บทที่ ๒

ความรู้พื้นฐาน

มนุษย์เริ่มรู้จักเสาะแสวงหาสมุนไพรเพื่อนำมาใช้บำบัดโรคมานานตั้งแต่สมัยโบราณ-กาล โดยอาศัยการสังเกต ประสบการณ์แบบลองผิดลองถูก (trials and errors) และการจดจำคำบอกเล่าของบรรพบุรุษสืบต่อกันมา ซึ่งในสมัยเริ่มต้นของการนำเอาสมุนไพรมาใช้ให้เป็นประโยชน์นั้นยังไม่มีการจารึกหรือบันทึกไว้ จนกระทั่งมนุษย์เริ่มรู้จักประดิษฐ์ตัวอักษรขึ้นใช้จึงได้พัฒนาวิธีการถ่ายทอดโดยการจารึกหรือเขียนขึ้นเป็นตำราได้แก่ การจารึกในแผ่นดินเผา (Baked clay tablets) การจารึกในแผ่นหนังเทียม (Parchments) ตำราสมุนไพรที่เขียนด้วยลายมือ (Manuscript herbals) ตำราสมุนไพรพิมพ์ (Printed herbal) ตำราโอสถสารวิทยา (Materica medica) เภสัชตำรับ (Pharmacopoeia) เป็นต้น จากบันทึกของชาวอียิปต์ที่มีอายุนานกว่า ๓,๐๐๐ ปีมาแล้วได้บันทึกสมุนไพรที่นำมาใช้ประโยชน์ เช่น การรับประทานกระเทียมทุกวันจะช่วยเสริมสร้างพละกำลัง การใช้หญ้าฝรั่นในการรักษาโรคเกี่ยวกับตับ การใช้ดีบัว (embryo) เกสรและยางของบัวเป็นยากระตุ้นให้เลือดไปเลี้ยงหัวใจดีขึ้น ทั้งยังช่วยขับปัสสาวะ ขับเสมหะ และแก้ท้องเดิน เป็นต้น หลังจากสมุนไพรได้รุ่งเรืองในอียิปต์แล้วก็ได้มีการสืบทอดกันในกรีก โรมัน อาหรับ อีรัค เยอรมัน โปรตุเกส สวีเดน และโปแลนด์ ส่วนทางแถบเอเซียพบว่ามีการใช้สมุนไพรที่อินเดียมาแต่ครั้งพุทธกาลและได้บันทึกสรรพคุณของสมุนไพรมากกว่า ๗๕๐ ชนิด เรียกว่า ตำรา "อายุรเวท" ซึ่งกล่าวถึงสมมติฐานของโรค (etiology) อาการและอาการแสดง (signs and symptoms) รวมทั้งวิธีการรักษา (treatment) อย่างละเอียดถี่ถ้วน ต่อมาความรู้เรื่องยาสมุนไพรเหล่านี้จึงได้แพร่หลายเข้ามายังประเทศจีน ไทย และประเทศอื่น ๆ ในเอเซียตะวันออกเฉียงใต้ ดังนั้นตำรายาแผนโบราณหรือสมุนไพรของไทยจึงมีรากฐานมาจาก "อายุรเวท" ของอินเดียเป็นส่วนใหญ่

เมื่อวิทยาการทางด้านวิทยาศาสตร์โดยเฉพาะการแพทย์และเภสัชได้เจริญก้าวหน้าอย่างรวดเร็วทำให้ยาแผนปัจจุบันเข้ามามีบทบาทแทนที่ ทั้งนี้อาจเนื่องจากตำรายาสมุนไพรบางชนิดถูกปกปิดเพื่อผลประโยชน์ทางการค้า ทำให้ขาดการถ่ายทอดและเผยแพร่ นอกจากนี้ยาแผนปัจจุบันยังให้ความสะดวกในการนำไปใช้ กำหนดขนาดที่ใช้ได้แน่นอน และให้ผลในการรักษาได้รวดเร็วอีกด้วย แต่ทว่าปัจจุบันการสังเคราะห์ยาเพื่อใช้ในการบำบัดโรคมะเร็งของสารเคมีชนิดต่าง ๆ เท่าที่ได้กระทำกันมายังไม่ประสบผลเป็นที่พอใจ จึงหันมาสนใจในการสกัดสารเคมีจากสมุนไพรในการบำบัดโรคนี้ สมุนไพรที่ถูกนำมาใช้ในการบำบัดโรคมะเร็งจะมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโต และการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง (Cancer cells) ได้แก่สารจำพวก alkaloids, quinoids, saponins, coumarins, flavones, simaroubolides, steroids และสารประกอบอื่น ๆ ซึ่งสารต่าง ๆ ที่สกัดได้จากพืชจะถูกนำไปทดสอบทางพฤกษ-เคมี และเภสัชวิทยา (Phytochemical and Pharmacological Screening) ควบคู่กันไป จากหลักการดังกล่าวนี้ได้มีผู้ศึกษาและค้นคว้าเกี่ยวกับสมุนไพรที่ใช้บำบัดโรคมะเร็งกันอย่างมากมาย ดังเช่น ต้นแพงพวยฝรั่ง (Catharanthus roseus G. Don.) อยู่ในวงศ์ Apocynaceae เป็นไม้ล้มลุกโคนต้นค่อนข้างแข็งสูงประมาณ ๓๐-๔๐ เซนติเมตร ใบออกตรงข้ามปลายใบมน และดอกมีกลิ่นเหม็นเขียว กลีบดอกมีได้หลายสี ได้แก่ ชนิดดอกม่วง มีสีม่วงเข้มหรือบางทีมีจุดเหลืองตรงกลางดอก ชนิดดอกขาวบางพันธุ์มีจุดสีชมพูหรือเหลืองที่กลางดอก และยังมีพันธุ์ผสมที่มีดอกสีม่วงสลับขาวอีกด้วย พืชชนิดนี้เป็นพืชพื้นเมืองของหมู่เกาะมาดากาสก้า แต่ปัจจุบันมีขึ้นทั่ว ๆ ไป ในประเทศที่มีอากาศร้อนเช่นประเทศไทย [๘] เดิมชาวพื้นเมืองของหมู่เกาะมาดากาสก้าได้นำต้นแพงพวยฝรั่งมาใช้บำบัดโรคเบาหวาน [๙] จนกระทั่ง ค.ศ. ๑๙๕๘ Noble, Beer and Cutts [๑๐] นักวิทยาศาสตร์ชาวแคนาดาแห่งมหาวิทยาลัย Western Ontario ได้นำพืชนี้มาทำการศึกษาค้นคว้าและสกัดอัลคาลอยด์สำคัญซึ่งใช้ในการบำบัดโรคมะเร็งได้ให้ชื่อว่า vinca alkaloids ต่อมา Svoboda และคณะ [๑๑-๑๔] นักวิทยาศาสตร์ของบริษัท Eli Lilly ใน Indianapolis ได้ทำการสกัดและแยกอัลคาลอยด์จากต้นแพงพวยฝรั่งได้ประมาณ ๕๐ ชนิด ซึ่งในจำนวนนี้มีอัลคาลอยด์พวก binary indole alkaloids อยู่ ๔ ชนิดที่มีประสิทธิภาพในการบำบัดโรค

