บทที่ 1

บทนำ

มนุษย์รู้จักปลูกและรู้จักใช้เครื่องเทศ มาตั้งแต่ราว 1600 ปี ก่อนคริสตศักราช ได้มีบันทึกไว้ในกระดาษกก ปาปิรุส (papyrus) ในบันทึกได้กล่าวถึง หญ้าฝรั่น เทียนข้าวเปลือก ถูกผักชี ยี่หร่า มดยอบ และอื่นๆอีกมากมาย ตลอดจนมีการบันทึกในการทำมัมมี่ของอียิปต์โบราณ ด้วยการใส่เครื่องเทศหลายชนิด เช่น อบเชย กานพลู ยี่หร่า เทียนสัตบุษย์ มาจอแรม เป็นต้น ลงในช่องท้องของศพ เพื่อรักษาศพไว้ไม่ให้เน่าเปื่อย

มนุษย์ได้ใช้เครื่องเทศเพื่อจุดประสงค์ในการแต่งกลิ่น รส และสี ของอาหารมาเป็นเวลาช้านาน เครื่องเทศมีคุณค่าทางอาหารน้อยมาก แต่ก็มีประโยชน์ในการช่วยทำให้กลิ่นและรสของอาหารดีขึ้น ช่วยกระตุ้นน้ำย่อย ในบางครั้งเครื่องเทศและเครื่องยาก็เป็นของอย่างเดียวกันขึ้นอยู่กับโอกาสที่นำไปใช้ คุณค่าของเครื่องเทศอยู่ที่กลิ่นและน้ำมันระเหย (Essential oil) ที่มีอยู่ในเครื่องเทศนั้นๆ ซึ่งมีคุณสมบัติช่วยขับลมทำให้ลำไส้เคลื่อนไหวได้มากขึ้น จึงมักใช้ในตำรับยาเกี่ยวกับโรคทางเดินอาหารเสียส่วนมาก

ในยุคสมัยกลางประวัติศาสตร์ (Middle Ages) นั้นเครื่องเทศไม่ค่อยมีบทบาททางยาเท่าใด แต่มีเครื่องเทศอยู่หลายชนิดที่อยู่ในตำราของยุโรป โดยได้นำเครื่องเทศมาใช้เป็นยาขับลม ฆ่าเชื้อโรค กลบกลิ่นไม่ดีของยา นอกจากนี้ยังนำเครื่องเทศมาใช้ในอุตสาหกรรมทำเครื่องหอม เช่น สบู่ ใช้อบเสื้อผ้า ใช้เป็นสีย้อมผ้าและแพร สีระบายเพื่อศิลปะ (นิจศิริ เรืองรังษี , 2534)

มะแข่น (*Zanthoxylum limonella* Alston) เป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Rutaceae ในภาคเหนือของประเทศไทยนำมาเป็นเครื่องเทศประกอบการทำอาหาร มีชื่อเรียกภาษาไทยพื้นเมืองหลายชื่อ ได้แก่ กำจัดต้น ถูกระมาศ พริกหอม หมากมาด และหมักข่อง เป็นต้น มีลักษณะเป็นไม้ผลัดใบขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ เปลือกไม้มีสีขาวนวล มีหนามแหลมตามลำต้น กิ่งก้าน และก้านใบประกอบแบบขนนก ใบย่อยรูปไข่หรือรูปมนรี ปลายแหลมมาก ขอบใบขนาน เรียบเกลี้ยงหรือเป็นหยัก

เล็กน้อย ปลายใบเรียวแหลมเป็นติ่งยาว ช่อดอกเป็นแบบช่อแยกแขนง ขนาดใหญ่ ออกดอกที่ยอดหรือตามง่ามใบใกล้ยอด ดอกเล็ก ดอกเพศผู้มีกลีบเลี้ยงเล็กมาก 4 กลีบ รูปกลมหรือรูปสามเหลี่ยม กลีบดอก 4 กลีบ สีนวลหรือสีขาวอมเขียว ดอกเพศเมียคล้ายเพศผู้ ผลค่อนข้างกลม ผิวขรุขระมีกลิ่น เมล็ดเล็ก กลม ดำเป็นมัน พบและขึ้นได้ทั่วๆไป (ภาพที่ 1 และ 2)

