

1. บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

Low Density Lipoprotein (LDL) เป็นไลโปโปรตีนซึ่งทำหน้าที่ขนส่งไขมัน จำพวกคอเลสเตอรอล (cholesterol) เป็นหลัก จากตับไปยังเนื้อเยื่อต่าง ๆ ของร่างกาย ปัจจุบันเป็นที่ยอมรับว่า การมีระดับไลโปโปรตีนชนิดนี้สูงในกระแสเลือดสามารถสะท้อนถึงความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะหลอดเลือดแดงแข็งตัว (atherosclerosis) ซึ่งเป็นต้นเหตุหนึ่งของโรคหลอดเลือดหัวใจ (coronary heart disease) ได้เป็นอย่างดี (พรทิพย์ โล่ห์লেখา, 2536) นอกจากนี้ยังมีหลักฐานต่าง ๆ ปรากฏแน่ชัดว่า กระบวนการออกซิเดชันไขมัน (lipid peroxidation) ที่เป็นส่วนประกอบของ LDL โดยกลุ่มอนุมูลอิสระ (free radicals) ที่มาจากการใช้ออกซิเจนในกระบวนการเมแทบอลิซึม (metabolism) ของเซลล์ต่าง ๆ ภายในผนังหลอดเลือด และอาจรวมทั้งที่เกิดขึ้นภายในร่างกาย จากการเหนี่ยวนำของปัจจัยแวดล้อมภายนอก อย่างเช่น รังสียูวี (ultra-violet light) โอโซน (ozone) ควันจากท่อไอเสีย และควันบุหรี่ เป็นต้น เป็นขั้นตอนสำคัญของการเริ่มต้นภาวะหลอดเลือดแดงแข็งตัว (Chisolm and Steinberg, 2000) เนื่องจากโมเลกุล LDL ที่ถูกออกซิไดส์ (oxidized LDL) เหล่านี้ สามารถกระตุ้นเม็ดเลือดขาวจำพวก macrophage ให้มาจับกลืนกิน (phagocytosis) จากนั้นจะกลายสภาพเป็น foam cell จับเกาะติดอยู่ที่ผนังหลอดเลือด ซึ่งถ้าสะสมมากขึ้นจนพอกเป็นปื้นหนา (plaque) อาจนำไปสู่การอุดตันของหลอดเลือดได้ในที่สุด (Witztum and Steinberg, 1991) ดังนั้น นอกเหนือจากการหลีกเลี่ยงอาหารที่มีคอเลสเตอรอลสูงแล้ว การที่ร่างกายได้รับสารที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (antioxidant) จึงอาจเป็นหนทางหนึ่งที่จะช่วยป้องกันภาวะดังกล่าวได้ เป็นที่ทราบกันดีว่า กลุ่มของสารประกอบแซนโทน (xanthones) และฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ที่สกัดได้จากพืชพรรณธรรมชาตินั้น มีฤทธิ์ทางชีวภาพมากมาย รวมทั้งสามารถต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยอนุมูลอิสระได้ดี (Rice-Evans *et al.*, 1996) จากการ

ศึกษาทางพฤกษเคมีของพืชสกุล (genus) *Garcinia* ซึ่งเป็นไม้ยืนต้นในวงศ์ (family) *Guttiferae* ที่มีอยู่ทั่วไปในแถบภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ พบว่า มีสารประกอบกลุ่มแซนโทน และฟลาโวนอยด์ ชนิดต่าง ๆ อยู่เป็นจำนวนมาก (Waterman and Hussain, 1983; Bennett and Lee, 1989) จึงทำให้มีผู้สนใจศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพและเภสัชวิทยาของสารสกัดจาก *Garcinia* spp. กันอย่างกว้างขวาง (Mahabusarakum *et al.*, 1986; Sordat-Diserens *et al.*, 1992; Yoshikawa *et al.*, 1994; Williams *et al.*, 1995; Minami *et al.*, 1994, 1995, 1996; Likhitwitayawuid *et al.*, 1998a; Mackeen *et al.*, 2000; Koshy *et al.*, 2001) สำหรับสารประกอบที่แยกได้จากส่วนต่าง ๆ ของพืชสกุลนี้ เท่าที่มีรายงานด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันหรือยับยั้งอนุมูลอิสระในหลอดทดลอง (*in vitro*) ได้ผลดี ได้แก่ Mangostin จากเปลือกผลมังคุด (Yoshikawa *et al.*, 1994; Williams *et al.*, 1995) แซนโทนจากเปลือกต้น *Garcinia subelliptica* (Minami *et al.*, 1995, 1996) Garcinol จากเปลือกผล *Garcinia indica* (Yamaguchi *et al.*, 2000) และเมื่อไม่นานมานี้ ยังมีผู้พบว่า สารสกัดจากผล ใบ เปลือกลำต้น ก้าน และรากของส้มแขก (*Garcinia atroviridis*) ทั้งหมดสามารถต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของ linoleic acid ด้วย Fe^{2+} ได้ดีกว่าวิตามินอี (α -tocopherol) นอกเหนือจากประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียและเชื้อราได้หลายชนิด รวมทั้งฤทธิ์ยับยั้งการก่อตัวของเซลล์มะเร็ง (Mackeen *et al.*, 2000)

มะปูด เป็นไม้ผลยืนต้นท้องถิ่นภาคใต้ ซึ่งมีถิ่นที่มาจากที่ไช้เรียกกันในจังหวัดปัตตานี ในปัจจุบันจัดเป็นพรรณไม้หายากชนิดหนึ่งของไทย มีชื่อทางพฤกษศาสตร์ว่า *Garcinia dulcis* (Roxb.) Kurz (เต็ม สมิตินันท์, 2523) ในตำราสมุนไพรไทยระบุว่า สารสกัดจากส่วนต่าง ๆ ของพืชชนิดนี้ มีสรรพคุณรักษาโรคต่าง ๆ ได้ดี (ประเสริฐ สองเมือง, 2538) เนื่องจาก ผลการศึกษาในเปลือก ราก และใบของมะปูด ที่ผ่านมา พบว่า มีสารประกอบกลุ่มฟลาโวนอยด์ และแซนโทน หลายชนิด อยู่เป็นจำนวนมาก (Ansari *et al.*, 1976; Harrison *et al.*, 1994 อ้างโดย Peres *et al.*, 2000; Iinuma *et al.*, 1996a; Ito *et al.*, 1997; Likhitwitayawuid *et al.*, 1998b; Kosela *et al.*, 1999, 2000) ดังนั้นการทดสอบเปรียบเทียบฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันของสารประกอบที่สกัดได้จากส่วนต่าง ๆ ของมะปูด โดยเฉพาะความสามารถในการยับยั้ง

ออกซิเดชันของ LDL ในหลอดเลือด ซึ่งยังไม่เคยมีผู้รายงานมาก่อน จึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจอย่างยิ่ง ผลการวิจัยที่ได้ อาจมีประโยชน์สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับหาแนวทางในการพัฒนาพืชสมุนไพรไทยชนิดนี้ไปเป็นยาเพื่อใช้ลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจซึ่งจัดเป็นสาเหตุอันดับสองของการสูญเสียชีวิตคนไทยในปัจจุบัน (ข้อมูลประจำปี พ.ศ. 2543 ของ กระทรวงสาธารณสุข จาก <http://eng.moph.go.th>) ต่อไปได้ในอนาคต

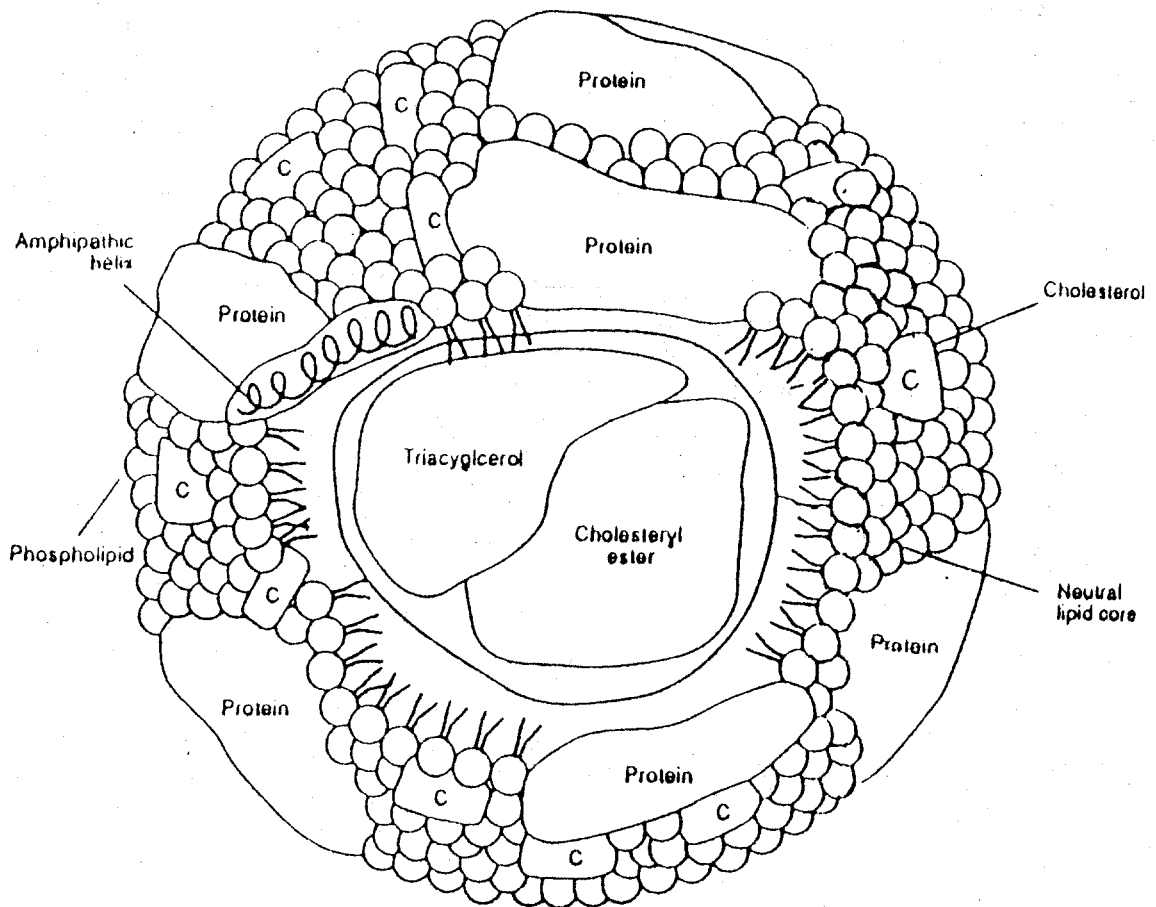
การตรวจเอกสาร

1.1 ไลโปโปรตีนในพลาสมา (Plasma Lipoproteins)

