

บทที่ 1

บทนำ



ความสำคัญและที่มาของปัญหาวิจัย

จากการที่ประเทศไทยเป็นแหล่งสำคัญของพืชสมุนไพรหลายชนิด และมีการนำสมุนไพรมาใช้ในการรักษาโรคต่างๆ มาเป็นเวลานาน ซึ่งนับเป็นการรักษาทางเลือกหนึ่งที่ยอมรับกันมากขึ้นในประเทศต่างๆ ทั่วโลก นอกจากนี้ยังเป็นการส่งเสริมการใช้อยาสสมุนไพรทดแทนการใช้ยาแผนปัจจุบัน สามารถลดการนำเข้าจากต่างประเทศ และยกระดับคุณภาพของผลิตภัณฑ์สมุนไพรไทยให้เป็นมาตรฐานสากล

ปัจจุบันนี้มนุษย์หันมาสนใจดูแลสุขภาพกายและสุขภาพใจมากยิ่งขึ้น และมีกระแสนิยมในการกลับสู่ธรรมชาติมากขึ้น ดังนั้น สุนทรบำบัด หรือ Aromatherapy จึงเป็นวิธีการบำบัดรักษาทางธรรมชาติอีกทางเลือกหนึ่ง ที่นำพืชหรือสมุนไพรที่มีกลิ่นหอมมาใช้ประโยชน์ในการรักษาทั้งทางร่างกายและจิตใจ ซึ่งการนำน้ำมันหอมระเหยมาใช้ต้องผ่านการศึกษาค้นคว้ามาแล้ว โดยได้มีการศึกษาวิจัยเพื่อที่จะได้นำผลการทดลองทางวิทยาศาสตร์มาสนับสนุนข้อมูลที่มีมาแต่เดิม เพื่อเพิ่มความมั่นใจแก่ผู้บริโภคในการใช้ผลิตภัณฑ์ Aromatherapy ในการนำมาบำบัดรักษามากยิ่งขึ้น (โสมนภา พรายงาม, 2548) ว่านางสาวหลงเป็นสมุนไพรแบบไทยๆ ซึ่งมีน้ำมันหอมระเหยกลิ่นหอมชวนหลงใหล มีการนำมาใช้ในด้านความงามและเพื่อสุขภาพ นอกจากนี้ว่านางสาวหลงยังได้รับการคัดเลือกจากการวิจัยและพัฒนาเพื่อเพิ่มศักยภาพของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) ให้เป็นพืชหอมไทยที่มีศักยภาพในการกลั่นเป็นน้ำมันหอมระเหย เพื่อนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สุนทรบำบัด

จากความนิยมในการใช้น้ำมันระเหยเพื่อบำบัดอาการต่างๆ ในการส่งเสริมสุขภาพและรักษาโรค บางครั้งอาจมีผลต่อระบบต่างๆ ของร่างกายได้ จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาถึงประสิทธิภาพและอันตรายก่อนนำมาใช้ โดยจะต้องมีการทดสอบฤทธิ์ตามหลักมาตรฐานสากล ซึ่งจะต้องทำการศึกษาระยะก่อนคลินิก โดยศึกษาทั้งในหลอดทดลอง และสัตว์ทดลอง เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา (Pharmacological effect) ในการยืนยันสรรพคุณ และศึกษาความเป็นพิษเพื่อยืนยันความปลอดภัยก่อนนำมาสู่ขั้นตอนสำคัญของการศึกษาทางคลินิก (OECD, 1993)

จากการศึกษาข้อมูลเบื้องต้น พบว่าไม่มีการศึกษาด้านเภสัชวิทยาของน้ำมันระเหยจาก ว่านสาวหลงต่อการทำงานของอวัยวะ หรือเนื้อเยื่อร่างกายของสัตว์ทดลอง ดังนั้นในการทำวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา รวมถึงกลไกการออกฤทธิ์ของน้ำมันระเหยจาก ว่านสาวหลงต่อการทำงานของกล้ามเนื้อเรียบอวัยวะต่างๆ โดยศึกษาจากอวัยวะเนื้อเยื่อที่แยกจากกายของสัตว์ทดลอง (in vitro)

