1. บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

ภาวะหลอดเลือดแดงแข็ง (atherosclerosis) เป็นภาวะความผิดปกติของหลอดเลือดซึ่งจัดเป็นสาเหตุสำคัญที่สุดของโรคหลอดเลือดหัวใจก่อนวัยอันควร (premature coronary heart disease) ในปัจจุบัน (สมพงษ์ สหพงศ์, 2544) ความผิดปกติดังกล่าวเป็นผลมาจากการเปลี่ยนแปลงในบางบริเวณของเยื่อบุผนังหลอดเลือด (endothelium) โดยมีจำนวนเซลล์บุ (endothelial cell) เพิ่มขึ้น พร้อม ๆ กับการสะสมของคอเลสเทอรอล (cholesterol) และส่วนประกอบอื่น ๆ ของเลือด จนทำให้หลอดเลือดบริเวณนั้นแคบลง ไม่สามารถทำงานได้ตามปกติ และเสียความยืดหยุ่นไปในที่สุด (McGill, 1988) ปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดภาวะหลอดเลือดแดงแข็งมีหลายประการด้วยกัน นอกเหนือจากประวัติครอบครัว เพศ น้ำหนักตัว การสูบบุหรี่ และความดันโลหิตสูงแล้ว ที่สำคัญได้แก่ การมีระดับคอเลสเทอรอลในเลือดสูงกว่า 200 มิลลิกรัมต่อลิตร (Roeters van Lennep *et al.*, 2002) และจากการที่สารไขมันชนิดนี้ถูกขนส่งในกระแสเลือดในรูปของไลโปโปรตีนชนิด LDL (low density lipoprotein) เป็นหลัก จึงทำให้ผู้ที่มี LDL ในปริมาณสูง ย่อมมีอัตราเสี่ยงต่อภาวะดังกล่าวเพิ่มขึ้น (พรทิพย์ โล่ห์เลขา, 2536) นอกจากนี้ ผลการศึกษาต่าง ๆ ที่ผ่านมายังนำมาสู่การค้นพบขั้นตอนสำคัญของการเริ่มต้นภาวะหลอดเลือดแดงแข็งคือ การที่ LDL ถูกออกซิไดส์ (oxidize) โดยกลุ่มอนุมูลอิสระ (free radicals) ซึ่งเป็นผลพลอยได้จากกระบวนการเมแทบอลิซึมที่ใช้ออกซิเจน (aerobic metabolism) ของเซลล์ต่าง ๆ ภายในร่างกาย รวมทั้งจากการเหนี่ยวนำของปัจจัยแวดล้อมภายนอก อย่างเช่น รังสียูวี (ultra-violet light) โอโซน (ozone) ควันจากท่อไอเสีย และควันบุหรี่ เป็นต้น (Witztum and Steinberg, 1991) จากนั้น LDL ที่มีส่วนประกอบต่าง ๆ เปลี่ยนแปลงไปเนื่องจากสาเหตุดังกล่าวจะกระตุ้นให้เม็ดเลือดขาวจำพวก macrophage มาจับกลืนกิน (phagocytosis) จนกลายสภาพเป็น foam cell

เกาะติดอยู่ที่ผนังหลอดเลือด ซึ่งถ้าสะสมมาก ๆ อาจนำไปสู่การอุดตันของหลอดเลือดได้ (Chisolm and Steinberg, 2000)

ดังนั้น นอกเหนือจากการหลีกเลี่ยงอาหารที่มีคอเลสเทอรอลสูงแล้ว การได้รับสารที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันเข้ามาในร่างกาย จึงอาจเป็นอีกหนทางหนึ่งที่จะช่วยป้องกันการเกิดภาวะดังกล่าวได้ เป็นที่ทราบกันดีว่า กลุ่มสารประกอบโพลีฟีนอล (polyphenolics) โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารประกอบแซนโทน (xanthones) และฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ชนิดต่าง ๆ ซึ่งได้จากพืชพรรณธรรมชาตินั้น มีฤทธิ์ทางชีวภาพมากมาย รวมทั้งสามารถต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยอนุมูลอิสระได้ดี (Rice-Evans *et al.*, 1996) และจากการศึกษาทางพฤกษเคมีของพืชสกุล Garcinia ซึ่งมีอยู่ทั่วไปในแถบภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ พบว่า มีสารประกอบแซนโทน และฟลาโวนอยด์ต่าง ๆ อยู่เป็นจำนวนมาก (Waterman and Hussain, 1983; Bennett and Lee, 1989) จึงทำให้มีผู้สนใจศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและเภสัชวิทยาซึ่งสกัดได้จาก *Garcinia* spp. กันอย่างแพร่หลาย (Mahabusarakum *et al.*, 1986; Sordat-Diserens *et al.*, 1992; Yoshikawa *et al.*, 1994; Williams *et al.*, 1995; Minami *et al.*, 1995, 1996; Likhitwitayawuid *et al.*, 1998a, 1998b; Mackeen *et al.*, 2000; Hasegawa, 2001; Terashima *et al.*, 2002) สำหรับสารประกอบที่แยกได้จากส่วนต่าง ๆ ของพืชสกุลนี้ เท่าที่มีรายงานต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันหรือยับยั้งอนุมูลอิสระในหลอดทดลอง (*in vitro*) ได้ดี ได้แก่ mangostin จากเปลือกมังคุด (Yoshikawa *et al.*, 1994; Williams *et al.*, 1995) และอนุพันธ์ของ mangostin (Mahabusarakam *et al.*, 2000) แซนโทนจากเปลือกต้น *G. subelliptica* (Minami *et al.*, 1995, 1996) garcinoic acid, garcinal และ δ–tocotrienol ที่ได้จากเมล็ดของ *G. kola* (Terashima *et al.*, 2002) สารสกัดจากผล ใบ เปลือก ลำต้น และรากของส้มแขก (*G. atroviridis*) ทั้งหมดสามารถต้านออกซิเดชันได้ดี นอกเหนือจากความสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียและเชื้อราได้หลายชนิด รวมทั้งฤทธิ์ยับยั้งการก่อตัวของเซลล์มะเร็ง (Mackeen *et al.*, 2000) ส่วนการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชสกุล Garcinia ในสัตว์ทดลอง (*in vivo*) นั้น ไม่ค่อยปรากฏรายงาน นอกจากเมื่อไม่นานมานี้มีผู้พบว่าสารสกัดฟลาโวนอยด์จากส้มแขก (*G. cambogia*) สามารถลดอัตรา

การสังเคราะห์และเพิ่มกระบวนการสลายไขมันในหนูที่มีระดับคอเลสเทอรอลในกระแสเลือดสูง (hypercholesterolemic rat) ได้ดี (Koshy *et al.*, 2001)

สำหรับมะพูด ซึ่งมีชื่อทางพฤกษศาสตร์ว่า *Garcinia dulcis* (Roxb.) Kurz เป็นพืชเมืองร้อนที่มีลักษณะทั่วไปคือ เป็นไม้ผลยืนต้นพุ่มขนาดกลางสูงราว 15 เมตร ใบมีลักษณะเป็น รูปหอกโต ปลายทู่ หรือรูปไข่ ยาว ปลายสอบหนา เรียบ ผิวมัน สีเขียวเข้ม ดอกเป็นช่อเล็ก ๆ ก้านสั้น กลีบทรงกลมหนา สีเหลืองอมเขียว ส่วนผลนั้น กลม เรียบ ผิวมัน ปลายทู่ สามารถพบได้ตามป่าดงดิบแล้ง ป่าโปร่งทั่วไป ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด (วุฒิ วุฒิธรรมเวช, 2540) ในตำราสมุนไพรไทยระบุว่า สารสกัดจากส่วนต่าง ๆ ของพืชชนิดนี้สามารถใช้รักษาอาการผิดปกติต่าง ๆ ได้ เช่น เปลือกลำต้นมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อ ในขณะที่ น้ำคั้นจากผลมีสรรพคุณ แก้ไอ ขับเสมหะ แก้เจ็บคอ แก้เลือดออกตามไรฟัน เป็นต้น (มาโนช วามานนท์ และ เพ็ญนภา ทรัพย์เจริญ, 2540) นอกจากนี้ ในประเทศอินโดนีเซียยังมีการใช้ประโยชน์จากส่วนสกัดของใบและเมล็ดของมะพูดในการรักษาโรคคางทูม ต่อมน้ำเหลืองอักเสบ และ คอพอก (struma) อีกด้วย (Kasahara and Henmi, 1986) จากผลการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของส่วนต่าง ๆ ของมะพูด พบว่าไม่ว่าจะเป็น ในเปลือก กิ่ง ก้าน ราก และใบ มีสารประกอบกลุ่มฟลาโวนอยด์ และแซนโทน เป็นองค์ประกอบอยู่หลายชนิด (Ansari *et al.*, 1976; Iinuma *et al.*, 1996a, 1996b; Ito *et al.*, 1997; Likhitwitayawuid *et al.*, 1998b; Kosela *et al.*, 2000; Nilar and Harrison *et al.*, 2002) นอกจากนี้ สารประกอบฟลาโวนอยด์ 2 ชนิดที่สกัดได้จากใบและผลของพืช ชนิดนี้ ยังสามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของ LDL ที่เตรียมจากเลือดคนปกติได้ดี โดยสารที่สกัดได้จากใบ (GXM) ออกฤทธิ์ดีกว่าสารที่สกัดได้จากผล (ES1.2) (สุญาณี คงคาช่วยและคณะ, 2545) ที่ผ่านมาเคยมีผู้ทดลองนำสารอนุพันธ์ชนิดต่าง ๆ ของฟีนอล ซึ่งแสดงฤทธิ์ยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันในหลอดทดลอง ทั้งที่เป็นสารสังเคราะห์อย่างเช่น probucol (Kita *et al.*, 1987), butylated hydroxytoluene (BHT) (Bjorkhem *et al.*, 1991), วิตามินอี (vitamin E) (Kleinveld *et al.*, 1994) และที่สกัดได้จากพืช อย่างเช่น proanthocyanidins จากเมล็ดองุ่น (Yamakoshi *et al.*, 1999), และ curcumin จากขมิ้น (Ramirez-Tortosa *et al.*, 1999) เป็นต้น มาป้อนให้กับสัตว์ทดลอง