1.1.1 โครงสร้างของไลโปโปรตีน

ไลโปโปรตีนที่พบในพลาสมามีลักษณะเป็นโมเลกุลเชิงซ้อนขนาดใหญ่ ซึ่งเกิดจากไขมันกับโปรตีนมารวมตัวกันอย่างหลวม ๆ ด้วยแรงดึงดูดทางกายภาพที่ไม่ใช่พันธะโคเวเลนต์ (non-covalent linkage) เพื่อทำหน้าที่หลักในการขนส่งไขมันชนิดต่าง ๆ ทั้งที่มาจาก การสังเคราะห์ภายในร่างกาย (endogenous lipids) และที่ดูดซึมจากอาหาร (exogenous lipids) ไปตามกระแสเลือด สู่เนื้อเยื่อและแหล่งสะสมไขมันต่าง ๆ ทั่วร่างกาย ไลโปโปรตีนเหล่านี้มีรูปร่างโมเลกุลโดยทั่วไปเป็นทรงกลม (sphere) ประกอบด้วย โมเลกุลของไขมันจำนวนมาก ทั้งชนิดมีขั้ว (polar lipids) ซึ่งละลายน้ำได้ดี และชนิดที่ไม่มีขั้ว (non-polar lipids) ซึ่งละลายน้ำได้น้อยหรือไม่ได้เลย มาจัดเรียงตัวกันแบบไมเซลล์ (micelle) โดยไขมันที่ไม่มีขั้ว ซึ่งได้แก่ ไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) และ คอเลสเตอรอลเอสเทอร์ (cholesteryl ester) ฝังตัวอยู่บริเวณแกนกลาง (core) ของโมเลกุล ในขณะที่ คอเลสเตอรอลอิสระ (unesterified cholesterol) และ ฟอสโฟกลีเซอไรด์ (phosphoglyceride) เรียงตัวล้อมรอบอยู่ด้านนอกสุด โดยมีโปรตีน ซึ่งเป็นโพลีเพปไทด์สายเดี่ยว (single polypeptide chain) ที่มีโครงสร้างทุติยภูมิ (secondary structure) บางส่วนเป็นแบบเกลียววนขวา (α -helix) และบางส่วนเป็นแบบแผ่นพับ (β-pleated sheet) ที่มีลักษณะแอมฟิพาธิค (amphipathic nature) แทรกตัวอยู่ทั่วไปในไขมันชั้นนอกดังกล่าว โดยบริเวณของสายเพปไทด์ที่ไม่มีขั้ว (polar domains) ซึ่งประกอบด้วยกรดอะมิโนจำพวกที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic amino acids) เป็นส่วนใหญ่ หันเข้าด้านในรวมตัวกับไขมันที่อยู่ตรงแกนกลางโมเลกุล ในขณะที่บริเวณมีขั้ว (non-polar domains) ซึ่งประกอบด้วยกรดอะมิโนจำพวกที่ชอบน้ำ (hydrophilic amino acids) อยู่ที่ผิวด้านนอก (Hevanoja *et al.*, 2000) ดังแสดงในรูปที่ 1 จากการจัดเรียงตัวของไขมันและโปรตีนในลักษณะดังกล่าว จึงทำให้ไลโปโปรตีนสามารถละลายในกระแสเลือดได้ดี

สำหรับโปรตีนที่เป็นส่วนประกอบของไลโปโปรตีนในพลาสมานั้น ปัจจุบันพบมีอยู่ด้วยกัน 5 ชนิดใหญ่ ๆ ซึ่งมีขนาดและหน้าที่แตกต่างกัน (ตารางที่ 1) โปรตีนเหล่านี้รวมเรียกว่า “อะโปโปรตีน (apoproteins) หรือ อะโปไลโปโปรตีน (apolipoproteins)” มีแหล่งสร้างที่สำคัญได้แก่ ตับ และลำไส้เล็ก (พรัทพิย์ โลห์เลขา, 2536)



รูปที่ 1 โครงสร้างทั่วไปของไลโปโปรตีนในพลาสมา (Durrington, 1995)

ตารางที่ 1 อะโปไลโปโปรตีนชนิดต่าง ๆ ที่พบในพลาสมาของคน (Mayes, 1996)

Apolipoprotein	Lipoprotein	Molecular mass (Da)	Comments
Apo A-I	HDL, chylomicrons	28,000	Activator of lecithin: cholesterol acyltransferase (LCAT). Ligand for HDL receptor.
Apo A-II	HDL, chylomicrons	17,000	Structure is two identical monomers joined by a disulfide bridge Inhibitor of LCAT?
Apo A-IV	Secreted with chylomicrons	46,000	Associated with the formation of triacylglycerol rich lipoproteins. Function unknown. Synthesized by intestine.
Apo B-100	LDL, VLDL, IDL	550,000	Synthesized in liver. Ligand for LDL receptor.
Apo B-48	Chylomicrons, chylomicron remnants	260,000	Synthesized in intestine.
Apo C-I	VLDL, HDL, chylomicrons	7,600	Possible activator of LCAT.
Apo C-II	VLDL, HDL, chylomicrons	8,916	Activator of lipoprotein lipase.
Apo C-III	VLDL, HDL, chylomicrons	8,750	Several polymorphic forms depending on content of sialic acid
Apo D	Subfraction of HDL	19,300	May act as lipid transfer protein.
Apo E	VLDL, HDL, chylomicron remnants	34,000	Present in excess in the β -VLDL of patients with type III hyperlipoproteinemia. The sole apoprotein found in HDL _c of diet-induced hypercholesterolemic animals. Ligand for chylomicron remnant receptor in liver and LDL receptor.

1.1.2 ชนิดของไลโปโปรตีน

ไลโปโปรตีนทั้งหลายที่ขนส่งไขมันอยู่ในกระแสเลือดนั้น มีอยู่ด้วยกันหลายชนิด แตกต่างกันตามอัตราส่วนของโปรตีนและไขมันที่เป็นส่วนประกอบ ไลโปโปรตีนที่มีไตรกลีเซอไรด์มากจะมีขนาดใหญ่และมีความหนาแน่นต่ำ ส่วนพวกที่มีโปรตีนมากแต่มีไตรกลีเซอไรด์น้อยจะมีขนาดเล็กและความหนาแน่นสูงขึ้น (พรทิพย์ โล่ห์เลขา, 2536) จากคุณสมบัติดังกล่าว สามารถนำมาใช้แยกและเตรียมไลโปโปรตีนแต่ละชนิดได้ โดยการนำพลาสมามาหมุนเหวี่ยงแรงสูงในสารละลายเกลือที่มีความหนาแน่นต่อเนื่อง (density-gradient ultracentrifugation) ซึ่งสามารถแยกไลโปโปรตีนตามลำดับความหนาแน่นได้เป็น 4 ชนิดใหญ่ ๆ ด้วยกัน คือ ไคโลไมครอน (chylomicron), very low density lipoprotein (VLDL), low density lipoprotein (LDL) และ high density lipoprotein (HDL) (Mackness and Durrington, 1992) นอกจากนี้วิธีหมุนเหวี่ยงแรงสูงแล้ว ไลโปโปรตีนยังสามารถแยกออกจากกันได้ด้วยการทำอิเล็กโทรโฟรีซิส (electrophoresis) ซึ่งอาศัยหลักการเคลื่อนที่ในสนามไฟฟ้าของไลโปโปรตีนแต่ละชนิดผ่านตัวกลางรองรับ อย่างเช่น อะกาโรส เจล (agarose gel), กระดาษกรอง หรือ แผ่นเซลลูโลสอะซิเตท (cellulose acetate) ด้วยวิธีการนี้สามารถแยกไลโปโปรตีนตามระยะทางเคลื่อนที่ ออกเป็น ไคโลไมครอน ซึ่งอยู่ตรงจุดเริ่มต้น, β -lipoprotein, pre β -lipoprotein, และ α -lipoprotein ตามลำดับ ซึ่งเมื่อเทียบกับวิธีหมุนเหวี่ยงแรงสูงแล้วจะตรงกับ ไคโลไมครอน, LDL, VLDL และ HDL นั้นเอง (Montgomery *et al.*, 1996) ไลโปโปรตีนแต่ละชนิดเหล่านี้ มีขนาด และส่วนประกอบต่าง ๆ ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ขนาด และส่วนประกอบของไลโปโปรตีนชนิดต่าง ๆ (พริททิพย์ โล่ห์เลขา, 2536)

	ไลโลไมครอน	VLDL	LDL	HDL
ความหนาแน่น (g/ml)	<0.94	0.94-1.006	1.019-1.063	1.063-1.21
ขนาด (Å)	750-10,000	300-800	205-220	75-100
เส้นผ่าศูนย์กลาง (nm)	120-1100	30-70	17-26	7.4-9.0
ชนิดอะโปไลโปโปรตีน	Apo A, B, C, E	Apo B, C, E	Apo B	Apo A, C, D, E
โปรตีน (%)	2	10	22	50
ไตรกลีเซอไรด์ (%)	84	51	10	3
ฟอสฟอลิเซอไรด์ (%)	7	18	22	27
คอเลสเตอรอลอิสระ (%)	2	7	8	6
คอเลสเตอรอลเอสเทอร์ (%)	5	12	37	13

หมายเหตุ % หมายถึง ค่าเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก

1.1.3 เมแทบอลิซึมของไลโปโปรตีน

ไลโปโปรตีนในพลาสมามีการเปลี่ยนแปลงอยู่ตลอดเวลา ทั้งการสลายและการสร้างขึ้นใหม่ของส่วนที่เป็นไขมัน และโปรตีน รวมทั้งการแลกเปลี่ยนต่าง ๆ ให้แก่กันและกันด้วย บริเวณที่มีการสร้างไลโปโปรตีนที่สำคัญคือ ภายในเอนโดพลาสมิกเรติคูลัม (endoplasmic reticulum) ของเซลล์ตับ และลำไส้เล็ก โดยมีสารต่าง ๆ ที่จำเป็นในการสร้างไลโปโปรตีน ได้แก่ ไตรกลีเซอไรด์ คอเลสเตอรอลอิสระและเอสเทอร์ ฟอสฟอลิเซอไรด์ และอะโปไลโปโปรตีนชนิดต่าง ๆ กระบวนการเมแทบอลิซึมของไลโปโปรตีนแต่ละชนิดที่เกิดขึ้นในร่างกาย สรุปได้ดังนี้ (Kwiterovich Jr., 2000)

เมื่อรับประทานอาหารเข้าไปใหม่ ๆ ไขมันที่ได้รับจากอาหาร ซึ่งส่วนใหญ่ ได้แก่ ไตรกลีเซอไรด์ จะถูกดูดซึมจากบริเวณเยื่อผนังลำไส้เล็กส่วนกลาง (jejunal mucosa) เข้าสู่กระแสเลือดในรูปของไลโลไมครอน ซึ่งสร้างขึ้นภายในเอนโดพลาสมิกเรติคูลัมของเซลล์บุผนังลำไส้พร้อม ๆ กับการสร้างโปรตีน Apo A และ Apo B-48 เพื่อเป็นส่วนประกอบ ไลโลไมครอนที่เพิ่งสร้างเสร็จ (nascent chylomicron) จะถูกปล่อย