เกือบทุกส่วนของมะแข่นได้แก่ ราก เปลือก เถา เนื้อไม้ ผลและเมล็ด มีการนำมาใช้เป็นยาสมุนไพรมีสรรพคุณช่วยขับลม แก้ลมวิงเวียน ขับไลหิตระดู แก้ไข้ แก้พิษงู พิษตะขาบ พิษแมลงป่อง สมานบาดแผล ช่วยย่อย แต่งกลิ่นรสอาหาร รักษาโรคทางเดินปัสสาวะ แก้ท้องอืดเฟ้อ บำรุงโลหิต บำรุงหัวใจ (นันทวัน บุณยะประภัศร และ อรนุช โชคชัยเจริญพรม, 2539)

ในประเทศอินเดียมีการนำน้ำมันระเหยจากผลของมะแข่นไปใช้เป็นยารักษาโรคระบบทางเดินอาหาร ช่วยในการย่อยอาหาร โรคระบบทางเดินปัสสาวะ และบางครั้งถูกนำไปใช้รักษาโรคไขข้ออักเสบ (Agshikar and Abraham , 1972)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ 1 ลักษณะต้นมะแข่นและช่อดอก (*Zanthoxylum limonella* Alston)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ 2 ลักษณะผลแห้งของต้นมะแข่น (*Zanthoxylum limonella* Alston)

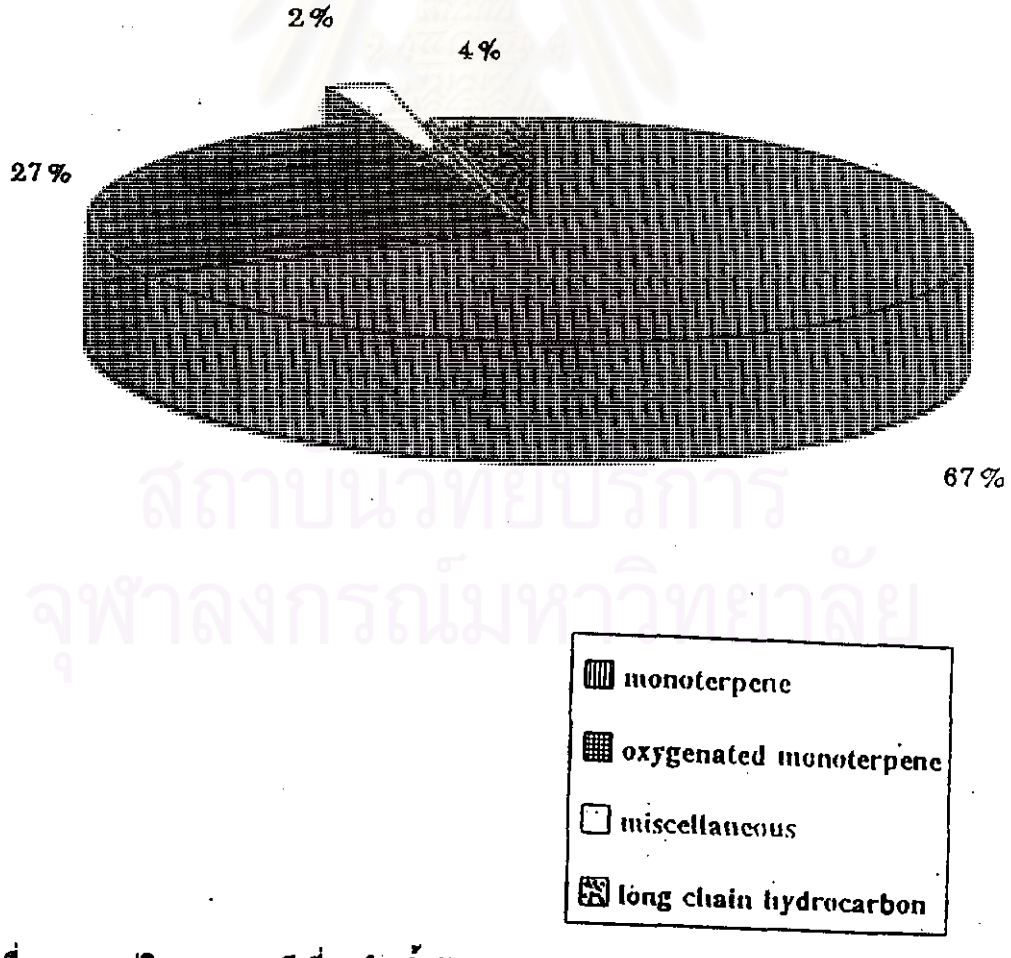
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การศึกษาทางเภสัชพฤกษศาสตร์

สารเคมีที่พบจากการสกัดส่วนต่างๆของต้นมะแข่นมีหลายชนิดเช่น alkaloids, volatile oil, cumarins, triterpinoids และ วิตามิน E (Somanabandhu and others, 1992)