ได้แก่ vinblastine, vincristine, vinrosidine และ vinleurosine ในบรรดาอัลคาลอยด์เหล่านี้ vinblastine และ vincristine เป็นสารที่ได้รับความสนใจมากได้ถูกนำมาศึกษาและวิจัยทางคลีนิคอย่างกว้างขวางพบว่า vinblastine ใช้รักษา Hodgkin's disease และ Choriocarcinoma ได้ผล ส่วน vincristine ใช้สำหรับรักษา Acute leukemia[๑๕,๑๖] แม้ว่าอัลคาลอยด์ทั้งสองจะมีประสิทธิภาพในการบำบัดโรคมะเร็ง แต่ปริมาณอัลคาลอยด์ที่มีอยู่ในพืชนี้มีน้อยมาก การสกัดแยกอัลคาลอยด์แต่ละชนิดจึงจำเป็นต้องใช้พืชในปริมาณสูง ซึ่งมีผู้ทำการวิจัยและพบว่า ต้นแพงพวยฝรั่งหนัก ๕๐๐ กิโลกรัมจะให้อัลคาลอยด์ vincristine หนักเพียง ๑ กรัมเท่านั้น[๑๗] หลังจากการค้นพบอัลคาลอยด์ในต้นแพงพวยฝรั่งจึงเป็นแรงกระตุ้นให้นักวิทยาศาสตร์ทำการศึกษาและค้นคว้าหาสารสำคัญ (Active constituents) ที่สามารถบำบัดโรคมะเร็งได้ในสมุนไพรชนิดอื่น ๆ ดังรายงานเมื่อ ค.ศ.๑๙๗๒ Liu และคณะ[๑๘] สามารถแยก saponin ออกจากเนื้อในของเมล็ดสะบ้า (<u>Entada phaeseolides</u> Merr.) วงศ์ Mimosaceae เป็นไม้เถาเลื้อยขนาดใหญ่ ลำต้นบิดงอ เปลือกสีน้ำตาลแก่ ใบเป็น tripinnate เนื้อในเหนียวเรียบ ดอกมีขนาดเล็กสีขาวนวล เมล็ดกลม แข็ง ขอบเรียบ มีสีน้ำตาลแดงและขนาด ๕ เซนติเมตร[๑๙] saponin ที่แยกได้นี้เป็นผลึกรูปเข็ม ไม่มีสี มีจุดหลอมเหลวที่ 223-225°C และจากการทำ elemental analysis ได้สูตรโครงสร้างเป็น $C_{45}H_{82}O_{27}$ เมื่อทำการทดสอบหาฤทธิ์ในการต้านเนื้องอก (Antitumor activity) ของ saponin พบว่า saponin สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเนื้องอกชนิด Walker 256 carcinosarcoma ในหนู rat ได้ ต่อมา ค.ศ.๑๙๗๖ Kugelman และคณะ[๒๐] ได้สกัดสารสำคัญของต้นหญ้างวงช้าง (<u>Heliotropium indicum</u> L.) วงศ์ Boroginaceae ซึ่งเป็นไม้ล้มลุกเนื้ออ่อนขนาดเล็ก พบขึ้นทั่ว ๆ ไปในที่ว่างเปล่าและชุ่มชื้น ลำต้นตรงมีขนทั่วทุกส่วน สูงประมาณ ๓๐-๕๐ เซนติเมตร ใบเป็นรูปไข่ ปลายใบแหลม ดอกออกเป็นช่อสีขาว ยาวโค้ง ปลายสุดจะม้วนงอ เหมือนงวงช้างยาวประมาณ ๓-๑๐ เซนติเมตร ผลกลมเล็กมี ๒ เมล็ด[๒๑] สารสำคัญที่แยกได้คือ indicine-N-oxide เป็นอัลคาลอยด์ที่ละลายในน้ำได้ดี ลักษณะข้นเหนียว ตกผลึกได้รูปสี่เหลี่ยม มีจุดหลอมเหลวที่ 119-120°C และมีสูตรโครงสร้างเป็น $C_{15}H_{25}NO_6$