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของน้ำมันระเหยที่แยกจากเหง้าของว่านสาวหลง (*Amomum biflorum* Jack.) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมของหนูตะเภา กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่และกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูขาว ที่แยกจากกาย
2. เพื่อศึกษากลไกที่เกี่ยวข้องกับการออกฤทธิ์ของน้ำมันระเหยที่แยกได้จากเหง้าของว่านสาวหลง (*Amomum biflorum* Jack.) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมของหนูตะเภา กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่และกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูขาว ที่แยกจากกาย

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

1. ทำให้ทราบข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของน้ำมันระเหยที่สกัดจากเหง้าของว่านสาวหลง (*Amomum biflorum* Jack.) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมของหนูตะเภา กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่และกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูขาวที่แยกจากกาย
2. ทำให้ทราบถึงกลไกการออกฤทธิ์ที่เกี่ยวข้อง ในการยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมของหนูตะเภา กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่และกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูขาวที่แยกจากกาย
3. เป็นแนวทางในการศึกษารายละเอียดตามขั้นตอนของการพัฒนาสมุนไพรต่อไปในอนาคต และยังมีประโยชน์ในแง่ของการให้ข้อมูลเสริมประกอบการใช้น้ำมันระเหยเพื่อการส่งเสริมสุขภาพ หรือบำบัดโรคต่อไป

ปัญหาจริยธรรม

การวิจัยนี้ปฏิบัติตามจรรยาบรรณการใช้สัตว์ทดลองของสภาวิจัยแห่งชาติ พ.ศ. 2542 และสอดคล้องกับหลักการใช้สัตว์ทดลองในการศึกษาทางวิทยาศาสตร์ โดยใช้หลัก 3Rs คือ ไม่สามารถใช้วิธีการศึกษาอื่นที่เหมาะสมทดแทนการใช้สัตว์ทดลองได้ (Replacement) การใช้จำนวนสัตว์ทดลองน้อยที่สุดที่สามารถแสดงผลในการทดลองได้ โดยใช้หลักทางสถิติ (Reduction) และการปฏิบัติต่อสัตว์ทดลองให้เกิดความทุกข์ทรมานน้อยที่สุด (Refinement) ซึ่งโครงการวิจัยนี้ได้ผ่านการพิจารณาจริยธรรมการวิจัย จากคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คำสำคัญที่ใช้ในการวิจัย

- Pharmacological effects
- *Amomum biflorum* Jack.

ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

ว่านสาวหลง มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Amomum biflorum* Jack. อยู่ในวงศ์ Zingiberaceae มีชื่อพื้นเมืองเรียกแตกต่างกันไปตามท้องถิ่น ได้แก่ แน่ง (ภาคเหนือ) , กลางคาน , ว่านสาวหลง (ภาคกลาง) เป็นต้น

ว่านสาวหลงทางพฤกษศาสตร์จัดอยู่ในวงศ์ขิง(Zingiberaceae) มีเหง้า ลักษณะลำต้นสูงเพรียว มีใบออกตรงเกือบจะสุดยอด โดยออกสลับซ้ายขวาด้านละสองถึงสี่ใบ รูปร่างใบช่วงกลางจะกว้าง ปลายใบจะมีลักษณะแหลมมาก ด้านหน้าใบเรียบสีเขียวไม่เข็ม ด้านหลังใบหรือท้องใบจะมีขนทั่วไป ก้านใบแข็งมีสีแดงตลอดก้านใบไปจนถึงโคนต้น แต่เป็นสีแดงแห้งๆ (ภาพที่ 1) รากแข็งเลื้อยขนไปตามพื้นดิน และแทงหน่อขยายพันธุ์ติดต่อกันไปเรื่อยๆ จนเป็นกอใหญ่ สำหรับลักษณะดอกจะออกดอกเป็นช่อพวงๆ คล้ายพริกไทย มีสีเหลือง ว่านสาวหลงมีคุณสมบัติพิเศษในด้านความหอม ไม่ว่าจะป็นราก ต้น ดอก และใบ (นิยม ชลิตะนาวิน, 2548)