ออกจากเซลล์โดยวิธี reverse pinocytosis หรือ exocytosis เข้าสู่ระบบท่อน้ำเหลืองไปตาม thoracic duct แล้วจึงเข้าสู่กระแสเลือด ทำให้พลาสมาที่แยกได้จากเลือดของคนที่ยังรับประทานอาหารเข้าไปใหม่ ๆ มีลักษณะขุ่นขาว เนื่องจากโคโลไมครอนเป็นสารโมเลกุลขนาดใหญ่ ทำให้กระจายแสงได้ (วิบูล วิรานุวัตต์ และ กนกนารถ ชูปัญญา, 2525) โคโลไมครอนที่หลั่งออกมาจะอยู่ในกระแสเลือดได้ไม่เกิน 1 ชั่วโมง เนื่องจากเกิดการสลายตัวอย่างรวดเร็ว โดยเริ่มตั้งแต่เมื่อเข้าสู่กระแสเลือด จะรับ Apo C (Apo C-I, Apo C-II และ Apo C-III) และ Apo E มาจาก HDL ที่ปล่อยออกจากตับใหม่ ๆ ต่อจากนั้น Apo C-II จะไปกระตุ้นเอนไซม์ไลโปโปรตีนไลเปส (lipoprotein lipase) ซึ่งอยู่ที่บริเวณผนังของหลอดเลือดฝอยที่ไปเลี้ยงกล้ามเนื้อ และเนื้อเยื่อสะสมไขมัน (adipose tissue) เป็นส่วนใหญ่ ให้อยู่ไตรกลีเซอไรด์ได้เป็นกรดไขมันอิสระ และไดกลีเซอไรด์ (diglyceride) ซึ่งส่วนมากจะถูกจับเข้าไปไว้ในเนื้อเยื่อสะสมไขมัน ส่วน Apo A และ Apo C ในโคโลไมครอนก็จะถูกย้ายไปยัง HDL อย่างรวดเร็ว จากการเปลี่ยนแปลงดังกล่าว โคโลไมครอนจึงมีขนาดเล็กลงกลายเป็น “chylomicron remnant” และถูกทำลายผ่านทางตัวรับจำเพาะของมัน (chylomicron remnant receptor) และ โปรตีนที่ผิวเซลล์ ซึ่งคล้ายตัวรับ LDL (LDL-like receptor protein) เข้าสู่เซลล์ด้วยวิธี endocytosis เพื่อถูกเปลี่ยนแปลง หรือย่อยสลายต่อไป (รูปที่ 2)

ในขณะเดียวกัน ไตรกลีเซอไรด์ และไขมันชนิดอื่น ๆ ที่สังเคราะห์จากตับ จะถูกปล่อยออกมาในรูปของ nascent VLDL ซึ่งมี Apo B-100 เป็นโปรตีนส่วนประกอบหลัก เมื่อออกมาสู่กระแสเลือด VLDL เหล่านี้จะรับ Apo C และ Apo E ตลอดจนคอเลสเตอรอลจาก HDL เพิ่มเข้ามาในโมเลกุล ระหว่างการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนี้ ไตรกลีเซอไรด์บางส่วนจะถูกย่อยออกไปเป็นกรดไขมันอิสระเข้าสู่เนื้อเยื่อต่าง ๆ โดยเอนไซม์ไลโปโปรตีนไลเปส ในขณะที่ Apo C ถูกย้ายไปยัง HDL ได้เป็น IDL (intermediate density lipoprotein) ที่มีอายุสั้นเกิดขึ้น ซึ่งส่วนใหญ่จะเข้าสู่เซลล์ผ่านทางตัวรับ LDL ที่ผิวเซลล์ โดยใช้ตำแหน่งจับจำเพาะ (specific binding site) บน Apo E เข้าจับกับตัวรับดังกล่าว เพื่อย่อยสลายต่อไป IDL ส่วนที่ยังเหลืออยู่ในกระแสเลือดจะถูกเปลี่ยนแปลงต่อ โดยการย่อยไตรกลีเซอไรด์และฟอสฟอกลิเซอไรด์ออกไป ด้วย

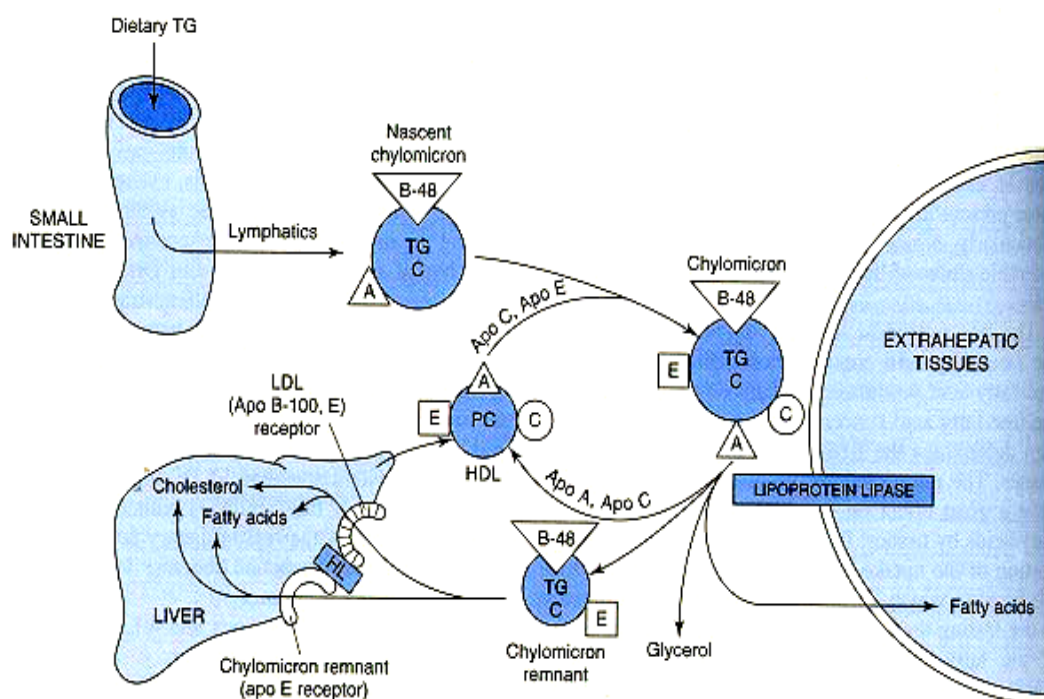
เอนไซม์ไลเปสจากเซลล์ตับ พร้อม ๆ กับการโยกย้าย Apo E ไปยัง HDL กลายเป็น LDL ที่มีเฉพาะ Apo B-100 และคอเลสเตอรอล เป็นองค์ประกอบหลัก (รูปที่ 3)

LDL ที่เกิดขึ้นจากการเปลี่ยนแปลงของ IDL ตามที่กล่าวมาข้างต้น จะถูกขจัดออกจากกระแสเลือด โดยการนำตำแหน่งจับจำเพาะบน Apo B-100 ซึ่งอยู่บริเวณปลายด้านซี (C-terminal) ตรงตำแหน่งกรดอะมิโนองค์ประกอบ (amino acid residue) ลำดับที่ 3,359 ถึง 3,369 (Borén *et al.*, 1998) จากกรดอะมิโนที่มีอยู่ด้วยกันทั้งหมด 4,536 ตัว บนสายโพลีเพปไทด์ดังกล่าว (Knott *et al.*, 1986) เข้าจับกับตัวรับของ LDL เพื่อเข้าสู่เซลล์เป็นส่วนใหญ่ และบางส่วนจะออกสู่เซลล์ในเนื้อเยื่อต่าง ๆ ที่มีตัวรับ LDL อยู่ เช่น เซลล์กล้ามเนื้อเรียบของผนังหลอดเลือด เซลล์ไฟโบรบลาสต์ (fibroblast) และเซลล์เอนโดทีเลียลต่าง ๆ (endothelial cells) เป็นต้น (รูปที่ 3) หลังจากถูกนำเข้าสู่เซลล์โดยวิธี endocytosis แล้ว LDL จะไปรวมอยู่ในไลโซโซม (lysosome) ซึ่งมีกลุ่มของเอนไซม์ไลเปส และโปรตีเอส (proteases) ที่สามารถย่อย LDL ในสภาวะกรด ให้กรดอะมิโน และ คอเลสเตอรอล ออกมาในไซโทพลาซึม (cytoplasm) เซลล์จะนำคอเลสเตอรอลที่ได้มาบางส่วนไปใช้ในการสร้างสารประกอบต่างๆ ที่มี steroid nucleus อยู่ในโครงสร้าง และซ่อมแซมเยื่อเซลล์ (cellular membranes) ส่วนที่เหลือจะถูกเปลี่ยนเป็นรูปเอสเทอร์เพื่อเก็บสะสมไว้ โดยการกระตุ้นเอนไซม์ ACAT (acetyl-CoA : cholesteryl acyl transferase) ภายในไมโครโซม (microsome) ทำให้ในสภาวะปกติ เซลล์ต่าง ๆ มีการสะสมคอเลสเตอรอลเอาไว้ตลอดเวลาโดยกระบวนการนำเข้ามาของ LDL ดังกล่าว อย่างไรก็ตาม การสะสมของคอเลสเตอรอลภายในเซลล์นั้นมีการควบคุม เมื่อเซลล์ได้รับคอเลสเตอรอลเพียงพอแล้ว การทำงานของเอนไซม์ HMGCoA reductase (3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase) จะถูกยับยั้ง ทำให้การสร้างขึ้นมาใหม่ (*de novo* synthesis) ของคอเลสเตอรอลในเซลล์ลดลง ในขณะเดียวกัน ก็มีผลย้อนกลับไปลดจำนวนตัวรับ LDL บนผิวเซลล์ด้วย ทำให้การรับ LDL เข้ามาในเซลล์ชะลอลง เนื่องจาก คอเลสเตอรอลเหล่านี้ไปกด (suppress) การแสดงออกของยีน HMGCoA reductase, HMGCoA synthase และยีนตัวรับ LDL นั้นเอง (Brown and Goldstein, 1986) ซึ่งจากการศึกษาภายหลังพบว่า เกิดจากการกระตุ้น sterol regulatory element binding protein (SREBP) cleavage activating protein ภายในเซลล์ ให้อยู่ SREBP ซึ่งเป็นปัจจัย