เมื่อนำผลตากแห้งของมะแข่นไปกลั่นจะได้น้ำมันระเหย (volatile oil) ร้อยละ 4.3 % (v/w) น้ำหนักของผลแห้ง นำไปตรวจสอบสารเคมีโดยวิธี Gas chromatography / Masspectrometry พบว่า มีสารพวก monoterpene hydrocarbons 13 ชนิด , oxygenated monoterpene 15 ชนิด , sesquiterpene 2 ชนิด และ long chain hydrocarbons (non - terpene) 2 ชนิด สารเคมีที่พบว่ามีปริมาณมากที่สุด คือ monoterpene ได้แก่ limonene (31.09%) , terpin-4-ol (13.94%) และ sabinene (9.13%) (ภาพที่ 3) (วารุณี ชำรงค์สวัสดิ์, 2539)



ภาพที่ 3 แสดงปริมาณสารเคมี ที่พบในน้ำมันระเหยจากมะแข่น (วารุณี, 2539)

ตารางที่ 1 แสดงสารสำคัญที่พบในน้ำมันระเหยจากผลมะแข่น (วารุณี , 2539)

Number of peak	Compound	Retention time (min)	% Area
	Monoterpene hydrocarbons		
1	α - thujene	5.09	0.89
2	Tricyclene	5.30	3.29
3	Sabinene	6.34	9.13
4	Myrcene	6.81	1.92
5	α - phellandrene	7.38	2.77
6	α - terpinene	7.71	2.51
7	*O* – cymene	7.98	9.02
8	Limonene	8.15	31.09
9	(*Z*) - β - ocimene	8.34	0.38
10	(*E*) - β - ocimene	8.71	0.38
11	γ- terpinene	9.16	3.70
12	*para* – mentha –2,4(8)-diene	9.63	0.53
13	Terpinolene	10.19	0.92
	Oxygenated monoterpenes		
14	Linalool	10.76	2.48
15	*trans* –verbenol	11.64	trace
16	*cis-para*--menth-2-en-1-ol	11.76	0.80
17	*trans-para* -menth-2-en-1-ol	12.51	0.59
18	*cis*-thujone	13.66	0.31
19	*trans*-thujone	13.83	0.58
20	terpin-4-ol	14.13	13.94
22	α-terpineol	14.76	2.10

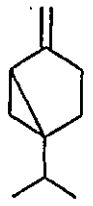
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 1 (ต่อ)

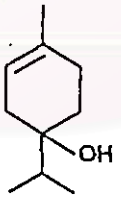
Number of peak	Compound	Retention time (min)	% Area
	Oxygenated monoterpenes (ต่อ)		
23	*trans*-sabinol	15.09	0.97
25	*trans*-carveol	15.78	0.69
26	*cis*-carveol	16.36	trace
27	Carvone	18.68	0.59
28	β - pinene oxide	18.36	2.39
30	Carvacrol	19.31	0.52
31	geranyl acetate	22.88	1.28
	Oxygenated sesquiterpenes		
32	Spathulenol	31.09	trace
33	caryophyllene oxide	31.31	trace
	Miscellaneous		
21	sabina ketone	14.38	2.23
	Long chain hydrocarbons		
24	decanone acetate	15.46	2.68
29	2-undecanone	19.09	1.08

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

limonene



sabinene



terpin-4-ol

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ 4 แสดงสูตรโครงสร้างทางเคมีขององค์ประกอบหลักในน้ำมันระเหยจากผลมะแข่น (วารุณี, 2539)

การศึกษาทางเภสัชวิทยา

จากการศึกษาในสัตว์ทดลอง (Agshikar and Abraham , 1972) พบว่า น้ำมันระเหยจากผล *Zanthoxylum budrunga* Wall มีฤทธิ์ทำให้ชาเฉพาะที่ และน้ำมันระเหยขนาด 2.5 , 5 และ 10 mg/kg สามารถลดความดันโลหิตในสุนัขได้ และน้ำมันระเหยสามารถต้านฤทธิ์ของ acetylcholine และ histamine 0.015 μg/ml ในการทำให้ลำไส้เล็กหนูตะเภาหดตัว โดยใช้น้ำมันระเหย 20 μl/ml และ 10 μl/ml ตามลำดับ เมื่อทดสอบพิษเฉียบพลันพบว่า ค่า LD_{50} มากกว่า 1000 mg/kg เมื่อให้น้ำมันระเหยกับหนูถีบจักรทางช่องท้อง และน้ำมันระเหยมีฤทธิ์ต้านการอักเสบได้ (Abraham and Agshikar , 1972) และจากการศึกษา พบว่า สารหลักที่สำคัญในน้ำมันระเหย มีผลกระตุ้นความอยากอาหาร และช่วยเพิ่มการหลั่งของน้ำย่อย ได้แก่ cineole , limonene , terpineol และ linalol (Al-Zuhair and others , 1996)