ในประเทศไทยมีการใช้หัวว่านสาวหลงเป็นเครื่องเทศ ผัดเผ็ดผสมเครื่องแกง หน่อว่านสาวหลงกินเป็นผักจิ้มน้ำพริก รากและใบใช้ชงเป็นชาหรือต้มกินแก้ไอ แก้ท้องอืด หรือใช้ต้มอบหรืออบเพื่อบำรุงผิวพรรณได้ และใช้เป็นยาตำรับ โดยนำรากว่านสาวหลง ขิง กระวาน ไพล กระเทียม บดผสมกันเป็นยาแก้ลมได้เช่นกัน (สมุนไพรรักษาสุขภาพ, 2548) นอกจากนี้มีการนำมาใช้ในด้านความงามและเพื่อสุขภาพ เช่น นำมาทำเป็นส่วนผสมร่วมกับสมุนไพรอื่นเพื่อใช้ขัดหน้า ขัดผิวกาย จะช่วยขัดเซลล์ผิวและบำรุงผิว หรือนำมาใช้เป็นส่วนผสมในการทำครีมบำรุงผิว เพื่อให้ผิวชุ่มชื้นและทำให้สดชื่น (วัจนา สุจิรพงศ์สิน, 2548) สูตรโบราณที่ใช้อยู่ในท้องถิ่น คือสกัดน้ำมันจากรากว่านสาวหลงผสมกับน้ำมันจากสมุนไพรชนิดอื่นทำเป็นน้ำมันนวดสมุนไพร สำหรับบรรเทาอาการปวดเมื่อย เคล็ดขัดยอก ฟกช้ำ ปวดตามข้อ แผลงัดตอย ใช้ดมแก้วิงเวียนศีรษะ (ช่อผกา ทองสง, 2548) นอกจากนี้ยังมีการนำมาผลิตเป็นสบู่ โลชั่น และยาสระผม มีกลิ่นหอมตามความเชื่อว่าการกลิ่นหอมจะช่วยทำให้มีเสน่ห์ เสริมทางเมตตามหานิยม

การศึกษาพื้นฐานวิทยาและโครโมโซมของพรรณไม้วงศ์ขิง จำนวน 22 ชนิด ในเขตอุทยานแห่งชาติทุ่งแสลงหลวง โดยนำปลายรากของพืชมาศึกษาด้วยวิธี Feulgen squash technique (Darlington and Lacour , 1995) ผลการศึกษาพบว่าว่านสาวหลงมีจำนวน chromosome 2n เท่ากับ 48 (Pornwan-s-sa, Kongsakdi and Preeyanan, 2004)



ภาพที่ 1 แสดงลักษณะต้นและใบของว่านสาวหลง (*Amomum biflorum* Jack.)

ทฤษฎีที่สำคัญ

กลไกการหดตัวและคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ

การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบโดยทั่วๆ ไปนั้นมีความสัมพันธ์กับแคลเซียม เมื่อระดับแคลเซียมภายในเซลล์เพิ่มขึ้นโดยสิ่งกระตุ้นต่างๆ แคลเซียมจะไปจับกับ receptor ของแคลเซียมภายในเซลล์ คือ calmodulin เป็น calcium-calmodulin complex ซึ่งจะไปกระตุ้นให้เอนไซม์ myosin light chain kinase (MLCK) อยู่ในรูป active (MLCK⁺) ซึ่งจะทำการ phosphorylate ที่ myosin light chains (myosin-LC) กลายเป็น myosin-LC-PO₄ ซึ่งสามารถทำปฏิกิริยากับ actin ทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ (ภาพที่ 2)

การคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบเกิดหลังจากหมดสิ่งกระตุ้น จะทำให้ระดับแคลเซียมภายในเซลล์ลดลง แคลเซียมไม่สามารถจับกับ calmodulin ได้ ทำให้ MLCK อยู่ในรูป inactivate เอนไซม์ MLCK phosphatase ทำให้เกิด dephosphorylated ของ myosin-LC-PO₄ ในสภาวะนี้ myosin ไม่สามารถทำปฏิกิริยากับ actin ได้ เป็นผลให้เกิดการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ (Ignarro, 1999)

