

บทนำ

ในปัจจุบันพืชสมุนไพรมีความสำคัญในหลายด้าน หลายสาขา การวิจัยทางเภสัชวิทยาของพืชสมุนไพรเป็นหลักสำคัญในการที่จะทดสอบฤทธิ์เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์ พืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยามีหลายชนิด อาจแยกได้ตามกลุ่มของการออกฤทธิ์ต่อระบบต่าง ๆ ของร่างกายหรือตามสรรพคุณของพืชสมุนไพร ในการศึกษาวิจัยนี้เป็นการศึกษาการออกฤทธิ์ของพืชสมุนไพรชนิดหนึ่งคือราตรี (*Cestrum nocturnum* Linn.) - ต่อบริเวณปลายประสาทและกล้ามเนื้อลาย (neuromuscular synapse).

ยาสมุนไพรตามพระราชบัญญัติยา พ.ศ. 2522 หมายถึง ยาที่ได้จากพืชชาติ สัตว์ หรือแร่ธาตุ ซึ่งยังมีได้ผสม ปปรุง หรือแปรรูป และสามารถนำไปใช้ประโยชน์เป็นยารักษาโรคต่าง ๆ ในการศึกษาและวิจัยด้านสมุนไพรนั้นอาจศึกษาได้หลายระดับคือ

1. การทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของน้ำสกัดสมุนไพรขั้นต้น (primary pharmacological screening)

การศึกษาระดับนี้เป็นการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา (pharmacological studies) ของน้ำสกัดสมุนไพรที่สกัดด้วยน้ำ น้ำร้อน และ organic solvent ต่อการทำงานของระบบต่าง ๆ เช่น การศึกษาผลต่อระบบประสาทส่วนปลาย, ผลต่อระบบประสาทส่วนกลาง, ผลต่อกล้ามเนื้อเรียบ, ผลต่อหัวใจและระบบไหลเวียนโลหิต และผลต่อระบบหายใจเป็นต้น (พณิ, 2521) ในการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของน้ำสกัดใบราตรีต่อบริเวณปลายประสาทและกล้ามเนื้อลายของหนูขาวนี้เป็นส่วนหนึ่งของ การทดสอบขั้นต้นต่อระบบประสาทส่วนปลาย และนอกจากนี้ยังได้ศึกษาถึงอาการพิษอย่างเฉียบพลัน (acute toxicity) และทดสอบหาสารสำคัญที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาต่อบริเวณปลายประสาทและกล้ามเนื้อลายอีกด้วย.

2. การทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากน้ำสกัดสมุนไพร (pharmacological evaluation of pure compounds)

การศึกษาระดับนี้ทำได้โดยการแยกสารต่าง ๆ ในน้ำสกัดสมุนไพรออกเป็น ส่วน ๆ อาจโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) หรือ Column Chromatography แล้วนำไปทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาเพื่อหาว่าส่วนใดเป็นส่วนของ สารสำคัญที่ออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยานั้น ๆ ในการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของน้ำสกัด ใบราตรีนี้ ได้ศึกษาโดยแยกสารสำคัญบางอย่างเพื่อทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาต่อบริเวณ ปลายประสาทและกล้ามเนื้อลายโดยใช้วิธี TLC และ Column Chromatography ด้วย.

3. การทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและศึกษาพิษของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากน้ำสกัดสมุนไพร (pharmacological and toxicological evaluation)

การศึกษาระดับนี้เป็นการศึกษาด้านเภสัชวิทยาของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ในสัตว์ ทดลองหลาย ๆ ชนิด รวมทั้งหาความเป็นพิษของสารบริสุทธิ์นี้ด้วย จากนั้นควรศึกษา ทาสู่ตรงทางเคมีของสารสำคัญที่ได้จากพืชสมุนไพรนั้นโดยกรรมวิธีทางเคมี.

4. การนำเอาสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากน้ำสกัดสมุนไพรไปทำเป็นยา (product formation)

เมื่อทราบว่าสารบริสุทธิ์ที่แยกได้มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาตามต้องการเป็นที่แน่ นอนและไม่มีความเป็นพิษหรือมีความเป็นพิษน้อยมากแล้ว จึงอาจนำมาใช้เป็นยาได้ นอกจากนั้นควรศึกษารูปแบบของยาสมุนไพรที่ถูกต้องและศึกษาด้านเภสัชกรรมต่อไป.