ชาวไทยได้ใช้เครื่องเทศเพื่อการประกอบอาหารในชีวิตประจำวันเพื่อแต่งกลิ่นและรสให้น่ารับประทาน แต่การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยายังมีอยู่น้อยมาก โดยเฉพาะน้ำมันระเหยซึ่งเป็นสารที่พบส่วนใหญ่ในเครื่องเทศต่างๆ และตามสรรพคุณในยาไทยมักจะกล่าวถึงผลในแง่ของการเพิ่มการเคลื่อนไหวของลำไส้ และช่วยขับลม ดังนั้นจึงควรที่จะศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของน้ำมันระเหย เพื่อให้ได้ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์รองรับถึงสรรพคุณที่แท้จริง

สำหรับการวิจัยครั้งนี้ เป็นการศึกษาถึงผลของน้ำมันระเหยต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ (aorta) ท่อนำอสุจิ (vas deferens) ของหนูขาว และลำไส้เล็ก (ileum) ของหนูตะเภา รวมทั้งศึกษาผลต่อลำไส้ภายในร่างกายของหนูถีบจักร และขอกล่าวถึงกลไกการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบโดยสังเขป ดังนี้

กลไกการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ

การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ มีความเกี่ยวข้องกับแคลเซียม (Ca^{2+}) โดยเชื่อว่าแคลเซียมทำหน้าที่เป็น intracellular messenger ซึ่งเป็นองค์ประกอบในการทำงานของเอนไซม์ที่สำคัญ

เช่น myosin light chain kinase (MLCK) หรือ protein kinase ชนิดอื่นๆ ที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ (Aksoy,Murphy และ Kamm, 1982 , Berne and Levy, 1998)

Karaki และ Weiss (1988) ได้เสนอกลไกที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มขึ้นของแคลเซียมอิสระภายในเซลล์ ไว้ดังนี้คือ

1. แคลเซียมจากภายนอกเซลล์เคลื่อนที่ผ่านเข้าสู่ภายในเซลล์ มีกลไกที่เกี่ยวข้องอย่างน้อย 3 กลไก ดังภาพที่ 5 คือ

1.1 แคลเซียมผ่านเข้าเซลล์โดยอาศัย leak mechanism หรือ resting influx ซึ่งแคลเซียมที่ผ่านเข้าเซลล์ด้วยกลไกนี้จะถูกเก็บสะสมไว้ในแหล่งเก็บสะสมแคลเซียมภายในเซลล์ (sacroplasmic reticulum) และไม่ทำให้แคลเซียมอิสระภายในเซลล์เพิ่มขึ้นโดยตรง

1.2 แคลเซียมผ่านเข้าเซลล์โดยทาง potential (voltage) - operated calcium channel (POC หรือ VOC) โดยการเปลี่ยนแปลง action potential ของผนังเซลล์ เกิด depolarization ซึ่งกระตุ้นให้ POC เปิดออก ทำให้แคลเซียมจากภายนอกเซลล์เคลื่อนเข้าสู่ภายในเซลล์ได้ ซึ่ง POC ยังสามารถแบ่งออกเป็น 4 ชนิด คือ L-type channels ,T-type channels ,N-type channels และ P-type channels

1.3 แคลเซียมผ่านเข้าเซลล์ทาง receptor-operated calcium channel (ROC) โดยเกิดจากการที่มีตัวกระตุ้นต่างๆ เช่น acetylcholine , serotonin , oxytocin และ histamine เป็นต้น จับกับตัวรับสัมผัส (receptor) ที่เฉพาะเจาะจงต่อตัวกระตุ้นนั้นๆแล้วกระตุ้นให้ ROC เปิดออก ทำให้แคลเซียมภายนอกเซลล์เคลื่อนที่เข้าสู่ภายในได้

2. การหลั่งของแคลเซียมจาก แหล่งเก็บสะสมแคลเซียมภายในเซลล์ (sacroplasmic recticulum) เกิดจาก 4 กลไก คือ

2.1 calcium induced calcium release (CCR) เกิดจากแคลเซียมจากภายนอกเซลล์เคลื่อนที่ผ่าน POC เข้าสู่เซลล์ แล้วไปกระตุ้นให้มีการหลั่งของแคลเซียมจากแหล่งสะสมภายในเซลล์