กลไกการหลั่งแคลเซียมในการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ

กลไกการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ ในปัจจุบันทราบว่าเกี่ยวข้องกับระดับแคลเซียมอิสระภายในเซลล์ (intracellular calcium) ซึ่งอาจมาจากแคลเซียมภายนอกเซลล์เคลื่อนที่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์โดยตรง หรือมาจากแคลเซียมที่ปลดปล่อยออกจากแหล่งเก็บสะสมแคลเซียมภายในเซลล์ (sarcoplasmic reticulum, SR)

Karaki และ Weiss (1998) ได้เสนอกลไกที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มขึ้นของแคลเซียมอิสระภายในเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ (ภาพที่ 3) ดังนี้

1. แคลเซียมจากภายนอกเซลล์เคลื่อนที่เข้าสู่ภายในเซลล์ มีกลไกที่เกี่ยวข้องอย่างน้อย 3 กลไก คือ

1.1 Leak mechanism หรือ Resting influx

แคลเซียมที่เคลื่อนที่ผ่านเข้าเซลล์โดยวิธีนี้ จะถูกเก็บสะสมไว้ในแหล่งเก็บสะสมแคลเซียมภายในเซลล์ (sarcoplasmic reticulum) และไม่ทำให้แคลเซียมอิสระภายในเซลล์เพิ่มขึ้นโดยตรง

1.2 Voltage-dependent Ca^{2+} channels (VDCs)

การเคลื่อนที่ของแคลเซียมเข้าเซลล์โดยวิธีนี้จะขึ้นกับ voltage โดยเกิดการเปลี่ยนแปลงของ action potential ที่ผนังเซลล์ เกิด depolarization ทำให้ calcium channel เปิดออก แคลเซียมจากภายนอกเซลล์สามารถเคลื่อนที่เข้าสู่ภายในเซลล์ได้ ซึ่ง Voltage-dependent calcium channel แบ่งออกเป็น 4 ชนิด คือ L-type channels, T-type channels, N-type channels และ P-type channels

1.3 Receptor-operated Ca^{2+} channels (ROCs)

การเคลื่อนที่ของแคลเซียมโดยวิธีนี้เกิดจากการที่มีตัวกระตุ้นต่างๆ เช่น acetylcholine, histamine, serotonin เป็นต้น จับกับ receptor ที่เฉพาะเจาะจงกับตัวกระตุ้นนั้นๆ ทำให้ ROCs เปิดออก แคลเซียมจากภายนอกเซลล์สามารถเคลื่อนที่เข้าสู่ภายในเซลล์ได้

2. การหลั่งของแคลเซียมจากแหล่งเก็บสะสมแคลเซียมภายในเซลล์ (sarcoplasmic reticulum, SR) เกิดจาก 4 กลไก คือ

2.1 Calcium-induced calcium release (CCR)

เกิดจากแคลเซียมจากภายนอกเซลล์เคลื่อนที่ผ่าน Voltage-dependent Ca^{2+} channels (VDCs) เข้าสู่ภายในเซลล์ จากนั้นปริมาณแคลเซียมที่ผ่านเข้ามานี้ไปมีผลกระตุ้นให้แคลเซียมหลั่งออกจากแหล่งสะสมภายในเซลล์ (sarcoplasmic reticulum, SR)

2.2 Caffeine-induced calcium release

Caffeine เป็นสารเคมีซึ่งสามารถกระตุ้นให้แคลเซียมหลั่งออกจากแหล่งสะสมภายในเซลล์ โดยกระตุ้นผ่าน ryanodine receptor

2.3 Depolarization-induced calcium release

การเกิด depolarization ที่ cell membrane ทำให้เกิดการหลั่งแคลเซียมจากแหล่งสะสมภายในเซลล์ได้