จากการทดลองพบว่า indicine-N-oxide สามารถต้านการเกิดเนื้องอกได้ ในปีเดียวกันนั้น Kupchan and Karim[๒๒] ได้สกัดสาร arthraquinone ชื่อ aloe emodin ออกจากเมล็ดของ Rhamnus frangula L. วงศ์ Rhamnaceae พืชสกุลเดียวกับกุหลาบหิน (Rhamnus crenatus Z.)[๒๓] และระหว่างนั้น Ogura, Cordell and Farnsworth[๒๔,๒๕] ก็สามารถสกัดสาร quinoids ชื่อ jacaranone ออกจาก Jacaranda caucana P. วงศ์ Bignoniaceae พืชสกุลเดียวกับแคฝอย (Jacaranda filicifolia D.)[๒๓] ได้สำเร็จ ซึ่งสารสำคัญทั้งสองนี้สามารถบำบัดโรคมะเร็งเม็ดโลหิตชนิด P-388 lymphocytic leukemia ในหนู mice ได้ ค.ศ. ๑๙๗๗ Montgomery and Yamauchi[๒๖] ได้รายงานว่าพบโปรตีนสำคัญที่สกัดได้จากเนื้อในของเมล็ด Caesalpinia gilliesii วงศ์ Caesalpiniaceae พืชสกุลเดียวกับต้นหยง (Caesalpinia coriaria W.)[๒๓] ให้ชื่อว่า cesalin ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเนื้องอกชนิด Walker 256 carcinosarcoma ในหนู rat ได้สูงถึง ๗๐ - ๘๐ % ในขนาด 80 μg/kg/day ต่อมา Ghosh และคณะ[๒๗] ได้สกัด glaucarubinone ซึ่งเป็นสารสำคัญออกจาก Simarouba vesicolor วงศ์ Simaroubaceae ซึ่งเป็นวงศ์เดียวกับราชดัด (Brucea javanica M.)[๒๓] จากการทดลองพบว่า glaucarubinone สามารถบำบัดโรคมะเร็งเม็ดโลหิตขาว และทำลายเซลล์มะเร็งได้ด้วย (Antileukemic and Cytotoxic activities) นอกจากนี้ Ogura และคณะ[๒๘] ยังได้ทำการสกัดเปลือกรากของพืชในวงศ์เดียวกันนี้คือ Ailanthus excelsa และพบสารสำคัญหลายชนิดได้แก่ ailanthinone, glucarubinone, a mixture of glucarubol 15-isovalerate และ 13, 18-dehydroglaucarobol 15-isovalerate ซึ่งสามารถต้านการเกิดเนื้องอกและทำลายเซลล์มะเร็ง (Antitumor and Cytotoxic activities) และในปีต่อมาก็สามารถสกัดอัลคาลอยด์ออกจากพืชนี้ได้ ๔ ชนิด คือ canthin-6-one, 1-methoxycanthin-6-one, 5-methoxycanthin-6-one และ 8-hydroxycanthin-6-one[๒๙] ค.ศ. ๑๙๗๘ Hambree และคณะ[๓๐] สามารถสกัดสาร pentadecylcatechols ออกจากผลของรักขน (Semecarpus anacardium L.) วงศ์ Anacardiaceae ซึ่งเป็นวงศ์เดียวกับมะม่วงหิมพานต์ (Anacardium occidentale L.)[๒๓] สารนี้สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งหลอดอาหาร

ชนิด Eagles 9 KB nasopharyngeal carcinoma cell ในหลอดทดลอง (in vitro) ต่อมา ค.ศ. ๑๙๗๙ Cassady และคณะ[๓๑] ได้รายงานว่าพบสารสำคัญได้แก่ coumarins, micromelin และ scopoletin ในต้นนมวัว (Micromelum integerrimum R.) วงศ์ Rutaceae พืชสกุลเดียวกับสมัดน้อย (Micromelum glanduliferum B.)[๒๓] ซึ่งสารเหล่านี้สามารถบำบัดโรคมะเร็งเม็ดโลหิตชนิด P-388 lymphocytic leukemia ในหนู mice และในปีเดียวกัน Gunasekera และคณะ[๓๒] ได้สกัดอัลคาลอยด์ camptothecin และ 9-methoxycamptothecin จากรากของ Ervatamia heyneana วงศ์ Apocynaceae สกุลเดียวกับพุดซ้อน (Envatamia coronaria S.)[๒๓] ซึ่งระหว่างนั้น Kingston, Rao and Zucker[๓๓] ก็ได้สกัดสารจำพวก flavones จากใบและดอกของ Hyptis tomentosa วงศ์ Labiatae สกุลเดียวกับ แมงลักคา (Hyptis suaveolens P.)[๒๓] และจากการทดลองพบว่าทั้ง alkaloids และ flavones นี้สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งหลอดอาหารในหลอดทดลอง (KB cell culture system) และบำบัดโรคมะเร็งเม็ดโลหิตชนิด P-388 lymphocytic leukemia ในหนู mice ได้ ค.ศ. ๑๙๘๐ คณะนักวิทยาศาสตร์ ๒ กลุ่ม ได้แก่ คณะของ Cairnes[๓๔] และ Pettit[๓๕] ได้ทำการสกัด Juniperus phoenicea วงศ์ Cupressaceae สกุลเดียวกับสนญี่ปุ่น (Juniperus chinensis L.)[๒๓] และ Senecio fendleri G. วงศ์ Compositae สกุลเดียวกับขางหางเหล็ก (Senecio nagensium C.)[๒๓] พบสารสำคัญสามารถบำบัดโรคมะเร็งได้ คือ lignans และ jacaranone ตามลำดับ

จากข้อมูลข้างต้นแสดงให้เห็นว่า นับเป็นเวลากว่า ๒๐ ปีที่นักวิจัยทางการแพทย์ของประเทศต่าง ๆ ได้พยายามค้นคว้าหาสารสำคัญจากสมุนไพรเพื่อนำมาใช้บำบัดโรคมะเร็งกันอย่างจริงจัง และยังคงดำเนินต่อไปอย่างไม่หยุดยั้งโดยเฉพาะอย่างยิ่งประเทศที่การแพทย์แผนปัจจุบันยังไม่สามารถแพร่กระจายไปได้ทั่วทุกท้องถิ่น ดังเช่น ประเทศไทย จึงได้ส่งเสริมให้มีการศึกษาวิจัยพืชสมุนไพรมากขึ้น ซึ่งการวิจัยครั้งนี้นับเป็นส่วนหนึ่งของนโยบายดังกล่าว

สำหรับรายละเอียดเกี่ยวกับสมุนไพร วิธีการทดสอบทางพิษวิทยาและไวรัสที่จะทำการวิจัยได้รวบรวมไว้ ดังนี้

๑. ต้นเหงือกปลาหมอ (Acanthus illicifolius L.)

