

บทที่ 1

บทนำ



มนุษย์รู้จักใช้พืชเป็นยาบำบัดโรคมานานแต่โบราณกาลโดยมีการทดลองใช้พืชชนิดต่าง ๆ เพื่อเยียวยาและบรรเทาความเจ็บไข้ เมื่อพืชชนิดใดใช้แล้วให้ผลดีหรือทำให้เกิดโทษ ก็ได้จดจำเอาไว้ และความรู้ก็เป็นมรดกตกทอดมายังลูกหลาน นักโบราณคดีได้กล่าวไว้ว่ามนุษย์สมัยโบราณได้เพาะแสวงหาพืชเพื่อนำมาเป็นอาหาร เชื้อเพลิง เครื่องมือและสร้าง ที่พักอาศัย ซึ่งแสดงว่าเขาเหล่านั้นมีพืชเป็นเครื่องสนองความต้องการในการดำรงชีวิตเพื่อความอยู่รอด การที่มนุษย์รู้จักต้นไม้ใคร่รักษาโรคใดมีสรรพคุณอย่างไรนั้น ได้จากการเรียนรู้ด้วยประสบการณ์ และการทดลองอันยาวนาน สืบต่อกันมาแต่โบราณ บางครั้งอาจอาศัยจากรูปลักษณะของพืชว่ามีลักษณะเหมือนอวัยวะใด ก็ใช้รักษาอวัยวะนั้น (the signature doctrine) หรือ โดยอาศัยสีหรือรสชาติ เป็นสีแฉงรักษาโรคเกี่ยวกับเลือด หรือรสขมรักษาโรคเกี่ยวกับน้ำดี(นิจศิริ เรื่องรังษี และ พยอม ตันติวัฒน์, 2532) พืชที่มีใบมีรูปร่างคล้ายตั๊กมักใช้รักษาโรคเกี่ยวกับตับ พืชที่มีกีบเลี้ยงมีรูปร่างคล้ายรูปบอลูน (Phydalis alkakengi) ใช้บำบัดโรคเกิดกับกระเพาะปัสสาวะ เป็นต้น (พยอม ตันติวัฒน์, 2521)

จะเห็นว่ามนุษย์รู้จักใช้สมุนไพรในการบำบัดรักษาโรคมานานแต่โบราณกาล ส่วนวิธีการใช้ได้มีการจดจำบอกต่อกันมาหลายชั่วอายุคน บางตำรับยาที่มีการสูญหายไป ประกอบกับความเจริญก้าวหน้าทางการแพทย์แผนปัจจุบันซึ่งได้รับการปรับปรุงวิทยาการ (technology) ให้เหมาะสมกับสถานการณ์และความต้องการของสังคม จึงบังคับวิทยาการด้านสมุนไพรไป และการค้นคว้าวิจัยสารสำคัญที่ได้จากสมุนไพรมาใช้ในการรักษาโรคมีขั้นตอนที่สลับซับซ้อนและใช้เวลานาน ประกอบกับสภาพเศรษฐกิจสังคมความจำกัดของแหล่งเงินทุนสนับสนุนและผลประโยชน์ที่คาดหวังว่าจะได้รับมีความคุ้มค่าหรือไม่ เป็นสาเหตุทำให้ความเจริญทางวิทยาการด้านสมุนไพรไม่พัฒนาและเจริญก้าวหน้าเท่าที่ควร ประเทศต่าง ๆ ทั่วโลกได้แสวงหาวิทยาการที่เหมาะสมกับประเทศของตน เพื่อนำมาพัฒนาคุณภาพชีวิตของประชาชน ทำให้ต้องแสวงหาวิทยาการใหม่ ๆ ที่เหมาะสมในการพัฒนาประเทศ ฉะนั้นนักวิชาการรุ่นใหม่ ๆ ควรที่จะศึกษาเพื่อเอาคุณค่าของสมุนไพรออกมาใช้ประโยชน์ ผลที่ตามมาจะเกิดประโยชน์แก่ประเทศชาติและมนุษย์ทั้งปวงในแง่การต่อต้านโรคร้ายต่าง ๆ สามารถพัฒนาความรู้ด้านสมุนไพร จากการถ่ายทอดจากโบราณกาลมาเป็นความเข้าใจที่นักวิทยาศาสตร์อธิบายคุณสมบัติการใช้สมุนไพรต่าง ๆ ได้อย่างมีเหตุผลในการรักษาควบคู่กับการรักษาทางการแพทย์แผนปัจจุบันต่อไป

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของสมุนไพรรกหนอนตายหยาก

“รกหนอนตายหยาก” มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Clitoria macrophylla* Wall. จัดอยู่ในวงศ์ Leguminosae พบมากในแถบภาคกลางและภาคเหนือ บางแห่งเรียก กระเพียด, ห่าพะยาว, เอื้องชันป่า, หมากแปบผี ลักษณะเป็นไม้เลื้อย ใบประกอบ มีใบย่อย 3 ใบ เรียงสลับ ใบย่อยรูปขอบขนานหรือรูปขอบขนานแกมไข่กลับ กว้าง 3-6 เซนติเมตร ยาว 7-15 เซนติเมตร เนื้อใบหนาและเหนียว ท้องใบสีเทา ดอกช่อ ออกที่ซอกใบ กลีบดอกรูปดอกถั่ว สีขาว ผลเป็นฝัก ยาวประมาณ 5 เซนติเมตร แบบนูนมีถึง 6-8 เมล็ด (วงศ์สฤติย์ ฉั่วกุล และคณะ, 2539) (รูปภาพที่ 1) รกมีลักษณะอวบอ้วนเป็นรากเดี่ยวขนาดใหญ่ (รูปภาพที่ 2)

สรรพคุณของสมุนไพรรกหนอนตายหยาก

รากปรุงเป็นยาถอนพิษ แก้พิษสุนัขบ้า และถอนพิษต่างๆ (สายสนมกิตติขจร, 2526) ชาวเขาเผ่าอีเก้อใช้ ทั้งต้น ตำพอก ห้ามเลือด รักษาแผลสด แผลถลอก (วงศ์สฤติย์ ฉั่วกุล และคณะ, 2539)

การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสมุนไพรรกหนอนตายหยาก

รกหนอนตายหยาก (*Clitoria macrophylla* Wall.) เป็นสมุนไพรรกที่พบในประเทศไทย จากการศึกษาพบว่า ลักษณะของผงรากรกหนอนตายหยาก จะมีลักษณะเป็นผงสีน้ำตาลอ่อน ไม่มีกลิ่น รสฝาดเล็กน้อย เม็ดแป้งมีมากทั้งเม็ดเดี่ยวและเป็นกลุ่ม ขนาดของแป้งมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.9-2.4 ไมครอน การวิจัยทางเคมีได้แยกสาร c และสาร d ซึ่งเป็นสารพวก phenol เป็นส่วนที่ละลายใน chloroform จากการศึกษาพบสาร d มีฤทธิ์ด้านการอักเสบ และลดไข้ (antiinflammatory & antipyretic effect) ได้ผลดีเกือบเท่า aminopyrine หรือ aspirin ในสัตว์ทดลอง (กองวิจัยทางการแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2515) ต่อมาพบว่า โครงสร้างของรากรกหนอนตายหยากที่สกัดได้จาก chloroform เป็นสารพวก rotenoid คือ clitoriacetel และ stemonacetel ซึ่งพบว่า clitoriacetel มีฤทธิ์ด้านการอักเสบและลดไข้ (antiinflammatory & antipyretic effect) (Taguchi, Kanchanapee and Amatayakul, 1977) นอกจากนี้ได้มีผู้นำสมุนไพรรากรกหนอนตายหยากมาศึกษาต่อ พบว่าสามารถแยกสาร rotenoid อีกชนิดหนึ่งคือ 6-deoxyclitoriacetel เมื่อนำมาทดสอบในหลอดทดลอง พบว่ามี strong cytotoxic activity ต่อ cultured P-388 lymphocytic leukemia cells แต่ไม่มีผลต่อ cultured KB cells (Lin et al., 1992)

6-deoxyclitoriacetel

ผลึกมีลักษณะเป็นดอกกุหลาบสีขาว มีจุดหลอมเหลว 130-130 C, ¹H-NMR spectrum แสดงว่ามี H-bonded hydroxy ที่ δ 11.52, aromatic singlet ที่ δ 6.65 และ δ 6.41,

meta-coupled proton 2 ตำแหน่งที่ δ 5.92 และ δ 5.87, สัญญาณของ methylene proton ที่ไม่เท่ากันที่ δ 4.51 และ δ 4.39, methine proton doublet ที่ δ 4.49 และ methoxy singlet 3 ตำแหน่งที่ δ 3.73, δ 3.66 และ δ 3.65 เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับ clitoriacetal พบว่ามีความคล้ายคลึงในโครงสร้างของ 6-deoxyclitoriacetal นำไปศึกษาต่อโดยใช้ HR mass spectrum พบว่าสูตรโมเลกุลของ 6-deoxyclitoriacetal คือ $C_{19}H_{18}O_8$ มีน้ำหนักโมเลกุล 374 ซึ่งมีขนาดโมเลกุลเล็กกว่า clitoriacetal 16 mu แสดงให้เห็นว่ามี oxygen อยู่น้อยกว่า clitoriacetal 1 ตัว สัญญาณของ methylene carbon resonance ที่ δ 63.5 โดยใช้ ^{13}C -NMR spectrum ทำให้ทราบว่าเป็นอนุพันธ์ 6-deoxy ของ clitoriacetal (รูปภาพที่ 3) (Lin et al., 1992)

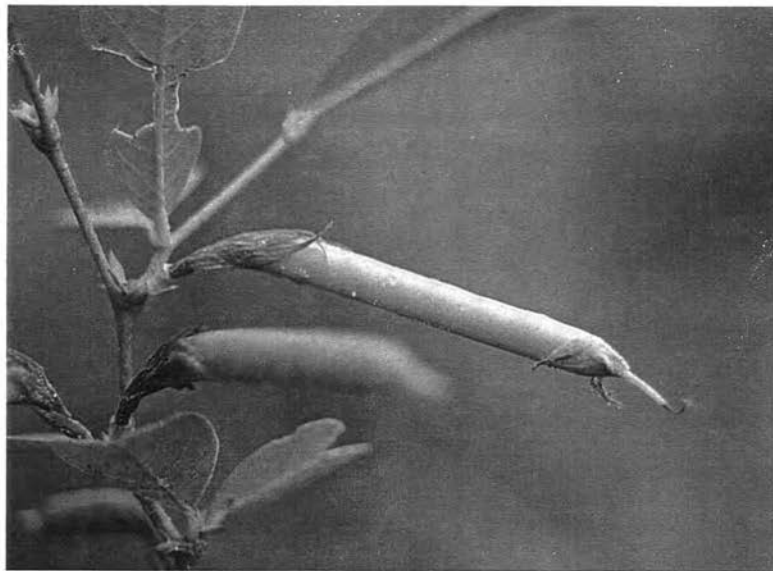
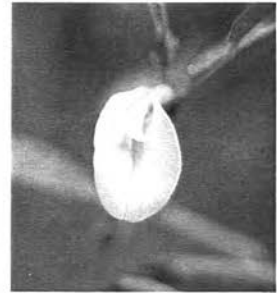
นอกจาก 6-deoxyclitoriacetal มี cytotoxic effect ต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวบางชนิด จนถึงขณะนี้ ยังไม่มีรายงานการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในด้านอื่นๆ อีก ผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะนำ 6-deoxyclitoriacetal มาทำการศึกษาฤทธิ์ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่แยกจากกายเพื่อให้ได้ข้อมูลพื้นฐานในการที่จะศึกษาในแง่อื่นๆ ต่อไป

อัญชันป่า

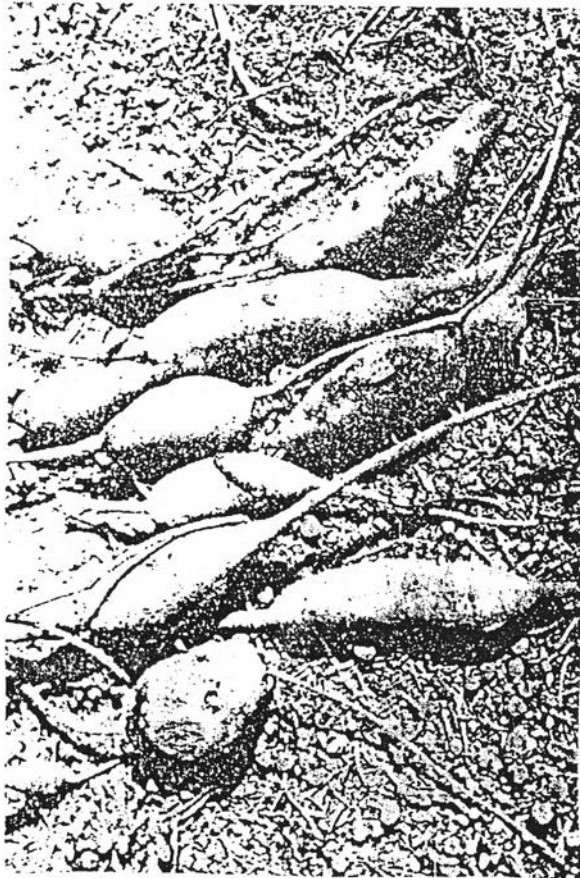
Clitoria macrophylla Wall.