ควบคุมการถอดรหัส (transcription factor) ของยีนทั้งสองชนิดดังกล่าว (Brown and Goldstein, 1997) ดังนั้นในสภาวะที่มี LDL สูงในกระแสเลือด เมื่อคอเลสเตอรอลถูกส่งเข้าสู่สมในเซลล์จนเกินความต้องการแล้ว การรับ LDL ผ่านทางตัวรับจะหยุดชะงักเนื่องจากตัวรับหยุดสร้าง ทำให้ยังมี LDL คั่งค้างอยู่มากในพลาสมา ซึ่งจะส่งผลให้มีการสะสมของคอเลสเตอรอลเพิ่มขึ้น และภาวะผิดปกติต่าง ๆ ตามมา ที่สำคัญได้แก่ ภาวะหลอดเลือดแดงแข็งตัว นอกจากการขนส่งผ่านทางตัวรับแล้ว พบว่า LDL ส่วนหนึ่งสามารถเข้าเซลล์ได้โดยอาศัย non-specific pinocytosis แบบ “bulk-phase pinocytosis” แต่ LDL ที่เข้าเซลล์โดยวิธีนี้จะไม่สามารถควบคุมการสร้างคอเลสเตอรอลในเซลล์ได้เลย (Havel *et al.*, 1980)

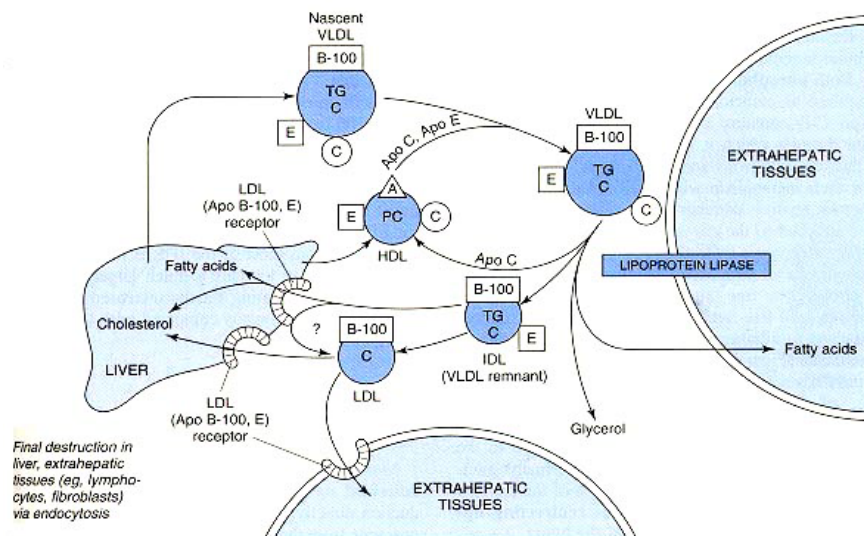
HDL เป็นไลโปโปรตีนที่ถูกสร้างขึ้นที่ตับและลำไส้เล็ก มีบทบาทสำคัญคือเป็นตัวให้ Apo C และ Apo E กับไลโปโปรตีนชนิดที่มีไตรกลีเซอไรด์สูง ๆ เพื่อไปกระตุ้นการทำงานของไลโปโปรตีนไลเปส และยังเป็นตัวนำคอเลสเตอรอลจากเนื้อเยื่อต่าง ๆ ทั่วร่างกายกลับเข้าสู่ตับเพื่อทำลาย หรือขับออกทางน้ำดี ซึ่งเป็นวิธีการขนถ่ายคอเลสเตอรอลทางหนึ่ง ที่ช่วยป้องกันไม่ให้คอเลสเตอรอลสะสมในร่างกายมากเกินไป HDL ที่เกิดขึ้นมีอยู่ด้วยกันหลายแบบ เริ่มจาก nascent HDL ที่เพิ่งถูกปลดปล่อยออกมาจากเซลล์ใหม่ ๆ จะประกอบด้วยฟอสโฟกลีเซอไรด์เป็นหลัก และมี Apo A-I, Apo A-II, Apo C และ Apo E เป็นส่วนประกอบ (จากลำไส้เล็กมี Apo A-I อย่างเดียว แต่จะรับ Apo C และ E มาจาก HDL ที่สังเคราะห์จากตับในภายหลัง) ต่อมา nascent HDL จะได้รับคอเลสเตอรอลอิสระจากทั้งไลโปโปรตีนต่าง ๆ และจากเซลล์ แล้วเปลี่ยนเป็นคอเลสเตอรอลเอสเทอร์โดยเอนไซม์ LCAT (lecithin: cholesteryl acyl transferase) ซึ่งเข้ามาจับที่ผิวของ HDL โดยการกระตุ้นของ Apo A-I คอเลสเตอรอลเอสเทอร์ที่เกิดขึ้นเป็นสารที่มีขี้ด้า และจะเคลื่อนตัวจากผิวนอกเข้าไปอยู่ใจกลางโมเลกุลของ HDL เป็นผลให้เกิดช่องว่างบนผิวทรงกลม ทำให้ HDL เหล่านี้ (HDL_3) สามารถจับคอเลสเตอรอลอิสระได้อีก กลายเป็น HDL_2 ที่มีขนาดเล็กลง และความหนาแน่นเพิ่มขึ้น ซึ่งในที่สุดจะถูกส่งเข้าตับเพื่อทำลายฟอสโฟกลีเซอไรด์ และไตรกลีเซอไรด์ และปลดปล่อยคอเลสเตอรอลอิสระออกไป โดยเอนไซม์ไลเปส ได้เป็น HDL_3 ที่ร่างกายสามารถนำกลับไปใช้ใหม่ได้อีก (รูปที่ 4) และเนื่องจากความสามารถในการกำจัด (scavenge) คอเลสเตอรอล

นอกจากร่างกายของ HDL ดังกล่าวนั้นเอง จึงทำให้ความสัมพันธ์ระหว่างระดับของไลโปโปรตีนชนิดนี้กับอุบัติการณ์ของโรคหลอดเลือดหัวใจเป็นไปในทางตรงกันข้าม โดยผู้ที่มียกระดับ HDL ในเลือดต่ำ จะมีโอกาสเสี่ยงต่อการเกิดภาวะหลอดเลือดแดงแข็งตัวสูงกว่าปกติ ในขณะที่ระดับ HDL ในเลือดสูง จะช่วยป้องกันภาวะดังกล่าวได้ (Patsh and Gotto, 1995)



Metabolic fate of chylomicrons. (A, apolipoprotein A; B-48, apolipoprotein B-48; ©, apolipoprotein C; E, apolipoprotein E; HDL, high-density lipoprotein; TG, triacylglycerol; C, cholesterol and cholesteryl ester; P, phospholipid; HL, hepatic lipase.) Only the predominant lipids are shown.

รูปที่ 2 เมแทบอลิซึมของไคโลไมครอน (Mayes, 1996)



Metabolic fate of very low density lipoproteins (VLDL) and production of low-density lipoproteins (LDL). (A, apolipoprotein A; B-100, apolipoprotein B-100; C, apolipoprotein C; E, apolipoprotein E; HDL, high-density lipoprotein; TG, triacylglycerol; IDL, intermediate-density lipoprotein; C, cholesterol and cholesteryl ester; P, phospholipid.) Only the predominant lipids are shown. It is possible that some IDL is also metabolized via the chylomicron remnant (apo E) receptor.

รูปที่ 3 เมแทบอลิซึมของ VLDL และ LDL (Mayes, 1996)

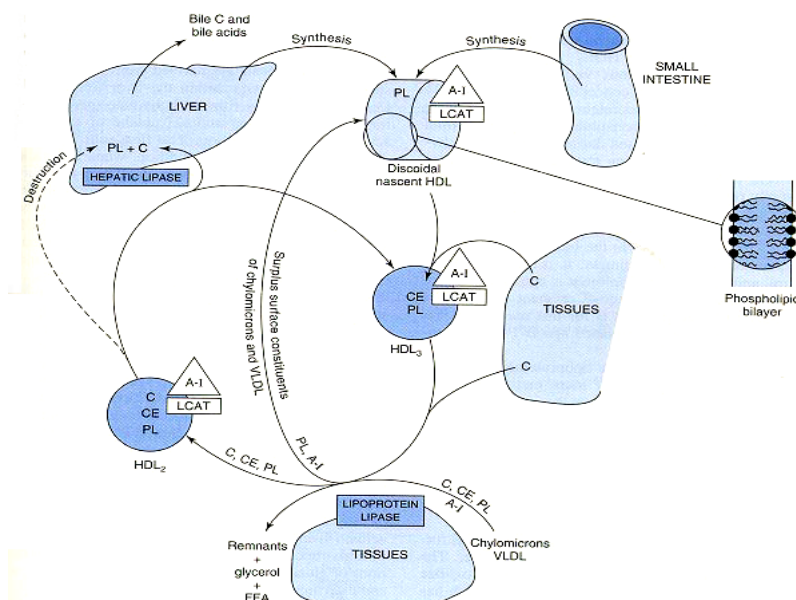


Figure 27-6. Metabolism of high-density lipoprotein (HDL). (LCAT, lecithin:cholesterol acyltransferase; C, cholesterol; CE, cholesteryl ester; PL, phospholipid; FFA, free fatty acids; A-1, apolipoprotein A-1.) The figure illustrates the role of the three enzymes hepatic lipase, LCAT, and lipoprotein lipase in the postulated HDL cycle for the transport of cholesterol from the tissues to the liver. HDL₂, HDL₃—see Table 27-2. In addition to triacylglycerol, hepatic lipase hydrolyzes phospholipid on the surface of HDL₂, releasing cholesterol for uptake into the liver, allowing formation of smaller and more dense HDL₃. Hepatic lipase activity is increased by androgens and decreased by estrogens, which may account for higher concentrations of plasma HDL₂ in women.

รูปที่ 4 เมแทบอลิซึมของ HDL (Mayes, 1996)

1.2 การเกิดออกซิเดชันของ LDL กับภาวะหลอดเลือดแดงแข็งตัว

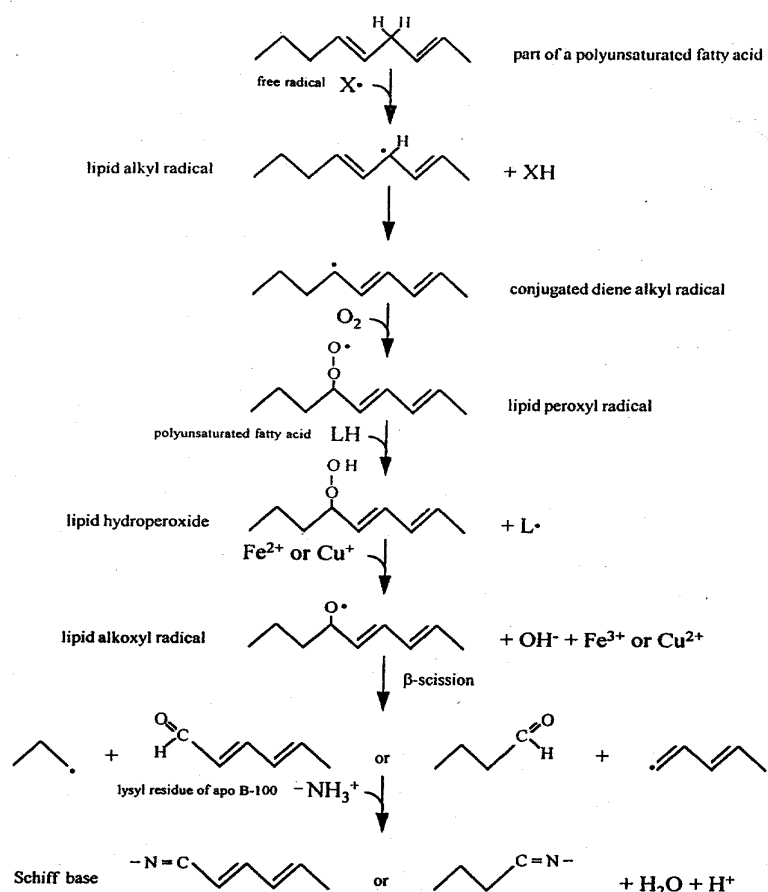
เป็นที่ทราบกันมานานแล้วว่า ผู้ที่มีระดับ LDL ในเลือดสูง มีโอกาสเกิดภาวะหลอดเลือดแดงแข็งตัวเนื่องจากการสะสมของคอเลสเตอรอลที่ผนังหลอดเลือด มากกว่าผู้ที่มี LDL อยู่ในระดับต่ำ (Kannel *et al.*, 1961 อ้างโดย Libby *et al.*, 2000) นอกจากนี้ ผลงานวิจัยของนักวิทยาศาสตร์ 2 กลุ่ม คือ Daniel Steinberg กับคณะ (1989) ซึ่งพบว่า LDL ที่ถูกออกซิไดส์สามารถกระตุ้นตัวรับ (scavenger receptor) บน macrophage ให้มาจับกินได้ (Steinbrecher *et al.*, 1984 อ้างโดย Chisolm and Steinberg, 2000) และ Guy Chisolm กับคณะ (1991) ซึ่งพบว่า เมื่อ LDL ถูกออกซิไดส์โดยอนุมูลอิสระสามารถทำลายเซลล์เอนโดทีเลียม และเซลล์กล้ามเนื้อเรียบในหลอดเลือดลงได้ดี (Morel *et al.*, 1984 อ้างโดย Chisolm and Steinberg, 2000) นับเป็นก้าวสำคัญนำไปสู่การค้นพบในเวลาต่อมาว่า โมเลกุล LDL ที่เปลี่ยนแปลงไปเนื่องจากถูกออกซิไดส์ เป็นสาเหตุหลักของการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ ของหลอดเลือด ตลอดจนการสะสมของ foam cell จนกลายเป็น atherosclerotic plaque อุดตันหลอดเลือดได้ในที่สุด (Chisolm and Steinberg, 2000)

จากการที่ LDL สามารถแทรกตัวผ่านช่องว่างระหว่างเซลล์เอนโดทีเลียมของเยื่อผนังหลอดเลือดชั้นในสุด (*tunica intima*) ได้ดี จึงทำให้ปกติภายในช่องว่างข้างใต้เนื้อเยื่อชั้นดังกล่าว (sub-endothelial space) มี LDL บางส่วนเข้าไปสะสมอยู่ (Montgomery *et al.*, 1996) ดังนั้น ในกรณีที่มีคอเลสเตอรอลในรูปของ LDL ปริมาณสูงอยู่ในกระแสเลือด ไม่ว่าจะเกิดจากความผิดปกติของการรับ LDL เข้าเซลล์ อย่างเช่นกรณี familial hypercholesterolemia ซึ่งมีตัวรับ LDL บนผิวเซลล์ต่ำกว่าปกติ (Hobbs *et al.*, 1992) และ familial defective apo B-100 ซึ่ง LDL มีความผิดปกติ เนื่องจาก apo B-100 ไม่มีตำแหน่งจับกับ LDL receptor (Borén *et al.*, 1998) เป็นต้น หรือ เนื่องจากรับประทานอาหารที่มีคอเลสเตอรอลหรือไขมันอิ่มตัว (saturated fat) ในปริมาณมากเป็นประจำ (McNamara, 2000) จะมีโอกาสพบ LDL ภายใน intima มากกว่าปกติ เมื่อเข้ามาแล้ว LDL เหล่านี้จะถูกกักเก็บอยู่ในร่างแหของ proteoglycan ภายในผนังหลอดเลือด โดยอาศัยการจับกันระหว่างประจุบวกบนกรดอะมิโนไลซีน (lysyl residue) และ อาร์จินีน (argininyl residue) ของ Apo B-100 กับประจุลบของ glycosaminoglycans ที่เป็นองค์ประกอบของ proteoglycan (Camejo *et al.*, 1998) LDL ที่สะสมอยู่นี้ ต่อมาจะ

ถูกออกซิไดส์ โดยสารออกซิไดส์ในกลุ่ม “reactive oxygen species (ROS)” ซึ่งอาจเป็น H_2O_2 (hydrogen peroxide), HOCl (hypochlorite) หรือ อนุมูลอิสระต่าง ๆ เช่น O_2^- (superoxide anion radical) หรือ OH^\bullet (hydroxyl radical) เป็นต้น ที่เกิดจากกิจกรรมต่าง ๆ ของเซลล์ภายในผนังหลอดเลือด ไม่ว่าจะเป็นเซลล์เอนโดทีเลียม เซลล์กล้ามเนื้อเรียบของผนังหลอดเลือด เซลล์เม็ดเลือดขาวทั้งชนิด macrophage และ lymphocyte เป็นต้น (Leake, 1998) นอกจากนี้ ยังมีรายงานว่าเอนไซม์ 15-lipoxygenase (Ylä-Herttuala *et al.*, 1990 อ้างโดย Witztum and Steinberg, 1991) และ myeloperoxidase (Heinecke, 1999 อ้างโดย Libby *et al.*, 2000) ที่พบภายใน intima อาจเกี่ยวข้องกับการกระตุ้นออกซิเดชัน LDL ภายในเนื้อเยื่อดังกล่าวด้วย

กระบวนการออกซิเดชันของ LDL ที่เกิดขึ้นภายในหลอดเลือดนั้น เข้าใจว่าเกิดจากบริเวณพันธะคู่ในโมเลกุลของกรดไขมันไม่อิ่มตัว (polyunsaturated fatty acid) ที่เป็นองค์ประกอบของทั้งไตรกลีเซอไรด์ คอเลสเตอรอลเอสเทอร์ และฟอสโฟกลีเซอไรด์ ภายในโมเลกุล LDL ถูกออกซิไดส์โดยปฏิกิริยา “lipid peroxidation” ซึ่งมีลักษณะเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain reaction) เนื่องจากมีตัวกลางเป็นอนุมูลอิสระที่จะพยายามดึงอิเล็กตรอนจากกรดไขมันอื่น ๆ ที่อยู่ใกล้เคียง ต่อเนื่องกันไปเรื่อย ๆ โดยในปฏิกิริยาเริ่มต้น พันธะคู่ของโมเลกุลกรดไขมันจะถูกออกซิไดส์จากสาร ROS ซึ่งยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัดในปัจจุบัน (Chisolm and Steinberg, 2000) ทำให้สูญเสียอนุมูล hydrogen (H^\bullet) ไป เกิดเป็นอนุมูล lipid alkyl (L^\bullet) ซึ่งจะมีการปรับเปลี่ยนโครงสร้างใหม่ให้อยู่ในรูปของ conjugated diene ที่มีความเสถียรเพิ่มขึ้น ในปฏิกิริยาต่อ ๆ มาซึ่งจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วและต่อเนื่อง สารประกอบ conjugated diene ที่เกิดขึ้น จะรับโมเลกุลออกซิเจนอิสระ (O_2) เข้าไป เปลี่ยนเป็นอนุมูล lipid peroxy (LOO^\bullet) ซึ่งเป็นสารออกซิไดส์ที่ไวมาก จะไปดึงอิเล็กตรอนจากโมเลกุลกรดไขมันอื่น ๆ ที่อยู่ใกล้เคียง ได้เป็น lipid hydroperoxide (LOOH) ซึ่งปกติค่อนข้างเสถียร แต่ภายใน intima ซึ่งมี Fe^{2+} และ Cu^{2+} อยู่ด้วย (Kritharides *et al.*, 1995 อ้างโดย Abuja *et al.*, 1999) สารประกอบนี้จะสลายตัวต่อไปได้เป็นสารประกอบอัลดีไฮด์ต่าง ๆ (aldehydes) เช่น malondialdehyde (MDA), 4-hydroxynonenal และ hexanal เป็นต้น (Leake, 1998) ดังแสดงในรูปที่ 5

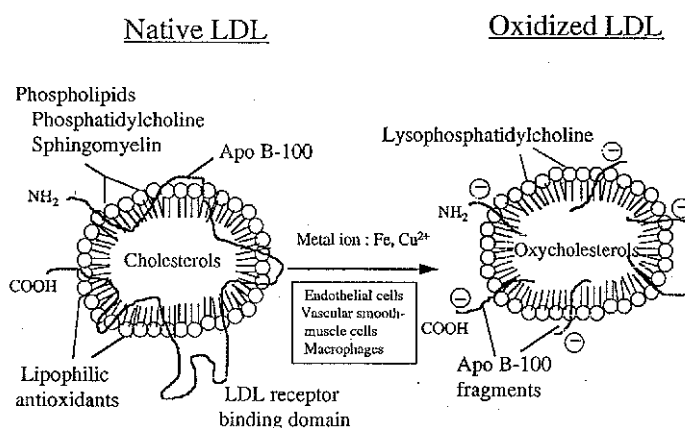
นอกจากการเปลี่ยนแปลงของกรดไขมันดังที่กล่าวมาแล้ว โปรตีน Apo B-100 บางส่วนก็เกิดการแตกหัก (fragmentation) เสียหายด้วย ขณะที่ LDL ถูกออกซิไดส์ (Fong *et al.*, 1987 อ้างโดย Steinberg *et al.*, 1989) นอกจากนี้ สารประกอบอัลดีไฮด์ต่าง ๆ ที่เป็นผลผลิตจากการออกซิเดชันไขมัน ยังเข้าเชื่อมต่อ (cross-link) กับหมู่อะมิโน ($\epsilon\text{-NH}_2$ group) ของไลซีนบนสายเพปไทด์ของ Apo B-100 ทั้งที่แตกหักและไม่แตกหัก เกิดเป็นสารประกอบ Schiff's base ดังแสดงในรูปที่ 5 ทำให้โปรตีนดังกล่าวมีประจุบวกลดลง (Steinbrecher, 1987) เป็นผลให้โมเลกุลของ LDL ที่ถูกออกซิไดส์ มีขั้วลบเพิ่มขึ้น (รูปที่ 6) นอกจากนี้ LDL ที่ถูกออกซิไดส์ยังมีคุณสมบัติอื่น ๆ ที่เปลี่ยนแปลงไปจาก LDL ปกติ ดังแสดงไว้ในตารางที่ 3



รูปที่ 5 ขั้นตอนของ lipid peroxidation ในโมเลกุล LDL (Leake, 1998)

ตารางที่ 3 การเปลี่ยนแปลงบางประการของ LDL ที่ถูกออกซิไดส์ (Steinberg *et al.*, 1989)

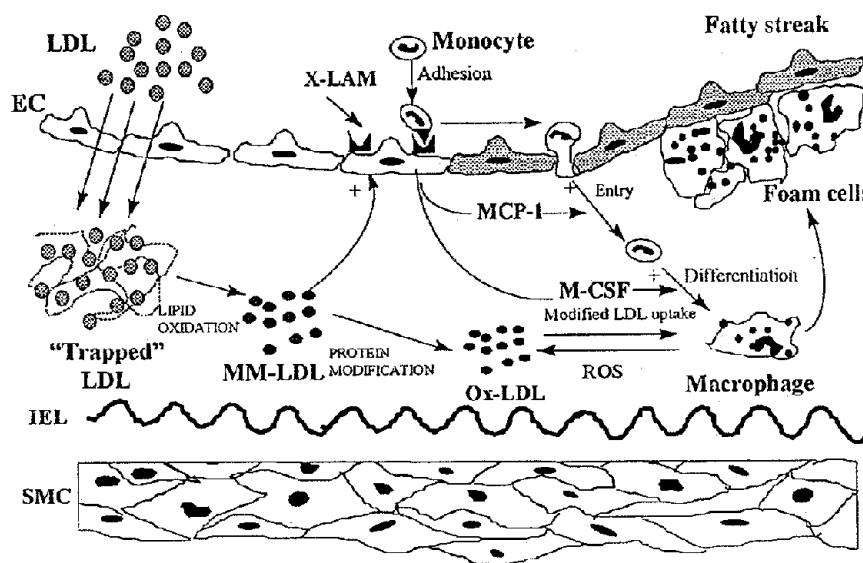
- Increased rate uptake and degradation through the acetyl LDL or "scavenger" receptor, leading to foam-cell formation
- Reduced rate of uptake through the LDL receptor
- Increased negative charge
- Increased density (to as high as 1.07 or 1.08)
- Increased lysolecithin content
- Decreased content of polyunsaturated fatty acid because of oxidation
- Increased content of oxidized forms of cholesterol
- Fragmentation of apoprotein B-100; decreased histidine, lysine, and proline content
- Chemotactic activity for circulating human monocytes
- Cytotoxicity (in absence of serum)



Schematic representation of the conversion of native LDL to oxidized LDL and the accompanying physicochemical changes that occur. Indeed, oxidized LDL exerted a myriad of effects that would be atherogenic if they occurred in vivo, the major of which were not duplicated by native, unoxidized LDL.

รูปที่ 6 เปรียบเทียบลักษณะ LDL ปกติ กับ LDL ที่ถูกออกซิไดส์ (Cox and Cohen, 1996)

จากการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น ทำให้ Apo B-100 ไม่สามารถเข้าจับจำเพาะกับตัวรับ LDL ได้ ดังนั้น LDL ที่ถูกออกซิไดส์เหล่านี้จะไม่ถูกรับเข้าเซลล์ กลายเป็นสิ่งแปลกปลอมที่ร่างกายต้องกำจัดทิ้ง โดยไปกระตุ้น macrophage ทั้งที่มาจาก monocyte ในกระแสเลือด และจากเนื้อเยื่อชั้นกลาง (media) ของผนังหลอดเลือด (Aqel *et al.*, 1984 อ้างโดย Steinberg *et al.*, 1989) ให้มาจับกลืนกิน ผ่านทางตัวรับ (scavenger receptor) ที่สำคัญ 2 ชนิด คือ CD 36 (Endemann *et al.*, 1993) และ SR-A (Freeman *et al.*, 1991) คอเลสเตอรอลอิสระบางส่วนที่ได้จากการย่อยออกซิไดส์ LDL ภายใน macrophage จะออกสู่กระแสเลือดผ่านทางโปรตีนขนส่งที่ผิวเซลล์ “ABC-1 transporter” แล้วถูก HDL รับกลับคืนไป โดยกระบวนการ reverse cholesterol transport (Remaley *et al.*, 1999) คอเลสเตอรอลส่วนที่เหลือซึ่งส่วนใหญ่อยู่ในรูปเอสเทอร์ จะกลายเป็นหยดน้ำมันสะสมอยู่ภายในไซโทพลาสซึม ทำให้ macrophage กลายสภาพเป็น foam cell ซึ่งไม่เคลื่อนที่และเกาะติดอยู่ที่ข้างในผนังหลอดเลือด (รูปที่ 7) จนนานวันเข้าจะสะสมเพิ่มปริมาณขึ้นเรื่อย ๆ กลายเป็นปื้นหนาอุดตันหลอดเลือดได้ในที่สุด หลักฐานทางเนื้อเยื่อวิทยาที่สำคัญซึ่งสนับสนุนว่า ออกซิไดส์ LDL เกี่ยวข้องกับการเกิด atherosclerotic plaque ได้แก่ ผลการทดลองของ Palinski และคณะ (1989) ซึ่งย้อมสีเนื้อเยื่อบริเวณต่าง ๆ ของผนังด้านในหลอดเลือดหัวใจ (aorta) ของกระต่ายสายพันธุ์ Watanabe ที่มีไขมันในกระแสเลือดสูงเนื่องจากขาดยีนสำหรับสร้างตัวรับ LDL บนผิวเซลล์ (Watanabe heritable hyperlipidemic rabbit) โดยอาศัยเทคนิค immunostaining ซึ่งพบ LDL ที่ถูกออกซิไดส์เป็นจำนวนมากเฉพาะในบริเวณ atherosclerotic plaque เท่านั้น และต่อมาสามารถสกัดออกซิไดส์ LDL และสารประกอบอัลดีไฮด์ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยา lipid peroxidation ออกมาจากเนื้อเยื่อบริเวณ atherosclerotic plaque ทั้งในคนและในกระต่ายได้เป็นจำนวนมาก (Ylä-Herttuala *et al.*, 1989) จากทั้งหมดที่กล่าวมาแล้วแสดงให้เห็นว่า การเกิดออกซิเดชันของ LDL ภายในหลอดเลือด เป็นสาเหตุสำคัญที่นำไปสู่ภาวะหลอดเลือดแดงแข็งตัว ดังนั้นนอกเหนือจากการรับประทานอาหารที่มีไขมันต่ำแล้ว การดูแลสุขภาพด้วยสารต้านออกซิเดชันจึงเป็นที่ยอมรับกันทั่วไปในขณะนี้ว่า ช่วยป้องกันภาวะดังกล่าวได้ (Parthasayathy *et al.*, 1999a)



Formation of the fatty streak. LDL is oxidized to MM-LDL, which stimulates the formation of monocyte binding molecules (X-LAM), MCP-1, and MCSF. These causes entry and maturation of monocytes, which then further oxidize LDL and form foam cells.

รูปที่ 7 ขั้นตอนการเกิด atherosclerotic plaque (Berliner and Heinecke, 1996)

1.3 สารต้านออกซิเดชันของ LDL

สารที่แสดงความสามารถต่อต้าน หรือ ยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของ LDL มีอยู่ด้วยกันหลายชนิด ดังตัวอย่างที่รวบรวมไว้โดย Parthasarathy และคณะ (1999a) ในตารางที่ 4 สารเหล่านี้มีทั้งที่เป็น ฮอร์โมน วิตามิน เอนไซม์ สารสังเคราะห์และยา ตลอดจนสารสกัดจากธรรมชาติ โดยเฉพาะสารสกัดจากพืช ผัก และผลไม้ ซึ่งนับวันจะได้รับความสนใจเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ เนื่องจากกระแสความคิดของการกลับสู่ธรรมชาติ (back to the nature) และความตื่นตัวในการดูแลสุขภาพตนเองของประชากรทั่วโลก (Parthasarathy *et al.*, 1999b) ดังนั้น ในปัจจุบันจึงปรากฏรายงานการค้นพบสารสกัดจากพืชพรรณนานาชนิดที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของ LDL โดย ROS ต่าง ๆ เช่น สารสกัดจากผล elderberry (*Sambucus nigra*) (Abuja *et al.*, 1998) สารสกัดจากผลแอปเปิ้ล (Pearson *et al.*, 1999) และสารสกัดจากผล hawthorn (*Crataegus* sp.) (Zhang *et al.*, 2001) สามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของ LDL โดยอนุมูล OH^\bullet จากการ

เหนี่ยวนำของ Cu^{2+} ในขณะที่ สารสกัดจากใบแปะก๊วย (*Ginkgo biloba*) (Maitra *et al.*, 1995) และสารสกัดจากถั่วเหลือง (*Glycine max*) (Kerry and Abbey, 1998) สามารถยับยั้งอนุมูล peroxy จากการแตกตัวของ α, α' -azobutyramidine dihydrochloride (AAPH) และสารสกัดจากราก licorice (*Glycyrrhiza glabra*) ซึ่งต้านออกซิเดชันของ LDL โดย ROS จาก macrophage ที่ถูกกระตุ้น ไล้ดี (Aviran and Fuhrman, 1997) เป็นต้น สารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติเหล่านี้ ส่วนใหญ่มีโครงสร้างเป็นสารประกอบฟีนอล (phenolic compounds) และมีอยู่จำนวนมากที่จัดเป็นแบบโพลีฟีนอล (polyphenol) ซึ่งประกอบด้วยหมู่ aromatic hydroxyl (Ar-OH) ตั้งแต่ 2 หมู่ขึ้นไป (รูปที่ 8) หมู่เคมีเหล่านี้มีบทบาทสำคัญในการกำจัดอนุมูลอิสระต่าง ๆ (free radical scavenging) ไม่ให้ไปกระตุ้นหรือก่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ โดยการให้อนุมูล H^{\bullet} แก่อนุมูลอิสระเหล่านั้น (Van Acker *et al.*, 2000) ตัวอย่างเช่น สารสกัดจากดอก *Helichrysum arenarium* (L.) Moench ซึ่งในประเทศฮังการีมีการนำมาใช้เป็นยาพื้นบ้านสำหรับบำรุงตับ และขับน้ำดี มาช้านาน สารสกัดนี้ประกอบด้วยโพลีฟีนอลจำนวนมาก ซึ่งสามารถให้อนุมูล H^{\bullet} แก่อนุมูล DPPH $^{\bullet}$ (1, 1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl radical) และอนุมูล OH^{\bullet} จาก H_2O_2 ในปฏิกิริยา Fenton (Fenton's reaction) (Czinner *et al.*, 2000) เป็นต้น นอกจากนี้ สารประกอบโพลีฟีนอลที่มีโครงสร้างของ *ortho*-dihydroxyl phenol อยู่ในโมเลกุล ยังสามารถยับยั้งการเกิดอนุมูล OH^{\bullet} ในปฏิกิริยาที่มีอนุมูลโลหะทรานซิชัน (transition metal) เช่น Fe^{2+} และ Cu^{2+} เป็นตัวเหนี่ยวนำ (metal-induced lipid peroxidation) โดยการเข้าจับ (chelate) กับโลหะดังกล่าว เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน (complex) ใ้ได้อีกด้วย (Sánchez-Moreno *et al.*, 2000) อย่างไรก็ตาม ความสามารถในการจับโลหะของสารประกอบโพลีฟีนอลไม่ได้ขึ้นกับสัดส่วนของจำนวนหมู่ *ortho*-dihydroxyl บนวงแหวนโครงสร้างกับจำนวนอนุมูลโลหะเท่านั้น (Morel *et al.*, 1998) แต่ pH ก็เป็นปัจจัยสำคัญด้วย จากผลการทดลองของ Satué-Gracia และคณะ (1997) พบว่า การจับ Cu^{2+} ของ anthocyanins 2 ชนิด คือ malvidin กับ delphinidin ที่ pH 2 ไม่สามารถเกิดขึ้นได้ เนื่องจากหมู่ hydroxyl บนวงแหวนบี (B-ring) ของ anthocyanins ดังกล่าว ไม่แตกตัว แต่ที่ pH 10 หมู่ดังกล่าวสามารถแตกตัวได้หมด จึงทำให้จับ Cu^{2+} ได้ดี