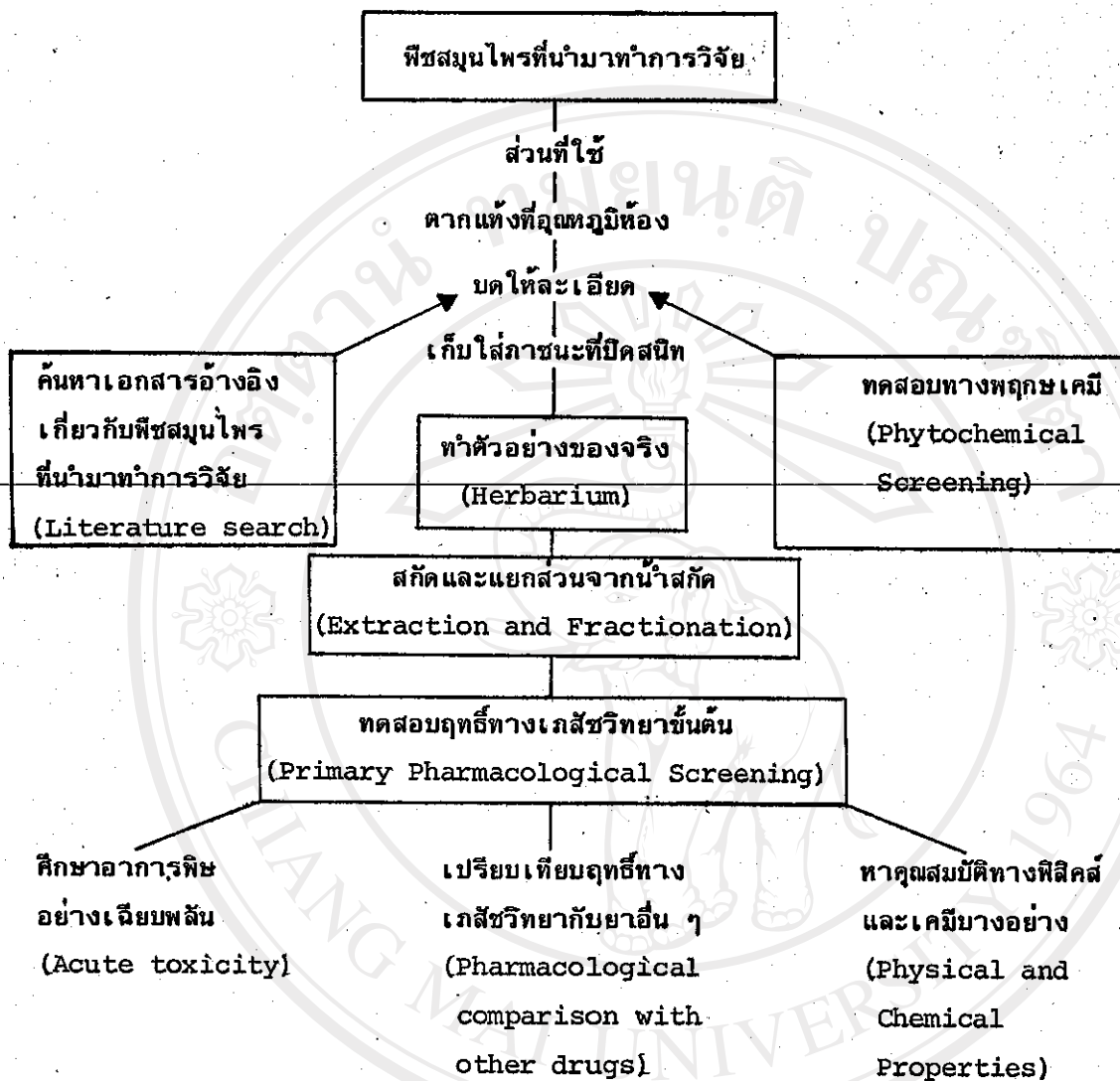
5. การทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในคน (clinical trial)