FABACEAE

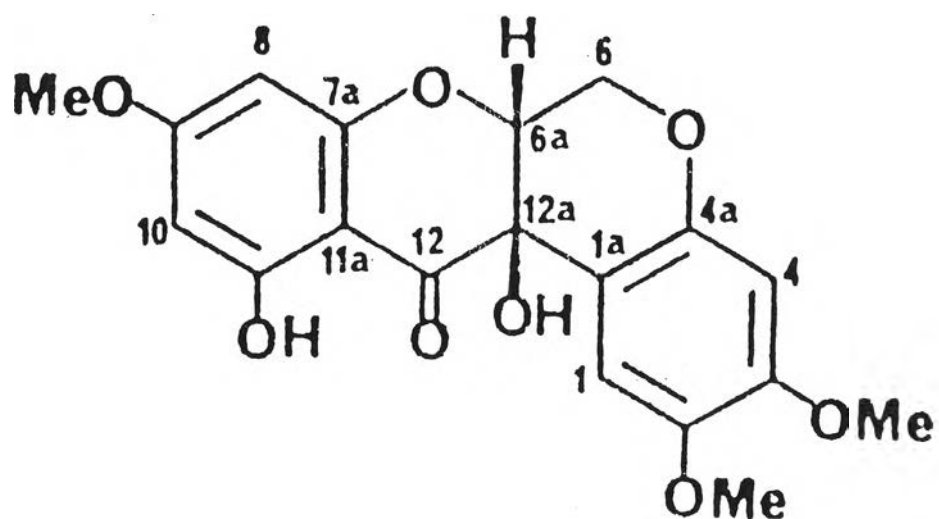
ชื่ออื่น: ทำพะฮาว, เอื้องชันป่า(ชม); หมากแปบผี(ลย)



รูปภาพที่ 1 แสดงลักษณะใบและดอกของสมุนไพรหนอนตายหายาก



รูปภาพที่ 2 แสดงลักษณะซากของสมุนไพรหนอนตายหยาก



รูปภาพที่ 3 แสดงสูตรโครงสร้างของ 6-deoxyclitoriacetal
(Lin et al., 1992)

บทบาทของแคลเซียมต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ

การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบมีความเกี่ยวข้องกับแคลเซียมโดยการผ่านเข้าออกทาง calcium channels พบว่า calcium channels ในกล้ามเนื้อเรียบมี 2 ชนิดคือ Voltage-dependent channels และ Receptor-operated channels โดยพบว่า Voltage-dependent channels ยังแบ่งออกเป็น 2 subtypes คือ L และ T channels ซึ่งยอมให้ cation บางชนิดผ่านเข้าออกได้ เช่น Ba^{2+} , Ca^{2+} และ Sr^{2+} และสามารถถูกยับยั้งโดย Co^{2+} , Mg^{2+} , Ni^{2+} และ Mn^{2+} การเปลี่ยนแปลงใน membrane potential มีผลต่อการกระตุ้นและยับยั้ง calcium channels และ channels จะถูก regulated โดย endogenous modulators ส่วน Receptor-operated channels จะถูกกระตุ้นโดยสารสื่อประสาทและยาหลายชนิดโดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงใน membrane potential (Yu and Bose, 1991)

ระดับแคลเซียมอิสระภายในเซลล์เชื่อว่าเป็น second messenger ในการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ เมื่อระดับแคลเซียมอิสระภายในเซลล์เพิ่มขึ้นจะเกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบโดยมีการเคลื่อนที่ของแคลเซียมจากภายนอกเคลื่อนที่เข้าสู่ภายในเซลล์หรือมาจากแคลเซียมที่ปลดปล่อยมาจากแหล่งเก็บสะสมแคลเซียมภายในเซลล์ซึ่งเชื่อว่าเป็น sarcoplasmic reticulum (Horowitz, Menice, Laporte and Morgan, 1996) Karaki และ Weiss (1988) ได้เสนอกลไกที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มขึ้นของแคลเซียมอิสระภายในเซลล์ (intracellular free calcium) ไว้ดังนี้คือ

1. การเคลื่อนที่ของแคลเซียมจากภายนอกเคลื่อนที่ผ่านเข้าสู่ภายในเซลล์ มีกลไกที่เกี่ยวข้อง (รูปภาพที่ 4) คือ

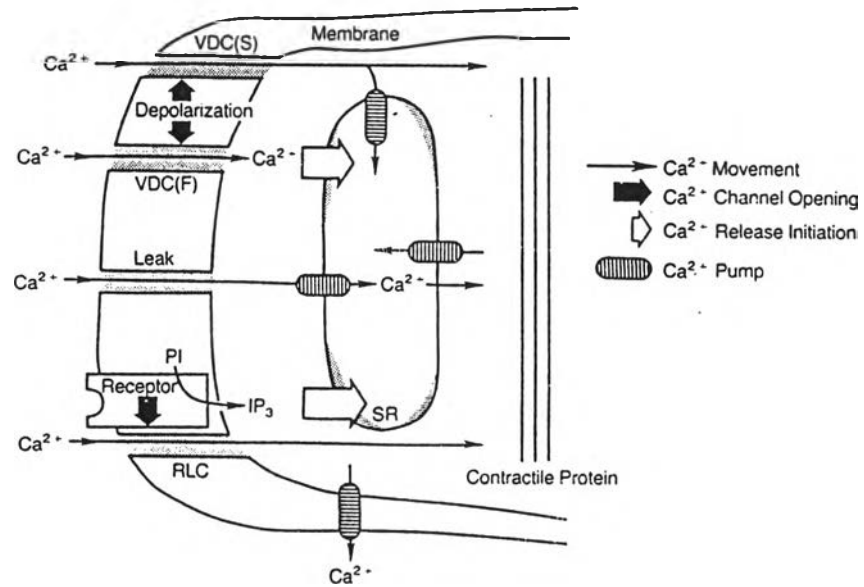
1.1 แคลเซียมผ่านเข้าเซลล์โดยอาศัย resting influx หรือ leak mechanisms โดยแคลเซียมที่ผ่านเข้าเซลล์จะถูกเก็บสะสมไว้ที่แหล่งเก็บสะสมแคลเซียมภายในเซลล์ซึ่งเชื่อว่าเป็น sarcoplasmic reticulum และไม่ทำให้แคลเซียมอิสระภายในเซลล์เพิ่มขึ้นโดยตรง

