



วารสารเภสัชวิทยา THAI JOURNAL OF PHARMACOLOGY

วารสารทางวิชาการของ
สมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย

Official Publication of the
Pharmacological and Therapeutic
Society of Thailand

ISSN 0125-3832

ปีที่ 14-15 พ.ศ.2535-2536

Vol.14-15,1992-1993

ฉบับนี้เป็นการ

จาก

บริษัท โอสถสภา(เตี๊ยกเวงหญ่)จำกัด

2100 ถนนรามด้าแหวง กรุงเทพฯ

โทร.374-0121-51



สมาคมเภสัชวิทยา แห่งประเทศไทย

THE PHARMACOLOGICAL AND THERAPEUTIC
SOCIETY OF THAILAND

วัตถุประสงค์ของสมาคม

- เพื่อเป็นศูนย์กลางการติดต่อระหว่างสมาชิกของสมาคมและระหว่างชมรมหรือสมาคมทางวิชาการอื่น ๆ ทั้งในและต่างประเทศ
- เพื่อเผยแพร่ความรู้ ความก้าวหน้าทางวิชาการ และสนับสนุนกิจกรรมต่าง ๆ อันจะเป็นประโยชน์ต่อสมาชิกและต่อสังคมโดยรวม
- เพื่อแลกเปลี่ยนความรู้ ความคิดเห็นระหว่างสมาชิก และช่วยเหลือซึ่งกันและกัน

คณะที่ปรึกษา

ศ.นพ.โกมล เพ็งศรีทอง

พล.ท.พิศาล เทพสิทธิ

พล.ต.สุนันท์ ไรจนวิภาต

ศ.นพ.ประเวศ วะสี

ศ.นพ.บุญเจือ ธรณินทร

ศ.ดร.ภักดี โพธิศิริ

รศ.ดร.อรพรรณ มาตังคสมบัติ

รศ.ดร.จุฑามาศ ลัดยวิวัฒน์

หัวหน้าภาควิชาเภสัชวิทยา ทุกสถาบัน

คณะกรรมการบริหาร

2535-2536

EXECUTIVE COMMITTEE

1992-1993

นายก	ดร.อุดม จันทารักษ์ศรี
อุปนายก	รศ.ดร.พรเพ็ญ เปรมโยธิน
ผู้รั้งตำแหน่งนายก	ผศ.ดร.ชัยชาญ แสงดี
เลขาธิการ	ดร.ชวณี ทองโรจน์
เหรัญญิก	พ.อ.หญิงสุเพ็ญ ภัทรกิจวานิช
ปฎิคม	ผศ.พญ.สุมนา ชมพูทวีป
นายทะเบียน	รศ.จันทนี อธิพานิชพงศ์
กรรมการวิชาการ	ผศ.ดร.จุฑามณี จารุจินดา
บรรณาธิการวารสาร	พ.อ.ดร.บพิตร กลางกัลยา
กรรมการ	รศ.ดร.ประสาธน์ ธรรมอุปกรณ์
	พ.อ.ดร.ทัศนัย สุริยจันทร์

President	Udom Chantharaksri
Vice-President	Pornpen Pramyothin
President Elect	Chaichan Sangdee
Secretary General	Chavanee Tongroach
Treasurer	Supen Patarakitvanit
Reception & Public Relation	Sumana Chompootaweeep
Registrar	Chandhanee Itthipanichpong
Scientific Section	Jutamanee Jaruchinda
Editor	Borpit Klangkalya
Members	Prasan Dhumma-Upakorn
	Dhasanai Suriyachan

สารบัญ

หน้า

- 1 ประวัติของ รศ.ดร.จิรวัดณ์ สดางศ์วิวัฒน์

Original Articles

- 5 Dual action of hydralazine on rat heart in vivo
Prasert Songkittiguna and Giatbungon Jindagul
- 13 Prevention of Tachycardic action of hydralazine
Prasert Songkittiguna and Giatbungon Jindagul
- 19ฤทธิ์ขยายหลอดเลือดของนมผึ้ง
เพ็ญโฉม พึ่งวิชา, ยุวดี วงษ์กระจ่าง และปราณี ใจอาจ
- 27 การศึกษาผลการออกฤทธิ์ของนมผึ้งในผู้ป่วยเบาหวาน
ธวัชชัย ภาสุรกุล และ ปัทมา ลีวนิช
- 35 การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของเคอร์ชินซึ่งพบในใบฝรั่งต่อการหดตัวของลำไส้เล็กของหนูขาวและหนูตะเภา
อัมพวัน อภิสิทธิ์กุล, นุชนาฏ ชัยชนะ และ วิลาสินี อยู่สุข
- 41 Antagonism by phentolamine and yohimbine not hydralazine on noradrenaline-induced hypertension in rat
Prasert Songkittiguna and Giatbungon Jindagul
- 45 Reproductive effects of pyridoxal isonicotinoyl hydrazone in rats : effects on estrus cycle and implantation
N. Sookvanichsilp, W. Panintrarux, S. Suksathan and S. Rattanajarasroj
- 49 Antimicrobial activities of *Potulaca oleracea* Linn in vitro
Metta Ongsakul, Nongyao Sawangjaroen, Peerarat Thaina, Methi Sunbhanich, Jindarat Chatbenjarong, Aporn Thongnurung

Review Article

- 55 Old and new antihistamines
Saridiwongsa Wongsathuaythong

กำหนดการจัดประชุมวิชาการและประชุมสามัญ ประจำปี 2537

สมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย

ระหว่างวันที่ 3-4 พฤษภาคม 2537

ณ ห้อง N 101 คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

วันอังคารที่ 3 พฤษภาคม 2537

08.30 - 09.15	ลงทะเบียน-พิธีเปิดการประชุม
09.15 - 10.00	Cigarette Smoking and Lung Function ศ.นพ.ประกิต วาทีสาธกิจ
10.15 - 12.00	Recent Advances of Antiasthmatic Drugs ผศ.นพ.ปกิต วิทยานนท์ พญ.สุกัญญา คั่นธวัฒน์ น.พ.วิทยา ตันสุวรรณนท์ ดำเนินการอภิปราย
13.00 - 14.15	ประชุมธุรการของสมาคมฯ
14.30-16.30	Current issues in pharmacological mediators : neurotransmitters : รศ.ดร.ประสาน ธรรมอุปกรณ์ cytokines : นพ.ปรีดา มาลาสิทธิ์ autacoids : ผศ.ดร.จุฑามณี จารุจินดา ดร.อุดม จันทารักษ์ศรี ดำเนินการอภิปราย

วันพุธที่ 4 พฤษภาคม 2537

09.00 - 10.00	DR.CHIRAVAT SADAVONGVIVAD'S MEMORIAL LECTURE "Cytochrome P-450 : Clinical Relevance" by Prof. Tetsuya Kamataki Faculty of Pharmaceutical Sciences Hokkaido University, Japan
10.15 - 10.45	Ethnic Difference in Drug Metabolism พ.อ.ดร.ทัศน์ัย สุริยจันทร์
10.45 - 11.00	Highlight in Drug Metabolism : 7th SEA Workshop on Drug Metabolism ศ.ดร.อำนาจ ธีรพานิช
11.00 - 12.00	Oral Presentation
13.00 - 14.00	Strategic Design of New Anti - AIDS Drugs ผศ.ดร.จิราภรณ์ อังวิทยาธร
14.00 - 15.30	Research Forum in Pharmacology หัวหน้าภาควิชาเภสัชวิทยา/หรือผู้แทนจากทุกสถาบัน ดำเนินการอภิปรายโดย ดร.อุดม จันทารักษ์ศรี



รองศาสตราจารย์ ดร.จิรวัดก์ สดางค์วิวัฒน์ ป.ม.,ป.ช.

21 กรกฎาคม 2483 - 6 พฤษภาคม 2536

ประวัติของ รองศาสตราจารย์ ดร.จิรวุฒิ สดางค์วิวัฒน์ ป.ม., ป.ช.

รองศาสตราจารย์ ดร.จิรวุฒิ สดางค์วิวัฒน์

เกิด : 21 กรกฎาคม พ.ศ. 2483
 สถานที่ : อำเภอสามพันธง จังหวัดพระนครศรีอยุธยา
 บิดา-มารดา : นายเจ็กสิงห์ แซ่ลี้ และนางหลิมตั่งสี่ แซ่ตั้ง
 ภรรยา : นางพยงค์ วณิเกียรติ (สดางค์วิวัฒน์)
 บุตร : นางสาวจามรี สดางค์วิวัฒน์ และนายพัฒน์ สดางค์วิวัฒน์

ประวัติการศึกษา และรางวัลที่ได้รับ

พ.ศ. 2491-พ.ศ. 2494 ชั้นอนุบาล ร.ร.อนุบาลกุหลาบวิทยา
 พ.ศ. 2494-พ.ศ. 2496 ชั้นประถมศึกษา ที่ร.ร.สารสิทธิ์วิทยาลั และร.ร.อัสสัมชัญ คอนแวนต์
 พ.ศ. 2496-พ.ศ. 2503 ชั้นมัธยมศึกษา ที่ร.ร.อัสสัมชัญ
 - สอบได้ที่หนึ่งในการแข่งขันคณิตศาสตร์ทั่วประเทศ, สมาคมคณิตศาสตร์แห่งประเทศไทย
 - สอบได้ที่หนึ่งในการสอบ Entrance เข้ามหาวิทยาลัยทั่วประเทศ
 พ.ศ. 2503-พ.ศ. 2507 วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เกียรตินิยม) สาขาอินทรีย์เคมี คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยแพทยศาสตร์
 - ได้รับทุนการศึกษา Scholarship in chemistry, 1962-64
 พ.ศ. 2508-พ.ศ. 2512 ปริญญาโท, เอก สาขาวิชาเภสัชวิทยา, University of Pennsylvania ประเทศสหรัฐอเมริกา
 - ได้รับทุนการศึกษา Rockefeller Foundation, 1965-69

ประวัติการปฏิบัติงาน

พ.ศ. 2507 อาจารย์ ตรี ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์
 พ.ศ. 2508 อาจารย์ โท ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์
 พ.ศ. 2512 อาจารย์ โท ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ ม.มหิดล
 พ.ศ. 2513 อาจารย์ เอก ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ ม.มหิดล
 พ.ศ. 2517-พ.ศ. 2527 หัวหน้าภาควิชาเภสัชวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ ม.มหิดล
 พ.ศ. 2518 ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ ม.มหิดล
 พ.ศ. 2518-พ.ศ. 2521 ได้รับพระราชทานทุนส่งเสริมบัณฑิต มูลนิธิ "อานันทมหิดล"
 พ.ศ. 2521 รองศาสตราจารย์ ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ ม.มหิดล
 พ.ศ. 2523-พ.ศ. 2530 รองอธิการบดี ฝ่ายกิจการนักศึกษา มหาวิทยาลัยมหิดล

พ.ศ. 2523-พ.ศ. 2527 ประธานโครงการบัณฑิตศึกษา สาขาพิษวิทยา

พ.ศ. 2527-พ.ศ. 2536 ประธานฝ่ายข้อมูล สำนักงานวิชาการ ส่งเสริมพิษวิทยา

ตำแหน่งและหน้าที่พิเศษ

- อนุกรรมการ ศึกษาวิจัยการควบคุมมาตรฐานอาหาร กระทรวงสาธารณสุข (พ.ศ. 2520-พ.ศ. 2526)
- อนุกรรมการ ศึกษาวิจัยการควบคุมอันตรายในการใช้ยา กระทรวงสาธารณสุข (พ.ศ. 2520-พ.ศ. 2536)
- นายกสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย (พ.ศ. 2521-พ.ศ. 2523)
- เลขานุการคณะอนุกรรมการ โครงการร่วมมือระหว่างไทย-ญี่ปุ่น ด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์ (พ.ศ. 2525-พ.ศ. 2534)
- ที่ปรึกษาวิชาการสายวิทยาศาสตร์ กรมวิทยาศาสตร์ทหารบก (พ.ศ. 2527)
- คณะอนุกรรมการพิจารณามาตรฐานอาหาร สาขาสารมีพิษตกค้างในอาหาร กระทรวงอุตสาหกรรม (พ.ศ. 2529-พ.ศ. 2536)
- รองประธานคณะอนุกรรมการเฉพาะกิจ บริหารงานโครงการแก้ปัญหารักษาพิษตกค้างในอาหารและผลิตภัณฑ์เภสัช เพื่อการบริโภคภายในและส่งเสริมการส่งออก (พ.ศ. 2530-พ.ศ. 2536)
- ประธานอนุกรรมการพิจารณาหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิตสาขเภสัชวิทยา ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (พ.ศ. 2529)
- กรรมการติดตามและประเมินมาตรฐานคณะเภสัชศาสตร์ในสถาบันอุดมศึกษาเอกชน ทบวงมหาวิทยาลัย (พ.ศ. 2531-พ.ศ. 2536)
- อ.ก.ม. วินัย ทบวงมหาวิทยาลัย (พ.ศ. 2529-พ.ศ. 2536)
- คณะกรรมการด้านวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม กระทรวงวิทยาศาสตร์ (พ.ศ. 2535)

ตำแหน่งและหน้าที่พิเศษระหว่างประเทศ

- Visiting Professor, Vanderbilt University U.S.A. (พ.ศ. 2516)
- External Examiner and Assessor, National University of Malaysia (พ.ศ. 2519)
- Visiting Scientist, University of Melbourne Australia (พ.ศ. 2520)
- Visiting Scientist, Syntex Research Institute, Palo Alto U.S.A. (พ.ศ. 2527)
- Vice-President, International Society of Clinical Pharmacology (พ.ศ. 2521-พ.ศ. 2525)
- ได้รับเชิญไปบรรยายวิชาการ ณ ประเทศมาเลเซีย ในการจัดประชุมสมาคมเภสัชวิทยาแห่งชาติ ครั้งที่ 2 (พ.ศ. 2520)
- ได้รับเชิญไปบรรยายวิชาการ ณ กรุงโซล ประเทศเกาหลี และกรุงโตเกียว ประเทศญี่ปุ่น ในการประชุม International Symposium of Clinical Pharmacology ครั้งที่ 10 (พ.ศ. 2522)
- ได้รับเชิญไปบรรยายวิชาการ และให้คำแนะนำ ณ มหาวิทยาลัยต่าง ๆ ในประเทศมาเลเซีย สิงคโปร์ อินโดนีเซีย ฮองกง ฟิลิปปินส์ (พ.ศ. 2518-พ.ศ. 2521)

- ได้รับเชิญไปบรรยายวิชาการ ณ กรุงอิสตันบูล ประเทศเตอร์กี ในการประชุม International Congress of Chemotherapy ครั้งที่ 15 (พ.ศ. 2530)
- ได้รับเชิญไปบรรยายวิชาการ ที่จังหวัดเชียงใหม่ ในการจัดประชุม Asia-Pacific Conference of Entomology ครั้งที่ 1 (พ.ศ. 2532)
- คณะกรรมการ ผู้เชี่ยวชาญขององค์การอนามัยโลก ในเรื่องการประเมินยารักษาโรค (พ.ศ. 2518-พ.ศ. 2536)
- ได้รับเชิญจากองค์การอนามัยโลก เป็นที่ปรึกษาเรื่อง โรคไข้เลือดออก (พ.ศ. 2519)
- คณะกรรมการ ผู้เชี่ยวชาญขององค์การอนามัยโลกเกี่ยวกับเรื่อง การใช้ยาหลัก (พ.ศ. 2532-พ.ศ. 2536)
- ได้รับเชิญจากองค์การอนามัยโลก ให้เป็นผู้ดำเนินการ และอบรมในการประชุมเร่งปฏิบัติการแห่งชาติ ในเรื่องเภสัชวิทยาคลินิก ณ กรุงปักกิ่งและเซี่ยงไฮ้ ประเทศจีน (พ.ศ. 2527)
- ได้รับเชิญจากองค์การอนามัยโลก เป็นที่ปรึกษาการวิจัยด้านสมุนไพร ในประเทศคูเวต (พ.ศ. 2529)
- ได้รับเชิญจากองค์การอนามัยโลก เป็นคณะกรรมการเรื่อง การใช้ยาหลัก ณ กรุงเจนีวา ประเทศสวิตเซอร์แลนด์ (พ.ศ. 2522)
- Editor, International Journal of Clinical Pharmacology (พ.ศ. 2520-พ.ศ. 2527)
- Editorial Board, Clinical Pharmacology Research, (พ.ศ. 2520-พ.ศ. 2536)
- Editorial Board, Biological Research in Pregnancy (พ.ศ. 2523-พ.ศ. 2536)
- Editorial Board, International Journal of Clinical Pharmacological therapy and Toxicology (พ.ศ. 2527-พ.ศ. 2536)
- Editorial Board, International Journal of Feto-Maternal medicine (พ.ศ. 2531-พ.ศ. 2536)
- Editorial Board, International Journal of Experimental and Clinical Chemotherapy (พ.ศ. 2531-พ.ศ. 2536)

ประวัติสุขภาพ

อาจารย์เป็นผู้ที่มีสุขภาพร่างกายแข็งแรงมาก เจ็บป่วยน้อยครั้ง และแทบทุกครั้งโรคมักจะหายเองโดยไม่ต้องได้รับการรักษา อาการเจ็บป่วยในครั้งนี้ ซึ่งทำให้อาจารย์ต้องจากไปอย่างไม่มีวันกลับก็เช่นกัน อาจารย์มีอาการไอต่อเนื่องกันเป็นเดือน ๆ และอีก 7-8 เดือนต่อมา เริ่มมีอาการปวดหลัง แม้ความปวดจะทวีความรุนแรงขึ้นเรื่อย ๆ อาจารย์ก็ยังมาทำงานทุกวันตามปกติ เนื่องจากมีภารกิจที่ต้องรับผิดชอบมาก จนแม้ในบางครั้งปวดมากจนถึงต้องนอนอ่านหนังสือในห้องทำงาน อาจารย์พยายามอดทนต่อความเจ็บปวดโดยมิยอมปรึกษาแพทย์ จนกระทั่งมีอาการชาวมและเดินลำบาก จึงได้ยอมมารับการตรวจจากแพทย์ในราวกลางเดือนมกราคม 2536 และเข้ารับการรักษา ที่โรงพยาบาลรามธิบดี ซึ่งเป็นการตรวจครั้งแรก และครั้งสุดท้ายในชีวิต แพทย์ได้วินิจฉัยว่าเป็นโรคเนื้อร้ายในขั้นสุดท้ายที่แพร่กระจายไปยังอวัยวะสำคัญต่าง ๆ หลายที่ ซึ่งสายเกินไปที่จะสามารถรักษาได้ อาจารย์รับทราบเรื่องราวทุกอย่างด้วยสติที่มั่นคง จิตใจที่เข้มแข็ง ขณะเดียวกันก็พยายามที่จะให้คนใกล้ชิดคลายความวิตกกังวล และยอมรับต่อเหตุการณ์ที่จะเกิดขึ้น อาจารย์พักรักษาตัวอยู่ที่โรงพยาบาลได้ประมาณสามเดือนครึ่ง จึงได้จากไปอย่างสงบ ในวันที่ 6 พฤษภาคม 2536 เวลา 15.07 น.

DUAL ACTION OF HYDRALAZINE ON RAT HEART IN VIVO

Prasert Songkittiguna and Giatbungon Jindagul
Department of Pharmacology, Faculty of Dentistry,
Chulalongkorn University, Bangkok 11330, Thailand.

SUMMARY

1. Hydralazine 2, 4, 6, 12, 16, mg/kg IV produced a dose-dependent bradycardic and tachycardic effects on the heart rate of anaesthetized and pithed rats *in situ*.
2. The change in the rate of beating of isolated rat atria produced by high dose of hydralazine (2.0 mM) was enhanced by either theophylline or ICI 63 197.

INTRODUCTION

Not many information on the direct action of hydralazine on the heart is currently available. Only the tachycardia produced by hydralazine during the course of treatment has been documented which is generally attributed to reflex stimulation of cardiac sympathetic nerves (Gross, 1977; Gerber and Nies, 1991). Although a dose-dependent negative chronotropic effect due to the inhibition of spontaneous release of noradrenaline was reported to produced by low concentrations of hydralazine in isolated rat atria, and a positive chronotropic effect due to release of noradrenaline by high concentration of hydralazine (Songkittiguna and Rand, 1982). In addition, hydralazine was reported to inhibit noradrenaline synthesis (Songkittiguna et al., 1980; Houchi et al. 1986). Therefore, the experiments on the effect of hydralazine in different doses in intact heart of anaesthetized, pithed rat and the effects of indomethacin and ICI 63 197 on the bradycardic and tachycardic effects of spontaneously-beating isolated rat atria, produced by high dose of hydralazine were investigated.

METHODS

Anaesthetized normotensive rat

Wistar rats of either sex weighing 250-300 g were anaesthetized with urethane. Urethane (25%) in normal saline solution was injected intraperitoneally. The trachea was

cannulated to maintain the animals on positive ventilation in order to avoid any complicating effects of respiration. The rectal temperature was also maintained throughout the course of the experiments by irradiation with infrared light. The blood pressure was recorded directly from carotid artery on a Grass Polygraph Model 79 (FT03). The heart rate was recorded from tachometer. The freshly-prepared hydralazine including other drugs under investigation in NSS were injected into the femoral vein cannula.

Pithed rat

Normotensive wistar rats of either sex weighing 250-300 g were anaesthetized with diethyl ether and immediately cannulated with tracheal cannula. The brain and spinal cord were then destroyed by passing a steel pithing rod through the orbit and artificial respiration was started immediately by connecting the tracheal cannula to a small animal respiratory pump. The rate of respiration was set at 70 strokes per minute. Both anesthetized and pithed rats blood pressures were measured from the carotid artery through a small bore polyethylene cannula (No 260) and recorded on a Grass recorder (as above). The heart rate was recorded by triggering a Grass tachometer with the pulse wave derived from the blood pressure channel.

Spontaneously beating atria

Wister rats of either sex weighing 250-300 g were killed by cervical dislocation and

Table 1. The percentage change of heart rate produced by hydralazine 2, 4, 6, 12, 16 mg/kg in anesthetized rats.

Dose of hydralazine (mg/kg)		2	4	6	12	16	N
Anaesthetized rats.	% change of Bradycardia	6.0 ± 0.3%	10.3 ± 0.6%	12.3 ± 0.6%	21.5 ± 1.1%	21.7 ± 1.1%	
	% change of Tachycardia	6.6 ± 1.2%	9.8 ± 1.3%	13.6 ± 1.0%	25.2 ± 2.6%	26.8 ± 2.1%	

Table 2. The dual action of hydralazine 2, 4, 6, 12, 16 mg/kg in pithed rats.

Doses of hydralazine (mg/kg)		2	4	6	12	16	N
Pithed rats	% change of Bradycardia	4.2 ± 0.5%	7.7 ± 0.4%	11.5 ± 0.6%	20.9 ± 1.9%	29.2 ± 2.5%	10
	% change of Tachycardia	4.9 ± 0.7	7.3 ± 1.2	10.3 ± 0.9	30.9 ± 4.5%	51.3 ± 4.9%	

Table 3 Pattern of the changing of atrial rate produced by hydralazine (0.1, 1 and 2 mM) in spontaneously-beating isolated atria of rat pretreated with theophylline (0.5 mM) or ICI 63 197 (0.1 mM).

		ATRIAL RATE (BEATS/MIN)							
		Before hydralazine				After hydralazine			
				0.1 mM		1.0 mM		2.0 mM	
		phase 1	phase 2	phase 1	phase 2	phase 1	phase 2	phase 1	phase 2
Theophylline (0.55 mM)	403.8 ± 13.3 (n = 8)	—	381.7 ± 15.8 (n = 6)	—	325.8 ± 16.8 (n = 6)	—	302.5 ± 16.1 (n = 6)	325.0 ± 17.1 (n = 6)	
ICI 63 197 (0.1 mM)	306.3 ± 7.8 (n = 6)	—	278.1 ± 6.2 (n = 6)	—	232.5 ± 4.9 (n = 6)	254.0 ± 6.2 (n = 5)	222.5 ± 5.5 (n = 6)	306.7 ± 13.5 (n = 6)	

Phase 1 = An initial decrease in atrial rate

Phase 2 = An secondary increase in atrial rate

= No phase 2 is seen

exsanguination. The chest was opened, the heart was rapidly taken out and transferred to Krebs-Henseleit solution at room temperature, and the atria were dissected free. The atria were set up in a 10 ml jacketed organ bath containing Krebs-Henseleit solution of the following composition (mmol/l) : NaCl, 118; KCl, 4.7; NaHCO₃, 25; MgSO₄, 0.45; KH₂PO₄, 1.03; CaCl₂, 2.5; D-(+)-glucose, 11.1; disodium edetate, 0.067; and ascorbic acid, 0.14. The solutions in the organ bath and in the reservoir supplying the organ bath were gassed with 5% CO₂ in O₂ and maintained at a temperature of 37 ± 0.5 °C. The rate and force of contractions of the atria were measured with a Grass force displacement transducer (FT03) coupled to a Grass tachograph (model 7p 433) and displayed on a Grass recorder. The initial resting diastolic tension was 10 mN (approx. 1 gram force). The effects of hydralazine were studied after a 1 h stabilization period, during which the bathing solution was changed several times.

Statistical analysis of results

One-way analysis of variance was performed on grouped data followed by the paired or unpaired Student's t-test (where appropriate).

Drugs

Hydralazine hydrochloride (Ciba-Geigy); Theophylline (Sigma); ICI 63 197 (Sigma); urethane (May & Baker).

RESULTS

The bradycardia and tachycardia produced by intravenously-given hydralazine in anaesthetized rat.

In a group of fifty rats divided into 10 rats in five sub-groups. In each sub-group of 10 rats, hydralazine in doses of 2, 4, 6, 12, and 16 mg/kg; was administered through a venous cannula implanted into the femoral vein. The bradycardic responses were measured between the predrug value and the maximal effect value, whereas the tachycardic responses were measured from the maximal

bradycardic response to the maximal tachycardia.

Hydralazine (2 mg/kg IV) produced the percentage change of bradycardia in a value of 6.0 ± 0.3; 4 mg/kg, it was 10.3 ± 0.6; 6 mg/kg, it was 12.3 ± 0.6; 12 mg/kg, it was 21.5 ± 1.1; 16 mg/kg, it was 21.7 ± 1.1, whereas the percent change of tachycardia, it was 6.6 ± 1.2; 9.8 ± 1.3; 13.6 ± 1.0; 25.2 ± 2.6 and 26.8 ± 2.1 respectively. The typical tracings showed the cardiovascular responses produced by the increasing doses of hydralazine (2, 4, 6, 12 and 16 mg/kg) were shown on the Fig. 1, 2 and 3). The percentage change of the heart rate produced by hydralazine (2, 4, 6, 12 and 16 mg/kg) in anesthetized rats is summarized in the table 1, whereas in the pithed rats, the results are summarized in the table 2 and the typical tracings of the cardiovascular effects of hydralazine (2, 4, 6, 12 and 16 mg/kg) are shown in Fig. 4, 5 and 6 respectively.

The effects of theophylline, ICI 63 197 on the cardiac responses produced by hydralazine in a high concentration (2.0 mM) on the spontaneously beating rat isolated atria.

A control group of 10 experiments, hydralazine (2 mM) in bathing solution caused a sudden decrease in a rate of beating of rat atria from 297.5 beats/min (s.e.m. = 9.8) to 192.5 beats/min (s.e.m. = 8.3) and then rose from 192.5 beats/min (s.e.m. = 8.3) to 289.5 beats/min (s.e.m. = 10.8). Theophylline (0.55 mM) alone caused an increase in the rate of beating from 272.5 beats/min (s.e.m. = 7.2) to 403.7 beats/min (s.e.m. = 13.3), whereas ICI 63 197 (0.1 mM) alone; it was risen from 278.7 beats/min (s.e.m. = 6.8) to 306.2 beats/min (s.e.m. = 7.8). After maximal response, hydralazine (2 mM) was added into the bathing fluid that previously contained either theophylline or ICI 63 197 at the above concentrations under separated experiment. In eight isolated atria pretreated with theophylline (0.55 mM), the beating rate fell immediately from a mean of 408.3 beats/min (s.e.m. =

13.3) to 302.5 beats/min (s.e.m. = 16.1) and then rose to 325.0 beats/min (s.e.m. = 17.1). In six atria pretreated with ICI 63 197 (0.1 mM) the rate of beating fell from a mean of 306.3 beats/min (s.e.m. = 7.8) to 222.5 beats/min (s.e.m. = 5.5) and then rose rapidly to 306.7 beats/min (s.e.m. = 13.5). The patterns of the changes in atrial rate produced by hydralazine (0.1 mM, 1.0 mM and 2.0 mM) after pretreatment with theophylline (0.5 mM) and ICI 63 197 (0.1 mM) are shown in Table. 2

DISCUSSION

Hydralazine has been extensively studied and widely used to treat hypertension that occurs during pregnancy. Parenteral administration of hydralazine has been also used for the treatment of hypertensive emergencies (Gerber and Nies, 1991). The tachycardia experienced by the patient during the causes of hydralazine therapy has been generally attributed to the reflex. A few information on the direct effect of hydralazine on heart has been documented we have reported a direct action of hydralazine on isolated rat atria (Songkittiguna and Rand, 1982) and the inhibition of the conversion of dopamine to noradrenaline both in vitro and in vivo (Songkittiguna, Majewski and Rand, 1980). The results of the present study show that hydralazine produces a dose-dependent primary (initial) decrease (bradycardia) and secondary (subsequent) increase in the heart rate (tachycardia) in both anesthetized and pithed rats. Our previous report has shown dual action of hydralazine in rat isolated atria and reported that the decrease in the rate of beating of rat isolated atria was associated with the decrease in tritiated noradrenaline efflux in spontaneously-beating rat atria, whereas the increase in the rate of beating was associated with the increase in the radioactive labelled noradrenaline. The decrease and subsequent increase in the rate of beating of rat isolated atria was coined dual action of hydralazine by us. The present study showed that the dual

action of hydralazine was seen in vivo, both anaesthetized and pith rats which would tell the direct action of hydralazine in the intact animal and would exclude the reflex involvement of the heart rate. Since, in the pithed rat both brain and spinal cord were destroyed; the reflex pathways were cut off. In addition the dual action of hydralazine, in the present result, was concentration dependent and potentiated in the presence of theophylline and ICI 63 197 (the known phosphodiesterase inhibitors) in spontaneously beating rat isolated atria. In the presence of theophylline (0.5 mM) in the bathing fluid, hydralazine 0.1 and 1.0 and 2.0 mM decreased the rate of atrial beating in a concentration-dependent manner (Fig. 8a). But 2.0 mM of hydralazine produced a subsequent tachycardia (Fig. 8b). The same results were observed in the atria pretreated with ICI 63 197 (0.1 mM), except the subsequent increase in the atrial rate was seen in the 1.0 mM concentration of hydralazine (Fig. 8b). Hydralazine, 1.0 mM and 2.0 mM, produced an increase in the atrial rate in the presence of ICI 63 197 in a concentration-dependent manner. Only 2.0 mM hydralazine produced a subsequent increase of the atrial rate in the presence of theophylline (0.5 mM). The primary decrease and secondary increase in heart rate of both anesthetized and pithed rats including isolated atria may explained by the finding of the author and coworkers mentioned earlier (Songkittiguna and Rang, 1982). The increase of atrial rate produced by theophylline is believed to be mediated through cyclic nucleotide phosphodiesterase, which causes an increase in the intracellular concentration of cAMP (Sutherland, et al 1968). It is interesting on the results obtained from ICI 63 197 pretreatment in that hydralazine (1.0 mM) cause a secondary increase in atrial rate instead of hydralazine in 2.0 mM concentration as seen in the previous report (Songkittiguna and Rand, 1982). Furthermore hydralazine at a 2.0 mM concentration caused the same effect in the

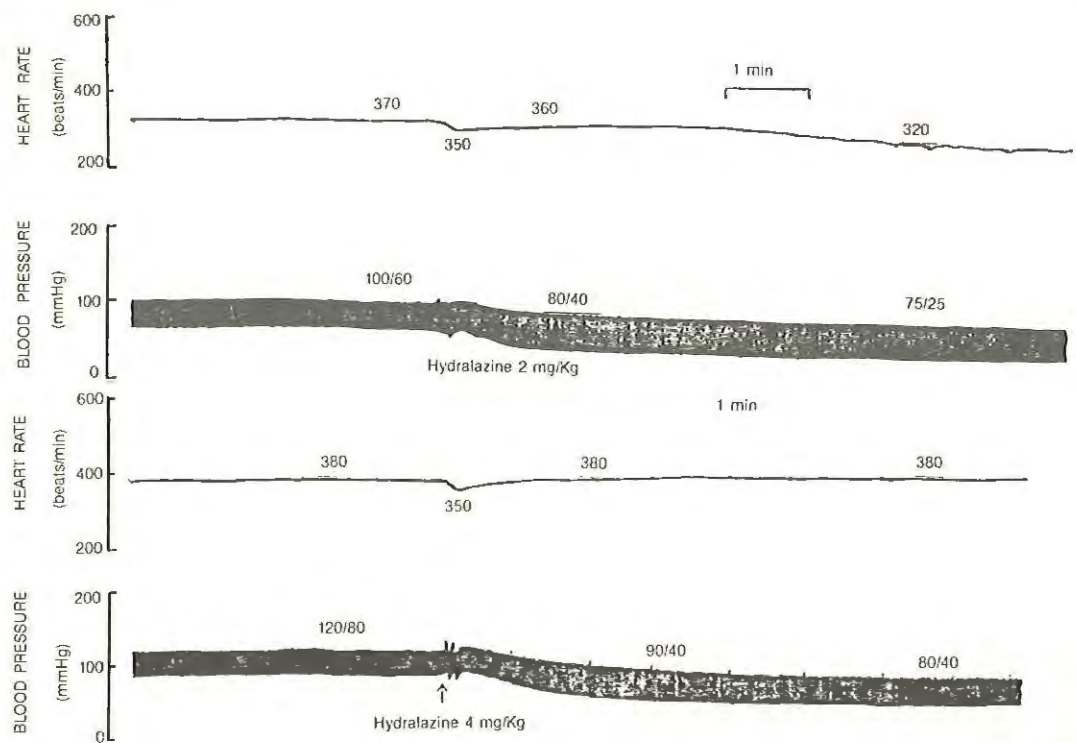


Fig. 1. The effect of hydralazine 2 and 4 mg/kg on blood pressure and heart rate in anaesthetized rats.

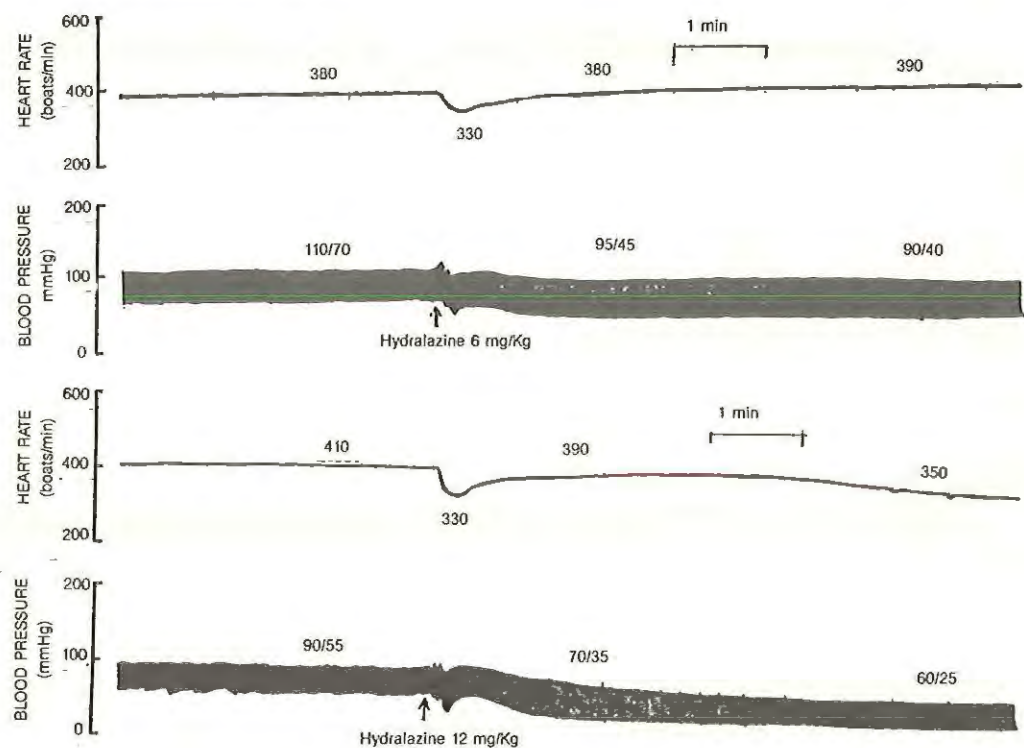


Fig. 2. The effect of hydralazine 6 and 12 mg/kg on blood pressure and heart rate in anaesthetized rats.

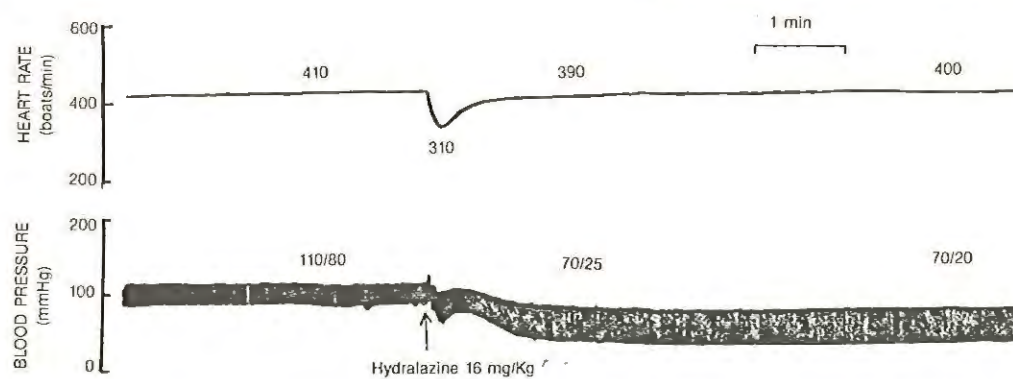


Fig. 3. The effect of hydralazine 16 mg/kg on blood pressure and heart rate in anaesthetized rats.

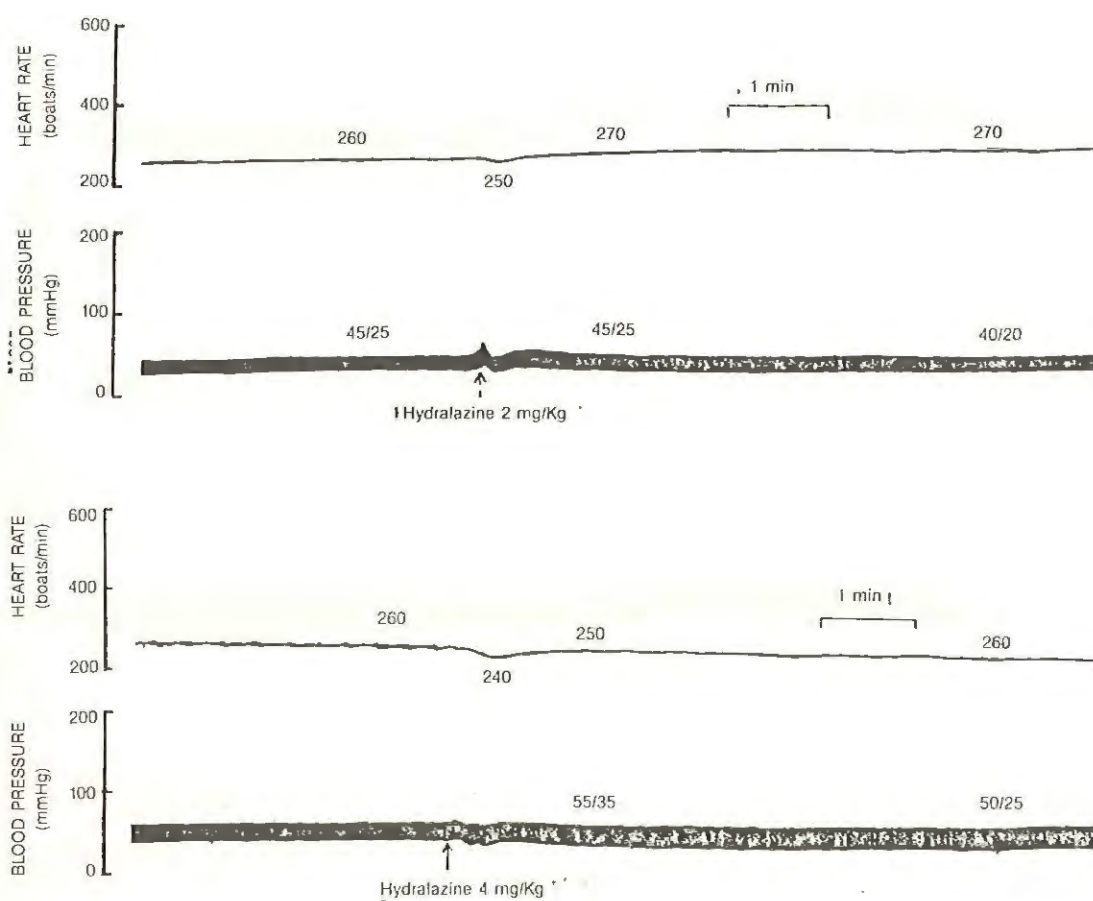


Fig. 4. The effect of hydralazine 2 and 4 mg/kg on blood pressure and heart rate in pithed rats.

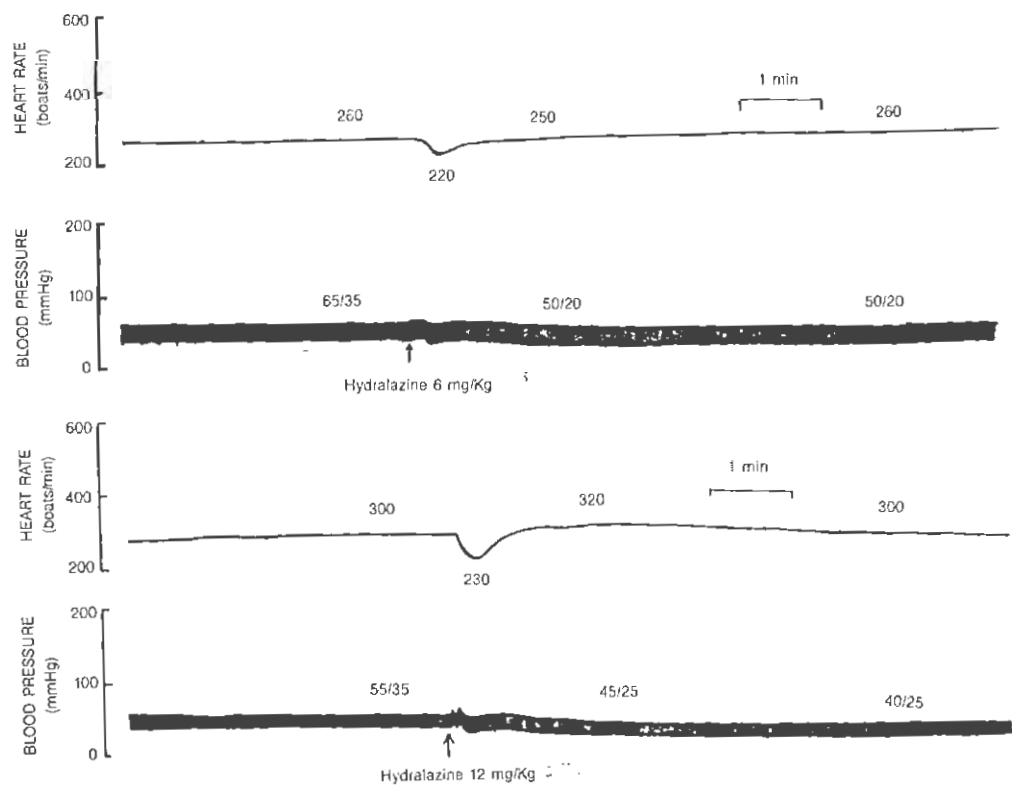


Fig. 5. The effect of hydralazine 6 and 12 mg/kg on blood pressure and heart rate in pithed rats.

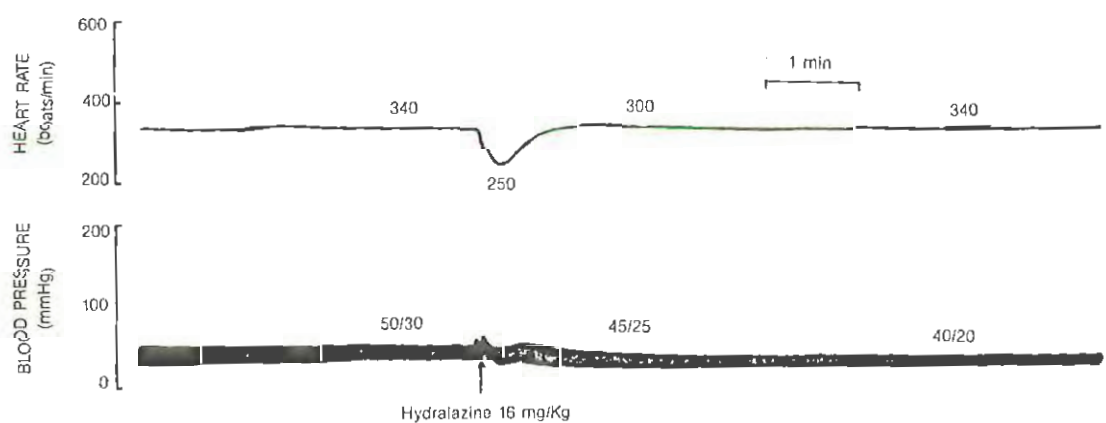


Fig. 6. The effect of hydralazine 16 mg/kg on blood pressure and heart rate in pithed rats.

presence of theophylline in the present study (Fig. 8b). This may be due to the potentiation of ICI 63 197 on the hydralazine induced an increase in the rate of beating of rat isolated atria.

It may be suggested, therefore, that in addition to the vasodilator-induced a change in heart rate, the direct action of hydralazine on the important part of the heart, the atrium with pace-maker, should be accounted for those side effects of the patients' hearts.

References

1. Gerber, J.G., and Nies, A.S. (1991) Antihypertensive agents and the drug therapy of hypertension. In : Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. pp. 784-813. Edited by A.G. Gilman et al. Pergamon Press, Inc. Singapore.
2. Gross, F. (1977) Drugs acting on arteriolar smooth muscle (vasodilator drugs). In "Antihypertensive Agents", pp. 397-476. Ed. Gross, F. Springer-Verlag, Berlin.
3. Houchi, H., Morita, K., Minakuchi, K. and Oka, M. (1986) Inhibition by hydralazine of catecholamine biosynthesis in cultured bovine adrenal medullary cells. *Biochemical Pharmacology*, 35 (12), 2047-2049.
4. Songkittiguna, P., Majewski, H. and Rand M.J. (1980) Inhibition by hydralazine of the conversion of dopamine to noradrenaline in rat atria in vitro and in vivo. *Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology*, 7, 509-514.
5. Songkittiguna, P. and Rand, M.J. (1982) The mechanism of the inotropic and chronotropic actions of hydralazine on rat isolated atria. *Arch. Int. Pharmacodyn.* 255, 269-280.
6. Sutherland, E.W., Robinson, G.A., and Butcher, R.W. (1968) Some aspects of the biological role of adenosine 3', 5'-monophosphate (cyclic AMP). *Circulation*, 37, 279-306.

PREVENTION OF TACHYCARDIC ACTION OF HYDRALAZINE

Prasert Songkittiguna and Giatibungon Jindagul

Department of Pharmacology, Faculty of Dentistry,
Chulalongkorn University, Bangkok 11330, Thailand.

The hypotensive action of hydralazine (0.5-2 mg/kg) was enhanced by pre-treatment of normotensive anesthetized rats with the drugs: haloperidol (0.21 mg/kg), indomethacin (3 mg/kg) and atropine (0.5 mg/kg). The corresponding tachycardia produced by hydralazine was abolished by haloperidol or indomethacin or atropine. The hypotensive potentiation of the drugs with hydralazine is worth studying.

Key words : hydralazine, atropine, haloperidol, indomethacin.

INTRODUCTION

Hydralazine has been used widely to treat hypertension that occurs during pregnancy. Parenteral administration of hydralazine has also been used for the treatment of hypertensive emergencies⁽¹⁾. Hydralazine produces tachycardia which is generally attributed to reflex. **Correspondence : Dr. Prasert Songkittiguna**, Department of Pharmacology, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, Bangkok 11330, Thailand. stimulation of cardiac sympathetic nerves^(1, 2). The palpitation is one of the side effects frequently complain by patients undergoing antihypertensive treatment. The aim of the study is to select the drugs that could attenuate the tachycardic side effects. Therefore, the effects of haloperidol, indomethacin and atropine on the blood pressure and heart rate of anesthetized and pithed rats were studied.

MATERIALS AND METHODS

Anesthetized normotensive rat

Wistar rats of either sex weighing 250-300 g were anesthetized with urethane (10 mg/kg). Urethane (25%) in normal saline solution was injected intraperitoneally. The trachea was cannulated to maintain the animals on positive ventilation in order to avoid any complicating effects of respiration. The rectal temperature was also maintained throughout the course of the experiments by

irradiation with infrared light. The blood pressure was recorded directly from carotid artery on a Grass Polygraph Model 79 (FT03). The heart rate was recorded from tachometer. The freshly-prepared hydralazine including other drugs under investigation in NSS were injected into the femoral vein cannula.

Pithed rat

Normotensive Wistar rats of either sex weighing 250-300 g were anesthetized with diethyl ether and immediately cannulated with tracheal cannula. The brain and spinal cord were then destroyed by passing a steel pithing rod through the orbit and artificial respiration was started immediately by connecting the tracheal cannula to a small animal respiratory pump. The rate of respiration was set at 70 strokes per minute. Both anesthetized and pithed rats blood pressures were measured from the carotid carotid artery through a small bore polyethylene cannula (No 260) and recorded on a Grass recorder (as above). The heart rate was recorded by triggering a Grass tachometer with the pulse wave derived from the blood pressure channel.

Statistical analysis of results

One-way analysis of variance was performed on grouped data followed by the paired or unpaired student's t-test (where appropriate).

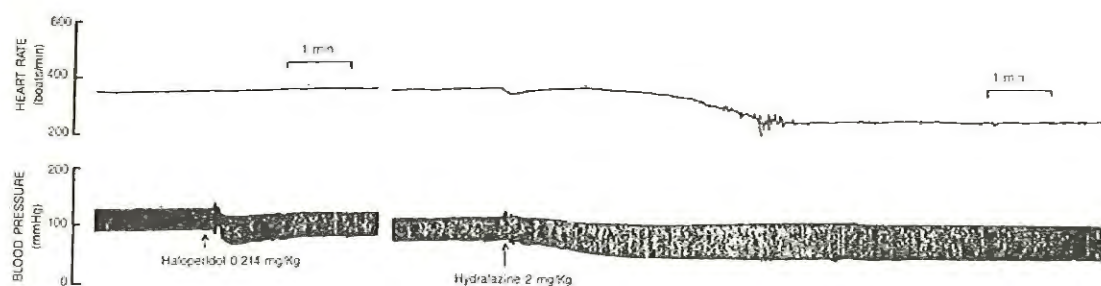


Fig. 1. The effect of haloperidol (0.214 mg/kg) on the cardiovascular effects of hydralazine (2 mg/kg) in anaesthetized rat.

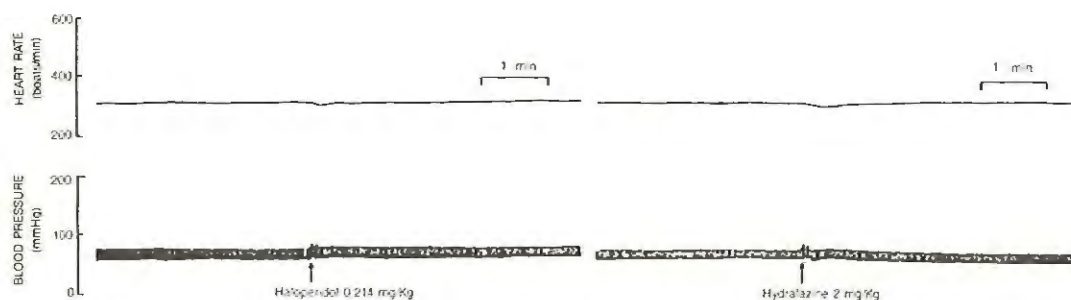


Fig. 2. The effect of haloperidol (0.214 mg/kg) on the cardiovascular effects of hydralazine (2 mg/kg) in pithed rat.

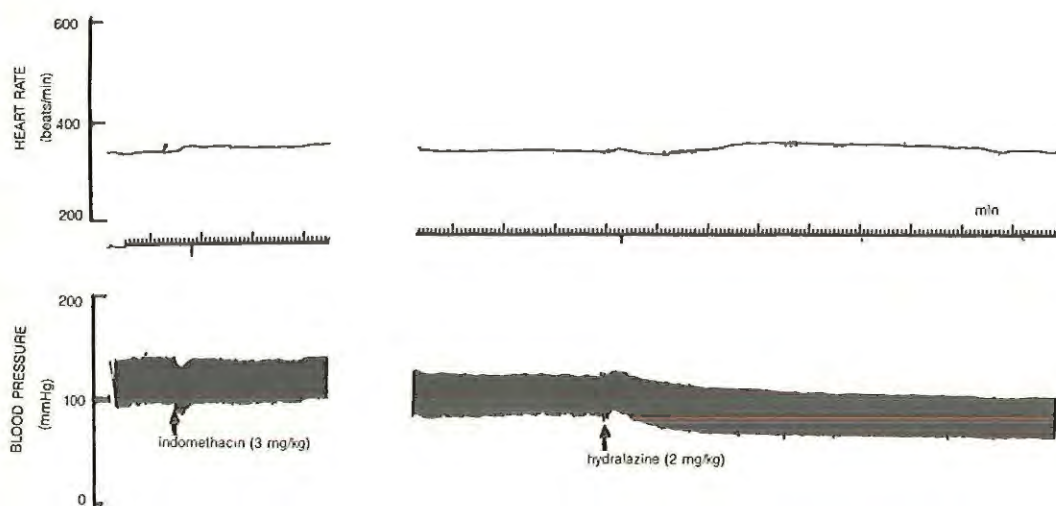
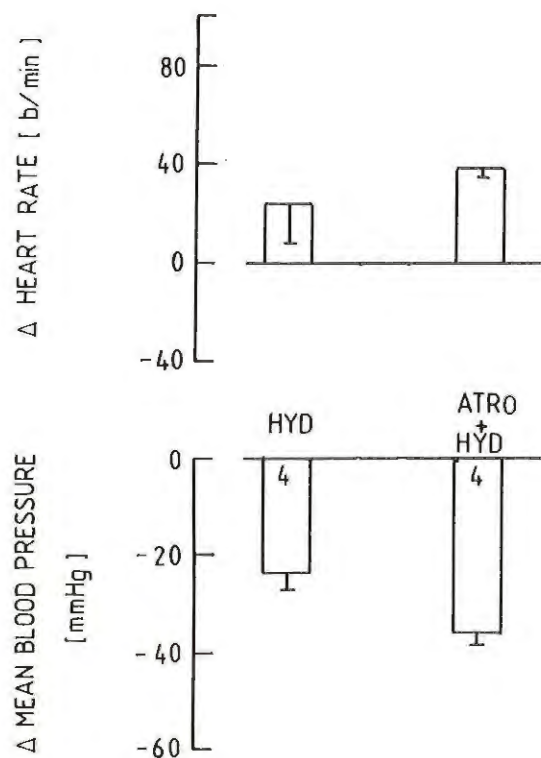


Fig. 3. The effects of indomethacin on the blood pressure and heart rate of anesthetized rat.



HYD HYDRALLAZINE 0.5 mg/kg i.v.

ATRO ATROPINE 0.5 mg/kg i.v.

Fig. 4. The mean blood pressure and heart rate produced by atropine and hydralazine in anesthetized rat.

Drugs

Hydralazine hydrochloride (Ciba-Geigy); haloperidol (Welding & Hamburg); indomethacin (Sigma); atropine (Sigma); urethane (May & Baker).

RESULTS

In five rats pretreated with haloperidol (0.214 mg/kg, IV) for 30 min the blood pressure fell quickly from a mean blood pressure of 85.3 mmHg (s.e.m. = 9.3) to 63.8 mmHg (s.e.m. = 9.2) whereas the heart rate from 370.1 beats/min (s.e.m. = 7.1) to 340.0 beats/min (s.e.m. = 15.4). At the end of thirty minutes after haloperidol administration, hydralazine was injected IV. Hydralazine caused a further reduction in mean blood pressure from 63.8 mmHg (s.e.m. = 9.2)

to 31.6 mmHg (s.e.m. = 2.9). The heart rate was decreased from 340.0 beats/min (s.e.m. = 15.4) to 206.0 beats/min (s.e.m. = 17.7). The typical tracing was shown in Fig. 1.

In five pithed rats, haloperidol (0.214 mg/kg, IV) given prior to hydralazine as above, the calculated values for mean blood pressure before and after haloperidol plus hydralazine were 38.9 mmHg (s.e.m. = 1.2) and 25.3 mmHg (s.e.m. = 2.17) respectively; for the heart rate, it was 268.0 beats/min (s.e.m. = 13.9) and 264.0 beats/min (s.e.m. = 16.0) respectively. The tracing was shown in Fig. 2.

Three rats were pretreated with indomethacin (3 mg/kg IP) one hour before anesthesia. One hour after cannulation hydralazine (2 mg/kg) was administered. Blood pressure fell slowly within 30 min from a mean of 62.70 mmHg (s.e.m. = 4.3) to 39.4 mmHg (s.e.m. = 1.47); the heart rate changed from a mean of 430.0 beats/min (s.e.m. = 21.2) to be 360.0 (s.e.m. = 11.5). The tracing was shown in Fig. 3.

In four rats pretreated for 30 minutes with atropine (0.5 mg/kg). Hydralazine (0.5 mg/kg IV) was then administered. The blood pressure fell from a mean of 78.4 mmHg (s.e.m. = 3.0) to 42.1 mmHg (s.e.m. = 1.6) whereas, the heart rate was changed from 320.0 beats/min (s.e.m. = 10.0) to 290.0 beats/min (s.e.m. = 11.5). Fig. 4 showed the mean blood pressure and heart rate change produced by atropine and hydralazine.

DISCUSSION

Hydralazine caused vasodilation with tachycardia by enhancement of sympathetic tone.^(1,2) However, the molecular mechanism of action of hydralazine is still not precisely defined; unlike diazoxide and minoxidil which are classified as the K⁺ channel openers.⁽³⁾ There is no evidence that hydralazine affects membrane channels or cGMP as has been reported for other vasodilators.⁽⁴⁾ The presence of vasodilatation-induced side effects with hydralazine has led to concurrent use of

adrenergic antagonists and diuretics; the commercial oral preparation of hydralazine with reserpine and thiazide diuretic has been marketed. There is no report on the combination of hydralazine with haloperidol, with indomethacin or with atropine. The results of the present study demonstrated that the equivalent dose of clinically-used haloperidol (0.214 mg/kg) enhanced the hypotensive action of hydralazine (2 mg/kg) in rat. Furthermore, the major cardiac effect (tachycardia) was also abolished. Haloperidol is a butyrophenone derivative antipsychotic drug. Continuous treatment with haloperidol has been reported in some studies to produce a transient increase in HVA levels in the CSF, plasma and urine. After 1-3 weeks, HVA levels decrease to lower than normal level, and this decrease persists. The initial period of dopamine receptor blockade causes a compensatory increase in transmitter turnover, resulting in increased level of dopamine metabolites.⁵ Hydralazine has been reported to block the conversion of dopamine to noradrenaline.⁶ Moreover, hydralazine found to cause an irreversible inhibition of tyrosine hydroxylase and dopamine- β -hydroxylase within the intact medullary cell of bovine.⁷ These may cause abundant increase in available dopamine in the neurons. Dopamine has weak direct action on adrenoceptors and also has indirect sympathomimetic actions. In addition, it acts on specific dopamine receptors of renal and mesenteric vascular smooth muscle to cause vasodilatation. Dopamine, when injected into anesthetized animals with a reasonably high degree of vascular tone, low dose of dopamine produces a fall in blood pressure due to vasodilatation in the splanchnic region and kidneys, although high doses are pressor. The explanation of haloperidol produces a fall in blood pressure and heart rate of rat is that the accumulated dopamine in the nerve cells competes with endogenous noradrenaline for

alpha receptor, and being a weak agonist the resultant effect is a decrease in the vascular tone that is maintained through the action of endogenous noradrenaline on alpha receptors subserving vasoconstriction. Another explanation is that a metabolite having smooth muscle relaxant properties is produced (see 8). Indomethacin is a potent inhibitor of the prostaglandin-forming cyclooxygenase. Thus the biosynthesis of the whole prostaglandins family such as prostaglandin E_1 , prostaglandin $F_{2\alpha}$, prostaglandin E_2 , prostaglandin D_2 , thromboxane A_2 and prostacyclin, could be inhibited. Numerous pharmacological actions of these compounds are reported; some produce vasodilatation whereas the other cause vasoconstriction. M.T. Lin⁽⁹⁾ reported that intravascular or intrahypothalamic injection of prostaglandin E_1 caused vasoconstriction, rather than vasodilatation in the peripheral tissues. Moreover, pretreatment of rat with indomethacin in the present study, the blood pressure and heart rate were both attenuated and even reversed that could be the lackness of central or peripheral prostaglandin actions (Vidrio, H. personal communication). In the present study, atropine seems to reverse the tachycardic effect of hydralazine and to help decrease in blood pressure may explain by the fact that small dose of atropine (0.5-1 mg in man) may temporarily decrease the rate of the heart beat. This has been attributed to a slight central stimulant action of atropine on the vagal centres in the medulla. However, a more likely explanation may be that the initial cardiac slowing is due to stimulation rather than blockade of muscarinic receptors in the heart (see 10).

In conclusion, tachycardic action of hydralazine could be prevented by pretreatment of either haloperidol, or indomethacin or atropine in anesthetized normotensive rat. In addition, the hypotensive action of hydralazine is also potentiated by the drugs.

REFERENCES

1. Gerber J G and Nies A S. Antihypertensive agents and the drug therapy of hypertension. In : Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. Edited by A G Gilman et al. Pergamon Press, Inc. Singapore, 1991; 784-813.
2. Gross F. Drug acting on arteriolar smooth muscle (vasodilator drugs). In : Handbook of Experimental Pharmacology. Vol XXXIX-Antihypertensive Agents Ed. F Gross. Springer Verlag. Berlin, 1974; Chapter 8.
3. Cook N S. The pharmacology of potassium channels and their therapeutic potential. Trends Pharmacol Sci 1988; 9, 21-28.
4. Weiss G B, Winquist R T and Silver P J. Vascular smooth muscle and vasodilators. In : Cardiovascular Pharmacology. 3rd Ed. Edited by M. Antonaccio, Raven Press Ltd. New York, 1990; 75-105.
5. Katzung B E. Antipsychotic agents and lithium : II Basic Pharmacology of antipsychotic agents. In : Basic and Clinical Pharmacology, 3rd Ed. Edited by B G. Katzung, Prentice-Hall International Inc, 1989; 345-349.
6. Songkittiguna P, Majewski H and Rand M J. Inhibition by hydralazine of the conversion of dopamine to noradrenaline in rat aorta in vitro and in vivo. Clin Exp Pharmacol Physiol 1980; 7, 509-514.
7. Houchi H, Morita K, Minakuchi K and Oka M. Inhibition by hydralazine of catecholamine biosynthesis in cultured bovine adrenal medullary cells, Biochem Pharmacol 1986; 35, 2047-2049.
8. Bowman W C and Rand M J. Peripheral adrenergic mechanisms. In : Textbook of Pharmacology. 2nd Ed. Edited by W C Bowman and M.J. Rand, Blackwell, Scientific Publication, London, 1980; 11.1-11.49.
9. Lin M T. Effects of intravenous and intraventricular prostaglandin E₁ on thermoregulatory responses in rabbits. J Pharmacol Exp Ther 1978; 204, 39-45.
10. Bowman W C and Rand M J. Peripheral autonomic cholinergic mechanisms In : Textbook of Pharmacology. Edited by W C Bowman and M J Rand, Blackwell, Scientific Publication, London, 1980; 10.1-10.41.

ฉันทนันทนาการ

จาก

บริษัท ใสตสภาก(ตักทวงหญ)จำกัด

2100 ถนนรามดําแหง กรุงเทพฯ

โทร.374-0121-51

ฤทธิ์ขยายหลอดเลือดของนมผึ้ง*

เพ็ญโฉม พึ่งวิชา

ยุวดี วงษ์กระจ่าง ปราณี ใจอาจ

ภาควิชาสรีรวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

THE VASODILATING EFFECT OF ROYAL JELLY IN RABBIT ARTERIES

Penchom Peungvicha, Yuvadee Wongkrajang and Pranee Jaiarj. Department of Physiology, Faculty of Pharmacy, Mahidol University, Bangkok, Thailand.

Royal jelly was the milky white, highly viscous secretion from the hypopharyngeal glands of the worker honey bees. The vasodilating effect of lyophilized royal jelly was tested in rabbit aorta and femoral arteries in vitro. It was found that the vasomotor tension, induced by the submaximal dose of norepinephrine, was significantly decreased by royal jelly (dissolved in dimethylsulfoxide) at the doses of 1 and 2 mg in 25 ml of kreb's solution ($P < 0.05$). Furthermore, after adding physostigmine (acetylcholine agonist) about 1 min before royal jelly and norepinephrine at the same dose the tension was more significantly decreased. But after adding atropine or scopolamine (acetylcholine competitive inhibitor) about 1 min before royal jelly and norepinephrine at the same dose, the tension was not different from the dimethylsulfoxide and norepinephrine treated group ($P > 0.05$). The results from this study suggested that royal jelly might inhibit the vasoconstriction via acetylcholine receptors.

บทนำ

นมผึ้งหรือ royal jelly เป็นอาหารซึ่งผึ้งงาน (Worker Honey bees) ส่วนใหญ่พันธุ์ *Apis mellifera* Linne (Family Apidae) ผลิตขึ้นโดยเก็บกินเกสรและน้ำหวานเข้าไปย่อยแล้วผลิตอาหารนี้จากต่อมบริเวณหัวเรียกว่า ต่อมไฮโปฟาริงค์ เพื่อใช้เลี้ยงตัวอ่อนภายใน 3 วันแรก และโดยเฉพาะตัวอ่อนที่ได้รับคัดเลือกให้เป็นนางพญาผึ้ง (Queen Bee) จะได้รับนมผึ้งต่อไปจนตลอดชีวิต จึงอาจเป็นไปได้ว่านมผึ้งมีผลต่อการพัฒนาเป็นตัวเต็มวัย (mature insect) ทำให้นางพญาผึ้งขนาดโตและสวยงามกว่าผึ้งอื่น ๆ รวมทั้งอายุยืนกว่าด้วย⁽¹⁾

นมผึ้งมีลักษณะเป็นของเหลวข้น คล้ายครีมนม มีรสเผือก ๆ ผลิตได้ในปริมาณน้อยมาก (วันละประมาณ

1.5-3.5 กรัม จากผึ้งงาน 60,000 ตัว/รัง จำนวน 30 รัง) จึงทำให้นมผึ้งรวมทั้งผลิตภัณฑ์ที่มีนมผึ้งเป็นองค์ประกอบมีราคาแพงนอกจากนี้นมผึ้งยังเสื่อมคุณภาพได้อย่างรวดเร็วถ้าเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง จึงต้องเก็บนมผึ้งสดไว้ในตู้แช่แข็งอุณหภูมิต่ำกว่า 0°C แต่ก็อาจพบการเปลี่ยนแปลงในส่วนประกอบของนมผึ้ง จึงมักนิยมเก็บนมผึ้งในรูป lyophilized form ส่วนประกอบของนมผึ้งนั้นมีสารที่มีประโยชน์ต่อร่างกายหลายอย่าง เช่น คาร์โบไฮเดรต 10-12% โปรตีน 14-15% ไขมัน 3-5% นอกจากนี้ยังมี วิตามินบี วิตามินซี อินซูลิน กรดโฟลิก อะเซทิลโคลีน ฮีสตามีน ฮอร์โมน เอนไซม์ กรดอะมิโน และกรดแพนโทเทนิก⁽²⁻⁴⁾ นมผึ้งมีสารอาหารที่สมบูรณ์มากรวมกับความเชื่อที่ว่านมผึ้งสามารถยืดอายุของผึ้งนางพญาได้ ปัจจุบันจึงมีการนำนมผึ้งมาใช้เป็นอาหารเสริม

* ได้รับทุนอุดหนุนจากโครงการวิจัยสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ประจำปี 2532

สุขภาพอย่างแพร่หลาย เพราะเชื่อว่าช่วยบำรุงร่างกาย ชะลอความแก่^(1, 5) บำรุงผม⁽¹⁾ นอกจากนั้นยังมีการอ้างสรรพคุณในการรักษา และบรรเทาอาการของโรคหลายอย่างได้แก่ มะเร็งโรคมะเร็งทางเดินอาหาร (เช่น เบื่ออาหาร ตับอักเสบ) โรคของระบบประสาท (เช่นนอนไม่หลับ ความจำเสื่อม) และโรคของระบบหัวใจและหลอดเลือด (เช่นความดันโลหิตสูง, arteriosclerosis)^(1, 4) สรรพคุณเหล่านี้อาจเกิดจากปัจจัยที่มีผลเพิ่มการไหลเวียนเลือด คณะผู้วิจัยจึงสนใจจะพิสูจน์ฤทธิ์ขยายหลอดเลือดหรือยับยั้งการหดหลอดเลือดของนมผึ้ง

วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

กระต่ายพันธุ์ขาวตาแดง (New Zealand white) น้ำหนัก 2-2.5 กก.)

Norepinephrine solution (LEVOPHED^R 1 : 1000, Winthrop)

Atropine 1 : 1000 (องค์การเภสัชกรรม)

Physostigmine, Scopolamine (Sigma)

Lyophilized Royal Jelly (เตรียมจากนมผึ้งสดจากจังหวัดเชียงใหม่ โดยนำไประเหยแห้งด้วยวิธี lyophilization (Lyvac GT2, Leybold Heraeus) ความดัน 0.1 Mbar จนได้ผงแห้ง เก็บไว้ในตู้เย็น 4°ซ จนกว่าจะใช้

Kreb's solution

95% O₂ + 5% CO₂

RM Dynograph Recorder (Backman)

Churchill thermoregulator (Churchill Instrument Co., Ltd.)

วิธีการทดลอง

ฤทธิ์ของนมผึ้งต่อการหดหลอดเลือดแดงเอ-ออร์ตา ใช้ส่วนเอ-ออร์ตาของกระต่าย ทำโดยสลับกระต่ายโดยตัดต้นคอ แยกหลอดเลือดแดง เอ-ออร์ตาส่วนลง (descending aorta) มาตัดให้เป็นเส้นเกลียว เรียกว่า aortic strip ยาว 1 ซม. แล้วแขวนในอ่างเนื้อเยื่อซึ่งบรรจุสารละลายเคิร์บ (Kreb's solution) จำนวน 25 มิลลิลิตรที่ปรับอุณหภูมิ 37°ซ และให้ก๊าซผสม

95% O₂ + 5% CO₂ ต่อปลายชิ้นเกลียวหลอดเลือด อีกข้างหนึ่งเข้ากับ force-displacement transducer และเครื่องบันทึกไดโนกราฟ ยึดชิ้นหลอดเลือดซึ่งอยู่ในอ่างเนื้อเยื่อให้มีแรงตึงเริ่มต้น (basal tensio) 1 กรัม โดยปรับให้มีแรงตึงต่อความสูงของแรงหดหลอดเลือดประมาณ 1 กรัม/ซม. แล้วปล่อยไว้ในอ่างเนื้อเยื่อเพื่อปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมนาน 30 นาที บันทึกแรงหดขึ้นเกลียวหลอดเลือดเมื่อเติมสารละลายนอร์อิพิเนฟริน 1 : 1,000 ซึ่งเป็นสารหดหลอดเลือดชนิดหนึ่งมากระตุ้นซึ่งทำให้หลอดเลือดหดตัวได้จนได้แรงตึงสูงสุดประมาณ 2-3 นาทีจึงล้าง เลือกลำตัวของสารละลายนอร์อิพิเนฟรินที่ทำให้หลอดเลือดหดตัวได้พอเหมาะคือขนาด 4 ไมโครลิตรใช้ตลอดการทดลอง ทดลองต่อโดยเติมสารทำลาย dimethylsulfoxide (DMSO) 13, 25, 50 และ 100 ไมโครลิตรประมาณ 1 นาที แล้วหยุดตามหลังด้วยสารละลายนอร์อิพิเนฟริน 1 : 1,000 จำนวน 4 ไมโครลิตรถือเป็นกลุ่มควบคุม ต่อมาเติมสารละลายนมผึ้งใน DMSO ขนาด 2 กรัม % จำนวนเท่ากันคือ 13, 25, 50 และ 100 ไมโครลิตร (ซึ่งเท่ากับปริมาณนมผึ้ง 0.25, 0.5, 1 และ 2 กรัม ตามลำดับ) ประมาณ 1 นาทีและหยุดตามหลังด้วยสารละลายนอร์อิพิเนฟริน บันทึกแรงหดขึ้นเกลียวหลอดเลือดที่เกิดจากผลรวมของสารละลายนมผึ้งและสารละลายนอร์อิพิเนฟรินจนได้แรงตึงสูงสุดนาน 2-3 นาทีจึงล้างออก ฤทธิ์ของนมผึ้งต่อการหดหลอดเลือดแดงที่ต้นขา เตรียมการทดลอง เช่นเดียวกับหลอดเลือดแดงเอ-ออร์ตา แต่ใช้ส่วนหลอดเลือดแดงที่ต้นขา (femoral artery) ทั้งชิ้น (ไม่ตัดเป็นเกลียว) ยาวประมาณ 1 ซม. แขวนในอ่างเนื้อเยื่อและต่อเครื่องบันทึกเช่นเดียวกัน โดยให้มีแรงตึงเริ่มต้น 0.5 กรัม แล้วปล่อยไว้ในอ่างเนื้อเยื่อเพื่อปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมนาน 15-30 นาที บันทึกแรงหดหลอดเลือดเมื่อเติม DMSO 13, 25, 50 และ 100 ไมโครลิตรประมาณ 1 นาที แล้วหยุดตามหลังด้วยสารละลายนอร์อิพิเนฟรินขนาด 4 ไมโครลิตร ถือเป็นกลุ่มควบคุม ต่อมาใช้สารละลายนม

ผงใน DMSO ขนาด 2 กรัม % จำนวนเท่ากันประมาณ 1 นาที่ แล้วหยดตามหลังด้วยสารละลายนอร์อิพิเนเฟริน บันทึกแรงหดรัดหลอดเลือดที่เกิดจากผลรวมของสารละลายนมผงและสารละลายนอร์อิพิเนเฟริน ต่อมาเพื่อศึกษาผลของการออกฤทธิ์ของนมผง จึงทดลองซ้ำและหยดก่อนสารละลายนมผงประมาณ 1 นาที่ ด้วย atropine 1 : 1000 จำนวน 20 ไมโครลิตร (10^{-6} M) หรือ scopolamine 1 : 1000 จำนวน 50 ไมโครลิตร หรือ physostigmine 1 : 1000 จำนวน 50 ไมโครลิตร บันทึกแรงหดรัดหลอดเลือด

การทดสอบทางสถิติ เปรียบเทียบผลโดยใช้ Student paired t-test

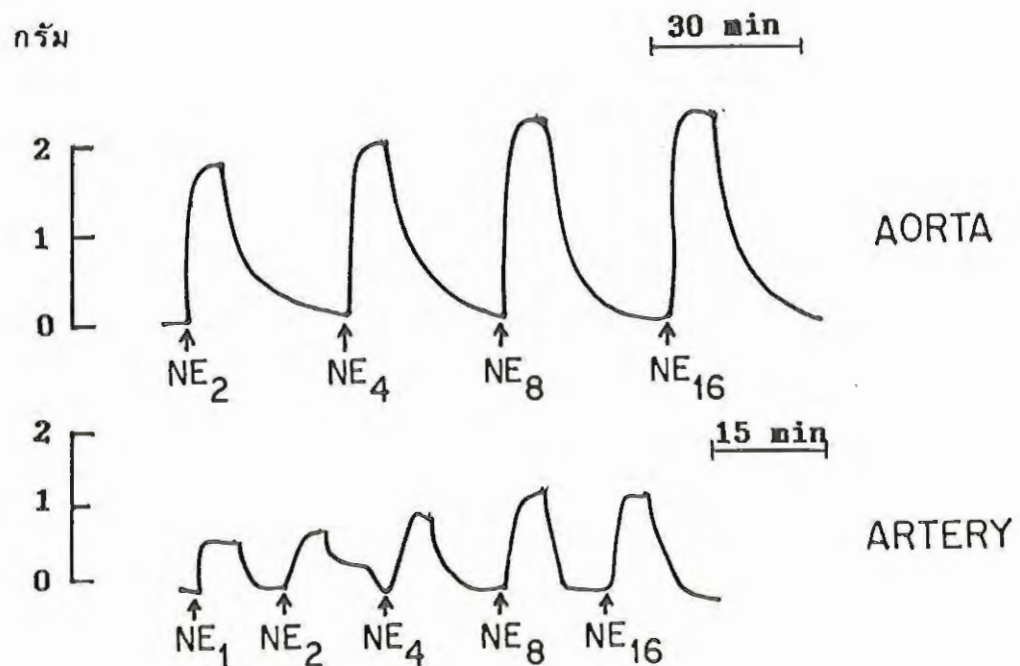
ผลการทดลอง

ฤทธิ์ของนมผงต่อการหดรัดหลอดเลือดแดง เอ-ออร์ตา สารละลายนมผงใน DMSO ขนาด 2 กรัม % จำนวน 50 และ 100 ไมโครลิตร หรือ 1 และ 2 มิลลิกรัม หยดในสารละลายเครีปจำนวน 25 มิลลิตร สามารถยับยั้งการหดรัดหลอดเลือดแดงเอ-ออร์ตา ซึ่งเหนี่ยวนำการหดตัวโดยสารละลายนอร์อิพิเนเฟรินได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยทำให้แรงหดตัวที่เกิดจากสารละลายนอร์อิพิเนเฟรินลดลงจาก 1.73 ± 0.20 กรัม เป็น 1.63 ± 0.21 กรัม ($P < 0.05$) และจาก 2.03 ± 0.33 กรัม เป็น 1.83 ± 0.27 กรัม ($P < 0.025$) ตามลำดับ (ตารางที่ 1 และ รูปที่ 2)

ตารางที่ 1 ผลของสารละลายนมผงใน DMSO 2 กรัม % ขนาดต่าง ๆ ต่อแรงหดตัวของชิ้นเกลียวหลอดเลือดแดง เอ-ออร์ตาและหลอดเลือดแดงที่ต้นขา

ขนาด	ค่าเฉลี่ยแรงหดตัว (กรัม)	% ของ	P-value
DMSO & นมผง	DMSO + NE 4 ul (กลุ่มควบคุม)	สารละลายนมผงใน DMSO + NE 4 ul	แรงหดตัว ที่ลดลง เทียบกับ กลุ่มควบคุม (ul)
DMSO			เทียบกับ กลุ่มควบคุม (ul)
หลอดเลือดแดงเอ-ออร์ตา			
3	6 2.08 ± 0.32	2.05 ± 0.32	1.4 NS
25	6 2.03 ± 0.24	2.03 ± 0.26	0 NS
50	6 1.73 ± 0.20	1.63 ± 0.21	5.8 < 0.05
100	7 2.30 ± 0.33	1.83 ± 0.27	9.8 < 0.025
หลอดเลือดแดงที่ต้นขา			
13	6 1.08 ± 0.09	1.05 ± 0.10	2.8 NS
25	7 1.01 ± 0.05	0.95 ± 0.05	5.0 < 0.005
50	17 1.22 ± 0.04	1.11 ± 0.05	9.0 < 0.005
100	5 1.28 ± 0.07	1.16 ± 0.07	9.4 < 0.005

n = จำนวนตัวอย่าง ul = ไมโครลิตร, NS = ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



รูปที่ 1 แสดง dose response ของสารละลายนอร์อิพิเนฟริน 1 : 1000 ขนาดต่าง ๆ กันใน

รูปบน หลอดเลือดแดง เอออร์ตา

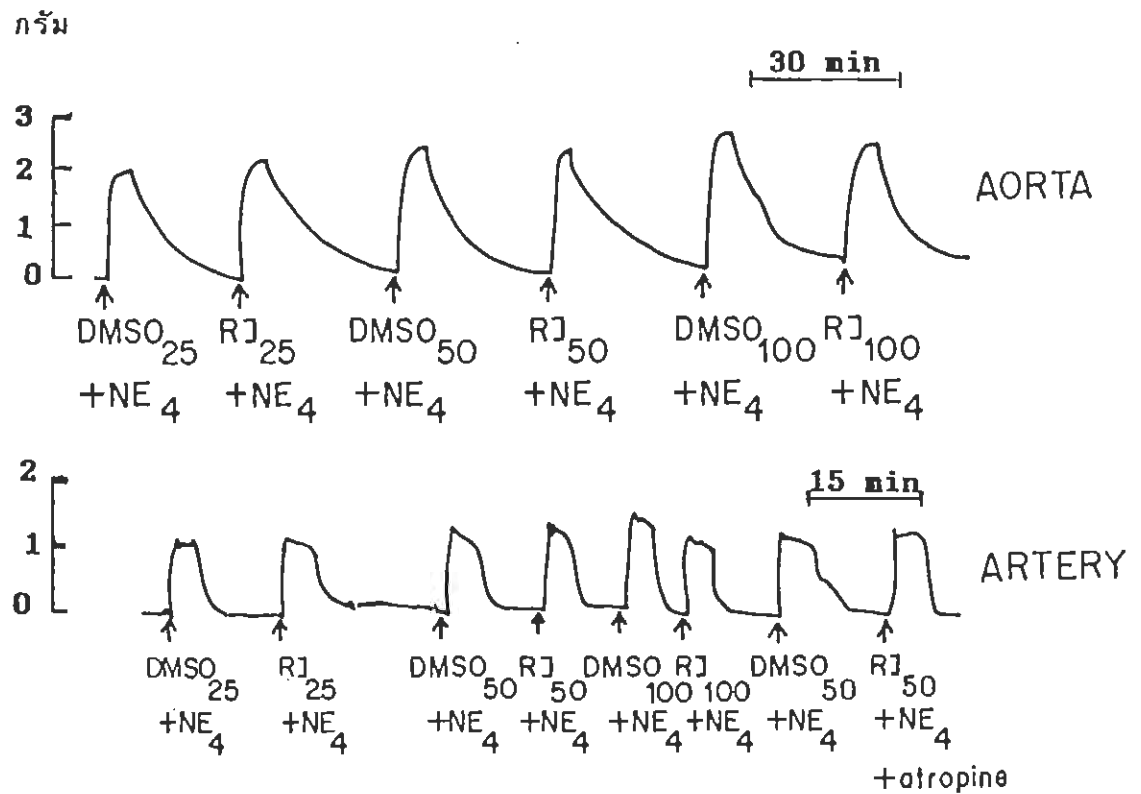
รูปล่าง หลอดเลือดแดงที่ต้นขา

บันทึกแรงหดตัวจนได้แรงตึงสูงสุด 2-3 นาทีจึงล้างสารละลายออกทุกครั้ง รอจนแรงหดตัวกลับเข้าสู่ค่าเริ่มต้นจึงทดลองต่อไป

(NE = สารละลายนอร์อิพิเนฟริน, หน่วยเป็น ไมโครลิตร)

ฤทธิ์ของนมผึ้งต่อการหดหลอดเลือดแดงที่ต้นขา สารละลายนมผึ้งใน DMSO ขนาด 2 กรัม % จำนวน 25, 50 และ 100 ไมโครลิตร หรือ 0.5, 1 และ 2 มิลลิกรัม สามารถยับยั้งการหดหลอดเลือดแดงที่ต้นขา ซึ่งเหนี่ยวนำการหดตัวโดยสารละลายนอร์อิพิเนฟรินได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยทำให้แรงหดตัวที่เกิดจากสารละลายนอร์อิพิเนฟรินลดลงจาก 1.01 ± 0.05 กรัม เป็น $0.06 \pm$ กรัม ($P < 0.005$), จาก 1.22 ± 0.04 กรัม เป็น 1.11 ± 0.05 กรัม ($P < 0.005$) และจาก 1.28 ± 0.07 เป็น 1.16 ± 0.07 กรัม ($P < 0.005$) ตามลำดับ (ตารางที่ 1 และรูปที่ 2) แต่เมื่อเติม atropine จนได้ความเข้มข้น 10^{-6} โมลาร์ ตามด้วยสารละลายนมผึ้งและสารละลายนอร์อิพิเนฟริน

พบว่าการหดหลอดเลือดไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมที่ใส่ DMSO และสารละลายนอร์อิพิเนฟริน (ตารางที่ 2) เช่นเดียวกันกับเมื่อเติม scopolamine 1 : 1000 50 ไมโครลิตร ตามด้วยสารละลายนมผึ้งและสารนอร์อิพิเนฟรินพบว่าการหดหลอดเลือดไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมที่ใส่ DMSO และสารละลายนอร์อิพิเนฟริน (ตารางที่ 3) ในทางตรงข้ามเมื่อเติม physostigmine 1 : 1000 50 ไมโครลิตรตามด้วยสารละลายนมผึ้งและนอร์อิพิเนฟรินพบว่าแรงหดตัวที่เกิดจากสารละลายนอร์อิพิเนฟรินลดลงจาก 1.22 ± 0.04 กรัมเป็น 1.01 ± 0.08 กรัม ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับแรงหดตัวที่เกิดจากสารละลายนมผึ้งและสารนอร์อิพิเนฟรินซึ่งเท่ากับ 1.12 ± 0.05 กรัม (ตารางที่ 4)



รูปที่ 2 ตัวอย่าง tracing แสดงผลของสารละลายนมผึ้งใน DMSO ขนาด 2 กรัม % จำนวน 25, 50 และ 100 ไมโครลิตร ต่อการหดหลอดเลือดแดง เอ-ออร์ตา (รูปบน) และ หลอดเลือดแดงที่ต้นขา (รูปล่าง) ซึ่งเหนี่ยวนำโดยสารละลายนอร์อิพิเนฟริน ขนาด 4 ไมโครลิตร บันทึกแรงหดตัวจนได้แรงดึงสูงสุด 2-3 นาทีจึงล้างสารละลายออกทุกครั้ง รอจนแรงหดตัวกลับสู่ค่าเริ่มต้นจึงทดลองต่อไป

(RJ = สารละลายนมผึ้งใน DMSO, NE = สารละลายนอร์อิพิเนฟริน, หน่วยเป็น ไมโครลิตร)

ตารางที่ 2 ผลของ atropine และสารละลายนมผึ้งใน DMSO ต่อแรงหดตัวของหลอดเลือดแดงที่ต้นขา

ค่าเฉลี่ยแรงหดตัว (กรัม)		
DMSO 50 ul + NE 4 ul Atropine (10^{-8}) + สารละลายนมผึ้งใน DMSO 50 ul + NE 4 ul		
n	9	9
X ± SEM	1.19 ± .08	1.19 ± 0.09
P-value		NS

n = จำนวนตัวอย่าง, ul = ไมโครลิตร, NS = ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 3 ผลของ scopolamine และสารละลายนมผึ้งใน DMSO ต่อแรงหดตัวของหลอดเลือดแดงที่ต้นขา

	ค่าเฉลี่ยแรงหดตัว (กรัม)	
	DMSO 50 ul + NE 4 ul	Scopolamine (1:1000) 50 ul + สารละลายนมผึ้งใน DMSO 50 ul + NE 4 ul
n	5	5
X	1.19 ± 0.06	1.25 ± 0.11
P-value	NS	

n = จำนวนตัวอย่าง, ul = ไมโครลิตร, NS = ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 4 ผลของ physostigmine และสารละลายนมผึ้งใน DMSO ต่อแรงหดตัวของหลอดเลือดแดงที่ต้นขา

	ค่าเฉลี่ยแรงหดตัว (กรัม)		
	DMSO 50 ul + NE 4 ul (กลุ่มควบคุม)	สารละลายนมผึ้ง ใน DMSO 50 ul + NE 4 ul	Physostigmine (1:1000) 50 ul + สารละลายนมผึ้ง ใน DMSO 50 ul + NE 4 ul
n	5	5	5
X ± SEM	1.22 ± 0.04	1.12 ± 0.05	1.01 ± 0.08
P-value			
เทียบกับกลุ่มควบคุม		P < 0.025	P < 0.01
เทียบกับกลุ่มสารละลาย นมผึ้งใน DMSO		P < 0.05	

n = จำนวนตัวอย่าง, ul = ไมโครลิตร

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการทดลองครั้งนี้พบว่าสารละลายนมผึ้งใน DMSO 1 และ 2 มิลลิกรัม สามารถยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดแดงเอ-ออร์ตาได้ DMSO เป็นตัวทำละลายที่ดีสามารถละลายสารประกอบที่ละลายน้ำและละลายในไขมันได้บางส่วน แต่ DMSO อาจเป็นสารที่มีผลต่อการหด-ขยายหลอดเลือด ผู้วิจัยจึงเติม DMSO จำนวนเท่ากันในกลุ่มควบคุมด้วย ผลการทดลองในหลอดเลือดแดงที่ต้นขาก็เช่นกัน สารละลายนมผึ้งใน DMSO 0.5,

1 และ 2 มิลลิกรัมสามารถยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดแดงที่ต้นขาได้และเริ่มออกฤทธิ์ในขนาดที่ต่ำกว่าหลอดเลือดแดง เอ-ออร์ตา คือ 0.5 มิลลิกรัม ที่เป็นเช่นนี้เพราะส่วนที่มีฤทธิ์ขยายหลอดเลือดในนมผึ้งอาจเป็น cholinergic substance เช่น อะเซทิลโคลีน ซึ่งมีรายงานว่าพบในนมผึ้งขนาด 1100-1150 ไมโครกรัม/กรัม (6-10) และหลอดเลือดแดงที่ต้นขามีตัวรับของอะเซทิลโคลีนมากกว่าหลอดเลือดแดงใหญ่เอ-ออร์ตา

ปกติการหด-ขยายหลอดเลือดเกิดจากการกระตุ้นโดยสารสื่อประสาทต่าง ๆ เช่น นอร์อิพิเนเฟริน ฮีสตามีน (ทำให้หลอดเลือดหดตัว) อะเซทิลโคลีน (ทำให้หลอดเลือดคลายตัว) หรือแม้แต่การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของเลือดเช่น ปริมาณก๊าซออกซิเจน คาร์บอนไดออกไซด์ ร่างกายจึงต้องมีระบบควบคุมสภาพดังกล่าวให้อยู่ในสภาวะสมดุล เช่นการควบคุม โดยหลอดเลือดเอง โดยระบบประสาทอัตโนมัติและระบบต่อมไร้ท่อที่ซับซ้อน (11, 12) การทดลองนี้เป็นการศึกษาในหลอดทดลอง (in vitro) ปัจจุบันดังกล่าวจึงไม่มีผล เหลือเพียงผลจากตัวกระตุ้นที่ให้เข้าไป และการหด-ขยายของหลอดเลือดในหลอดทดลองนี้ถูกควบคุมโดยตัวหลอดเลือดเองผ่านตัวรับในหลอดเลือด

เมื่อให้นอร์อิพิเนเฟรินซึ่งกระตุ้น α_1 adrenergic receptor บนกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดทำให้หลอดเลือดหดตัว (13) โดยกระตุ้นแคลเซียมอิสระเคลื่อนเข้าเซลล์ผ่าน receptor-operated Ca^{+2} channels เพื่อให้เห็นผลของการหด-ขยายหลอดเลือดโดยนมผึ้งชัดเจนจึงเลือก submaximal dose คือสารละลายนอร์อิพิเนเฟริน 1 : 1000 จำนวน 4 ไมโครลิตร (รูปที่ 1) ใช้ในการทดลองเมื่อหยดสารละลายนมผึ้งตามสารละลายนอร์อิพิเนเฟรินแรงหดตัวของหลอดเลือดลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเทียบกับแรงหดตัวที่เกิดจากตัวทำลายและสารละลายนอร์อิพิเนเฟริน ($P < 0.05$) และเมื่อเพิ่มขนาดนมผึ้งโดยเพิ่มปริมาณสารละลายนมผึ้งจาก 13 จนถึง 100 ไมโครลิตรหรือ 0.25-1 กรัมพบว่า % การลดแรงหดตัวของหลอดเลือดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะในหลอดเลือดแดงที่ต้นขาจาก 23.8-9.4% (ตารางที่ 1)

ศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของนมผึ้งโดยใช้สารยับยั้งต่าง ๆ คือ atropine และ scopolamine สารทั้งสองตัวนี้สามารถเกาะตัวรับ muscarinic ของอะเซทิลโคลีน โดยเฉพาะ atropine ขนาดความเข้มข้น $10^{-6}M$ สามารถแย่งเกาะตัวรับของอะเซทิลโคลีนได้อย่างสมบูรณ์ เมื่อใส่ atropine หรือ scopolamine ตามด้วยสารละลายนมผึ้งและสารละลายนอร์อิพิเนเฟรินพบว่านมผึ้งไม่สามารถยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดหรือขยายหลอดเลือด

เลือดได้ (ตารางที่ 3) แสดงว่านมผึ้งออกฤทธิ์ผ่านตัวรับของอะเซทิลโคลีน เมื่อมีการยับยั้งการเกาะตัวรับของอะเซทิลโคลีน นมผึ้งจึงไม่สามารถออกฤทธิ์ได้ การทดลองนี้ใช้กระต่ายเป็นสัตว์ทดลองในสัตว์ชนิดอื่นเช่น สุนัขก็มีรายงานการเปรียบเทียบฤทธิ์ขยายหลอดเลือดที่ต้นขาของสุนัขโดยนมผึ้งว่าสามารถขยายหลอดเลือดได้ 100-200 เท่าเมื่อเทียบกับน้ำผึ้ง ฤทธิ์นี้เกิดขึ้นเพียงชั่วคราวและยับยั้งด้วย atropine เช่นกัน⁶ ยืนยันผลการออกฤทธิ์ผ่านตัวรับของอะเซทิลโคลีนโดยให้ physostigmine สารนี้ออกฤทธิ์โดยยับยั้งเอนไซม์ acetylcholine esterase ซึ่งทำลายอะเซทิลโคลีนจึงทำให้อะเซทิลโคลีนคงฤทธิ์อยู่นานขึ้นหรือเพิ่มฤทธิ์ของอะเซทิลโคลีนเมื่อใส่ physostigmine ตามด้วยสารละลายนมผึ้งและสารละลายนอร์อิพิเนเฟรินพบว่าแรงหดตัวหลอดเลือดลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเทียบกับแรงหดตัวของหลอดเลือดเกิดจากสารละลายนมผึ้งและสารละลายนอร์อิพิเนเฟริน (ตารางที่ 4)

อย่างไรก็ตาม การทดลองนี้ไม่ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดที่อาจมีอีก ผ่านกลไกหรือตัวรับอื่น ๆ เช่น นมผึ้งอาจมีฤทธิ์ยับยั้งการออกฤทธิ์ของนอร์อิพิเนเฟรินโดยตรง อีกก็ได้ ซึ่งเป็นเรื่องน่าศึกษาต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ น.ส.รัตนา นาคสง่า ที่ให้ความช่วยเหลือ ดูแลสัตว์ทดลองและเตรียมสารเคมีตลอดการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

1. Tyler VE, Lynn BB, James ER. Pharmacocognoc. 9th ed. Philadelphia: Lea and Febinger, 1988:489.
2. พเยาว์ เหมือนวงษ์ญาติ. นมผึ้งและเกสรผึ้ง. วารสารคลินิก ปีที่ 5 ฉบับที่ 10 ตุลาคม 2532 : 733-5.
3. นมผึ้งและโสม. จุลสารข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ปีที่ 6 ฉบับที่ 2 มกราคม 2532 : 17-20.

4. Ivanov TS, Mitev B: Study of composition and physico chemical properties of Royal Jelly. *Zhivotnovud Nauki* 1980;17 (8) : 89-95.
5. อุบลทิพย์ นิมมานนิตย์. เกษัชสุนเทศ. นมผึ้งหรือ Royal Jelly: *ไทยเกษตรสาร* 2531 ; 13 : 85-89.
6. Shinoda M, Nakajin S, Oikawa T, Sato K. Biochemical studies on vasodilative factor in royal jelly. *Chemical abstracts* 1987 ; 88 : 183546s.
7. Colhou EH, Smith MV. Neurohormonal properties of royal jelly. *Nature* 1960 ; 188 : 853-855.
8. Henschler D. Identification of choline esters in biological material, especially acetylcholine in royal jelly of the bee. *Hoppe-Seyleir's Z Physiol Chem* 1956 ; 305 : 34-41.
9. Abdel-Wahab SM, Selin Ma, Shehata Mohamed TR. Detection and estimation of neurohormonal substance in honey and royal jelly. *Egypt J Pharm Sci* 1979 ; 20 : 353-63.
10. Jacoli G, Nobili F. A substance with parasympathomimetic action contained in Royal Jelly. *Quarderni nutriz* 1957 ; 17 : 91-102.
11. สุวรรณ อีระวรพันธ์. การควบคุมความดันโลหิต. ใน : สุวรรณ อีระวรพันธ์. ระบบไหลเวียนโลหิต, 2529 : 201-18.
12. Ganong WF. Cardiovascular regulatory mechanisms. In: *Review of medical physiology*. 7thed. California: Lange medical publications, 1975 ; 436-45.
13. Young MA, Vatner SF. Blood flow and endothelium mediated vasomotion of iliac arteries in conscious dogs. *Supplement II. Circulation Reserch*. November 1987 ; 61 (5) : II-88-II-92.

การศึกษาผลการออกฤทธิ์ของนมผึ้งในผู้ป่วยเบาหวาน

ธวัชชัย ภาสุรกุล* และ ปัทมา ลีวนิช**

*ภาควิชาอายุรศาสตร์ และ **ภาควิชาเภสัชวิทยา

คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร

โรคเบาหวานเป็นโรคเรื้อรังชนิดหนึ่งที่ไม่สามารถรักษาให้หายขาดได้ และการควบคุมอาการทำได้ค่อนข้างลำบาก เนื่องจากผู้ป่วยมักจะมีโรคแทรกซ้อนเกิดขึ้นร่วมด้วย เช่น การแทรกซ้อนของโรคหัวใจ การเป็นต้อกระจกที่ตา อาการชาปลายมือปลายเท้า และการเป็นแผลเรื้อรัง เป็นต้น ระดับน้ำตาลในเลือดเป็นตัวสำคัญในการกำหนดอาการของผู้ป่วย ถ้าสามารถควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดให้ลดต่ำลงได้ใกล้เคียงกับคนปกติ ก็จะสามารถควบคุมอาการของโรคได้ นมผึ้งซึ่งมีผู้บริโภคเป็นอาหารเสริมกันมาก มีรายงานการศึกษาผลของนมผึ้งในสัตว์ทดลองที่เป็นโรคเบาหวาน พบว่า นมผึ้งสามารถทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดลดลงได้ ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้จึงได้ทำการศึกษาผลการออกฤทธิ์ของนมผึ้งในผู้ป่วยเบาหวาน โดยการให้ผู้ป่วยรับประทานนมผึ้งทุกวัน และติดตามผลโดยการตรวจเลือด และบัสสวะทางห้องปฏิบัติการ พร้อมกับการตรวจร่างกายตามปกติ และ การสัมภาษณ์ ผลการวิจัยครั้งนี้สรุปได้ว่านมผึ้งไม่มีผลลดระดับน้ำตาลในเลือดของผู้ป่วย ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีระและชีวเคมีของเลือดและบัสสวะ ผลการประเมินผู้ป่วยด้วยการซักถามชี้ว่า นมผึ้งไม่มีผลต่ออาการของโรค แต่ทำให้ผู้ป่วยรู้สึกว่าคุณภาพทั่ว ๆ ไปดีขึ้น ($p < 0.05$) ไม่พบอาการข้างเคียงใด ๆ เกิดขึ้นกับผู้ป่วย ในขณะทำการวิจัย การใช้นมผึ้งในผู้ป่วยเบาหวาน เมื่อคำนึงถึงอาการทั่ว ๆ ไปจึงน่าจะมีผลดีมากกว่าผลเสีย อย่างไรก็ตามเพื่อให้ได้ข้อสรุปที่ชัดเจนยิ่งขึ้นควรได้มีการศึกษาทดลองการออกฤทธิ์ของนมผึ้ง

บทนำ

โรคเบาหวานจัดเป็นโรคเรื้อรังชนิดหนึ่งที่มีผู้ป่วยอยู่เป็นจำนวนมาก การดูแลรักษาเพื่อควบคุมอาการของโรคค่อนข้างทำได้ลำบากเนื่องจากผู้ป่วยเหล่านี้เกิดโรคแทรกซ้อนอื่น ๆ ได้ง่าย ลักษณะที่สำคัญของผู้ป่วยเบาหวานคือการมีระดับน้ำตาลกลูโคสในกระแสเลือดสูงกว่าระดับของคนปกติ (80-120 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์) ซึ่งมีผลสืบเนื่องมาจากความผิดปกติที่เซลล์ต่าง ๆ ในร่างกายไม่สามารถดึงน้ำตาลมาใช้เป็นแหล่งพลังงานได้ อาจเป็นเพราะร่างกายผลิตฮอร์โมนชื่อ อินซูลิน ออกมาได้น้อย ซึ่งอินซูลินนี้มีหน้าที่ช่วยนำกลูโคสเข้าสู่เซลล์ต่าง ๆ หรือเป็นความผิดปกติที่เซลล์เองที่ไม่สามารถใช้กลูโคสนั้นได้ เซลล์จึงใช้พลังงานจากสารอาหารอื่น ได้แก่ โปรตีน และ

ไขมันเป็นการทดแทน ผลจากการสลายสารอื่นมาใช้ทำให้เกิดการสะสมผลิตภัณฑ์กลาง (metabolite products) อยู่ในร่างกายปริมาณมาก ทำให้ร่างกายเกิดพิษขึ้น เช่น การสะสมของสารคีโตน บอดี (ketone body) ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นกรด ทำให้ความสมดุลกรด-ด่างของสารเหลวในร่างกายสูญเสียไป ส่งผลไปรบกวนกระบวนการเมตาบอลิซึมของสารอื่น ๆ ที่มีอยู่ในร่างกายเป็นลูกโซ่สืบไป นอกจากนี้การสลายสารดังกล่าวเป็นการสลายมาจากแหล่งสะสมของร่างกาย เช่น ไขมันจากแหล่งสะสมในชั้นไขมันต่าง ๆ และโปรตีนจากแหล่งสะสมในกล้ามเนื้อ จึงทำให้ผู้ป่วยเบาหวานมีลักษณะแขนขาลีบเล็กลง ไม่มีแรง อ่อนเพลีย และอาการแทรกซ้อนต่าง ๆ ได้แก่ อาการชาปลายมือปลายเท้า ตามัว ความยืดหยุ่นของเส้นเลือด

เสียไป และการเป็นแผลเรื้อรัง เป็นต้น^(1, 6)

จุดประสงค์ที่สำคัญในการรักษาผู้ป่วยเบาหวาน นอกจากจะเพื่อป้องกันและแก้ไขภาวะแทรกซ้อนต่าง ๆ ดังได้กล่าวมาแล้ว ก็คือเพื่อควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด ให้ลดต่ำลงเข้าสู่ระดับปกติให้มากที่สุด ดังนั้นสารหรือยาใด ๆ ที่สามารถทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดลดลงได้ ก็น่าจะมีประโยชน์ต่อผู้ป่วยเบาหวานได้มาก

นมผึ้งเป็นผลิตภัณฑ์จากผึ้งอย่างหนึ่งที่มีการนำมาใช้เป็นอาหารเสริมกันอย่างกว้างขวาง จากการศึกษาของนักวิทยาศาสตร์พบว่า นมผึ้งมีส่วนประกอบของสารอาหารที่มีประโยชน์มากมายหลายชนิด ได้แก่คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน วิตามิน และธาตุอาหารอื่นในสัดส่วนต่าง ๆ กัน^(3, 7, 13) ในปัจจุบัน นักวิทยาศาสตร์ให้ความสนใจนมผึ้งกันมาก โดยเฉพาะประโยชน์ของนมผึ้งต่อโรคบางอย่าง เช่น โรคความดันโลหิตสูง โรคเบาหวาน และโรคเบาหวาน ผลที่ได้จากการใช้นมผึ้งในวงการแพทย์ ส่วนใหญ่ยังไม่มีการศึกษากันอย่างจริงจังจนถึงขั้นเป็นหลักฐานอ้างอิงทางวิทยาศาสตร์ได้ การศึกษาผลการออกฤทธิ์ของนมผึ้งในผู้ป่วยเบาหวานครั้งนี้ ประกอบด้วยการศึกษาถึงผลต่อการลดระดับน้ำตาลในเลือด ต่ออาการทางคลินิก และอาการข้างเคียง เป็นขั้นตอนการศึกษาเพื่อหาแนวทางในการนำนมผึ้งไปประยุกต์ใช้ให้เป็นประโยชน์ทางการแพทย์ต่อไป โดยเฉพาะการใช้เพื่อช่วยรักษาอาการในผู้ป่วยเบาหวาน

วิธีทำการวิจัย

1. การเลือกผู้ป่วย

การวิจัยครั้งนี้ทำการศึกษาในผู้ป่วยเบาหวานที่มารับการรักษาที่คลินิกต่อมไร้ท่อแผนกอายุรศาสตร์ โรงพยาบาลศิริพยาบาล อายุระหว่าง 30-50 ปี ทั้งเพศหญิงและเพศชาย เป็นโรคเบาหวานชนิดไม่พึ่งอินซูลิน (non-insulin dependent diabetes mellitus) ไม่มีโรคอื่นแทรกซ้อน เช่น โรคหัวใจ โรคความดันโลหิตสูง และโรคติดเชื้อ สามารถควบคุมอาหารและการใช้ยารักษาโรคได้ตามคำสั่งของแพทย์ผู้ให้

การรักษา และเป็นผู้ป่วยที่ต้องการเข้าร่วมโครงการวิจัยด้วยความสมัครใจ

2. วิธีการดำเนินการ

แพทย์ให้การรักษาผู้ป่วยเบาหวานตามหลักการรักษาผู้ป่วยเบาหวานทั่วไปไปพร้อมกับการใช้นมผึ้งร่วมไปด้วย โดยให้นมผึ้งในรูปของยาเม็ดแคปซูล ที่ภายในบรรจุนมผึ้งจริง และนมผึ้งหลอก (placebo) ขนาด 350 มิลลิกรัมต่อเม็ด ให้ผู้ป่วยรับประทานทุกวัน ก่อนอาหารเช้า-เย็น เป็นเวลา 3 เดือน โดยผู้ป่วยและแพทย์ผู้ให้ยาไม่ทราบว่าเป็นนมผึ้งจริง (royal jelly) หรือเป็นนมผึ้งหลอก (double blind randomized controlled study design) ได้ทำการนัดผู้ป่วยมาพบทุก 30 วัน เพื่อติดตามและประเมินผล โดยบันทึกผลไว้ในแบบบันทึก การรักษาผู้ป่วยด้วยยาอื่นร่วมด้วยแพทย์ผู้ให้การรักษาพิจารณาปรับเปลี่ยนขนาดยาตามวิธีทางของการรักษาผู้ป่วยเบาหวานทั่วไป

ขณะทำการวิจัย ถ้าผู้ป่วยมีอาการที่บ่งชี้ว่าเกิดอาการข้างเคียงเนื่องจากการใช้นมผึ้ง และมีอันตรายต่อผู้ป่วย แพทย์จะทำการหยุดให้นมผึ้งทันที

3. การเก็บข้อมูล

เก็บข้อมูลโดยการติดตามผู้ป่วยทุก 30 วันหลังจากให้นมผึ้ง ข้อมูลที่เก็บ ได้จากการดำเนินการดังนี้

1) การเจาะเลือดเพื่อส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการประกอบด้วย

- การตรวจนับจำนวนเม็ดเลือดชนิดต่าง ๆ ในเลือด ได้แก่ ระดับฮีโมโกลบิน (hemoglobin), ฮีมาโตคริต (hematocrit), จำนวนเม็ดเลือดขาว จำนวนเกร็ดเลือด และลักษณะรูปร่างของเม็ดเลือดแดง

- การตรวจทางชีวเคมี โดยทำการวัดระดับความเข้มข้นของสารและเอ็นไซม์ชนิดต่าง ๆ ในเลือด ได้แก่ ระดับน้ำตาล, ระดับ BUN, creatinine, cholesterol, triglyceride, HDL, LDL, SGOT, alkaline phosphatase, albumin, และ globulin

2) การเก็บปัสสาวะส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการประกอบด้วย

- การตรวจดูลักษณะของปัสสาวะ ได้แก่ สีของปัสสาวะ, ความเป็นกรด-ด่าง, และความถ่วงจำเพาะ

- การตรวจทางเคมี ได้แก่ การตรวจหาปริมาณ albumin, น้ำตาล, ketone, น้ำดี, สารอื่น และเลือด

- การตรวจหาเซลล์ต่าง ๆ ได้แก่ เซลล์เม็ดเลือดขาว เซลล์เม็ดเลือดแดง เซลล์เยื่อปิว ตะกอนของสารต่าง ๆ แบคทีเรีย และอื่น ๆ

3) การตรวจร่างกายภายนอก ประกอบด้วย

- การชั่งน้ำหนักตัว
- การวัดความดันโลหิต
- การวัดอัตราการเต้นของหัวใจและการทำงานของปอด

- การตรวจดูลักษณะภายนอกทั่ว ๆ ไป เช่น การเกิดผื่นที่ผิวหนัง อาการบวม การเกิดแผล เป็นต้น

4) การซักถามถึงอาการต่าง ๆ ที่อาจเปลี่ยนแปลงไปเนื่องจากการดำเนินของโรคและการรักษา เช่น

- อาการชาตามปลายมือปลายเท้า
- ความอยากอาหาร
- การพักผ่อนนอนหลับ
- การปัสสาวะบ่อย
- ความเมื่อยล้า อ่อนเพลีย
- การมองเห็น
- อาการหน้ามืด เป็นลม

- อาการข้างเคียงที่คาดว่าจะเกิดขึ้น เช่น การเกิดผื่นคัน การทำงานของหัวใจ ปอด ตับ และ ไต อื่น ๆ

5) เมื่อผู้ป่วยได้รับนมผึ้งครบ 90 วัน ได้ทำการเก็บข้อมูลเพิ่มเติมโดยใช้วิธีการสัมภาษณ์ตามแบบบันทึกที่สร้างขึ้นมา โดยแพทย์ผู้ทำการรักษาผู้ป่วยเป็นผู้สัมภาษณ์ผู้ป่วยเอง

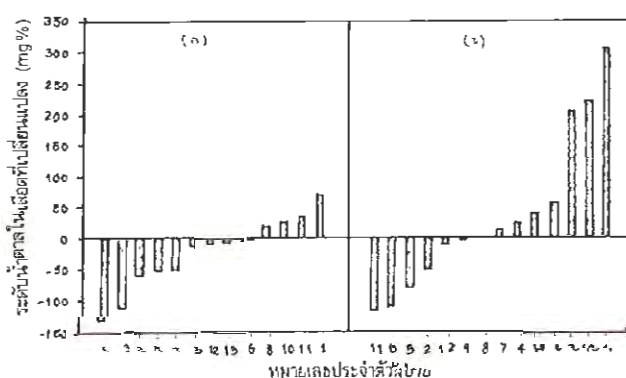
4. เกณฑ์ในการประเมินผล

แบ่งผู้ป่วยออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่กลุ่มที่ได้รับนมผึ้งจริง และกลุ่มที่ได้รับนมผึ้งหลอก การประเมินผลของนมผึ้ง ใช้วิธีการเปรียบเทียบผลภายในแต่ละกลุ่มระหว่างก่อนและหลังจากที่ได้รับนมผึ้งเป็นเวลา 30, 60 และ 90 วัน โดยใช้ paired t-test และผลระหว่างกลุ่มที่ได้รับนมผึ้งจริงและนมผึ้งหลอกโดยใช้ chi-square test

ผลการวิจัย

1. ผลของนมผึ้งต่อการลดระดับน้ำตาลในเลือด

หลังจากให้นมผึ้งกับผู้ป่วยเป็นเวลา 30, 60 และ 90 วันแล้วทำการวัดระดับน้ำตาลในเลือดหลังจากงดอาหารหลังเที่ยงคืน (fasting blood sugar, FBS) พบว่านมผึ้งไม่มีผลลดระดับน้ำตาลในเลือดของผู้ป่วย ($p > 0.05$) (รูปที่ 1 แสดงเฉพาะผลของนมผึ้งหลังจากได้รับยา 90 วัน)



รูปที่ 1 แสดงผลของนมผึ้งต่อการเปลี่ยนแปลงระดับน้ำตาลในเลือดของผู้ป่วย หลังจากได้รับนมผึ้งเป็นเวลา 90 วัน; (ก) เป็นกลุ่มที่ได้รับนมผึ้งจริง และ (ข) เป็นกลุ่มที่ได้รับนมผึ้งหลอก

2. ผลของนมผึ้งต่ออาการทางคลินิก

ข้อมูลจากการตรวจทางห้องปฏิบัติการ เมื่อเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงทางสรีระ และทางชีวเคมีของเลือดและปัสสาวะระหว่างก่อนและหลังการให้นมผึ้ง พบว่าการเปลี่ยนแปลงของจำนวนเม็ดเลือดชนิดต่าง ๆ และ ระดับความเข้มข้นของสารและเอ็นไซม์ต่าง ๆ ใน

เลือดและในปัสสาวะไม่มีความแตกต่างกันหลังจากให้นมผึ้ง 30, 60, และ 90 วัน (ตารางที่ 1 แสดงเฉพาะผลทางชีวเคมีของเลือดหลังจากได้รับยา 90 วัน) ผลต่อน้ำหนักตัวและความดันโลหิตไม่มีความแตกต่างเช่นเดียวกัน (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 1 ผลของนมผึ้งต่อชีวเคมีของเลือด

วันที่	Cholesterol (mg %)		Triglyceride (mg %)		HDL (mg %)		LDL (mg %)		SGOT (U/L)		SGPT (U/L)	
	0	90	0	90	0	90	0	90	0	90	0	90
1. กลุ่มที่ได้รับนมผึ้งจริง												
R 1	166	204	120	120	42	52	100	124	28	25	43	38
R 2	242	245	196	138	50	42	153	175	18	20	17	21
R 3	319	306	466	368	69	38	157	194	23	27	21	23
R 4	248	220	92	128	74	58	156	140	16	21	16	17
R 5	247	171	146	155	59	52	159	88	29	34	45	43
R 6	219	203	69	61	61	62	144	210	21	25	22	21
R 7	185	166	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
R 8	278	370	522	735	41	39	133	184	27	24	28	39
R 9	292	205	158	160	83	50	177	123	28	23	54	27
R 10	228	235	182	138	73	80	119	127	39	30	53	51
R 11	208	184	92	180	ND	ND	ND	ND	20	23	24	23
R 12	196	186	360	206	71	55	53	90	43	43	52	59
R 13	260	269	257	237	42	46	167	176	16	18	19	26
Mean	237.5	228.0	221.7	217.2	60.5	52.5	138.0	148.3	25.7	26.	32.8	32.3
S.E.	3.5	4.7	13.1	15.7	1.4	1.2	3.4	4.0	0.8	0.6	1.3	1.2

วันที่	Cholesterol (mg %)		Triglyceride (mg %)		HDL (mg %)		LDL (mg %)		SGOT (U/L)		SGPT (U/L)	
	0	90	0	90	0	90	0	90	0	90	0	90
2. กลุ่มที่ได้รับนมผึ้งหลอก												
P 2	235	210	344	455	32	40	134	79	ND	ND	ND	ND
P 3	230	258	98	252	66	64	144	144	19	15	14	14
P 4	153	143	128	133	98	74	29	42	19	21	14	15
P 5	221	224	120	204	66	65	131	119	20	17	9	9
P 6	197	258	145	200	34	65	208	153	22	18	27	15
P 7	220	254	152	146	49	65	141	160	20	16	29	35
P 8	268	210	489	203	38	50	132	119	29	34	50	52
P 9	261	233	186	205	58	54	116	138	59	77	113	145
P 10	274	321	276	272	56	75	163	192	25	17	26	25
P 11	205	208	189	276	53	60	114	93	26	38	25	40
P 12	225	216	150	296	60	38	135	119	27	23	20	17
P 13	247	249	160	254	34	45	181	154	20	23	28	24
P 14	334	297	158	108	62	65	240	210	23	22	22	19
P 15	192	186	102	104	32	34	140	131	26	25	22	18
Mean	233.0	233.4	192.6	222.0	52.7	56.7	143.4	132.3	25.8	27.4	30.7	32.9
S.E.	3.2	3.3	8.0	6.8	1.4	1.0	3.6	3.2	0.8	1.2	2.0	2.6

N.D. = no data

ตารางที่ 2 ผลของนมผึ้งต่อน้ำหนักและความดันโลหิต

วันที่	น้ำหนักตัว (กก.)		ความดันโลหิต (มม.ปรอท)			
			Systolic		Diastolic	
	0	90	0	90	0	90
1. กลุ่มที่ได้รับนมผึ้งจริง						
R 1	125.0	124.5	140	130	80	80
R 2	57.5	58.5	ND	ND	ND	ND
R 3	81.0	83.0	140	140	70	100
R 4	48.5	49.3	100	110	60	60
R 5	59.0	58.5	140	120	70	80
R 6	80.5	80.5	110	120	70	80
R 7	52.5	53.5	110	120	70	80
R 8	72.2	69.0	140	110	80	70
R 10	56.5	56.5	160	160	80	80
R 11	64.5	63.3	160	140	90	80
R 12	75.0	73.6	110	110	70	70
R 13	72.2	73.7	120	130	80	90
Mean	69.8	69.8	130.8	126.7	75.0	79.2
S.E.	1.6	1.6	1.8	1.3	0.7	0.9
2. กลุ่มที่ได้รับนมผึ้งหลอก						
P 2	55.7	57.0	110	120	60	80
P 3	67.5	66.0	140	100	80	60
P 4	51.5	51.0	120	120	80	80
P 5	56.0	58.0	110	100	60	60
P 6	63.0	63.5	110	100	60	60
P 7	53.0	53.4	ND	ND	ND	ND
P 8	75.0	75.0	120	120	80	80
P 9	57.0	57.0	ND	ND	ND	ND
P 10	67.2	67.0	120	130	80	80
P 11	62.0	62.0	ND	ND	ND	ND
P 12	58.0	59.0	120	130	70	80
P 13	49.5	49.3	110	100	60	60
P 14	59.5	57.6	170	130	110	80
P 15	60.0	58.5	ND	ND	ND	ND
Mean	59.6	58.3	123.0	115.0	74.0	72.0
S.E.	0.5	0.6	2.0	1.4	1.7	1.1

N.D. = no data

จากการซักถามถึงอาการต่าง ๆ เช่น ความอ่อนเพลีย อาการชาตามปลายมือปลายเท้า การลุกปัสสาวะตอน กลางคืน อาการบวม อารมณ์ สายตา และความอยากอาหารหลังจากได้รับนมผงเป็นเวลา 90 วัน พบว่าไม่มีความแตกต่างระหว่างก่อนและหลังการให้นมผงทั้งในกลุ่มที่ได้รับนมผงจริงและนมผงหลอก แต่เมื่อถามถึงความรู้สึกต่อสุขภาพโดยทั่ว ๆ ไปหลังจากได้รับนมผง ผู้ป่วยที่ได้รับนมผงจริงบอกว่ามีการเปลี่ยนแปลงไปในทางที่ดีขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) โดยผู้ป่วยที่ได้รับนมผงจริงทั้งหมด 10 คน ตอบว่าดีขึ้น 7 คน ไม่เปลี่ยนแปลง 3 คน และไม่มีใครตอบว่าแย่ลง สำหรับผู้ป่วยที่ได้รับนมผงหลอกจำนวน 9 คน บอกว่าดีขึ้น 2 คน และไม่เปลี่ยนแปลง 7 คน

3. ผลของนมผงต่ออาการข้างเคียง

อาการข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้นเนื่องจากการใช้นมผงได้แก่อาการแพ้ เช่น การเกิดผื่นคัน อาการทางเดินหายใจ และ ผลต่อหัวใจ และการเกิดพิษต่อตับและไต ตลอดจนการศึกษาไม่พบอาการข้างเคียงเหล่านี้เกิดขึ้น ทั้งในผู้ป่วยที่ได้รับนมผงจริงและผู้ป่วยที่ได้รับนมผงหลอก

วิเคราะห์ข้อมูล

การศึกษาผลการออกฤทธิ์ของนมผงในผู้ป่วยเบาหวานครั้งนี้ เป็นการศึกษาในผู้ป่วยเบาหวานที่เป็นเบาหวานชนิดไม่พึ่งอินซูลิน (NIDDM) เพราะเป็นชนิดที่พบได้บ่อย สามารถเลือกผู้ป่วยให้มีลักษณะทางสรีระและพยาธิสภาพของโรคใกล้เคียงกันได้ง่าย ได้ทำการศึกษาโดยการจัดยาให้ผู้ป่วยรับประทานทุกวันและนัดมาพบแพทย์เพื่อทำการติดตามและประเมินผลการรักษาทุก 30 วัน เป็นเวลาทั้งสิ้น 90 วัน เมื่อครบกำหนดสามารถติดตามผู้ป่วยที่ได้รับนมผงจริง 13 คน ได้รับนมผงหลอก 14 คน ผลการศึกษาชี้ว่านมผงไม่สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดของผู้ป่วยเหล่านี้ได้ และข้อมูลจากการตรวจร่างกายและการตรวจเลือดและปัสสาวะทางห้องปฏิบัติการแสดงให้เห็นว่า นมผงไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีระ และ ทางชีวเคมีของเลือดและ

ปัสสาวะ ซึ่งผลเหล่านี้ไม่เป็นไปตามการศึกษาในสัตว์ทดลองของนักวิทยาศาสตร์ที่ผ่านมา^(4, 5, 7) ทั้งนี้อาจเนื่องจากใช้แบบจำลองต่างกัน แต่ข้อมูลที่ได้จากการซักถามชี้ว่านมผงทำให้ผู้ป่วยรู้สึกสุขสบายขึ้น ถึงแม้ว่าอาการที่เกี่ยวข้องกับโรคโดยตรงไม่เปลี่ยนแปลง ซึ่งตรงกับผลงานของ Peichev¹¹ ที่ศึกษาผลของนมผงในผู้สูงอายุ พบว่าหลังจากให้นมผง 1 เดือน ผู้สูงอายุเหล่านั้นมีความรู้สึกดีขึ้นกว่าเดิม โดยที่ปริมาณเม็ดเลือดขาวและเม็ดเลือดแดง และระดับความเข้มข้นของฮีโมโกลบินไม่เปลี่ยนแปลง เมื่อพิจารณาถึงอาการข้างเคียงที่อาจจะเกิดขึ้น จะเห็นว่าการใช้นมผงในขนาด 350 มิลลิกรัมมีความปลอดภัย จากผลการทดลองเหล่านี้แสดงให้เห็นว่านมผงอาจจะมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่มีประโยชน์ต่อผู้ป่วยเบาหวานบ้าง ถึงแม้จะยังไม่สามารถอธิบายถึงกลไกการออกฤทธิ์ของนมผงได้ และคงจะไม่ใช่ psychological effect เพราะไม่ได้เกิดขึ้นในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับนมผงหลอก จากการศึกษาของนักวิทยาศาสตร์ที่ผ่านมาจึงไม่มีการรายงานถึงกลไกการออกฤทธิ์ของนมผงในการทำให้เกิดฤทธิ์ต่าง ๆ อย่างชัดเจน นอกจากรายงานของ Mozherenkon และ Agafonov¹⁰ ที่ได้เสนอว่านมผงมีฤทธิ์คล้ายเป็นตัวกระตุ้นทางชีวภาพตัวหนึ่ง และ Ardry⁷ ได้ สรุปว่านมผงมีผลต่อร่างกายเนื่องจากกระตุ้นต่อมหมวกไต จึงเป็นหน้าที่ของนักวิทยาศาสตร์ที่จะต้องทำการศึกษาต่อไป เนื่องจากนมผงที่มีขายตามท้องตลาดมีราคาค่อนข้างแพงเมื่อเปรียบเทียบกับฐานะทางเศรษฐกิจของผู้ป่วยส่วนใหญ่ ดังนั้นการพิจารณาให้ผู้ป่วยเบาหวานรับประทานนมผงควรได้มีการศึกษาและมีหลักฐานทางวิทยาศาสตร์มากพอ การศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของนมผงจะช่วยให้สามารถตัดสินใจในการเลือกใช้นมผงในวงการแพทย์ได้ดียิ่งขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

คณะวิจัยขอขอบพระคุณนายแพทย์ปิตินันท์ ญัฐ-รุจิโรจน์ หัวหน้าสาขาอายุรกรรม นายแพทย์ไพบุลย์ ไซตินพรัตน์ทร แพทย์ประจำคลินิกต่อมไร้ท่อ คุณวิไล

องค์ยา และคุณปียวรรณ ศุภศิริรัตน์ พยาบาลประจำ
คลินิกต่อมไร้ท่อ โรงพยาบาลวชิรพยาบาล ที่กรุณาให้
ความสนับสนุนและความร่วมมือในการเก็บรวบรวม
ข้อมูล บริษัทวีนลีฟวิ่งโปรดักส์ ที่เอื้อเฟื้อผลิตภัณฑ์
สำเร็จรูปนมผึ้งและนมผึ้งหลอกสำหรับใช้ในการวิจัยครั้งนี้
และขอขอบคุณฝ่ายวิจัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ที่ได้ให้ทุนอุดหนุนในการทำวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. กอบชัย พัวพิไล. การรักษาโรคต่อมไร้ท่อในผู้ใหญ่
ด้วยยา. กรุงเทพฯ:ยูนิทัสพับลิเคชั่น, 2530.
2. วิฑิต วัฒนาวินบูล. อาหารสมุนไพรร : ผึ้ง (นมผึ้ง-
รอยัลเยลลี่). หมอชาวบ้าน, 2531; 10 (109) :
52-53.
3. วิฑิต วัฒนาวินบูล. อาหารสมุนไพรร : ผึ้ง (นมผึ้ง-
รอยัลเยลลี่). หมอชาวบ้าน, 2531; 10 (110) :
52-53.
4. วิฑิต วัฒนาวินบูล. อาหารสมุนไพรร : ผึ้ง (นมผึ้ง-
รอยัลเยลลี่). หมอชาวบ้าน, 2531; 10 (111) :
52-53.
5. วิฑิต วัฒนาวินบูล. อาหารสมุนไพรร : ผึ้ง (นมผึ้ง-
รอยัลเยลลี่). หมอชาวบ้าน, 2531; 10 (112) :
50-51.
6. วรณี นิธิยานันท์, อภิชาติ วิษณุวรรตน์ และ
สาธิต วรรณแสง. เบาหวานในเวชปฏิบัติ (Diabetes
in practice), 2530.
7. สุภาภรณ์ พงศกร. เกร็ดความรู้: Royal Jelly
(นมผึ้ง). ไกล่หมอ, 2531; กรกฎาคม: 72-73.
8. Dayan AD. "A note on royal jelly a critical
evaluation." J Pharm Pharmacol 1960;
12: 377-383.
9. Fossati C. "Therapeutic possibilities of
royal jelly." Clin Ther 1972; 62: 377-387.
10. Mozherenkov VP et al. "Therapeutic use
of bee royal jelly." Feldsher Akush 1983;
48: 63-64.
11. Peichev P. "Synergistic and antagonistic
effects of royal jelly and some medica-
ments." Folia Medica 1966; 8: 77-82.
12. Sanguanserm Sri J and Vasuvat C. "Effect
of royal jelly on blood transfusion depen-
dent homozygous beta-thalassemia." (1988) 11th International Congress on
Agricultural Medicine and Rural Health,
Beijing, China p. 90.
13. Sutachit S. "Royal Jelly". In Pharmacog-
nosy II. Herbs and Health Foods. 1983 :
16-17.
14. Townsend GF and Lucas CC. "The chemical
nature of royal jelly." Biochem J 1940;
34: 1155-1162.

**การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของเคอร์ซีทิน
(Quercetin) ซึ่งพบในใบฝรั่ง (Psidium guajava,
Myrtaceae) ต่อการหดตัวของลำไส้เล็กของหนูขาว
และหนูตะเภา**

อัมพวัน อภิสริยะกุล, นุชนาฏ ชัยชนะ และ วิลาสินี อยู่สุข
ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

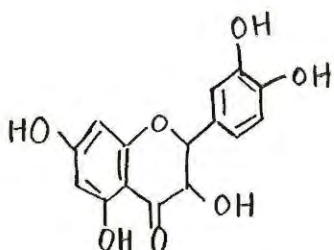
***The Pharmacological Effect of Quercetin Isolated
from the leaves of Psidium Guajava (Myrtaceae) on
Isolated Rat and Guinea-pig Ileum Preparation***

*Amphawan Apisariyakul, Nuchanart Chaichana and Wilasinee Yousukh Department
of Pharmacology, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand*

Quercetin, 3,3,4,5,7-pentahydroxyflavone, a compound of yellow powder extracted from natural sources such as the leaves of Psidium guajava (Myrtaceae) exerted an inhibition of the smooth muscle contraction induced by acetylcholine, serotonin, histamine and barium chloride on isolated guinea-pig ileum preparation. It was shown that quercetin could inhibit ileal contraction induced by spasmogens with different pharmacological mechanisms and produced the inhibition of acetylcholine much more than that of serotonin, histamine and barium chloride. Therefore, the results suggested that quercetin exerts its anticholinergic properties on isolated smooth muscle preparation.

สารที่สกัดได้จากพืชธรรมชาติที่มีผลต่อการทำงานของลำไส้เล็กนั้น เราจะพบสารฟลาโวนอยด์ชนิดหนึ่งคือ สารเคอร์ซีทิน ซึ่งสามารถพบได้ในใบและกลีบดอกของพืช โดย Lutterodt และ Maleque (1988) ได้รายงาน ว่าพบสารเคอร์ซีทินในใบฝรั่ง (Psidium guajava, Myrtaceae)⁽¹⁾ สำหรับในประเทศไทยได้มีการนำน้ำ ที่สกัดจากใบฝรั่งมาใช้รักษาอาการท้องเสีย ซึ่งสามารถ บรรเทาอาการได้ สารเคอร์ซีทินเป็นสารที่มีฟีนอลเป็นส่วนประกอบ จะปรากฏสีเหลืองชัดเจนบนกระดาษเมื่อ

ส่องด้วยแสง UV แยกจากสารฟลาโวนอยด์ชนิดอื่นโดย Forestal chromatograms (ค่า $R_f=41$) และสามารถแยกได้เด่นชัดโดยใช้ UV spectroscopy และ microdegradation ด้วยค่า จุดหลอมเหลวของสาร เคอร์ซีทินนี้ค่อนข้างสูง (280-357°C) สารเคอร์ซีทิน ที่ใช้ในการทดลองนี้เป็น ผงสีเหลือง ไม่ละลายน้ำ สูตร โครงสร้างคือ 3,3',4,5,7- pentahydroxyflavone ($C_{15}H_{10}O_7 \cdot 2H_2O$) สูตรโครงสร้างของสารเคอร์ซีทิน แสดงดังรูปที่ 1 น้ำหนักโมเลกุล = 338.3 กรัม



รูปที่ 1. แสดงสูตรโครงสร้างของสารเคอร์ซิทีน

ได้มีการศึกษาส่วนของ ileum ของหนูตะเภาที่แยกออกมานั้นพบว่า สารเคอร์ซิทีนและสารฟลาโวนอยด์บางชนิด สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อด้วย ACh, barium chloride, leukotriene B₄ และ prostaglandin E₂ ได้⁽²⁻⁵⁾ และการยับยั้งนี้พบว่าเสริมฤทธิ์กับ verapamil (Calcium channel blocker) จึงคาดว่ามีการใกล้เคียงกับแคลเซียมในการเกิดผลการยับยั้ง สารเคอร์ซิทีนยังเป็นตัวยับยั้งชนิด reversible ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อ phasic และ tonic ของ ileum ของหนูตะเภาที่ถูกกระตุ้นให้หดตัวด้วย ACh, prostaglandin E₂ และ antigen⁽⁶⁾ แต่ Lutterodt (1989) พบว่าสารเคอร์ซิทีนที่สกัดได้จากใบของ Psidium guajava นั้นมีการออกฤทธิ์ยับยั้งการหลั่ง ACh ในการทดลองเมื่อกระตุ้นส่วนของ ileum ของหนูตะเภาด้วยไฟฟ้า⁽⁷⁾

ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการวิจัยครั้งนี้ เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสกัดจากใบฝรั่งและสารเคอร์ซิทีนต่อการหดตัวของลำไส้เล็กของหนูขาวและหนูตะเภานอกตัวสัตว์ทดลอง รวมทั้งศึกษากลไกการออกฤทธิ์ที่อาจเป็นไปได้

วิธีการทดลอง

ในการวิจัยครั้งนี้ ใช้หนูขาวพันธุ์ Sprague Dawley ไม่จำกัดเพศ น้ำหนักประมาณ 200-300 กรัม และหนูตะเภา ไม่จำกัดเพศ น้ำหนักประมาณ 300-400 กรัม

การเตรียมส่วนของลำไส้เล็กของหนูทดลอง (isolated ileum) เพื่อบันทึกการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ

วิธีการเตรียมส่วนของลำไส้เล็กของหนูทดลองเพื่อบันทึกการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบนี้ดัดแปลงมาจากการของ Perry (1970) นำหนูทดลองมาอดอาหารหนึ่งคืนก่อนทำการทดลอง จากนั้นทำการผ่าตัดช่องท้องแยกลำไส้เล็กส่วนของ ileum ออกมาประมาณ 10-15 เซนติเมตร รับประทานส่วนของ ileum ที่ได้ใส่ในภาชนะแก้วที่มีน้ำยา Tyrode และออกซิเจนอยู่ ตัดส่วนของ ileum ออกเป็นท่อนๆ ท่อนละประมาณ 2 เซนติเมตร นำส่วนของ ileum ที่ได้มาใส่ใน tissue bath ที่บรรจุน้ำยา Tyrode และออกซิเจนอยู่ ควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ที่ 32 องศาเซลเซียส ด้วย thermoregulator ผูกส่วนของ ileum เข้ากับ force displacement transducer FT-03C เพื่อบันทึกการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบด้วย Grass 7D polygraph ก่อนเริ่มทำการทดลองแต่ละครั้งปรับความตึงตัว (tension) ของกล้ามเนื้อ ileum ให้ได้ 1 กรัม บันทึกการยับยั้งของสารเคอร์ซิทีนต่อกล้ามเนื้อเรียบโดย ให้สารเคอร์ซิทีน 1 นาที่ก่อนให้ตัวกระตุ้น (spasmogen) ต่าง ๆ สำหรับตัวกระตุ้นต่าง ๆ ที่ใช้ในการทดลองนี้คือ acetylcholine, barium chloride, serotonin และ histamine เพื่อศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของสารเคอร์ซิทีน

การวิเคราะห์ข้อมูลและการใช้สถิติเพื่อทดสอบข้อมูล

ความสูง (amplitude) ของการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ ที่เกิดจากการกระตุ้นโดยใช้ตัวกระตุ้นต่าง ๆ ที่เปลี่ยนแปลงไปจากเดิม จะแสดงให้เห็นโดยคิดเป็นร้อยละดังนี้

ร้อยละของการลดความสูงของการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ

$$= \frac{[\text{control-response}]}{\text{control}} \times 100$$

ค่าเฉลี่ยของข้อมูลจะแสดงในรูปของ ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าความผิดพลาดมาตรฐาน (mean $\pm$ S.E.) การหาความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างค่าเฉลี่ยสองค่า ใช้การทดสอบแบบ student "t" test โดยกำหนดค่าความเชื่อมั่นที่ 95% ($p < 0.05$) และ ที่ 99% ($p < 0.01$)

ผลการทดลอง

เมื่อทำการทดลองขั้นต้นโดยใช้สารสกัด (crude extract) ของใบฝรั่ง พบว่า สารสกัดที่สกัดด้วย Methanol (PM) สามารถยับยั้งการออกฤทธิ์ของ acetylcholine เป็น dose-related คล้ายกับ atropine ดังแสดงในรูปที่ 2. ใน ลำไส้เล็กของหนูขาวที่แยกออกมาศึกษาในตัวสัตว์ทดลอง แสดงว่า PM มี anticholinergic effect ส่วนสารสกัดด้วย Hexane (PH) ก็สามารถลดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่เกิดจาก acetylcholine ได้เช่นเดียวกัน

ในการทดลองนี้จะศึกษาฤทธิ์ของสารเคอร์ซีทีนต่อการหดตัวของลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูทดลองที่แยกออกมาทดลองเมื่อถูกกระตุ้นด้วยตัวกระตุ้นต่าง ๆ กัน

สำหรับตัวกระตุ้นแต่ละตัวนั้นคือ acetylcholine, barium chloride, histamine และ serotonin จะใช้ความเข้มข้นที่ทำให้ ileum หดตัวได้เท่า ๆ กัน คือ 1.1×10^{-6} , 8.2×10^{-6} , 9.0×10^{-7} และ 1.3×10^{-8} ตามลำดับ หยดสารเคอร์ซีทีนในขนาด 3.7×10^{-5} - 2.4×10^{-3} M ลงใน tissue bath เป็นเวลา 1 นาที ก่อนให้ตัวกระตุ้นแต่ละตัว พบว่า สารเคอร์ซีทีนสามารถยับยั้งการหดตัวของ ileum ที่เกิดจากตัวกระตุ้นแต่ละตัวได้ ดังแสดงในตารางที่ 1. และรูปที่ 3. และสารเคอร์ซีทีนนี้มีความแรงในการยับยั้งการหดตัวของ ileum ที่เกิดจาก ACh สูงสุด เมื่อหาความสัมพันธ์ระหว่าง ขนาดของสารเคอร์ซีทีน และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัวของ ileum ที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย acetylcholine, barium chloride, histamine และ serotonin พบว่าเมื่อให้สารเคอร์ซีทีนในขนาดที่สูงขึ้นจะมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งมากขึ้นตามด้วย ดังแสดงในรูปของ dose-response regression lines (รูปที่ 4.) และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) คือ 0.9909, 0.9882, 0.9707 และ 0.9859 ตามลำดับ

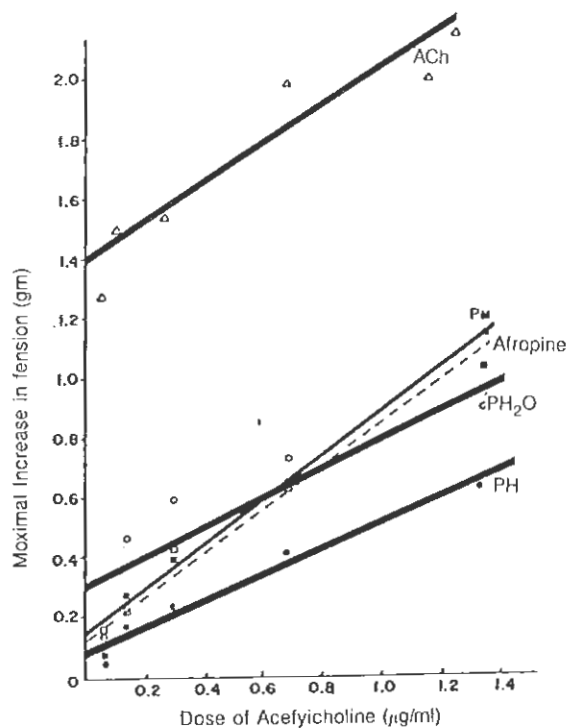
ตารางที่ 1. แสดงการเปรียบเทียบผลการยับยั้งของสารเคอร์ซีทีนต่อการหดตัวของ ileum ที่ถูกกระตุ้นด้วย acetylcholine (ACh), barium chloride (BaCl_2), histamine (HA) และ serotonin (5-HT) โดยใช้กล้ามเนื้อ ileum ของหนูตะเภาที่แยกออกมาศึกษา

ขนาดของ สารเคอร์ซีทีน (โมลาร์)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหดตัวของ ileum ที่ถูกกระตุ้นด้วย			
	ACh ($1.1 \times 10^{-6}\text{M}$)	BaCl_2 ($8.2 \times 10^{-6}\text{M}$)	HA ($9.0 \times 10^{-7}\text{M}$)	5-HT ($1.3 \times 10^{-8}\text{M}$)
3.7×10^{-5}	$43.1 \pm 2.0^{**}$	ND	ND	ND
7.5×10^{-5}	$60.1 \pm 6.0^{**}$	$35.8 \pm 9.7^*$	ND	ND
1.5×10^{-4}	$68.5 \pm 3.9^{**}$	$59.5 \pm 13.2^*$	$42.5 \pm 3.3^{**}$	ND
3.0×10^{-4}	$83.2 \pm 2.2^{**}$	$82.1 \pm 4.1^{**}$	$67.5 \pm 4.6^{**}$	$38.2 \pm 5.2^{**}$
6.0×10^{-4}	ND	$93.1 \pm 1.1^{**}$	$88.7 \pm 1.8^{**}$	$63.4 \pm 9.1^{**}$
1.2×10^{-3}	ND	ND	$94.7 \pm 1.4^{**}$	$78.2 \pm 6.3^{**}$
2.4×10^{-3}	ND	ND	ND	$90.7 \pm 3.6^{**}$

ND : Not determined

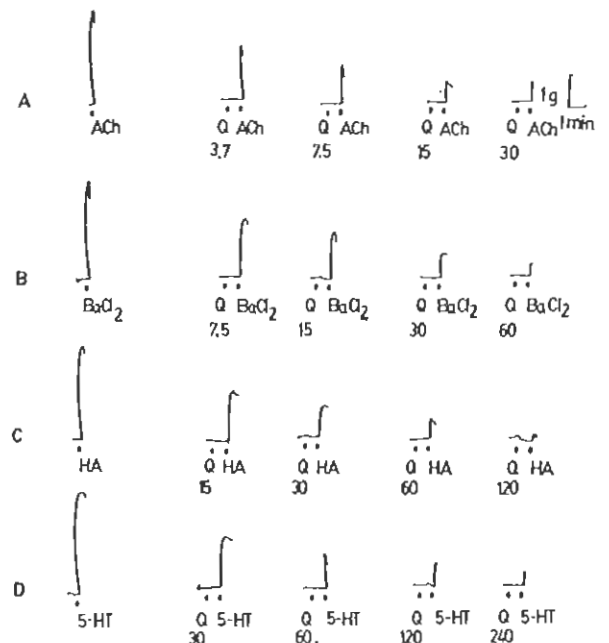
ข้อมูลแสดงเป็น ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าความผิดพลาดมาตรฐาน ($n = 5$)

*, ** ค่าแตกต่างจาก control อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$, $p < 0.01$)



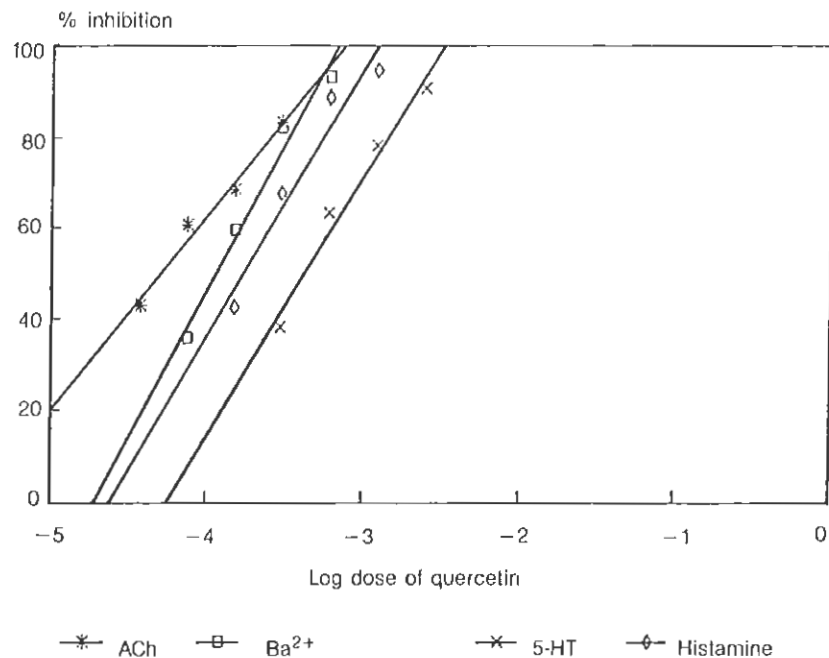
รูปที่ 2. แสดง dose-response regression line ของสารสกัดจากใบฝรั่ง (*Psidium guajava*) ต่อลำไส้เล็กของหนูขาวที่แยกออกมาศึกษา นอกตัวสัตว์ทดลอง

PM : สารสกัดที่สกัดจาก methanol
 PH₂O : สารสกัดที่สกัดจาก น้ำ
 PH : สารสกัดที่สกัดจาก hexane



รูปที่ 3. แสดงการยับยั้งของสารเคอร์ซีทีนต่อการหดตัวของ ileum ที่ถูกกระตุ้นด้วย acetylcholine (ACh), barium chloride (BaCl₂), histamine (HA) และ serotonin (5-HT) โดยใช้กล้ามเนื้อ ileum ของหนูตะเภาที่แยกออกมาศึกษา

A : สารเคอร์ซีทีน ($3.7-30 \times 10^{-6} M$) สามารถยับยั้งการหดตัวของ ileum ที่เกิดจาก ACh ($1.1 \times 10^{-6} M$) ได้
 B : สารเคอร์ซีทีน ($7.5-60 \times 10^{-6} M$) สามารถยับยั้งการหดตัวของ ileum ที่เกิดจาก barium chloride ($8.2 \times 10^{-6} M$) ได้
 C : สารเคอร์ซีทีน ($15-120 \times 10^{-6} M$) สามารถยับยั้งการหดตัวของ ileum ที่เกิดจาก histamine ($9.0 \times 10^{-6} M$) ได้
 D : สารเคอร์ซีทีน ($30-240 \times 10^{-6} M$) สามารถยับยั้งการหดตัวของ ileum ที่เกิดจาก 5-HT ($1.3 \times 10^{-6} M$) ได้



รูปที่ 4. แสดงการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารเคอร์ซีทินต่อการหดตัวของ ileum ที่ถูกกระตุ้นด้วย acetylcholine (ACh), barium chloride (Ba^{2+}), histamine และ 5-HT โดยใช้กล้ามเนื้อ ileum ของหนูตะเภาที่แยกออกมาศึกษา ซึ่งแสดงในรูปของ log dose regression-lines

สรุปและวิจารณ์ผล

จากผลการทดลองนี้จะเห็นได้ว่า สารเคอร์ซีทิน มีผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่ถูก กระตุ้นด้วยตัวกระตุ้นต่าง ๆ กัน โดยใช้ส่วนของ ileum ของหนูตะเภา ซึ่งตัวกระตุ้นที่ใช้คือ ACh, barium chloride, histamine และ 5-HT เป็นที่ทราบกันดีแล้วว่า ACh ออกฤทธิ์โดยจับกับ M_3 -receptor บนผิวของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบของ ileum ของหนูตะเภา จากนั้นกระตุ้น phosphoinositide hydrolysis ทำให้เกิดการหลั่ง Ca^{2+} ออกจาก internal membrane ส่งผลให้ กล้ามเนื้อเรียบหดตัว⁽⁸⁾ ส่วน barium chloride ออกฤทธิ์กระตุ้นโดยตรงต่อ contractile proteins โดยการไปจับกับ calmodulin กลายเป็น Ba^{2+} -calmodulin complex ซึ่งจะไปกระตุ้น myosin light chain kinase ส่งผลให้กล้ามเนื้อเรียบหดตัว^(9,10) สำหรับกลไกของ histamine นั้น จะไปกระตุ้น H_1 -receptor บนผิวกล้ามเนื้อเรียบ

หรือ H_2 -receptor บน myenteric plexus ทำให้ กล้ามเนื้อเรียบหดตัว^(11, 12) ส่วน 5-HT ออกฤทธิ์ผ่าน D-receptor หรือ $5-HT_2$ -receptor บนเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ⁽¹³⁾ และ ยังสามารถออกฤทธิ์ผ่าน M-receptor หรือ $5-HT_3$ -receptor บน myenteric plexus ซึ่ง ทำให้กล้ามเนื้อเรียบหดตัว⁽¹⁴⁻¹⁶⁾ จากการทดลองนี้พบว่า สารเคอร์ซีทินมีฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวของ ileum ที่เกิดจากตัวกระตุ้นแต่ละตัวที่ใช้ในการทดลอง ซึ่งผลนี้ตรงกับรายงานที่กล่าวมาข้างต้น จากการศึกษานี้อาจสรุปได้ว่า สารเคอร์ซีทินมีผลยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบด้วยกลไกหลายกลไก อย่างไรก็ตาม สารเคอร์ซีทินให้ผลในการยับยั้งการหดตัวของ ileum ที่เกิดจาก ACh มากที่สุด นั่นคือ สารเคอร์ซีทินมีกลไกในการออกฤทธิ์ผ่าน M_3 -receptor ของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบของ ileum ของหนูตะเภาด้วย จากการวิจัยนี้พบว่า สารสกัดจากใบฝรั่งมี anticholinergic effect ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของหนูขาว สามารถยับยั้งการหดตัวที่เกิดจาก

acetylcholine ในกล้ามเนื้อเรียบของลำไส้เล็กของหนูตะเภาด้วย ดังนั้นอาจเป็นไปได้ที่ว่า สารเคอร์ซีทีนอาจนำไปใช้ประโยชน์ในการบรรเทาอาการท้องเดินได้

คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยนี้ขอขอบคุณ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ได้ให้ทุนอุดหนุนการวิจัยจนเสร็จเรียบร้อย ขอขอบคุณหัวหน้าภาควิชาเภสัชวิทยา ที่ให้การสนับสนุนการวิจัยนี้และขอขอบคุณหน่วยสัตวทดลอง คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ได้ช่วยเหลืองานด้านสัตวทดลอง

References

- Lutterodt, G.D. and Malegue, A.: Effects on locomotor activity in mice of narcotic-like principle from *Psidium guajava* leaves. J. Ethnopharmacol 1988; 24:219-231.
- Middleton, E. The Flavonoids. Trends in Biological Science, 5:335-338, 1984.
- Abdalla, S.S. and Abu Zarga, M.H. : Effects of cirsimaritin, a flavone isolated from *Artemisia judaica*, on isolated guinea pig ileum. Planta Medica 1987; 53:322-324.
- Capasso, F. Pinto, A. Mascolo, N. Autore, G. and Franco, F.P. : Effects of flavonoids on PEG₂- and LTD₄-induced contractions of the guinea-pig ileum. Pharmacol Res Commun 1988, 20:201-202.
- Capasso, A. Pinto, A. Mascolo, N. Autore, G. and Capasso F. : Reduction of agonist-induced contractions of the guinea-pig isolated ileum by flavonoids. Phytotherapy Research. 1991; 5:85-87.
- Macander, P. : Flavonoids affect acetylcholine, prostaglandin E₂ and antigen-mediated smooth muscle contraction. Prog. Clin. Biol. Res 1986; 213:489-492.
- Lutterodt, G.D. : Unhibition of gastrointestinal release of acetylcholine by quercetin as a possible mode of action of *Psidium guajava* leaf extracts in the treatment of acute diarrheal disease. J. Ethnopharmacol. 1989; 25:235-247.
- Ashkenazi, A. Peralta, E.G. Winslow, J.W., Ramachandran, J. and Capon, J. : Functional diversity of muscarinic receptor subtypes in cellular signal transduction and growth. Trends Pharmacol Sciences Suppl Dec 1989; 16-22.
- Nasu, T. and Urakawa, N. : Effect of cholinergic drugs on calcium movement in guinea-pig taenia coli. Japanese J Pharmacol 1973; 24:467-473.
- Somlyo, A.V. and Somlyo, A.P. : Strontium accumulation by sarcoplasmic reticulum and mitochondria in vascular smooth muscle. Science 1971; 174:954-958.
- Bareicha, I. and Silva, M.R.E. : Occurrence of H₂-receptors for histamine in the guinea pig intestine. Biochem Pharmacol 1975; 24:1215-1219.
- Barker, L.A. and Ebersole, B.J. : Histamine H₂-receptors on guinea-pig ileum myenteric plexus neurones mediate the release of contractile agents. J Pharmacol Exp Ther 1982; 221:69-75.
- Gaddum, J.H. and Picarelli, Z.P. : Two kinds of tryptamine receptor. Br J Pharmacol 1957; 12:323-328.
- Costa, M. and Furness, J.B. : The site of action of 5-hydroxytryptamine in nerve-muscle preparations from the guinea-pig small intestine and colon. Br J Pharmacol 1979; 65:237-248.
- Wood, J.D. and Mayer, C.J. : Serotonergic activation of tonic type enteric neurons in guinea-pig small bowel. J Neurophysiol 1979; 42:582-593.
- Saxena, P.R. Richardson, B.P. Mylecharane, E.J. Middlemiss, D.N. Humphrey, P.P.A. Fozard, J.R. Feniuk, W. Engel G. and Bradley, P.B. : Functional receptors for 5-hydroxytryptamine. Trends Pharmacol sciences 1986; 7.

ANTAGONISM BY PHENTOLAMINE AND YOHIMBINE NOT HYDRALAZINE ON NORADRENALINE-INDUCED HYPERTENSION IN RAT

Prasert Songkittiguna and Giatbungon Jindagul

Department of Pharmacology,
Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University,
Bangkok 10330, Thailand

Noradrenaline (10 µg, IV) increases blood pressure of anaesthetized rats with little effect on heart rate. Pretreatment of the rat with hydralazine (2 mg/kg IV) could not inhibit the noradrenaline-induced hypertension in the rats. Both phentolamine (2 mg/kg IV) and yohimbine (0.25 mg/kg IV) not only reduce the blood pressure of anaesthetized rats significantly ($p < 0.05$) but also inhibits the hypertensive effect of noradrenaline (10 µg, IV). Phentolamine (2 mg/kg IV), neither hydralazine nor yohimbine pretreatment, significantly decreased the heart rate of the anaesthetized rats ($p < 0.05$) from the predrug value. The findings suggest, therefore, that hydralazine is not suitable for the treatment of noradrenaline-induced hypertension.

Gross and coworkers have shown since 1950 that hydralazine is the most effective antihypertensive agent of the derivatives. Hydralazine has been used widely to treat hypertension that occurs during pregnancy. Parenteral administration of hydralazine has also been used for the treatment of hypertensive emergencies (Gerber and Nies, 1991). There has been no report on the effects of hydralazine on noradrenaline-induced hypertension in rat. Therefore, the comparative study on the antagonistic effect of phentolamine, yohimbine and hydralazine on the noradrenaline-induced hypertension in anaesthetized rat is carried out with a view to shed some more indication of hydralazine on antihypertensive treatment.

MATERIALS AND METHODS

Wistar rats of either sex weighing 250-300 g were anaesthetized with urethane

(10 mg/kg). Urethane 25% in normal saline solution was injected intraperitoneally. The trachea was cannulated to maintain the animal on positive pressure ventilation in order to avoid any complicating effects of respiration. The blood pressure was recorded directly from carotid artery on a Grass Polygraph Model 79 (FT03). The heart rate was recorded from tachometer. The freshly-prepared hydralazine (2 mg/kg) in normal saline solution was injected into the femoral vein. Phentolamine hydrochloride, yohimbine also freshly-prepared in normal saline solution. The amount of each drug injection should not exceed 1 ml. Noradrenaline was also prepared before use, it was mixed with antioxidant (ascorbic acid) and immersed in ice throughout the experiments. Noradrenaline (10 µg) was injected intravenously; the blood pressure and heart rate were recorded for 15 min. After the action of noradrenaline wore off, the blood pressure and heart rate had reached the

Group	changes of mean blood pressure (%) and heart rate in the parentheses Standard error of mean (s.e.m)				N
	Noradrenaline alone (10 μ g)	Noradrenaline 10 μ g after			
		Yohimbine (0.25 mg/kg)	Phentolamine (2 mg/kg)	Hydralazine (2 mg/kg)	
1.	64.9 $\pm$ 5.0	72.8 $\pm$ 6.9	-	-	7
2.	71.5 $\pm$ 6.9	(-1.4 $\pm$	30.8 $\pm$ 6.4	-	6
3.	64.0 $\pm$ 4.9	(2.3 $\pm$ 1.1)	105.9 $\pm$ 8.6	7 (-7.2 $\pm$ 5.9)	

Table 1. The percent changes of mean blood pressure and heart rate produced by noradrenaline alone and by noradrenaline after yohimbine or phentolamine or hydralazine. N = number of experiments

equilibrium, hydralazine 2 mg/kg IV was introduced the blood pressure and heart rate were recorded for 30 min, then 10 μ g of noradrenaline was injected intravenously. The blood pressure and heart rate was recorded for 30 min. The same procedure was performed using phentolamine (2 mg/kg IV) or yohimbine (0.25 mg/kg IV) in the place of hydralazine. The experiments were performed in separate experiments. Noradrenaline (10 μ g IV) was injected before and after phentolamine or yohimbine, then blood pressure and heart rate were recorded for 30 min. statistical analysis of results

One way analysis of variance was performed on a group data followed by the use of paired or unpaired Student's t-test (where appropriate).

Drugs

Hydralazine hydrochloride (Ciba-Geigy); phentolamine hydrochloride (Ciba-Geigy); yohimbine (Sigma); urethane (May & Baker); (+) noradrenaline hydrochloride (Sigma).

RESULTS

In the first group of seven rats, when noradrenaline (10 μ g, IV) was given, the mean

blood pressure was risen to 64.9% (s.e.m. 5.0) of the predrug value. Prior to the same amount of noradrenaline was given, hohimbic (0.25 mg/kg, IV) had been introduced, the percentage rise in mean blood pressure was 72.8 (s.e.m. 6.9) whereas the heart rate was depressed 1.4% (s.e.m. 0.5). The second group of six rats, noradrenaline (10 μ g) alone raised the mean blood pressure to 71.5% (s.e.m. 6.9). After phentolamine (2 mg/kg, IV), noradrenaline (10 μ g) raised the mean blood pressure to 30.8% (s.e.m. 6.4) while the heart rate was 2.3% (s.e.m. 1.1). In the third group of seven rats, noradrenaline by itself increased the mean blood pressure to 64.0% (s.e.m. 4.9). After hydralazine (2 mg/kg, IV), noradrenaline (10 μ g) increased the mean blood pressure up to 105.9% (s.e.m. 8.6) and the heart rate was depressed 7.2% (s.e.m. 5.9).

DISCUSSION

As mentioned in the introduction, no evidence that hydralazine affects membrane channels or cGMP as has been reported for other vasodilator (Weiss, et al., 1990). Furthermore, Spokas, et al. reported, in 1983, that the mechanism of direct relaxation of

arteriolar smooth muscle by hydralazine is not clear; numerous hypothesis have been put forth. Part of the vascular relaxation caused by hydralazine is dependent on the presence of endothelium. In addition, nitric oxide can be generated from hydralazine in vitro (Kruszyna, et al., 1987). The direct acting, nitrogenous vasodilators cause red blood cells to generate nitric oxide (Gerber and Nies, 1991). In addition the inhibition of catecholamine biosynthesis by hydralazine has been documented (Liu, et al., 1974; Songkittiguna, et al., 1980; Chevillard, et al., 1980; Houchi, et al., 1986; Morita, et al., 1986). Yohimbine is a competitive antagonist that is selective for α_2 -adrenergic receptor; if it enters the CNS, whereas it acts to increase blood pressure and heart rate. These actions are opposite to those of clonidine, an α_2 -adrenergic receptor agonist. Furthermore, yohimbine is also an antagonist of 5-HT (Gerber, et al., 1991). The decrease of blood pressure of rat by yohimbine reported here, may be the result of the recent finding that mammalian α adrenoceptors have been identified by molecular cloning and reported 6 types of α adrenoceptor. The three α_2 adrenoceptors share about 75% amino acid identity in their putative transmembrane regions, C.M. Fraser and co-workers (1989) observed that high concentrations of adrenaline (>100 μ M) applied to cultured cells expressing α_2 -C₁₀-encoded adrenoceptors actually resulted in increased accumulation of cAMP; this effect was also seen with the α_2 adrenoceptor agonists UK 14340 and p-amino-clonidine and was blocked by the antagonist yohimbine (Harrison, 1991). Yohimbine that reduced blood pressure of anesthetized rat reported here might be the blockade of adrenaline and even noradrenaline which caused the α_2 -C₁₀-encoded adrenoceptors to produce the accu-

mulation of cAMP. The decreased cAMP might attenuate the vascular tone and thereby the vasodilatation; the fall of blood pressure may be resulted because intraventricular injection of hydralazine produced an hypotensive effect (Gupta and Bhargava, 1965). Yohimbine or phentolamine not hydralazine given intravenously prior to noradrenaline could antagonise the pressor effect of noradrenaline on rat blood pressure. Phentolamine is an imidazole derivative is capable of α -adrenoceptor blockade lasting for several hours; this blockade is more effective against circulating adrenaline than it is agonist neurally release transmitter (Kroeger, 1985). Phentolamine, however, is a partial agonist and have a sympathomimetic activity and can block the prejunctional α_2 as well as α_1 adrenoceptor. This will interfere with the negative feedback mechanism that normally limits the amount of noradrenaline released. The neuron fails to shut itself off; and the excess transmitter may produce many sympathetic side effects via unblocked beta adrenoceptors (Stokes and Oates, 1978). It is suggested long time ago, that intravenously administered hydralazine weakened the hypertensive effect of noradrenaline and adrenaline in the cat (Gross, et al., 1950). This is opposite to the results of inability of hydralazine to antagonise rat hypertensive effect of noradrenaline reported here compared with the blockade of noradrenaline induced vasopressor effect by both yohimbine or phentolamine. This may be due to the species difference.

It is suggested, therefore, that hydralazine is not recommended to treat hypertension with hypersecretion of noradrenaline for example pheochromocytoma, neuroblastoma, ganglioneuroma and other catecholamine-producing tumors.

REFERENCES

1. Chevillard C, Mathieu MN, Saiag B, Worcel M. Hydralazine : effect on the outflow of noradrenaline and mechanical responses evoked by sympathetic nerve stimulation of the rat tail artery. *British Journal of Pharmacology* 1980; 69: 415-420.
2. Gerber JG, and Nies AS. Antihypertensive agents and the drug therapy of hypertension. In : *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 8 th Goodman AG, Gilman LS, Gilman A, eds. Pergamon Press, Inc. Singapore 1991: 784-813.
3. Gross F, Druey J, and Meier R. Eine neue Gruppe blutdrucksenkender Substanzen von besonderem Wirkung-Scharakter. *Experientia* 1950; 6: 19-21.
4. Gupta KP, and Bhargava KP. Mechanism of tachycardia induced by intracerebro-ventricular injection of hydralazine (1-hydrazinophthalazine). *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie* 1965; 155: 84-89.
5. Harrison JK, Pearson WR, and Lynch RL. Molecular characterization of α_1 - and α_2 -adrenoceptors. *Trends in Pharmacological Sciences* 1991; 12 (2): 62-67.
6. Houchi H, Morita K, Minakuchi K, and Oka M. Inhibition by hydralazine of catecholamine biosynthesis in cultured bovine adrenal medullary cells. *Biochemical Pharmacology* 1986, 35 (12): 2047-2049.
7. Kroeger DC. Adrenergic block drugs. In: *Pharmacology and Therapeutics for Dentistry*, 2 nd ed. The C.V. Mosby Company, St. Louis, 1985: 121-136.
8. Kruszyrna H, Kruszyrna R, Smith RP, and Wilcox DE. Red Blood cells generate nitric oxide from directly acting nitrogenous vasodilators. *Toxicological and Applied Pharmacology* 1987; 91: 429-438.
9. Liu TZ, Shen JT, and Loken HF. inhibition of dopamine-hydroxylase by hydralazine. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 1974; 145: 294-297.
10. Morita K, Houchi H, Nakanishi A, Minakuchi K, and Oka M. Inhibitory action of hydralazine on catecholamine-synthesizing enzymes from bovine adrenal medulla. *Japan Journal of Pharmacology*, 40: 445-453.
11. Spokas EG, Folco G, Quilley J, Chander P, and McGriff JC. Endothelial mechanism in the vascular action of hydralazine. *Hypertension*, 5, suppl, I 1983: 1107-1111.
12. Songkittiguna P, Majewski H, and Rand MJ. Inhibition by hydralazine of the conversion of dopamine to noradrenaline in rat atria in vitro and in vivo. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 1980; 7: 509-514.
13. Stokes GS, and Oates HF. Prazosin : new alpha-adrenergic blocking agent in the treatment of hypertension, *Cardiovascular Medicine* 1978; 3: 41-57.
14. Weiss GB, Winquist RT, and Silver PJ. Vascular smooth muscle and vasodilator. In : *Cardiovascular Pharmacology*. 3 rd ed. Edited by M. Antonaccio, Raven Press Ltd. New York, 1990: 75-105.

REPRODUCTIVE EFFECTS OF PYRIDOXAL ISONICOTINOYL HYDRAZONE IN RATS : EFFECTS ON ESTRUS CYCLE AND IMPLANTATION

N. Sookvanichsilp, W. Panintrarux, S. Suksathan and S. Rattanajarasroj

Department of Pharmacology, Faculty of Pharmacy Mahidol University,
Bangkok 10400, Thailand

Pyridoxal isonicotinoyl hydrazone (PIH) is a highly effective compound in the management of iron overload in animals. The reproductive effects of this compound were studied in rats. PIH doses of 100, 200 and 400 mg/kg body weight given orally for 20 consecutive days produced no effects on rat's estrus cycle. When these rats were caged with males and the PIH doses mentioned were continued feeding till day 7 of pregnancy, it was found that PIH could interfere with implantation in some rats. Male-mediated effect of PIH on implantation was also studied. Male rats were fed with PIH at doses of 100 and 200 mg/kg body weight for one month before they were housed with proestrus females. All mated rats were pregnant and no significant differences (at $p = 0.05$) in the number of implantation sites were found in these pregnant rats as compared to those mated with the control males.

INTRODUCTION

Pyridoxal isonicotinoyl hydrazone (PIH) is a complex of pyridoxal hydrochloride and isonicotinic acid hydrazide (INH) in equimolar amounts. It is a highly effective compound in the management of iron overload in rats when given orally⁽¹⁻⁴⁾. Toxicological data of this compounds are limited. There was a recent report of PIH on acute toxicity in mice and rats and subchronic toxicity in rats⁽⁵⁾. In the present study, the effects of PIH on estrus cycle and implantation in rats were performed. In addition, male-mediated effect of this compound on implantation was also studied.

MATERIALS AND METHODS

Effect of PIH on Estrus Cycle in Rats

Forty female Wistar rats (145-150 g), from the National Laboratory Animal Center-Salaya, with regular estrus cycles were divided into 4 groups of 10 animals. PIH (prepared by oxidation of pyridoxine HCl to pyridoxal and reacted with INH - described elsewhere⁽⁶⁾)

was dispersed in distilled water and doses of 100, 200 and 400 mg/kg body weight were given to each group by gavage with a feeding needle for 20 consecutive days. Water was given to the control group. Vaginal smears were performed every morning. The smears were stained with methylene blue (0.5% solution) and examined microscopically at 200X.

Effect of PIH on Implantation in Rats

All female rats mentioned above were caged with males. PIH doses of 100, 200 and 400 mg/kg body weight were kept on feeding the females. The day when sperm were present in the vaginal smears was designated as day 1 of pregnancy. The females, mated at the first or second estrus stage were then used. PIH and water were still given consecutively from day 1 till day 7 of pregnancy. Laparotomy was performed under ether anesthesia on day 9 of pregnancy. After laparotomy, the females were allowed to complete gestation.

Effect of PIH on Male-Mediated Implantation in Rats

Twenty-five male Wistar rats (250-280 g) were divided into 3 groups of 8-9 animals. PIH doses of 100 and 200 mg/kg body weight were given by gavage with a feeding needle. Water was given to the control group. The animals were fed for 1 month before they were individually housed with the proestrus females (150-170 g) with regular estrus cycles (one male per one female). Vaginal smears were taken and examined daily. Unmated female rats were replaced by the new proestrus females. PIH or water was withdrawn when sperm were found in the vaginal smears.

Statistical Analysis

Results were analysed by Student's t-test. P-value of less than 0.05 was regarded as statistical significance.

RESULTS

Effect of PIH on Estrus Cycle in Rats

PIH doses of 100, 200 and 400 mg/kg body weight given orally to female rats for 4-5 consecutive estrus cycles produced no significant changes in the period of estrus cycle. The average cycle length was in the range of 4-5 days. The epithelial cytology found in vaginal smears was normal, i.e. proestrus, estrus, metestrus and diestrus.

Effect of PIH on Implantation in Rats

PIH doses of 100, 200 and 40 mg/kg body weight given to rats for 4-5 consecutive

estrus cycles and continued feeding till day 7 of pregnancy could interfere with implantation in some rats as indicated in Table 1. Resorbing sites were detected in certain gravid and non-gravid uteri from the treated groups. However, no significant differences (at $p = 0.05$) were found in the number of implantation sites in pregnant animals from the treated groups as compared to those from the control group. All pregnant rats exhibited normal gestation periods (22-24 days). The litters were examined externally and no abnormalities could be observed.

Effect of PIH on Male-Mediated Implantation in Rats

All male rats from PIH treated and control groups mated with the females at the first, second or third night. A lot of sperm were detected in the vaginal smears taken from female rats mated with the males from any groups. All mated rats were pregnant and the number of implantation sites were indicated in Table 2. No significant differences (at $p = 0.05$) were found in the number of implantation sites in pregnant rats mated with the treated males as compared to those mated with the control males. Serving behavior was occasionally observed and no differences were found between treated and control males. No external abnormalities could be detected when their litters were examined externally.

Table 1. Effect of PIH on implantation sites in rats

Dose (mg/kg/day)	No. of pregnant rats No. of rats mated	No. of implantation sites (mean $\pm$ SEM)	No. of litter sizes (mean $\pm$ SEM)
water	8/8	8.13 $\pm$ 0.95 (10, 5, 12, 5, 8, 6, 11, 8)	7.13 $\pm$ 0.69 (10, 5, 9, 5, 7, 6, 9, 6)
100	6/8	8.17 $\pm$ 0.98 (12, 8, 10, 7, 6, 6)	7.33 $\pm$ 0.71 (10, 8, 8, 7, 5, 6)
200	4/9	7.25 $\pm$ 1.31 (9, 5, 5, 10)	6.50 $\pm$ 0.96 (7, 5, 5, 9)
400	4/9	8.75 $\pm$ 1.88 (10, 8, 4, 13)	7.50 $\pm$ 1.26 (8, 8, 4, 10)

Table 2. Number of pregnant rats and implantation sites found in the females mated with the PIH treated males

Dose of PIH (mg/kg/day)	No. of pregnant rats No. of rats mated	No. of implantation sites (mean $\pm$ SEM)
water	9/9	8.33 $\pm$ 0.88 (11, 4, 7, 8, 5, 9, 9, 12, 10)
100	8/8	7.88 $\pm$ 0.86 (7, 10, 5, 5, 12, 9, 8, 7.)
200	8/8	8.13 $\pm$ 0.91 (6, 8, 11, 4, 6, 10, 11, 9)

DISCUSSION

Effect of PIH on Estrus Cycle in Rats

The rat's estrus cycle can be divided into four stages and can be recognized by changes in vaginal cytology : proestrus, estrus, metestrus, and diestrus⁽⁷⁾. An estrus cycle length is 4-5 days. Ovulation occurred during estrus stage can be readily detected by cornification of vaginal epithelium. The estrus cycle is regulated by hormones from the hypothalamus (LHRH), pituitary (FSH and LH) and ovary (estrogens and progesterone). In this study, oral PIH doses of 100, 200 and 400 mg/kg body weight given to female rats for 20 days showed no effects on estrus cycle. This may lead to a suggestion that PIH at doses given has no critical effects on those hormonal levels.

Effect of PIH on Implantation in Rats

The timing of blastocyst formation and implantation in rats requires 3-4 days and 5-6 days from ovulation, respectively⁽⁸⁾. The prepared endometrium, which is under the influence of hormones and other factors, is necessary for implantation. Fertilized ova need various kinds of nutrients for further development. Iron is an important component of heme and also involves in various enzymatic reactions. Iron deficiency causes hematologic disorders of pregnancy⁽⁹⁾. In the present study, oral PIH doses of 100, 200 and 400 mg/kg/day given to female rats for 20 days and continued feeding till day 7 of pregnancy could

inhibit normal implantation in some rats. This leads to a suggestion that PIH probable interferes with the available iron for blastocysts.

Effect of PIH on Male-Mediated Implantation in Rats

The potential hazard of a chemical to reproduction is difficult to assess because of the complexity of the reproductive process. The gametogenic and the secretory functions of testes are dependent on the secretion of the adenohipophyseal gonadotropins, FSH and LH (ICSH). Sexual behavior is under the influence of sex hormones, and the physiologic processes of erection and ejaculation are controlled by the central nervous system (CNS) but are modulated by the autonomic nervous system (ANS)^(7, 10). Various drugs act on the CNS and the ANS and cause impotence⁽¹¹⁾. In this study, as there were no observable effects of PIH on serving behavior in male rats and on implantation in female rats mated with the PIH treated males, this may indicated that PIH at given regimens has no influence on total reproductive capacity in male rats. However, since the process of spermatogenesis in rats requires 3.5 cycles of the germinal epithelium (about 45 days)⁽¹⁰⁾, administration of PIH for 1 month could not indicate the effect of the compound to spermatogenesis.

In conclusion, PIH doses of 100, 200 and 400 mg/kg body weight given orally to female

rats for 20 consecutive days before the animals were caged with the males, and continued feeding till day 7 of pregnancy could interfere with implantation in some rats. PIH at doses of 100 and 200 mg/kg body weight had no effects on pregnancy when these PIH doses were given to male rats for one month before they were housed with the females.

REFERENCES

1. Hoy T, Humphrys J, Jacobs A, Williams A and Ponka P. Effective iron chelation following oral administration of an isoniazid - pyridoxal hydrazone. *Br J Haematol* 1979; 43: 443.
2. Cikrt M, Ponka P, Necas E and Neuwirt J. Biliary iron excretion in rats following pyridoxal isonicotinoyl hydrazone. *Br J Haematol* 1980; 45: 275-83.
3. Hershko C, Avramovici-Grisaru S, Link G, Gelfano L and Sarel S. Mechanism of in vivo iron chelation by pyridoxal isonicotinoyl hydrazone and other imino derivatives of pyridoxal. *J Lab Clin Med* 1981; 98: 99-108.
4. Williams A, Hoy T, Pugh A and Jacobs A. Pyridoxal complexes as potential chelating agents for oral therapy in transfusional iron overload. *J Pharm Pharmacol* 1982; 34: 730-2.
5. Sookvanichsilp N, Nakornchai S and Weerapradist W. Toxicological study of pyridoxal isonicotinoyl hydrazone : acute and subchronic toxicity. *Drug Chem Toxicol* 1991; 14: 395-403.
6. Sookvanichsilp N. Pyridoxal isonicotinoyl hydrazone : Preparation, physical properties and acute toxicity in mice. *Mahidol University J Pharm Sci* 1992; 19: 1-3.
7. Thomas JA. Toxic responses of the reproductive system, in "Casarett and Doull's Toxicology, the Basic Science of Poisons", 4th ed. Amdur MO, Doull J and Klaassen CD, eds. New York : Pergamon, 1991: 484-520.
8. Manson JM and Kang YJ. Test methods for assessing female reproductive and developmental toxicology, in "Principles and Methods of Toxicology", 2nd ed. Hayes AW, ed. New York : Raven, 1989: 311-59.
9. Kelton JG and Cruickshank M. Hematologic disorders of pregnancy, in "Medical Complications During Pregnancy". Burrow GN and Ferris TF, eds. Philadelphia : WB Saunders, 1988: 66-94.
10. Zenick H and Clegg ED. Assessment of male reproductive toxicity : a risk assessment approach, in "Principles and Methods of Toxicology", 2nd ed. Hayes AW, ed. New York : Raven, 1989: 275-309.
11. Millar JGB. Drug-induced impotence. *Practitioner* 1979; 223: 634-9.

ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF *PORTULACA OLERACEA* LINN IN VITRO

Metta Ongsakul*, Nongyao Sawangjaroen*, Peerarat Thaina**, Methi Sunbhanich**, Jindarat Chatbenjarong*, Aporn Thongnurung*.

*Department of Microbiology, **Department of Pharmacology, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Hat Yai, Thailand

The in vitro antibacterial activities of Pak Bia Yai (Portulaca oleracea Linn.) were tested against Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Salmonella typhimurium, Shigella sonnei and Pseudomonas aeruginosa; using Oxford Cup assay method and dilution technique method. The anti-amoebic activity was tested against Entamoeba histolytica isolated from dysenteric patients from Songklanagarin hospital. The results revealed that the plant could kill both the bacteria and the protozoa. It is suggested that Pak Bia Yai might be an effective broad-spectrum antimicrobial agent.

KEY WORDS: PAK BIA YAI, *Portulaca oleracea* Linn, ANTIMICROBIAL ACTIVITY, ANTIBACTERIAL ACTIVITY, ANTI-AMOEBIC ACTIVITY

INTRODUCTION

Diarrhoea, amoebic dysentery, abscess and wound ulcers are among the major health problems in Thailand. Bacterial infection is the most common cause of diarrhoea; the causative agents could be either *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* or *Shigella sonnei*. Nosocomial infection with *S. aureus* or *Pseudomonas aeruginosa* may lead to abscess and wound ulcers. *Entamoeba histolytica* is a protozoan pathogen of worldwide importance known for its ability to produce amoebic dysentery and liver abscess⁽¹⁾. Each year Thailand has spent a lot of money for antimicrobial drugs for the treatment of these infectious diseases. Yet patients have to take a risk of side effects or toxicities of the drugs such as anti-amoebic agents like emetine (cardiotoxic) and metronidazole (teratogenic and carcinogenic)⁽²⁾.

Portulaca oleracea Linn. or Pak Bia Yai (Thai name) is a small succulent plant widely distributed throughout Thailand. The plant has been claimed to be effective for treatment of the above mentioned infections^(3,4). However, it

is not known whether it can kill the pathogenic organisms. Therefore, this experiment is designed to determine the in vitro antimicrobial activity of the plant preparations against *S. aureus*, *E. coli*, *S. sonnei*, *S. typhimurium*, *P. aeruginosa* and *E. histolytica*.

MATERIALS AND METHODS

Preparation of *P. oleracea* Linn. extract

The plant used for this experiment was collected from local area in Songkhla province. Crude extracts of the plant were fresh extract (watery juice squeezed from the fresh plant) and boiled extract. The extracts were prepared as follows: roots of the plants were removed and the rest were cleaned with tap water and soaked in potassium permanganate solution for 15 minutes. The plants were then washed with distilled water and left to dry out at room temperature and chopped into small pieces. For the preparation of the fresh extract, the chopped plants were blended and the watery juice was squeezed from them. For the boiled extract, distilled water in the volume of three times of the chopped plant weight was added

and the mixture was boiled until the volume of water decrease to about one-third. The watery juice and the boiled extract were centrifuged for 15 minutes at 3,000 rpm. The supernatant was filtered with filter paper. The concentrations of both fresh and boiled extracts were adjusted with distilled water to 1.5 gm-ml (calculated on the fresh plant weight basis) and then evaporated at 45-50°C until the final concentrations of the fresh and the boiled extracts were 3, 4.5, 6 and 12 gm-ml.

Collection and cultivation of *E. histolytica*

Strains of *E. histolytica* were isolated from 5 dysenteric patients from Songklanagarin hospital, Songkhla province, who had blood mucus stool with trophozoites. They were cultivated in the Modified Boeck and Drbohlav's Diphasic medium. Subcultures were done every 48 hours interval. In the medium used for cultivation and drug testing, 0.5 ml of a mixture of streptomycin and penicillin (0.5 mg of each-ml) was added.

Testing procedure for Antiamoebic activity.

E. histolytica, growing satisfactorily in the medium in association with the normal flora of age from 24-48 hours were utilized. The amoebae were suspended in Phosphate buffer saline to give approximately 10,000 trophozoites per ml. When testing, the various concentrations of drug or plant preparations in volume of 2.0 ml and 5,000 trophozoites were dispensed in 2 ml of new culture medium. The tubes were incubated at 37° C. The tests were designed for recording the results at 24 and 48 hours after inoculation. Each test consisted of 2 subsets with duplications. The results were recorded at 24 and 48 hours after inoculation. Amoebicidal activity was determined by the presence or absence of living amoebae observed directly under the microscope and by subculture. The concentration that gave zero amoebic count and confirmed by subculture was a minimum inhibitory concentration (MIC).

Testing procedure for Antibacterial activity.

The antibacterial activity of the plant extracts were tested on both gram positive and gram negative bacteria. The bacteria used in this experiment were *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Shigella sonnei*, *Salmonella typhimurium* and *Pseudomonas aeruginosa*. Two techniques were used for the test i.e. agar diffusion and broth dilution technique. The first technique was performed according to Oxford cup assay method⁽⁵⁾ and diameter of clear zone was measured. For broth dilution technique method, it followed those described by Barry A.L.⁽⁶⁾ and the minimum inhibitory concentration (MIC) was determined.

RESULTS

Antiamoebic activity.

Both extracts of *P. oleracea* Linn. killed all *E. histolytica* isolated from 5 patients with MIC of about 2 gm-ml of the fresh extract and 4 gm-ml of the boiled extract. Metronidazole, one of the current drugs use for treatment of amoebic dysentery killed *E. histolytica* isolated from 5 patients with different MICs (mcg-ml), i.e. 1 for *E. histolytica* isolated from patient No. 1, 5 for those of No. 2 and 3 and 10 for those of No. 4 and 5 (Table 1).

Antibacterial Activity.

The extracts of *P. oleracea* Linn. prevented the growth of all strains of bacteria under study with a concentration-related fashion. The activity of the boiled extract was slightly lower than that of the fresh one (Table 2). Experiment with broth dilution technique showed that the extracts could kill all five bacteria with the order of sensitivity as follow: *S. aureus* > *E. coli* > *S. typhimurium* > *S. sonnei* > *P. aeruginosa*. The antibacterial activity of the fresh extract was about 2-time that of the boiled extract (Table 3).

Table 1 Minimum inhibitory concentration (MIC) of metronidazole, the fresh extract and the boiled extracts of *P. oleracea* Linn. on *E. histolytica* isolated from 5 patients.

E. histolytic from patient No.	Minimum Inhibitory Concentration (MIC)		
	Metronidazole (mcg/ml)	Fresh extract (gm/ml)	Boiled extract (gm/ml)
1	1	2	3.2
2	5	1.6	4
3	5	1.6	4
4	10	2	4
5	10	2	4

Table 2 Antimicrobial activity of *P. oleracea* Linn. against *S. aureus*, *E. coli*, *S. typhimurium*, *S. sonnei*, and *P. aeruginosa* determined by diameter of clear zone.

Bacteria	Concentration of extracts (gm/ml)	Avg. diameter of clear zone (mm)	
		Fresh extract	Boiled extract
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	1.5	8.1	8.0
	6.0	17.2	14.1
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	1.5	8.0	7.8
	6.0	15.9	14.1
<i>Salmonella typhimurium</i>	1.5	7.9	7.5
	6.0	14.2	12.9
<i>Shigella sonnei</i>	1.5	7.7	7.1
	6.0	13.5	12.5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1.5	7.6	7.0
	6.0	12.6	10.9

Table 3 Minimum inhibitory concentration (MIC) (mg-ml) of *P. oleracea* Linn. extracts against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella sonnei* and *Pseudomonas aeruginosa*.

Bacteria	MIC (mg-ml) against				
	S. aureus	E. coli	S. typhimurium	S. sonnei	P. aeruginosa
Fresh extract	6	12	94	94	375
Boiled extract	12	23	187	187	750

DISCUSSION AND CONCLUSION

The results revealed that both plant extracts were effectively killed both protozoa and bacteria. The minimum inhibitory concentration of metronidazole obtained from this study was higher than those reported by other investigators⁽⁷⁻⁹⁾. This might be due to the medium used for the test which was egg-slant, compare to those monophasic all liquid medium in other experiments. It was possible that the egg-slant medium might adsorb the drug in a large proportion. In term of sensitivity of the organism to the action of the test agents, if the assumption is that *E. histolytica* isolated from different patients are of different strains. It appeared that some strains of *E. histolytica* were less sensitive to the inhibitory action of metronidazole i.e. those isolated from patient No. 4 and 5. However, the sensitivity of all strains to the extracts of *P. oleracea* Linn. were the same. For the antibacterial action, the results showed that both plant extracts could kill both gram positive (+) and gram negative (—) bacteria. *S. aureus* was the most sensitive to the action of the plant extracts and *P. aeruginosa* was the least sensitive. The activity against gram negative (—) bacteria was also reported by other investigators.⁽¹⁰⁾ Although there were many reports on the chemical constituents isolated from *P. oleracea*

Linn.⁽¹¹⁻¹⁵⁾ and also reports on clinical uses of the plant against infections⁽⁴⁾, the chemicals responsible for the antibacterial activity have not been identified. Yet our results suggest that the whole plant of *P. oleracea* Linn. might be a potential broad-spectrum antimicrobial agent.

The activity of the fresh extract of *P. oleracea* Linn. in all of the tests was higher than that of the boiled extract, suggesting that the active ingredients might be partly destroyed by the heat.

The results of this experiment confirm the possibility of using *P. oleracea* Linn. for the treatment of amoebic dysentery, diarrhoea, abscess and wound ulcers.

REFERENCES

1. Brown, H.M. and Neva, F.A. Basic clinical parasitology. 5th ed. Appleton Century - Crofts, New York, 1983 ; p 339.
2. Goldman, P. Drug therapy, Metronidazole. N Eng J Med 1980 ; 303 :1212-1218.
3. Kirtikar, K.R.; Basee, B.D. Indian medicinal plants. Vol I. Latit Mohon Basee M.B., Allahabad, 1980 ; pp 241-243.
4. Jaidee, S. การใช้สมุนไพร เล่ม 1 (Use of medicinal plants, Vol. I). Sarnmaulchone Company, Bangkok, 1979 ; pp 93-100.

5. National Committee of Clinical Laboratory Standards NCCLS Approved standard ASM-2, performance standards for antimicrobial disc susceptibility test, 2nd ed. Pennsylvania. 1978.
6. Barry, A.L. Broth dilutions techniques, In the antimicrobial susceptibility tests: Principles and practices, Barry, A.L. editor, p. 92, Lea and Febiges, Philadelphia. 1976 .
7. Vinayak, V.K. and Prakash, O. A comparative evaluation of metronidazole and other amoebicidal drugs on the strains of *Entamoeba histolytica*. Indian J Med Res 1969 ; 57:841-847.
8. Gorveeda, L.M. A study of the effect of Flagyl upon *Entamoeba histolytica* in culture. Trop Dis Bull 1965 ; 62:1115.
9. Woolfe, G. Chemotherapy of amoebiasis. Experimental Chemotherapy. Academic Press, New York, 1963 ; 1:419-420.
10. India Council of Scientific and Industrial Research (New Delhi) (1948): The wealth of India. B.N. Sastri chief editor. Sree Saraswaty Press, Culcatta.
11. Ilarionov, I. and Kolev, D. Preliminary phytochemical and pharmacological studies of the native wild prostrate form of *Portulaca oleracea* species. Chemical Abstracts. 1966 ; 65:17557f.
12. Tulloch, A.P. Leaf wax of *Portulaca oleracea* . Chemical Abstracts. 1977 ; 82: 28596r.
13. Tashbekov, I. Chemical composition of wild *Portulaca oleracea*. Chemical Abstracts. 1977 ; 87:2384y.
14. Yasuye, M. and Honda, Y. Component of *Portulacaceae* plants. Chemical Abstracts. 1951 ; 45:823a.
15. Handa, K.L.; Vishwa, Pual, V. and Chandhari, S.S. Examination of the fixed oil of *Portulaca oleracea* seeds. Chemical Abstracts. 1957 ; 51: 8456h.

—

Old and New Antihistamines

Major General Saridiwongsa Wongsathuaythong
Pramongkutklao College of Medicine

Histamines is a bioactive compound that have been identified in several organs and tissues in practically animal series, including man. The physiological role of histamine is not clearly defined. In contrast, a very large number of experimental and clinical data indicate that histamine partly responsible for the clinical aspect of several diseases. In 1910, Dale and Laidlaw⁽¹⁾ showed that the pharmacological effects of histamine were comparable to the symptoms described with manifestations of immediate hypersensitivity. Histamine is stored in the mast cells.⁽²⁾ These cells are present in the perivascular space of several organs, and are present in great quantity in the nasal and ocular mucous membranes, in the bronchial and pulmonary tissue, and in the skin. It is acknowledged the the degranulation of mast cells associated with release of histamine is a fundamental mechanism responsible for the clinical allergic conditions.⁽³⁾ According to the localization of the phenomenon, various allergic manifestations are observed; they are mainly present at two level: the respiratory level (rhinitis and asthma) and the cutaneous level (urticaria). Inhibition of the activity of histamine in these various diseases will produce a definite therapeutic effect.

The first antihistaminic substances were synthesized between 1937 and 1944.⁽⁴⁻⁶⁾ The clinical use of antihistamines was generalized after World War II.⁽⁷⁾ Their use and clinical efficacy are limited by pharmacological properties other than their antihistaminic activity. These additional effects include : an anticholinergic activity, a local anaesthetic activity, and a depressant activity at the level of the central nervous system (CNS). Conventional antihistamines do not inhibit some of the

pharmacological effects of histamine. Ash and Schild⁽⁸⁾ were the first to put forward the concept of two different receptors for histamine. Black et al⁽⁹⁾ confirmed the existence of a second receptor (H_2) for histamine, responsible for the effect of histamine on gastric secretion. Since then specific anti- H_2 substances have been developed and are used mainly for the treatment of peptic diseases. A recently described H_3 receptor is thought, to be implicated in histamine's regulation of its own synthesis and release from central and peripheral nerve tissue.^(10, 11)

In recent years, H_1 antihistamine have been developed that have little or no CNS depressant effect. This class of drugs are the non-sedating H_1 antagonists. Their lack of the sedating properties that are so characteristic of earlier H_1 blockers has been ascribed to their very limited ability to cross the blood-brain barrier.

H_1 Antihistamines

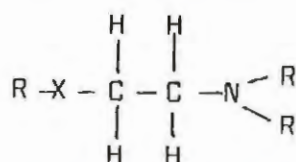
Chemistry and Pharmacology

Histamine is a physiologically active, endogenous substances that binds to and activated H_1 and H_2 receptors on various cells. This binding causes microvascular dilation, increased vascular permeability, smooth muscle stimulation, and nerve ending stimulation, which result in itching.

The term antihistamine has historically been used to describe medications that act as H_1 receptor antagonists. They appear to act by blocking H_1 receptor sites, thereby preventing the action of histamine on the cell; they do not chemically inactivate or physiologically antagonize histamine nor do they usually prevent the release of histamine; exceptions include ketotifen,⁽¹²⁾ azatadine,⁽¹³⁾ azelastine.^(14, 15)

The basic ethylamine group is common to most antihistamine and also to anticholinergic and local anesthetic agents. The antiemetic and antinotion sickness actions of some antihistamines appear to result, in part, from their central anticholinergic and CNS depressant properties. The antipruritic effect results from a peripheral antihistaminic effect and possibly a local anesthetic effect, the sedative effect of antihistamines may also contribute to their antipruritic activity.

In general, antihistamines can be depicted by the following formula:



Presumably the core ethylamine ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$) competes with histamine for cell receptors, whereas the substitutions modify the absorption, excretion, or side effects. Antihistamines can be classified on the basis of X substitution into seven classes (Table 1)

Antihistamines are well absorbed after oral administration. Symptomatic relief of allergic reactions usually begins within 30 minutes and is substantial within 1 hour. The duration of action is variable, but symptoms are usually relieved for at least 4 to 6 hours, due in part to the relatively long serum elimination half-life values.^(16, 17) However, maximal antihistaminic effects of the drugs do not correlate with peak serum concentrations and persist as serum concentrations are declining. There may be some decrease in effectiveness with prolonged use of these agents,⁽¹⁸⁾ but a substantial degree of tolerance to the antihistaminic effects does not generally occur. Nonetheless, tolerance to the sedative effects may develop.⁽¹⁹⁾ The anticholinergic and sedative effects are due to the lipid solubility of many of the classical compounds which allow them to cross the blood-brain barrier and interact with the H_1

receptors of the CNS. The newer nonsedating antihistamines, often analogues or even active metabolites of the classical agents, have a molecular structure that interferes with passage into the brain. The metabolic fate of most antihistamines appear to be chiefly in the liver, with excretion as inactive metabolites within 24 hours in urine.

Uses

Antihistamines are beneficial in the management of allergic rhinitis—both, seasonal and perennial, allergic conjunctivitis and allergic skin diseases such as urticaria and atopic dermatitis. Symptomatic relief of nasal itching, sneezing, rhinorrhea, ocular itch, skin itching, erythema, lacrimation, dermal swelling is usually provided by antihistamines, with the alkylamine and the piperazine classes usually the most overall effective.⁽²⁰⁾ The anticholinergic activity may also be useful in the treatment of rhinitis as it tends to reduce nasal hypersecretion. Chronic nasal congestion and headaches caused by edema of the sinus mucosa are less effected by these agents.⁽²¹⁾ There is no evidence that combinations containing two or more antihistamines are more effective than one antihistamine, or that combinations of subtherapeutic doses of two or more antihistamines are more effective than therapeutic doses of one antihistamine.⁽²²⁾ Fixed medication combinations of an antihistamine and a nasal decongestant are appropriate if each ingredient has demonstrated clinical efficacy and is present in therapeutic dosage.⁽²³⁾ An additional benefit of the sympathomimetic is that it may counterbalance the sedative properties of the antihistamine. Because antihistamine only block the effect of histamine, for some patients greater relief symptoms awaits the development of medications that can prevent or modify the release of or the effects of the other mediators of the allergic response. Antihistamines are generally less effective in the treatment of nonallergic rhinitis and vasomotor rhinitis.

Table 1. Antihistamine classes

Chemical class	Generic name	Comments
I. Ethanolamine	Carbinoxamine	This group of antihistamine has substantial anticholinergic activity. They also commonly cause CNS depression; with usual doses, drowsiness occurs in 50% of patients. Incidence of adverse GI effects is low.
	Clemastine	
	Diphenhydramine	
	Doxylamine	
II. Ethylenediamine	Methapyrilline	Relatively weak CNS effects; however, drowsiness in some patients. Adverse GI effects are common.
	Pyrilamine	
	Tripelenamine	
III. Alkylamine	Brompheniramine	Cause less drowsiness and some CNS stimulation than others and are thus suitable for daytime use.
	Chlorpheniramine	
	Dexchlorpheniramine	
	Triprolidine	
IV. Piperazine	Hydroxyzine HCl	Hydroxyzine is used as a tranquilizer, sedative, antipruritic. Anticholinergic effects and drowsiness are common.
	Hydroxyzine Pamoate	
V. Phenothiazine	Methdilazine	Used as antipruritic and antiemetic.
	Promethazine	
	Trimeprazine	
VI. Piperidine	Azatadine	Cyproheptadine causes weight gain and pronounced sedation.
	Cyproheptadine	
VII. Miscellaneous	Acrivastine	Most of this group causes significantly less sedation than other classes.
	Astemizole	
	Azelastine	
	Cetirizine	
	Loratadine	
	Mequitazine	
	Rocastine	
	Temelastine	
	Terfenadine	

Adverse Effects

Adverse effects vary in incidence and severity with the individual antihistamine and with individual patients. Most mild reactions may be relieved by a reduction in dosage or change to a different class. Some adverse effects disappear with continued therapy. CNS depression is common with usual dosage especially with the ethanolamine derivative. Sedation can range from mild drowsiness to deep sleep. Dizziness and disturbed coordination may also occur. Individual who perform

potentially hazardous task requiring mental alertness or physical coordination (for example, operating machinery, driving a motor vehicle) should be warned. Patients should also avoid consuming alcoholic beverage while taking antihistamines as they may potentiate the CNS effects. The new non-sedating antihistamines have significantly contributed to the solution of this problem. Some patients especially children, experience paradoxical CNS excitement characterized by restlessness and insomnia with antihistamine therapy.

Table 2. Formulations and dosages of some representative H₁-antihistamines

Generic (proprietary)	Formulation	Recommended dose
Alkylamine		
Chlorpheniramine	Syrup, 2.5 mg/5 ml; tab. 4 mg; time-release, 8, 12 mg; parenteral solution, 10 or 100 mg/ml	Pediatric, 0.35 g/kg/24 hrs; Adult, 8-12 mg bid.
Brompheniramine maleate	Syrup, 2 mg/5 ml; tab. 4 mg time-release, 8, 12 mg	Pediatric, 0.35 mg/kg/24 hrs. Adult, 8-12 mg bid.
Ethanolamine		
Diphenhydramine HCl.	Elixir, 12.5 mg/5 ml; Capsule 25 or 50 mg; parenteral solution, 10 or 50 mg/ml	Pediatric, 2.5 mg/kg/24 hrs. Adult 25-50 mg tid.
Piperazine		
Hydroxyzine HCl.	Syrup, 10 mg/5 ml Capsule, 10, 25, 50 mg	Pediatric, 2 mg/kg/24 hrs. Adult, 25-50 mg, bid.
Piperidine		
Cyproheptadine HCl	Syrup, 2 mg/5 ml; tab. 4 mg	Pediatric 0.25 mg/kg/24 hrs. Adult 4-8 mg tid.
Azatadine maleate	Tab. 1 mg	Pediatric, 0.5-1 mg bid. Adult, 1 mg bid.
Other		
Terfenadine	Suspension, 30 mg/5 ml; Tab. 60-120 mg	Pediatric, 3-6 yr. 15 mg bid, 7-12 yr, 30 mg bid. Adult, 60 mg bid. or 120 mg OD.
Astemizole	Suspension, 10 mg/5 ml; Tab. 10 mg	Pediatric, 0.2 mg/kg/24 hrs. Adult, 10 mg OD.
Loratadine	Tab. 10 mg	Adult, 10 mg OD.

Adverse GI effects of antihistamines include anorexia, epigastric distress, nausea, diarrhea, or constipation. Adverse anticholinergic effects include dryness of the mouth, nose and throat; urinary retention; impotence; visual disturbances; blurred vision; and nervousness and irritability. Drying of secretions sufficient to aggravate asthma is not a clinical problem; the potential benefits of antihistamine treatment of allergic rhinitis should not be denied to a patient who also has asthma.⁽²⁴⁾

Dosage

Recognition of the prolonged duration of the biologic effects has led to improved regimens of antihistamine administration. Dosing once daily at bedtime or twice daily, with the bulk of the recommended daily dose at bedtime, can often achieve symptom control without daytime sedation. Chemical efficacy of antihistamines is notably greatest

when they are given before the allergen exposure. Short-acting preparations are useful for this purpose or for intermittent symptoms. Longer-acting preparations are indicated for chronic conditions when they are regularly sporadically. There are some forms of the short-acting antihistamine are modified to be the form of longer-action such as repeat tab or chronotab of chlorpheniramine and brompheniramine. Usually the lack of response to an antihistamine is due to the severity of the disorder or a secondary complication (for example, infection or polyp). However, tachyphylaxis can occur by hepatic enzyme induction. Although this is infrequent, it can be altered by either changing to a different antihistamine class or, because of cross-tolerance to chemically unrelated antihistamines,⁽²⁵⁾ by switching to a different therapeutic modality.

Among the **new (or second generation) antihistamines**, terfenadine and astemizole deserve special attention. They are almost exclusively H_1 antagonists. They fail to penetrate the CNS and, most importantly, cause no sedative or anticholinergic effects.

Terfenadine is rapidly absorbed with a peak plasma concentration at 2 hours after an oral dose. It is metabolized by the liver and excreted in the urine and feces. The elimination half-life is between 16 and 23 hours.⁽²⁶⁾ It has been available as 60-mg tablet to be administered twice a day. Activity is seen in most patients after a single dose, but maximum response may not occur for 3 days.⁽²⁷⁾ An oral suspension for children and a pseudoephedrine combination are currently being investigated. Terfenadine does not impair psychomotor performance,⁽²⁸⁾ adversely affect subjective feeling, or potentiate the effect of alcohol. However, it is much more expensive than the older H_1 antihistamines.

Astemizole is presently available. It is also rapidly absorbed and distributed with a peak plasma level occurring about 1 hour after a dose. Because of its strong affinity for H_1 receptor, it is quite slowly eliminated half-life of 104 hours. Astemizole has a prolonged action consistent with its slow elimination.⁽²⁹⁾ Dermal response to histamine are modified for 12 hours with terfenadine, for several days with astemizole after single oral dose and for months after multi dosing with astemizole. The current recommended dose of astemizole for adults is 10 mg once a day, for children 6 to 12 years $\frac{1}{2}$ tab. (5 mg) or 1 tsp of suspension preparation once a day, and children under 6 years old 0.2 mg/kg body wt/day. The once-a-day regime should aid compliance, and the long duration of action should maintain protection if a dose is missed. Astemizole has been documented to be effective in the treatment of seasonal allergic rhinoconjunctivitis^(30, 31) and perennial allergic rhinitis.⁽³²⁾ As with other antihistamines, it is effective more for the "sneezer" and "blower" than for the "blocker". Because of its slow onset

of its activity, it is sometimes helpful to give a loading dose for the initial 1 to 3 days of therapy. Increased appetite and weight gain have been noted in some patients receiving astemizole.^(31, 32) The medication on the developing fetus is a potential risk that lasts at least 8 weeks after the last dosing. Therefore, women of childbearing potential should not use astemizole unless they take adequate contraceptive precautions.

Mequitazine is a phenothiazine derivative antihistamine of the new generation, which has a anti H_1 type antihistamine and inhibits mast cell degranulation. It has 2 specific advantages, a long duration of action and absence of effects on alertness.⁽³³⁾ If taken by mouth, the peak of blood level during the first hour. The side effects of this drug may be fleeting episodes of dry mouth and constipation. The usual dosage in adult is 2 tabs/day, 1 in the morning and 1 at night. One tablet contains of 5 mg. of the drug. The solution preparation is not available.

Clemastine fumarate belongs to the benzhadryl ether group of antihistamine compound. It is an antihistamine with anticholinergic (drying) and sedative side effects. This drug appears to compete with histamine for cell receptor sites on effector cells.⁽³⁴⁾ Clemastine demonstrates that it is rapidly and nearly completely absorbed from the GI-tract when taken by mouth and peak plasma concentrations are attained in 2-4 hours, and urinary excretion is the major mode of elimination. In normal human subjects who received clemastine injections over 24 hour period, the drug persists for 10-12 hours and in some case, for as long as 24 hours. Transient drowsiness is the most common side effect of clemastine. Recommended dose for adult is starting with a one tablet (1.34 mg) three times daily. Dosage may be increased as required, but not to exceed six tablets daily. For children under 6 years old 1-5 cc. of syrup (5 mg/5 ml.) can be given before breakfast and at bed time.

Azatadine maleate is antihistamine, related to cyprohepatadine, with antiserotonin, anticholinergic (drying) and sedative effects.⁽³⁵⁾ The drug when taken by mouth will be readily absorbed with peak plasma levels at about 4 hours after dosing. Approximate 50% is excreted in the urine. Because of its drying effect, it should be used with cautions in asthmatics. It will increase the ocular pressure, therefore it should not be used in patients with narrow angle glaucoma. Use of this drug during pregnancy or lactation is not recommended.⁽³⁵⁾ The recommended dosage for adult is 1 tablet (1 mg) in the morning and evening, for children under 6 years of age is ½ tsp of syrup (0.5 mg/5 ml.) twice daily.

Oxatomide is a diphenylmethyl piperazine derivative, chemically related to anti-asthmatic agent cinnarizine. It has been shown to be a potent blocker of H₁-receptor and also a potent anti-anaphylactic agent that inhibits the release of histamine and probably also of other mediators of anaphylaxis.^(36, 37) Oxatomide is well absorbed in man after oral administration, peak plasma level occur 3 hours after an oral dose and plasma level declines with an elimination half-life of 14 hours. Recommended adult dose is 1 tablet (30 mg) after breakfast and supper, the children is about 0.5 mg/kg per intake. This drug is available in tablet form. Somnolence is rare with the recommended doses and is usually transient in nature. If required the dose can be temporarily reduced. An increase of appetite has been observed with high doses.

Loratadine is a potent, long acting antihistamine which is relatively specific for peripheral histamine H₁-receptors, penetrates poorly into the CNS and thus lack of depressant effects. Structurally the drug is related to azatadine, with a neutral carbamate group replacing azatadine's basic tertiary amino group and a chloro group added to the benzocycloheptapyridine ring system.⁽³⁸⁾ Loratadine binds selectively to peripheral histamine

H₁-receptors, displaying little or no affinity for CNS receptors. Loratadine possesses only weak affinity for alpha-adrenoceptors or acetylcholine receptors. This drug also has antiserotonin activity, it is a more potent inhibitor of serotonin-induced bronchospasm in guinea-pigs than is terfenadine.⁽³⁹⁾ Loratadine also has antiallergic activity by inhibiting antigen-induced bronchospasm.⁽³⁹⁾ The recommended adult dosage of loratadine is 10 mg (1 tablet) once daily. No pediatric dosage instructions are currently available, although results from clinical trials indicate that for children ages 6 to 12 years a dosage of 5 to 10 mg once daily is appropriate.

Cetirizine, a carboxylated metabolite of hydroxyzine, possesses the parent compound's antihistamine activity but does not cause sedation. This lack of CNS effects may be due to cetirizine's greater selectivity or potent at H₁ receptors in peripheral tissues, or it may result from the agents's relative exclusion from the CNS compartment.⁽⁴⁰⁾ This drug also inhibits the increase in nasal airway resistance after an allergen challenge and reduces bronchoconstriction after histamine inhalation.⁽⁴¹⁾ Cetirizine is inactive against serotonin or acetylcholine-mediated smooth muscle contraction.⁽⁴²⁾ When taken by mouth, the peak mean concentration is achieved within 1 hour. Mean concentration of cetirizine declines biexponentially and has a mean elimination half-life of 7.4 hours. The drug is excreted quite rapidly, with 60% of the dose recovered in the 24-hour urine.⁽⁴³⁾ Recommended adult dose is 5 to 20 mg/day. Pediatric solution is not available at present. Cetirizine is not available in Thailand.

H₂ Antihistamines. Histamine acts on the vascular tree to cause vasodilatation. This involves both H₁ and H₂ receptors distributed throughout the resistance vessels. H₁ receptors have a higher affinity for histamine and mediate a dilator response that is relatively rapid in onset and short lived. By contrast, activation of H₂ receptors cause a dilation

that develops more slowly and is more sustained. The effects of large doses of histamine are completely blocked only by a combination of H_1 and H_2 receptor antagonists.

Cimetidine and ranitidine are H_2 receptor antagonists. Cimetidine and ranitidine have been primarily evaluated as inhibitors of the action of histamine to reduce gastric acid output. However, there is evidence that a combination of H_1 and H_2 antagonist are more effective than either one alone in suppressing immediate and late IgE-mediated cutaneous hypersensitivity reactions⁽⁴⁴⁾ such as chronic urticaria,⁽⁴⁵⁾ and nasal congestion from histamine nasal challenge.⁽⁴⁶⁾ Although H_1 histamine receptor antagonists are effective in the treatment of allergic rhinitis, they often produce only partial relief. A clinical evaluation of the additive effect of the H_2 antagonist, cimetidine, to the H_1 antagonist, chlorpheniramine, significantly reduced allergic symptoms and the need for supplemental medication.⁽⁴⁷⁾ Cimetidine, because of its cost and increasing list of adverse effects, should not be used for routine therapy.

Allergic disorders in which H_1 -receptor antagonists may be useful

H_1 -receptor antagonists provide relief of symptoms in patients with allergic rhinitis and/or allergic conjunctivitis, in allergic skin diseases, such as atopic dermatitis and urticaria, and in asthma and anaphylaxis. Their use in otitis media with effusion (OME), acute otitis media, or in upper respiratory tract infections (URI), although the use is widespread, is controversial. Formulations and recommended dosage of representative H_1 -receptor antagonists are listed in Table 2.

Allergic rhinitis.

H_1 -receptor antagonists are effective in the management of seasonal and perennial allergic rhinitis symptoms, such as rhinorrhea, nasal itching and sneezing.^(48, 49) None of the H_1 -receptor antagonists, including the new, relatively nonsedating medications, are highly effective in prevention of nasal blockage in

antigen challenge tests,⁽⁵⁰⁾ and none relieve nasal blockage, as well as they prevent and relieve rhinorrhea, itching or sneezing. Addition of sympathomimetic, such as pseudoephedrine to an H_1 -receptor antagonist significantly improves relief of congestion, compared to the relief of congestion achieved by the H_1 -receptor antagonist alone.^(51, 52)

Traditionally, all the first generation H_1 antihistamines are usually administered 3 or 4 times daily, but this type of dosage regimen is unnecessarily frequent of these medications, including chlorpheniramine and brompheniramine.^(53, 54 55) The second generation H_1 antihistamine, terfenadine, is generally administered in a dose of 60 mg every 12 hours, but 120 mg every 24 hours is just as effective.⁽⁵⁶⁾

There is renewed interest in topical application of H_1 antihistamine to the nasal mucosa. Topically applied azatadine inhibits the early release of histamine and concomitant symptom after antigen and histamine challenge intranasally.⁽⁵⁷⁾ Topically applied levocabastine, which has the highest potency of any H_1 antihistamine described so far, 15,000 times that of chlorpheniramine, provides significant protection against allergen-triggered allergic rhinitis symptoms.^(58, 59)

H_1 - and H_2 antihistamines administered simultaneously, topically or by mouth, are significantly more effective in blocking nasal congestion than either H_1 or H_2 antihistamine alone. The synergistic effects are not large, however, and have not been found in all studies: therefore, although these findings are of theoretical interest, they are probably not clinically important.^(60, 61)

In prospective, controlled, double-blind studies, H_1 antihistamines are generally found to be less potent than topical corticosteroids in the treatment of allergic rhinitis symptoms.^(62, 63) H_1 antihistamines are less potent than sympathomimetics, such as phenylpropanolamine or pseudoephedrine in the treatment of nasal congestion.^(64, 65) No satisfactory comparison of H_1 antihistamine with

topical disodium cromoglycate in allergic rhinitis exists.

Allergic conjunctivitis.

In patients with allergic conjunctivitis, H_1 antihistamines, administered by mouth, are useful for the relief of ocular symptoms, such as itching, tearing, and erythema.^(62, 63) Potent H_1 antihistamines, such as levocabastine, applied topically to the conjunctivae, also provide relief of allergic conjunctivitis symptoms.⁽⁶⁶⁾

Allergic skin disorders (atopic dermatitis and urticaria)

H_1 antihistamine are commonly prescribed for symptomatic relief of itching in these disorders. Itching is difficult to quantify; nevertheless, it has been observed that H_1 antihistamines have a greater antipruritic effect in allergic skin disorders than in other types of pruritic skin disorders. The mechanism of the antipruritic effect is unknown, but it is not entirely peripheral.⁽⁶⁷⁾ In atopic dermatitis, hydroxyzine has a greater antipruritic effect than cyproheptadine.⁽²⁵⁾ Second-generation H_1 antihistamine, such as astemizole, are not as effective as hydroxyzine in relieving pruritus in atopic dermatitis, suggesting that the sedative effect provided by the first-generation H_1 antihistamine contributes to the relief of pruritus.

In suppression of histamine-induced wheals and flares and in suppression of dermatographism, hydroxyzine is more effective than other first-generation H_1 antihistamine, such as diphenhydramine, chlorpheniramine, promethazine, and cyproheptadine.⁽²⁵⁾ In patients with urticaria, it is generally mentioned that hydroxyzine is superior to other first-generation H_1 antihistamines, in contrast to the author's own study which found that hydroxyzine was not better than chlorpheniramine in treatment of chronic urticaria.⁽⁴⁵⁾ In recent studies in adults with chronic idiopathic urticaria, the second generation H_1 antihistamines, such as terfenadine, astemizole, oxatomide and cetirizine have been well tolerated

and have resulted in significant remission of symptoms, compared to the relief provided by placebo.^(68, 76) A combination of H_1 and H_2 antihistamines may be beneficial in patients with chronic urticaria who do not respond to H_1 antihistamine alone.⁽⁴⁵⁾

Bronchial asthma

In numerous well-designed, double-blind studies, H_1 antihistamines, such as chlorpheniramine, hydroxyzine, clemastine, terfenadine and cetirizine have been proved to have a modest, dose-related bronchodilator effect. In bronchial challenge studies, administered by mouth, intravenously, or by inhalation prevent histamine-, antigen-, hyperventilation-, and exercise-induced asthma⁽⁷⁷⁻⁸²⁾ but not methacholine-induced asthma.⁽⁸³⁾ Azelastine which is promulgated chiefly for their antiallergic effect, also has strong H_1 -receptor antagonist action that may contribute to its bronchodilator action.⁽⁸⁴⁾

H_1 antihistamines are not drugs of first choice for acute or chronic asthma, however, previous concerns about the potential adverse effects of H_1 antihistamine in asthma have been exaggerated. If H_1 antihistamines are required for chronic rhinitis treatment or for treatment of pruritus in patients with allergic skin disorders, they should not be withheld from patients with concurrent asthma.

Anaphylaxis

The initial treatment of choice for anaphylaxis consists of administration of epinephrine, a potent physiologic antagonist of the immediate hypersensitivity response, which prevents further mediator release and "turns off" the adverse reaction. H_1 antihistamines such as hydroxyzine or diphenhydramine, are useful adjuncts to epinephrine for control of pruritus, rhinorrhea, and other symptoms. However, an H_1 antagonist should never replace epinephrine, in the treatment of anaphylaxis. The hypothesis that an H_2 antihistamine, administered concurrently with an H_1 antihistamine to patients with anaphylactic shock might be more effective in treating

hypotension than an H₁ antihistamine alone requires further testing. An H₁ antihistamine can be used by hypodermic or intravenous injection in preparation in the patient who is allergic to iodine contrast media who is going to have iodine x-ray examination, in order to prevent anaphylactic shock from the procedure. However, intravenous administration of cimetidine and ranitidine is not without danger because these medications may cause asystolic if they are administered rapidly.

Otitis media

H₁ antihistamines, often in combination with sympathomimetics, are frequently prescribed for children with otitis media. Only a few well-designed, placebo-controlled, double blind studies in which there is repeated objective assessment of tympanic membrane compliance support the beneficial effects of these medications on eustachian tube function.⁽⁸⁵⁾

OME has a high spontaneous remission rate. In one large study in children who had OME, a 2-week course of ampicillin was superior to a 4-week course of a chlorpheniramine/pseudoephedrine preparation and to placebo.⁽⁸⁶⁾ Triprolidine, either alone or in combination with pseudo-ephedrine, did not shorten the course of chronic serous otitis media, although in patients treated with the combination of medications, the mean pressure gradient across the tympanic membrane was significantly improved.⁽⁸⁷⁾ compared to patients treated with triprolidine alone or with placebo.

In acute otitis media, H₁ antihistamines, such as chlorpheniramine and brompheniramine in combination with sympathomimetics, have generally not been demonstrated to provide statistically significant benefit in terms of resolution of symptoms or prevention of persistent middle ear effusion from developing,^(88, 89) although in one double-blind study, chlorpheniramine, in combination with phenylpropanolamine and phenyltolamine, was more effective than placebo.⁽⁹⁰⁾

There is conflicting evidence as to whether H₁ antihistamines in combination with sympathomimetics prevent acute otitis media from developing in children with URI. In one-double blind study, the incidence of acute otitis media was almost identical in children who received placebo.⁽⁹¹⁾

Upper respiratory tract infections (URI)

Antihistamines used alone or in combination with other drugs have been promoted for treatment of viral URI since the late 1940s. Many of the studies suggesting their usefulness were conducted decades ago and were not randomized, double blind, placebo-controlled clinical trials. Although studies can be found in which H₁ antihistamines, such as chlorpheniramine or terfenadine, were apparently superior to placebo in ameliorating the symptoms of the common cold,^(92, 93) other recent well-designed, placebo-controlled studies do not support the use of oral or topical H₁ antihistamines in prevention or relief of URI.⁽⁹⁴⁾

Antihistamine selection

Antihistamines are frequently prescribed for symptoms of allergic rhinitis, allergic conjunctivitis, serous otitis media, pruritus in allergic skin disorders, and URI. Therapeutic program are often interrupted by complaints of drowsiness and other side effects caused by the antihistamines. Especially for patients with allergic diseases, who are likely to remain on antihistamines for a prolonged period of time, proper antihistamine selection is very important. The selection of an antihistamine that provides both adequate symptom relief and minimal side effects is made difficult by the marked degree of individual variation among patients to antihistamines.⁽⁹⁵⁾ Since it is a matter of individual variations, it is very difficult to indicate which antihistamine is the best, because one antihistamine can give the very good result in some patients but in the other patients who have the same disease may not get the benefit from this antihistamine at all.

The standard antihistamines with several different classes in order of increasing frequency of significant side effects are trimetopazine, chlorpheniramine, hydroxyzine, diphenhydramine, and tripeleminamine.⁽⁹⁶⁾ Second-generation antihistamines produce less or no drowsiness in the patients, so they are preferable to give to the patients who can not tolerate the side effects of standard antihistamines, but the costs of the second-generation antihistamines are high, some poor patients are unable to buy them. In practice, the physician

should start first with the cheap standard H_1 antihistamines, if there is no effect in relief the symptoms, then the antihistamines should be changed to the other standard antihistamine of the different class. If the patients are drowsy from the standard H_1 antihistamine, then the second-generation H_1 antihistamines should be considered. Remember that the physician should prescribe the cheap, well-tolerated and effective antihistamine to the patients.

References

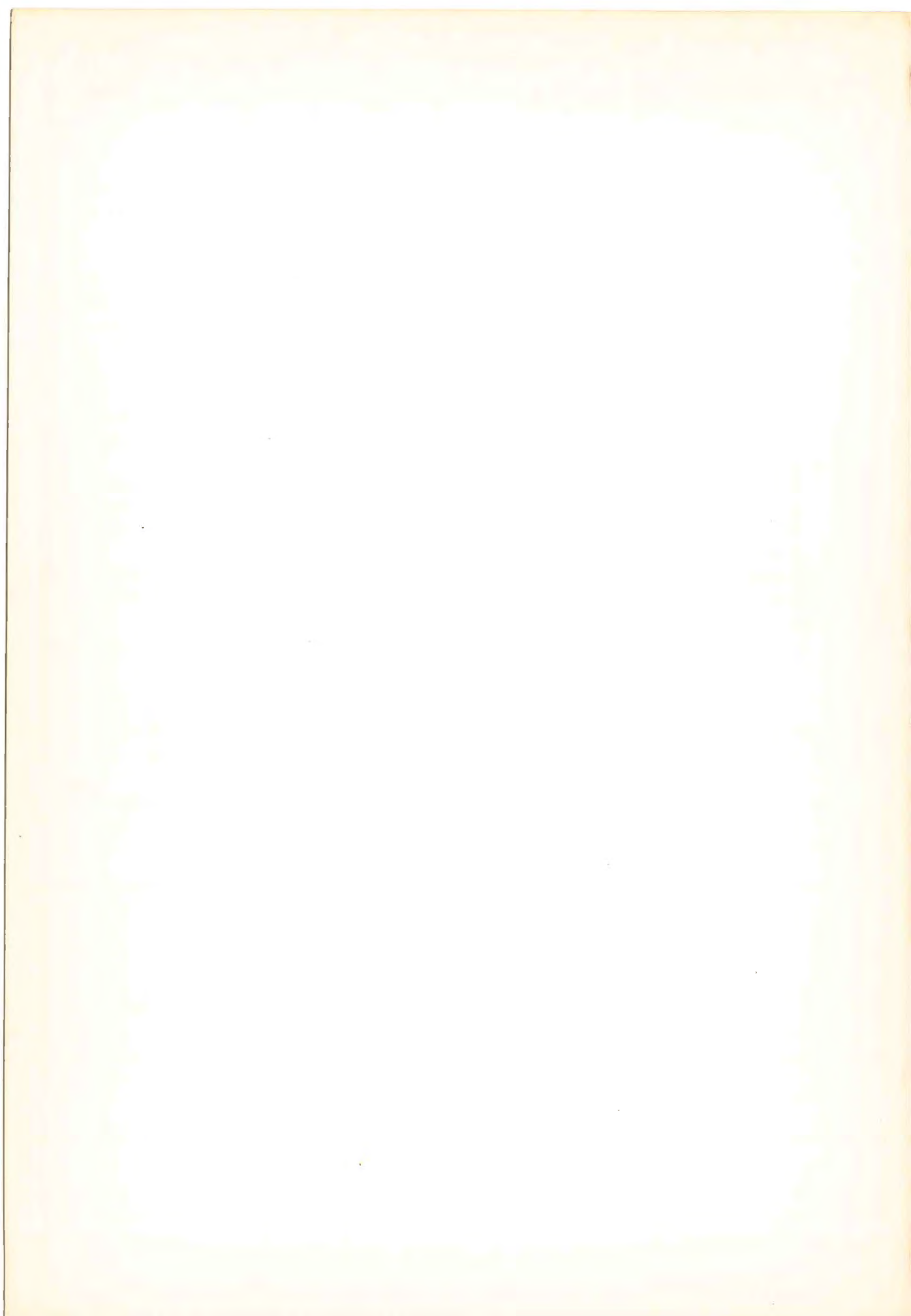
1. Dale HH, Laidlaw PP. The physiological action of beta-aminazolyethylamine. *J Physiol (Lond)* 1910; 41:318-44
2. Riley OF, West GB. The presence of histamine in tissue mast cells. *J Physiol (Lond)* 1953; 120:528-37
3. Piper PJ. Anaphylaxis and the release of active substances in the lunc. *Pharmacol Ther (part B)* 1977; 3:75-98
4. Bovet D, Staub A. Action protectrice des ethers phenoliques au cours de Pintoxication histaminique. *CR Seances Soc Biol (Paris)* 1937; 124:547-9
5. Halpern BN. Les antihistaminiques de synthese. Essais de chimiotherapie des etats allergiques. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1942; 68:339-408
6. Bovet D, Horclois R, Walthert F. Propietes antihistaminiques de la N-p-dimethylaminoethyl alpha-amino-pyridine. *CR Seances Soc Biol (Paris)* 1944; 138:99-100
7. Loew ER, MacMillan R, kiser ME. The antihistamine properties of Beandryl, beta-dimethylaminoethyl benzhydryl ether hydrochloride. *J Pharmacol Exp Ther* 1946; 86:229-38
8. Ash ASF, Schild HQ. Receptors mediating some actions of histamine. *Br J Pharmacol Chemother* 1966; 27:247-39
9. Black JW, Duncan WAM, Durant CJ, Ganellin CR, Parsons ME. Defintion and antagonism of histamine H₂-receptors. *Nature* 1972; 236:385-90
10. Ishikawa S, Sperelakis N. A novel class (H₃) of histamine receptor on perivascular nerve terminals. *Nature* 1987; 327:158-60
11. Arrang JM, Garbarg M, Lancelot JC, Lecomte JM, Pollard H, Robba M, Schunack W, Schwartz JC. Highly potent and selective ligands for histamine H₃-receptors. *Nature* 1987; 327:117-22
12. Ross WJ, Harisson RG, Jolly MRJ, et al. Anaphylactic agents : 1, 2-Acylamino) oxazoles. *J Med Chem* 1979; 22:412-15
13. Togias AG, Naclerio RM, Warner J, et al. Demonstration of inhibition of mediator release from human mast cells by azata-dine base. *JAMA* 1986; 255:225-9
14. Chand N, Pillar J, Diamantis W, et al. Inhibition of IgE-mediated allergic histamine release from rat perinatal mast cells by azelastine and selected antiallergic drugs. *Agents Actions* 1985; 16:318-21
15. Fields DAS, Pillar J, Diamantis W, et al. Inhibition by azelastine of nonallergic histamine release from rat peritoneal mast cell. *J Allergy Clin Immunol* 1984; 73:400-3
16. Simons FER, Luciuk GH, Simons KJ. Pharmacokinetics and efficacy of chlorphenamine in children. *J Allergy Clin Immunol* 1982; 69:376-81
17. Simons FER, Simons KJ, Frith EM. Pharmacokinetics and antihistaminic effects of the H₁ receptor antagonist hydroxyzine. *J Allergy Clin Immunol* 1984; 73:69-75
18. Taylor RJ, Lone WF, Nelson HS. The development of subsensitivity to chlorpheniramine. *J Allergy Clin Immunol* 1985; 76:103-7
19. Bye CE, Claridge, Pech AW et al. Evidence for tolerance to the central nervous effects of the antihistamine antagonist, triprolidine, in man. *Eur J Clin Pharmacol* 1977; 12: 181-3
20. Sue MA, Tarnasky PR, Abernathy SB, et al. A comparison of six antihistamine drug in the treatment of perennial allergic rhinitis. *Immunol Allergy Pract* 1986; 8:193-7
21. Connell JT. A novel method to asses anti-histamine and decongestant efficacy. *Ann Allergy* 1979; 42:278-85
22. McEvoy GK (ed). American Hospital Formulary Service. Drug Information 86. Bethesda, MD, American Society of Hospital Pharmacists, Inc., 1986, pp 2-28

23. Connell JT, Williams BO, Allen S, et al. A double-blind controlled evaluation of Actifed and its individual constituents in allergic rhinitis. *J Int Med Res* 1982; 10: 341-6
24. Lewiston NJ, Johnson S, Sloan E. Effect of antihistamine on pulmonary function of children with asthma. *J Pediatrics* 1982; 101:458-60
25. Long WF, Taylor RJ, Wagner CJ, et al. Skin suppression by antihistamines and the development of subsensitivity. *J Allergy Clin Immunol* 1985; 76:113-6
26. Sorkin EM, Heal RC. Terfenadine. A review of its pharmacodynamic properties and therapeutic efficacy. *Drugs* 1985; 29:34-56
27. Kemp JP, Buckley CE, Gershwin ME, et al. Multicenter, double-blind placebo controlled trial of terfenadine in seasonal allergic rhinitis and conjunctivitis. *Ann Allergy* 1985; 54:502-9
28. Moser L. Effects of terfenadine and diphenhydramine alone or in combination with diazepam or alcohol on psychomotor performance and subjective feelings. *Eur J Clin Pharmacol* 1978; 14:417-21
29. Chapman PH, Rawlins MD. A randomized single-blind study of astemizole and chlorpheniramine in normal volunteers. *Br J Clin Pharmacol* 1983; 13:593-7
30. Howarth PH, Emanuel MB, Holgate SJ. Astemizole, a potent histamine H_1 antagonist: Effect in allergic rhinoconjunctivitis, on antigen and histamine induced skin wheal responses and relationship to serum levels. *Br J Clin Pharmacol* 1984; 18:1-5
31. Knight A. Astemizole - a new, non-sedating antihistamine for hay fever. *J Otolaryngol* 1985; 14:85-9
32. Wihl JA, Nuchel Peterson B, Nuchel Peterson L, et al. effect of the non-sedative H_1 receptor antagonist astemizole in perennial allergic and nonallergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol* 1985; 75:720-7
33. Oo J. Primalan. TIMS manual 1989, TIMS publisher, Singapore 1989 p. 817
34. Barnhart E. Production information. PDR ed 23, 1989:1899-900
35. Oo J. Zadine, TIMS 1989? TIMS publisher, Singapore 1989 p. 832
36. Awouters F. Oxamide, a new orally active drug which inhibits both the release and effects of allergic mediators. *Experientia* 1977; 33:1657-8
37. Tasaka K, Akagi M, Mio M, et al. Inhibitory effects of Oxatomide on intracellular Ca mobilization, Ca uptake and histamine release, using rat peritoneal mast cells. *Int. Archs Allergy appl. Immun.* 1987; 82: 348-53
38. Clissold SP, Sorkin EM and Goa KL. Loratadine. A preliminary review of its pharmacodynamic properties and therapeutic efficiency. *Drugs* 1989; 37:42-57
39. Kreutner W, Chapman RW, Gulbenkian A, et al. Antiallergic activity of Loratadine, a non-sedating antihistamine. *Allergy* 1987; 42:57-63
40. Snyder SH, and Snowman AM. Receptor effects of cetirizine. *Ann. Allergy* 1987; 59 (Part II):4-8
41. Maddox DE, and Reed CE. Clinical pharmacodynamics of antihistamines. *Ibid.*: 43-48
42. Wasserman SI, Histamine and the preclinical pharmacology of cetirizine. *Ibid.*:1-3
43. Wood SG, John BA, Chasseaud LF, et al. The metabolism and pharmacokinetics of ^{14}C -cetirizine in humans. *Ibid.*:31-34
44. Smith JA, Mansfield LE, de Shazo RD, et al. An evaluation of the pharmacologic inhibition of the immediate and late cutaneous reaction to allergens. *J Allergy Clin Immunol* 1980; 105:118-9
45. Wongsathuaythong S, Rochananonda Ch. H_2 -antihistamine (cimetidine) in the treatment of chronic urticaria. *RTA Med J* 1984; 37:95-101

46. Secher C, Kirkegaard J, Borum P, et al. Significances of H_1 and H_2 receptors in the human nose. Rationale for topical use of combined antihistamine preparations. *J Allergy Clin Immunol* 1982; 70:211-8
47. Carpenter GB, Bunker-Soler AL, Nelson HS. Evaluation of combined H_1 and H_2 receptor blocking agents in the treatment of seasonal allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol* 1983; 71:412-7
48. Connell JT, Howard JC, Dressler W, et al. Antihistamines: finding in clinical trials relevant to therapeutics. *Am J Rhin* 1987; 1:3-16
49. Skassa-Brociek W, Bousquet J, Montes F, et al. Double-blind placebo-controlled study of loratadine, mequitazine, and placebo in the symptomatic treatment of seasonal allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol* 1988; 81:725-30
50. Rökenes HK, Anderson B, Rundcrantz H. Effect of terfenadine and placebo on symptoms after nasal allergen provocation. *Clin allergy* 1988; 18:63-9
51. Diamond L, Gerson, Cato A, et al. An evaluation of triprolidine and pseudoephedrine in the treatment of allergic rhinitis. *Ann Allergy* 1981; 47:87-91
52. Dockhorn RJ, Shellenberger MK, Hassani R. Efficacy of SCH434 (Loratadine plus pseudoephedrine) versus components and placebo in seasonal allergic rhinitis. (Abstracts). *J Allergy Clin Immunol* 1988; 81:178
53. Brostoff J, Lockhart JDF. Controlled trial of terfenadine and chlorpheniramine maleate in perennial rhinitis. *Postgrad Med J* 1982; 58:422-3
54. Georgitis JW, Shen D. Nasal pharmacodynamics of brompheniramine in perennial rhinitis. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1988; 114:63-7
55. Gutkowski A, Del Carpio J, Gelinas B, et al. Comparative study of the efficacy, tolerance, and side-effects of dexchlorpheniramine maleate 6 mg bid with terfenadine 60 mg bid. *J Int Med Res* 1985; 13:284-8
56. Murphy-O'Conner JC, Renton RL, Westlake DM. Comparative trial of two doses regimens of terfenadine in patients with hay fever. *J Int Med Res* 1984; 12:233-7
57. Togias A, Proud D, Kagey-Sobotka A, et al. The effect of a topical tricyclic antihistamine on the response of the nasal mucosa to challenge with cold, dry air and antihistamine. *J Allergy Clin Immunol* 1987; 79:599-604
58. Bende M, Pipcorn U. Topical levocabastine, a selective H_1 antagonist, in seasonal allergic rhinoconjunctivitis. *Allergy* 1987; 42:512-5
59. Pecoud A, Zuber P, Kolly M. Effect of a new selective H_1 receptor antagonist (levocabastine) in a nasal and conjunctival provocation test. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1987; 82:541-3
60. Havas TE, Cole P, Parker L, et al. The effects of combined H_1 and H_2 histamine antagonists on alterations in nasal airflow resistance induced by topical histamine provocation. *J Allergy Clin Immunol* 1986; 78:856-60
61. Secher C, Kirkegaard J, Borum P, et al. Significance of H_1 and H_2 receptors in the human nose: rationale for topical use of combined antihistamine preparations. *J Allergy Clin Immunol* 1982; 70:211-8
62. Beswick KBJ, Kenyon GS, Cherry JR. A comparative study of beclomethasone dipropionate aqueous nasal spray with terfenadine tablets in seasonal allergic rhinitis. *Curr Med Res Opin* 1985; 9:560-7
63. Wood SF. Oral antihistamine or nasal steroid in hay fever: a double-blind double-dummy comparative study of once-daily oral astemizole vs twice-daily nasal beclomethasone dipropionate. *Clin Allergy* 1986; 16:195-201
64. Falliers CJ, Redding MA. Controlled comparison of a new antihistamine-decongestant combination to its individual components. *Ann Allergy* 1980; 45:75-80

65. Druin MA. Combinations of antihistamines with decongestant. XIII International Congress of Allergology and Clinical Immunology Montreux, Switzerland, Oct. 1988
66. Pipkorn U, Bende M, Hedner J, et al. A double-blind evaluation of topical levocabastine, a new specific H_1 antagonist in patients with allergic conjunctivitis. *Allergy* 1985; 40:491-6
67. Krause L, Shuster S. Mechanism of action of antipruritic drugs. *Br Med J* 1983; 287:1199-1200
68. Bernstein IL, Bernstein DI. Efficacy and safety of astemizole, a long acting and non-sedating H_1 antagonist for the treatment of chronic idiopathic urticaria. *J Allergy Clin Immunol* 1986; 77:37-42
69. Fox RW, Lockey RF, Bukantz SC, et al. The treatment of mild to severe chronic idiopathic urticaria with astemizole: double-blind and open trials. *J Allergy Clin Immunol* 1986; 78:1159-66
70. Grant JA, Bernstein DI, Buckley CE, et al. Double-blind comparison of terfenadine, chlorpheniramine, and placebo in the treatment of chronic idiopathic urticaria. *J Allergy Clin Immunol* 1988; 81:574-9
71. Juhlin L, Arendt C. Treatment of chronic urticaria with cetirizine dihydrochloride, a non-sedating antihistamine. *Br J Dermatol* 1985; 67-72
72. Krause LB, Shuster S. A comparison of astemizole and chlorpheniramine in dermatographic urticaria. *Br J Dermatol* 1985; 112:447-53
73. Salisbury J, Bor S, Blair C. A double-blind, placebo-controlled study of terfenadine in the treatment of chronic idiopathic urticaria. *Br J Clin Pract* 1987; 41:859-61
74. Peremans W, Martens RLJ, Marias, J et al. Oxatomide in the treatment of chronic urticaria. *Dermatologica* 1981; 162:42-50
75. Monroe EW. Antihistamines in skin allergies. XIII International Congress of Allergology and Clinical Immunology Montreux, Switzerland Oct. 1988
76. Paul E, Bodecker RH. Comparison between astemizole and terfenadine in the treatment of chronic urticaria. A randomized double-blind study on 40 patients. *Z. Hautk.* 1985; 60 (Suppl. 1):50-4
77. Chan TB, Shelton DM, Eiser NM. Effect of an oral H_1 -receptor antagonist, terfenadine, on antigen-induced asthma. *Br J Dis Chest* 1986; 80:375-84
78. Clee MD, Ingram CG, Reid PC, et al. The effect of astemizole on exercise-induced asthma. *Br J Dis Chest* 1984; 78:180-3
79. Patel KR. Terfenadine in exercise-induced asthma. *Br Med J* 1984; 288:1496-7
80. Rafferty P, Holgate ST. Terfenadine (Seldane) is a potent and selective histamine H_1 receptor antagonist in asthmatic airways. *Am Rev Respir Dis* 1987; 135:181-4
81. Brik A, Tashkin DP, Gong H, et al. Effect of citirizine, a new histamine H_1 antagonist, on airway dynamics and responsiveness to inhaled histamine in mild asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1987; 80:51-6
82. Badier M, Beaumont D, Orehek J. Attenuation of hyperventilation-induced bronchospasm by terfenadine: a new antihistamine. *J Allergy Clin Immunol* 1988; 81:437-40
83. Patel KR. Effect of Terfenadine on methacholine-induced broncho-constriction in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1987; 79:355-8
84. Kemp JP, Meltzer EO, Orgel HA, et al. A dose-response study of the bronchodilator action of azelastine in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1987; 89:893-9
85. Stillwagon PK, Doyle WJ, Fireman P. Effect of an antihistamine-decongestant on nasal and eustachian tube function following intranasal pollen challenge. *Ann Allergy* 1987; 58:442-6
86. Mandel EM, Rockette HE, Bluestone CD, et al. Efficacy of amoxicillin with and without decongestant-antihistamine from otitis media with effusion in children. *New Engl J Med* 1987; 316:432-7

87. Pierson WE, Kraemer MJ, Perkins GJ, et al. Antihistamine and decongestant therapy for eustachian tube dysfunction in allergic children. (Abstract) *J Allergy Clin Immunol* 1982; 69:143
88. Bhambhani K, Foulds DM, Swamy KN, et al. Acute otitis media in children: decongestants or antihistamines necessary? *Ann Emerg Med* 1983; 12:13-16
89. Schnore SK, Sangster JI, Gerace TM, et al. Are antihistamine-decongestants of value in the treatment of acute otitis media in children? *J Family Pract* 1986; 22:39-43
90. Moran DM, Mutchie KD, Higbee MD, et al. The use of an antihistamine-congestant in conjunction with an anti-infective drug in the treatment of acute otitis media. *J Pediatr* 1982; 101:132-6
91. Randall JE, Hendley JO. A decongestant-antihistamine mixture in the prevention of otitis media in children with colds. *Pediatrics* 1979; 63:583-5
92. Hanauer SA, Glück U. Efficacy of terfenadine in the treatment of common cold: a double-blind comparison with placebo. *Eur J Clin Pharmacol* 1988; 34:35-40
93. Howard JC, Kantner TR, Lilienfield LS, et al. Effectiveness of antihistamine in the symptomatic management of the common cold. *JAMA* 1979; 242:2414-7
94. Gaffey MJ, Gwaltney JM Jr, Sastre A, et al. Intranasally and orally administered antihistamine treatment of experimental rhinovirus colds. *Am Rev Respir Dis* 1987; 136:556-60
95. Goodman & Gilman. The pharmacological basis of therapeutics: Histamine antagonist: H₁-and H₂-blocking agents. ed. 6, 1980:622
96. von Maur K. Antihistamine selection in patients with allergic rhinitis. *Ann Allergy* 1985; 55:458-62



การจัดทำวารสารเภสัชวิทยา เป็นภารกิจหนึ่งที่สมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย ได้ดำเนินการต่อเนื่องกันมาเป็นปีที่ 15 เพื่อเป็นการส่งเสริมความก้าวหน้าทางวิชาการ อีกทั้งเป็นการบริการต่อสมาชิกและสังคมโดยส่วนรวมอีกด้วย ในการดำเนินการที่ผ่านมา ภาระค่าใช้จ่ายของสมาคมฯเพิ่มมากขึ้นทุกปี หากมิได้รับการสนับสนุนจากบริษัทห้างร้านต่างๆ ย่อมมีสภาพทำงานลุล่วงไปได้ สมาคมฯจึงขอถือโอกาสขอบคุณทุกท่านที่ให้การสนับสนุน ด้วยดีตลอดมาโดยเฉพาะอย่างยิ่งเนื้อที่ส่วนนี้ได้รับการสนับสนุนจาก บริษัท โอเอสสกา (เติกเฮงหยู) จำกัด ซึ่งได้สนับสนุนกิจการของสมาคมฯต่อเนื่องมาทุกปี จึงขอถือโอกาสขอบคุณอีกครั้ง

บรรณาธิการวารสารเภสัชวิทยา



®

Trental 400

active ingredient : Pentoxifylline

improves cerebral perfusion and mental function



Patients suffering from cerebrovascular disease are the victims of inadequate blood flow due to obstructive arterial processes as well as platelet adhesion and aggregation.

An acute reduction of cerebral blood flow may result in transient ischaemic attacks or even in stroke leading to reversible or irreversible neurological deficits.

A chronic decrease in cerebral blood flow, however, may be manifested by disorders of mental function, behavioural changes and somatic disorders.

Haemorheological and antiplatelet medication has the objective to prevent recurrent ischaemic attacks and to improve cognitive and mental function.

Trental400 exerts neuropharmacological effects and improves the nutritive microcirculation by

- restoring red cell deformability
- decreasing blood viscosity
- inhibiting platelet aggregation

Trental400 the haemorheological and antiplatelet approach in the treatment of cerebrovascular disease

Prescribing information: Active ingredient: Pentoxifylline 400 mg. **Indications:** Conditions associated with cerebrovascular insufficiency, such as impairment of concentration and memory, vertigo, sleep disturbances, headache, tinnitus, low drive, sequelae of cerebrovascular accidents. Peripheral occlusive arterial disease, and circulatory disorders of arteriosclerotic, diabetic, inflammatory or functional origin, trophic disorders, lower leg ulcer and gangrene. **Dosage:** 1 tablet, 2-3 times daily, after meals. To be swallowed whole with some liquid. **Contraindication:** Hypersensitivity to pentoxifylline, severe haemorrhage, acute myocardial infarction, pregnancy, massive retinal haemorrhage. **Side effects:** GI disturbance, headache, cutaneous hypersensitivity, dizziness, bleeding (eg. skin, mucosa etc), thrombocytopenia, flushing, tachycardia, angina pectoris, hypotension **Interactions:** hypotensive agents.

Reference:-

1. Martin P. Vives P. Curr. Med Res Opin 6, 518 (1980)
2. Lechner H. Ott E. La Ricerca XI (Suppl 1) 247, 253 (1981)
3. Kobayashi I. et al, Stroke, 7, 406 (1976)

further information available on request

Hoechst Thai Ltd Pharmaceutical Dept.
302 Siem Rd Bangkok Tel: 233-2981-9

Hoechst