ยาสมุนไพรที่ผ่านการศึกษาด้านเภสัชกรรมแล้ว ให้นำไปทดสอบในคน โดยทำ การวิจัยในผู้ป่วยเพื่อทดสอบว่าใช้ได้ผลแน่นอนหรือไม่ มีความปลอดภัยเพียงใดหลังจากผ่านการทดสอบในระดับนี้แล้วจึงจะ เป็นที่ยอมรับว่าปลอดภัยและใช้เป็นยารักษาโรค ในคนได้

การทำงานวิจัยเกี่ยวกับสมุนไพรในด้านเภสัชวิทยานั้นมีความสำคัญโดยเฉพาะอย่างยิ่ง การทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในขั้นต้น (primary pharmacological screening) การแยกหาสารสำคัญเพื่อทดสอบฤทธิ์และการศึกษาความเป็นพิษ เพื่อให้ทราบว่าสมุนไพรที่มีฤทธิ์

ทางเภสัชวิทยานั้นมีความปลอดภัยก่อนที่จะนำไปศึกษาหาสูตรโครงสร้างของสารสำคัญและรูปแบบที่ถูกต้องที่จะนำไปใช้เป็นยา ตลอดจนการศึกษาริ้วยในคนต่อไป ยารักษาโรคบางชนิดได้มาจากพืชสมุนไพรและสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้มากมายตามรายงานของ Farnsworth และคณะ ในปี 1976. จะเห็นได้ว่าการค้นพบยาจากพืชสมุนไพรมีความสำคัญที่จะต้องทำการวิจัยและพัฒนา กันต่อไปอย่างไม่หยุดยั้ง องค์การอนามัยโลก (WHO) ได้เห็นความสำคัญในเรื่องนี้และได้สนับสนุนให้มีการวิจัยสมุนไพรกันอย่างจริงจังและสนับสนุนให้มีบัญชีสมุนไพรต่าง ๆ ของแต่ละประเทศ หรือที่เรียกว่า "Inventory of Medicinal Plants" ขึ้น การเลือกศึกษาริ้วยค้ำสมุนไพรนั้นนิยมเลือกสมุนไพรที่หาได้ง่าย และนำมาศึกษาชื่อทางพฤกษศาสตร์ให้ถูกต้องพร้อมทั้งเก็บตัวอย่างทำ Herbarium และทำการวิจัยโดยนำเอาน้ำสกัดจากสมุนไพรมาทดสอบทางด้านเภสัชวิทยาและนำเอาส่วนที่มีฤทธิ์มาศึกษาทางด้านเคมีจนได้สารสำคัญ โดยทำงานวิจัยเป็นขั้นตอน (โจน, 2523 ; พเยาว์, 2523) ในการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของน้ำสกัดใบราตรีนี้ เป็นการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาขั้นต้นเท่านั้น ขั้นตอนการวิจัยนี้ได้ดัดแปลงมาจากรายงานของโจน, 2523 ; เอมอรและคณะ, 2523 ; กำจร, 2523 และอัมพวัน, 2526 ซึ่งอาจสรุปได้ดังนี้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



พืชสมุนไพรที่ใช้ในการศึกษานี้คือ ราตรี ซึ่งมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า Cestrum nocturnum Linn. อยู่ในวงศ์ Solanaceae ราตรีเป็นพืชสมุนไพรที่มีถิ่นกำเนิดอยู่ในหมู่เกาะอินดีส เจริญได้ดีในเขตร้อนของอเมริกา อินเดีย และหมู่เกาะอินเดียตะวันออก นอกจากนั้นยังเจริญได้ดีในประเทศที่อยู่ในเขตร้อน เช่นประเทศไทย ราตรีมีชื่อภาษาอังกฤษเรียกว่า Queen of the night, Night blooming หรือ Jessamine (วิเชียร, 2518 ; ลัดดาวัลย์, 2523 ; ณรงค์, 2523 ; พาณี, 2524) ราตรีเป็นไม้พุ่มยืนต้นเนื้อแข็ง ลักษณะ