1.2 แคลเซียมผ่านเข้าทาง Voltage-dependent Ca^{2+} channels โดยแคลเซียมจะเคลื่อนที่ผ่านเข้าเซลล์โดยการเกิด action potential ที่ผนังเซลล์และเกิด depolarization ทำให้ Ca^{2+} channels เปิดออก มีผลให้แคลเซียมภายนอกเคลื่อนที่เข้าสู่ภายในเซลล์โดย Voltage-dependent Ca^{2+} channels สามารถแบ่งได้เป็น 2 ชนิด คือ

1.2.1 Slow-inactivating voltage-dependent Ca^{2+} channels

1.2.2 Fast-inactivating voltage-dependent Ca^{2+} channels

1.3 แคลเซียมผ่านเข้าทาง receptor-linked Ca^{2+} channels โดยเกิดการจับกับ receptor ที่เฉพาะเจาะจงจากการที่มีตัวกระตุ้นต่างๆ เช่น acetylcholine, serotonin, oxytocin เป็นต้น



คำอธิบายคำย่อ

Ca^{2+}	: calcium ion
VDC(F)	: fast-inactivating voltage-dependent Ca^{2+} channel
VDC(S)	: slow-inactivating voltage-dependent Ca^{2+} channel
RLC	: receptor linked Ca^{2+} channel
SR	: sarcoplasmic reticulum
PI	: phosphatidylinositol
IP_3	: inositol-1,4,5-triphosphate

รูปภาพที่ 4 แสดงการเคลื่อนที่ของแคลเซียมเข้าสู่เซลล์
(Karaki and Weiss, 1988)

2. การหลั่งของแคลเซียมจากแหล่งเก็บสะสมแคลเซียมภายในเซลล์ คือ sarcoplasmic reticulum(SR) เกิดจาก 3 กลไกคือ

2.1 calcium induced calcium release เกิดจากแคลเซียมเคลื่อนที่ผ่าน Voltage-dependent Ca^{2+} channels (fast activated) แล้วกระตุ้นให้มีการหลั่งของแคลเซียมจากแหล่งเก็บสะสมแคลเซียมภายในเซลล์ (sarcoplasmic reticulum)

2.2 caffeine induced calcium release เกิดจากการกระตุ้นของสารเคมีได้แก่ caffeine ทำให้สามารถกระตุ้นให้มีการหลั่งของแคลเซียมจากแหล่งเก็บสะสมแคลเซียมภายในเซลล์ (sarcoplasmic reticulum)

2.3 เกิดจากการที่ receptor ถูกกระตุ้น และมีผลทำให้มีการเพิ่มขึ้นของ IP_3 (inositol-1,4,5-triphosphate) (รูปภาพที่ 5) เป็นผลทำให้มีการหลั่งแคลเซียมจากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์ (sarcoplasmic reticulum)(Bourne and Roberts,1995)

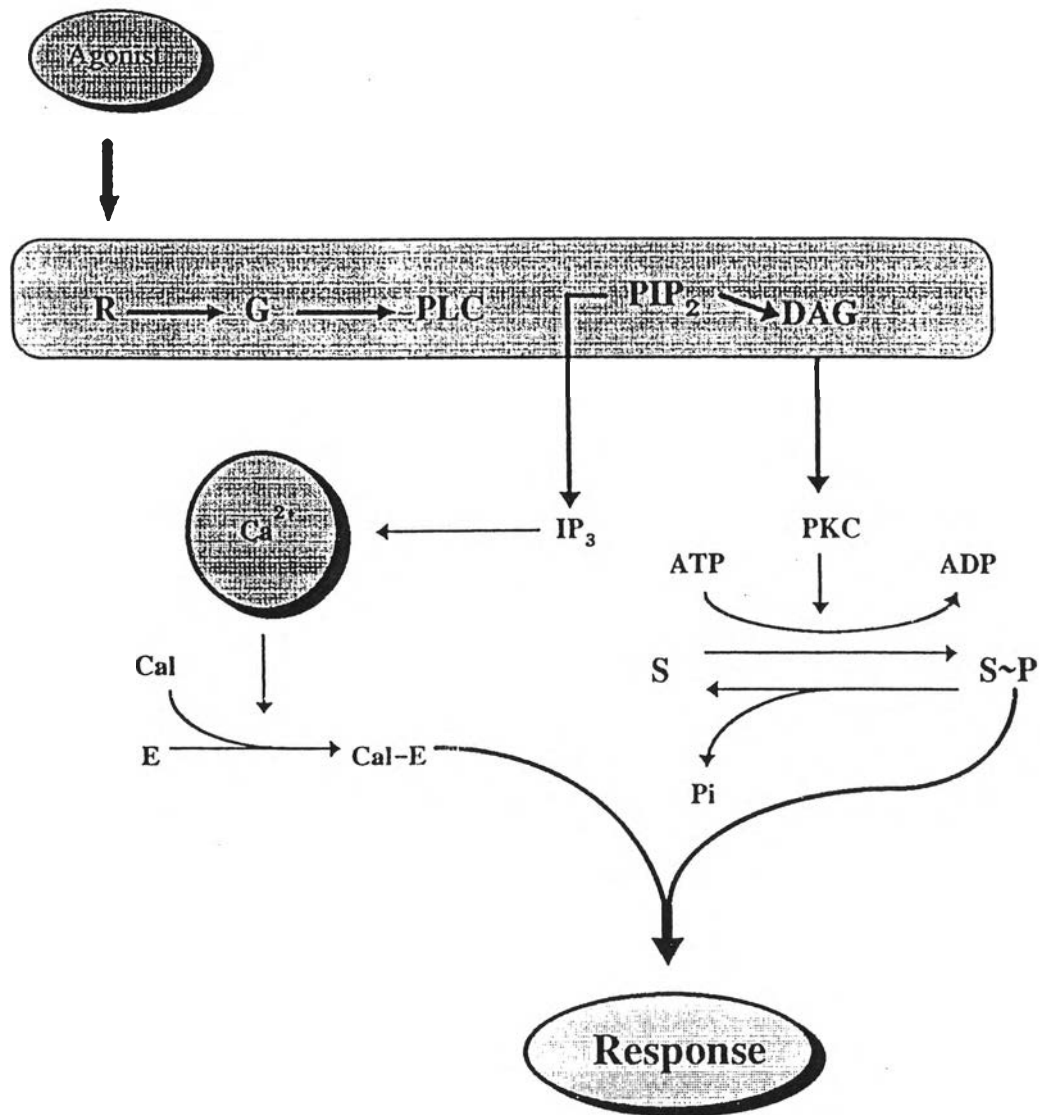
สำหรับการเกิด depolarization ของ sarcoplasmic reticulum membrane สามารถทำให้เกิดการหลั่งแคลเซียมจาก sarcoplasmic reticulum ได้ แต่ยังไม่ทราบแน่ชัดเกี่ยวกับสรีรวิทยาต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ

กลไกการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ

การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบจะเกี่ยวข้องกับแคลเซียม (Ca^{2+}) ซึ่งทราบกันดีอยู่แล้วว่า แคลเซียมอิสระภายในเซลล์ (intracellular calcium) จะเพิ่มขึ้นโดยอาจปลดปล่อยมาจาก แหล่งเก็บสะสมแคลเซียมภายในเซลล์ซึ่งเชื่อว่าเป็น sarcoplasmic reticulum(SR) หรืออาจมาจากภายนอกเซลล์เคลื่อนที่เข้าสู่เซลล์โดยผ่าน voltage-gated Ca^{2+} channels เมื่อแคลเซียมเข้าสู่เซลล์จะรวมตัวกับ Ca^{2+} binding protein คือ calmodulin เป็น calcium-calmodulin complex ซึ่งจะมีผลทำให้เอนไซม์ myosin light chain kinase(MLCK) ถูกกระตุ้นเร่งให้เกิด phosphorylation ของ myosin โดยเปลี่ยนจาก inactive myosin ไปเป็น active myosin สามารถจับกับ actin โดยมีการเคลื่อนที่ของ actin เข้าหา myosin มีผลทำให้เกิดการหดตัวตามมา ขบวนการ phosphorylation ของ myosin หรือ myosin-linked regulation นี้เป็นกลไกในการควบคุมการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ

myosin ถูก dephosphorylated ในเซลล์แต่ไม่ได้ทำให้กล้ามเนื้อคลายตัวทันทีเนื่องจากกล้ามเนื้อจะมี latch bridge mechanism ที่ทำให้ dephosphorylated myosin สามารถจับกับ actin ได้อีกระยะหนึ่ง หลังจากทีระดับแคลเซียมภายในเซลล์ลดลง การคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบเกิดจากความเข้มข้นของแคลเซียมอิสระภายในเซลล์ลดลง ทำให้ calmodulin แยกตัวหลุดออกมาจาก calcium-calmodulin-MLCK หรือมีกลไกอื่นๆ เข้ามามีบทบาทร่วมด้วยเอนไซม์

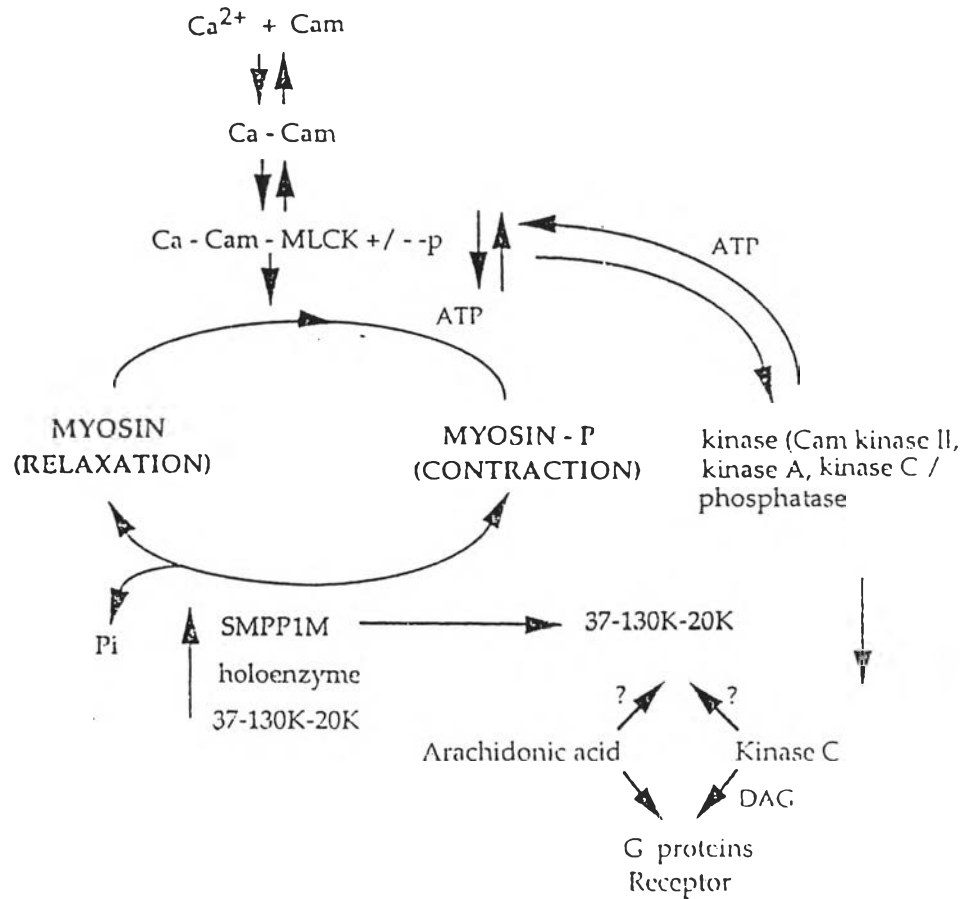
MLCK phosphatase จะทำให้เกิด dephosphorylate myosin light chain ในสภาวะนี้ myosin ไม่สามารถทำปฏิกิริยากับ actin ได้ เกิดการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ ดังแสดงในรูปภาพที่ 6 (Murphy, 1993 ; Somlyo, P. and Somlyo, V. , 1994 ; William and Ganong, 1995)



อธิบายคำย่อ

G	= G-protein	R	= receptor
PLC	= Phospholipase C	DAG	= diacylglycerol
Cal	= Calmodulin	S	= substrates of the kinase
PKC	= protein kinase C	ADP	= adenosine diphosphate
PIP ₂	= Inositol (1,4)-diphosphate	E	= enzyme
IP ₃	= Inositol (1,4,5)-triphosphate	Cal-E	= calmodulin binding enzyme
ATP	= adenosine triphosphate	S~P	= substrates phosphorylated

รูปภาพที่ 5 The Ca²⁺ / phosphoinositide signaling pathway
(Broume and Roberts, 1995)



อธิบายคำย่อ

- Ca²⁺ = calcium ion
- Ca-Cam = calcium-calmodulin
- MLCK = myosin light chain kinase
- SMPP1M = smooth-muscle myosin light-chain phosphatase
- ATP = adenosine triphosphate
- DAG = diacylglycerol
- Pi = gamma phosphate group

รูปภาพที่ 6 แสดงกลไกการหดตัวและคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ (Somlyo, P. and Somlyo, V. ,1994)

Muscarinic receptors

acetylcholine (ACh) ที่หลั่งมาจากปลายประสาทของระบบพาราซิมพาเทติกออกฤทธิ์ โดยการจับกับ muscarinic receptors ทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ (Pappano and Watanabe, 1995) โดยมีรายงานการค้นพบ subtype ของ muscarinic receptors ซึ่งกระจายอยู่บริเวณต่างๆดังนี้ (Caulfield, 1993 ; Pappano and Watanabe, 1995 ; Lefkowitz, Hoffman and Taylor, 1996)

M_1 พบที่บริเวณระบบประสาท

M_2 พบที่บริเวณหัวใจ ระบบประสาทและกล้ามเนื้อเรียบ

M_3 พบที่บริเวณต่อมต่างๆ กล้ามเนื้อเรียบและเยื่อ

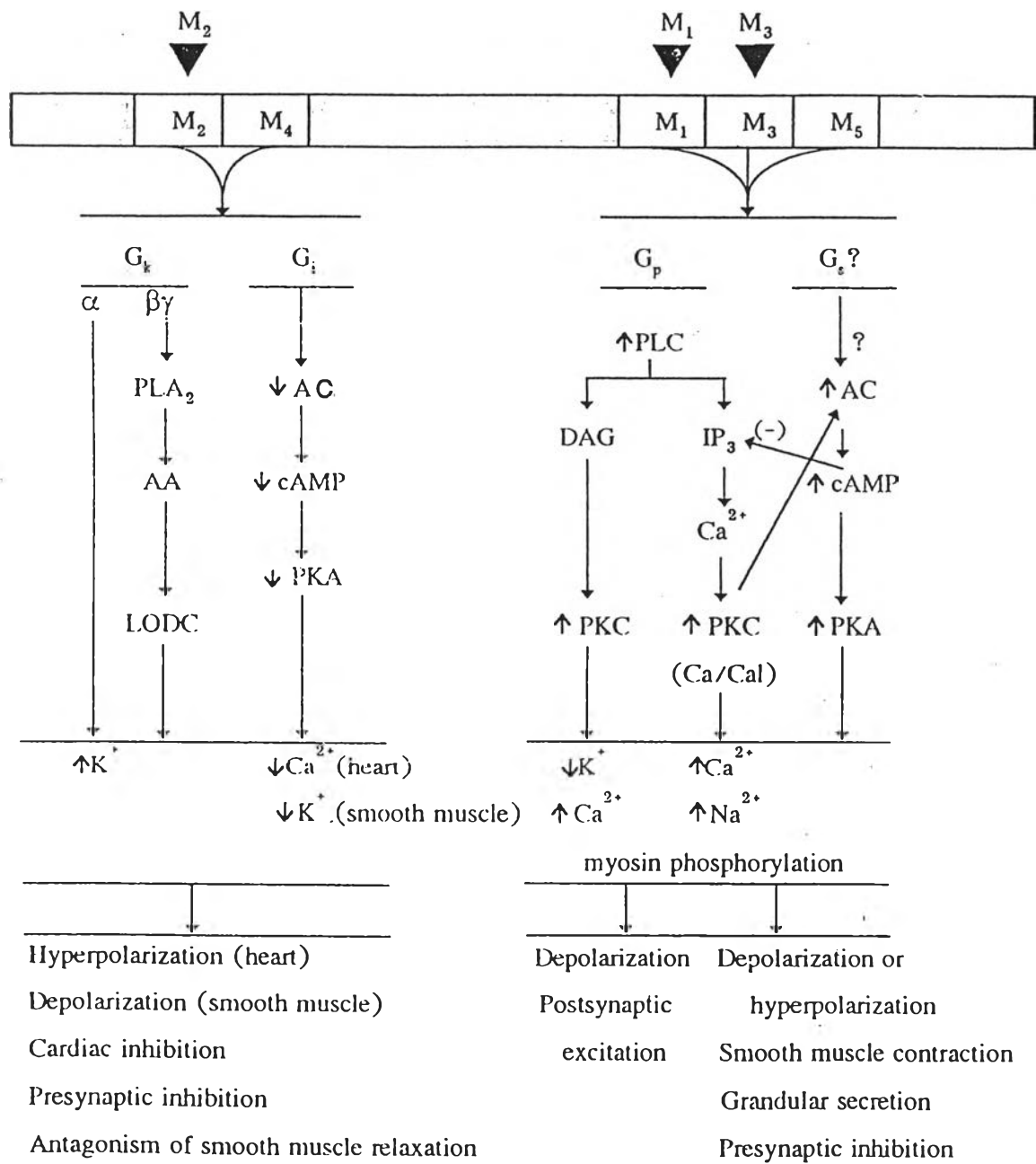
M_4 พบที่บริเวณระบบประสาทส่วนกลาง

M_5 พบที่บริเวณระบบประสาทส่วนกลาง

acetylcholine ทำให้แคลเซียมเข้าสู่ภายในเซลล์ได้ 2 กลไกคือ

1. Receptor operated Ca^{2+} channel (Bolton, 1979)
2. Voltage - dependent Ca^{2+} channel (Hulme, Birdsall and Backley, 1990)

กลไกการออกฤทธิ์ของ acetylcholine ต่อ muscarinic receptors (รูปภาพที่ 7) โดย couple กับ G_k -protein และ G_i -protein ซึ่งพบได้ที่ M_2 และ M_4 จะพบว่า G_k -protein couple กับ potassium (K^+) channels ที่ α และ β ซึ่งเป็น subunits ของ G_k -protein มีผลกระตุ้นการทำงานของ phospholipase A_2 (PLA_2) ทำให้ระดับ lipooxygenase-derived compounds เพิ่มขึ้น ส่วนเมื่อ couple กับ G_i -protein จะยับยั้งการทำงานของ adenylyl cyclase (AC) ทำให้ cAMP ลดลง มีผลทำให้ระดับ protein kinase A (PKA) ลดลง เกิดการกระตุ้นของ receptor-operated K^+ channels และกดการทำงานของ voltage-gated Ca^{2+} channels ส่วนการ couple กับ G_p -protein และ G_s -protein ซึ่งพบได้ที่ M_1, M_3 และ M_5 จะพบว่าเมื่อ couple กับ G_p -protein (putative G protein) จะกระตุ้นการทำงานของ phospholipase C (PLC) มีผลทำให้ระดับ diacylglycerol (DAG) และ IP_3 เพิ่มขึ้นและมีผลทำให้ PKC เพิ่มขึ้นทำให้มีการหลั่งของแคลเซียมอิสระจากแหล่งเก็บสะสม (sarcoplasmic reticulum) ทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบและเมื่อ couple กับ G_s -protein จะกระตุ้นการทำงานของ AC ส่งผลทำให้ระดับ second messenger คือ cAMP เพิ่มขึ้นและทำให้ PKC เพิ่มขึ้นทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบเช่นกัน (Hoover, 1994; Hulme, Birdsall and Backley, 1990; Wess, 1993; Caulfield, 1993; Lefkowitz, Hoffman and Taylor, 1996)



อธิบายคำย่อ

- | | | | |
|---|--|-----------------|----------------------------------|
| AC | = Adenyl cyclase | DAG | = diacylglycerol |
| PLC | = phospholipase C | PKA | = protein kinase A |
| G _k , G _i , G _p , G _s | = family of G-protein | IP ₃ | = inositol triphosphate |
| PLA ₂ | = phospholipase A ₂ | PKC | = protein kinase C |
| AA | = arachidonic acid | LODC | = lipoxygenase-derived compounds |
| PK(Ca/Cal) | = protein kinase that is sensitive to calcium and calmodulin | | |

รูปภาพที่ 7 แสดงกลไกการออกฤทธิ์ของ acetylcholine ต่อ muscarinic receptors โดย couple กับ G- protein (Hoover,1994)

Serotonin receptors

ในระยะแรก Gaddum และ Picarelli (1957) ได้แยกชนิดของ subtype ของ serotonin(5-HT) ได้ 2 ชนิดคือ D-receptor และ M-receptor โดย M-receptor พบที่ parasympathetic nerve ending ควบคุมการหลั่งของ acetylcholine ส่วน D-receptor พบที่กล้ามเนื้อเรียบ ได้มีการจำแนก 5-HT receptor ออกเป็น 7 ชนิดดังนี้ (Hoyer et al., 1994; Saxena,1995;Sanders-Bush and Mayer,1996)

1. 5-HT₁ receptor แบ่งเป็น 5 subtype คือ

5-HT_{1A} receptor พบที่ raphe nuclei,hippocampus

5-HT_{1B} receptor พบที่ substantia nigra, globus pallidus,basal ganglia

5-HT_{1D} receptor พบที่ cranial และ blood vessels

5-HT_{1E} receptor พบที่ cortex และ striatum

5-HT_{1F} receptor พบที่ สมอง และ periphery

พบว่า 5-HT_{1A} receptor จะถูกกระตุ้นโดย receptor operated K⁺ channel และ ถูกยับยั้งโดย voltage-gated Ca²⁺ channel และมีคุณสมบัติในการ couple กับ pertussin toxin-sensitive G_i/G_o ของ protein ส่วน subtype อื่น ทำหน้าที่เหมือน autoreceptor ที่ เซลล์ประสาท axon ส่วนปลาย ยับยั้งการหลั่ง 5-HT

2. 5-HT₂ receptor แบ่งได้เป็น 3 subtype คือ

5-HT_{2A} (D-receptor) พบที่ platelet , กล้ามเนื้อเรียบ ,cerebral cortex

5-HT_{2B} receptor พบที่ stomach fundus

5-HT_{2C} receptor พบที่ choroid plexus

5-HT₂receptor จะกระตุ้น PLC ทำให้เกิด second messenger 2 ชนิด คือ DAG เกิดการกระตุ้น PKC เพิ่มขึ้นและ second messenger ชนิดที่ 2 คือ inositol triphosphate(IP₃) ซึ่งจะกระตุ้นให้มีการหลั่งของแคลเซียมอิสระจากแหล่งเก็บสะสม (sarcoplasmic reticulum) ทำให้ระดับแคลเซียมภายในเซลล์เพิ่มขึ้น (Rang and Dale,1995;Sanders-Bush and Mayer ,1996) ซึ่งเป็น direct effect ทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภา นอกจากนี้ 5-HT จะกระตุ้นให้มีการหลั่งของ acetylcholine จากปลายประสาทลำไส้เล็กส่วน ileum โดยเกิดปฏิกิริยาระหว่าง 5-HT กับ neuronal receptor (Cohen et al.,1985)

3. 5-HT₃ receptor (M receptor) พบที่ peripheral nerves และ area postrema เป็น monoamine neurotransmitter receptor โดยทำให้เกิด ligand-operated ion channel

4. 5-HT₄ receptor พบที่ hippocampus และระบบทางเดินอาหารอยู่ที่เซลล์ประสาท,บนกล้ามเนื้อเรียบและต่อมคัดหลั่ง จะกระตุ้น AC ทำให้มีการเพิ่มของ cAMP

5. 5-HT₅ receptor พบที่ hippocampus ยังไม่ทราบบทบาทที่แน่ชัด

6. 5-HT₆ receptor พบที่ striatum ยังไม่ทราบบทบาทที่แน่ชัด

7. 5-HT₇ receptor พบที่ hypothalamus และ intestine ยังไม่ทราบบทบาทที่แน่ชัด

Adrenergic receptors

adrenergic receptor มี 2 ชนิด คือ (Bylund et al.,1994;Rang and Dale,1995 ; Lefkowitz,Hoffman and Tayer, 1996)

1. α -adrenergic receptor แบ่งได้เป็น 2 ชนิดได้แก่

α_1 -receptor แบ่งได้เป็น 3 subtype คือ α_{1a} -receptor พบได้ที่หัวใจ , ตับ , cerebral cortex , cerebellum , ต่อมลูกหมาก , ปอด , vas deferens , α_{1b} พบได้ที่ ไต , ม้าม , หลอดเลือดแดง aorta , cerebral cortex , ต่อมลูกหมาก , hippocampus, α_{1c} พบที่ aorta , cerebral cortex , prostate และ hippocampus

α_2 -receptor แบ่งได้เป็น 3 subtype คือ α_{2a} -receptor พบได้ที่ platelet , cerebral cortex , locus cervleus และ spinal cord , α_{2b} -receptor พบที่ ตับ และ ไต, α_{2c} -receptor พบที่ cerebral cortex

2. β -adrenergic receptor แบ่งเป็น 3 ชนิด ได้แก่

β_1 -receptor พบที่หัวใจ

β_2 -receptor พบที่ กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด , หลอดลม , ระบบทางเดินอาหารและระบบ genito-urinary , skeletal muscle และ ตับ

β_3 -receptor พบที่ adipose tissue

signal transduction ของ adrenergic receptor 3 ชนิด มีดังนี้

1. α_1 -receptor เมื่อมีการกระตุ้น α_1 adrenergic receptor พบว่ามีผลทำให้เกิดการหลั่งของแคลเซียมอิสระจากแหล่งเก็บสะสมแคลเซียม (sarcoplasmic reticulum) เพิ่มระดับแคลเซียมภายในเซลล์และเกิดการกระตุ้น phospholipase C β isofroms ไป couple กับ G_q-protein ทำให้มีการ hydrolysis ของ membrane-bound polyphosphoinositides ผ่านทาง phospholipase ส่งผลต่อระดับ second messenger คือ DAG และ IP₃ โดย IP₃ จะกระตุ้นให้มีการหลั่งของแคลเซียมอิสระ จากแหล่งเก็บสะสมแคลเซียมภายในเซลล์ (sarcoplasmic reticulum) ส่วน DAG จะส่งผลกระตุ้นการทำงานของ PKC (Minneman, 1988 ; Ruffolo et al.,1991; Bylund et al.,1994 ; Lefkowitz ,Hoffman and Taylor,1996)

2. α_2 -receptor ยับยั้ง AC , กระตุ้น G-protein-gated K^+ channel ทำให้เกิด membrane hyperpolarization , ยับยั้ง voltage-gated Ca^{2+} และเกี่ยวข้องกับ second messenger ทำให้เกิดการกระตุ้น Na^+ / H^+ exchange, กระตุ้น Phospholipase C - β_2 activity และความสมดุลของ arachidonic acid (Ruffolo et al., 1991; Bylund et al., 1994, Lefkowitz, Hoffman and Taylor, 1996)

3. β -receptor จะกระตุ้นการทำงานของ AC โดยการ couple กับ G-protein เพิ่ม cAMP , กระตุ้น cAMP-dependent protein kinase เป็นผลทำให้เกิด phosphorylation (Bylund et al., 1994 ; Lefkowitz, Hoffman and Taylor, 1996)

Histamine receptors

histamine ออกฤทธิ์ผ่าน histamine receptor แบ่งเป็น 3 subtype ได้แก่ (Rang and Dale, 1995 ; Burkhalter, Julius and Frick, 1995 ; Leurs and Timmerman, 1995 ; Babe and Serafin, 1996)

H_1 receptor พบที่ กล้ามเนื้อเรียบ , เยื่อบุหลอดเลือด และสมอง การจับกับ H_1 receptor จะเกิดการ couple กับ G-protein เกิดการกระตุ้น PLC ทำให้ระดับ IP_3 และ DAG เพิ่มขึ้น โดย IP_3 ที่เพิ่มขึ้น ทำให้เกิดการหลั่งของแคลเซียมอิสระจากแหล่งเก็บสะสม (sarcoplasmic reticulum) ส่วน DAG จะกระตุ้น PKC ขณะที่แคลเซียมอิสระจะกระตุ้น Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase และ phospholipase A_2 ในเซลล์เป้าหมาย

H_2 receptor พบได้ที่ ผนังกระเพาะอาหาร, กล้ามเนื้อหัวใจ, mast cells และสมอง การจับกับ H_2 receptor จะกระตุ้น AC ทำให้มีการเพิ่มขึ้นของระดับ cAMP-dependent protein kinase ในเซลล์เป้าหมาย

H_3 receptor พบได้ที่ presynaptic, สมอง, myenteric plexus และ neurons เมื่อมีการจับกับ H_3 receptor เกิดการ couple กับ G-protein จะมีการลดลงของระดับแคลเซียมอิสระภายในเซลล์ที่เข้าไปในเซลล์ จากการกระตุ้น PLC ทำให้ระดับ IP_3 และ DAG เพิ่มขึ้น (Burkhalter , Julius and Frick , 1995 ; Babe and Serafin , 1996) และยับยั้งการหลั่ง acetylcholine และ histamine (Leurs et al, 1991)

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของ 6-deoxyclitoriacetal จากรากหนอนตายหยากต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบชนิดต่างๆ ที่แยกจากกาย ได้แก่ กล้ามเนื้อเรียบมดลูกของหนูขาว กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาวและกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภา

2. เพื่อศึกษาถึงกลไกการออกฤทธิ์ของ 6-deoxyclitoriacetal จากรากหนอนตายหยากต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบชนิดต่าง ๆ ที่แยกจากกาย ได้แก่ กล้ามเนื้อเรียบมดลูกของหนูขาว กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาวและกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภา

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

1. ทำให้ทราบถึงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของ 6-deoxyclitoriacetal จากรากหนอนตายหยากต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบมดลูกของหนูขาว กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาว และกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภาที่แยกจากกาย

2. ทำให้ทราบถึงกลไกทางสรีรวิทยาที่เกี่ยวข้องของ 6-deoxyclitoriacetal จากรากหนอนตายหยากต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบมดลูกของหนูขาว กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาว และกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภาที่แยกจากกาย

3. ได้ข้อมูลทางเภสัชวิทยาเบื้องต้นของ 6-deoxyclitoriacetal จากรากหนอนตายหยากซึ่งเป็นประโยชน์ในการศึกษาในแง่อื่นๆต่อไปและเป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาสารที่อาจจะมียุทธภาพเป็นยาจากสมุนไพรในประเทศ