2.4 Inositol triphosphate-induced calcium release

จากการที่ receptor ถูกกระตุ้น แล้วมีผลกระตุ้นให้เอนไซม์ phospholipase C ไป hydrolysis-phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate (PIP_2) ได้เป็น diacylglycerol (DAG) และ inositol 1,4,5-triphosphate (IP_3) ซึ่ง DAG จะไปกระตุ้น protein kinase C ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่างๆ ขึ้นภายในเซลล์ ส่วน IP_3 ที่เพิ่มขึ้นนี้มีผลไปกระตุ้นให้แคลเซียมหลั่งออกจากแหล่งสะสมภายในเซลล์ ทำให้แคลเซียมภายในเซลล์สูงขึ้น (ภาพที่ 4)

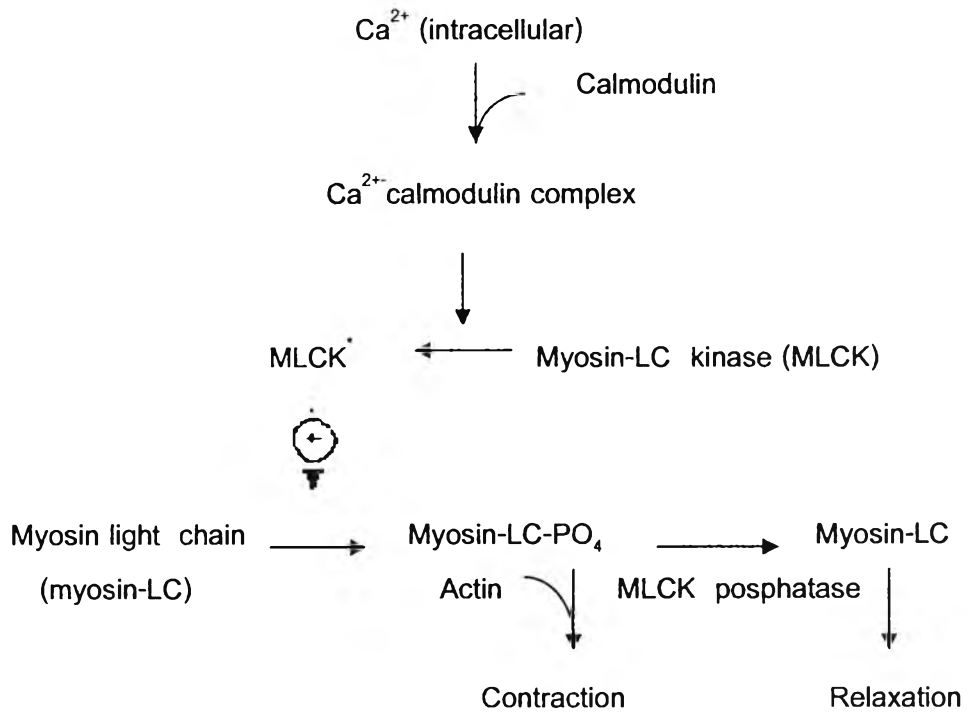
ระบบประสาทอัตโนมัติ (autonomic nervous system, ANS) ที่ควบคุมการหดตัวและคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ

ระบบประสาทอัตโนมัติ เป็นระบบประสาทที่รับรู้ความรู้สึกในด้านการรักษาสมดุลของร่างกาย (homeostasis) จากตัวรับรู้ความรู้สึกที่อยู่ในอวัยวะภายในเข้าสู่ระบบประสาทส่วนกลาง และส่งคำสั่งจากระบบส่วนกลางไปควบคุมกล้ามเนื้อหัวใจ กล้ามเนื้อเรียบ และต่อมต่างๆ ซึ่งการควบคุมนี้จะไม่อยู่ภายใต้อำนาจของจิตใจ (involuntary) สามารถแบ่งระบบประสาทอัตโนมัติเป็น 2 ระบบย่อย (Katzung BG., 2004) คือ

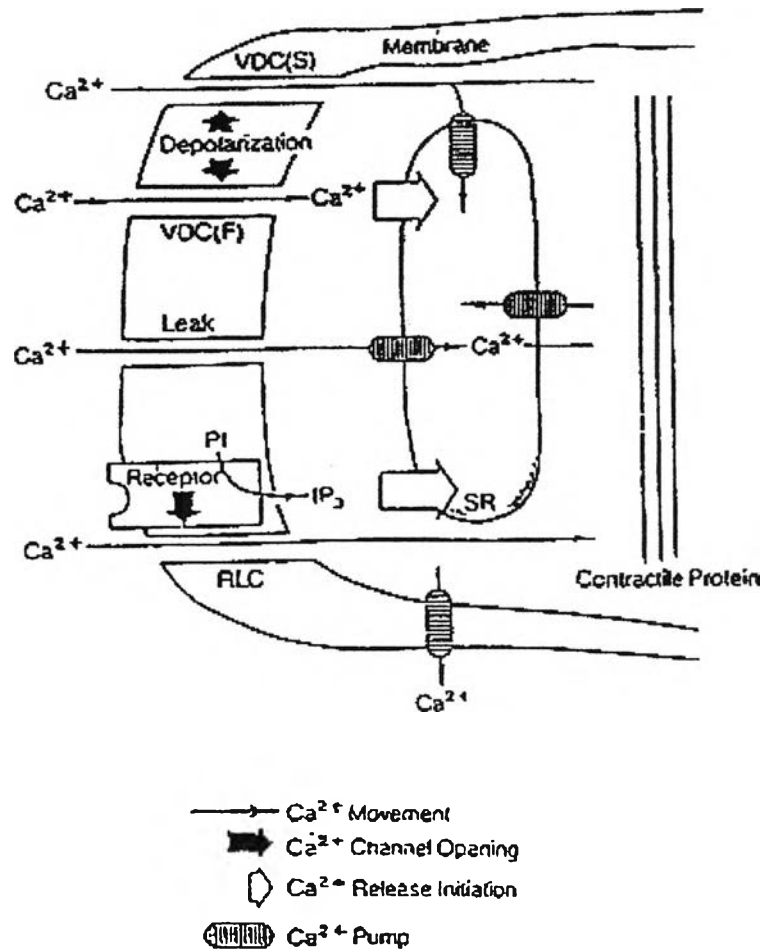
1. ระบบประสาทซิมพาเทติก (sympathetic nervous system) มีการหลั่ง epinephrine และ norepinephrine เป็นสารสื่อประสาท ซึ่ง epinephrine มีผลกระตุ้น adrenergic receptors ชนิด alpha1, alpha2, beta1 และ beta2 receptor ส่วน norepinephrine มีฤทธิ์กระตุ้น adrenergic receptors ชนิด alpha1, alpha2 และ beta1 receptor ที่เป็นตัวรับบนอวัยวะเป้าหมาย (ภาพที่ 5)

2. ระบบประสาทพาราซิมพาเทติก (parasympathetic nervous system) มีการหลั่ง acetylcholine (ACh) เป็นสารสื่อประสาท ซึ่งมีฤทธิ์กระตุ้น cholinergic receptors ชนิด muscarinic receptor ที่เป็นตัวรับบนอวัยวะเป้าหมาย (ภาพที่ 6)

ชนิดของตัวรับบนอวัยวะเป้าหมายและผลของระบบประสาททั้งสองต่ออวัยวะต่างๆ แตกต่างกัน ดังแสดงในตาราง 1



ภาพที่ 2 แสดงกลไกการหดตัวและคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ (Ignarro,1999)



Ca^{2+} : calcium ion

RLC : receptor linked Ca^{2+} channel

VDC(F) : fast-inactivation voltage-dependent Ca^{2+} channel

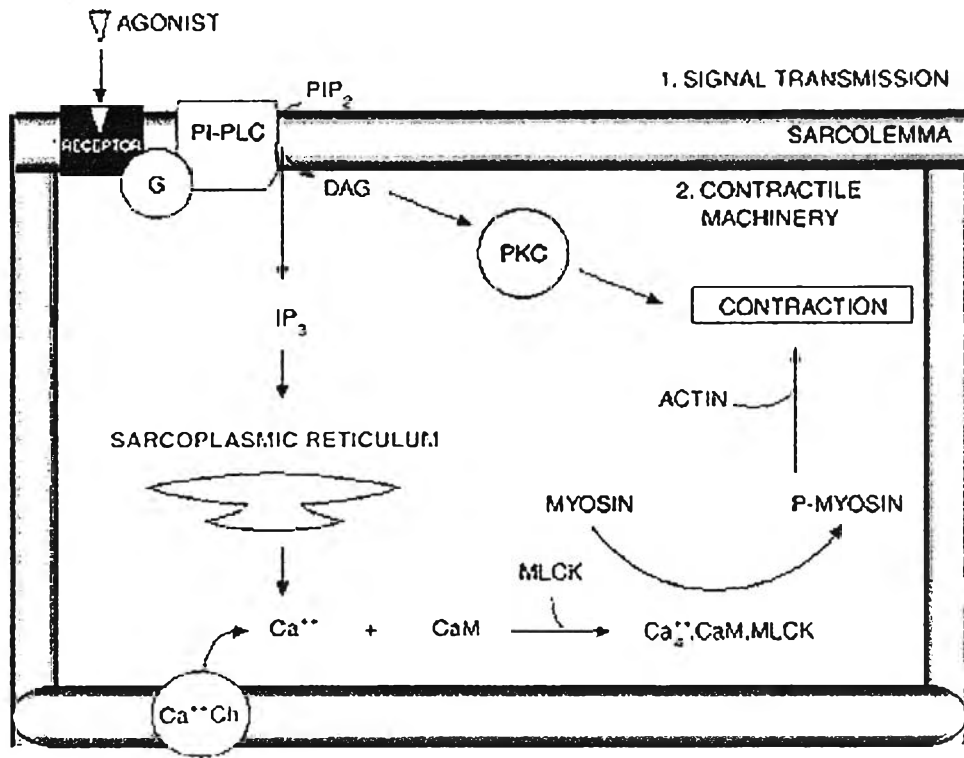
VDC(S) : slow-inactivation voltage-dependent Ca^{2+} channel

SR : sarcoplasmic reticulum

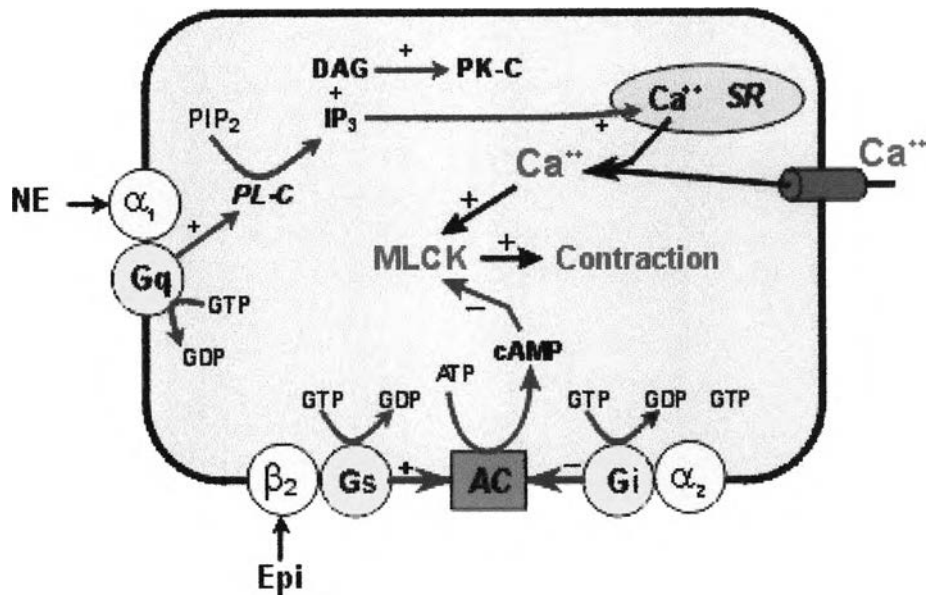
PI : phosphatidylinositol

IP_3 : inositol 1,4,5-trisphosphate

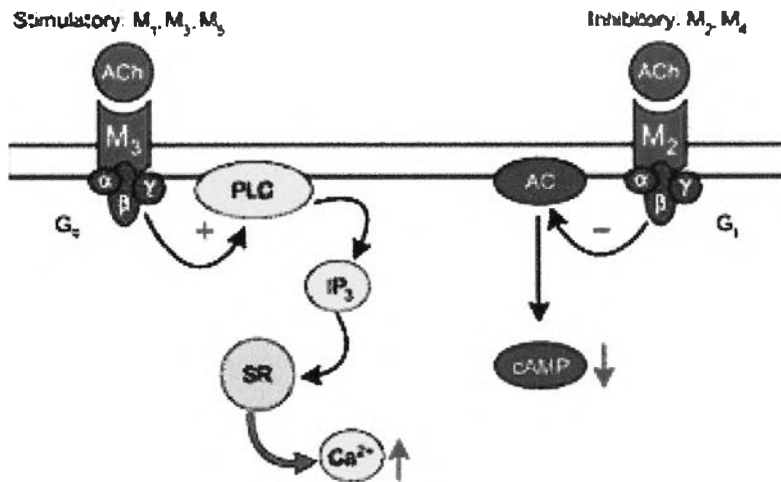
ภาพที่ 3 แสดงการเคลื่อนที่ของแคลเซียมเข้าสู่เซลล์กล้ามเนื้อเรียบ (Karaki and Weiss, 1998)



ภาพที่ 4 แสดง Ca^{2+} -phosphoinositide signaling pathway ของ Receptor-operated Ca^{2+} channels (ROCs) ได้แก่ acetylcholine, histamine และ serotonin (5-HT)



ภาพที่ 5 แสดงกลไกการเกิด signaling transduction ของ adrenergic receptors ในระบบประสาทซิมพาเทติก (sympathetic nervous system)



ภาพที่ 6 แสดงกลไกการเกิด signaling transduction ของ muscarinic receptors ในระบบประสาทพาราซิมพาเทติก (parasympathetic nervous system)

ตาราง 1 แสดงชนิดตัวรับบนอวัยวะเป้าหมายและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของระบบประสาทอัตโนมัติ
(Katzung BG.,2004)

Criteria	Sympathetic		Parasympathetic	
	Action	Receptor	Action	Receptor
Eye				
Iris				
Radial muscle	Contracts	α_1
Circular muscle	...		Contracts	M_3
Ciliary muscle	Relaxes	β	Contracts	M_3
Heart				
Sinoatrial node	Accelerates	β_1, β_2	Decelerates	M_2
Ectopic pacemakers	Accelerates	β_1, β_2	...	
Contractility	Increases	β_1, β_2	Decreases(atria)	M_2
Blood vessels				
Skin, splanchnic vessels	Contracts	α
Skeletal muscle vessels	Relaxes	β_2
	Contracts	α
	Relaxes	M
Endothelium			Releases EDRF	M_3
Bronchiolar smooth muscle	Relaxes	β_2	Contracts	M_3
Gastrointestinal tract				
Smooth muscle				
Walls	Relaxes	α_2, β_2	Contracts	M_3
Sphincters	Contracts	α_1	Relaxes	M_3
Secretion	Increases	M_3
Myenteric plexus			Activates	M_1

Criteria	Sympathetic		Parasympathetic	
Functional	Action	Receptor	Functional	Action
Genitourinary smooth muscle				
Bladder wall	Relaxes	β_2	Contracts	M_3
Sphincter	Contracts	α_1	Relaxes	M_3
Uterus, pregnant	Relaxes	β_2
	Contracts	α	Contracts	M_3
Penis, seminal vesicles	Ejaculation	α	Erection	M
Skin				
Pilomotor smooth muscle	Contracts	α
Sweat glands				
Apocrine(stress)	Increases	α
Metabolic functions				
Liver	Gluconeogenesis	β_2, α
Liver	Glycogenolysis	β_2, α
Fat cells	Lipolysis	β_3
Kidney	Renin release	β_1
Autonomic nerve endings				
Sympathetic	Decreases NE release	M
Parasympathetic	Decreased ACh Release	α