2.2 จากการกระตุ้นโดยสารเคมี ได้แก่ caffeine ซึ่งสามารถกระตุ้นให้มีการหลั่งของแคลเซียมจากแหล่งสะสมภายในเซลล์ได้ในกล้ามเนื้อเรียบหลายชนิด

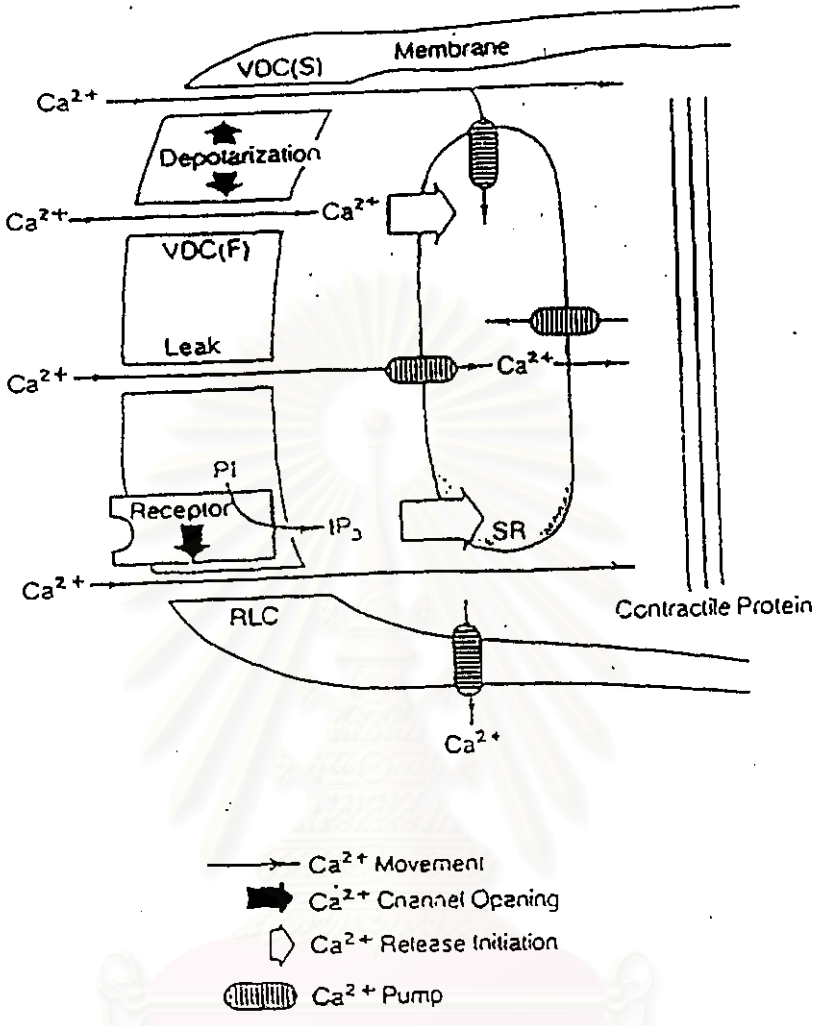
2.3 จากการที่ตัวรับสัมผัส (receptor) ถูกกระตุ้น แล้วเกิดการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีได้ IP_3 (inositol-1,4,5-triphosphate) มากขึ้น และ IP_3 ที่เพิ่มขึ้นนี้มีผลไปกระตุ้นให้มีการหลั่งแคลเซียม จากแหล่งสะสมภายในเซลล์ ได้แก่ norepinephrine , acetylcholine , serotonin และ histamine (ภาพที่ 6 และ 7)

2.4 การเกิด depolarization ที่ membrane ของ sacroplasmic reticulum membrane สามารถทำให้เกิดการหลั่งแคลเซียมจากแหล่งสะสมภายในเซลล์ ได้

กลไกการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ

การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ ในปัจจุบันเป็นที่ทราบกันดีแล้วว่า การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบทั่วๆไป นั้นมีความสัมพันธ์กับแคลเซียม แคลเซียมภายในเซลล์จะเพิ่มขึ้นโดยสิ่งกระตุ้นหลายชนิด เมื่อแคลเซียมไป จับกับ receptor ของแคลเซียมภายในเซลล์คือ calmodulin เป็น calcium-calmodulin complex (ประกอบด้วย calcium 4 ตัว และ calmodulin 1 ตัว) calcium-calmodulin complex นี้จะไปกระตุ้นให้เอนไซม์ myosin light chain kinase (MLCK) กลายเป็น calcium-calmodulin-MLCK ซึ่งจะไปทำให้ phosphate group (Pi) จาก ATP ไปจับที่ P-light chain ของ myosin กลายเป็น myosin-P และ myosin-P นี้จะทำปฏิกริยากับ actin เป็นผลให้เกิดการหดตัวของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ

การคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลังจากหมดสิ่งกระตุ้น จะมีผลทำให้ระดับแคลเซียมภายในเซลล์ลดลง calcium ไม่สามารถจับกับ calmodulin ได้ และทำให้ calcium - calmodulin หลุดจาก calcium-calmodulin-MLCK ทำให้ MLCK อยู่ในรูป inactivate เอนไซม์ MLCK phosphate ทำให้เกิด dephosphorylated ของ ATP ทำให้ไม่เกิด myosin-P ในภาวะเช่นนี้ myosin ไม่สามารถทำปฏิกริยากับ actin ได้ เป็นผลให้เกิดการคลายตัวของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ (ภาพที่ 8) (Murphy, 1993)



Ca^{2+} : calcium ion

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

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

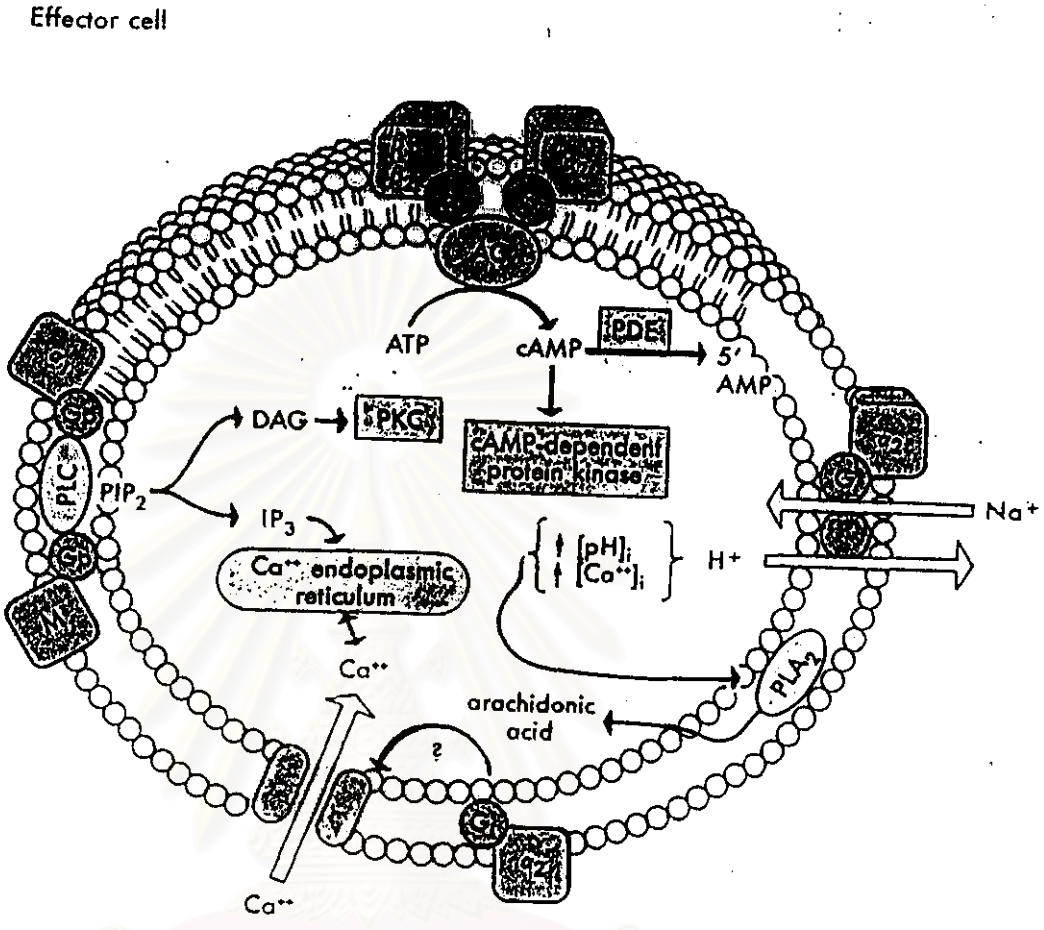
RLC : receptor linked Ca^{2+} channel

SR : sarcoplasmic reticulum

PI : phosphatidylinositol

IP_3 : inositol-1,4,5-trisphosphate

ภาพที่ 5 แสดงการเคลื่อนที่ของแคลเซียมเข้าสู่เซลล์กล้ามเนื้อเรียบ (Karaki and Weiss, 1988)



G = G - protein

AC = adenylate cyclase

PLC = Phospholipase C

DAG = diacylglycerol

Ca^{2+} = calcium ion

PKC = protein kinase C

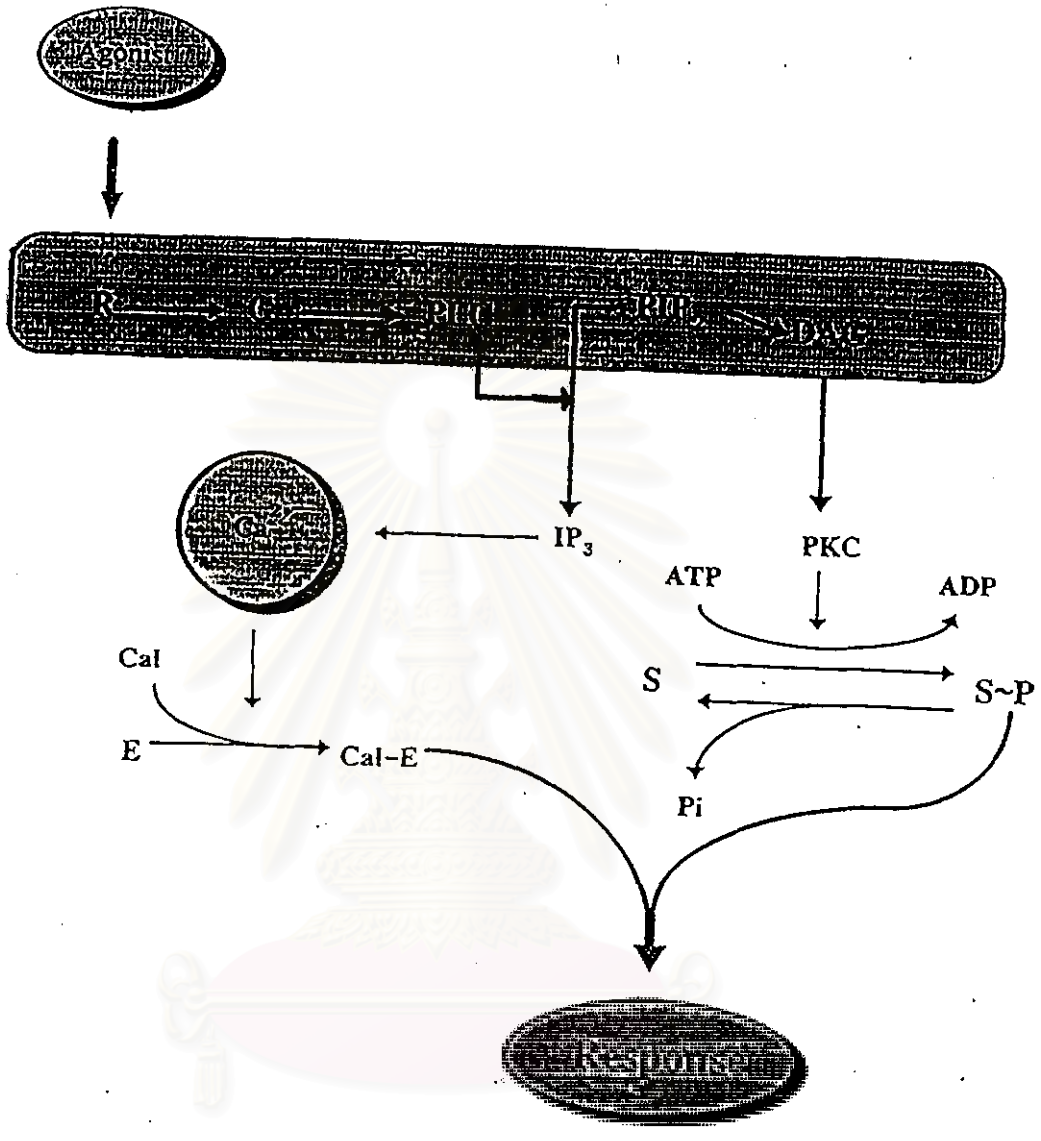
ADP = adenosine diphosphate

ATP = adenosine triphosphate

PIP_2 = Inositol (1,4) - diphosphate

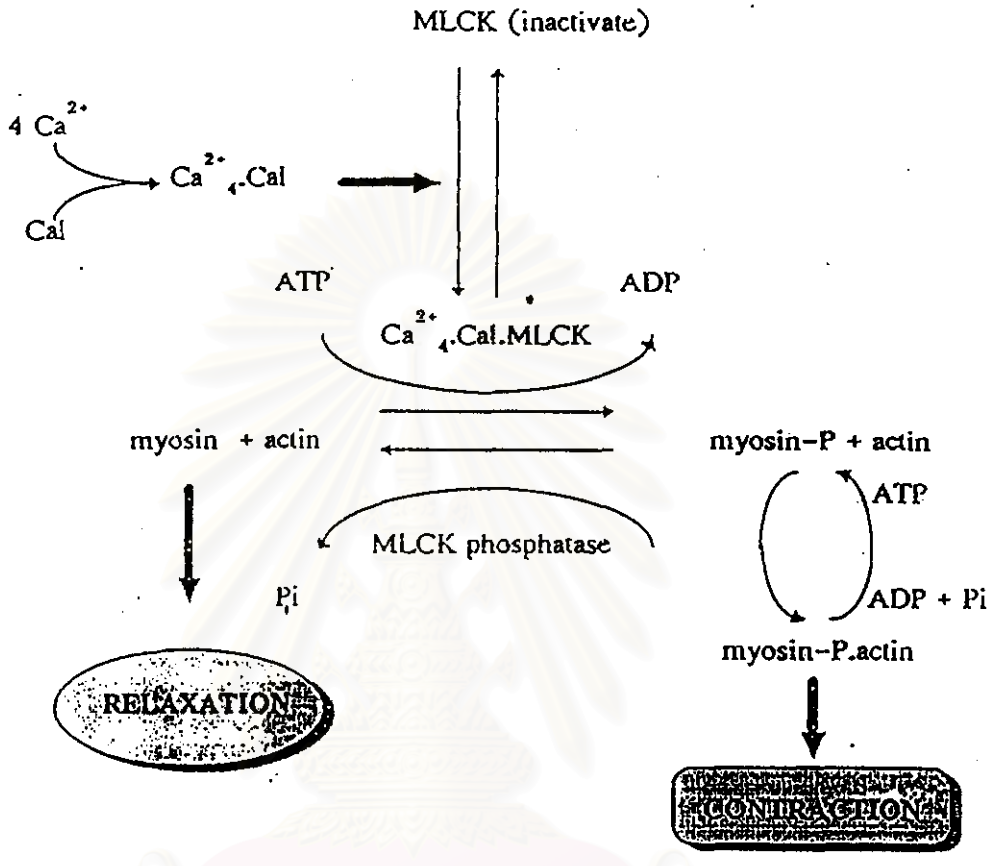
IP_3 = Inositol (1,4,5) - triphosphate

ภาพที่ 6 แสดง Mechanism of signal transduction by adrenergic , cholinergic , serotonin and histamine receptors in elicting cellular response (Wingard and others , 1991)



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	

ภาพที่ 7 แสดง Ca^{2+} / phosphoinositide signaling pathway (Bourne and Roberts, 1998)



Ca^{2+}	=	calcium ion
Cal	=	calmodulin
MLCK	=	myosin light chain kinase
myosin-P	=	phosphorylated myosin
ATP	=	adenosine triphosphate
ADP	=	adenosine diphosphate
Pi	=	gamma phosphate group

ภาพที่ 8 แสดงกลไกการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ (Murphy, 1993)

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาฤทธิ์และกลไกของน้ำมันระเหยจากผลมะแข่นต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่แยกออกจากกาย

2. เพื่อศึกษาฤทธิ์ของน้ำมันระเหยจากผลมะแข่นต่อการบีบตัวของลำไส้หนูถีบจักรสภาพปกติ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

1. ทำให้ทราบฤทธิ์และกลไกที่เกิดขึ้นของน้ำมันระเหยจากผลมะแข่น ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภา หลอดเลือดแดงใหญ่และท่อออสุจิของหนูขาวที่แยกออกจากกาย และต่อการเคลื่อนไหวของลำไส้หนูถีบจักรในสภาพปกติ

2. ได้ข้อมูลฤทธิ์เบื้องต้นของน้ำมันระเหยจากผลมะแข่น ซึ่งจะเป็นแนวทางนำไปสู่การศึกษาในด้านอื่นๆ ต่อไปและเป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภค เนื่องจากมีการนำผลมะแข่นมาใช้ในการปรุงอาหารในชีวิตประจำวันอยู่แล้ว

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย