanol on permeability and ion transport in the isolated dog stomach. *Am. J. Dig. Dis.* 19 : 818-824, 1974.
39. Kuo, Y.J. and Shanbour, L.L. Inhibition of ion transport by bile salts in canine gastric mucosa. *Am. J. Physiol.* 231 : 1433-1437, 1976.
40. Jacobson, E.D. and Thompson, W.J. Cyclic AMP and gastric secretion : the illusive second messenger. *Adv. Cyclic Nucleotide Res.* 7 : 199-230, 1976.
41. Jacobson, E.D. Chaudhury, T.K. and Thompson, W.L. Mechanism of gastric mucosal cytoprotection by prostaglandins. *Gastroenterology* 70 : 897, 1976.
42. Schiessel, R. et al. PGE₂ stimulates gastric chloride transport : possible key to cytoprotection. *Nature* 283 : 671-673, 1980.
43. Wollin, A., Code, C.F. and Dousa, T.P. Evidence for separate histamine and prostaglandin sensitive adenylate cyclase (AC) in guinea pig gastric mucosa (GM). *Clin. Res.* 22 : 606 A, 1974.
44. Thompson, W.J. and Jacobson, E.D. Comparison of the effects of secretory stimulants and inhibitors on gastric mucosal adenylyl cyclases of various species. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 154 : 377-381, 1977.
45. Soll, A.H. Prostaglandin inhibition of histamine-stimulated aminopyrine uptake and cyclic AMP generation by isolated canine parietal cells. *Gastroenterology* 74 : 1146, 1978.
46. Cohen, M.M. Prostaglandin E₂ prevents gastric mucosal barrier damage. *Gastroenterology* 68 : 876, 1975.

47. Wallace, J.L. and Cohen, M.M. Gastric mucosal protection with chronic mild restraint : role of endogenous prostaglandin. *Am. J.Physiol.* 247 (2Pt 1) G : 127-32, 1984.
48. Konturek, S.J. and Robert, A. Cytoprotection of canine gastric mucosa by prostacyclin : possible mediation by increased mucosal blood flow. *Digestion* 25 : 155-163, 1982.
49. Kauffman, G.L. and Whittle, B.J.R. Gastric vascular actions of prostanooids and the dual effect of arachidonic acid. *Am. J.Physiol.* 242 : G582-G587, 1982.
50. Gerber, J.G. and Nies, A.S. Canine gastric mucosal vasodilation with prostaglandins and histamine analogs. *Dig.Dis.Sci.* 27 : 870-874, 1982.
51. Cheung, L.Y. Topical effects of 16,16-dimethyl prostaglandin E_2 on gastric blood flow in dogs. *Am. J.Physiol.* 238 : G514-G519, 1980.
52. Allen, A. *The Upper Gastrointestinal Tract.* Raven Press, New York, 1984, 285.
53. Konturek, S.J. et al. The influence of prostacyclin on gastric mucosal blood flow in resting and stimulated canine stomach. *Gastroenterology* 76 : 1173, 1979.
54. Jacobson, E.D. Comparison of prostaglandin E_1 and norepinephrine on the gastric mucosal circulation. *Proc.Soc.Exp.Biol.Med.* 133 : 516-519, 1970.
55. Konturek, S.J. et al. Cytoprotection of the canine gastric mucosa by prostacyclin : possible mediation by increased mucosal blood flow. *Gastroenterology* 76 : 1173, 1979.
56. Boughton-Smith, N.K., Vane, J.R. and Whittle, B.J.R. Effects of prostacyclin (PGI_2), PGI_1 and 6-ox- $PGF_{1\alpha}$ on the rat gastric mucosa. *Br. J.Pharmacol.* 62 : 413p, 1978.
57. Lacy, E.R. and Ito, S. Microscopic analysis of ethanol-induced damage to rat gastric mucosa treatment with a prostaglandin. *Gastroenterology* 83 : 619-625, 1982.
58. Davenport, H.W. et al. Functional significance of gastric mucosal barrier to sodium. *Gastroenterology* 47 : 142-152, 1964.
59. Allen, A. *The Upper Gastrointestinal Tract.* Raven Press, New York, 1984, 371.
60. Tepperman, B.L., Miller, T.A. and Johnson, L.R. Effect of 16,16-dimethyl-prostaglandin E_2 on ethanol-induced damage to canine oxyntic mucosa. *Gastroenterology* 75 : 1061-1065, 1978.
61. Muller, P. et.al. Prevention of aspirin-induced drop in gastric potential difference with 16,16-dimethyl prostaglandin E_2 . *Lancet* i : 333-334, 1981.
62. Ferguson, W.W. et. al. Protective effect of prostaglandin E_1 (PGE_1) on lysosomal enzyme release in serotonin-induced gastric ulceration. *Ann.Surg.* 177 : 648-654, 1973.

63. Reinhart, W.H., Muller, O. and Halter, P. Influence of long - term 16,16-dimethyl prostaglandin E_2 treatment on the rat gastrointestinal mucosa. Gastroenterology 85 : 1003-10, 1983.
64. Johnson, L.R. and Guthrie, P. Effect of cholecystokinin and 16,16-dimethyl prostaglandin E_2 on RNA and DNA of gastric and duodenal mucosa. Gastroenterology 70² : 59-65, 1976.
65. Mersereau, W.A. and Hinchey, E.J. Synergism between acid and gastric contractile activity in the genesis of ulceration and hemorrhage in the phenylbutazone - treated rat. Surgery 90 : 516-22, 1981.
66. Mersereau, W.A. and Hinchey, E.J. Role of gastric mucosal folds in formation of focal ulcers in the rat. Surgery 91 : 150-55, 1982.

บทคัดย่อ

เรื่องที่เสนอในที่ประชุมทางวิชาการ

การประชุมใหญ่สามัญประจำปี ครั้งที่ ๘

ของ

สมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย

วันที่ 7-9 พฤษภาคม 2529

ณ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

INTRAERYTHROCYTIC CHANGES OF A METABOLIC REGULATOR, FRUCTOSE 1,6- DIPHOSPHATE (FDP) IN VITRO

Supeecha Siriwarothakule and Udom Chantharaksri

Department of Pharmacology, Faculty of Science, Mahidol University, Rama 6 Road, Bangkok 10400

Fructose 1,6-diphosphate (FDP), a metabolic regulator of the glycolytic pathway in the red blood cells is known to have the important roles in regulating cellular function and metabolism. Intraerythrocytic changes of FDP, subjected to various environmental conditions were followed *in vitro*, using a modified enzymatic method of Beutler (1980).

Both human and rat blood samples were taken into the heparinized plastic tubes, plasma was removed by centrifugation and red cells were washed with isotonic phosphate buffer before incubated at 40°C in different media for 1 and 24 hours. Packed red cells were hemolysed with perchloric acid, followed by K₂CO₃ neutralization before the FDP determinations.

At physiological pH (7.4), the presence of glucose significantly elevated intraerythrocytic levels of FDP after incubated for 24 hours. In the contrary, citrate which has been used as anticoagulant in clinical blood sampling and storage was found to lower the levels of FDP when incubated with the red cells. The suppressive effect of citrate on intraerythrocytic FDP was pH dependent; i.e. acidic citrate (ACD, pH 4.8) was more effective in lowering the level of FDP than the less acidic citrate. The change in pH per se, as varying the pH (from 7.4, 6.4, 5.5 to 4.8) in the phosphate buffer, used for red cell incubation caused no change to intraerythrocytic FDP under this incubating condition.

The levels of intraerythrocytic FDP in the Diabetic (DM) and Thalassemia (THAL) patients were variably changed presumably by the pathological states. It could be due to the exposure of red cells to relatively high blood glucose in the diabetic patients that the intraerythrocytic levels of FDP were significantly elevated before the *in vitro* incubation, and then followed the normal pattern of FDP levels in blood from healthy volunteers, after incubated with the assigned medium for both 1 and 24 hours. This indicates that the glycolytic regulation of the DM's red cell is not defective. Levels of intraerythrocytic FDP in thalassemia were much elevated at pre- and post-1 hour incubations, while the levels of intraerythrocytic FDP after 24 hour-incubation of the splenectomized (SP) and non-splenectomized (NS) were in contrast different. The FDP level of the SP-THAL dropped down below but that of the NP-THAL continuously elevated beyond their respective pre-incubation levels suggests that some glycolytic regulatory defects occur to the thalassemic red cells.

SERUM LEVELS OF DIGOXIN IN THAI PATIENTS : A PRELIMINARY REPORT

Chaichan Sangdee* and Anont Manmontri**

*Department of Pharmacology and **Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai 50002

Seven patients with congestive heart failure admitted to Maharaj Nakorn Chiang Mai Hospital were used in this study. Every patient was treated with various doses of digoxin. Their serum levels of digoxin were measured by the method of fluorescence polarization immunoassay (FPIA). Serum levels of digoxin in five patients correlated well with clinical responses while the other two did not. Two patients with serum levels below 0.9 ng/ml correlated with poor responses to digoxin treatment while serum levels of 1.39 and 1.58 ng/ml in two patients agreed with good clinical findings. Among three patients diagnosed to be digoxin intoxication, Only one exhibited serum level (3.3 ng/ml) of toxic range, serum levels of the other two patients were too low to be toxic. These latter two patients were elderly, thin with underlied chronic obstructive pulmonary disease. The results of this preliminary study suggest that FPIA may be a potentially useful tool for quantitating serum levels of digoxin.

THE EFFECTS OF PIPERINE ON ISOLATED RIGHT AND LEFT RAT ATRIA

Ukarachata U., Dhumma-Upakorn P., Sudsuang R., and Sanquanrungrasirikul S.

Interdepartment of Physiology, Chulalongkorn University, Bangkok 10500

The effects of piperine on cardiovascular system have been studied on isolated right and left rat atria. Piperine at five doses, 3, 6, 12, 24, and 48 $\mu\text{g/ml}$, was found to produce dose-dependent positive chronotropy and inotropy on isolated right and left rat atria respectively. The time to maximum effect on both right atrial rate and left atrial isometric tension were about 3-5 min after addition of drug. With high doses (24 and 48 $\mu\text{g/ml}$) these initial stimulations were followed by depression of both the rate and contractile force. Reserpine pretreatment greatly reduced the positive chronotropy and inotropy about 58% and 98% respectively. In addition, the positive chronotropic effect of piperine was attenuated by 0.15 $\mu\text{g/ml}$ propranolol (about 50%). Alpha-adrenoceptor blocking agent (phentolamine 0.32 $\mu\text{g/ml}$) and 5-HT antagonist (methylsergide 0.47 $\mu\text{g/ml}$ and cyproheptadine 0.02 $\mu\text{g/ml}$) did not affect both positive chronotropy and inotropy. Neuronal uptake inhibitor of noradrenaline, desipramine 0.27 $\mu\text{g/ml}$ and cocaine 9.1 $\mu\text{g/ml}$, greatly reduced the positive chronotropic and inotropic effects by 60% and 90% respectively. It is concluded that piperine mediates the positive chronotropic and inotropic effects mainly by indirectly stimulates the release of catecholamine from adrenergic nerve in atria.

REVERSAL OF ENDOTOXIN-INDUCED HYPOTENSION BY OPIOID ANTAGONISTS IN RATS

*Puongtip Winyaratana and Chaichan Sangdee**Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Chiang Mai University,
Chiang Mai 50002*

Since opioid peptides are released in response to stress, it appears possible that these peptides be released during stress of sepsis and contribute to the hypotension observed in this condition. Three opioid antagonists were used to reverse the endotoxin-induced hypotension in rats. Endotoxin (30 mg/kg) produced multiphasic depressor effect which lasted more than 3 hr. Equi-volume of saline or opioid antagonists was administered when endotoxin depressed mean arterial pressure of the animal to 60-70 mmHg. Among opioid antagonists used in this study, 1 mg/kg of naloxone seem to be most effective in the reversal of hypotension induced by endotoxin, followed by 7 mg/kg of nalorphine and 3 mg/kg of pentazocine, respectively. Other doses of each opioid antagonists were tried but with less successful reversal. When the most effective doses of each opioid antagonists in the reversal of endotoxin-induced hypotension were compared, their effectiveness were not significantly different. The results of this study support the original hypothesis that endogenous opioid peptides contribute to the pathophysiology of endotoxin-induced hypotension.

DIRECT EFFECT OF RUSSELL'S VIPER VENOM (RVV) ON RENAL HEMODYNAMICS, URINARY ENZYMES AND THROMBOXANE B₂ IN DOGS

*S. Thamaree, N. Chaiyabutr, S. Leepipatpaiboon, K. Buranasiri,
P. Tosukhowong, P. Sirivongs, V. Sitprija*

Departments of Pharmacology, Biochemistry and Medicine, Faculty of Medicine and Institute of Medical Sciences, Chulalongkorn University, Bangkok 10500

Department of Physiology, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10500

In this study, we assessed the effects of RVV on renal hemodynamics, urinary enzymes, plasma and urinary TxB₂ in 7 dogs during and after a 40-min intrarenal arterial infusion of RVV (1.25 µg/kg/min). All parameters were determined before and at 20, 40 and 60 min after the beginning of RVV. The urinary enzymes measured included N-acetyl-β-D-glucosaminidase (NAG). γ-glutamyl, transpeptidase (γ-GT), alanine-aminopeptidase (AAP) and β-galactosidase (GAL). Plasma and urinary TxB₂ were measured by radioimmunoassay after extraction and purification steps.

As compared with the control stage, significant change was observed for a decrease in the mean arterial pressure (MAP) during the first 20 min after RVV administration (128.4 ± 7.7 vs. 118 ± 10.2 mm Hg, mean \pm SE, $p < 0.025$) as well as the fractional excretion of sodium (FE_{Na}), potassium (FE_K), and chloride (FE_{Cl}) ($p < 0.05$). The heart rate (HR), renal blood flow (RBF) and glomerular filtration rate (GFR) did not change significantly for all period of observation. Urine flow (V) increased by approximately 15.4-65.4% in 5 dogs and decreased 6.6-32.9% in 2 dogs. U_{NAG} increased significantly 40 min after the commencement of RVV infusion (727 ± 301 VS. 1484 ± 386 units/min, $p < 0.005$). A 7- to 9-fold elevation of U_{TxB₂} was detected for all periods of observation but FE_{TxB₂} was significantly increased during the first 20 min after RVV infusion

This study showed : (1) The changes of RBF and GFR could not explain the rise of V, excretion of electrolytes and TxB₂. They should rather be accounted for by direct tubular dysfunction (2) Plasma TxB₂ increased in parallel with U_{TxB₂} suggesting an augmented synthesis of TxB₂ and/or disturbance of active reabsorption of U_{TxB₂} by tubular cells. (3) The elevation of NAG indicated direct nephrotoxicity of RVV.

ALTERATIONS OF CARDIAC CHOLINOCEPTORS DURING DIAZEPAM TREATMENT AND AFTER WITHDRAWAL

Krittika Polratana and Jutamaad Satayavivad

Department of Pharmacology, Faculty of Science, Mahidol University,
Rama 6 Rd., Bangkok 10400, Thailand

Diazepam 2, 5, 10, 15 and 20 mg/kg were administered intraperitoneally twice daily for 7 days to male Wistar rats weighing 180-220 gm. The control group was received the same quantity of distilled water instead of diazepam. The animals were sacrificed one hour after the last dose for studying the effect of diazepam treatment and 1, 3, 5 days later for studying the alteration of cholinergic receptors during withdrawal period. Spontaneously beating rat's right atrium were used throughout the study. The test organ was bathed with 95% O₂, 5% CO₂ aerating Krebs's solution and the temperature was kept constant at 35°C. The heart rate and force were recorded by using the Grass polygraph model 79 D.

Pilocarpine (10^{-8} M to 10^{-4} M) was selected as the representative of muscarinic receptor agonists. The augmentation of pilocarpine effect was observed in rats treated with high doses of diazepam. This supersensitivity is reversible during the withdrawal period.

DRUG EVALUATING MODEL FOR ANTICANCER ACTIVITY OF A WELL-KNOWN THAI FOLKLORIC REMEDY

Dalad Pornsiriprasert⁽¹⁾, Porntipa Picha⁽²⁾, Kanchana Ketsa-ard⁽³⁾
Punya Temcharoen⁽⁴⁾, Panas Chalermksanyakorn⁽⁵⁾, Kanlaya Preechanukool⁽²⁾

(1) Department of Pharmacology, Faculty of Graduate Studies, Mahidol University, Bangkok 10700, Thailand

(2) Research Division, National Cancer Institute, Bangkok 10400, Thailand

(3) Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Siriraj Hospital, Bangkok 10700, Thailand

(4) Department of Pathobiology, Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok 10400, Thailand

(5) Department of Pathology, Faculty of Medicine, Ramathibodi Hospital, Bangkok 10400, Thailand

A set of Thai folkloric remedy consists of five species of medicinal plants i.e. *Ludwigia hyssopifolia* (G.Don) Ewell., *Polygala chinensis* Linn., *Canna indica* Linn., *Smilax carbularia* Kunth C., and *Climacanthus siamensis* Brem., and five medicinal animals. This remedy was claimed to be more effective in the treatment of patients with mammary tumors. The hormone-dependent mammary tumor induced by 7,12-DMBA was used for testing anticancer activity of the plant extract of this remedy. This mammary tumor in rats is closely parallel to its human counterpart. Female Wistar rats fed 130 mg/kg DMBA singly developed mammary tumors 30.67% (73 out of 238 survival rats) which classified by their histology to 7 subdivisions. The appearing rates were adenocarcinoma 69.9%, fibroadenoma 12.3%, carcinosarcoma 8.2%, adenocarcinoma with squamous cell metaplasia 6.8%, fibroma 4.1%, intraductal papillomatosis 1.4% and adenosis 1.4%. Treatment in 37 malignant mammary tumor bearing rats by daily dose of 1,000 mg/kg the plant extract can increase survival rate ($P = 0.041$) and prolong survival time ($P = 0.025$) significantly comparing to the solvent control group.

ROLES OF ARACHIDONIC ACID METABOLISM ON TESTOSTERONE PRODUCTION IN
MOUSE LEYDIG CELLS

Wacharee Limpanasithikul, Darawan Dechachart and Udom Chantharaksri

Department of Pharmacology, Faculty of Science, Mahidol University,
Rama 6 Road, Bangkok 10400, Thailand

Like many other endocrine glands, the suspected functional significance of the arachidonic acid metabolism in the leydig cells has been searched. It has been shown that prostaglandin F₂-alpha, a cyclooxygenase metabolite of arachidonic acid suppresses plasma testosterone in the male rats and its inhibitory action on leydig cell response to gonadotropin stimulation is demonstrated *in vitro*. The modulating role of the endogenous prostaglandin on leydig cell response to gonadotropic stimulation has been repeatedly supported by experiments using cyclooxygenase inhibitors which are shown to potentiate the steroidogenic response to gonadotropic stimulation both *in vivo* and *in vitro*. The existence and involvement of lipoxxygenase metabolite(s), product(s) of the other known metabolic pathway of cellular arachidonic acid metabolism is demonstrated in this study.

Mouse leydig cells were isolated and purified by Ficoll density gradient centrifugation. The calibrated leydig cell suspensions, in a balanced salt solution were incubated in a constant shaking water bath under the atmosphere of 95%O₂/5%CO₂ with gonadotropin, in the presence or absence of arachidonic acid (AA) and/or a known lipoxxygenase inhibitor, nor-dihydroguaiaretic acid (NDGA). Mice treated with indomethacin (IND) were also used in this study. Arachidonic acid (doses upto 20 µM) caused a minimum but significant elevation of basal testosterone production in the medium. Addition of NDGA (12.5 to 50 µM) into the medium caused more increase in testosterone production over the stimulatory effect of AA and IND, this effect of NDGA is not dose dependent. The additive effect of NDGA on the basal steroidogenic action of AA and indomethacin is attributable to the non-specific cyclooxygenase inhibitory activity of the NDGA.

In the hCG-stimulated response, AA dose dependently increased the steroidogenic response to hCG (10 mIU) stimulation and the production of testosterone was further increased in mouse treated with IND. NDGA in the contrary dose dependently suppressed testosterone production in mouse leydig cells from both the controls and mice treated with indomethacin. The maximum suppressive dose of NDGA could be dose dependently overcome by AA. Suggesting that the lipoxxygenase in the leydig cells may be the site of action of NDGA. We therefore conclude that the metabolites of arachidonic acid, both from cyclooxygenase and lipoxxygenase pathways may be functioning as intracellular regulators of gonadotropic hormone in the leydig cells.

LONG-TERM EFFECTS OF 3-ACETILPYRIDINE-INDUCED DESTRUCTION OF CEREBELLAR
CLIMBING FIBERS ON PURKINJE CELL INHIBITION OF VESTIBULOSPINAL TRACT
CELLS OF THE RAT

Laddawan Karachot*, Masao Ito** and Yoshikatsu Kanai**

*Department of Pharmacology, Mahidol University, Bangkok 10400, Thailand
and **Department of Physiology, University of Tokyo, Japan

The effect of climbing fibers deafferentation on Purkinje cell inhibition of rats was studied by intracellular recording. In the present study, 3-acetylpyridine (3-AP) was used to destroy the inferior olive. The inhibitory postsynaptic potentials (IPSPs) of vestibulo-spinal tract (VST) cells induced by cerebellar stimulation was examined at 10 day intervals up to 160 days after 3-acetylpyridine intoxication. There were 4 basic changes in monosynaptic inhibitory potentials. First, the rate of IPSP occurrence among VST cells was 0.64 in control rats, at more than 10 days after 3-AP intoxication, it declined gradually, down to 0.37-0.38 at 70-81 days, thereafter increased to 0.53 by the 160th day. Second, the size of IPSP was smaller on and after day 10. Third, the latency of IPSP was prolonged by 0.25 msec. on and after day 10. Fourth, the cerebellar threshold for evoking IPSP was increased after 3-AP intoxication. Thus climbing fiber deafferentation exerts longterm influence on excitability of Purkinje cell axons, and connectivity and synaptic transmission from Purkinje cell axons to VST cells.

ฤทธิ์ของแอนซิสโตรเทคโตรินและเวราปามิลต่อการหดเกร็งของท่อน้ำสุจิหนูขาว*

EFFECT OF ANCISTROTECTORINE AND VERAPAMIL ON THE ISOLATED RAT VAS DEFERENS

ฉันทนา เกษโกศล, ประสาน ธรรมอุบลกรณ, นิจิตติ เรืองรังษี และ พงษ์ศักดิ์ การवलัน

คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10500

แอนซิสโตรเทคโตริน เป็นอัลคาลอยด์บริสุทธิ์ชนิดใหม่ที่ได้สกัดได้จากใบของต้นไม้ยาไทย ชื่อ "ค้อนหมาแดง" (*Ancistrocladus tectorius* (Lour) Merr) โดยรองศาสตราจารย์ นิจิตติ และคณะจากภาควิชาเภสัชเวท คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ได้ศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของแอนซิสโตรเทคโตรินไปแล้วบางเรื่องพบว่ามีฤทธิ์ลดการหดเกร็งของกล้ามเนื้อเรียบในลักษณะไม่เฉพาะเจาะจง โดยลดการบีบตัวของลำไส้ มดลูก และ หลอดเลือด aorta ของกระต่าย หนูขาว และหนูตะเภา ที่เกิดขึ้นเองและที่กระตุ้นด้วยสารหลายชนิด (acetylcholine, histamine, serotonin, potassium chloride, barium chloride, calcium chloride, oxytocin) คณะผู้วิจัยได้ศึกษาฤทธิ์ของแอนซิสโตรเทคโตริน ต่อการหดเกร็งของ vas deferens หนูขาวที่แยกเอาส่วน prostatic มาทดลอง เปรียบเทียบกับฤทธิ์ของเวราปามิล แอนซิสโตรเทคโตริน (ปริมาณ 2.3×10^{-5} M, 3.4×10^{-5} M และ 4.6×10^{-5} M) และเวราปามิล (ปริมาณ 4×10^{-6} M, 8×10^{-6} M และ 12×10^{-6} M) มีผลลดการหดเกร็งทั้ง phasic และ tonic ที่เกิดจาก KCL (100 mM) ลงได้ตามปริมาณสารที่ให้แอนซิสโตรเทคโตริน (12×10^{-6} M, 18×10^{-6} M และ 23×10^{-6} M) ลดการหดเกร็งแบบ phasic ลงได้เด่นชัดตามปริมาณสารเช่นเดียวกับ เวราปามิล (1×10^{-6} M, 2×10^{-6} M และ 3×10^{-6} M) แต่ไม่สามารถลด rhythmic contraction ลงได้ เมื่อให้ปริมาณมากขึ้น 8.9×10^{-5} M ทั้ง 2 ชนิด พบว่าสามารถลดทั้ง phasic และ rhythmic อย่างสมบูรณ์ แอนซิสโตรเทคโตริน (12×10^{-6} M, 23×10^{-6} M และ 35×10^{-6} M) และเวราปามิล (2×10^{-6} M, 4×10^{-6} M และ 8×10^{-6} M) ลดการหดเกร็งของ phasic ลงได้ตามปริมาณสารที่ให้ โดยพบว่าแอนซิสโตรเทคโตรินมีฤทธิ์อ่อนกว่าเวราปามิล แอนซิสโตรเทคโตรินและเวราปามิลมีผลลด maximum contraction ที่เกิดจาก Calcium chloride (ใน EGTA, free calcium depolarized) โดยลดมากขึ้นตามปริมาณของสารที่ให้ ผลของแอนซิสโตรเทคโตรินคือกระบวนการหดเกร็งของ vas deferens ที่เกิดจากสารต่างๆ ดังกล่าว เป็นข้อมูลที่มีแนวทางที่แสดงว่า การออกฤทธิ์ของแอนซิสโตรเทคโตรินเกี่ยวข้องกับกระบวนการของ calcium เป็นสำคัญ

* เป็นส่วนหนึ่งของโครงการที่ได้รับทุนอุดหนุนบางส่วนจากสภาวิจัยแห่งชาติ และบางส่วนจากทุนบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลของสารสกัดจากแค้ไคต่อกระบวนการสร้างชีวโมเลกุลของเชื้อราโรคผิวหนัง

EFFECT OF TAE KOEW EXTRACT ON SYNTHESIS OF BIOMOLECULES IN DERMATOPHYTIC FUNGI

จรพร รัชโรทยางกูร, สุกัญญา เจษฏานนท์

คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10500

แค้ไคหรือกากเมล็ดชาเป็นสมุนไพรที่ชาวจีนนิยมใช้ในการรักษาโรคจากเชื้อราที่เล็บและผม โดยต้มกับน้ำแล้วเช็ดด้วยส่วนที่ติดเชื้อ จากการศึกษาเบื้องต้นพบว่า สารสกัดกึ่งบริสุทธิ์จากแค้ไคหรือที่เค้นทำลายเซลล์และผนังเซลล์ของเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* เมื่อส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนทั้งวิธี TEM และ SEM

ในการศึกษาผลของสารสกัดที่เค้นการเจริญของเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคผิวหนังปรากฏว่า เมื่อทดสอบกับเชื้อ *Candida albicans* ATCC 10231 โดยใช้ที่เค้นความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปรากฏว่าสามารถฆ่าเชื้อหมดได้ภายใน 24 ชั่วโมง ถ้าเพิ่มความเข้มข้นเป็น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถฆ่าเชื้อหมดได้ภายใน 6 ชั่วโมง ที่ความหนาแน่นของเชื้อเท่ากับ 10^6 ต่อมิลลิลิตร

เมื่อทดสอบกับเชื้อ *Arthroderma benhamiae* พบว่าที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรของที่เค้น สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ภายในวันที่ 1 เมื่อเริ่มเพาะเลี้ยงเชื้อ และที่ความเข้มข้นสูงขึ้นคือ 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เชื้อนี้จะถูกยับยั้งได้มากยิ่งขึ้น

ลักษณะเซลล์เชื้อ *C. albicans* ที่เพาะเลี้ยงเมื่อมีอายุด้วยจะเปลี่ยนจากรูปวงกลมหรือกลมรีและผิวเรียบ เป็นรูปร่างปกติ ปิดเย็บและผิวไม่เรียบ สำหรับ *A. benhamiae* ลักษณะเชื้อเมื่อเพาะเลี้ยงโดยมีอายุด้วย จะมีไมซีเลียมขวมพองและขนาดสั้นกว่าปกติ ไม่เกิด macroconidia หรือ microconidia

เมื่อศึกษาการยับยั้งการสร้างชีวโมเลกุลของเชื้อโดยสารสกัดที่เค ใน *C. albicans* เมื่อตรวจวัดการสร้างดีเอ็นเอจาก H^3 -thymidine พบว่าที่เคยับยั้งการสร้างดีเอ็นเอ ภายใน 2 ชั่วโมง ในเชื้อ *A. benhamiae* เห็นการยับยั้งการสร้างดีเอ็นเอได้ชัดเจน ในวันที่ 3 ของการเพาะเลี้ยงเชื้อ

ในการศึกษาเมตาบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรตในเชื้อ พบว่าที่เคยับยั้งการใช้ ^{14}C -glucose ในการสังเคราะห์ชีวโมเลกุลอื่นๆ ภายในเซลล์ตั้งแต่ 2 ชั่วโมงแรกในการเลี้ยงเชื้อ *C. albicans* ในขณะที่จะยับยั้งกระบวนการดังกล่าวในเชื้อ *A. benhamiae* ตั้งแต่วันที่ 1 ที่เริ่มเลี้ยงเชื้อโดยที่ในการศึกษาทั้งสองใช้ความเข้มข้นของที่เคเท่ากับ 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ผลเห็นได้ชัดเจนขึ้นเมื่อใช้ที่เค 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

อภิธานนาการ จาก

ห้างหุ้นส่วนจำกัด ชัยชัย

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**

ดรรชนีเรื่อง

ปีที่ 7 พ.ศ. 2528

รายงานวิจัย (Original Article)

- Antagonism by capsaicin and procainamide of the depressive effect of verapamil on isolated rat atria 1
- ผลทางเภสัชวิทยาของ saponins จากใบราตรี 11
- ฤทธิ์ของยี่โถต่อระบบหัวใจ - หลอดเลือดและสารออกฤทธิ์สำคัญ : การศึกษาเปรียบเทียบกับดิจิตาลิส 61

บทความปริทัศน์ (Review Article)

- Calcium channel blockers : effects and clinical applications 29
- Current status of platelets in atherosclerosis 39
- Traditional medicine in atherosclerosis 53
- Update on the mechanism of action of antidepressant drugs 79
- Prostaglandins : gastrointestinal research 99

บทคัดย่อ (Abstract)

- Intraerythrocytic changes of a metabolic regulator, fructose 1,6-diphosphate (FDP) *in vitro* 113
- Serum levels of digoxin in Thai patients : a preliminary report 114
- The effects of piperine on isolated right and left rat atria 115
- Reversal of endotoxin-induced hypotension by opioid antagonists in rats 116
- Direct effect of Russell's viper venom (RVV) on renal hemodynamics, urinary enzymes and thromboxane B₂ in dogs 117

- Alterations of cardiac cholinceptors during diazepam treatment and after withdrawal 118
- Drug evaluating model for anticancer activity of a well-known Thai folkloric remedy 119
- Roles of arachidonic acid metabolism on testosterone production in mouse leydig cells 120
- Long-term effects of 3-acetylpyridine-induced destruction of cerebellar climbing fibers on Purkinje cell inhibition of vestibulospinal tract cells of the rat 121
- Effect of ancistrotoxin and verapamil on the isolated rat *vas deferens* 122
- Effect of Tae Koew extract on synthesis of biomolecules in dermatophytic fungi 123

บรรณานุกรม ปีที่ 7 พ.ศ. 2528

กาญจนา เกษสอาด	39,119	Kanai, Y.	121
ขวัญฤดี เดชาดิวงศา	53	Karachot, L.	121
จงกล เทียงดาห์	61	Leepipatpaiboon, S.	117
ฉวีวรรณ พฤกษ์สุนันท์	99	Limpanasithikul, W.	120
ฉันทนา เกษโกศล	122	Manmontri, A.	114
นิจศิริ เรืองรังษี	122	Naiwatanakul, R.	1
ประสาน ธรรมอุปกรณ	1,115,122	Picha, P.	119
พงษ์ศักดิ์ กระมลล้วน	122	Polratana, K.	118
รจพร วัชโรทยางกูร	123	Pornsiriprasert, D.	119
วีณา ศิลปอาษา	61	Preechanukool, K.	119
สิริพันธุ์ ณรงค์ชัย	11	Sangdee, C.	114,116
สุกัญญา เจษฎานนท์	123	Sanguanrungrsirikul, S.	115
อัมพวัน อภิสริยะกุล	11	Satayavivad, J.	118
Buranasiri, K.	117	Sirivongs, P.	117
Chaiyabutr, N.	117	Siriwarothakule, S.	113
Chalermksanyakorn, P.	119	Sitprija, V.	117
Chantharaksri, U.	113,120	Sudsuang, R.	115
Cherdchu, C.	79	Temcharoen, P.	119
Chudapongse, P.	1	Thamaree, S.	117
Daya, S.	29	Tosukhowong, P.	117
Dechachart, D.	120	Ukarachata, U.	115
Ito, M.	121	Winyaratana, P.	116
Joubert, P.	29	Wongchuengam, P.	1