ในขณะที่ pH 7.4 หมู่ hydroxyl เหล่านี้ แยกตัวได้เพียงบางส่วน จึงทำให้การจับกันระหว่าง anthocyanins ทั้งสองชนิด กับ Cu^{2+} เกิดขึ้นไม่ดีเท่ากับ ที่ pH 10

สารประกอบฟลาโวนอยด์ต่าง ๆ ที่มีอยู่หลากหลายชนิดในพืชทั่วไป ตัวอย่างเช่น proanthocyanidins ในเมล็ดองุ่น (Yamakoshi *et al.*, 1999) quercetin ในหัวหอม (McAnlis *et al.*, 1999) luteolin ในต้น artichoke (Brown and Rice-Evans, 1998) glabridin ในรากของชะเอม (Belinky *et al.*, 1998) epicatechins ในใบชาเขียว (*Chamelia sinensis*) (Ishikawa *et al.*, 1997) phloridzin ในผลแอปเปิ้ล (Ridgway *et al.*, 1997) genistein และ daidzein ในถั่วเหลือง (Kapiotis *et al.*, 1997) เป็นต้น จัดเป็นสารโพลีฟีนอลกลุ่มใหญ่ที่สุดจากพืชพรรณธรรมชาติที่มีการออกฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน LDL ในหลอดทดลองได้ผลดี โดยมีค่า IC_{50} (concentrations that inhibit oxidation by 50%) โดยเฉลี่ยอยู่ในระดับหน่วย μM (Leake, 1998) นอกจากความสามารถกำจัดอนุมูลอิสระต่าง ๆ ซึ่งทั้งนี้ขึ้นกับจำนวนหมู่ hydroxyl ในโมเลกุลแล้ว (Rice-Evans *et al.*, 1996) สารประกอบฟลาโวนอยด์ยังมีคุณสมบัติช่วยชะลอการสูญเสียวิตามินอีซึ่งเป็นสารต้านออกซิเดชันสำคัญที่พบอยู่ในโมเลกุล LDL (Esterbauer *et al.*, 1991) โดยคอยเปลี่ยนอนุมูล α -tocopheroxyl ที่เกิดขึ้นในระหว่างปฏิกิริยาออกซิเดชันของ LDL ให้กลับมาเป็น α -tocopherol (Leake, 2001) จากการศึกษาฤทธิ์ของสารประกอบฟลาโวนอยด์ 4 ชนิด ได้แก่ kempherol, morin, myricetin และ quercetin ต่อการเกิดออกซิเดชันของ LDL โดยใช้ Cu^{2+} และใช้ AAPH เป็นสารก่อปฏิกิริยา พบว่า สารสกัดทั้ง 4 ชนิดสามารถยับยั้งการลดลงของปริมาณวิตามินอีใน LDL ระหว่างที่เกิดปฏิกิริยาทั้งสองแบบได้ดี โดย myricetin และ quercetin ออกฤทธิ์ได้ดีกว่า kempherol และ morin ซึ่งเป็นผลมาจากความแตกต่างของจำนวน และตำแหน่งของหมู่ hydroxyl โดยเฉพาะบนวงแหวนบี ของโครงสร้างฟลาโวนอยด์ชนิดนั้น ๆ รวมทั้งความคงตัวของสารแต่ละชนิดในบัฟเฟอร์ (sodium phosphate buffer) ที่ใช้ทดสอบด้วย (Zhu *et al.*, 2000)

นอกจากฟลาโวนอยด์แล้ว ยังมีสารโพลีฟีนอลกลุ่มอื่น ๆ จากพืชหลายชนิด ที่มีบทบาทยับยั้งการทำปฏิกิริยาออกซิเดชันกับ LDL ของ ROS เช่น จากการศึกษาของ Huong และคณะ (1998) พบว่า สารประกอบ saponins ที่เป็นองค์ประกอบหลักของโสม (ginseng) 2 ชนิด คือ Vietnamese ginseng (*Panax vietnamensis*) และ *Panax ginseng* ที่

ความเข้มข้น 0.05-0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถต้านออกซิเดชันโดยมี Fe^{2+} กับวิตามินซี และมี Fe^{2+} กับ H_2O_2 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ได้ผลดี นอกจากนี้ Frémont และคณะ (1999) ทำการทดลองเปรียบเทียบผลของ resveratrol (3, 4', 5, trihydroxy stilbene) ซึ่งเป็นสาร phytoalexin ชนิดหนึ่ง ที่พบมากในไวน์แดงบางชนิด (Belguendouz *et al.*, 1997) กับฟลาโวนอยด์ 3 ชนิด คือ catechin, epicatechin และ quercetin พบว่า resveratrol ต้านออกซิเดชันของ LDL หมู (porcine LDL) โดย Cu^{2+} ได้ดีกว่าฟลาโวนอยด์ทั้ง 3 ชนิด แต่ต้านออกซิเดชันโดย AAPH ได้ไม่ดีเท่ากับฟลาโวนอยด์ แสดงว่า สารโพลีฟีนอลชนิดนี้สามารถจับ Cu^{2+} ได้ดี แต่มีฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระน้อยกว่าฟลาโวนอยด์ นอกจากนี้ ยังมีรายงานว่าสารสกัดจากเหง้า (rhizome) ของขมิ้นชัน (*Curcuma longa*) (tumeric hydroalcoholic extract) ซึ่งมี curcumin (diferulomethane) เป็นองค์ประกอบหลัก สามารถต้านออกซิเดชันโดย Cu^{2+} ทั้งใน LDL ของคน (Ramirez-Tortosa *et al.*, 1998 อ้างโดย Ramirez-Tortosa *et al.*, 1999) และใน LDL ของกระต่าย (Ramirez-Tortosa *et al.*, 1999) และเมื่อนำสารสกัดดังกล่าวมาป้อนให้กระต่ายซึ่งกินอาหารที่มีปริมาณคอเลสเตอรอลสูง (1.3% ของน้ำหนักอาหาร) ในปริมาณ 1.66 มิลลิกรัม และ 3.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัว พบว่า กระต่ายที่ได้รับสารสกัดขมิ้นชันทั้งสองกลุ่ม มีระดับคอเลสเตอรอลในกระแสเลือดลดลง นอกจากนี้ กระต่ายกลุ่มที่ได้รับสารสกัดในปริมาณต่ำ (1.66 มิลลิกรัม) ยังมีมีระดับฟอสฟอกลีเซอไรด์ และไตรกลีเซอไรด์ในเลือดต่ำกว่า กระต่ายที่ไม่ได้รับสารสกัด รวมทั้ง LDL ที่แยกได้จากเลือดกระต่ายที่ได้รับสารสกัดในปริมาณดังกล่าว ยังมีคุณสมบัติถูกออกซิไดส์ได้ยากขึ้นด้วย (Ramirez-Tortosa *et al.*, 1999) เป็นต้น

สำหรับ สารต้านออกซิเดชันจากพืชในตระกูล Garcinia นั้น ยังมีการศึกษากันไม่มากนัก จากรายงานของ Yoshikawa และคณะ ในปี ค.ศ. 1994 พบว่า สารสกัดเมธานอล (methanol extract) ของ เปลือกมังคุด (*Garcinia mangostana* L.) ซึ่งประกอบด้วยแซนโทน สำคัญ 2 ชนิด คือ α -mangostin กับ γ -mangostin สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ดีกว่า BHA (butylated hydroxyanisole) และวิตามินอี เมื่อทดสอบด้วยวิธี ferric thiocyanate (FTC method) และต่อมา Williams กับคณะ (1995) ได้นำ Mangostin มาทดสอบฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของ LDL โดยใช้ Cu^{2+} และใช้ AAPH เป็นสาร

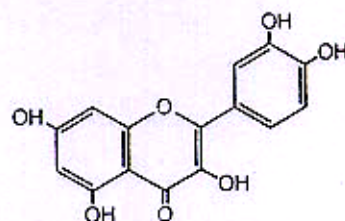
ก่อนปฏิกิริยา พบว่า สามารถยับยั้งปฏิกิริยาทั้งสองแบบได้ดี และเมื่อไม่นานมานี้ Mahabusarakam และคณะ (2000) ได้สังเคราะห์อนุพันธ์ต่าง ๆ ของ Mangostin ขึ้น แล้วนำมาทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันทั้งของ LDL และพลาสมา โดยใช้ Cu^{2+} และ AAPH เช่นเดียวกับ Williams และคณะ (1995) พบว่า สารอนุพันธ์ของ Mangostin ที่ได้จากการแทนที่หมู่ hydroxyl ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 (C_3) และตำแหน่งที่ 4 (C_4) ของโครงสร้างโมเลกุล ด้วยหมู่ methyl, acetate, propane diol และ nitrile มีฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันดีกว่า Mangostin แต่สารอนุพันธ์ที่มีหมู่ aminoethyl สามารถกระตุ้นฤทธิ์ต้านออกซิเดชันได้เพิ่มขึ้น ซึ่งอาจเกี่ยวข้องกับความสามารถละลายน้ำของสารอนุพันธ์ Mangostin ชนิดนี้ นอกจากสารประกอบแซนโทนจากเปลือกมังคุดแล้ว ยังมีรายงานว่า แซนโทนชนิดต่าง ๆ ที่แยกได้จากเนื้อไม้ของต้น *G. subelliptica* สามารถยับยั้งอนุมูล DPPH^{\bullet} และ O_2^- ในหลอดทดลองได้ดี (Minami *et al.*, 1994, 1995, 1996) รวมทั้ง สารสกัดเมธานอลจากใบ ราก และ เปลือก ของส้มแขก (*G. atroviridis*) ซึ่งทั้งหมดแสดงฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของ linoleic acid กับ Fe^{2+} ได้ผลดีกว่าวิตามินอี (Mackeen *et al.*, 2000)

ตารางที่ 4 สารต้านออกซิเดชันของ LDL (Parthasarathy *et al.*, 1999a)

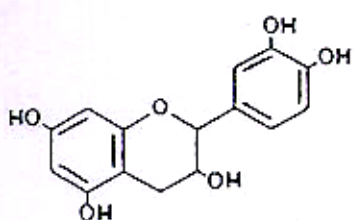
Group	Antioxidants
Phenols	Tocopherol derivatives, probucol, BHT, butylated hydroxy anisole, glabridin, quercetin, catechin, propyl gallate, tyrosine, caffeic acid, boldine, ubiquinol, nordihydroguaiaretic acid, polyphenols from plant extracts, green tea extracts, red wine extracts, licorice extracts, onion extracts
Thiols	Cysteine, glutathione, S-ally cysteine, N-acetyl cystein, lipoic acid
Metal chelators	EDTA, pyrrolidine diamine thiocarbamide (PDTC), lazaroids
Hormones and antihormones	Estradiol, esterified estradiol, phytoestrogens, RU-486, onapristone, tamoxifen, ethinylestradiol, iodotyrosines, thyronines, iodothyroacetic acid, thyronimetic analogs (Chomard <i>et al.</i> , 1998)
Vitamins	Vitamin E, Vitamin C, carotenoids, riboflavin
Ca ⁺ -channel blockers	Nifedipine, captopril, carvediol
Miscellaneous	DPPD, MUFA, ebselen, spintraps, nitric oxide, selenium, statins, phenothiazine derivatives, thiocarbonates, amino acids (specifically L-arginine and L-lysine), cigarette smoke extract, leuteolin-rich artichoke extracts, uric acid, lipoxygenase inhibitors, fibrates, 3-hydroxy-3-methyl glutaryl coenzyme A (HMG CoA) reductase inhibitors, troglitazone (Crowford <i>et al.</i> , 1998), ticlopidine (Lapenna <i>et al.</i> , 1998), gliclazide (Richard <i>et al.</i> , 2000), angelica (Xiaohong <i>et al.</i> , 2000)
Antioxidant enzymes	Catalase, SOD, paraoxanase, platelet activating factor-acetyl hydrolase, phospholipid-glutathione peroxidase
Synthetic antioxidants	Innumerable synthetic antioxidants have been reported to inhibit the oxidation of LDL



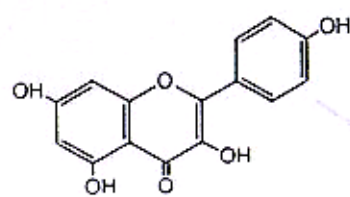
myricetin



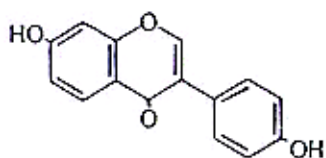
quercetin



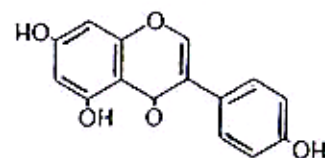
catechin



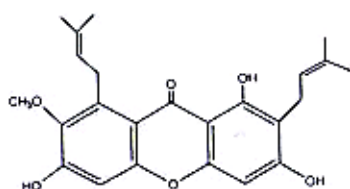
kempherol



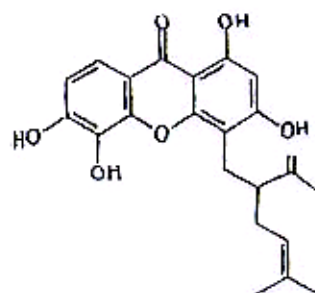
daidzein



genistein



Mangostin



Calycinoxanthone D

รูปที่ 8 โครงสร้างของสารโพลีฟีนอลบางชนิด ที่พบในพืช

1.4 มะพุด

มะพุด (*Garcinia dulcis* Kurz) เป็นไม้ยืนต้นอยู่ในวงศ์ Guttiferae เช่นเดียวกับ มังคุด ชะมวง นวล (ชะแมง) และพะวา เป็นต้น มะพุด จัดเป็นไม้ผลทรงพุ่มใหญ่ สูงราว 15 เมตร แตกกิ่งก้านออกสองข้างของลำต้นเป็นนัยคล้ายกับมังคุด เปลือกลำต้นหนา สีออกคล้ำ กิ่งค่อนข้างเหนียว ใบสีเขียวเข้มหนา มีลักษณะเป็นรูปไข่ที่มีส่วนปลายแหลมคล้ายหอก ใบอ่อนแตกเป็นคู่สลับกันไปจากโคนถึงปลายกิ่ง ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด โดยจะเริ่มผลิตดอกหลังจากงอกแล้ว 5-6 ปี ดอกจะออกเป็นช่อเล็ก ๆ ตามกิ่ง กิ่งเล็ก หนาสีเขียวอมเหลือง ผลขนาดเท่าผลแอปเปิ้ล มีทั้งที่เป็นผลเดี่ยวและเป็นพวง ผลที่ยังอ่อนอยู่จะมีสีเขียวอ่อน ทรงกลมป้อม ผิวค่อนข้างหนาเป็นมัน ผลสุกมีสีเหลืองออก แสดซึ่งจะเข้มขึ้นเมื่อผลแก่จัด เนื้อในของผลมะพุดมีรสหวานอมเปรี้ยว ลักษณะเป็น เส้นใยนุ่มสีเหลืองประกบกันคล้ายกลีบ และมีเมล็ดรูปร่างแบน ๆ ขนาดเท่าเล็บมือ จำนวน 4-5 เม็ด ฝังอยู่ภายใน มะพุดชอบดินร่วนเหนียวริมน้ำ สามารถขึ้นได้ดีใต้ร่มใบ ดังนั้น จึงพบไม้ชนิดนี้ได้ตามป่าดงดิบแล้ง และป่าโปร่ง ทั่วไปในแถบเอเชีย ตะวันออกเฉียงใต้ (ประเสริฐ สองเมือง, 2538; วุฒิ วุฒิธรรมเวช, 2540) ลักษณะทั่วไป ของต้น ใบ และผลของมะพุด ดังแสดงในรูปที่ 9

ในตำราสมุนไพรไทยระบุว่า สารสกัดจากส่วนต่างๆ ของมะพุดสามารถใช้รักษา อาการผดผกต่าง ๆ ได้ดี เช่น เปลือกลำต้นมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อ (มาโนช วามานนท์ และ เพ็ญญา ทรัพย์เจริญ, 2540) ในขณะที่ น้ำคั้นจากผลมีสรรพคุณ แก้ไอ ขับเสมหะ แก้เจ็บคอ และแก้เลือดออกตามไรฟัน ส่วนน้ำคั้นจากราก ใช้ลดไข้ แก้ร้อนใน และถอน พิษฝืดดำแดง (วุฒิ วุฒิธรรมเวช, 2540) นอกจากนี้ ในประเทศอินโดนีเซียยังมีการใช้ ประโยชน์จากสารสกัดของใบ และเมล็ดมะพุด ในการรักษาโรคทางทุม ต่อมน้ำเหลือง อักเสบ และคอพอก (struma) อีกด้วย (Kasahara and Henmi, 1986)

จากผลการศึกษาร่วมกันของสารสกัดจากส่วนต่าง ๆ ของมะพุด พบว่า มีสารประกอบกลุ่มแซนโทน และฟลาโวนอยด์อยู่หลายชนิด ดังนี้ เริ่มต้นในปี ค.ศ. 1976 Ansari และคณะ ได้แยกสารประกอบ biflavonoids และ flavonone-chromone ออกมาจากใบมะพุด ในอีกหลายปีต่อมา Harrison และคณะ (1994) อ้างโดย Peres และ คณะ (2000) และ Chanmahastien (1996) สามารถแยกสารในกลุ่มไตรเทอร์ปีนอยด์

(triterpenoids) คือ oleanolic acid กับสารผสมกลุ่มสเตียรอยด์ (steroids) คือ β -sitosterol กับ stigmasterol และสารอนุพันธ์แซนโทน 5 ชนิด ได้แก่ 1,7-dihydroxyxanthone, 12b-hydroxy-des-D-garcigerrin A, 1-O-methylsymphoxanthone, symphoxanthone และ garciniaxanthone E ได้จากสารสกัดคลอโรฟอร์ม (chloroform extract) ของเปลือก ลำต้นมะพุด ซึ่งภายหลังพบว่า สารประกอบแซนโทนทั้ง 5 ชนิดดังกล่าว สามารถยับยั้ง การเจริญเติบโตของเชื้อ *Plasmodium falciparum* ที่ก่อให้เกิดโรคไข้จับสั่น (malaria) ได้ ผลดี โดยมีค่า IC_{50} ระหว่าง 0.96 ถึง 3.88 $\mu\text{g/ml}$ (Likhitwitayawuid *et al.*, 1998b) Inuma และคณะ (1996a) รายงานว่า พบสารแซนโทนถึง 14 ชนิด ทั้งในเปลือกลำต้น และรากของมะพุด และยังสามารถแยกสารชนิดใหม่ออกมาได้ถึง 5 ชนิด คือ dulciol A จาก เปลือก และ dulciol B-E จากราก ต่อมา คณะวิจัยชุดเดียวกันสามารถแยก 2,5-dihydroxy-1-methoxy-, 1,4,5-trihydroxy-, 1,3,5-trihydroxy-, 1,3,6-trihydroxy-5-methoxy- และ 1,3,6-trihydroxy-8-isoprenyl-7-methoxyxanthone รวมทั้งสารกลุ่ม benzophenone-xanthone dimers ใหม่ 3 ชนิด คือ garcidiuols A-C และสารแซนโทนใหม่ อีกหนึ่งชนิดคือ 1,3,6-trihydroxy-7-methoxyxanthone เพิ่มขึ้น จากส่วนรากของมะพุด (Inuma *et al.*, 1996b) นอกจากนี้ Ito และคณะ (1997) แยกได้สารประกอบ depsidone ชนิดใหม่คือ garcinisidone-A และแซนโทนใหม่อีก 6 ชนิด ได้แก่ assiguxanthone-A, -B, dulxanthone-A, -B, -C, -D และสารประกอบ pyranoxanthenes ใหม่ 4 ชนิด คือ latisxanthone-A, -B, -C และ -D รวมทั้ง xanthone, benzophenone, chromone และ อนุพันธ์ biflavonones ต่าง ๆ จากสารสกัดเอทานอล (ethanol extract) ของเปลือกก้าน มะพุด และล่าสุด Kosela และคณะ (1999; 2000) สามารถแยกสารแซนโทนชนิดใหม่คือ pyranoxanthenes และ dulxanthenes E-H ได้จากใบของพืชชนิดนี้



รูปที่ 9 ลักษณะทั่วไปของต้น ใบ และผลของมะปูด

วัตถุดิบ

เพื่อศึกษาผลของสารสกัดบริสุทธิ์จากใบ และ ผลมะพูด ต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของ LDL ในหลอดทดลอง