ต้นเหงือกปลาหมออยู่ในวงศ์ Acanthaceae มี ๒ ชนิด [๓๖] คือ Acanthus illicifolius L. และ Acanthus ebracteatus Vahl. ซึ่งมีลักษณะคล้ายคลึงกัน จะแตกต่างกันที่สีของกลีบดอกและใบประดับรองรับช่อดอกเท่านั้น สำหรับสรรพคุณในการเป็นสมุนไพรเหมือนกันทุกประการ ต้นเหงือกปลาหมอที่ทำการศึกษาคือ Acanthus illicifolius L. พบในเขตร้อนของอาฟริกาและเอเชียได้แก่ อินเดีย จีน ฟิลิปปินส์ อินโดนีเซีย มาเลเซีย พม่า ไทย เป็นต้น [๓๗] ในประเทศไทยพบได้ทั่วไปตามป่าชายเลน ลุ่มแม่น้ำลำคลองที่มีน้ำกร่อย และมีชื่อเรียกหลายชื่อ เช่น แก้มหมอเล จะเกร็ง บางเกร็ง และอีเกร็ง [๓๘] ต้นเหงือกปลาหมอนี้มีลักษณะเป็นไม้พุ่มหรือไม้ล้มลุกสูงประมาณ ๒-๔ ฟุต ลำต้นแข็งมีหนามแหลมตามข้อ ข้อละ ๔ หนาม และมักพบรากอากาศ ใบออกตรงข้ามเป็นคู่สีเขียวเข้ม รูปไข่หรือรูปขอบขนาน ขอบใบเว้าหรือเรียบและมีหนามแหลมใบกว้าง ๑-๓ นิ้ว ยาว ๔-๗ นิ้ว มีก้านใบสั้นๆ ยาว ๐.๑ นิ้ว ดอกออกเป็นช่อตรงยอดเหมือนรวงข้าว ช่อดอกยาว ๖ นิ้ว มีใบประดับสีเขียวยาว ๐.๒๔ นิ้ว รองรับช่อดอก กลีบรองกลีบดอกมี ๒ กลีบ อยู่ด้านนอกแยกออกจากกันสีเขียวอ่อน ยาว ๐.๔-๐.๗ นิ้ว กลีบดอกยาว ๑.๗๕ นิ้ว และมีสีขาวขลิบฟ้า หรือสีฟ้าอ่อน ซ้อนเหลี่ยมกันแบบกระเบื้องมุงหลังคา (imbricated) แยกออกเป็น ๒ ทาง กลีบบนยาวเท่ากับกลีบรองแต่กลีบล่างแผ่กว้างและโค้งลง เกสรตัวผู้มี ๔ อัน สีชมพูติดอยู่บนกลีบใน มีขนแข็ง ๆ สีชมพูที่อับเรณูด้วย เกสรตัวเมียมี ๒ พู ๒ ห้อง แต่ละห้องมีไข่ติดอยู่ที่แกนของรังไข่จำนวนมาก ผลเป็นฝักสีน้ำตาล ปลายฝักป้านและมีเมล็ดข้างใน ๔ เมล็ด [๔,๑๙,๓๙-๔๒] ประเทศต่าง ๆ ในแถบเอเชียได้นำต้นเหงือกปลาหมอมาใช้เป็นยาสมุนไพรได้แก่ ประเทศอินเดียใช้เหงือกปลาหมอทั้งต้นเป็นยาฝาดสมาน (astringent) ช่วยขับเสมหะ (expectorant) และเป็นตัวกระตุ้น (Stimulant) เฉพาะรากใช้แก้ไอและแก้หืด ส่วนใบและหน่อช่วยแก้พิษงู [๑๙] ประเทศอินโดนีเซียใช้รากเหงือกปลาหมอ

พอกแผลเพื่อให้แผลหายเร็วขึ้น และเมื่อรับประทานร่วมกับขิงบดช่วยแก้ท้องอืด และรักษาโรคลำไส้[๔๓] ประเทศฟิลิปปินส์เชื่อว่ายาต้มของใบและรากเหงือกปลาหมอใช้แก้หืดได้ [๔๔] ประเทศเวียดนามใช้เหงือกปลาหมอทั้งต้นเป็นยาขับปัสสาวะ ส่วนรากใช้รักษาโรคอัมพาต (Paralysis) [๑๔, ๔๓] ประเทศพม่าเชื่อว่าหน่อของเหงือกปลาหมอใช้แก้พิษงู และใบใช้รักษาโรครูมาติค (Rheumatism) [๔๔] ประเทศจีนใช้รากเหงือกปลาหมอเป็นยาลดไข้[๔๓] รักษาโรคต่าง ๆ ได้แก่ โรคตับอักเสบ (Hepatitis)โรคหืด (Asthma) โรคมะเร็ง (Cancer) ภาวะตับม้ามโต (Hepatosplenomegaly) และโรคเรื้อรังต่าง ๆ ถ้าต้องการรักษาโรคมะเร็งมีวิธีเตรียมยาโดยใช้รากเหงือกปลาหมอแห้งที่หั่นฝอยหนัก ๓๐-๑๒๐ กรัม ต้มรวมกับเนื้อหมูแดงหนัก ๖๐-๑๒๐ กรัม ในน้ำ ๕๐๐ มิลลิลิตร เป็นเวลาอย่างน้อย ๖ ชั่วโมง จนงวดได้ยาต้ม ๑ ถ้วย แล้วรับประทานวันละ ๒ ถ้วย[๕] ส่วนประเทศไทยได้บันทึกสรรพคุณของต้นเหงือกปลาหมอไว้มากมาย ได้แก่ ใบใช้รักษาโรคผิวหนัง[๔๖] ผลใช้เป็นยาขับระดู[๔๗] เมล็ดใช้พอกฝี แก้ไอ และขับพยาธิ[๔๘] รากช่วยขับเสมหะ แก้ไอ แก้หืด และรักษามุตกิตระดูขาว[๓๘] ส่วนเหงือกปลาหมอทั้งต้นใช้ลดไข้ บรรเทาอาการเจ็บปวด และอ่อนเพลีย นอกจากนี้ยังใช้รักษาโรคต่าง ๆ เช่นมะเร็ง เหน็บชา ปอดบวม ริดสีดวง ไข้จับสั่น แผลอักเสบ โรคหืด โรคเรื้อน รวมทั้งใช้เป็นยาอายุวัฒนะอีกด้วย[๕,๔๙] ในการรักษามะเร็งให้ใช้ส่วนผสมของต้นเหงือกปลาหมอ ดีปลี และพริกไทยดำที่บดละเอียดมาชงกับน้ำร้อนแล้วรับประทาน[๙] จากการศึกษาทางด้านพฤกษเคมีของต้นเหงือกปลาหมอ เมื่อ พ.ศ. ๒๕๒๓ โดยกลุ่มนักวิทยาศาสตร์ไทย พบว่ามีสารสำคัญจำพวกอัลคาลอยด์ในส่วนลำต้นและใบของต้นเหงือกปลาหมอ [๕๐] ขณะเดียวกันนั้น Tiwari, Minocha and Masood นักวิทยาศาสตร์ชาวอินเดียแห่งมหาวิทยาลัย Allahabad ก็สามารถสกัดสารสำคัญได้แก่ oleanolic acid, β-sitosterol, lupeol, quercetin 3-O-β-D-glucopyranoside, trigonellin และอัลคาลอยด์ตัวใหม่ซึ่งให้ชื่อว่า Acanthicifoline จากต้นเหงือกปลาหมอได้สำเร็จ [๕๑, ๕๒] นอกจากนี้ยังสามารถสกัดสารสำคัญคือ triterpenoidal saponin จากรากของต้นเหงือกปลาหมอได้อีกด้วย [๕๓] สำหรับดีปลี (<u>Piper longum</u> L.) และพริกไทยดำ (<u>Piper</u> <u>nigrum</u> L.) ที่ใช้ร่วมกับต้นเหงือกปลาหมอในการรักษามะเร็ง อยู่ในวงศ์ Piperaceae เป็นพืชจำพวกเถาเลื้อยพาดพันต้นไม้อื่น

ลำต้นเป็นข้อปล้อง และมีรากงอกตามข้อเพื่อยึดเกาะตามสิ่งพาดพัน ใบออกสลับกันเป็นใบเดี่ยว และที่แผ่นใบเมื่อนำมาส่องดูที่สว่างจะเห็นเป็นจุดใส ๆ (pellucid dotted) ดอกติดอยู่บนช่อ ดอกอาจมีเพศเดียวหรือ ๒ เพศก็ได้ ไม่มีกลีบดอกแต่มีกลีบเลี้ยง เกสรตัวผู้มี ๒-๖ อัน กระเปาะเกสรมี ๒ เซลล์ หรือเห็นได้ชัดเพียง ๑ เซลล์ และแตกตามยาว เกสรตัวเมียมี ๑ ห้อง รังไข่เป็นชนิดอยู่บน (superior) มีไข่ ๑ ฟอง ผลจะมีเมล็ดแข็งและเนื้อในเมล็ดแห้ง ผลของดีปลียาวประมาณ ๑ นิ้วฟุต มีปุ่มเล็ก ๆ ทั่วทั้งผล เมื่ออ่อนจะมีสีเขียว และเมื่อแก่จัดจะกลายเป็นสีส้ม ส่วนผลของพริกไทยจะติดกันเป็นพวง เมื่อแห้งและมีเปลือกติดมีชื่อเรียกทางการค้าว่า พริกไทยดำ (Black pepper) ถ้าแก่จัดจะลอกเปลือกนอกออก เรียกชื่อทางการค้าว่า พริกไทยร่อน หรือ พริกไทยขาว (White pepper) [๗,๔๔-๔๖] ดีปลีและพริกไทยดำนอกจากจะใช้เป็นเครื่องเทศแต่งกลิ่นอาหาร และถนอมอาหารแล้วยังมีสรรพคุณช่วยขับลม ขับเสมหะ ขับระดู เป็นตัวกระตุ้น (stimulant) ทำให้เจริญอาหาร ลดอาการวิงเวียนและคลื่นไส้อาเจียน บรรเทาปวด ลดไข้ แก้ไอ แก้ท้องร่วง และช่วยรักษาโรคต่าง ๆ ได้แก่ เหน็บชา ริดสีดวงทวาร หลอดปัสสาวะอักเสบ โรคหืด โรคหนองใน เป็นต้น [๔,๑๗,๑๙,๓๗,๔๓,๔๗,๔๘,๕๗-๖๐] สารประกอบทางเคมีที่สำคัญในดีปลีได้แก่ piperine และ piplartine [๖๑,๖๒] ส่วนพริกไทยดำพบสารสำคัญเช่น piperine, piperettine, volatile oil, starch และ resin ที่มีกลิ่นฉุนชื่อ chavicine [๖๓-๖๗]

๒. การทดสอบทางพิษวิทยา (Toxicity test)

สมุนไพรแต่ละชนิดย่อมประกอบด้วยสารเคมีหลายชนิด และอาจจะมีเพียงหนึ่งหรือสองชนิดเท่านั้นที่มีคุณสมบัติทางชีวภาพหรืออาจไม่มีเลยก็ได้ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องทำการสำรวจหาความเป็นพิษของสมุนไพรที่ทำการศึกษา โดยขั้นแรกทำการทดสอบในสัตว์ทดลองก่อน แล้วจึงนำผลที่ได้มาประเมินผลและคาดคะเนฤทธิ์หรือพิษของสารนั้น ๆ ในคน ทั้งนี้เพื่อความปลอดภัยในการนำสมุนไพรนั้น ๆ มาใช้บำบัดรักษาโรค

หลักสำคัญในการสำรวจหาพิษของสารนั้นในสัตว์ทดลองได้แก่ การเลือกวิธีการให้สาร (route of administration) ขนาดและความเข้มข้นของสาร (dose and concentration of administration) ความถี่ในการให้ (frequency) และเวลาของการให้สารแก่สัตว์ทดลอง (time of administration) ควรยึดหลักเช่นเดียวกับที่คนจะได้รับเข้าสู่ร่างกาย[๖๘-๗๒] ปัจจุบันนี้วิธีการทดสอบทางพิษวิทยาแบ่งตามลักษณะการทดสอบได้เป็น ๒ วิธีคือ[๗๓-๗๕] วิธีการทดสอบเพื่อหาผลหรืออาการพิษที่เกิดขึ้นโดยทั่วไป (General toxicity tests) วิธีนี้สามารถแบ่งตามระยะเวลาของการทดลองได้ดังนี้ การทดสอบแบบเฉียบพลัน (Acute test) โดยการสังเกตพฤติกรรมต่าง ๆ ของสัตว์ทดลอง เช่น motor activity, bizarre reaction, ataxia, abnormal tail, paralysis, tremors และอื่น ๆ รวมทั้งบันทึกอัตราตาย (mortality rate) ที่อาจเกิดขึ้นภายใน ๒๔ ชั่วโมง หรือบางกรณีอาจใช้เวลาเป็นสัปดาห์ การทดสอบในระยะเวลานาน (Prolonged test) นอกจากบันทึกน้ำหนัก ค่า Hematocrit จำนวนเซลล์เม็ดเลือดต่าง ๆ[๗๖] และอัตราตายของสัตว์ทดลองแล้วยังศึกษาพยาธิสภาพของอวัยวะภายในร่วมด้วย ซึ่งระยะเวลาในการทดสอบไม่ต่ำกว่า ๓-๔ เดือน การทดสอบแบบเรื้อรัง (Chronic test) จะต้องให้สารแก่สัตว์ทดลองเป็นระยะเวลามากกว่า ๑ ปี และระหว่างช่วงการทดลองตรวจสอบผลทางชีวเคมี[๗๖] พยาธิวิทยา อาการทางคลีนิค รวมทั้งศึกษาพยาธิสภาพอวัยวะภายในของสัตว์ทดลอง ส่วนอีกวิธีเป็นการทดสอบเพื่อหาอาการพิษโดยเฉพาะของสาร (Specific toxicity tests) ใช้ทดสอบในกรณีที่การทดสอบด้วยวิธีแรกนั้นสัตว์ทดลองแสดงอาการพิษอย่างใดอย่างหนึ่ง ได้แก่ การทดสอบผลต่อความสามารถในการสืบพันธุ์ (Reproduction test) การทดสอบผลต่อผิวหนังและตา (Skin and Eyes test) การทดสอบผลต่อพฤติกรรม (Behavior test) การทดสอบเพื่อหาสารก่อกลายพันธุ์และสารก่อมะเร็ง (Mutagenic and Carcinogenic test) เป็นต้น

๓. Friend leukemia virus

ค.ศ. ๑๙๕๖ Dr. Charlotte Friends [๗๗,๗๘] นักวิทยาศาสตร์แห่งสถาบัน Sloan-Kittering ในนิวยอร์ค ค้นพบไวรัสตัวหนึ่งซึ่งแยกได้จากม้ามของหนู mice พันธุ์ Swiss ที่ได้รับส่วนสกัดจากเซลล์ที่ติดเชื้อ Ehrlich ascites tumor ตั้งแต่แรกเกิด และให้ชื่อไวรัสนี้ว่า Friend leukemia virus (FV) FV นี้ไม่สามารถทำให้เกิด Ehrlich ascites mouse carcinoma และมี host range เปลี่ยนไปตามพันธุ์ (strains) ของ newborn mice ที่ถูกติดเชื้อ [๗๙]

๓.๑ <u>คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของ Friend leukemia virus</u> รูปร่างลักษณะของ FV เป็นชนิด C particle มี ๒ รูปแบบคือ immature type c virus particle ลักษณะเซลล์ทางกลมประกอบด้วย external membranes ๒ ชั้นและมี membrane บาง ๆ ชั้นที่ ๓ คั่นระหว่าง external membranes ทั้งสอง ภายในเซลล์ไม่มี nucleoid [๘๐] ส่วน mature type C virus particle เซลล์เป็นรูปทรงกลมขนาดใหญ่ มี electron-dense nucleoid ภายในเซลล์ และโดยทั่วไป external membrane มีเพียงชั้นเดียว หรือบางครั้งอาจมี ๒ ชั้นก็ได้ particles เหล่านี้มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ ๘๗-๑๑๐ nm [๘๑-๘๓] FV สามารถกรองผ่าน bacterial filters ได้ เช่น Berkefeld N หรือ Selas เบอร์ ๐๒,๐๓ และถูกทำลายได้ด้วยอีเธอร์หรือฟอร์มาลิน นอกจากนี้ยังพบว่า FV จะสลายตัวเมื่อได้รับความร้อน (thermolabile) เช่นที่อุณหภูมิ 50-56°C เป็นเวลา ๓๐ นาที หรือที่ 37°C เป็นเวลาหลายชั่วโมง แต่สามารถรักษา FV ให้คงสภาพอยู่ได้ภายใต้อุณหภูมิต่ำ ๆ เช่นที่อุณหภูมิ -70°C ในคาร์บอนไดออกไซด์แห้ง (dry ice) และในไนโตรเจนเหลว เป็นต้น [๘๔-๘๕]

๓.๒ <u>ลักษณะการเกิดโรคของ Friend leukemia virus</u> ลักษณะของการเกิดโรคพบว่า mononuclear cells ในม้ามและตับของ susceptible mice มีการแบ่งตัวอย่างรวดเร็ว ทำให้ตับและม้ามมีขนาดโตขึ้น (hepatosplenomegaly) และเกิด lymphocytosis, erythroblastosis, anemia รวมทั้ง progressive thrombocytopenia และระยะแฝง (latent period) ของโรคนี้สั้นมาก [๘๒-๘๗]

ในระยะแรกของการเกิดโรค ต่อมไทมัสและต่อมน้ำเหลืองจะยังคงปกติเพราะจากการทดลองตัดต่อมไทมัสของหนู mice ที่ถูกติดเชื้อด้วย FV ปรากฏว่าโรคยังดำเนินต่อไปได้ [๘๖] แต่ในทางตรงข้ามโรคจะดำเนินช้าลงถ้าตัดม้ามของหนู mice ก่อนหรือหลังได้รับเชื้อ FV ทั้งนี้ไม่มีผลกระทบต่ออุบัติการเกิดโรค ลักษณะหรือผลของโรคแต่อย่างใด [๘๖]

๓.๓ <u>Friend virus complex</u>

๓.๓.๑ ส่วนประกอบของ FV complex จากการผ่าน (passages) เซลล์ของ Friend virus complex (Mirand strain) เข้าไปยัง Ha/ICR Swiss mice มากกว่า ๑๐๐ ครั้ง พบว่ามีการสร้าง foci บนผิวของม้ามและเกิด polycythemia ขึ้น[๘๘] ซึ่ง virus complex นี้ประกอบด้วยไวรัสอย่างน้อย ๔ ชนิดได้แก่ spleen focus-forming visus (SFFV),[๘๘] lymphatic leukemia virus (LLV),[๘๙] lactic dehydrogenase-elevating virus (LDV),[๙๐] และ B-tropic type-C helper virus หรือ mink cell focus-inducing virus (MCF)[๙๑]

๓.๓.๒ <u>คุณสมบัติทางชีวภาพของส่วนประกอบของ FV complex</u> ตั้งแต่ ค.ศ.๑๙๖๗ เป็นต้นมาได้มีรายงานว่าการที่ FV สามารถทำให้ susceptible mice เกิดเป็น erythroleukemia ได้นั้นต้องอาศัย SFFV[๘๘] และ helper virus คือ LLV [๗๙,๙๒] โดยมีการสร้าง foci ที่มองเห็นได้ด้วยตาเปล่าบนผิวของม้ามภายหลังฉีด FV เข้าหลอดเลือดดำของหนู mice แล้ว ๙ วัน [๘๓] แต่เมื่อ ค.ศ.๑๙๗๘ Troxler และคณะ [๙๑] ได้ค้นพบไวรัสชนิดใหม่ใน FV complex ให้ชื่อว่า mink cell focus-inducing virus (MCF) ซึ่งเป็น endogenous virus [๙๔] และทำหน้าที่เป็น helper virus เช่นเดียวกับ LLV [๙๕] จะสามารถทำให้เกิด erythroleukemia ได้โดยไม่ต้องอาศัย SFFV [๙๖] สำหรับ LLV สามารถแยกเป็นอิสระจาก SFFV ได้หลังจากทำ serial passages เข้าไปใน newborn rats และ blind passages เข้าไปใน C 57 BL mice [๘๙] หรือด้วยวิธี sucrose gradient centrifugation [๙๗] ดังนั้น LLV จึงทำให้หนู rats และ mice เกิด lymphatic leukemia ได้โดยไม่มีการสร้าง foci บนผิวของม้าม [๙๘]

ส่วน LDV จะพบได้ขณะเป็นลิวคีเมีย (๙๙) และนอกจากจะเป็นสาเหตุของ chronic and nonpathogenic infection ในหนู mice แล้ว (๑๐๐) ยังทำให้เอ็มไซม์ต่าง ๆ ในพลาสม่าของหนูที่ถูกติดเชื้อมีปริมาณสูงขึ้น (๙๐,๑๐๑) LDV สามารถเพิ่มจำนวนของไวรัสในเซลล์ของ reticuloendothelial system (macrophages) (๑๐๐,๑๐๒-๑๐๕) และทำให้เซลล์เหล่านี้ทำหน้าที่เปลี่ยนไป (๑๐๐,๑๐๖,๑๐๗)

๓.๓.๓ <u>พยาธิสภาพของ FV complex (Mirand strain)</u> พบว่าเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วหลังการติดเชื้อโดยมีการสร้าง foci ที่มองเห็นได้ด้วยตาเปล่าบนผิวของม้าม (๙๓) และบริเวณที่พบ foci (focal areas) จะมีไวรัสมากกว่าบริเวณอื่น ๆ (interfocal areas) (๑๐๘) foci เหล่านี้ประกอบด้วยเซลล์ ๒ ชนิดคือ (๘๖, ๑๐๙) เซลล์ชนิดที่มีขนาดใหญ่ ลักษณะเป็นรูปหลายเหลี่ยมหรือทรงกลม และเรียงกันเป็นระเบียบ (uniform) และอีกชนิดเป็นเซลล์เม็ดเลือดแดงตัวอ่อนทุกระยะรวมกลุ่มอยู่รอบ ๆ foci เมื่อส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์พบว่านอกจากกลุ่มเซลล์ของ foci แล้วยังพบ mononuclear cells ตั้งแต่ขนาดใหญ่จนถึงขนาดกลาง reticulum cells และ normal erythroblasts (๑๐๘) ลักษณะดังกล่าวทั้งหมดจะพบที่ไขกระดูกตรง sternum ของหนูที่ถูกติดเชื้อด้วย FV ได้เช่นกัน (๑๑๐) ส่วนที่ตับพบว่ามีการสร้าง foci ลักษณะคล้ายกับที่ม้ามใน sinusoids ของตับ (๘๖) เมื่อเซลล์เหล่านี้เพิ่มจำนวนมากขึ้น ทำให้ตับและม้ามมีขนาดโตขึ้น (hepatosplenomegaly) และพบว่ามีการเพิ่มจำนวนเซลล์ในระบบเม็ดเลือดแดง มีเม็ดเลือดแดงตัวอ่อนมากขึ้น (erythroblastosis) และมีการเพิ่มจำนวน basophilic mononuclear cells ในกระแสเลือด เกิด lymphocytosis, leukocytosis และ thrombocytopenia (๘๖,๑๑๑) โดยทั่วไปแล้วโรคจะดำเนินต่อไปอย่างรวดเร็ว และพบว่าหนูที่ถูกติดเชื้อจะตายภายใน ๒-๓ เดือนหลังจากได้รับไวรัสนี้แล้ว ในบางครั้งโรคอาจดำเนินต่อไปเป็นระยะเวลานานจนทำให้ม้ามของหนูที่ถูกติดเชื้อมีขนาดโตมาก และสาเหตุการตายช่วงนี้มาจาก ruptured spleen นั่นเอง (๘๖)

๓.๓.๔ คุณสมบัติของเซลล์ในระบบเม็ดเลือดแดงของหนูที่ถูกติดเชื้อด้วย FV colony-forming cells (CFC) ซึ่งพบได้ในหนู mice ที่ถูกติดเชื้อด้วย polycythemia-inducing Friend virus จะมีจำนวนมากขึ้น (๑๑๒) และประกอบด้วยเซลล์ ๒ ชนิดคือ (๑๑๓) tumor colony-forming cells (TCFC) และ normal colony-forming cells (NCFC) รูปแบบการสร้างเซลล์เม็ดเลือดแดง myelocyte หรือ megakaryocyte ของ spleen colonies จากม้ามของหนูที่ถูกติดเชื้อ และหนูปกติจะคล้ายคลึงกัน (๑๑๒) แต่ CFC จากม้ามของหนูที่ถูกติดเชื้อสามารถสร้างเกล็ดเลือด (๘๖,๑๑๔) และเม็ดเลือดแดง (๑๑๔) ได้น้อยกว่าปกติ แม้ว่าเม็ดเลือดแดงของหนูที่ถูกติดเชื้อโดยเฉลี่ยแล้วมีขนาดเท่ากับเม็ดเลือดแดงปกติ แต่จะมีช่วงชีวิตนั้นกว่าคือเพียง ๘ วันเท่านั้น ในขณะที่เม็ดเลือดแดงของหนู mice ปกติมีชีวิตอยู่ได้นานถึง ๔๕ วัน (๑๑๕) นอกจากนี้เกล็ดเลือดในกระแสเลือดก็มีช่วงชีวิตสั้นขึ้นด้วย (๑๑๖)

๓.๓.๕ ปัจจัยทางพันธุกรรมที่ควบคุมการติดเชื้อของ FV ความสามารถในการติดเชื้อของ FV ขึ้นอยู่กับพันธุ์ (strains) ของหนู mice (๗๔,๘๕,๑๑๗-๑๒๒) ดังเช่น DBA/2, ICR/Ha(Swiss), C3Hf(Bi) และ AKR เป็นพันธุ์ที่ susceptible ต่อ FV มากที่สุด และหนู mice พันธุ์ BALB/C สามารถติดเชื้อ FV เฉพาะช่วงแรกเกิด และเมื่อโตเต็มที่จะต่อต้าน FV ส่วน adult C57BL เป็นพันธุ์ที่แสดงการต่อต้าน FV มากที่สุด ดังนั้นลักษณะทางพันธุกรรมหรือยีนส์จึงมีบทบาทสำคัญต่อการถูกติดเชื้อของหนู mice ยีนส์ที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ในระบบเม็ดเลือดและการเพิ่มจำนวนเซลล์อันเป็นผลให้เกิดการสร้าง foci บนผิวของม้ามนั้นมี ๓ ตัว คือ Fv, Sl และ W (๑๒๑,๑๒๓,๑๒๔) นอกจากนี้ยังมี H genes ซึ่งเชื่อว่าเป็นยีนส์ที่มีผลต่อขั้นตอนของการติดเชื้อของ FV ได้แก่ ยีนส์ H-4 และ H-7 ซึ่งคาดว่ามีบทบาทสำคัญในช่วงแรกที่มีการสร้าง foci บนผิวของม้าม ระหว่างที่ยีนส์ตัวอื่น ๆ จะเข้ามาเกี่ยวข้องในช่วงสุดท้ายที่เกิดภาวะม้ามโต (splenomegaly) ขึ้น (๑๒๑,๑๒๕) ได้มีรายงานว่า Fv genes ที่สามารถควบคุมการติดเชื้อของ FV ได้แก่ Fv 1 และ Fv-U, (๑๒๖) Fv-1 และ Fv-2 (๑๒๗)

Fv และ Fv-3 [๑๒๘,๑๒๙] ซึ่งยีนส์แต่ละตัวจะประกอบด้วย allele ที่ susceptible และ allele ที่ resistant ในกรณีนี้ Fv, Fv-2 และ Fv-U เป็น loci ที่แสดง susceptible allele เด่นชัด ส่วน Fv-1 และ Fv-3 จะแสดง resistant allele เด่นชัด Fv และ Fv-3 เป็น loci ที่ทำหน้าที่ควบคุมการเพิ่มจำนวนเซลล์ม้ามที่ถูกติดเชื้อและการแบ่งตัวของ Fv ตามลำดับ Fv-2 มีบทบาทต่อ SFFV ในการสร้าง foci ในขณะที่ Fv-1 มีอิทธิพลต่อ LLV [๑๒๗,๑๓๐,๑๓๑] สำหรับ Sl และ W เป็นยีนส์ที่เกี่ยวข้องกับการเกิด erythropoiesis ใน susceptible mice [๑๒๑,๑๒๓,๑๒๔,๑๓๒,๑๓๓]

๓.๔ ผลของการกดภูมิคุ้มกัน FV จะรบกวนการสร้างภูมิคุ้มกันของ host ต่อ antigens ต่าง ๆ ได้เช่นเดียวกับ leukemia viruses อื่น ๆ [๑๓๔] ระดับของการกดการสร้างภูมิคุ้มกันของ FV นี้ขึ้นอยู่กับเวลาและขนาดของเชื้อไวรัสที่ได้รับเข้าไป ซึ่งพบว่ามีมากที่สุดในช่วง ๓ วันแรกของการติดเชื้อก่อนที่จะมีการสร้างภูมิคุ้มกัน [๑๓๕-๑๓๘] ดังนั้นการตอบสนองทางอิมมูนในช่วงแรกจึงถูกกดมากกว่าในช่วงหลัง [๑๓๖,๑๓๗,๑๓๙] จากการศึกษาเนื้อเยื่อของม้ามในหนู mice ที่ถูกติดเชื้อและถูกกดการสร้างภูมิคุ้มกันด้วยกล้องจุลทรรศน์พบว่ามี virus particle ใน immature blast-like lymphoid cells เท่านั้น [๑๔๐] และทำให้การหมุนเวียนของ lymphocyte เสียไปโดยที่ T- และ B- lymphocytes ขาดการประสานงานกัน จากจุดนี้เองอาจเป็นสาเหตุของการกดการสร้างภูมิคุ้มกัน [๑๔๑-๑๔๓]

๓.๕ เซลล์เป้าหมาย อวัยวะเป้าหมายที่สำคัญของ FV คือม้ามและไขกระดูก [๘๕] โดยที่เซลล์เป้าหมายของ susceptible mice จะกระตุ้นให้มีการเพิ่มจำนวนเซลล์ (replication) และการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของเซลล์ (transformation) [๑๔๔] ซึ่งความสามารถดังกล่าวของเซลล์เป้าหมายยังไม่ทราบแน่ชัด แต่อย่างไรก็ตามเซลล์ในระบบเม็ดเลือดแดงหลายชนิดพบว่ามีส่วนเกี่ยวข้องกับการเพิ่มจำนวนเซลล์ และการเปลี่ยนแปลง

คุณสมบัติของเซลล์ได้แก่ normal colony - forming cells (NCFC)[๑๔๔,๑๔๕] cells in erythrocytic pathway [๑๒๓,๑๔๖,๑๔๗] และ precursors of antibody-producing cells [๑๔๘,๑๔๙] เป็นต้น