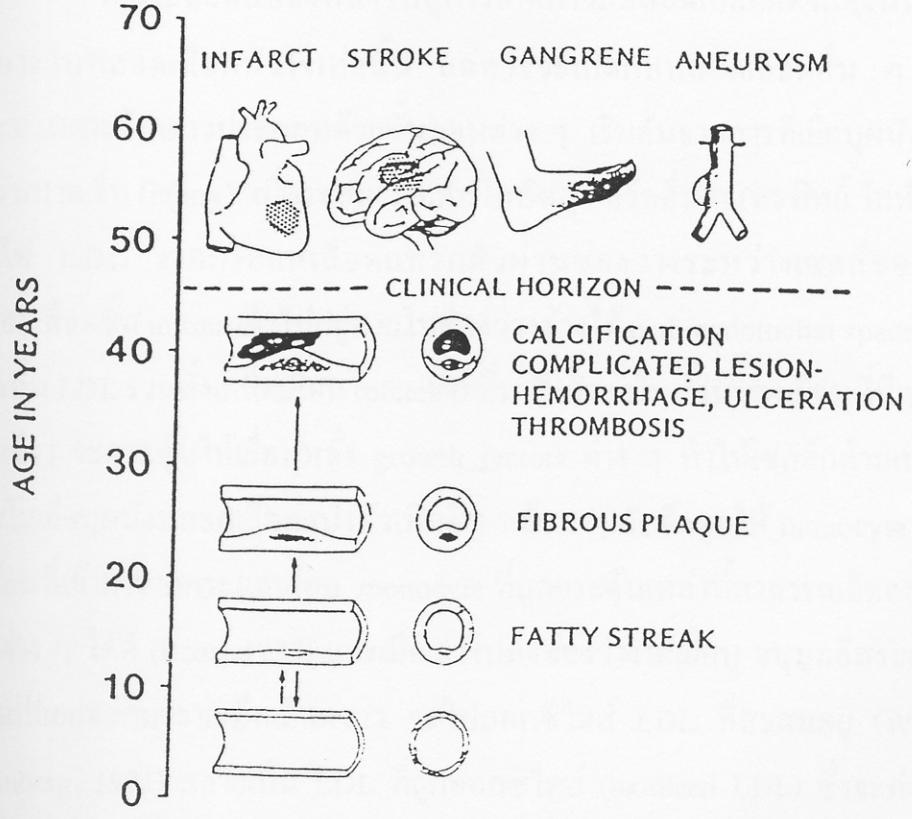
ซึ่งถูกกระตุ้นให้มีคอเลสเทอรอลสูงในเลือด แล้วพบว่า สารเหล่านี้สามารถชะลอการเกิด atherosclerotic lesion ภายในหลอดเลือดได้ผลดี

ดังนั้นการนำเอาสารสกัดจากใบมะพูดที่มี GXM เป็นองค์ประกอบหลักมาทำการทดสอบเพื่อขยายผลความสามารถชะลอการเกิดภาวะหลอดเลือดแดงแข็งในสัตว์ทดลองซึ่งยังไม่เคยมีรายงานมาก่อน จึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจศึกษาอย่างยิ่ง ผลการวิจัยที่ได้อาจมีประโยชน์สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับหาแนวทางในการพัฒนาพืชสมุนไพรไทยชนิดนี้ไปเป็นยาเพื่อใช้ลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจต่อไปได้ในอนาคต

การตรวจเอกสาร

1.1 ภาวะหลอดเลือดแดงแข็ง

ภาวะหลอดเลือดแดงแข็ง เป็นการเสื่อมสภาพของหลอดเลือดแดง ซึ่งเริ่มปรากฏได้ตั้งแต่วัยเด็ก และจะทวีความรุนแรงเมื่ออายุมากขึ้น (รูปที่ 1) จนอาจพัฒนาเป็นโรคหลอดเลือดหัวใจต่อไปได้ (McGill, 1988) มีปัจจัยหลายประการที่ส่งผลให้เกิดภาวะดังกล่าว (Basavasaju and Jones, 1998) แต่การมีระดับคอเลสเทอรอลในเลือดสูงกว่าปกติ (hypercholesterolemia) ไม่ว่าจากสาเหตุบริโภคอาหารที่ประกอบด้วย คอเลสเทอรอล และไขมันอิ่มตัว (saturated fat) ในปริมาณสูง เป็นประจำ (Mahfouz, 1997; McNamara, 2000) หรือจากความบกพร่องทางพันธุกรรม (familial hypercholesterolemia) (Chen and Margolis, 1987) ก็ตาม นับเป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญที่สุด



รูปที่ 1 พัฒนาการของภาวะหลอดเลือดแดงแข็งในคนวัยต่าง ๆ (McGill, 1988)

1.1.1 การเกิดภาวะหลอดเลือดแดงแข็ง

ภาวะหลอดเลือดแดงแข็งมักเกิดกับหลอดเลือดแดงเป็นหลัก ทั้งนี้เข้าใจว่าเป็นเพราะภายในหลอดเลือดแดงมีปัจจัยและองค์ประกอบต่าง ๆ ซึ่งล้วนส่งเสริมพัฒนาการของภาวะดังกล่าวทั้งสิ้น ไม่ว่าจะเป็นแรงดันเลือด (pulsatile pressure) และแรงเสียดทานต่าง ๆ ที่เกิดมาจากลักษณะการไหลของของเหลว (cyclic strain and shear stress) ภายในหลอดเลือดแดง ที่สูงกว่าภายในหลอดเลือดดำ (Zarins *et al.*, 1987; Eckhart *et al.*, 1996) นอกจากนี้ เซลล์กล้ามเนื้อเรียบ (smooth muscle cell) ของหลอดเลือดแดงยังสามารถตอบสนองต่อ cytokines ต่าง ๆ และ oxidative stress ได้ดี (Shi *et al.*, 2001) และมีอัตราการขยายตัว (proliferation) การเกาะติด (adherence) และการเคลื่อนที่ (migration) สูงกว่าเซลล์กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดดำอีกด้วย (Faries *et al.*, 2002)