ใบเป็นใบเดี่ยว รูปใบรี เนื้อใบเรียบสีเขียวแก่ ลักษณะดอกเป็นดอกช่อสีขาวอมเขียวมีกลิ่นหอมมาก ในเวลากลางคืน ลักษณะใบและดอกราตรีได้แสดงไว้ในรูปที่ 1. จากหนังสือ "ชื่อสมุนไพรและประโยชน์" ของลัดดาวัลย์ (2529) ได้กล่าวว่า ใบราตรีสามารถใช้รักษาอาการเกร็งของกล้ามเนื้อและใช้รักษาโรคลมบ้าหมู (epilepsy) ได้ ในประเทศเม็กซิโกใช้ใบราตรีเป็นสมุนไพรรักษาโรคลมชัก (Watt, 1962) Chase (1903) และ Walsh (1909) ได้รายงานว่าใบราตรีมีพิษ เมื่อสัตว์ได้รับเข้าไปจะมีอาการซึม หายใจช้า สัตว์บางตัวเกิดอาการพิษรุนแรงคือมีอาการชัก หดสติและเสียชีวิตในเวลาต่อมา Hutcheon (1909) ได้รายงานว่าเมื่อสัตว์ได้รับใบราตรีเข้าไปสัตว์จะร้องครวญครางแสดงถึงความเจ็บปวด สัตว์จะนอนเหยียด คอดก แขนขาแข็งเกร็ง.

ในปี 1963 Chakravarti และคณะได้สกัดสารจากใบราตรีโดยใช้ ethanol ในการสกัด พบว่าในใบราตรีมีสารแซปอนิน (saponins) และในปี 1968 Roy และ Chatterjee ได้ศึกษาผลของแซปอนินจากใบราตรีต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อกระบังลม พบว่าสามารถลดการหดตัวของกล้ามเนื้อได้ นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าน้ำสกัดใบราตรีทำให้กล้ามเนื้อลายเกิดอาการเกร็งได้ (Hutcheon, 1909).

จากรายงานดังกล่าวข้างต้นจะเห็นว่า เมื่อสัตว์ได้รับใบราตรีเข้าไปจะมีอาการซึม นอนเหยียด คอดก แขนขาเกร็ง หายใจช้า สัตว์บางตัวเกิดอาการพิษรุนแรงเกิดอาการชักและเสียชีวิตในเวลาต่อมา และน้ำสกัดใบราตรีมีผลทำให้การหดตัวของกล้ามเนื้อลายลดลง นอกจากนี้ยังมีรายงานกล่าวถึงประโยชน์ของใบราตรีในการใช้เป็นยารักษาอาการเกร็งของกล้ามเนื้อและใช้รักษาลมบ้าหมู (epilepsy) ได้ จึงทำให้เป็นที่น่าสนใจในการศึกษาว่าน้ำสกัดใบราตรีอาจมีบทบาทสำคัญต่อการนำส่ง impulse จากเส้นประสาทไปยังกล้ามเนื้อลาย จึงได้ศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของน้ำสกัดใบราตรีต่อบริเวณปลายประสาทและกล้ามเนื้อลาย (neuromuscular synapse) ในหนูขาว.

บริเวณปลายประสาทและกล้ามเนื้อลาย (neuromuscular synapse) เป็นตัวอย่างของ chemical synapse ซึ่งนิยมใช้ในการศึกษาหาตำแหน่งที่ออกฤทธิ์ (sites of action)



รูปที่ 1. ภาพแสดงลักษณะใบและดอกราตรีซึ่งอยู่ในกิ่งเดียวกัน ถ่ายจากต้นราตรี

(Cestrum nocturnum Linn. ; Solanaceae).

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

และกลไกการออกฤทธิ์ (mechanisms of action) ของยา ในปี 1936 Dale และคณะได้ รายงานว่าในบริเวณนี้มี acetylcholine ซึ่งเป็น neurotransmitter ที่เป็นตัวนำส่ง impulse จากเส้นประสาทไปยังกล้ามเนื้อลาย บริเวณปลายประสาทและกล้ามเนื้อลายนี้ประกอบด้วยลักษณะที่สำคัญ 3 ส่วนคือ 1) บริเวณปลายประสาท (Motor nerve terminals หรือ presynaptic membrane) คือส่วนของปลายประสาท motor ซึ่งมีความสำคัญในการหลั่ง acetylcholine ภายใน membrane นี้มี acetylcholine vesicles อยู่ประมาณ 200 vesicles ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของแต่ละ vesicle ประมาณ $500 \text{ \AA}$ 2) Synaptic cleft หรือ synaptic space คือช่องระหว่างปลายประสาท motor และ motor endplate มีความกว้างประมาณ $200-500 \text{ \AA}$ ที่บริเวณ synaptic cleft นี้จะเป็นทางผ่านของ acetylcholine ไปยัง motor endplate 3) Motor endplate หรือ postsynaptic membrane คือบริเวณเยื่อของกล้ามเนื้อลายที่อยู่รองรับปลายประสาท motor มีลักษณะพิเศษ คือมีความหนาและคดเคี้ยวเมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ที่บริเวณนี้คาดว่ามี nicotinic cholinergic receptor และเอนไซม์ acetylcholinesterase อยู่ในบริเวณนี้ (Waser, 1975 ; Goldberg, 1976 ; Goodman & Gilman, 1980 ; อัมพวัน, 2523).

การนำส่ง impulse จากเส้นประสาทไปยังกล้ามเนื้อลาย (neuromuscular transmission) นั้น เป็นปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นเมื่อมีสัญญาณจากเส้นประสาท (nerve impulse) มาถึง motor nerve terminals จากนั้นจะมีผลทำให้ motor nerve terminals เกิด depolarization แล้วเกิดขบวนการ excitation - secretion coupling ซึ่งขบวนการนี้มี Ca^{++} เป็นตัวกระตุ้น เป็นผลให้มีการหลั่งของ acetylcholine ออกจากบริเวณปลายประสาท acetylcholine ที่หลั่งออกมาส่วนหนึ่งจะสามารถทำปฏิกิริยากับ nicotinic cholinergic receptor ซึ่งมีลักษณะเป็นโปรตีนประกอบด้วยกรดอะมิโนหลายชนิด (Goodman & Gilman, 1980) acetylcholine จะทำปฏิกิริยากับ receptor นี้เป็นผลให้มีการเพิ่ม permeability ของ membrane ต่อ Na^+ และ K^+ ทำให้เกิดการไหลเข้าของโซเดียม (Na^+ influx) และการไหลออกของโปแตสเซียม (K^+ efflux) หลังจาก

นี้จะทำให้เกิด depolarization ของ motor endplate ซึ่งเรียกว่า endplate potential (Fatt & Katz , 1951) และ endplate potential นี้จะทำให้มี impulse แผ่กระจายไปตามกล้ามเนื้อลายและทำให้มีการหดตัวของกล้ามเนื้อลายได้ (Katz , 1966 ; Goldberg , 1976 ; Miyamoto , 1978 ; Goodman & Gilman , 1980).

ยาสก็ดกั้นการทำงานของบริเวณปลายประสาทและกล้ามเนื้อลาย (neuromuscular blocking drugs) มีผลทำให้การทำงานของกล้ามเนื้อลายลดลง จึงนำไปใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ได้มาก ตัวอย่างเช่น ใช้เป็นยาทำให้กล้ามเนื้อคลายตัว ใช้เป็นยาระงับชักบางชนิด เป็นต้น ปัจจุบันแบ่งยาสก็ดกั้นการทำงานของบริเวณปลายประสาทและกล้ามเนื้อออกเป็น

เป็น 2 กลุ่มใหญ่คือ 1) Non-depolarized (competitive) neuromuscular blocking drugs ตัวอย่างเช่น d-tubocurarine, pancuronium ฯลฯ 2) Depolarized (non-competitive) neuromuscular blocking drugs ตัวอย่างเช่น succinylcholine, decamethonium ฯลฯ เป็นต้น นอกจากนี้ยังมียาอื่น ๆ อีกเช่น hemicholinium, anticholinesterases (ในขนาดสูง ๆ), สารพิษต่าง ๆ เช่นพิษงู และสมุนไพรที่ออกฤทธิ์ที่บริเวณนี้ (Werner & Kuperman, 1963 ; Chantaratham & Tejasen 1970 ; Nasode & Apisariyakul, 1977 ; วิบูลย์ & อัมพวัน, 2521 ; Goodman & Gilman, 1980 ; อัมพวัน, 2523 ; Lee, 1982).

ยาในกลุ่ม non-depolarized neuromuscular blocking drugs ตัวอย่างเช่น d-tubocurarine ทำให้ลดการหดตัวของกล้ามเนื้อลายโดยยับยั้งการออกฤทธิ์ของ acetylcholine ในการทำปฏิกิริยาจับกับ nicotinic cholinergic receptors ที่ motor endplate เป็นแบบ competitive antagonism กับ acetylcholine (Goodman & Gilman, 1980 ; อัมพวัน, 2523) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า d-tubocurarine สามารถยับยั้งการหลั่งของ acetylcholine ออกจากบริเวณปลายประสาทได้ (Hubbard, 1969 ; Riker & Okamoto, 1969) จะเห็นว่ายาในกลุ่มนี้สามารถออกฤทธิ์ได้ทั้งที่บริเวณปลายประสาทและบนผิวของกล้ามเนื้อลาย (motor endplate).

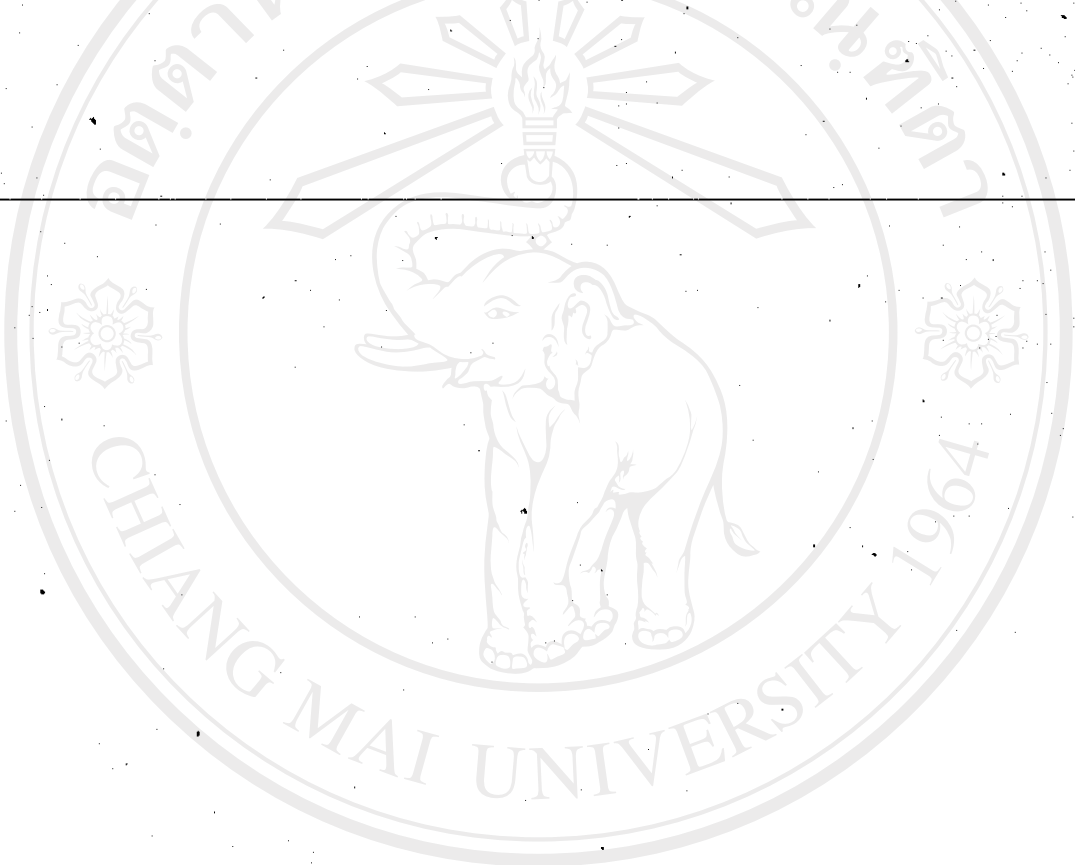
ยาในกลุ่ม depolarized neuromuscular blocking drugs ตัวอย่างเช่น succinylcholine มีการออกฤทธิ์คล้าย acetylcholine โดยไปจับกับ nicotinic cholinergic receptor ที่ motor endplate แต่มีการเกิด depolarization ที่นานกว่าคือ เกิด persistent depolarization แล้วจึงเกิดการยับยั้งการนำส่ง impulse ตามมา ซึ่งเรียกว่า depolarized neuromuscular blockade มี 2 phases คือ phase I block เกิดขึ้นเนื่องจาก membrane ของ motor endplate เกิด accommodation Na^+ ไม่ไหลเข้าสู่ membrane นี้ได้อีกต่อไปคือเกิด Na^+ inactivation หลังจากนั้นจะเกิด phase II block ตามมาซึ่งเป็นผลเนื่องจากการเกิด desensitization ของ motor endplate (Kuperman, 1972 ; Goodman & Gilman, 1980 ; อัมพวัน, 2523).

