

บทที่ 1

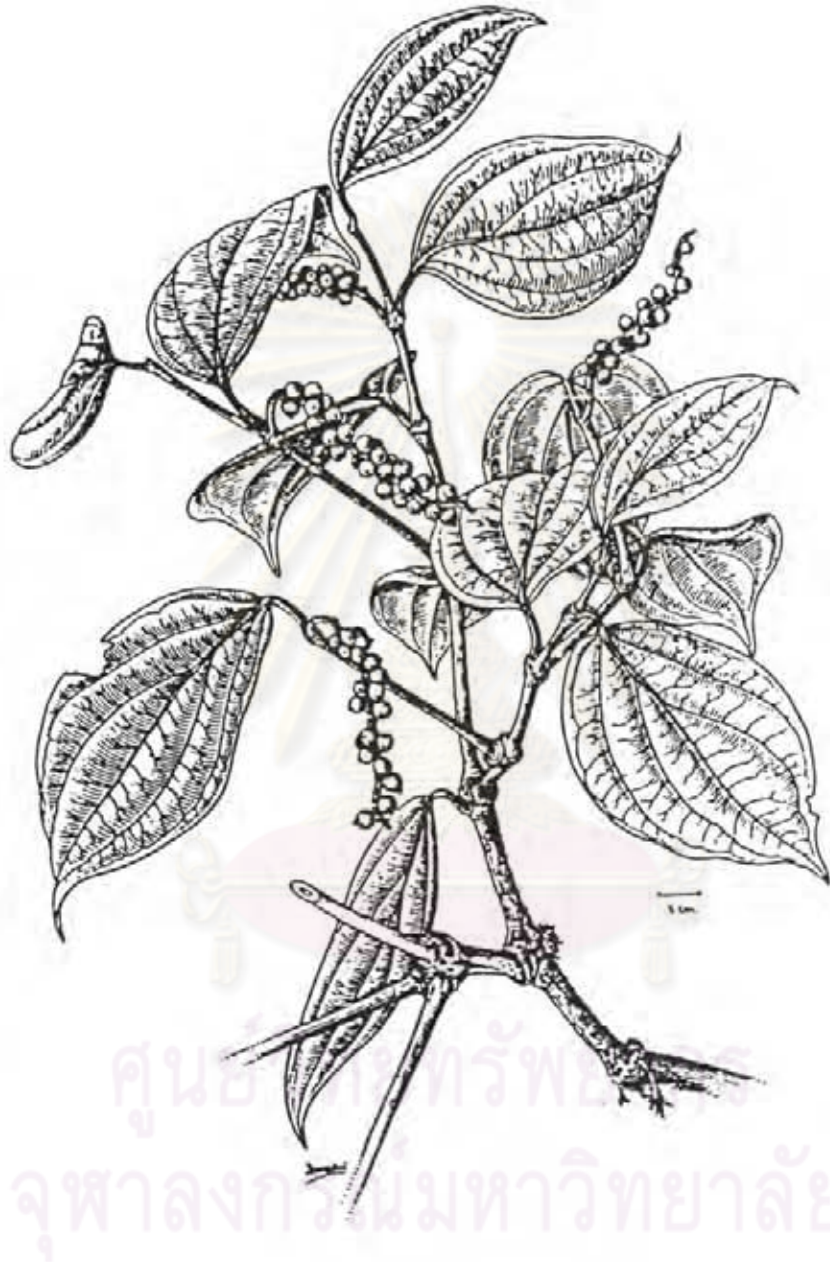
บทนำ

พริกไทย "ราชาแห่งเครื่องเทศ" (King of Spices) (บัญญัติ สุขศรีงาม, 2527) มีชื่อเรียกกันโดยทั่วไป คือ ทางภาคเหนือเรียก พริกน้อย ชาวจีนเรียก โช่วเจีย มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Piper nigrum* Linn. จัดอยู่ในวงศ์ Piperaceae (นิจศิริ เรื่องรังษี, 2534) มีถิ่นกำเนิดอยู่ในประเทศอินเดียแล้วแพร่เข้าสู่ประเทศพม่า สำหรับในประเทศไทยนั้น มีรายงานว่า ได้มีการปลูกพริกไทยเป็นเวลานานแล้ว และถือเป็นสินค้าออกที่สำคัญ ดังเช่นในพุทธศตวรรษที่ 22 ประเทศไทยได้มีการค้าขายพริกไทยกับประเทศอังกฤษ พริกไทยปลูกมากแถบจังหวัด จันทบุรีและจังหวัดต่างๆในภาคตะวันออก นอกจากนี้ยังปลูกกันในหลายจังหวัดทางภาคใต้ และภาคกลาง (พิทักษ์ อาภาศิริผล, 2517)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของพริกไทย

พริกไทย (*Piper nigrum* Linn.) เป็นไม้เถาที่มีอายุยืน ลำต้นสูงประมาณ 5 เมตร มีลักษณะเป็นข้อๆ คล้ายต้นพลู มีรากขนาดเล็กออกมาตามข้อเพื่อให้อึดเกาะกับลำต้นและไม้ค้ำ ส่วนรากที่หยั่งลึกลงสู่พื้นดินจะมีขนาดใหญ่มีประมาณ 3-6 รากใบมีสีเขียวสด ทั่วไปรีใหญ่ยาว 8-16 เซนติเมตร กว้าง 4-7 เซนติเมตร ปลายใบแหลม ฐานใบมน ขอบใบเรียบท้องใบมีสีเขียว ออกเทา ดอกมีขนาดเล็กเป็นดอกช่อ ในขณะที่ดอกช่อยังอ่อนอยู่จะมีสีเหลืองอมเขียวเมื่อแก่เป็น สีเขียว ดอกช่อมีความยาวประมาณ 2 1/2 - 4 1/2 นิ้ว ดอกจะบานอยู่ประมาณ 5-7 วัน ผลมี รูปกลม ขนาดเล็ก เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1/3 - 1/4 นิ้ว ผลที่อ่อนจะมีสีเขียวจะเปลี่ยนเป็น สีเหลืองเมื่อแก่ และเป็นสีแดงหรือสีแดงเมื่อสุก ตั้งแต่เริ่มออกดอกจนกระทั่งเก็บเกี่ยวผลใช้เวลา ประมาณ 6 เดือน การขยายพันธุ์โดยการเพาะเมล็ด (ดังแสดงในรูปที่ 1)

พริกไทยที่ใช้ในทางการค้ามีทั้งพริกไทยสดและพริกไทยแห้ง พริกไทยสดมักนำไปใช้ประกอบอาหารพวกเครื่องแกงต่าง ๆ ส่วนพริกไทยแห้ง มี 2 ชนิด คือ พริกไทยดำ (Black pepper) และพริกไทยอ่อน (White pepper) ซึ่งได้จากผลพริกไทยที่มีวิธีเก็บและเตรียมต่างกัน พริกไทยดำเป็นผลที่โตเต็มที่แต่ยังไม่สุก เมื่อเก็บจากต้นแล้วนำมาทำให้แห้ง ส่วนพริกไทยอ่อน นั้นเก็บผลสุก นำมาแช่น้ำเพื่อลอกเอาเปลือกชั้นนอกออกไป และนำมาผึ่งให้แห้ง (นิจศิริ เรื่องรังษี, 2534)



รูปที่ 1 แสดงต้นพริกไทย

สารเคมีที่สำคัญในพริกไทย

พริกไทยดำมีน้ำมันระเหยอยู่ร้อยละ 2-4 มีอัลคาลอยด์หลัก คือ สารไปเปอริน (piperine) ร้อยละ 6 - 9 (Vichoever and Cohen, 1938) อัลคาลอยด์ชนิดอื่นที่พบมี piperidine, piperettine และอัลคาลอยด์ที่พบในปริมาณน้อย อื่น ๆ อีก 3-4 ชนิด คือ piperyline, piperolein A , piperolein B และ piperanine สำหรับ piperine และ piperanine เป็นอัลคาลอยด์ที่ทำให้เกิดกลิ่นฉุนและรสเผ็ด

พริกไทยล่อนมีปริมาณน้ำมันระเหยต่ำกว่าพริกไทยดำ แต่ความหอมและอัลคาลอยด์นั้นมีเท่าในพริกไทยดำ โดยพริกไทยทั้ง 2 ชนิด มีโปรตีนอยู่ร้อยละ 11 คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 65

สรรพคุณทางยาไทยแผนโบราณของพริกไทย

การใช้พริกไทยส่วนใหญ่มุ่งเน้นหลักในด้านช่วยปรุงแต่งรสชาติอาหารต่าง ๆ เป็นสำคัญ แต่การใช้พริกไทยมีรสเผ็ดร้อนอยู่ด้วยจึงได้มีผู้นำไปใช้ประโยชน์ในทางยา มากมาย ซึ่งในทางยานิยมใช้พริกไทยดำมากกว่าพริกไทยล่อน โดยสรรพคุณทางยาไทยของพริกไทยพอที่จะสรุปได้ดังนี้ พริกไทยใช้ขับเหงื่อ ขับลม ขับปัสสาวะ กระตุ้นปฏิกิริยาที่ลิ้น ซึ่งยังผล ให้กระเพาะอาหารหลั่งน้ำย่อยเพิ่มขึ้น (นิจศิริ เรื่องรังษี, 2534) รักษาอาการนอนไม่หลับ แก้เสลด เสมหะ หอบ ไอ สะอึก เป็นยาบำรุงธาตุ ขับลมในลำไส้ ไข้ผื่นแค้นร่ามะนาต (ไชยยศ ทิปกร จันทรพิทักษ์, 2515) ในต่างประเทศใช้เป็นยาทำแท้ง (Piyachaturawat, Glinsukon and Peugvicha, 1982) และมีรายงานว่าในประเทศจีนใช้ piperine ซึ่งเป็นอัลคาลอยด์หลักของพริกไทยรักษาโรคลมบ้าหมู (antiepileptic) ได้ในปี 2517 นอกจากนี้มีการใช้พริกไทยในการรักษาอาการปวดตามบริเวณหัวใจและเป็นส่วนผสมของยาอายุวัฒนะอีกด้วย (ไชยยศ ทิปกร จันทรพิทักษ์, 2515)

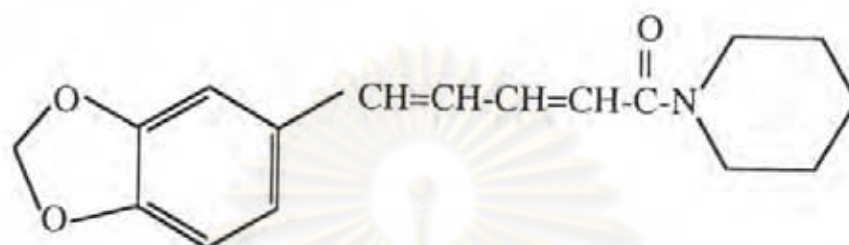
สารไปเปอริน (piperine)

piperine (1-piperoyl piperidine) เป็นอัลคาลอยด์หลักของพริกไทย ซึ่งพบได้ประมาณ 6-9% ของผลพริกไทย (Vichoever and Cohen, 1938)

การศึกษาทางเภสัชเคมี

สารไปเปอริน เป็นอัลคาลอยด์ ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นต่างอ่อน มีสูตรโมเลกุลคือ $C_{17}H_{19}O_3N$ (ดังรูปที่ 2) น้ำหนักโมเลกุล 285.16 ความถ่วงจำเพาะ 1.193 สารนี้ไม่ละลาย

ในน้ำเย็น สามารถละลายได้เล็กน้อยในน้ำร้อน ละลายได้ดีใน chloroform, ether, benzene โดยมีค่าการละลาย (solubility) เท่ากับ 6 - 7 % ในแอลกอฮอล์ที่อุณหภูมิ 23 องศาเซลเซียส (Vichoever and Cohen, 1938)



รูปที่ 2 แสดงสูตรโครงสร้างของไปเปอริน

การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

เริ่มมีรายงานการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาครั้งแรกโดย Stecher (1960) พบว่าสารไปเปอรินมีฤทธิ์ช่วยให้นอนหลับ ขับลม บรรเทาอาการเจ็บปวด และไข้ แก้ไข้ หลังจากนั้นได้มีการศึกษากันอย่างกว้างขวางมากขึ้น ซึ่งจะนำมาสรุปฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาต่อระบบต่างๆ ได้ดังนี้

Gastrointestinal tract

สารไปเปอรินมีฤทธิ์เพิ่มการหดตัวของ longitudinal muscle strip ในหนูตะเภาได้ ซึ่งการหดตัวนี้ถูกยับยั้งได้เมื่อให้ tetrodotoxin ร่วมกับการเกิด desensitization ของ substance P (Takaki, et al., 1990) นอกจากนี้ยังเกิด cross-tachyphylaxis ได้ระหว่างสารไปเปอริน และแคปไซซิน ซึ่งเชื่อว่าสารทั้งสองชนิดน่าจะมกลไกในการออกฤทธิ์คล้ายคลึงกัน (Bartho and Szolscanyi, 1978)

Respiratory system

สารไปเปอรินสามารถเพิ่มการหดตัวของหลอดลมที่แยกจากกายของหนูตะเภาได้ (Bartho and Szolscanyi, 1978)

Neuropharmacology

Chow (1974); Pei และ Tao (1974) พบว่าสารไปเปอรินมีฤทธิ์ต้านการชักได้ ซึ่งกลไกการต้านชักยังไม่ทราบแน่ชัด แต่คาดว่ามีผลเกี่ยวข้องกับ central serotonergic system โดยพบว่าสารไปเปอรินสามารถกระตุ้นให้มีการสังเคราะห์ 5-HT ในสมองของหนูขาวได้ (Liu, et al., 1984) นอกจากนี้มีการศึกษาของ Mori, Kabuto, และ Pei (1985) พบว่าเมื่อให้สารไปเปอรินขนาด 60 mg/kg ทางหน้าท้องมีผลเพิ่มระดับ 5-HT ในสมองหนูถีบจักร ส่วน cerebral cortex ได้และเชื่อว่าเป็นกลไกที่สำคัญในการต้านชัก

Reproductive system

สารไปเปอรินขนาด 12.5 mg/kg ให้ทางหน้าท้องหรือทางปากวันละ 2 ครั้ง สามารถยับยั้งการตั้งครรภ์ของหนูถีบจักรได้ ทั้งในระยะก่อนและหลัง implantation periods โดยเชื่อว่าสารไปเปอรินไปออกฤทธิ์ยับยั้ง uterine contraction ทั้งใน vitro และ vivo และเชื่อว่าการยับยั้งการตั้งครรภ์ของสารไปเปอรินไม่ผ่านระบบฮอร์โมน (Piyachaturawat, Glinsukon and Peugvicha, 1982) นอกจากนี้การศึกษาของ Piyachaturawat และคณะ (1991) พบว่าสารไปเปอรินยับยั้งการผ่านเข้าของแคลเซียมของอสุจิในระหว่างการผสมพันธุ์ระหว่างตัวอสุจิกับไข่ (capacitation) เชื่อว่าเป็นสาเหตุทำให้ความสามารถของตัวอสุจิในการผสมพันธุ์ลดลง

Cardiovascular system

มีรายงานครั้งแรกโดย Szolcsanyi และ Janossy (1977) โดยพบว่าสารไปเปอรินที่ฉีดให้ในแมวและหนูทำให้สลบ เกิดปรากฏการณ์ Bezold-Jarisch Reflex (apnea, bradycardia, hypotension) แต่เมื่อตัดเส้นประสาท vagus nerve ออกทั้ง 2 ข้างจะไม่เกิดปรากฏการณ์นี้ขึ้น นอกจากนี้ในปี 1987 การศึกษาของ อัญชลี อักขระชาตะ ได้ทดลองโดยการฉีดสารไปเปอรินเข้าทางหลอดเลือดดำของหนูขาวพบว่า การออกฤทธิ์ของ สารไปเปอรินบางส่วนสามารถไปกระตุ้นสมองส่วนซิมพาเทติกและบางส่วนมีผลโดยตรงต่อบริเวณส่วนปลายประสาทซิมพาเทติก ทำให้มีการหลั่งสารพวก Catecholamine

สารไปเปอริน มีผลทำให้เกิด positive inotropic effect และ positive chronotropic effect ได้ในหัวใจห้องบนของหนูขาว ซึ่งกลไกการออกฤทธิ์เชื่อว่าสารไปเปอรินมีผลกระตุ้นการหลั่งของ endogenous CGRP (Calcitonin gene - related peptide) จาก intracardiac non-adrenergic non-cholinergic nerves (Miyachi, et al., 1988)

Other Pharmacological effects of piperine

การศึกษาของ Micevych, Yaksh และ Szolcsanyi (1983) และ Jhamandas, Yaksh และคณะ (1984) พบว่า การให้ไปเปอรินทางไขสันหลัง (intrathecal) จะมีการลดลงของ substance P ใน spinal cord ได้

Kawada และคณะ (1988) ได้ทำการศึกษาเมื่อให้สารไปเปอรินพบว่ามี การกระตุ้นการหลั่ง catecholamine เช่น epinephrine จาก adrenal medulla ในหนูที่ทำให้สลบได้

สารไปเปอรินมีฤทธิ์ต้านการอักเสบได้เมื่อกระตุ้นการอักเสบด้วย carragenin-induced rat paw edema, cotton pellet granuloma, croton oil - induce granuloma pauch (Mujumdar, et al., 1990)

นอกจากนี้ยังพบว่าสารไปเปอรินไม่ใช่ hepatotoxic agent (Dalvi, 1991) แต่มีฤทธิ์เป็น hepatoprotective agent (Koul and Kapil, 1993)

การศึกษาทางด้านพิษวิทยา

การศึกษา acute toxicity ในหนูขาวและหนูถีบจักรโดยให้สารไปเปอรินเพียงครั้งเดียว (single dose) พบว่าในหนูขาวค่า LD₅₀ เมื่อให้ทาง intraperitoneal เท่ากับ 38.5 mg/kg body wt. เมื่อให้ lethal dose พบว่า จะเกิดการตายจาก respiratory paralysis ภายใน 3-17 นาที

สำหรับการศึกษา subacute toxicity พบว่าเพื่อให้สารไปเปอรินทาง intragastric แก่หนูขาวขนาด 100, 250, 350 และ 500 mg/kg วันละครั้ง เป็นเวลา 7 วัน พบว่าหนูขาวจะเกิดการตายภายใน 1-3 วัน โดยพบว่าการเปลี่ยนแปลงทาง histopathology มีการเกิด hemorrhagic necrosis, edema ใน gastrointestinal tract และใน urinary bladder, adrenal gland (Piyachaturawat, Glinsukon and Toskulkaeo, 1983) สำหรับการวิจัยครั้งนี้ได้ศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของไปเปอรินต่อการหดตัวของหลอดเลือดตั้งนั้นจึงขอกกล่าวถึงกลไกการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบและบทบาทของเยื่อหลอดเลือดเนื่องจากเป็นทฤษฎีที่ได้อธิบายถึงกลไกการหดตัวและคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบไว้พอเป็นสังเขป ดังนี้



บทบาทของแคลเซียมต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ

กลไกการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบนั้นในปัจจุบัน เป็นที่ทราบกันดีอยู่แล้วว่ามีความเกี่ยวข้องกับแคลเซียม (Ca^{2+}) โดยเชื่อว่าแคลเซียม ทำหน้าที่เป็น intracellular messenger ซึ่งเป็นองค์ประกอบในการทำงานของเอนไซม์ที่สำคัญ เช่น myosin light chain kinase (MLCK) หรือ protein kinase ชนิดอื่น ๆ โดยแคลเซียมที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ คือ แคลเซียมอิสระภายในเซลล์ (intracellular free calcium) ซึ่งแคลเซียมอิสระภายในเซลล์นี้อาจจะมาจากแคลเซียมภายนอกเซลล์เคลื่อนที่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) เข้าสู่ภายในเซลล์โดยตรง หรือมาจากแคลเซียมที่ปลดปล่อยออกจากแหล่งเก็บสะสมแคลเซียมภายในเซลล์ ซึ่งเชื่อว่าเป็น sarcoplasmic reticulum (SR) โดย Karaki และ Weiss (1988) ได้เสนอกกลไกที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มขึ้นของแคลเซียมอิสระภายในเซลล์ ไวดังนี้คือ

1. แคลเซียมจากภายนอกเคลื่อนที่ผ่านเข้าสู่ภายในเซลล์มีกลไกที่เกี่ยวข้อง ดังแสดงในรูปที่ 3 คือ

1.1 แคลเซียมผ่านเข้าเซลล์โดยอาศัย leak mechanisms หรือ resting influx ซึ่งแคลเซียมที่ผ่านเข้าเซลล์ด้วยกลไกนี้ จะถูกเก็บสะสมไว้ที่แหล่งเก็บสะสมแคลเซียมภายในเซลล์ คือ SR และไม่ทำให้แคลเซียมอิสระภายในเซลล์เพิ่มขึ้นโดยตรง

1.2 แคลเซียมผ่านเข้าเซลล์ทาง potential - operated calcium channels (POC) โดยเกิดจากการเปลี่ยนแปลง action potential ของผนังเซลล์ เกิดการ depolarization ซึ่งจะกระตุ้นให้ POC เปิดออก ทำให้แคลเซียมจากภายนอก เคลื่อนที่เข้าสู่ภายในเซลล์ได้ ซึ่ง POC ยังสามารถแบ่งย่อยออกมาเป็น 2 ชนิด คือ

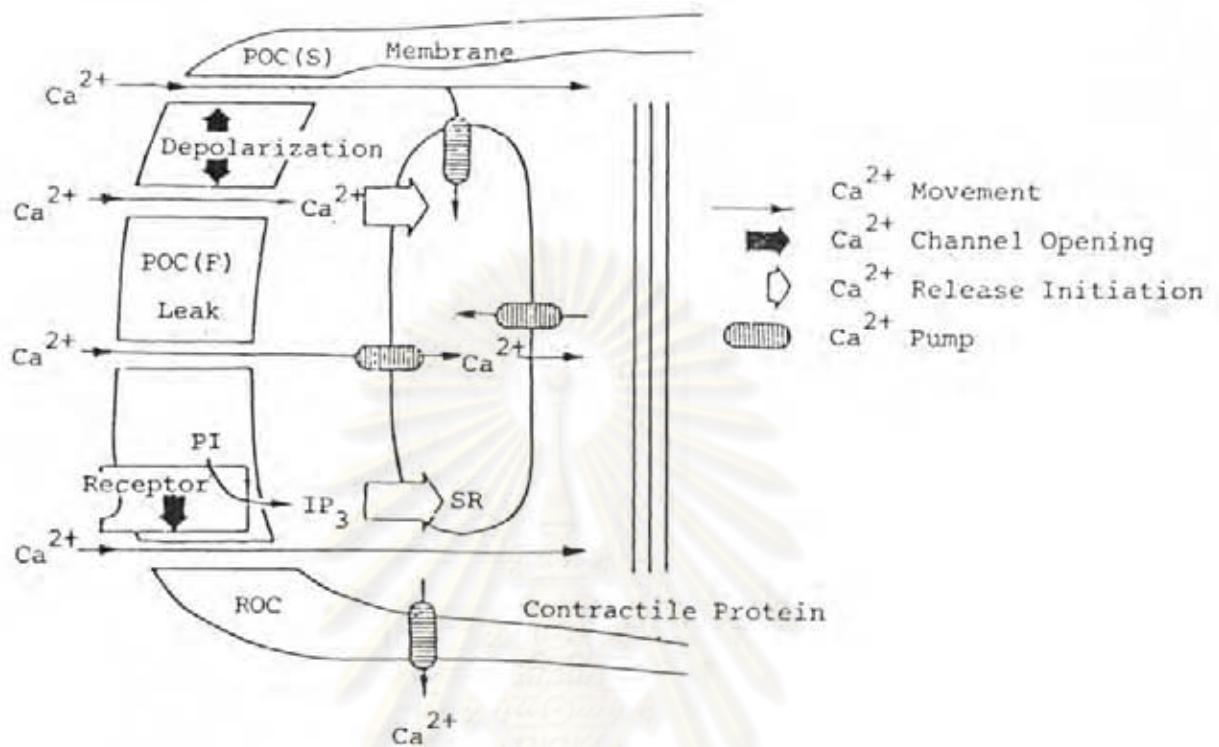
1.2.1 fast potential - operated calcium channel

1.2.2 slow potential - operated calcium channel

1.3 แคลเซียมผ่านเข้าเซลล์ทาง receptor - operated calcium channels (ROC) โดยเกิดจากการที่มีตัวกระตุ้นต่างๆ เช่น acetylcholine, serotonin, oxytocin เป็นต้น จับกับตัวรับสัมผัส (receptor) ที่เฉพาะเจาะจงต่อตัวกระตุ้นนั้น ๆ แล้วกระตุ้นให้ ROC เปิดออกทำให้แคลเซียมจากภายนอกเซลล์เคลื่อนที่เข้าสู่ภายในเซลล์ได้

2. การหลั่งของแคลเซียมจากแหล่งเก็บสะสมแคลเซียมภายในเซลล์ คือ SR เกิดจาก 3 กลไก คือ

2.1 calcium induced calcium release (CICR) เกิดจากแคลเซียมจากภายนอกเซลล์ เคลื่อนที่ผ่าน POC แล้วไปกระตุ้นให้มีการหลั่งของแคลเซียมจากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์ คือ SR



อธิบายคำย่อ

- POC (F) ; fast potential-operated calcium channel.
 POC (S) ; slow potential-operated calcium channel.
 ROC ; receptor-operated calcium channel.
 SR ; sarcoplasmic reticulum.
 PI ; phosphatidylinositol.
 IP₃ ; inositol - 1,4,5 - triphosphate.

รูปที่ 3 แสดงกลไกที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มขึ้นของแคลเซียมอิสระภายในเซลล์
 (Karaki and Weiss , 1988)

2.2 จากการกระตุ้นโดยสารเคมี ได้แก่ caffeine ซึ่งสามารถกระตุ้นให้มีการหลั่งของแคลเซียมจากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์ได้ในกล้ามเนื้อเรียบหลายชนิด

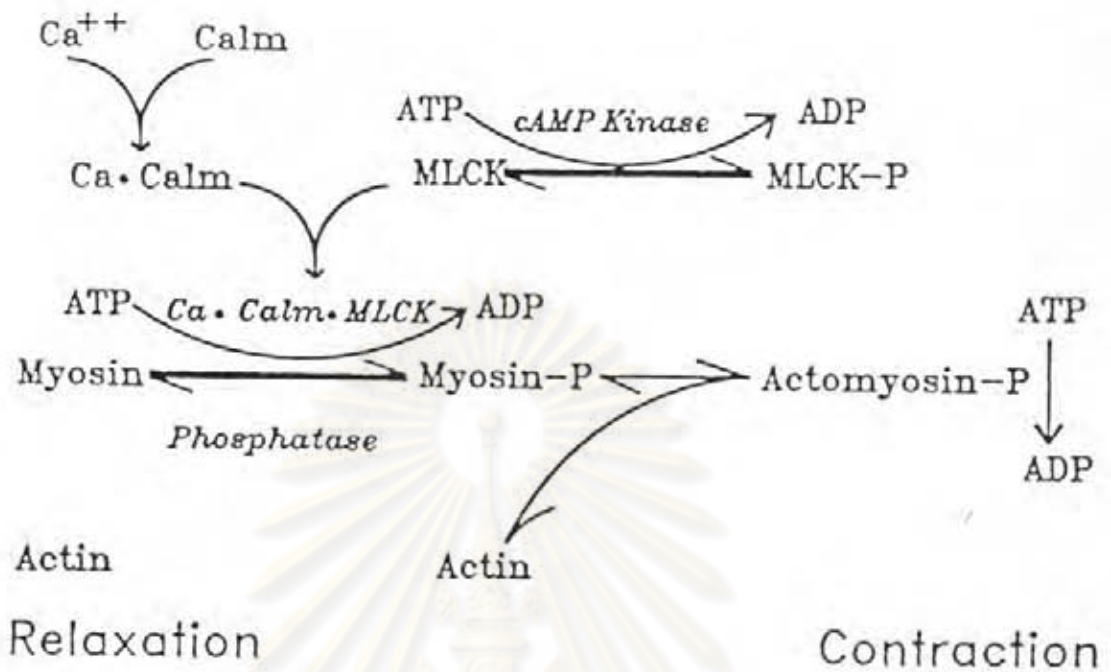
2.3 จากการที่ตัวรับสัมผัส (receptor) ถูกกระตุ้นแล้วเกิดการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีได้ IP_3 (inositol-1,4,5-triphosphate) มากขึ้น และ IP_3 ที่เพิ่มมากขึ้นนี้ มีผลไปกระตุ้นให้มีการหลั่งของแคลเซียมจากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์คือ SR

กลไกการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ

การเพิ่มขึ้นหรือลดลงของระดับแคลเซียมอิสระภายในเซลล์ มีผลต่อการเกิดการหดตัวหรือการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ โดยในกล้ามเนื้อเรียบแคลเซียมจะจับกับ Calmodulin กลายเป็น calcium-calmodulin complex ซึ่งจะจับและกระตุ้นเอนไซม์ myosin light chain kinase (MLCK) ก่อให้เกิดการ phosphorylate ของ myosin light chain ในสภาวะนี้ myosin light chain สามารถทำปฏิกิริยากับ actin ได้ มีผลทำให้กล้ามเนื้อเรียบหดตัวได้ ส่วนการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบนั้นเกิดจากความเข้มข้นของแคลเซียมอิสระภายในเซลล์ลดลง ทำให้ calmodulin แยกตัวหลุดออกมาจาก complex ซึ่งจะ inactivate MLCK หลังจากนั้น myosin phosphatase จะทำให้เกิด dephosphorylate myosin light chain ในสภาวะนี้ myosin light chain จะทำปฏิกิริยากับ actin ไม่ได้ เกิดการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ

การออกฤทธิ์ของ MLCK ถูกควบคุมโดย cyclic adenosine monophosphate (cAMP) - dependent protein kinase ซึ่งทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยา Phosphorylation ของ MLCK โดยในสภาวะ phosphorylated นี้ MLCK จะมีความชอบ (affinity) ซึ่งจะจับกับ calcium-calmodulin complex ได้น้อยมาก ทำให้เกิด dephosphorylate ของ myosin และเกิดการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ ดังแสดงในรูปที่ 4 (Kamm and Stull, 1985 ; Carsten and Miller, 1987)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



อธิบายคำย่อ

Calm	=	Calmodulin
cAMP Kinase	=	cAMP-dependent protein kinase
MLCK	=	myosin light chain kinase
MLCK-P	=	phosphorylated myosin light chain kinase
Myosin-P	=	phosphorylated myosin
Actomyosin-P	=	phosphorylated actomyosin
ADP	=	adenosine diphosphate
ATP	=	adenosine triphosphate
cAMP	=	cyclic adenosine monophosphate

รูปที่ 4 แสดงกลไกการหดตัวและคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ

(Carsten and Miller , 1987)

Endothelium Derived – Relaxing Factor

Vascular Endothelium

เยื่อหลอดเลือด (vascular endothelium) ประกอบด้วย squamous cells เรียงตัวกันเป็นชั้นเดียว (Shepherd and Vanhoutte, 1991) อยู่ทางด้านในของหลอดเลือดแดง หลอดเลือดดำ และหลอดเลือดฝอย บทบาทที่สำคัญของเยื่อหลอดเลือด คือควบคุมความตึงตัวของหลอดเลือด รวมทั้งมีบทบาทสำคัญต่อการเกิดความผิดปกติของโรคในระบบไหลเวียนโลหิต เช่น โรคหลอดเลือดตีบแข็ง ความดันโลหิตสูง เบาหวาน เป็นต้น (Moncada and Vane, 1979)

หน้าที่ของเยื่อหลอดเลือด (Luscher, 1988)

- การป้องกันการเกาะกลุ่มของเกร็ดเลือด เม็ดเลือดขาว
- สร้างปัจจัยการแข็งตัวของเลือด เช่น Willebrand factor VIII, plasminogen activator and inhibitors
- การขนส่งภายในหลอดเลือดและการแลกเปลี่ยนสารระหว่างเลือดกับเนื้อเยื่อ
- การกระตุ้นและการยับยั้งการหลั่งของฮอร์โมนในกระแสโลหิต และองค์ประกอบของพลาสมาต่างๆ เช่น norepinephrine และ epinephrine เป็นต้น
- การสังเคราะห์และการหลั่งสารที่ออกฤทธิ์ขยายหลอดเลือดเช่น EDRF และสารออกฤทธิ์ที่ทำให้หลอดเลือดหดตัว เช่น EDCF เป็นต้น

นับตั้งแต่การศึกษาของ Furchgott และ Zawadzki (1980) ที่ได้ค้นพบว่าการคลายตัวของหลอดเลือดเมื่อถูกกระตุ้นด้วย acetylcholine ต้องอาศัยเยื่อหลอดเลือดโดยเชื่อว่า เยื่อหลอดเลือดมีการหลั่งสารบางชนิดที่มีฤทธิ์ทำให้หลอดเลือดคลายตัว ซึ่งเป็นที่ทราบกันดีในปัจจุบันแล้วว่าสารดังกล่าวก็คือ endothelium derived-relaxing factor (EDRF) ต่อมา ได้มีการศึกษาคุณสมบัติของ EDRF กันอย่างกว้างขวาง และพบว่า EDRF คือ NO (nitric oxide) (Palmer, Ferrige and Moncada, 1987) นอกจาก acetylcholine ที่เป็นตัวกระตุ้นให้เยื่อหลอดเลือดหลั่งสาร EDRF แล้วยังมีสารกระตุ้นต่างๆ ที่มีผลทำให้หลอดเลือดคลายตัว โดยการหลั่ง EDRF ได้เช่น calcium ionophore A 23187, bradykinin, calcitonin gene-related peptide เป็นต้น



Biochemistry

nitric oxide (nitrogen monoxide, $N=O$) เป็นสารที่มีคุณสมบัติไม่คงตัวสามารถเปลี่ยนไปเป็น nitrates และ nitrites โดย oxygen เนื่องจากเป็นโมเลกุลที่มีขนาดเล็ก ดังนั้นจึงสามารถเคลื่อนที่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ได้เป็นอย่างดี (McCall and Vallance, 1992; Ignarro, 1989)

คุณสมบัติที่สำคัญ nitric oxide (Kamm and Govender, 1994)

Physio-chemical properties	High Lipid solubility Highly diffusible Gas or in solution at body temperature
Redox-activated forms	(1) Nitric oxide(NO) - reactive free radical (2) Nitrosonium(NO^+) cation- nitrosation reaction leading to enzyme regulation (3) Nitroxyl anion (NO^-) - converted to N_2O
Half-life	Very short (3 to 50 S)
Fate	(1) Gaseous-oxidized to NO_2 and higher oxides of nitrogen (2) Solution - oxidized to nitrites and nitrates
Inhibitors of activity	Haemoglobin Myoglobin Methylene blue Superoxide anion
Potentiation of activity	Superoxide dismutase Cytochrome C H^+ ions

Nitric Oxide Biosynthesis

nitric oxide สังเคราะห์ได้จาก L-arginine โดยอาศัยเอนไซม์ nitric oxide synthase (NOS) ซึ่งในปัจจุบันพบว่า มีหลาย isoforms ขึ้นกับ tissue ที่มันอยู่ (ดังตารางที่ 1) โดยเอนไซม์ ตัวนี้จะไป catalyze ปฏิกิริยา oxidation ของ terminal guanidine nitrogen atoms ของ L-arginine ได้เป็น products คือ citrulline และ NO (Moncada, Palmer and Higgs, 1991) (ดังรูปที่ 5)

Nitric Oxide - mediated vasorelaxation

NO ทำให้หลอดเลือดคลายตัวได้โดยการกระตุ้นให้มีการเพิ่มของ cyclic GMP ในกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด โดย NO ที่ถูกสร้างขึ้นในเยื่อหลอดเลือดจะเคลื่อนที่ผ่านเข้ากล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดไปอย่างรวดเร็วและเข้าไปจับกับ haem group soluble guanylate cyclase กลายเป็น nitrosyl-heme complex ทำให้ soluble guanylate cyclase (soluble GC) อยู่ในรูป active form หลังจากนั้น soluble GC ไปมีผลกระตุ้นการเปลี่ยน guanosine triphosphate (GTP) ให้กลายเป็น cyclicguanosine monophosphate (cGMP) ใน cytosol ของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดผลจาก cGMP ที่เพิ่มขึ้นทำให้ระดับของแคลเซียมภายในเซลล์ (intracellular calcium) ลดลงทำให้หลอดเลือดสามารถคลายตัวได้ (Wennmalm, 1994)
ดังรูปที่ 6

ความผิดปกติของเยื่อหลอดเลือด (Dysfunctional endothelium) ดังรูปที่ 7

บทบาทของ EDRF ที่สำคัญคือช่วยป้องกันการหดเกร็งของหลอดเลือด coronary artery ได้โดยอาศัย platelet aggregation ซึ่งจะหลั่ง ATP, ADP, serotonin และ thromboxane A₂ หลอดเลือดปกติที่มีเยื่อหลอดเลือดจะมี ATP, ADP ทำหน้าที่สร้างและหลั่ง EDRF เป็นบทบาทที่สำคัญและเด่นกว่าบทบาทการทำหน้าที่ของ 5-HT และ thromboxane A₂ ผลรวมจะทำให้หลอดเลือดคลายตัวในทางตรงกันข้ามหลอดเลือดที่ถูกทำลายเยื่อผนังหลอดเลือดจะขาดคุณสมบัติในการสร้าง EDRF และมีบทบาทของ 5-HT และ thromboxane A₂ เด่นกว่า ATP และ ADP ทำให้หลอดเลือดเกิดการหดเกร็งตัว (Jackson, 1986)

ตารางที่ 1 แสดง Isoforms of NO Synthase (Forstermann, et al., 1991)

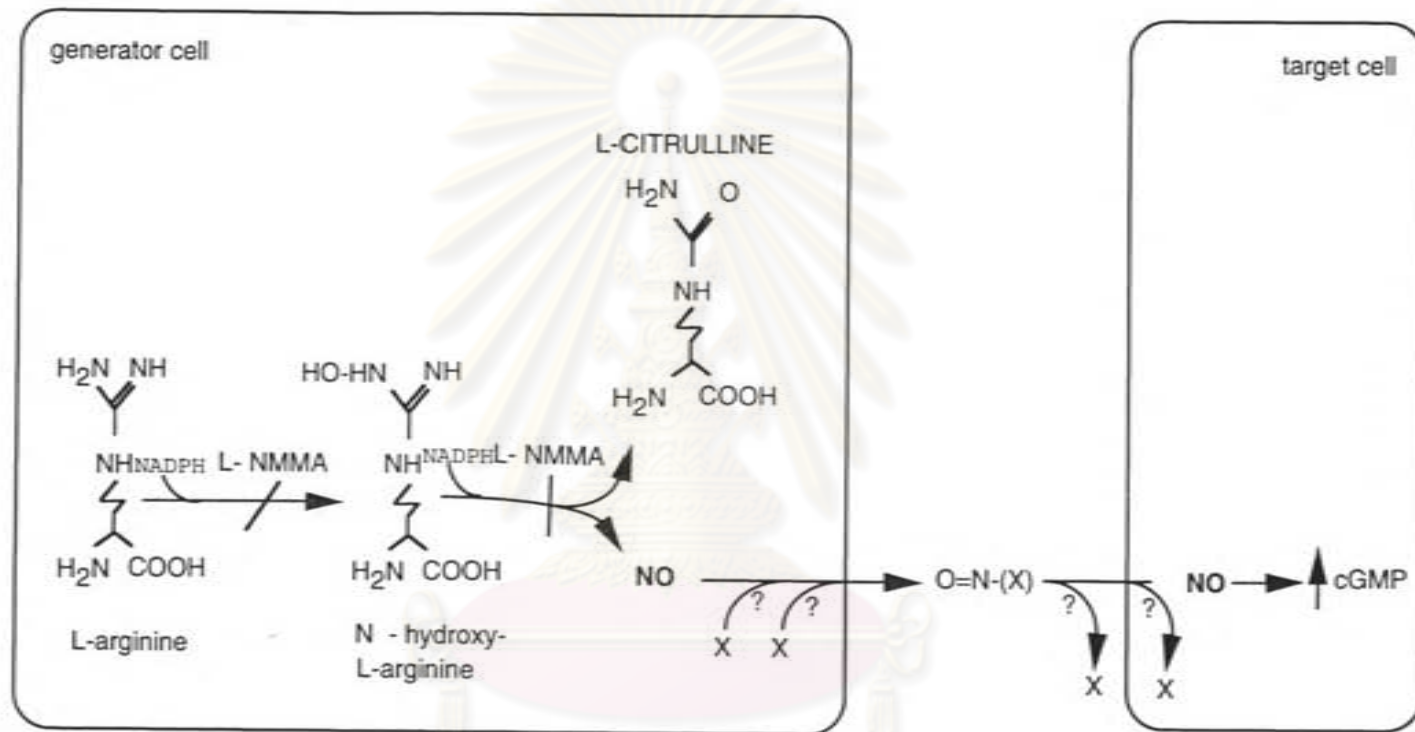
Type	Cosubstrates, cofactors	Regulated by:	<i>M_r</i> of denatured protein (SDS-PAGE)	Present in:
Ia (soluble)	NADPH, BH ₄ , FAD/FMN*	Ca ²⁺ /calmodulin	155 kDa [16]	Brain, cerebellum [15-17], N1E-115 neuroblastoma cells [10, 12]
Ib (soluble)	NADPH	Ca ²⁺ /calmodulin	Unknown	Endothelial cells [13]
Ic (soluble)	NADPH, BH ₄ , FAD	Ca ²⁺ (not calmodulin)	150 kDa [21]	Neutrophils [21, 22]
II (soluble)	NADPH, BH ₄ , FAD/FMN, GSH (thiols)	Unknown (induced by endotoxin/cytokines)	125-135 kDa [23] 150 kDa [48]	Macrophages [23-28,1], Enzyme activities with probably similar characteristics can be induced in hepatocytes, Kupffer cells, vascular smooth muscle cells, fibroblasts, endothelial cells, lung and liver [29-37]
III (particulate)	NADPH, BH ₄	Ca ²⁺ /calmodulin	135 kDa [38]	Endothelial cells [13, 38, 39, 65]
IV (particulate)	NADPH	Unknown (induced by endotoxin/cytokines)	Unknown	Macrophages†

All isoenzymes use L-arginine as a substrate and all are inhibited by N^G-methyl-L-arginine and N^G-nitro-L-arginine. Abbreviations: BH₄, 5,6,7,8-tetrahydrobiopterin; FAD, flavin-adenine-dinucleotide; FMN, flavin-mononucleotide; GSH, reduced glutathione; NADPH, nicotinamide-adenine-dinucleotide phosphate; SDS-PAGE, sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis.

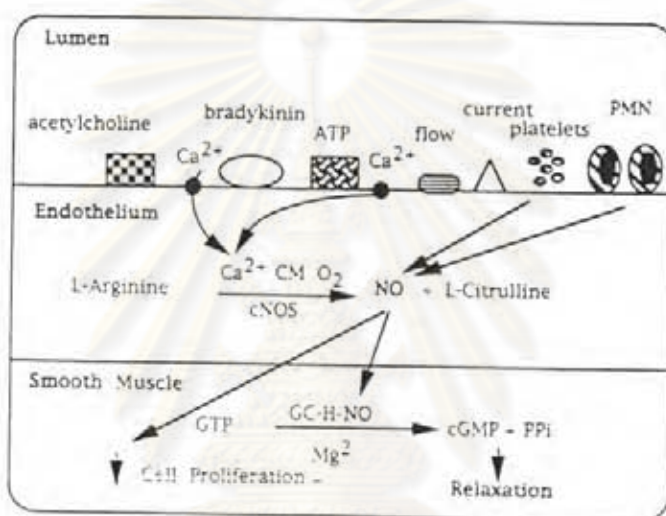
* Unpublished observations.

† Schmidt HHHW, Warner TD, Nakane M, Förstermann U and Murad F, Regulation and subcellular localization of guanylyl cyclase-activating factor (GAF)/NO synthesis in RAW 264.7 macrophages. Manuscript submitted for publication.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

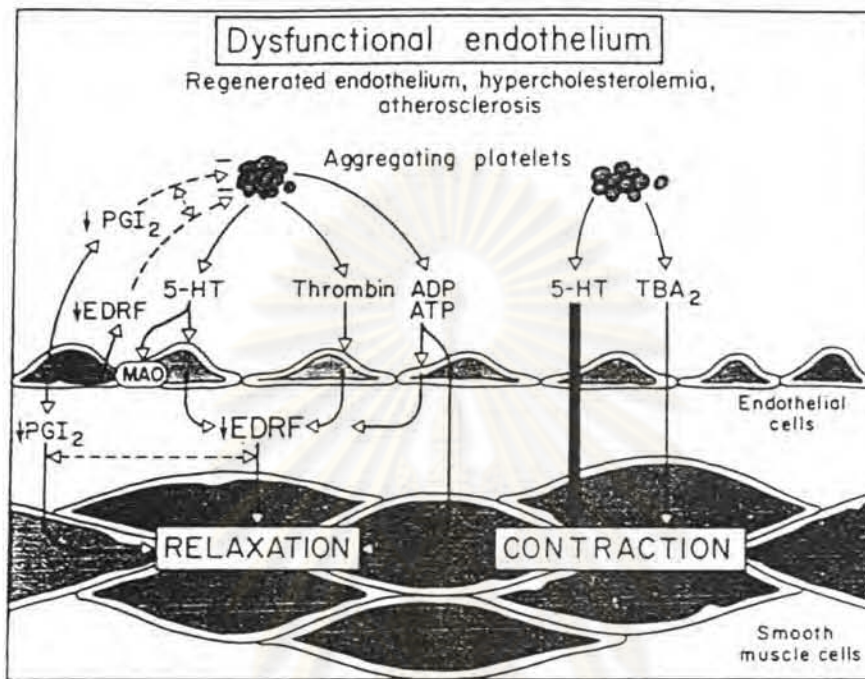


ศูนย์วิทยทรัพยากร
 รูปที่ 5 แสดงการสังเคราะห์ Nitric Oxide (McCall และ Vallance, 1992)



รูปที่ 6 แสดงกลไกการออกฤทธิ์ของ nitric oxide ในกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด (Ignarro, 1993)

ศูนย์วิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 7 แสดงพยาธิสภาพต่าง ๆ เมื่อเยื่อหลอดเลือดมีความผิดปกติ (Vanhoutte and Shimakawa , 1989)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



แนวเหตุผลและสมมติฐานในการศึกษา

สำหรับในการวิจัยในครั้งนี้ ได้ศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารไปเปอรินต่อระบบหัวใจและหลอดเลือด ซึ่งข้อมูลเภสัชวิทยาเกี่ยวกับสารไปเปอรินเกี่ยวกับระดับหัวใจและหลอดเลือดนั้นยังมีข้อมูลอยู่น้อยมาก ดังนั้นในการศึกษาดังนี้จึงเป็นการทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารไปเปอรินต่อหลอดเลือด ซึ่งใช้หลอดเลือด aorta, coronary artery และ renal artery ที่แยกจากกายของสุกร ซึ่งยังไม่มีใครเคยศึกษามาก่อนและในการศึกษาโดยได้เลือกใช้สุกรเป็นตัวแทนในการศึกษา เนื่องจากผลการตอบสนองต่อสารสื่อประสาทต่างๆ และขบวนการเมตาโบลิสมที่เกิดขึ้นในมนุษย์และสุกรมีความคล้ายคลึงกัน (Ngai, Roth and Pual ,1989) และอีกทั้งช่วยจัดปัญหาทาง จริยธรรม ซึ่งในปัจจุบันโรคระบบหัวใจและหลอดเลือดนั้นนับได้ว่าเป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่มีความสำคัญ และมีหลายทฤษฎีที่จะพยายามอธิบายพยาธิสภาพการเกิดโรค กลไก การป้องกัน และแนวทางในการรักษา ซึ่งทฤษฎีที่เกี่ยวกับความผิดปกติของเยื่อหลอดเลือดในปัจจุบัน นับได้ว่ามีผู้ที่ศึกษากันอย่างกว้างขวางและเป็นที่ยอมรับ ดังนั้นในการศึกษาดังนี้ ได้ศึกษาบทบาทเกี่ยวกับเยื่อหลอดเลือดต่อการออกฤทธิ์ของสารไปเปอรินด้วย เพื่ออธิบายผลที่เกิดขึ้นต่อระบบหัวใจและหลอดเลือด เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในการรักษาความผิดปกติของโรคที่เกี่ยวข้องกับระบบ หัวใจและหลอดเลือดต่อไป

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของไปเปอรินต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ หลอดเลือดแดงที่หัวใจและไตที่แยกจากกายของสุกร
2. เพื่อหาตำแหน่งในการออกฤทธิ์ (site of action) ของไปเปอรินที่มีผลต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ หลอดเลือดแดงที่หัวใจ และที่ไตของสุกร

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทำให้ทราบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของไปเปอริน ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ หลอดเลือดแดงที่หัวใจ และไตที่แยกจากกายของสุกร
2. ทำให้ทราบถึงกลไกการออกฤทธิ์ที่เป็นไปได้ของไปเปอรินต่อหลอดเลือดแดงใหญ่ หลอดเลือดแดงที่หัวใจและไตที่แยกจากกายของสุกร
3. เป็นแนวทางในการศึกษาและพิจารณานำสารที่สกัดจากพริกไทย (*Piper nigrum* Linn.) มาใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นประกอบการพิจารณาและการพัฒนาสมุนไพร เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ในการรักษาโรคเกี่ยวกับระบบหัวใจและหลอดเลือดต่อไป