การเปลี่ยนแปลงที่นำไปสู่การเกิดภาวะหลอดเลือดแดงแข็งนั้น ไม่ได้เกิดเฉพาะในหลอดเลือดหัวใจเท่านั้น แต่อาจจะเกิดกับหลอดเลือดอื่น ๆ ทั่วร่างกาย กระบวนการดังกล่าวประกอบด้วยขั้นตอนต่าง ๆ เริ่มต้นจากการที่เยื่อบุผนังหลอดเลือดได้รับบาดเจ็บ (injury) เนื่องจากความดันโลหิตสูง หรืออื่น ๆ (พรทิพย์ โลห์เลขา, 2536) ทำให้ LDL จากกระแสเลือดแทรกตัวผ่านช่องว่างระหว่างเซลล์ของเยื่อบุผนังหลอดเลือดชั้น intima เข้าไปอยู่ภายในช่องว่างข้างใต้ (sub-endothelial space) ได้มากขึ้น จากนั้น LDL รวมทั้งเกล็ดเลือด (platelet) ที่มาฝังตัวลงในส่วนของเยื่อบุที่มีความผิดปกติดังกล่าว จะกระตุ้นให้เยื่อบุหลั่ง growth factors ต่าง ๆ ทำให้เซลล์กล้ามเนื้อเรียบที่อยู่ภายในเยื่อบุผนังหลอดเลือดแบ่งตัวเพิ่มขึ้น พร้อม ๆ กับดึงดูดให้ monocyte จำนวนมากเคลื่อนที่เข้ามาจากกระแสเลือด monocyte ที่ถูกกระตุ้นเหล่านี้สามารถเล็ดลอดผ่านเยื่อบุชั้นต่าง ๆ ได้ดี (Ross, 1993) และเมื่อเข้าไปถึงช่องว่างใต้เยื่อบุ อนุมูลอิสระต่าง ๆ ที่ถูกปลดปล่อยออกมาจากเม็ดเลือดขาว จะไปออกซิไดส์ LDL ที่สะสมอยู่ (Witztum and Steinberg, 1991) กลายเป็น LDL ที่ถูกออกซิไดส์ (oxidised LDL) ซึ่งจะก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงกับเซลล์ต่าง ๆ ที่อยู่ข้างเคียง ยกเว้น เกล็ดเลือด (Cyrus *et al.*, 2001) กล่าวคือ นอกจากมีความเป็นพิษ (cytotoxic) ต่อเซลล์บุ (Hessler *et al.*, 1983) แล้ว LDL ที่ถูกออกซิไดส์ ยังกระตุ้นให้เซลล์ดังกล่าวหลั่ง MCP-1 (monocyte chemotactic protein-1)

และ MCSF (monocyte colony stimulating factor) ทำให้ monocyte เกาะติดกับเยื่อบุผนังหลอดเลือดได้ดี และเคลื่อนที่ผ่านเข้าไปภายในเยื่อบุดังกล่าวได้สะดวกขึ้น (Cushing *et al.*, 1990 อ้างโดย Steinberg, 1997) นอกจากนี้ LDL ที่ถูกออกซิไดส์ยังไปยับยั้งการขยายตัวของหลอดเลือด (vasodilation) (Kugiyama *et al.*, 1990) และกระตุ้นการแบ่งตัว (mitogenesis) ของ macrophage และเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ (Yui *et al.*, 1993) ในขณะเดียวกัน macrophage ที่ถูกกระตุ้นจะจับ LDL ที่ถูกออกซิไดส์ กลืนกินแล้วกลายสภาพเป็น foam cell เกาะติดอยู่ที่ผนังด้านในหลอดเลือด (Brown and Goldstein, 1983) จากการศึกษาของ Rong และคณะ (1999) พบว่า กระต่ายซึ่งได้รับอาหารผสมคอเลสเทอรอลที่ถูกออกซิไดส์แล้ว (cholesterol oxidation product) มีการสะสมของ foam cell ภายในหลอดเลือดซึ่งสามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า เป็นจุดหรือทางสีเหลืองบนผิวหน้าของผนังหลอดเลือด เรียกว่า fatty streak ลักษณะดังกล่าวมักพบในระยะต้นของภาวะหลอดเลือดแดงแข็ง ซึ่งจะขยายตัวกลายเป็น atherosclerotic lesion ในระยะที่รุนแรงต่อไปได้ (complicated lesion) (McGill, 1988)

1.1.2 การเกิดออกซิเดชันของ LDL กับภาวะหลอดเลือดแดงแข็งตัว

จากการที่คอเลสเทอรอลในกระแสเลือดขนส่งในรูป LDL เป็นหลัก ดังนั้นผู้ที่มีระดับ LDL ในเลือดสูง จึงมีโอกาสเกิดภาวะหลอดเลือดแดงแข็ง เนื่องจากการสะสมของคอเลสเทอรอลที่ผนังหลอดเลือดได้มากกว่าผู้ที่มี LDL อยู่ในระดับต่ำ (Kannel *et al.*, 1961 อ้างโดย Libby *et al.*, 2000) จากหลักฐานต่าง ๆ พบว่า LDL ที่ถูกออกซิไดส์ซึ่งมีโครงสร้างของไขมันและโปรตีนภายในโมเลกุลที่เปลี่ยนแปลงไปสามารถกระตุ้น macrophage ให้มาจับกลืนกิน และสามารถเข้าสู่เซลล์กล้ามเนื้อเรียบได้เช่นกัน (Berliner *et al.*, 1996) ทั้งนี้เนื่องจากตัวรับ (scavenger receptor) ทั้งที่อยู่บนผิวของ macrophage ของเซลล์บุ และของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ สามารถจับจำเพาะ (bind) กับ LDL ที่ถูกออกซิไดส์ได้เป็นอย่างดี (Dhaliwal and Steinbrecher, 1999) นอกจากนี้บริเวณที่เกิด fatty streak มักพบ foam cell ซึ่งมีคอเลสเทอรอลเอสเทอร์ (cholesteryl ester) สะสมอยู่ภายในเป็นจำนวนมาก (Steinberg, 1989) แสดงว่า โมเลกุล LDL ที่ถูกออกซิไดส์ น่าจะเป็นสาเหตุหลักของการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ ของหลอดเลือด ซึ่งนำไปสู่

การสะสมของ foam cell จนกลายเป็น atherosclerotic plaque อุดตันหลอดเลือดได้ในที่สุด (Brown and Goldstein, 1983; Chisolm and Steinberg, 2000)

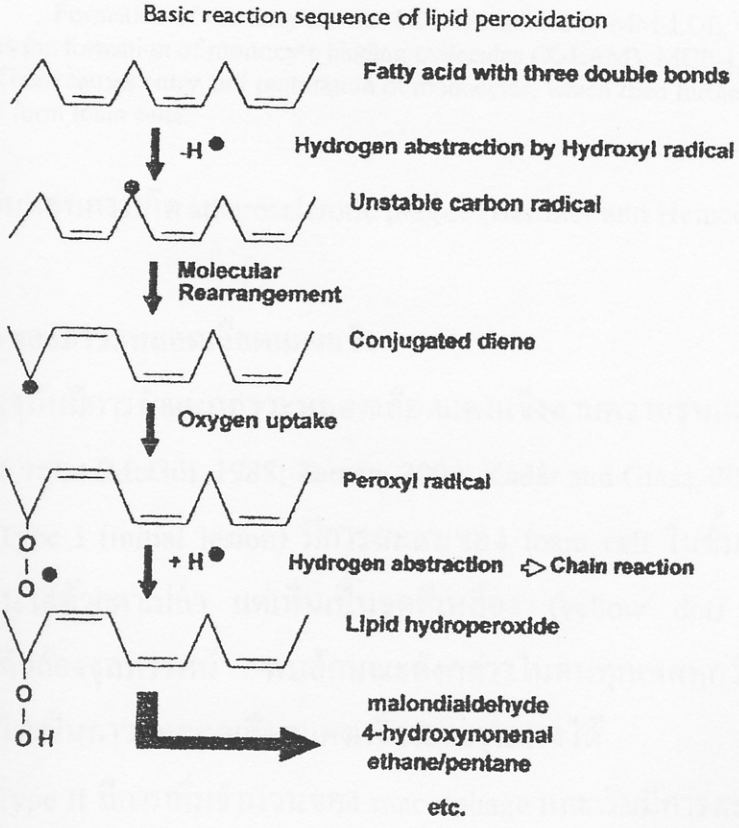
กระบวนการออกซิเดชันของ LDL สามารถเกิดได้ทั้งในคนและในสัตว์ทดลอง (Ylä -Herttvala *et al.*, 1989) แต่ LDL ที่ไหลเวียนอยู่ในกระแสเลือดนั้นมีโอกาสถูกออกซิไดส์ได้น้อยกว่าที่อยู่ในผนังหลอดเลือดชั้น intima เนื่องจากปกติในพลาสมา (plasma) มีสารต้านออกซิเดชัน (anti-oxidants) ต่าง ๆ เช่น วิตามินซี (vitamin C), วิตามินอี, β-carotene, superoxide dismutase, catalase และ glutathione peroxidase เป็นต้น อยู่จำนวนหนึ่ง (Steinbrecher, 1997 อ้างโดย Dhaliwal and Steinbrecher, 1999) นอกจากนี้ ยังมีรายงานว่า LDL ที่ถูกออกซิไดส์จะถูกกำจัดออกจากกระแสเลือดโดยตับอย่างรวดเร็ว (Haliwell, 2000) จึงไม่ค่อยพบ LDL ที่ผิดปกติเหล่านี้ล่องลอยอยู่ในกระแสเลือด

การที่ LDL สามารถแทรกตัวผ่านช่องว่างระหว่างเซลล์บุผนังหลอดเลือดชั้น intima ได้ดีนั่นเอง ทำให้มี LDL บางส่วนเข้าไปสะสมอยู่ภายในช่องว่างข้างใต้เนื้อเยื่อชั้นดังกล่าว (Montgomery *et al.*, 1996) ดังนั้น การรับประทานอาหารที่มีคอเลสเทอรอลหรือไขมันอิ่มตัว ในปริมาณมากเป็นประจำ ย่อมทำให้พบ LDL ภายในชั้น intima ได้มากกว่าปกติ (McNamara, 2000) เมื่อเข้ามาแล้ว LDL เหล่านี้จะถูกกักเก็บอยู่ในร่างแหของ proteoglycan ภายในผนังหลอดเลือด โดยอาศัยการจับกันระหว่างประจุบวกของกรด อะมิโนไลซีน (lysyl residue) และอาร์จินีน (argininyl residue) บนโปรตีน apo B-100 ของ LDL กับประจุลบของ glycosaminoglycans ที่เป็นองค์ประกอบของ proteoglycan (Camejo *et al.*, 1998) และต่อมาจะถูกออกซิไดส์ 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 ไม่ว่าจะเป็นเซลล์บุ เซลล์กล้ามเนื้อเรียบของผนังหลอดเลือด เซลล์เม็ดเลือดขาวทั้งชนิด macrophage และลิมโฟไซท์ (lymphocyte) เป็นต้น (Leake, 1998) นอกจากนี้ยังพบหลักฐานว่า เอนไซม์ 15-lipoxygenase (Bocan, 1998a), myeloperoxidase (Leeuwenburgh *et al.*, 1997) และ phospholipase A_2 ซึ่งหลั่งจากเนื้อเยื่อภายในหลอดเลือด ล้วนเกี่ยวข้องกับการเกิดออกซิเดชันของ LDL ทั้งสิ้น (Mensink *et al.*, 1998)

กระบวนการออกซิเดชันของ LDL เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง (polyunsaturated fatty acid) ที่อยู่ภายในโมเลกุลของ LDL โดยในขั้นแรกพันธะคู่ของกรดไขมันไม่อิ่มตัวถูกออกซิไดส์จาก ROS ทำให้สูญเสียอนุมูลไฮโดรเจน ($H^{\bullet}$) กลายเป็นอนุมูลของกรดไขมัน ($L\text{-}H^{\bullet}$) ซึ่งจะมีการปรับโครงสร้างของโมเลกุลไปเป็น conjugated diene ต่อมา conjugated diene เหล่านี้จะรับโมเลกุลออกซิเจนอิสระ (O_2) เข้าไป ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็นอนุมูล peroxyl ($L\text{-}ROOH^{\bullet}$) ซึ่งว่องไวมากจะไปดึงอิเล็กตรอนจากโมเลกุลกรดไขมันอื่น ๆ ที่อยู่ใกล้เคียงเกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain reaction) ได้เป็น lipid hydroperoxide (L-ROOH) (รูปที่ 2) สารเหล่านี้จะสลายตัวต่อไปได้เป็นสารประกอบอัลดีไฮด์ (aldehydes) ที่สำคัญคือ malondialdehye (MDA) กับ 4-hydroxynonenal ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับหมู่อะมิโน ($\in$-amino group) ของ apoB-100 ทำให้โปรตีนดังกล่าวมีประจุบวกลดลงเป็นผลให้โมเลกุลของ LDL ที่ถูกออกซิไดส์มีประจุลบเพิ่มขึ้น จนไม่สามารถเข้าจับจำเพาะกับตัวรับ LDL บนเซลล์ปกติ แต่จะจับกับตัวรับที่อยู่บน macrophage ได้ดี (Mensink, 1998) เมื่ออยู่ภายใน macrophage LDL เหล่านี้จะถูกย่อยสลายได้เป็นคอเลสเทอรอลอิสระ ซึ่งบางส่วนจะเข้าสู่กระแสเลือดผ่านทางโปรตีนขนส่งที่ผิวเซลล์ "ABC-1 transporter" แล้วถูก HDL (high density lipoprotein) รับกลับคืนไป โดยกระบวนการ reverse cholesterol transport (Remaley *et al.*, 1999) คอเลสเทอรอลส่วนที่เหลือ ซึ่งส่วนใหญ่อยู่ในรูปเอสเทอร์จะกลายเป็นหยดน้ำมันสะสมอยู่ภายในไซโทพลาสซึม (cyotplasm) ทำให้ macrophage กลายสภาพเป็น foam cell ซึ่งไม่เคลื่อนที่และเกาะติดอยู่ที่ข้างในผนังหลอดเลือด (รูปที่ 3) จนนานวันเข้าจะสะสมเพิ่มปริมาณขึ้นเรื่อย ๆ กลายเป็นปื้นหนาอุดตันหลอดเลือดได้ในที่สุด

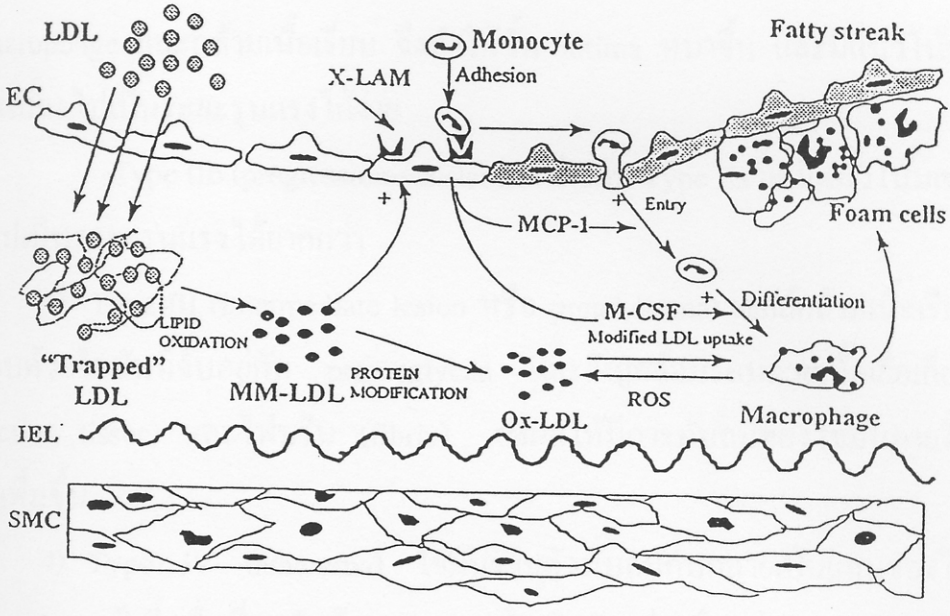
หลักฐานเนื้อเยื่อวิทยาที่สำคัญซึ่งสนับสนุนว่า LDL ที่ถูกออกซิไดส์เกี่ยวข้องกับการเกิด atherosclerotic plaque ได้แก่ ผลการทดลองของ Palinski และคณะ (1989) ซึ่งอาศัยเทคนิค immunostaining ย้อมสีเนื้อเยื่อบริเวณต่าง ๆ ของผนังด้านในหลอดเลือดหัวใจกระต่ายสายพันธุ์ Watanabe (Watanabe heritable hyperlipidemic rabbit) ซึ่งเป็นกระต่ายที่มีระดับไขมันในกระแสเลือดสูงเนื่องจากขาดยีน (gene) สำหรับสร้างตัวรับ LDL บนผิวเซลล์ และพบ LDL ที่ถูกออกซิไดส์เป็นจำนวนมากเฉพาะในบริเวณ atherosclerotic plaque และต่อมาสามารถสกัด LDL ที่ถูกออกซิไดส์เหล่านี้ และสาร

ประกอบอัลดีไฮด์ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน (lipid peroxidation) ออกมาได้เป็นจำนวนมาก จากเนื้อเยื่อบริเวณที่มี plaque ทั้งในคนและในกระต่าย (Ylä-Herttuala *et al.*, 1989) นอกจากนี้ยังพบว่า ผู้ป่วยที่มีภาวะหลอดเลือดแดงแข็งจะมีปริมาณ LDL ที่ถูกออกซิไดส์สูงในกระแสเลือด และมีความหนาของชั้น intima มากกว่าคนปกติ (Vasankari *et al.*, 2001) ทั้งหมดที่กล่าวมาแล้วเป็นสิ่งยืนยันว่า การเกิดออกซิเดชันของ LDL ภายในหลอดเลือด เป็นสาเหตุสำคัญที่นำไปสู่ภาวะหลอดเลือดแดงแข็ง ดังนั้น นอกเหนือจากการออกกำลังกายอย่างสม่ำเสมอ รับประทานอาหารที่มีไขมันต่ำแล้ว การดูแลเสริม สุขภาพด้วยสารต้านออกซิเดชันจึงเป็นที่ยอมรับกันทั่วไปในขณะนี้ว่า อาจเป็นอีกหนทางหนึ่งที่จะช่วยป้องกันภาวะดังกล่าวได้ (Parthasayathy *et al.*, 1999a)



รูปที่ 2 ปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันภายในโมเลกุล LDL

(Young and McEneny, 2001)



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 3 ขั้นตอนการเกิด atherosclerotic plague (Berliner and Heinecke, 1996)

1.1.3 ชนิดของภาวะหลอดเลือดแดงแข็ง

ในปัจจุบันมีการจำแนกภาวะหลอดเลือดแดงแข็งตามความรุนแรงของโรค (รูปที่ 4) ออกเป็น 6 ระยะ (McGill, 1988; Zaman, 2000; Kádár and Glasz, 2001) ดังนี้

1) Type I (initial lesion) มีการสะสมของ foam cell ในชั้น intima ซึ่งไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า แต่เห็นเป็นจุดสีเหลือง (yellow dot) บนผิวของชั้น intima ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบลักษณะดังกล่าวในคนทุกเพศทุกวัย จุดเหล่านี้สามารถพัฒนาไปเป็นภาวะหลอดเลือดแดงแข็งระยะรุนแรงได้

2) Type II มีการเพิ่มจำนวนของ macrophage และเริ่มมีการสะสมของไขมันภายในเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ เห็นเป็นทางสีเหลือง โดยเริ่มพบลักษณะดังกล่าวในหลอดเลือดแดงใหญ่ที่ออกจากหัวใจ (aorta) และจะกระจายตัวคลุมผิวหน้าของหลอดดังกล่าวอย่างรวดเร็ว แบ่งออกเป็น 2 แบบ ได้แก่

-Type IIa (progression-prone) มีการเพิ่มปริมาณของไขมันที่สะสมภายใน macrophage และกล้ามเนื้อเรียบ จึงทำให้ชั้น intima หนาขึ้น และมีแนวโน้มที่จะเปลี่ยนแปลงไปเป็นระยะรุนแรงได้ง่าย

-Type IIb (progression-resistant) คล้ายกับ Type IIa แต่มีแนวโน้มเปลี่ยนแปลงไปเป็นระยะรุนแรงได้ยากกว่า

3) Type III (intermediate lesion หรือ preatheroma) เซลล์กล้ามเนื้อเรียบถูกล้อมรอบด้วยไขมันที่จับอยู่กับ proteoglycan และยังถูกล้อมรอบด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) และไฟบริน (fibrin) ส่งผลให้มีการทับถมของไขมันภายในชั้น intima เพิ่มขึ้น

4) Type IV (atheroma) ไขมันรวมตัวทับถมกันกลายเป็นแถบของไขมัน (lipid core) และมีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันล้อมรอบแถบไขมันดังกล่าวเรียกว่า fibrous plaque ซึ่งส่งผลให้ช่องว่างภายในหลอดเลือดแดงแคบลง

5) Type V มีการสร้างเนื้อเยื่อเส้นใย (fibrous tissue) แบ่งออกเป็น 3 แบบ ได้แก่

- Type Va มีการสร้างเนื้อเยื่อเส้นใยร่วมกับแกนของไขมัน ทำให้เนื้อเยื่อระหว่างแกนของไขมันกับเยื่อบุผนังหลอดเลือดหนาตัวขึ้น เรียกว่า fibrous cap

- Type Vb มีการสะสมของแคลเซียม (calcium) เกิดขึ้น

- Type Vc มีแกนของไขมันเกิดขึ้นน้อย แต่มีเนื้อเยื่อเส้นใยมาก

6) Type VI (complicated lesion) มีลักษณะของ Type IV กับ Type V รวมกัน มีการสะสมของแคลเซียมในบริเวณแกนกลางของ fibrous plaque ซึ่งถ้ามีการขยายขนาดขึ้น อาจมีผลให้หลอดเลือดแดงบริเวณนั้นตีบลง (stenosis) รวมทั้งมีการแตกของผนังหลอดเลือด (surface disruption) การมีเลือดออก (hemorrhage) และการเกิดลิ่มเลือด (thombosis) ร่วมด้วย

Terms Used to Designate Different Types of Human Atherosclerotic Lesions in Pathology

Terms for Atherosclerotic Lesions in Histological Classification		Other Terms for the Same Lesions Often Based on Appearance With the Unaided Eye	
Type I lesion	Initial lesion	Fatty dot or streak	Early lesions
Type IIa lesion	Progression-prone type II lesion		
IIb	Progression-resistant type II		
Type III lesion	Intermediate lesion (preatheroma)		
Type IV lesion	Atheroma	Atheromatous plaque, fibrolipid plaque, fibrous plaque, plaque	Advanced lesions, raised lesions
Type Va lesion	Fibroatheroma (type V lesion)		
Vb	Calcific lesion (type VII lesion)	Calcified plaque	
Vc	Fibrotic lesion (type VIII lesion)	Fibrous plaque	
Type VI lesion	Lesion with surface defect, and/or hematoma-hemorrhage, and/or thrombotic deposit	Complicated lesion, complicated plaque	

รูปที่ 4 ชนิดของภาวะหลอดเลือดแดงแข็ง (Stary *et al.*, 1995)

1.2 สารต้านภาวะหลอดเลือดแดงแข็ง (anti-atherosclerotic agent)

สารที่แสดงความสามารถต้านภาวะหลอดเลือดแดงแข็งทั้งในคนและสัตว์ทดลอง ส่วนใหญ่ได้แก่ สารออกฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ซึ่งมีอยู่ด้วยกันหลายชนิด สารเหล่านี้มีทั้งที่เป็น ฮอร์โมน วิตามิน เอนไซม์ สารสังเคราะห์ ยา และสารสกัดจากพืชธรรมชาติ อาทิ เช่น Kita และคณะ (1987) ได้ทดลองป้อน probucol ซึ่งสามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของ LDL ในหลอดทดลอง (*in vitro*) ได้ดี ให้กับกระต่ายสายพันธุ์ Watanabe แล้วพบว่า สามารถชะลอการเกิดภาวะหลอดเลือดแดงแข็งในกระต่ายเหล่านี้ได้ เนื่องจาก LDL ที่แยกได้ถูกออกซิไดส์ยากกว่า LDL จากกระต่ายซึ่งไม่ได้รับ probucol นอกจากนี้สารดังกล่าวยังสามารถยับยั้งการเปลี่ยนไปเป็น foam cell ของ macrophage อีกด้วย นอกจากนี้ Björkhem และคณะ (1991) ได้นำ BHT ซึ่งเป็นสารต้านออกซิเดชันที่มีโครงสร้างคล้ายคลึงกับ probucol ไปทดสอบกับกระต่ายที่ได้รับอาหารซึ่งมีปริมาณคอเลสเทอรอลสูง พบว่า ถึงแม้ BHT ไม่มีผลลดระดับไขมันในเลือด (hypolipidemic effect) แต่กระต่ายที่ได้รับสารดังกล่าวกลับมีปริมาณ atherosclerotic plague บนผิวหน้าของผนังหลอดเลือดแดงน้อยกว่าในกระต่ายที่ไม่ได้รับ BHT จากการทดลองป้อน TTA (tetradecylthioacetic acid) ซึ่งเป็นสารอนุพันธ์ของกรดไขมันอิ่มตัว

ที่มีกำมะถันเป็นส่วนประกอบ (a sulfur containing saturated fatty acid analogue) และมีรายงานว่า สามารถต้านออกซิเดชันของ LDL ได้ดี ให้กับหนู (rat) พบว่า สารดังกล่าวนอกจากลดปริมาณไขมันในเลือดแล้ว (Asiedu *et al.*, 1996) ยังทำให้ LDL ของหนูเหล่านี้ถูกออกซิไดส์ได้ยากขึ้น ทั้งนี้ เนื่องจากสารต้านออกซิเดชันชนิดนี้สามารถแทรกตัวเข้าไปปกป้องภายในโมเลกุลของ LDL นั่นเอง (Muna *et al.*, 2002)

นอกจากสารสังเคราะห์ที่กล่าวมาแล้ว ยังมีรายงานว่า ยาในกลุ่ม statins อย่างเช่น fluvastatin (Leohardt *et al.*, 1997) และ atorvastatin (Aviram *et al.*, 1998) ซึ่งไม่เพียงแต่ลดระดับไขมันในเลือดได้ เนื่องจากสามารถยับยั้ง 3-hydroxy-3-methyl glutaryl CoA reductase (HMG-CoA reductase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ในปฏิกิริยาหลัก (rate-limiting step) ของวิถีการสังเคราะห์ คอเลสเทอรอล (Bocan *et al.*, 1998b) เท่านั้น แต่สามารถป้องกันการเกิดออกซิเดชันของ LDL ได้ดี จากการศึกษาของ Rikitake และคณะ (2001) พบว่าเมื่อนำ fluvastatin มาทดสอบในกระต่ายที่ได้รับอาหารซึ่งมีปริมาณคอเลสเทอรอลสูง ยาดังกล่าวสามารถลดระดับของ superoxide ในกระแสเลือด และการเกิด plaque ในกระต่ายเหล่านี้ได้เป็นอย่างดี นอกจากนี้ LDL ที่แยกได้ยังถูกออกซิไดส์ได้ยากขึ้นด้วย

Hussein และคณะ (2001) ได้ศึกษาผลของการใช้ยา cholestyramine ซึ่งรบกวนการดูดซึมของไขมันบริเวณลำไส้เล็กในเด็กที่มีระดับไขมันในเลือดสูง เนื่องจากพันธุกรรม (heterozygous familial hypercholesterolemia, FHHe) พบว่า นอกจากระดับคอเลสเทอรอลในเลือดลดลงแล้ว LDL ของเด็กที่ได้รับยานี้ติดต่อกันเป็นเวลา 4 เดือน สามารถต้านการเกิดออกซิเดชันได้ดี เนื่องจากยาไปเพิ่มปริมาณสารต้านออกซิเดชันที่สำคัญ 2 ชนิด คือ บีตาแคโรทีน (β-carotene) และ lycopene ภายในไลโปโปรตีนดังกล่าว นอกจากนี้ taurine สารอนุพันธ์ของกรดอะมิโนไกลซีน (glycine) ที่มีกำมะถันเป็นส่วนประกอบ ซึ่งล่าสุดมีรายงานว่า การได้รับสารนี้ช่วยป้องกันโรคหัวใจ (ischemic heart disease) ได้ (Yamori *et al.*, 2001 อ้างโดย Murakami *et al.*, 2002) เมื่อนำ taurine มาป้อนให้กระต่ายสายพันธุ์ Watanabe พบว่า ถึงแม้ taurine ไม่มีผลต่อระดับคอเลสเทอรอลในเลือด แต่สามารถชะลอการเกิดภาวะหลอดเลือดแดงแข็งในกระต่ายเหล่านี้ได้ดี ทั้งนี้ เนื่องจากความสามารถต้านออกซิเดชันของสารดังกล่าว (Murakami *et al.*, 2002)

ในปี ค.ศ. 1998 Chomard และคณะ พบว่า ฮอร์โมนจากต่อมไทรอยด์ (thyroid hormones) รวมทั้งอนุพันธ์ต่าง ๆ (thyromimetic analogues) เมื่อเข้าจับจำเพาะกับโปรตีนในโมเลกุล LDL แล้ว สามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของ LDL ในหลอดทดลองได้ดี เนื่องจากโครงสร้าง 4′-hydroxy diphenyl ether ในโมเลกุลของฮอร์โมน นอกจากนี้ จากการศึกษาผลของฮอร์โมน androgens ในกระต่ายที่ผ่าตัดเอาอัณฑะออก (castration) ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีคอเลสเทอรอลสูง เป็นเวลา 30 สัปดาห์ (cholesterol-fed rabbits) โดย Alexandersen และคณะ (1999) พบว่า ฮอร์โมน androgens ทั้งชนิด androsterone และ testosterone ยับยั้งการเกิดภาวะหลอดเลือดแดงแข็งในกระต่ายเหล่านี้ โดยประเมินจากระดับของไขมัน และ LDL ในเลือดที่ลดลง รวมทั้งมีการสะสมของคอเลสเทอรอลภายในหลอดเลือดแดงใหญ่ที่ออกจากหัวใจ น้อยกว่ากลุ่มควบคุมซึ่งไม่ได้รับฮอร์โมน

เป็นที่ทราบกันดีว่า วิตามินอี และวิตามินซี นั้น สามารถยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของ LDL โดยเฉพาะวิตามินซีสามารถยับยั้งกระบวนการดังกล่าวได้ดีกว่าวิตามินอี เนื่องจากสามารถดักจับอนุมูลอิสระต่างๆ ได้หลายชนิด ในขณะที่วิตามินอีนั้นบางครั้งอาจกลายเป็นโปรออกซิแดนท์ช่วยส่งเสริมปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันได้ (Restsky *et al.*, 1999; Carr *et al.*, 2000) จากการทดลองเสริมวิตามินอี และวิตามินซีให้กับกระต่ายที่ได้รับอาหารที่มีคอเลสเทอรอลผสมอยู่ด้วย เป็นเวลา 11 สัปดาห์ โดย Mahfouz และคณะ (1997) พบว่า ถึงแม้วิตามินทั้งสองชนิดจะไม่มีผลต่อภาวะคอเลสเทอรอลในเลือดของกระต่ายเหล่านี้ แต่ปริมาณของไขมันในเลือดที่ถูกออกซิไดส์ลดลงอย่างชัดเจน วัดได้จากระดับของ MDA และ cholesterol oxides รวมทั้งการเกิด atherosclerotic lesions ซึ่งสะท้อนถึงความรุนแรงของภาวะหลอดเลือดแดงแข็ง ก็น้อยลงด้วย

นอกจากสารสังเคราะห์ที่กล่าวมาแล้วข้างต้น ยังมีรายงานการค้นพบสารต้านออกซิเดชัน ที่สกัดได้จากพืช ผัก และผลไม้ นานาชนิด สารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติเหล่านี้ ส่วนใหญ่โครงสร้างเป็นสารประกอบฟีนอล (phenolic compounds) และมีอยู่จำนวนมากที่จัดเป็นแบบโพลีฟีนอล (polyphenol) ซึ่งประกอบด้วยหมู่ aromatic hydroxyl (Ar-OH) ตั้งแต่ 2 หมู่ขึ้นไป หมู่เคมีเหล่านี้มีบทบาทสำคัญในการกำจัดอนุมูล

อิสระต่าง ๆ (*free radical scavenging*) ไม่ให้ไปกระตุ้นหรือก่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ โดยการให้อนุมูล $H^{\bullet}$ แก่อนุมูลอิสระเหล่านั้น (Van Acker *et al.*, 2000) 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) ได้อีกด้วย (Sánchez-Moreno *et al.*, 2000) สารสกัดเหล่านี้ ซึ่งมีฤทธิ์ต้านภาวะหลอดเลือดแดงแข็งได้ดี นับวันจะได้รับความสนใจเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ เนื่องจากกระแสความคิดของการกลับสู่ธรรมชาติ (back to the nature) และความตื่นตัวในการดูแลสุขภาพตนเองของประชากรทั่วโลก (Parthasarathy *et al.*, 1999b) ตัวอย่างเช่น Prasad และคณะ (1997) ศึกษาผลของ Purpurogallin ซึ่งสกัดได้จากส่วนของต้นโอ๊ค (nutgalls) หลายชนิด ในกระต่ายที่มีคอเลสเทอรอลในเลือดสูง พบว่า สามารถลดระดับคอเลสเทอรอลในเลือด และลดการเกิด atherosclerotic plaque บริเวณผิวหน้าของผนังหลอดเลือดแดงได้ จากการออกฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลดังกล่าว นอกจากนี้ สารสกัด proanthocyanidins จากเมล็ดองุ่น (Yamakoshi *et al.*, 1999) เมื่อนำมาป้อนให้กระต่ายที่ได้รับคอเลสเทอรอลในปริมาณสูงจากอาหาร พบว่า สามารถยับยั้งภาวะหลอดเลือดแดงแข็งได้ ซึ่งเป็นผลจากการต้านออกซิเดชันของ LDL ภายในผนังหลอดเลือดของสารสกัดชนิดนี้ นั่นเอง

การนำสารสกัดจากเหง้า (rhizome) ของขมิ้นชัน (*Curcuma longa* L.) (tumeric hydroalcoholic extract) ซึ่งมี curcumin (diferulomethane) เป็นองค์ประกอบหลัก มาป้อนให้กระต่ายซึ่งกินอาหารที่มีปริมาณ คอเลสเทอรอลสูง พบว่า กระต่ายที่ได้รับสารสกัดดังกล่าวมีระดับของคอเลสเทอรอล ฟอสฟอกลีเซอไรด์ (phosphoglycerides) และไตรกลีเซอไรด์ในเลือด ต่ำกว่ากระต่ายที่ไม่ได้รับสารสกัด รวมทั้ง LDL ที่แยกได้ยังถูกออกซิไดส์ได้ยากขึ้นด้วย (Ramirez–Tortosa *et al.*, 1999) นอกจากนี้ยังมีรายงานของสารสกัดจากว่านชักมดลูก (*Curcuma comosa*) ซึ่งสามารถลดระดับคอเลสเทอรอลในกระแสเลือดของแฮมสเตอร์ (hamster) (Piyachaturawat *et al.*, 1999) และสารสกัดจากขมิ้นชัน (*Curcuma domestica*, Valeton) ซึ่งสามารถลดระดับไขมันภายในหลอด

เลือดแดงที่ออกจากหัวใจ รวมทั้งชะลอการสะสมของคอเลสเทอรอลในหลอดเลือดบริเวณดังกล่าวของหนูตะเภา (guinea pig) ได้เป็นอย่างดี (Ahmad-Raus *et al.*, 2001)

สารสกัดจากใบหม่อน (mulberry) ซึ่งมีสารต้านออกซิเดชันคือ isoquercitin เป็นองค์ประกอบหลัก พบว่า เมื่อนำมาป้อนให้กับกระต่ายที่มีระดับคอเลสเทอรอลในเลือดสูงสามารถลดระดับไขมันในเลือด ตลอดจนความหนาของชั้น intima ภายในผนังหลอดเลือดของกระต่ายได้ดี (Doi *et al.*, 2000) นอกจากนี้ การนำสารสกัดจากขิง (ginger extract) ที่ประกอบด้วยสารประกอบโพลีฟีนอล 3 ชนิด ได้แก่ gingerols, shogaols และ zingerone (Furhman *et al.*, 2000) กับสารสกัดจากชาเขียวซึ่งอุดมไปด้วยสารต้านออกซิเดชันคือ cathechins (Miura et al., 2001) มาป้อนให้หนูที่มี apoprotein E บกพร่อง (apolipoprotein E-deficient mice) พบว่า สามารถป้องกันภาวะหลอดเลือดแดงแข็งได้จากการต้านออกซิเดชันของ LDL โดยสารออกฤทธิ์ที่มีอยู่ในสารสกัดเหล่านี้ สารสกัดจากรากชะเอม (*Glycyrrhiza glabra*) สามารถชะลอภาวะหลอดเลือดแดงแข็งในผู้ป่วยที่มีระดับคอเลสเทอรอลในเลือดสูงกว่าปกติ โดยการลดปริมาณไขมันในหลอดเลือด ทำให้ LDL ถูกออกซิไดส์ได้ยากขึ้น และลดแรงดันเลือด (systolic blood pressure) (Fuhrman *et al.*, 2002) และน้ำคั้นที่ได้จากผลของ Rosa roxburghii tratt สามารถป้องกันภาวะหลอดเลือดแดงแข็งได้ทั้งในกระต่ายและนกกระทา เนื่องจากมีสมบัติต้านออกซิเดชันของ LDL ตลอดจนยับยั้งการก่อตัวของ foam cell จากการสะสมของคอเลสเทอรอลเอสเทอร์ใน macrophage (Zhang *et al.*, 2001) นอกจากสารสกัดจากพืชชั้นสูงแล้ว สารสกัดจากเห็ดหอยนางรม (oyster mushroom) (*Pleurotus ostreatus*) ยังสามารถต้านภาวะหลอดเลือดแดงแข็งในหนู (rat) ได้ จากการลดระดับของคอเลสเทอรอลในเลือด ทั้งในส่วนของ VLDL และ LDL (Bobek *et al.*, 1998)

สำหรับ สารต้านออกซิเดชันจากพืชในตระกูล Garcinia นั้น ยังมีการศึกษากันไม่กว้างขวางนัก จากรายงานของ Yoshikawa และคณะ ในปี ค.ศ. 1994 พบว่า สารสกัดเมธานอล (methanol extract) ของ เปลือกมังคุด (*G. mangostana* L.) ซึ่งประกอบด้วยแซนโธน สำคัญ 2 ชนิด คือ α-mangostin กับ γ-mangostin สามารถดักจับอนุมูลอิสระได้ดีกว่า BHA และวิตามินอี เมื่อทดสอบด้วยวิธี ferric thiocyanate (FTC method) และต่อมา Williams กับคณะ (1995) ได้นำ Mangostin มาทดสอบฤทธิ์ต้านปฏิกิริยา

ออกซิเดชันของ LDL โดยใช้ Cu^{2+} และใช้ α,α'- azobutyramidine dihydrochloride (AAPH) เป็นสารก่อปฏิกิริยา พบว่า สามารถยับยั้งปฏิกิริยาทั้งสองแบบได้ผลดี นอกจากนี้ Mahabusarakam และคณะ (2000) ได้สังเคราะห์อนุพันธ์ต่าง ๆ ของ Mangostin ขึ้นแล้วนำมาทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันทั้งของ 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 มีฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันด้อยกว่า Mangostin แต่สารอนุพันธ์ที่มีหมู่ aminoethyl สามารถกระตุ้นฤทธิ์ต้านออกซิเดชันได้เพิ่มขึ้น ซึ่งอาจเกี่ยวข้องกับความสามารถละลายน้ำของสารอนุพันธ์ Mangostin ชนิดนี้ นอกจากสารประกอบแซนโธนจากเปลือกมังคุดแล้ว ยังมีรายงานว่า แซนโธนชนิดต่าง ๆ ที่แยกได้จากเนื้อไม้ของต้น *G. subelliptica* สามารถยับยั้งอนุมูล $DPPH^{\bullet}$ และ $O_2^{\cdot-}$ ในหลอดทดลองได้ดี (Minami *et al.*, 1994, 1995, 1996) รวมทั้งสารสกัดเมธานอลจากใบ ราก และ เปลือก ของส้มแขก (*G. atroviridis*) ซึ่งทั้งหมดแสดงฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของ linoleic acid กับ Fe^{2+} ได้ผลดีกว่าวิตามินอี (Mackeen *et al.*, 2000) สารประกอบ garcinol จากส่วนเปลือกผลของ *G. indica* ยังแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดี นอกเหนือจากยับยั้งเนื้องอก (anti tumor activity) และการเกิดแผล (anti ulcer activity) (Yamaguchi *et al.*, 2000a; 2000b; Sang *et al.*, 2001) ต่อมา Farombi และคณะ (2000, 2002) ได้ศึกษาผลของสารสกัดจากเมล็ดของ *G. kola* โดยชักนำให้มีการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันในหนู พบว่า สารสกัดฟลาโวนอยด์ที่แยกได้ (kolaviron) มีสมบัติต้านออกซิเดชันโดยการดักจับอนุมูลอิสระและยังทำหน้าที่เป็น hepatoprotective agent ซึ่งได้ผลดีเทียบเท่ากับ BHA และล่าสุด Terashima กับคณะ (2002) ยังค้นพบ garcinoic acid จาก *G. kola* ซึ่งมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่ดี นอกจากนี้ สารสกัดที่ได้จากผลของส้มแขก *G. cambogia* ยังมีผลยับยั้งการสะสมของไขมันภายในเซลล์ไขมัน (fat cell) (Hasegawa, 2001) และสามารถลดระดับไขมันของหนู (rat) ที่มีระดับคอเลสเทอรอลในเลือดสูงได้ดี (Koshy *et al.*, 2001)

1.3 มะพูด

มะพูด (*Garcinia dulcis* Kurz) เป็นไม้ยืนต้นอยู่ในวงศ์ Guttiferae เช่นเดียวกับมังคุด ชะมวง นวล (ชะแมง) และพะวา เป็นต้น มะพูด จัดเป็นไม้ผลทรงพุ่มใหญ่ สูงราว 15 เมตร แตกกิ่งก้านออกสองข้างของลำต้นเป็นฉัตรคล้ายกับมังคุด เปลือกลำต้นหนา สีออกคล้ำ กิ่งค่อนข้างเหนียว ใบสีเขียวเข้มหนา มีลักษณะเป็นรูปไข่ที่มีส่วนปลายแหลมคล้ายหอก ใบอ่อนแตกเป็นคู่สลับกันไปจากโคนถึงปลายกิ่ง ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด โดยจะเริ่มผลิดอกหลังจากงอกแล้ว 5-6 ปี ดอกจะออกเป็นช่อเล็ก ๆ ตามกิ่ง กลีบเล็กหนาสีเขียวอมเหลือง ผลขนาดเท่าผลแอปเปิ้ล มีทั้งที่เป็นผลเดี่ยวและเป็นพวง ผลที่ยังอ่อนอยู่จะมีสีเขียวอ่อน ทรงกลมป้อม ผิวค่อนข้างหนาเป็นมัน ผลสุกมีสีเหลืองออกแสดซึ่งจะเข้มขึ้นเมื่อผลแก่จัด เนื้อในของผลมะพูดมีรสหวานอมเปรี้ยว ลักษณะเป็นเส้นใยนุ่มสีเหลืองประกบกันคล้ายกลีบ และมีเมล็ดรูปร่างแบน ๆ ขนาดเท่าเล็บมือ จำนวน 4–5 เม็ด ฝังอยู่ภายใน มะพูดชอบดินร่วนเหนียวริมน้ำ สามารถขึ้นได้ดีใต้ร่มใบ ดังนั้น จึงพบไม้ชนิดนี้ได้ตามป่าดงดิบแล้ง และป่าโปร่งทั่วไป ในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (ประเสริฐ สองเมือง, 2538; วุฒิ วุฒิธรรมเวช, 2540) ลักษณะทั่วไปของต้น ใบ และผลของมะพูด ดังแสดงในรูปที่ 5

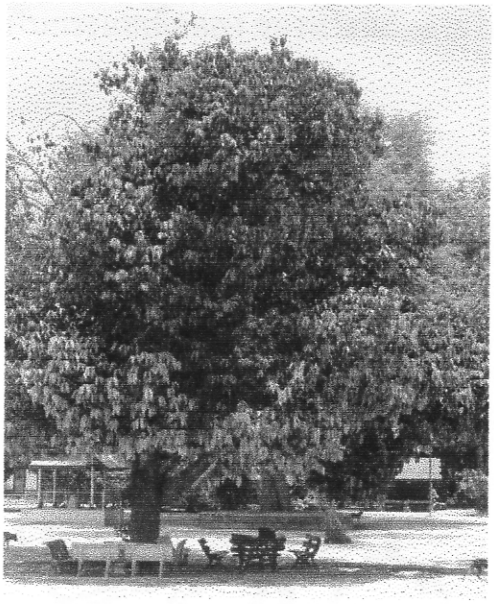
ในตำราสมุนไพรไทยระบุว่า สารสกัดจากส่วนต่างๆ ของมะพูดสามารถใช้รักษาอาการผิดปกติต่าง ๆ ได้ดี เช่น เปลือกลำต้นมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อ (มาโนช วามานนท์ และเพ็ญนภา ทรัพย์เจริญ, 2540) ในขณะที่ น้ำคั้นจากผลมีสรรพคุณ แก้ไอ ขับเสมหะ แก้เจ็บคอ และแก้เลือดออกตามไรฟัน ส่วนน้ำคั้นจากราก ใช้ลดไข้ แก้ร้อนใน และถอนพิษผิดสำแดง (วุฒิ วุฒิธรรมเวช, 2540) นอกจากนี้ ในประเทศอินโดนีเซียยังมีการใช้ประโยชน์จากสารสกัดของใบ และเมล็ดมะพูด ในการรักษาโรคคางทูม ต่อมน้ำเหลืองอักเสบ และคอพอก (struma) อีกด้วย (Kasahara and Henmi, 1986)

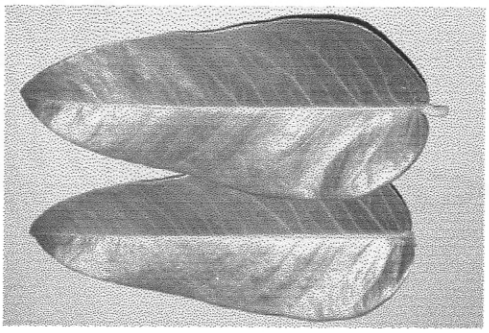
จากผลการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากส่วนต่าง ๆ ของมะพูด พบว่า มีสารประกอบกลุ่มแซนโธน และฟลาโวนอยด์อยู่หลายชนิด ดังนี้ เริ่มต้นในปี ค.ศ. 1976 Ansari และคณะ ได้แยกสารประกอบ biflavonoids และ flavonone-chromone ออกมาจากใบมะพูด ในอีกหลายปีต่อมา Harrison และคณะ (1994) อ้างโดย Peres และคณะ (2000) และ Chanmahasatien (1996) สามารถแยกสารในกลุ่มไตรเทอร์ปีนอยด์

Central Library
Prince of Songkla University

(triterpenoids) คือ oleanolic acid กับสารผสมกลุ่มสตีรอยด์ (steroids) คือ β-sitosterol กับ stigmasterol และสารอนุพันธ์แซนโธน 5 ชนิด ได้แก่ 1,7-dihydroxyxanthone, 12b–hydroxy–des-D-garcigerrin A, 1-0-methylsymphoxanthone, symphoxanthone และ garciniaxanthone E ได้จากสารสกัดคลอโรฟอร์ม (chloroform extract) ของเปลือกลำต้นมะพูด ซึ่งภายหลังพบว่า สารประกอบแซนโธนทั้ง 5 ชนิดดังกล่าว สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Plasmodium falciparum* ที่ก่อให้เกิดโรคไข้จับสั่น (malaria)ได้ผลดี โดยมีค่า IC_{50} ระหว่าง 0.96 ถึง 3.88 μg/ml (Likhitwitayawuid *et al.*, 1998b) Iinuma และคณะ (1996a) รายงานว่า พบสารแซนโธนถึง 14 ชนิด ทั้งในเปลือกลำต้นและรากของมะพูด และยังแยกสารชนิดใหม่ออกมาได้ถึง 5 ชนิด คือ dulciol A จากเปลือก 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 garciduols A-C และสารแซนโธนใหม่อีกหนึ่งชนิดคือ 1,3,6–trihydroxy-7-methoxyxanthone เพิ่มขึ้น จากส่วนรากของมะพูด (Iinuma *et al.*, 1996b) นอกจากนี้ Ito และคณะ (1997) แยกได้สารประกอบ depsidone ชนิดใหม่คือ garcinisidone-A และแซนโธนใหม่อีก 6 ชนิดได้แก่ assiguxanthone-A, -B, dulxanthone-A, -B, -C, -D และสารประกอบ pyranoxanthones ใหม่ 4 ชนิด คือ latisxanthone-A, -B, -C และ –D รวมทั้ง xanthone, benzophenone, chromone และอนุพันธ์ biflavonones ต่าง ๆ จากสารสกัดเอธานอล (ethanol extract) ของเปลือกก้านมะพูด และล่าสุด Kosela และคณะ (1999; 2000) สามารถแยกสารแซนโธนชนิดใหม่คือ pyranoxanthones และ dulxanthones E-H ได้จากใบของพืชชนิดนี้

นอกจากนี้ สาร biflavonoids บริสุทธิ์ 2 ชนิด ที่แยกได้จากใบ (GXM) และผล (ES1.2) ของมะพูด ยังสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ทั้งสายพันธุ์ที่ไวต่อยา methicillin และสายพันธุ์ที่ดื้อต่อยา methicillin (MRSA) (วิลาวัลย์ มหาบุษราคัม และคณะ, 2545) และต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของ LDL คน ในหลอดทดลองได้ดีกว่าวิตามินอี (สุญาณี คงคาช่วย และคณะ, 2544)





รูปที่ 5 ลักษณะทั่วไปของต้นและใบมะพูด

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาความสามารถต้านภาวะหลอดเลือดแดงแข็งในกระต่ายที่ถูกกระตุ้นให้มีระดับคอเลสเทอรอลในกระแสเลือดสูง ของสารสกัดจากใบมะพูด