สารสำคัญซึ่งได้จากพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ยับยั้งการนำส่ง impulse จากปลายประสาทไปยังกล้ามเนื้อลายมีหลายชนิดเช่น d-tubocurarine ซึ่งเป็นอัลคาลอยด์ชนิดหนึ่งที่ได้จาก Chondrodendron tomentosum (Feldman, 1973 ; อัมพวัน, 2523), toxiferine เป็นอัลคาลอยด์อีกชนิดหนึ่งซึ่งได้จาก Strychnos toxifera และ erythroidine ซึ่งได้จากต้นไม้ใน genus Erythrina พืชสมุนไพรเหล่านี้มีอัลคาลอยด์เป็นกลุ่มสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการนำส่ง impulse จากปลายประสาทไปยังกล้ามเนื้อลาย จึงใช้เป็นยาลายตัวกล้ามเนื้อลายและใช้เป็นยาร่วมกับยาสลบ (Goodman & Gilman, 1980).

การศึกษาวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของน้ำสกัดใบราตรีต่อบริเวณปลายประสาทและกล้ามเนื้อลาย โดยศึกษาเปรียบเทียบกับยามาตรฐาน คือ pancuronium และ succinylcholine รวมทั้งศึกษาดำรงที่ออกฤทธิ์ (sites of action) และกลไกการออกฤทธิ์ (mechanisms of action) ของน้ำสกัดนี้ ตลอดจนทำการศึกษาอาการพิษอย่างเฉียบพลัน (acute toxicity) และหา LD_{50} ของน้ำสกัดใบราตรีในหนูขาว นอกจากนี้ยังทำการทดสอบหาสารสำคัญในใบราตรีที่ออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาด้วย.

การศึกษากการออกฤทธิ์ของน้ำสกัดใบราตรีต่อบริเวณปลายประสาทและกล้ามเนื้อลาย ยังไม่เคยมีรายงานที่เด่นชัดมาก่อน ฉะนั้นในการวิจัยครั้งนี้จึงได้ศึกษาถึงตำแหน่งที่ออกฤทธิ์และ

กลไกการออกฤทธิ์ของน้ำสกัดใบราตรีคอบริเวณนี้โดยทำการทดลองทั้งในตัวสัตว์ทดลอง (in situ) และนอกตัวสัตว์ทดลอง (in vitro) โดยใช้สัตว์ทดลองชนิดเดียวกันศึกษาทั้งด้าน qualitative และ quantitative นอกจากนี้ยังได้ศึกษากลุ่มสารสำคัญในใบราตรีที่มีฤทธิ์ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อลายเปรียบเทียบกับสารเคมีมาตรฐาน (standard) การศึกษาวิจัยครั้งนี้อาจเป็นแนวทางในการที่จะนำเอาใบราตรีไปใช้เป็นประโยชน์ต่อไป.

The seal of Chiang Mai University is a large, circular emblem. It features a central illustration of an elephant standing and facing left. Above the elephant's head is a stylized sunburst or flame-like symbol. The entire emblem is enclosed within a circular border. The text "CHANG MAI UNIVERSITY 1964" is written in English along the bottom arc of the border. The Thai text "มหาวิทยาลัยเชียงใหม่" is written along the top arc.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved