บทที่ 1

บทนำ

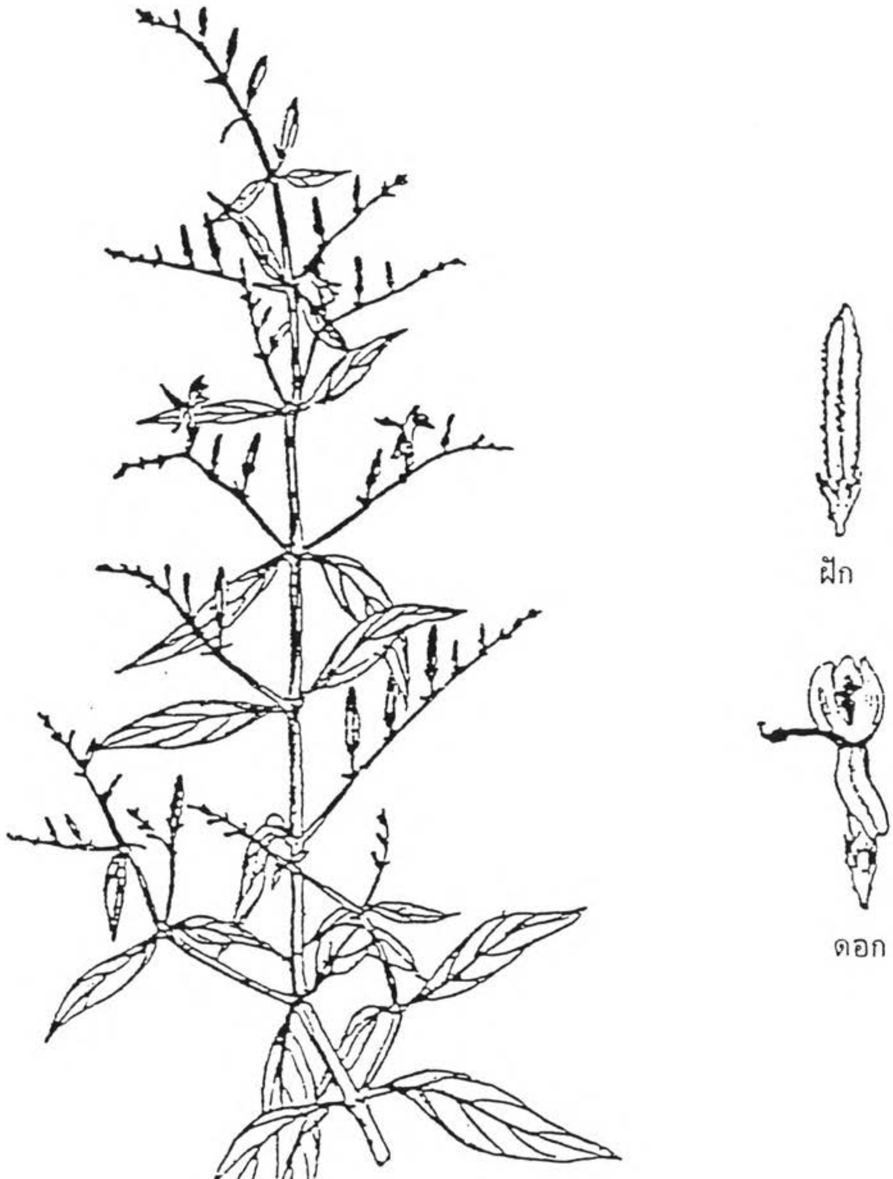
ฟ้าทะลายโจร

ฟ้าทะลายโจรหรือ *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Wall. ex Nees เป็นพืชในวงศ์ Acanthaceae มีชื่อเรียกอย่างอื่น ได้แก่ น้ำลายพังพอน (กรุงเทพมหานคร) หญ้ากันงู (สงขลา) จีนเรียก ชวงชิมน้อย คีปังฮี่ เจ็กเกี้ยงฮี่ โข่วเช่า ซิปังกี และมีชื่อเรียกภาษาอังกฤษว่า Kalmegh, The Creat, Creyat Root, Halviva,Kariyat, Green Chiretta และ Kreat เป็นต้น (พเยาว์ เหมือนวงษ์ญาติ, 2532)

ก. <u>ลักษณะทางพฤกษศาสตร์</u>

ฟ้าทะลายโจร เป็นพืชตระกูลเดียวกับต้อยติ่งและทองพันชั่ง เป็นต้นไม้ล้มลุก สูงประมาณ 40-70 เซนติเมตร ลำต้นตรง ส่วนปลายกิ่งเป็นสี่เหลี่ยมกิ่งใบสีเขียวแก่ แตกกิ่งก้านออกด้านข้าง ใบจะออกตรงข้ามกันเป็นคู่ ๆ ก้านใบสั้นมากหรือไม่มีก้านใบ แผ่นใบรูปยาวรี ปลายเรียวแหลม โคนแหลม ขอบใบเรียบหรือมีรอยหยักน้อย ๆ มีขนาดกว้าง 1-3 เซนติเมตร ยาว 2.5-3 เซนติเมตร ผิวใบเป็นมัน เกลี้ยงทั้งสองด้าน ดอกจะออกเป็นช่อที่ยอดและตามง่ามใบ ช่อดอกยาว 0-6 เซนติเมตร กลีบรองดอกสีเขียว ยาวประมาณ 3 มิลลิเมตร ส่วนโคนเชื่อมติดกัน ปลายแยกเป็นกลีบแหลม ๆ 5 กลีบ มีขน กลีบดอกสีขาว โคนเชื่อมติดกันเป็นหลอด ปลายแยกเป็นสองกลีบใหญ่ ๆ กลีบบนใหญ่กว่ากลีบล่างมี 3 หยักและมีจุดสีม่วงแดง ปลายกลีบล่างมีสองหยัก เกสรตัวผู้สองอันติดกับกลีบดอก ก้านเกสรมีขน อับเรณูสีม่วงดำ รังไข่มีหนึ่งอัน ท่อเกสรตัวเมียจะเรียวยาว ผลเป็นฝักมีขนาดกว้าง 3-5 มิลลิเมตร ยาวประมาณ 1.5 เซนติเมตร มีร่องลึกตามยาว ฝักแก่จะแตกออกเป็นสองซีก ภายในมีหลายเมล็ด เมล็ดมีรูปร่างค่อนข้างจะเป็นสี่เหลี่ยม แข็ง สีเหลืองถึงน้ำตาลเข้ม ค่อนข้างโปร่งแสง (รูปภาพที่ 1) (พเยาว์ เหมือนวงษ์ญาติ, 2529; สำนักงานคณะกรรมการสาธารณสุขมูลฐาน, 2529; โครงการสมุนไพรเพื่อการพึ่งตนเอง, 2532)

ฟ้าทะลายโจร เป็นสมุนไพรที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในภาคพื้นเอเชีย ปลูกขึ้นง่าย สามารถปลูกได้ทุกฤดูกาล ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด (โครงการสมุนไพรเพื่อการพึ่งตนเอง, 2532) โดยการนำเอาเมล็ดที่แกะออกจากฝักแก่ ไปโปรยทิ้งไว้ก่อนฤดูฝนก็จะขึ้นเองและ



รูปภาพที่ 1 ลักษณะลำต้น ใบ ฝัก และดอกของฟ้าทะลายโจร
(Andrographis paniculata).

สามารถเก็บเกี่ยวมาใช้ได้ ระยะเวลาที่ปลูกประมาณ 3-5 เดือน ถ้าจะให้ดีควรเก็บในขณะที่ต้นเริ่มออกดอกเนื่องจากเป็นระยะที่มีฤทธิ์ดีที่สุด (โครงการสมุนไพรเพื่อการพึ่งตนเอง, 2528) ส่วนของฟ้าทะลายโจรที่นำมาใช้เป็นยาคือ ใบและส่วนที่อยู่เหนือดิน ซึ่งมีปริมาณสารสำคัญประเภทแลคโตนสูง (นาถฤดี สิทธิสมวงศ์, 2532; อ้อมบุญ ล้วนรัตน์, 2534)

ฟ้าทะลายโจร เป็นพืชสมุนไพรที่ชาวจีนใช้กันมานานมาก ปรากฏในเภสัชตำรับของประเทศจีนในชื่อ ชวนซินเหลียน ส่วนที่ใช้คือต้นแห้ง (ไม่มีราก) เก็บในช่วงต้นฤดูใบไม้ร่วง นำมาล้างให้สะอาด หั่น ตากแห้ง ซึ่งในเภสัชตำรับได้กำหนดไว้ว่าต้องมีใบไม่ต่ำกว่า 30 % (อ้อมบุญ ล้วนรัตน์, 2534) ได้มีการสกัดสมุนไพรฟ้าทะลายโจรมาใช้เป็นยาแผนปัจจุบันหลายรูปแบบ เช่น ยาเม็ด ยาฉีด เป็นต้น ตัวอย่างยาเม็ดของจีน ได้แก่ Kang Yan Tablets, Chuanxinlian Tablets และ Chuanxinlian Antiphlogistic Pill สำหรับยาฉีดมีชื่อว่า Yamdepieng และ Chuanxinlian Ruangas Injection (พเยาว์ เหมือนวงษ์ญาติ, 2529) สารสกัดจากฟ้าทะลายโจรที่ทำเป็นยาแผนปัจจุบันเหล่านี้ ใช้ในการรักษาอาการทางคลินิก เช่น ไข้หวัดใหญ่ การติดเชื้อของทางเดินหายใจส่วนต้น bacillary dysentery และ leptospirosis ซึ่งมีผลการรักษาค่อนข้างดี

ในประเทศไทย รูปแบบของยาเตรียมจะเป็นลูกกลอน แคปซูลใส่ผงของใบฟ้าทะลายโจรขนาด 250 มิลลิกรัมและยาเม็ดฟ้าทะลายโจรขนาด 250 มิลลิกรัมโดยโรงงานเภสัชกรรมทหาร กรมการอุตสาหกรรมทหาร กระทรวงกลาโหม ซึ่งมีสรรพคุณในตำรับยาไทยหลายประการ เช่น ใช้ทั้งต้นขับเสมหะภายหลังผ่าตัดทอนซิลอักเสบ ส่วนของใบใช้แก้ไข้ แก้บิด แก้ท้องเสีย เป็นยาบำรุง แก้ฝี แก้แผลบวมอักเสบ แก้งูสวัดและเริม เป็นต้น

ปริมาณสารสำคัญในใบของฟ้าทะลายโจรขึ้นอยู่กับระยะเวลาในการเก็บเกี่ยวและสถานที่ที่ใช้ปลูก จากการศึกษาปริมาณของสารประกอบไดเทอร์ปีนอยด์แลคโตนในใบของสมุนไพรฟ้าทะลายโจรที่เก็บเกี่ยวในแต่ละเดือน พบว่า มีดีไฮโดรแอนโดรกราโฟไลด์สูงสุดในเดือนเมษายน ต่ำสุดในเดือนธันวาคม แอนโดรกราโฟไลด์มีปริมาณสูงสุดในเดือนพฤศจิกายน ต่ำสุดเดือนกุมภาพันธ์ นีโอแอนโดรกราโฟไลด์มีปริมาณสูงสุดในเดือนธันวาคม ต่ำสุดในเดือนเมษายนและพฤษภาคม ส่วน deoxyandrographolide-19β-D-glucoside มีปริมาณสูงสุดในเดือนมีนาคม ต่ำสุดจนไม่สามารถตรวจวัดได้ในเดือนตุลาคมและพฤศจิกายน (ตารางที่ 1) (Nantikan Mahaverawat, 1990)

ตารางที่ 1 ปริมาณสารสำคัญประเภทไดเทอร์ปีนอยด์แลคโตนในใบของฟ้าทะลายโจรที่เก็บเกี่ยวในแต่ละเดือน

เดือนที่เก็บเกี่ยว	% ของสารสำคัญประเภทไดเทอร์ปีนอยด์แลคโตน			
	C-2	C-3	C-4	C-5
มกราคม	3.97	1.17	1.95	2.03
กุมภาพันธ์	4.18	0.82	1.51	3.22
มีนาคม	5.14	1.01	1.64	3.81
เมษายน	7.30	1.99	0.67	1.19
พฤษภาคม	4.43	3.01	0.66	0.71
มิถุนายน	5.52	3.13	0.93	1.06
กรกฎาคม	5.66	3.43	0.94	0.88
สิงหาคม	3.58	4.27	1.27	0.81
กันยายน	1.45	4.86	1.34	0.54
ตุลาคม	0.69	5.58	1.41	0.00
พฤศจิกายน	0.84	6.02	0.94	0.00
ธันวาคม	0.61	4.43	2.02	1.11

C-2 = 14-Deoxy-11,12-didehydroandrographolide

C-3 = Andrographolide

C-4 = Neoandrographolide

C-5 = Deoxyandrographolide-19β-D-glucoside

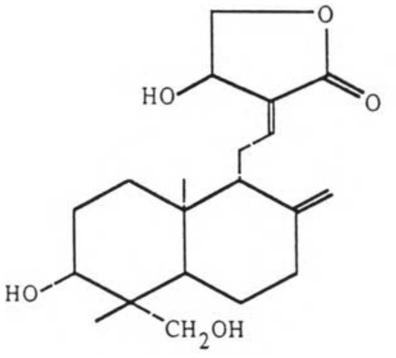
นอกจากนี้ ยังมีการศึกษาผลของการเก็บเกี่ยวและสถานที่ที่ใช้ในการปลูกต่อปริมาณสารสำคัญประเภทแลคโตนในฟ้าทะลายโจรพบว่าปริมาณสารสำคัญประเภทแลคโตนในต้นฟ้าทะลายโจรที่ปลูกในจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ มีมากกว่าต้นฟ้าทะลายโจรที่ปลูกในจังหวัดนครปฐม ปริมาณสารสำคัญประเภทแลคโตนมีสูงสุดในส่วนของใบ โดยจะมีปริมาณสูงสุดในระยะออกดอก ต่ำสุดในระยะติดฝักแก่ ส่วนของลำต้นมีปริมาณสารสำคัญประเภทแลคโตนต่ำสุดโดยจะมีปริมาณสารสูงสุดในระยะติดฝักแก่ (ตารางที่ 2) (นาถฤดี สิทธิสมวงศ์, 2532)

ตารางที่ 2 แสดงผลของการเก็บเกี่ยวและสถานที่ที่ใช้ในการปลูกต่อปริมาณสารสำคัญประเภทแลคโตนในฟ้าทะลายโจร

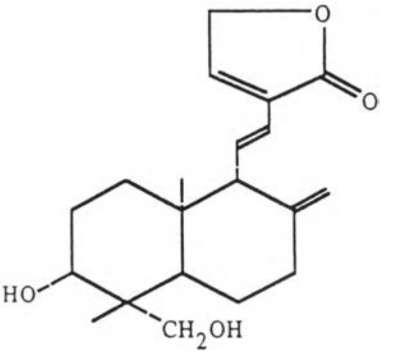
แปลงทดลอง	การเก็บเกี่ยว	ปริมาณสารสำคัญประเภทแลคโตน (%)		
		ทั้งต้น	ใบ	ลำต้น
นครปฐม	ก่อนออกดอก	6.09	6.80	2.28
	ออกดอก	7.31	9.81	2.06
	ติดฝักอ่อน	5.29	6.79	3.93
	ติดฝักแก่	4.80	6.44	4.67
ประจวบคีรีขันธ์	ก่อนออกดอก	7.05	9.54	3.02
	ออกดอก	9.79	12.52	5.81
	ติดฝักอ่อน	6.72	7.25	6.25
	ติดฝักแก่	5.54	6.63	6.89

ข. <u>ส่วนประกอบทางเคมี</u>

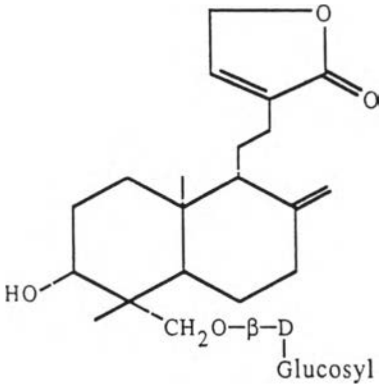
ในวงการแพทย์จีนและอินเดีย ได้ทำการศึกษาส่วนประกอบทางเคมีของสารออกฤทธิ์ที่สำคัญมาเป็นเวลานานและอย่างต่อเนื่อง พบว่า ในส่วนใบของฟ้าทะลายโจรมีสารออกฤทธิ์ในปริมาณมากที่สุดคือ สารประกอบในกลุ่มแลคโตน (lactone) สารออกฤทธิ์ที่สำคัญได้แก่ แอนโดรกราโฟไลด์ (andrographolide) ซึ่งเป็นสารประกอบประเภทแลคโตนตัวแรกที่ถูกค้นพบโดย Boorsma ในปี ค.ศ. 1896 สำหรับไดเทอร์ปีนอยด์แลคโตนตัวอื่น ๆ เช่น ดีออกซีแอนโดรกราโฟไลด์ (deoxyandrographolide) นีโอแอนโดรกราโฟไลด์ (neoandrographolide) 14-ดีออกซี-11,12-ไดดีไฮโดรแอนโดรกราโฟไลด์ (14-deoxy-11,12-didehydroandrographolide) และ พานิโคไลด์ (panicolide) (รูปภาพที่ 2) ส่วนรากของฟ้าทะลายโจรจะพบสารออกฤทธิ์ในกลุ่มเฟลโวน (flavone) มากที่สุด ได้แก่ พานิโคลิน (panicolin) แอนโดรกราฟิน (andrographin) mono-O-methylweightin และ apigenin-7,4-dimethylether (รูปภาพที่ 3) นอกจากนี้ยังมีสารในกลุ่มเฟลโวนบางตัวที่ยังไม่ทราบสูตรโครงสร้างทางเคมีแน่ชัด (สำนักงานคณะกรรมการสาธารณสุขมูลฐาน, 2529; ชัยโย ชัยชาญทิพยุทธ และคณะ , 2531; อ้อมบุญ ล้วนรัตน์, 2534)



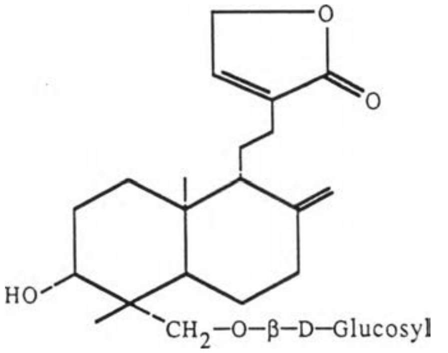
(I) Andrographolide



(II) 14-Deoxy-11,12-didehydroandrographolide

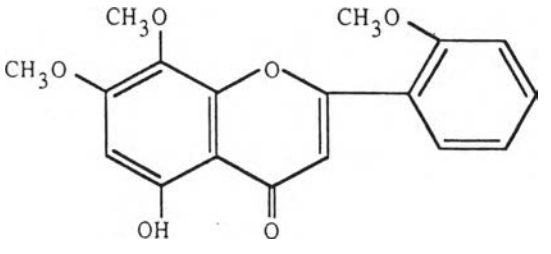


(III) Neoandrographolide

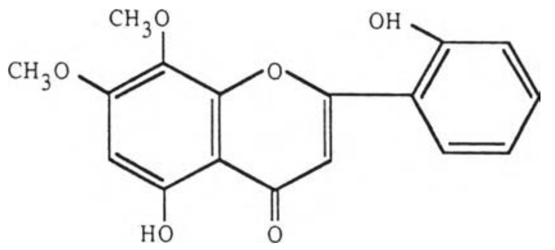


(IV) Deoxyandrographolide-19β-Glucoside

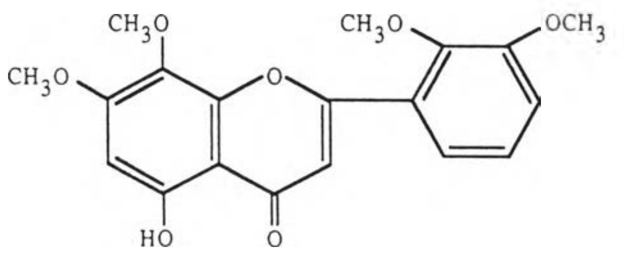
รูปภาพที่ 2 แสดงสูตรโครงสร้างทางเคมีของสารสำคัญประเภทแลคโตนในฟ้าทะลายโจร (อ้อมบุญ ล้วนรัตน์, 2534)



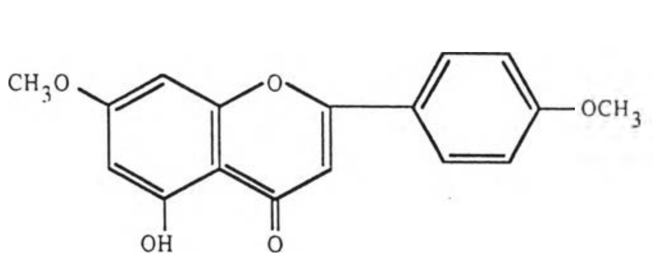
(I) Andrographin



(II) Panicolin



(III) Mono-O-Methylweightin



(IV) Apigenin-7,4'-Dimethylether flavone

รูปภาพที่ 3 แสดงสูตรโครงสร้างทางเคมีของสารสำคัญประเภทเฟลโวนในฟ้าทะลายโจร (อ้อมบุญ ล้วนรัตน์, 2534)

ค. รายงานผลทางคลีนิก

จากการรวบรวมผลการรักษาทางคลีนิกของฟ้าทะลายโจร ในการใช้สมุนไพร เล่มที่ 1 (ชัยโย ชัยชาญทิพยุทธ, วชิรา แดนตะวัน และสุนทรี วิทยานารถไพศาล, 2522) พบว่า ฟ้าทะลายโจรสามารถนำมาใช้รักษาโรคต่าง ๆ ได้หลายอย่าง เช่น

1. แก้โรคติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ เนื้อเยื่อในมดลูกอักเสบ และการติดเชื้อในระบบทางเดินหายใจส่วนบน ต่อมทอนซิลอักเสบทั้งเรื้อรังและเฉียบพลัน กระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบอย่างเฉียบพลัน เหงือกฟันอักเสบ ตลอดจนฝีเม็ดเล็ก ๆ แผลมีหนอง ซึ่งวิธีการรักษาแตกต่างกันไปตามความเหมาะสม

2. แก้ระบบทางเดินหายใจส่วนล่างและปอดอักเสบ โดยใช้สารสกัดจากต้นนี้ฉีดเข้ากล้าม ในผู้ใหญ่ฉีดวันละ 2-4 ครั้ง ส่วนเด็กอายุ 1 ขวบขึ้นไปที่เป็นโรคปอดอักเสบและหลอดลมอักเสบในระยะเริ่มแรก ใช้ฉีดเข้ากล้าม 2 มิลลิลิตร เด็กอายุต่ำกว่า 1 ขวบลงมาฉีด 1 มิลลิลิตร วันละ 2 ครั้ง ระยะเวลาการรักษานานที่สุด 14 วัน สั้นที่สุด 3 วัน

3. แก้ตับอักเสบ เป็นดีซ่านเฉียบพลัน โดยใช้ใบทำเป็นยาฉีดที่มีความเข้มข้น 100 % ฉีดเข้ากล้ามวันละ 1 ครั้ง ๆ ละ 2 มิลลิลิตร ขณะเดียวกันก็กินผงใบแห้งที่ทำเป็นยาเม็ดหนักเม็ดละ 0.2 กรัมควบคู่ไปด้วย จากการรักษาในคนไข้ 32 ราย ระยะเวลาในการรักษา 24-73 วัน พบว่า หายขาดจากโรค 10 ราย (คิดเป็น 31.2 % ของคนไข้ที่มารักษาทั้งหมด) อาการดีขึ้นอย่างเด่นชัด 15 ราย (46.7 %) อาการดีขึ้น 6 ราย (18.7%) ไม่ได้ผล 1 ราย(3.3 %) หลังจากให้ยานี้แล้วอาการไข้จะหายไปภายใน 2 อาทิตย์ อาการตัวเหลืองหายไปภายใน 4-24 วัน ตับที่โตจะคืนสู่สภาพปกติ 90.6 % และตับจะกลับทำงานเป็นปกติ 31.2 %

4. แก้เด็กที่มีระบบการย่อยอาหารไม่ดี เป็นบิดจากแบคทีเรีย ใช้สารสกัดเข้มข้น 20 % ฉีดตามจุดฝังเข็มวันละครั้ง เด็กอายุต่ำกว่า 2 ขวบ ฉีด 2 มิลลิลิตร อายุ 2-7 ขวบใช้ 3 มิลลิลิตร และ 7 ขวบขึ้นไปใช้ 4 มิลลิลิตร

5. ฆ่าพยาธิที่มีวงชีวิตช่วงหนึ่งอยู่ในหอยโดยใช้สารที่สกัดจากใบทำเป็นยาเม็ดหนักเม็ดละ 0.05 กรัม แต่ละเม็ดมีสารสกัดจากต้น 20 มิลลิกรัม ซึ่งจากการรักษาคนไข้ 76 ราย พบว่า หายจากโรค 72 ราย ไม่เห็นผล 4 ราย โดยทั่วไปถ้าใช้เวลาในการรักษา 3 วัน อาการจะลดลงอย่างเห็นได้ชัด ในระหว่างการรักษาไม่ปรากฏอาการพิษแต่อย่างไร

6. เด็กที่เป็นโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบในระยะเริ่มแรก ที่มีอายุ 2 - 4 ขวบ ให้กินต้นแห้ง 6.4 กรัมร่วมกับเกากัวฉ่าย (*Dicliptera chinensis* (L.) Nees) แห้ง 6.4 กรัม ต้มน้ำผสมน้ำตาลทรายกิน จากการศึกษาในคนไข้ 16 ราย พบว่า หลังการกินยาแล้วภายใน 5 วัน อาการไข้ลดลง อาการทั่วไปดีขึ้น

นอกจากนี้ ยังมีการใช้ฟ้าทะลายโจรในการรักษาโรคเรื้อนหรือแก้งูกัดโดยใช้ต้นสด 15 กรัมร่วมกับฆ้องสามย่าน (*Kalanchoe laciniata* DC.) ในการรักษาโรคผิวหนังอักเสบที่เกิดจากการแพ้ ผื่นคันที่เกิดจากความชื้น ซึ่งจากการรักษาคนไข้ 24 ราย ที่เป็นโรคผิวหนังอักเสบแบบลามได้ 7 ราย แบบไม่ลาม 9 ราย และพวกที่เป็นแบบเฉียบพลันและผื่นคันที่เกิดจากความชื้น 8 ราย ทำการรักษา 6-8 เดือน พบว่า มีผู้หายขาดจากอาการต่าง ๆ 4 ราย อาการดีขึ้นอย่างเด่นชัด 15 ราย และอาการดีขึ้น 5 ราย

ง. ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

การทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของฟ้าทะลายโจรในการต้านการอักเสบพบว่า สารสกัดอย่างหยาบด้วยแอลกอฮอล์ ขนาด 200 และ 500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม และสารสกัดอย่างหยาบด้วยน้ำขนาด 500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม สามารถยับยั้งอาการบวมของอุ้งเท้าหนูขาวได้ใกล้เคียงกับ prednisolone, indomethacin และ ibuprofen โดยยับยั้งการเคลื่อนที่ของเซลล์เม็ดเลือดขาวได้ใกล้เคียงกับ prednisolone และ ibuprofen และยังสามารถยับยั้งการเกิด granuloma จากการฝังสำลีเข้าที่บริเวณหน้าท้องหนูขาวเป็นเวลานาน 5 วัน โดยมีฤทธิ์ใกล้เคียงกับ ibuprofen (เสาวภา ลิมปีพานิชกุล, 2533)

สำหรับการศึกษาอื่นที่ยืนยันสรรพคุณของฟ้าทะลายโจรในการต้านการอักเสบ คือ การให้สารสกัดอย่างหยาบด้วยน้ำจากส่วนของใบในขนาด 20 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 100 กรัม แก่หนูขาว 1 ครั้ง ทางปาก จะมีฤทธิ์ต้านการอักเสบได้ โดยสามารถป้องกันอาการอักเสบบวมจากการกระตุ้นด้วย Carrageenan ในหนูขาวได้ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 65.3 % เมื่อเปรียบเทียบกับหนูขาวปกติและยามาตรฐาน (Tajuddin and Tariq, 1987) เมื่อให้สารสกัดด้วย 85% เอธานอล ทางปากหนูขาว พบว่า สามารถลดอาการบวมของอุ้งเท้าหนูได้ในทำนองเดียวกัน การให้สารสกัดด้วยน้ำจากต้นฟ้าทะลายโจร (0.5-2.5 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม) สารสกัดด้วย 50% เอธานอล (0.06-0.25 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม) และ 85% เอธานอล (1-2 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม) สามารถลดอาการบวมของอุ้งเท้าหนูได้ (กมล สวัสดีมงคล และคณะ, 2534)

สำหรับฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียของฟ้าทะลายโจรนั้นได้มีการศึกษาพบว่า สารสกัดด้วยน้ำจากส่วนรากของฟ้าทะลายโจรมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Staphylococcus aureus* ที่เป็นสาเหตุให้เกิดแผล ฝี และหนองได้ (Ray and Majumda, 1982) สำหรับสารสกัดด้วย 95% แอลกอฮอล์ จากใบของฟ้าทะลายโจร นอกจากจะยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ที่ทำให้เกิดแผลหรือหนองแล้ว

ยังสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* ในลำไส้ได้อีกด้วย (George and Pandalai, 1949) ส่วนสารสกัดด้วย 50% เมธานอล จากทั้งต้นของฟ้าทะลายโจรสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Proteus vulgaris* ที่เป็นสาเหตุของโรคแทรกซ้อนหลายอย่างได้ ซึ่งฤทธิ์ในการต้านการอักเสบและฤทธิ์ในการระงับการติดเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดหนองนี้ เป็นข้อมูลในการสนับสนุนให้มีการใช้ฟ้าทะลายโจรรักษาอาการบวมอักเสบและฝีหนองได้ในทางคลีนิก

สารสกัดด้วยน้ำและสารสกัดด้วย 50% หรือ 100% เอธานอล จากส่วนที่อยู่เหนือดินของฟ้าทะลายโจรขนาด 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถลดการหดเกร็งของกล้ามเนื้อลำไส้ส่วนปลายของหนูตะเภา ที่ถูกกระตุ้นให้มีการหดตัวด้วยอะซีติลโคลีน (Acetylcholine) แบเรียมคลอไรด์ (Barium Chloride) ฮีสตามีน(Histamine) และซีโรโทนิน (Serotonin) ได้ (กมล สวัสดีมงคล และคณะ, 2534) ซึ่งฤทธิ์ในการต้านการหดเกร็งของลำไส้นี้เอง ที่เป็นข้อมูลสนับสนุนการใช้ฟ้าทะลายโจรรักษาโรคท้องเสียและอุจจาระร่วงอย่างได้ผลดีในทางคลีนิก

นอกจากฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาดังได้กล่าวมาแล้ว ยังมีข้อมูลการวิจัยอื่นที่สนับสนุนการใช้ฟ้าทะลายโจรในการรักษาโรคบิดหรือโรคท้องร่วง ได้แก่ การศึกษาสารสกัดจากใบฟ้าทะลายโจรต่อฤทธิ์ในการลดการบีบตัวของลำไส้เล็กที่แยกออกจากกายของหนูตะเภา (โสภิต ธรรมอารี และคณะ, 2528)

จากการทดลองทางคลีนิกโดยใช้สมุนไพรฟ้าทะลายโจรทั้งต้นและใบอบแห้งบดใส่แคปซูลเปล่าขนาด 250 มิลลิกรัมพบว่า การให้ยาขนาด 1 กรัม ทุก 12 ชั่วโมงเป็นเวลา 2 วัน สามารถลดอาการของอุจจาระร่วง และจำนวนน้ำเกลือที่ให้ทดแทนได้อย่างน่าพอใจ เมื่อเปรียบเทียบกับยาเตตราซัยคลิน นอกจากนี้ยังพบว่าฟ้าทะลายโจรมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อบิดจากแบคทีเรีย พวกชิเกลล่าได้ดีกว่ายาเตตราซัยคลิน (ปัญจางค์ ธนังกูล และ ชัยโย ชัยชาญทิพยุทธ, 2530) แต่การใช้สารสกัดทั้งต้นของฟ้าทะลายโจรด้วยแอลกอฮอล์ 95% ในขนาด 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถกระตุ้นกล้ามเนื้อลำไส้ที่ตัดแยกออกจากกายของหนูตะเภาได้ (Nazimudeens, Ramaswamy, and Kameswaran, 1987)

ยังมีฤทธิ์ฆ่าพยาธิของฟ้าทะลายโจร โดยพบว่า สารสกัดด้วยแอลกอฮอล์ 95% จากทั้งต้นของฟ้าทะลายโจรทำให้พยาธิไส้เดือน (*Ascaris lumbricoides*) เป็นอัมพาตได้ภายใน 18 ชั่วโมง และตายภายใน 24 ชั่วโมง (Raj, 1975) ส่วนสารสกัดด้วยน้ำจากใบของฟ้าทะลายโจรจะมีฤทธิ์ต่อพยาธิ *Depetalonema reconditum* ทั้งในหลอดทดลอง และในสุนัข

โดยใช้ใบ 20 กรัมต้มกับน้ำ 60 มิลลิลิตร ซึ่งจากการทดลองในหลอดทดลอง พบว่า ได้ผลถึง 100 % ภายในเวลา 40 นาที และในสุนัขได้ผลถึง 85 % (Dutta and Sukul, 1982)

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของฟ้าทะลายโจรที่มีผู้ศึกษาอีกประการหนึ่ง คือ ฤทธิ์ในการลดความดันเลือด โดยพบว่าสารสกัดด้วย 95% แอลกอฮอล์ จากทั้งต้นของฟ้าทะลายโจรที่ฉีดเข้าหลอดเลือดดำของสุนัข สามารถลดความดันเลือดได้ถึง 50 มิลลิเมตรปรอท และเมื่อให้สารนี้ผ่านเข้าสู่หัวใจกบ (perfusion) ในปริมาณตัวละ 40 มิลลิกรัม จะสามารถกดการทำงานของหัวใจกบได้ (Nazimudeens et al., 1987) สารสกัดด้วยอีเธอร์จากใบของฟ้าทะลายโจรเมื่อฉีดเข้าทางหลอดเลือดดำของหนูขาว จะสามารถลดความดันเลือดได้เช่นกัน (Garcia et al.,1980) เมื่อให้สารสกัดด้วยน้ำขนาด 0.63 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ทางหลอดเลือดดำสุนัข มีฤทธิ์ในการลดความดันโลหิตและลดอัตราการเต้นของหัวใจสุนัขได้ (กมล สวัสดีมงคล และคณะ, 2534)

ในส่วนรากของฟ้าทะลายโจร พบว่า มีฤทธิ์ในการทำให้หนูถีบจักรเป็นหมันได้ (โครงการสมุนไพรเพื่อการพึ่งตนเอง, 2532) จากการผสมฟ้าทะลายโจรทั้งต้นในอาหารของหนูถีบจักรเพศผู้ โดยการป้อนให้หนูตัวละ 40 มิลลิกรัม มีผลทำให้หนูเพศผู้เป็นหมันได้ (Shamsuzzoha, Rahman, and Ahmed, 1979) ส่วนหนูถีบจักรเพศเมียที่ได้รับอาหารหนูผสมผงฟ้าทะลายโจรตากแห้งขนาด 2 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน เป็นเวลา 6 สัปดาห์ เมื่อนำไปผสมพันธุ์กับหนูถีบจักรเพศผู้พบว่า ไม่มีหนูถีบจักรเพศเมียตัวใดตั้งครรภ์ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งเป็นหนูถีบจักรเพศเมียที่ไม่ได้รับผงใบฟ้าทะลายโจรตากแห้งเมื่อนำไปผสมพันธุ์กับหนูถีบจักรเพศผู้ปรากฏว่ามีหนูถีบจักรเพศเมียที่ตั้งครรภ์ 95.2% และยังสามารถให้กำเนิดลูกหนูได้ตามปกติ (Zoha, Hussian, and Choudhury, 1989)

ผงใบของฟ้าทะลายโจรมีฤทธิ์ทำให้หนูขาวเป็นหมันได้ โดยมีฤทธิ์ไปยับยั้งการเจริญเติบโตของสเปิร์ม ซึ่งการให้ผงใบแห้งของฟ้าทะลายโจรทางปากหนูขาว ขนาด 20 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ทุกวัน เป็นเวลานาน 60 วัน มีผลทำให้การเจริญเติบโตของสเปิร์มหยุดชะงัก มีการเสื่อมลงของ seminiferous tubule และ leydig cells ก็มีการเจริญเติบโตที่ช้าลง อาจพบ epididymis, seminal vessicle, ventral prostate และ coagulating gland เจริญเติบโตช้า และ/หรือเสื่อมโทรมลงร่วมด้วย (Akbarsha et al., 1990) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาอื่นที่พบว่า 14-ดีออกซี-11,12-ไดดีไฮโดรแอนโดรกราโฟไลด์ มีฤทธิ์ในการยับยั้งการหดเกร็งของกล้ามเนื้อท่ออสุจิโดยไม่จำเพาะเจาะจงต่อ receptor ซึ่งอาจเกิดจากสารนี้ไปรบกวนการเคลื่อนที่ของแคลเซียมผ่านผนังเซลล์ (ศรีสุดา ไชยมงคล, 2535)

ฟ้าทะลายโจรยังมีฤทธิ์ต่าง ๆ ทางเภสัชวิทยาอีกมากมาย เช่น ฤทธิ์ในการลดไข้กระต่ายที่ได้รับไทฟอยด์วัคซีนเมื่อให้สารสกัดด้วย 85% เอธานอล ทางปากขนาด 2.5 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม (กมล สวัสดีมงคล และคณะ, 2534) ฤทธิ์ในการยับยั้งการเกิดแผลในกระเพาะอาหารอันเกิดจาก stress ในหนูถีบจักรและจากการให้แอสไพรินทางหลอดอาหารในหนูขาว ตลอดจนฤทธิ์ในการรักษาแผลในกระเพาะอาหารที่เกิดจากการฉีดกรดอะซีติคเข้มข้น 30% เข้าผนังกระเพาะอาหารหนูขาว (ประสาน ธรรมอุปกรณ์, อุมา กิติยานีและศิริมา พรสุวัฒนา, 2532)

แอนโดรกราโฟไลด์ (Andrographolide)

แอนโดรกราโฟไลด์ เป็นสารประกอบแลคโตนที่ถูกค้นพบเป็นตัวแรกโดย Boorsma ในปี ค.ศ. 1896 มีลักษณะเป็นผลึก ไม่มีสี เรียกว่า Andrographide ต่อมา Gorter ได้ทำการแยกสารประกอบนี้ให้บริสุทธิ์มากขึ้น และพบว่าเป็นสารประกอบประเภทไดเทอร์ปีนอยด์แลคโตน จึงเปลี่ยนชื่อเป็นแอนโดรกราโฟไลด์ ซึ่งมีการใช้เรียกกันต่อมาจนถึงปัจจุบัน (Cava et al., 1962; Maiti, 1964) สารประกอบนี้พบมากในส่วนใบของฟ้าทะลายโจร โดยมีอยู่ประมาณ 0.8-6.2 % (สัมพันธ์ วงศ์เสรีพิพัฒนา, 2528) แต่ถ้าเก็บในช่วงที่มีการออกดอก (เดือนกันยายน-ตุลาคม) อาจมีแอนโดรกราโฟไลด์ในปริมาณ 2-5 % (มหาวิทยาลัยมหิดล, คณะเภสัชศาสตร์, ศูนย์ข้อมูลสมุนไพร, 2530)

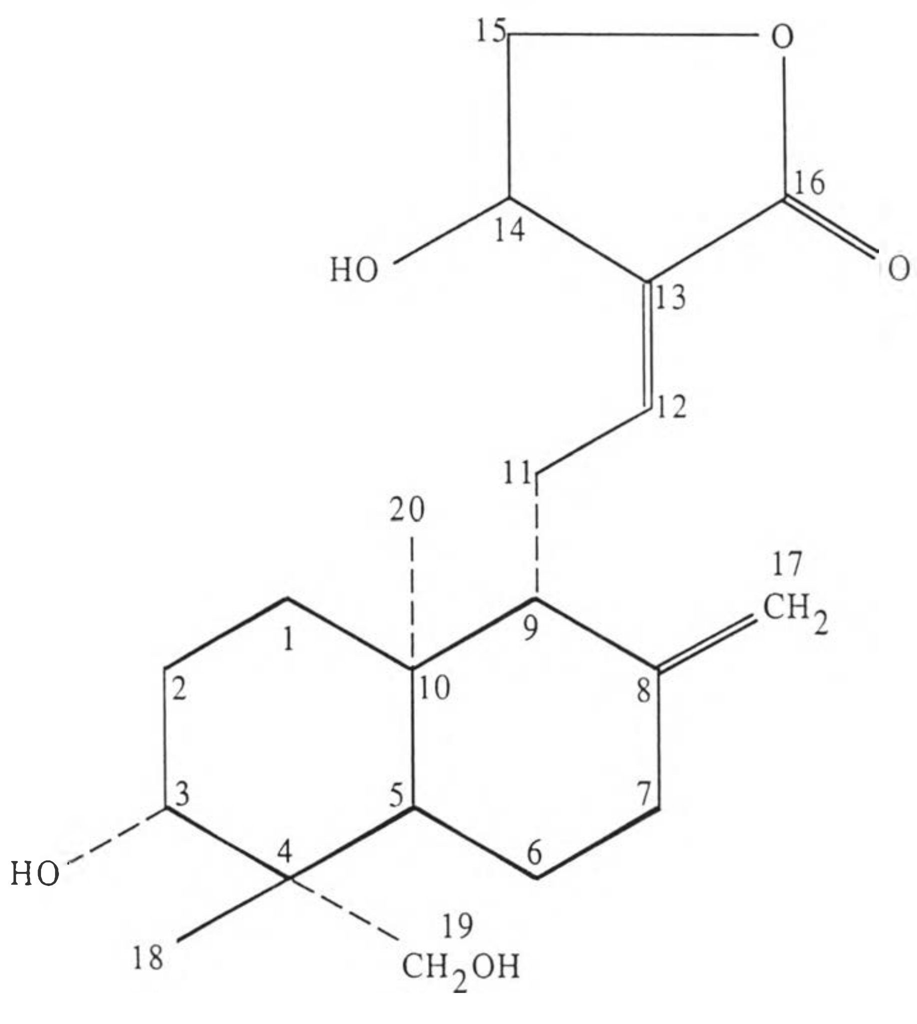
ก. <u>คุณสมบัติทางเคมีฟิสิกส์</u>

แอนโดรกราโฟไลด์เป็น unsaturated trihydroxy lactone มีสูตรโครงสร้างคือ $C_{20}H_{30}O_5$ เมื่อนำมาทดสอบกับ Legal reagent, Kedde's reagents และ 50 % KOH-methanol จะได้ผลบวก แอนโดรกราโฟไลด์ที่สกัดด้วยเมธานอลจากต้นสมุนไพรฟ้าทะลายโจรมีลักษณะเป็นผลึกรูปสี่เหลี่ยม ไม่มีสี มีรสขมเล็กน้อย ละลายได้ดีในเมธานอล เอธานอลและกรดอะซีติค ละลายได้เล็กน้อยในเบนซีน คลอโรฟอร์มและอะซีโตนไม่ละลายในอีเธอร์และน้ำ (สัมพันธ์ วงศ์เสรีพิพัฒนา, 2528; Cava et al., 1962; Fujita et al., 1984)

แอนโดรกราโฟไลด์ที่สกัดด้วยเมธานอลจากต้นฟ้าทะลายโจรมีจุดหลอมเหลว (mp) เท่ากับ 230-231 ^{o}C ค่าการหมุนแสง ($[\alpha]_D^{25}$) เท่ากับ -96.2 (C=1.00, C_5H_5N) การดูดกลืนแสงอุลตร้าไวโอเลทในเอธานอล (ultraviolet spectrum in ethanol) มีความยาวคลื่นสูงสุด (λmax) เท่ากับ 223 nm (ϵ12300) IR spectrum ในโปแดสเซียมโบรไมด์ (KBr) คือ 3448, 3390 และ 3279 (hydroxy group) 1828, 1647 และ 909 (exocyclic methylene) 1727 (α-β-unsaturated-γ-lactone) 1672 (conjugated C=C) cm^{-1} (Fujita et al., 1984)

ข. <u>เภสัชจลนศาสตร์</u>

จากการศึกษาทางด้านเภสัชจลนศาสตร์ของ แอนโดรกราโฟไลด์ นีโอแอนโดรกราโฟไลด์ ดีไฮโดรแอนโดรกราโฟไลด์ โดยใช้เครื่องแยกสารระบบโครมาโตกราฟชนิดแรงดันสูง



รูปภาพที่ 4 แสดงสูตรโครงสร้างทางเคมีของแอนโดรกราโฟไลด์
(ชัยโย ชัยชาญทิพยุทธ, 2531)

(HPLC) ทำการศึกษาทั้งใน *in situ* และ *in vivo* พบว่า ดีไฮโดรแอนโดรกราโฟไลด์ถูกดูดซึมได้เร็วที่สุด และนีโอแอนโดรกราโฟไลด์ถูกดูดซึมช้าที่สุด เมื่อให้แอนโดรกราโฟไลด์ขนาด 16 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ทางปาก หนูขาว พบว่า อัตราการดูดซึมของสารเท่ากับ 0.0078 นาที$^{-1}$ ให้ความเข้มข้นเท่ากับ 1.76 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่เวลา 2.04 ชั่วโมง มีค่าครึ่งชีวิตของยา (half-life) เท่ากับ 1.34 ชั่วโมง (ธีรวุธ ปิ่นทองและคณะ, 2534)

ค. การศึกษาทางคลีนิก

จากการทดลองทางคลีนิกพบว่า แอนโดรกราโฟไลด์สามารถฆ่าเชื้อโรคได้ดีกว่าคลอแรมเฟนิคอล (chloramphenicol) และฟูราโซลิโดน (furazolidone) โดยไม่มีผลข้างเคียงหรืออาการพิษ (ชัยโย ชัยชาญทิพยุทธ, วชิรา แดนตะวัน และสุนทรี วิทยานารถไพศาล, 2522) นอกจากนี้สารประกอบประเภทแลคโตนของฟ้าทะลายโจร ได้แก่ แอนโดรกราโฟไลด์ และนีโอแอนโดรกราโฟไลด์ มีฤทธิ์ต้านอาการท้องร่วงที่เกิดจากเชื้อ *Echerichia coli* ได้ในสัตว์ทดลอง โดยมีฤทธิ์ยับยั้งการหลั่งของเหลวในลำไส้ด้วยกลไกที่ยังไม่ทราบแน่ชัด (Gupta et al., 1983)

การให้ยาเม็ดฟ้าทะลายโจรที่ได้ผล ยาแต่ละเม็ดจะต้องมีแอนโดรกราโฟไลด์อย่างน้อย 25 มิลลิกรัม ขนาดที่ผู้ใหญ่ใช้ได้ผลดีคือ 100-150 มิลลิกรัม (4-6 เม็ด) ผลการรักษาพอจะสรุปได้ดังนี้คือ

ใช้รักษา Bacillary dysentery	ได้ผล	88.3 %
ใช้รักษากระเพาะและลำไส้อักเสบเฉียบพลัน	ได้ผล	97.6 %
ใช้รักษาทางเดินหายใจส่วนต้นติดเชื้อ	ได้ผล	100.0 %
ใช้รักษาต่อมทอนซิลอักเสบเฉียบพลัน	ได้ผล	93.1 %
ใช้รักษาทางเดินปัสสาวะติดเชื้อเฉียบพลัน	ได้ผล	80.0 %
ใช้รักษาแผลติดเชื้อและแผลอักเสบต่าง ๆ	ได้ผล	85.7 %

(สำนักงานคณะกรรมการสาธารณสุขมูลฐาน, 2529)

ง. ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

ในปีค.ศ. 1985 Zhang Xing และคณะได้ทำการศึกษาผลของ andrographolide sodium succinate ต่อการมีชีวิตและการทำหน้าที่ในการหลั่งฮอร์โมนของเซลล์ใน trophoblast tissue ที่ได้จากหญิงมีครรภ์ที่มีอายุครรภ์ 6-8 สัปดาห์ พบว่า

andrographolide sodium succinate มีฤทธิ์ในการยับยั้งการหลั่ง HCG และฮอร์โมน progesterone จาก trophoblast tissue ได้ นอกจากนี้ยังพบว่ามีการทำลายเซลล์แบบ pyknosis จึงมีการชี้แนะว่า ฟ้าทะลายโจรเป็นสมุนไพรที่มีคุณสมบัติเป็นยาทำแท้งได้ตัวหนึ่ง

ยังมีฤทธิ์ของแอนโดรกราโฟไลด์ต่อการบีบตัวของลำไส้ พบว่า การใช้แอนโดรกราโฟไลด์ หรือ 14-ดีออกซี-11,12-ไดดีไฮโดรแอนโดรกราโฟไลด์กับลำไส้กระต่าย หนูขาว และหนูตะเภาที่แยกออกจากกายของสัตว์ทดลอง จะมีผลลดการบีบตัวของลำไส้ที่เกิดขึ้นเอง หรือที่กระตุ้นด้วยอะซีติลโคลีน ฮีสตามีน แบเรียมคลอไรด์ และแคลเซียมคลอไรด์ ใน potassium-depolarizing solution รวมทั้งที่เกิดจากการกระตุ้นด้วยไฟฟ้า (ประสาน ธรรมอุปกรณ์ และคณะ, 2532) เป็นการสนับสนุนเหตุผลในการใช้สมุนไพรฟ้าทะลายโจรในการรักษาโรคท้องเสีย และอุจจาระร่วงได้ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาพบว่าการให้แอนโดรกราโฟไลด์ขนาด 5 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมและขนาด 10 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมแก่หนูขาว (albino rats) 1 ครั้ง ทางปาก จะกระตุ้นให้มีการย่อยอาหารผ่านลำไส้ และมีการดูดซึมคาร์โบไฮเดรทเพิ่มขึ้น โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ disaccharidase ในลำไส้เล็ก (Choudhury et al., 1985) แต่แอนโดรกราโฟไลด์ไม่มีผลต่อระดับน้ำตาลในเลือดของหนูขาวปกติและหนูขาวที่เป็นเบาหวาน (Moniruddin and Talukder, 1977)

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่น่าสนใจของฟ้าทะลายโจรและแอนโดรกราโฟไลด์ คือ ฤทธิ์ในการป้องกันสารพิษหรือยาต่าง ๆ ต่อตับ เช่น ฤทธิ์ในการเป็นตัวชักนำ (inducer) หรือตัวยับยั้ง (inhibitor) เอนไซม์ที่ใช้ในการเปลี่ยนแปลงยาในตับ โดยพบว่าฟ้าทะลายโจร (ส่วนสกัดด้วยน้ำ) สามารถลดระยะเวลาในการนอนหลับ ซึ่งเกิดจากยา hexobarbital ได้ โดยสามารถเพิ่มการไหลของน้ำดี และเพิ่มน้ำหนักตับได้ (Choudhuri, 1978) แอนโดรกราโฟไลด์และสารสกัดด้วยน้ำ สามารถลดการเกิด hepatic microsomal lipid peroxidation ที่เกิดจากสารพิษต่อตับ คือ คาร์บอนเตตระคลอไรด์ (CCl_4) โดยสารสกัดด้วยน้ำมีฤทธิ์แรงกว่าแอนโดรกราโฟไลด์ (Choudhury and Poddar, 1984) และสารสกัดด้วยน้ำยังมีฤทธิ์แรงกว่าแอนโดรกราโฟไลด์ ในการยับยั้ง hepatic microsomal drug metabolizing enzymes เช่น aniline hydroxylase, *N*-demethylase และ *O*-demethylase ในการศึกษา *in vitro* พบว่า สามารถยับยั้งได้เฉพาะเอนไซม์ aniline hydroxylase (Choudhury, Haque, and Poddar, 1987) สำหรับฤทธิ์ในการป้องกันสารพิษต่อตับ พบว่า การให้สารสกัดด้วยน้ำขนาด 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวันเป็นเวลา 15 วัน ก่อนหรือหลังการให้เอธานอล สามารถป้องกันหรือยับยั้งการเพิ่มของระดับเอนไซม์ transaminases ในซีรั่ม (SGOT และ SGPT) ที่เกิดจากพิษของเอธานอลได้ (Choudhury and Poddar, 1983)

นอกจากนี้ แอนโดรกราโฟไลด์และสารสกัดด้วยน้ำของฟ้าทะลายโจรยังมีฤทธิ์ในการป้องกันพิษจากคาร์บอนเตตระคลอไรด์ต่อตับได้ โดยพบว่า การให้แอนโดรกราโฟไลด์ขนาด 5 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม และสารสกัดด้วยน้ำขนาด 500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมที่ให้ก่อนคาร์บอนเตตระคลอไรด์เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ทางช่องท้องสามารถป้องกันการเกิดพิษต่อตับที่เกิดจากคาร์บอนเตตระคลอไรด์ได้ แต่การให้แอนโดรกราโฟไลด์และสารสกัดด้วยน้ำในขนาดดังกล่าวทุกวัน วันละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 15 วัน ไม่สามารถป้องกันการเกิดพิษจากคาร์บอนเตตระคลอไรด์ต่อตับได้ โดยมีพารามิเตอร์ที่ใช้ในการบ่งชี้การเกิดพิษต่อตับคือ ระดับเอนไซม์ transaminases ในซีรั่ม จึงเชื่อว่าการที่แอนโดรกราโฟไลด์และสารสกัดด้วยน้ำสามารถป้องกันการเกิดพิษต่อตับจากคาร์บอนเตตระคลอไรด์ได้นั้น อาจเป็นฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ในระบบ microsomal mixed function oxidase ซึ่งทำหน้าที่เปลี่ยนแปลงคาร์บอนเตตระคลอไรด์ให้เป็นอนุมูลอิสระที่เป็นพิษต่อเซลล์ตับ คือ trichloromethyl เมื่ออนุมูลอิสระเกิดขึ้นน้อย ก็จะไปลดกระบวนการ lipid peroxidation ของเซลล์ตับได้ ดังนั้นจึงพบว่า แอนโดรกราโฟไลด์และสารสกัดด้วยน้ำที่ให้พร้อมกับการให้คาร์บอนเตตระคลอไรด์สามารถป้องกันการเกิดพิษต่อตับได้ ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่า มีการชักนำเอนไซม์ในระบบ microsomal mixed function oxidase แทนที่การยับยั้งเอนไซม์ จึงทำให้ฤทธิ์ในการป้องกันตับจากสารพิษ คือ คาร์บอนเตตระคลอไรด์สูญเสียไป (Choudhury and Poddar, 1984)

การศึกษาที่ยืนยันว่า แอนโดรกราโฟไลด์มีฤทธิ์ในการป้องกันตับจากสารพิษต่าง ๆ ได้แก่ ฤทธิ์ในการป้องกันพิษจากคาร์บอนเตตระคลอไรด์ โดยพบว่าแอนโดรกราโฟไลด์ขนาด 100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมที่ให้ทางช่องท้อง โดยมีพารามิเตอร์ทางชีวเคมีและผลทาง histopathology เป็นตัวบ่งชี้คุณสมบัติในการป้องกันพิษต่อตับ และค่า LD50 ในหนูถีบจักร กรณีที่ให้สารนี้ทางช่องท้องคือ 11.46 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม (Handa and Sharma, 1990) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับฤทธิ์ในการป้องกันพิษจากกาแลคโตซามีนและอะเซตามิโนเฟนต่อตับ พบว่า ขนาดของแอนโดรกราโฟไลด์ที่ใช้ในการป้องกันพิษจากกาแลคโตซามีน เท่ากับ 400 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ทางช่องท้อง หรือ 800 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ทางปาก ที่เวลา 48, 24 และ 2 ชั่วโมง ก่อนได้รับสารพิษและขนาดของแอนโดรกราโฟไลด์ที่ใช้ในการป้องกันพิษจากอะเซตามิโนเฟน เท่ากับ 200 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ทางช่องท้อง ที่เวลา 1, 4 และ 7 ชั่วโมง หลังจากให้สารพิษแล้ว (Handa and Sharma, 1990) ได้มีการศึกษาเพื่อยืนยันกลไกการออกฤทธิ์ของแอนโดรกราโฟไลด์ในการป้องกันการเกิดพิษต่าง ๆ ต่อตับ เช่น การศึกษาฤทธิ์ในการกระตุ้นการผลิตน้ำดี (choleretic effect) ในตับของแอนโดรกราโฟไลด์ โดยมีอะเซตามิโนเฟนเป็นสารก่อพิษต่อตับพบว่า แอนโดรกราโฟไลด์ขนาด 1.2-12 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1

กิโลกรัม มีฤทธิ์ในการกระตุ้นการผลิตน้ำดีตั้งแต่ 4.8-73% ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับขนาดที่ให้ โดยทำให้มีการไหลของน้ำดีเพิ่มขึ้น (bile flow) เพิ่มการสร้างเกลือน้ำดี (bile salt) และกรดน้ำดี (bile acid) ทั้งในหนูขาวและหนูตะเภา (Shukla et al., 1992)

ในปี พ.ศ. 2536 ได้มีการศึกษาฤทธิ์ของแอนโดรกราโฟไลด์และสารสกัดด้วยน้ำต่อการป้องกันการเกิดพิษของเอธานอลในตับหนูขาว (วันดี อุดมอักษร, 2536; Pornpen et al., 1993;) พบว่า แอนโดรกราโฟไลด์ขนาด 100-200 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ที่ให้ทางช่องท้องหนูขาวก่อนการให้เอธานอล 48 ชั่วโมงสามารถป้องกันพิษต่อตับจากเอธานอลได้ นอกจากนี้ยังพบว่า แอนโดรกราโฟไลด์สามารถกระตุ้นให้มีการไหลเวียนของเลือดที่มายังตับเพิ่มขึ้นได้มากกว่าปกติ มีการคั่งของเม็ดเลือดแดงใน central vein ของตับ จึงอาจเป็นไปได้ว่า การที่สารดังกล่าวสามารถป้องกันพิษต่อตับได้เนื่องมาจาก ฤทธิ์ในกระตุ้นการไหลเวียนที่มายังตับมากกว่าปกติ ทำให้มีการขับออกของเอธานอลเป็นไปได้อย่างรวดเร็ว หรือทำให้เซลล์ตับมีความพร้อมในการแบ่งตัวเพื่อทดแทนเซลล์เก่าที่ถูกทำลายได้เร็วกว่าปกติก็ได้

จ. <u>การศึกษาทางด้านพิษวิทยา</u>

ในด้านพิษวิทยา พบว่า เมื่อให้ผลึกที่สกัดได้ (Crude crystals) จากต้นนี้ 10 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมแก่หนูถีบจักร ทางปาก จะทำให้การเคลื่อนไหวช้าลงและหลับไป หลังจากผ่าท้องดู หัวใจ ตับ ไต ม้าม จากลักษณะภายนอกที่ปรากฏก็เป็นปกติ และจากผลการทดลองในหนูถีบจักรที่ได้รับสารนี้ทางปาก ขนาด 0.5 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ติดต่อกันเป็นเวลานาน 10 วัน ปรากฏว่า ไม่เห็นผลการเปลี่ยนแปลงใด ๆ เกี่ยวกับการเจริญเติบโต การกินอาหาร หรือการถ่ายอุจจาระ (ชัยโย ชัยชาญทิพยุทธ และคณะ, 2522)

ในการศึกษาพิษเฉียบพลันและกึ่งเรื้อรัง ประสาน ธรรมอุปกรณ์ และ ชัยโย ชัยชาญทิพยุทธ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยให้ผงใบแห้งบดละเอียด ขนาด 2 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ทางปากหนูถีบจักร ไม่พบว่ามีหนูตัวใดตาย เมื่อนำผงแห้งของฟ้าทะลายโจรมาแขวนตะกอนใน 1% tragacanth แล้วป้อนให้แก่หนูขาว ขนาด 100-150 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน โดยให้วันละครั้ง ติดต่อกัน 5 วัน ทุกวันจันทร์ถึงวันศุกร์ เป็นเวลานาน 3 เดือน ปรากฏว่าไม่พบความผิดปกติใด ๆ ของพฤติกรรมเกี่ยวกับการกินอาหารและการถ่ายอุจจาระ เมื่อตรวจสอบอวัยวะภายในของสัตว์ทดลองก็พบว่าไม่มีความผิดปกติใด ๆ เกิดขึ้น

การทดสอบพิษเฉียบพลันของสารสกัดด้วย 50% เอธานอลของฟ้าทะลายโจร เมื่อให้ทางปากหนูถีบจักร ขนาด 15 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม พบว่า ไม่ปรากฎอาการพิษใด ๆ และในการให้สารสกัดด้วยแอลกอฮอล์ ขนาด 2.4 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม (ประมาณ 11 กรัมต่อกิโลกรัมของผงใบแห้ง) ทางปากหนูถีบจักรก็ไม่พบหนูตัวใดตายเช่นกัน (นาถฤดี สิทธิสมวงศ์, 2532)

นอกจากนี้ ยังมีการทดสอบพิษของฟ้าทะลายโจรในหนูขาว พบว่า สารสกัดด้วยน้ำจากฟ้าทะลายโจรที่ให้ทางปากหนูถีบจักรแล้วทำให้หนูถีบจักรตายร้อยละ 50 (LD50) มีขนาดมากกว่า 5,000 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม (สำนักงานคณะกรรมการสาธารณสุขมูลฐาน, 2529) สารสกัดด้วยแอลกอฮอล์จากฟ้าทะลายโจรที่ให้ทางปากหนูขาวแล้วทำให้หนูขาวตายร้อยละ 50 มีขนาดมากกว่า 1,000 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม (Nakanishi et al., 1965) ส่วนสารสกัดด้วย 50% เอธานอลจากฟ้าทะลายโจรที่ทำให้หนูถีบจักรตายร้อยละ 50 พบว่า ขนาดที่ให้ทางปากและใต้ผิวหนังต้องมากกว่า 15 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ส่วนขนาดของสารที่ให้ทางช่องท้องเท่ากับ 14.98 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม (นาถฤดี สิทธิสมวงศ์, 2532)

การทดสอบพิษกึ่งเรื้อรังของผงฟ้าทะลายโจร ในหนูขาวทั้งสองเพศ โดยให้สัตว์ทดลองได้รับผงฟ้าทะลายโจรในรูปของยาแขวนตะกอน ทางปาก ในขนาด 0.12, 1.2 และ 2.4 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน เทียบเท่ากับ 1, 10 และ 20 เท่าของขนาดที่ใช้รักษาคน เป็นเวลานาน 6 เดือน ผลปรากฏว่า หนูขาวทุกกลุ่ม ทั้งเพศผู้และเพศเมีย มีการเจริญเติบโตตามปกติ ไม่มีความผิดปกติของระบบโลหิตวิทยาและชีวเคมี เมื่อตรวจสอบอวัยวะภายในต่าง ๆโดยดูจากลักษณะภายนอกและจากการตรวจสอบทาง histopathology ก็ไม่พบความผิดปกติใด ๆ (นาถฤดี สิทธิสมวงศ์, 2532) ในการฉีดสารสกัดจากใบฟ้าทะลายโจรเข้าใต้ผิวหนังกระต่ายในขนาด 10 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ก็ไม่พบความผิดปกติใด ๆ เช่นกัน (โครงการสมุนไพรเพื่อการพึ่งตนเอง, 2532)

ในการทดลองเพื่อหาพิษที่เกิดจากการได้รับยามากเกินไปโดยพิจารณาจากแอนโดรกราโฟไลด์ ซึ่งเป็นไดเทอร์ปีนอยด์แลคโตนที่มีมากที่สุดในส่วนใบ พบว่า สามารถให้แอนโดรกราโฟไลด์ ได้มากถึง 18 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม (เทียบเท่ากับคนหนัก 50 กิโลกรัม รับประทานใบแห้งของฟ้าทะลายโจรได้ 18 กิโลกรัม) พบว่า หนูมีอัตราการเคลื่อนไหวช้าลงเล็กน้อย ไม่มีหนูตายระหว่างการทดลอง เมื่อผ่าดูหัวใจ ไต ตับ และม้ามจากลักษณะภายนอกที่ปรากฏ พบว่า ทุกอย่างเป็นปกติ (ศิริมา พรสุวัฒนกุล, 2532) นอกจากนี้ยังมีการศึกษา พบว่า แอนโดรกราโฟไลด์ขนาด 20 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมที่ให้แก่

หนูถีบจักร 1 ครั้ง ทางปาก ไม่ทำให้หนูถีบจักรตาย ส่วนหนูขาวที่ได้รับแอนโดรกราโฟไลด์ วันละ 1 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วันไม่พบว่ามีความผิดปกติใด ๆ เกิดขึ้น (มหาวิทยาลัยมหิดล, คณะเภสัชศาสตร์, ศูนย์ข้อมูลสมุนไพร, 2530) จากการทดลองให้แอนโดรกราโฟไลด์แก่หนูถีบจักร ในรูปของยาแขวนตะกอน ขนาด 3 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ป้อนทางปาก แล้วสังเกตการเปลี่ยนแปลงในเวลา 3 วันหลังให้ยา ไม่ปรากฏอาการซึมหรือความผิดปกติเกี่ยวกับการกินอาหาร การเคลื่อนไหว และพฤติกรรมต่าง ๆ ไม่มีสัตว์ทดลองตายระหว่างการทดลอง เมื่อตรวจสอบอวัยวะภายในด้วยตาเปล่าพบว่า หัวใจ ปอด และทางเดินอาหาร ไม่พบความผิดปกติแต่อย่างใด (เพชรรัตน์ พงศ์จรรยากุล, 2530)

การทดสอบพิษกึ่งเรื้อรังในหนูถีบจักร ด้วยแอนโดรกราโฟไลด์ ขนาด 200-400 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ทางปาก วันเว้นวัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ไม่พบลักษณะผิดปกติ โดยน้ำหนักตัวที่เพิ่มไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม เมื่อผ่าดูอวัยวะภายในไม่พบความผิดปกติของอวัยวะภายในที่สำคัญ เมื่อทดสอบพิษกึ่งเรื้อรังในหนูขาวโดยการให้แอนโดรกราโฟไลด์ขนาด 50, 100 และ 150 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม วันเว้นวัน นาน 14 สัปดาห์ ผลปรากฏว่าไม่พบลักษณะผิดปกติเมื่อดูจากลักษณะภายนอก หนูขาวกลุ่มที่ได้รับยาขนาด 150 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม มีอัตราการเพิ่มน้ำหนักตัวน้อยกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มอื่น ๆ เล็กน้อย แต่ไม่พบความผิดปกติใด ๆ ของอวัยวะภายในที่สำคัญ (เสาวภา ลิมป์พานิชกุล, 2533)

นอกจากนี้ยังมีรายงานการทดลองในสุนัข โดยให้สารสกัดแอนโดรกราโฟไลด์และนีโอแอนโดรกราโฟไลด์ ในปริมาณ 10-15 เท่าของขนาดที่ใช้ในคน พบว่า ไม่เกิดอาการพิษแต่อย่างใด การทดลองในกระต่ายโดยให้ยาขนาด 3-6 เท่าของขนาดที่ใช้ในคน ฉีดเข้าหลอดเลือดที่หูกระต่าย สังเกตอาการนาน 3 ชั่วโมง กระต่ายมีอาการปกติดี เมื่อสังเกตอาการนาน 24 ชั่วโมงไม่พบอาการผิดปกติใด ๆ (เสาวภา ลิมป์พานิชกุล, 2533)

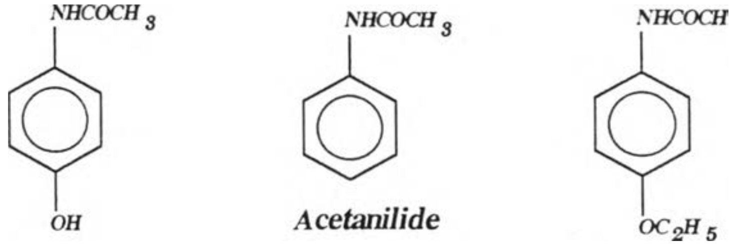
Kintanar และ Mercado-Sison (1979) ได้ศึกษาผลจากสารสกัดต่าง ๆ จากฟ้าทะลายโจร เมื่อให้แก่หนูถีบจักร ทางช่องท้อง พบว่า สารสกัดส่วนใหญ่จะทำให้สัตว์ทดลองมีร่างกายอ่อนแอ การเคลื่อนไหวช้าลง อัตราการหายใจเพิ่มขึ้น อาจมีอาการชักและตายได้ถ้าให้ในขนาดที่สูงมาก ๆ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ผลของสารสกัดต่าง ๆ จากฟ้าทะลายโจรที่ให้แก่หนูถีบจักรทางช่องท้อง

ชนิดของสารสกัดจากฟ้าทะลายโจร	ขนาดของสารสกัดที่หนูถีบจักรได้รับ ($mg.kg^{-1}$)	ผลที่เกิดขึ้น
1. สารสกัดพวกซาโปนิน	300	สัตว์ทดลองมีสภาพร่างกายอ่อนแอ(weakness) และมีการเคลื่อนไหวช้าลง โดยอาการเหล่านี้จะหายไปภายใน 3 ชั่วโมง
	1,000	หลังฉีดสารสกัด 8 นาที หนูถีบจักรมีอาการชัก (convulsion) หางแข็ง (strub tail) สั่น (tremor) และตายในที่สุด
2. สารสกัดด้วยน้ำ	300	สัตว์ทดลองมีสภาพร่างกายอ่อนแอ(weakness) อัตราการหายใจเพิ่มขึ้น การเคลื่อนไหวช้าลง ความตึงตัวของกล้ามเนื้อและ reflex ลดลง โดยอาการเหล่านี้จะหายไปภายใน 24 ชั่วโมง
	1,000	มีอาการต่าง ๆ เหมือนกับการได้รับสารสกัดด้วยน้ำ ขนาด 300 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม แต่สัตว์ทดลองจะตายหลังได้รับสารสกัด 24 ชั่วโมง
3.สารสกัดด้วยอีเธอร์	300	การเคลื่อนไหวช้าลง การระมัดระวังตัวของสัตว์ทดลองลดลง และความตึงตัวของกล้ามเนื้อลดลง โดยอาการเหล่านี้จะหายไปภายใน 1 ชั่วโมง
	1,000	มีอาการต่าง ๆ เหมือนกับการได้รับสารสกัดด้วยอีเธอร์ขนาด 300 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม แต่สัตว์ทดลองจะตายหลังได้รับสารสกัด 45 นาที
4. สารสกัดด้วยแอลกอฮอล์	300	สัตว์ทดลองมีสภาพร่างกายอ่อนแอ(weakness) การเคลื่อนไหวช้าลงและความตึงตัวของกล้ามเนื้อลดลง อาการเหล่านี้จะหายไปภายใน 24 ชั่วโมง
	1,000	หลังฉีดสารสกัดประมาณ 5 ชั่วโมง สัตว์ทดลองมีอาการสั่น (tremor) หางแข็ง (strub tail) ชัก (convulsion) และตายในที่สุด

อะเซตามิโนเฟน (Acetaminophen)

อะเซตามิโนเฟน (*N*-acetyl-*p*-aminophenol, 4-hydroxy-acetanilide หรือ paracetamol) เป็นอนุพันธ์ของ *p*-aminophenol ตัวสุดท้ายที่ยังใช้เป็นยาลดไข้แก้ปวด (Black, 1980; Katyare et al., 1989) ถูกสังเคราะห์ขึ้นในปี ค.ศ.1893 และมีการนำมาใช้เพื่อการรักษาในศตวรรษที่ 19 แต่ระยะแรกยังไม่ได้รับความสนใจมากนัก จนกระทั่งปีค.ศ. 1940 พบว่า อะเซตามิโนเฟนเป็นเมตาบอไลท์ของฟีนาซีติน (phenacetin) จึงนิยมนำมาใช้แทนฟีนาซิติน และถูกเรียกชื่อเป็นพาราเซตามอลโดย British Pharmacopoeia Commission ในค.ศ. 1957 (Cornely and Ritter, 1956; Smith, 1958)



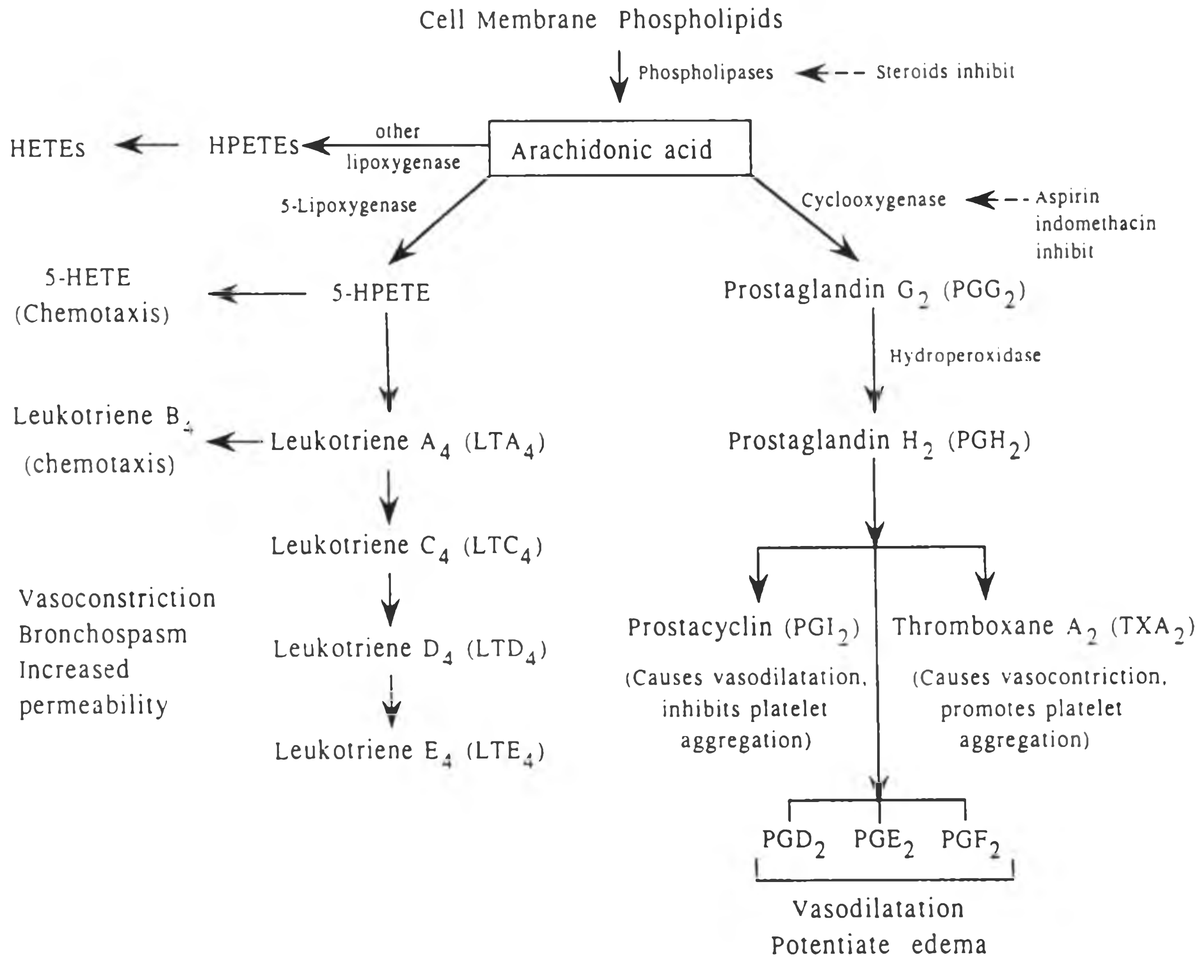
Acetaminophen *Acetanilide* *Phenacetin*

รูปภาพที่ 5 แสดงอนุพันธ์ของยาในกลุ่ม *p*-aminophenol ที่ใช้ในการลดไข้แก้ปวด (Black, 1980)

ก. <u>กลไกการออกฤทธิ์</u> (Mechanism of Action)

อะเซตามิโนเฟน เป็นยาลดไข้แก้ปวดที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายเพราะเชื่อว่าปลอดภัยกว่าการใช้ยาในกลุ่มซาลิซิเลท (Rumack, 1978) มีกลไกในการออกฤทธิ์เช่นเดียวกับแอสไพริน คือ ยับยั้งการสังเคราะห์พรอสตาแกลนดิน (prostaglandin) ซึ่งเป็นสารสื่อการอักเสบที่สำคัญ ก่อให้เกิดความเจ็บปวด บวม และไข้ โดยยับยั้งการเปลี่ยน arachidonic acid ไปเป็น cyclic endoperoxide ซึ่งมีผลต่อ precursor และเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์พรอสตาแกลนดินได้ทั่วร่างกาย (Ameer and Greenblatt, 1977) อาจมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เพียงหนึ่งชนิด มากกว่าหนึ่งชนิด หรือทุกชนิด ทำให้มีการสร้างพรอสตาแกลนดินได้แก่ PGE_2, prostacyclin และ thromboxane A_2 น้อยลง (รูปภาพที่ 6)

แต่การที่อะเซตามิโนเฟนไม่มีฤทธิ์ต้านการอักเสบเหมือนแอสไพรินนั้น เนื่องจากมีตำแหน่งในการออกฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์พรอสตาแกลนดินในเนื้อเยื่อที่แตกต่างกัน



รูปภาพที่ 6 แสดงตำแหน่งในการออกฤทธิ์ของแอสไพริน

(DiPalma and DiGregorio, 1990)

จากการศึกษาพบว่า อะเซตามิโนเฟนสามารถยับยั้งการสังเคราะห์พรอสตาแกลนดินในระบบประสาทส่วนกลาง (central tissue) ได้มากกว่าเนื้อเยื่อที่อยู่ส่วนปลาย (peripheral tissue) จึงทำให้อะเซตามิโนเฟนไม่สามารถต้านการอักเสบในส่วนอื่นของร่างกายได้เหมือนฤทธิ์ของแอสไพริน (Flower and Vane, 1972)

อาการไม่พึงประสงค์ที่เกิดจากการใช้ยาอะเซตามิโนเฟนในขนาดที่เหมาะสมกับการรักษานั้นพบน้อยมาก เช่น มีรายงานการเกิด pruritis และ maculopapular rash (Henrugues, 1970), thrombocytopenia (Kornberg and Polliack, 1978; Shoenfeld et al., 1980), agranulocytosis (Lloyd, 1961), pancreatitis (Cowae, 1977; Gilmore and Tourvas, 1977) และ hypoglycemia (Koch-Weser, 1976)

จากการศึกษาพบว่า อะเซตามิโนเฟนที่ใช้ในขนาดที่เหมาะสมกับการรักษาไม่มีผลต่อเส้นเลือดและหน้าที่การทำงานของเกล็ดเลือด (Mielke and Britten, 1970; Pearson, 1978) ถ้าได้รับในขนาดที่สูงจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ coagulogram แต่ไม่มีการเกิดเลือดออกในระบบทางเดินอาหาร (Goulson and Skyring, 1964) และการให้อะเซตามิโนเฟนขนาด 500 มิลลิกรัมต่อเม็ด แก่ผู้ใหญ่จำนวน 6 เม็ดในเวลา 1 วัน ก็ไม่พบว่ามีการทำลายของ gastric mucosal barrier (Ivy, Silvoso, and Krause, 1978)

ข. <u>การดูดซึม</u> (Absorption)

อะเซตามิโนเฟนเป็นกรดอ่อน มี pKa เท่ากับ 9.5 (Dordoni et al., 1973) ถูกดูดซึมได้หมดและเร็วในระบบทางเดินอาหารภายในเวลา 30 นาทีถึง 1 ชั่วโมง (Peterson and Rumack, 1978) ระดับยาสูงสุดในเลือดภายใน 40-60 นาทีหลังการรับประทาน (Dordoni et al., 1973) อัตราการดูดซึมขึ้นกับชนิดของยาด้วย ยาที่อยู่ในรูปสารละลายและมีแอลกอฮอล์ผสมอยู่จะถูกดูดซึมได้เร็วกว่ายาเม็ดและสารแขวนตะกอน (Levy and Houston, 1976; Peterson and Rumack, 1978) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับ gastric emptying time ด้วย ยาที่ลด gastric emptying time เช่น propantheline จะลดการดูดซึม ส่วนยาที่เพิ่ม gastric emptying time เช่น metoclopromide จะเพิ่มการดูดซึม (Nimmo et al., 1973)

ค. <u>ค่าครึ่งชีวิต</u> (Half-life)

ค่าครึ่งชีวิตของอะเซตามิโนเฟนในคนปกติ 2-4 ชั่วโมง (Miller et al., 1976) โดยเฉลี่ยประมาณ 2.5 ชั่วโมง ซึ่งจะเท่ากันทั้งในเด็กและในผู้ใหญ่ (Peterson and Rumack,

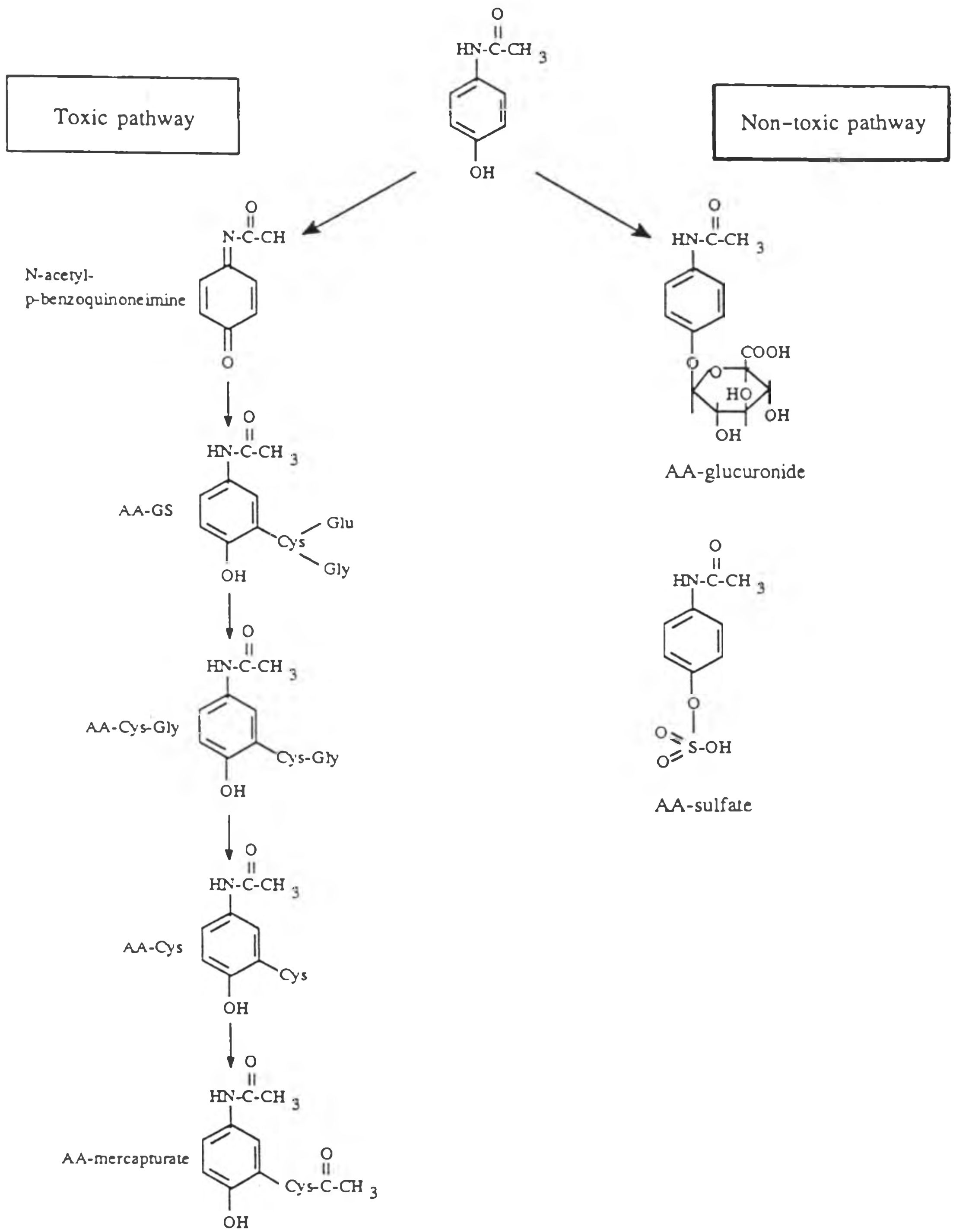
1978) ผู้ป่วยโรคตับหรือได้รับอะเซตามิโนเฟนเกินขนาดจะมีค่าครึ่งชีวิตของอะเซตามิโนเฟนยาวนานขึ้น ถ้าค่าครึ่งชีวิตมากกว่า 4 ชั่วโมงถือว่ามีการทำลายตับ (Prescott, 1971; Lovejoy, 1978) ผู้ป่วยโรคไตค่าครึ่งชีวิตของอะเซตามิโนเฟนไม่เปลี่ยนแปลง

ง. การเปลี่ยนแปลงยา (Drug Metabolism)

อะเซตามิโนเฟนที่เข้าสู่ร่างกายส่วนใหญ่จะถูกเปลี่ยนแปลงที่ตับโดย glucuronic acid หรือ sulfate ได้เมตาบอไลท์ที่หมดฤทธิ์ (inactive metabolite) คือ glucuronide หรือ sulfate compound แล้วขับออกทางปัสสาวะ (Davidson and Eastham, 1966) ซึ่งถ้าได้รับยาในขนาดที่เหมาะสมกับการรักษา จะพบเมตาบอไลท์นี้ประมาณ 75-85% ของเมตาบอไลท์ทั้งหมดในปัสสาวะ ในทุก species ที่ศึกษา ส่วนที่เหลือบางส่วนจะถูกเปลี่ยนแปลงโดย cytochrome P450 enzyme system ได้เมตาบอไลท์ที่มีพิษหรือฤทธิ์ (toxic or reactive metabolite) คือ *N*-acetyl-*p*-benzoquinoneimine (NABQI) (Potter et al., 1973; Corcoran, Barer, and Lau, 1980; Hinson, 1980; Dahlin et al., 1984) เมตาบอไลท์ที่มีฤทธิ์นี้เป็น electrophile ที่มีความไวมาก สามารถจับกับโมเลกุลต่าง ๆ ภายในเซลล์ได้ดี (Miner and Kissinger, 1984) ร่างกายมีกลไกในการป้องกันการเกิดพิษนี้ได้โดยการ conjugate กับ glutathione ในเซลล์ตับแล้วขับออกทางปัสสาวะในรูปของ mercapturic acid และ cysteine conjugation ซึ่งจะพบประมาณ 3-15% ของเมตาบอไลท์ทั้งหมด (Jollow et al., 1974; Mitchell et al., 1974; Davis, Labadarios, and William, 1976a; Davis et al., 1976b) (รูปภาพที่ 7)

glutathione conjugation เป็น protective pathway ในการป้องกันการก่อพิษต่อตับของ electrophilic compound ซึ่งเป็นเมตาบอไลท์ที่มีฤทธิ์ของอะเซตามิโนเฟน ปฏิกิริยานี้ถูกกระตุ้นโดยเอนไซม์ glutathione-S-transferase ใน cytosol ของเซลล์ตับ โดยมี tripeptide glutathione (GSH) เป็น co-substrate และ glutathione conjugate นี้จะถูกขับออกทางน้ำดีโดยตรง (Hinson et al., 1982; Gregus, Madhu, and Klaassen, 1988)

จากการศึกษาพบว่า อะเซตามิโนเฟนที่ถูกขับออกมาทางปัสสาวะภายในเวลา 12 ชั่วโมงจะมีประมาณ 84 % และภายในเวลา 24 ชั่วโมงจะมีประมาณ 90 % (Mitchell et al., 1974) 63 % ของเมตาบอไลท์จากยาที่พบในปัสสาวะเป็น glucuronide conjugation อีกประมาณ 34 % เป็น sulfate conjugation และ 3 % เป็น cysteine conjugation อาจมีเมตาบอไลท์บางส่วนที่เหลืออีกประมาณ 1 % ถูกขับออกมาในรูปของยาอิสระ (free drug) (Mrochek et al., 1974)

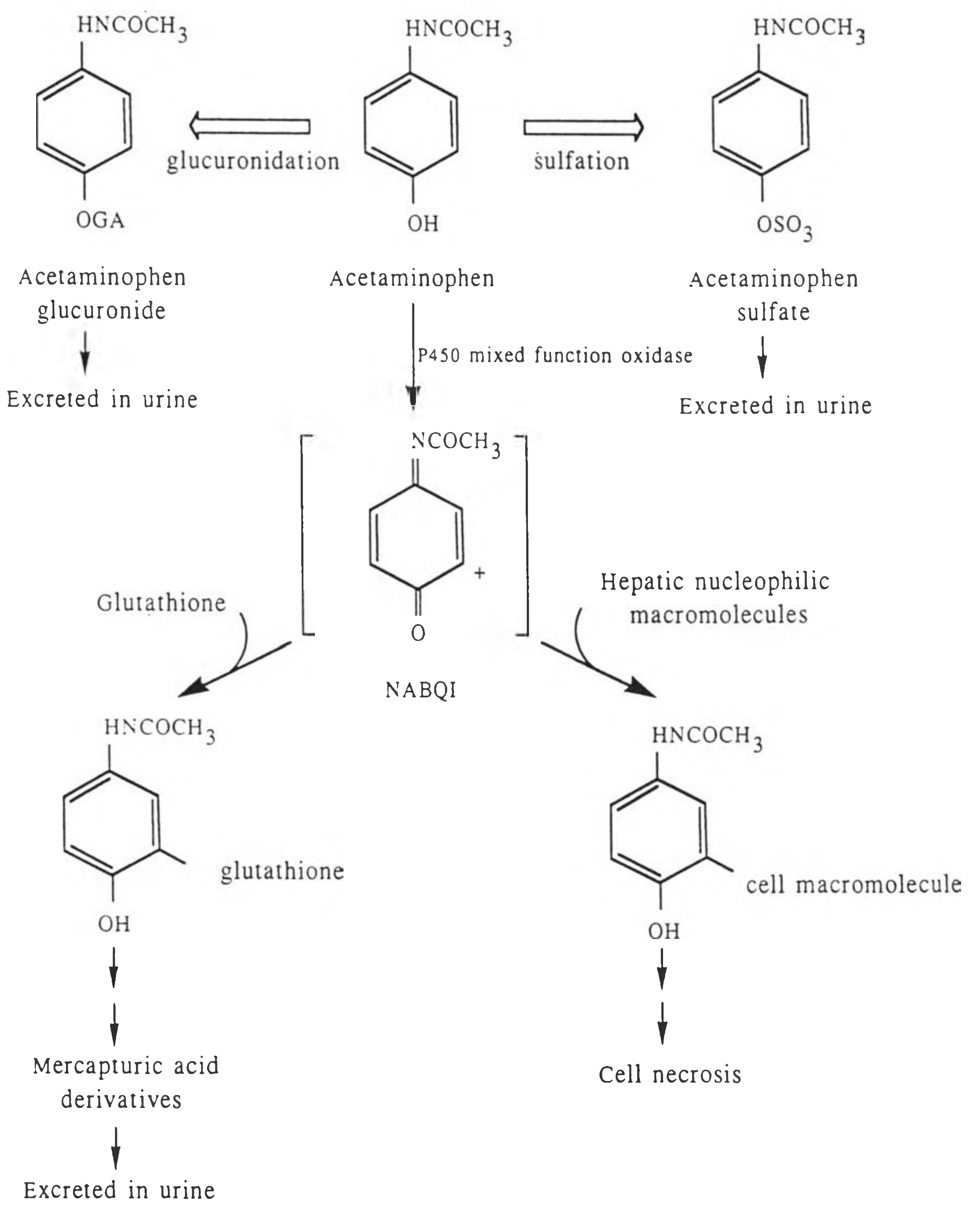


รูปภาพที่ 7 แสดงการเปลี่ยนแปลงยาของอะเซตามิโนเฟน
(Gregus, Madhu, and Klaassen, 1988)

จ. การเกิดพิษต่อตับจากอะเซตามิโนเฟน (Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity)

การได้รับอะเซตามิโนเฟนในขนาดที่เหมาะสมกับการรักษาจะเกิดอาการข้างเคียงน้อยมาก (Ameer and Greenblatt, 1977) แต่ถ้าได้รับยาเกินขนาดจะก่อให้เกิดพิษต่อตับได้ทั้งในสัตว์ทดลอง (Boyd and Bereezky, 1966; Mitchell et al., 1973a, 1973b; Davis et al., 1974; Dixon, Nimmo, and Prescott, 1975; Finco et al., 1975; Gazzard et al., 1975; Miller et al., 1976; Piperno et al., 1978) และในคน (Davison and Eastham, 1966; Presscott et al., 1971, 1983) ซึ่งความไวในการเกิดพิษต่อตับจากอะเซตามิโนเฟนนี้ขึ้นอยู่กับ species ด้วย พบว่า หนูแฮมสเตอร์ (hamster) หนูถีบจักร (mouse) และสุนัขเป็น species ที่มีความไวต่อการเกิดพิษต่อตับจากอะเซตามิโนเฟน ในขณะที่หนูขาว (rat) หนูตะเภา (guinea-pig) กระต่าย หมู ลิง และคนเป็น species ที่มี resistant ต่อการเกิดพิษต่อตับจากอะเซตามิโนเฟน (Mitchell et al., 1973a; Davis et al., 1974; Tee et al., 1978; Ioannides, Steele, and Parke, 1983; Smolarek, Higgins, and Amacher, 1990)

กลไกการเกิดพิษต่อตับของอะเซตามิโนเฟนนั้นยังไม่ทราบกลไกแน่ชัด แต่เชื่อว่าเกิดจาก NABQI (*N*-acetyl-*p*-benzoquinoneimine) ซึ่งเป็นเมตาบอไลท์ที่มีพิษหรือมีฤทธิ์ของอะเซตามิโนเฟนไปจับแบบโควาเลนท์ (covalent binding) กับ macromolecule ของเซลล์ตับ แล้วนำไปสู่การเกิด cell necrosis ได้ (รูปภาพที่ 8) (Jollow et al., 1973; Mitchell et al., 1973a) จากการศึกษาของ Mitchell และคณะ (1973a, 1973b) พบว่าการจับแบบโควาเลนท์ของ reactive metabolite กับเนื้อเยื่อตับนี้จะเกิดขึ้นเพียงเล็กน้อยในภาวะที่ร่างกายได้รับยาอะเซตามิโนเฟนในขนาดปกติ เนื่องจาก glutathione conjugation ใน protective pathway แต่ในภาวะที่ได้รับยาเกินขนาด ร่างกายมีการใช้ intracellular glutathione ในการ conjugation กับ reactive metabolite มากเกินไป จนทำให้ระดับ glutathione มีปริมาณลดน้อยลง และเกิดการสะสมของ reactive metabolite ของอะเซตามิโนเฟนในเนื้อเยื่อตับ โดยระดับของ glutathione ที่ลดลงมากกว่าหรือเท่ากับ 70% จะทำให้มีการเพิ่มขึ้นของการจับแบบโควาเลนท์ ซึ่งการเพิ่มขึ้นของการจับแบบโควาเลนท์นี้สัมพันธ์กับการตายของเซลล์ตับ (hepatic necrosis) (Corcoran et al., 1980; Dahlin et al., 1984)



รูปภาพที่ 8 แสดงการเกิดพิษต่อตับจากอะเซตามิโนเฟน
(Jollow et al., 1974)

ตับ (Liver)

ตับ เป็นอวัยวะที่จำเป็นในการดำรงชีวิตของมนุษย์ มีหน้าที่ที่สำคัญ คือ การสร้างและหลั่งน้ำดีเข้าสู่ระบบทางเดินอาหาร เพื่อช่วยย่อยอาหารจำพวกไขมัน และช่วยเก็บสะสมสารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรทไว้ในรูปของไกลโคเจน เก็บไขมันไว้ในรูปไตรกลีเซอร์ไรด์ นอกจากนี้ยังมีหน้าที่ในการสังเคราะห์สารอาหารจำพวกโปรตีนและช่วยทำลายพิษ (detoxification) ที่เกิดจากสารแปลกปลอมต่าง ๆ ภายในร่างกาย (Leffert et al., 1982; Mehendale, 1987; Amenta, 1991) ดังนั้นหากร่างกายได้รับสารที่มีพิษต่อตับ ก็จะมีผลให้หน้าที่และการทำงานของตับเสียไป นำไปสู่การเกิดโรคของตับหรือโรคแทรกซ้อนอื่น ๆ ได้

เซลล์ตับ (hepatocytes หรือ parenchymal cells) มีเส้นผ่าศูนย์กลาง ประมาณ 10 μm ภายในประกอบด้วย nucleus, nucleolus, smooth และ rough endoplasmic reticulum (SER และ RER), golgi complex, lysosome, mitochondria และ granule สำหรับสะสมสารต่าง ๆ (รูปภาพที่ 9) (Goldberg and Gornall, 1980)

หน่วยหน้าที่ของตับคือ lobule ซึ่งมีขนาดต่าง ๆ กัน lobule เหล่านี้แยกจากกันได้โดย interlobular connective tissue ภายใน tissue เหล่านี้อาจพบปลายแขนง (terminal branches) ของ portal vessels, hepatic artery และ bile duct สำหรับ lobule มี 2 ชนิดคือ

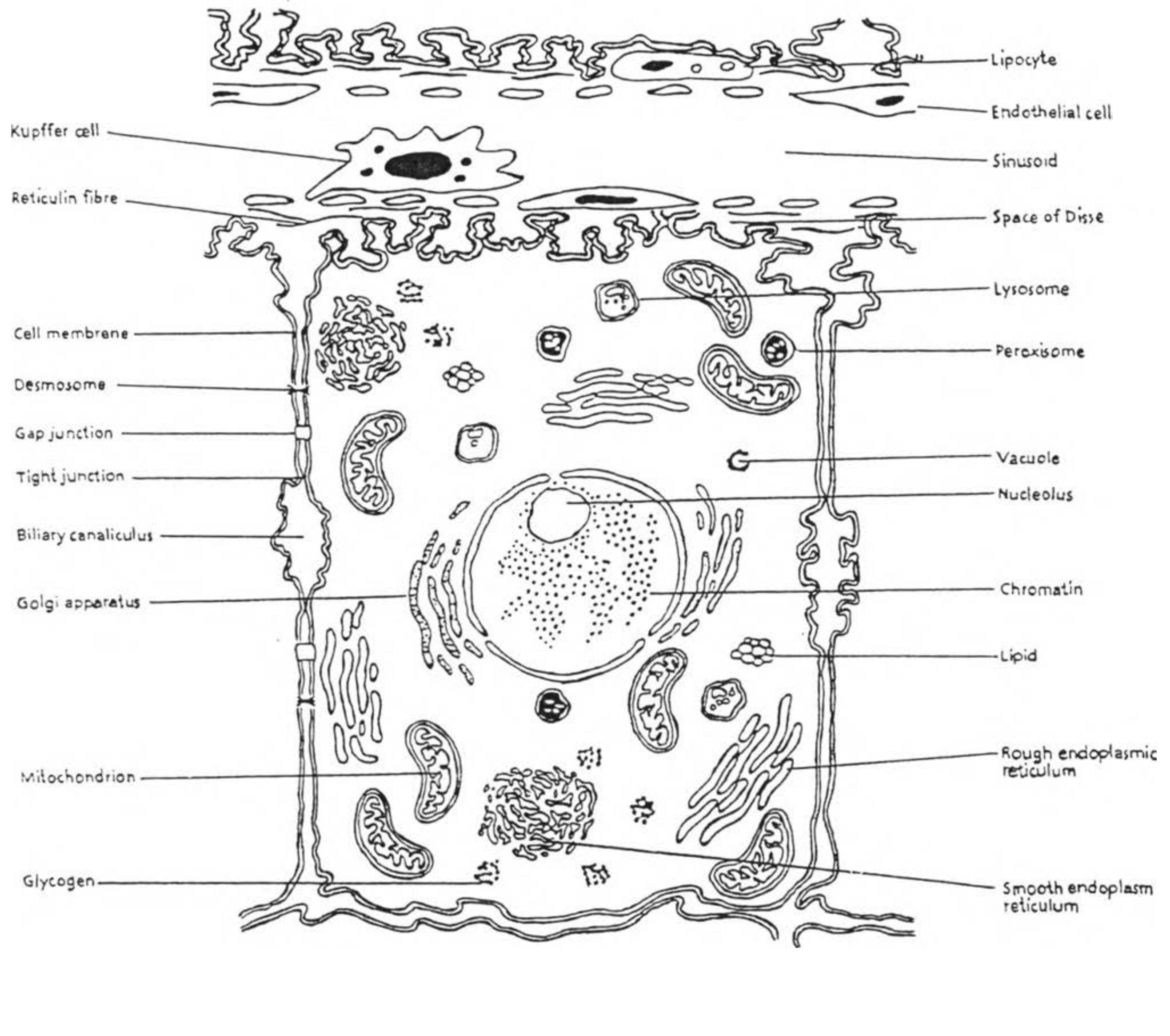
1. classic lobule หมายถึง lobule ที่อยู่รอบ ๆ central vein ประกอบด้วย parenchymal cell ที่เรียงตัวเป็น column ต่อเนื่องกันและตั้งฉากกับ central vein ถูกกั้นและเชื่อมกันด้วย sinusoid หรือ lacunae ซึ่งแต่ละ sinusoidal space จะเปิดเข้าสู่ central vein

2. portal lobule หรือ liver acinus หมายถึง lobule หรือกลุ่มของ hepatocyte ที่มีรูปร่างและขนาดไม่แน่นอน จัดเรียงตัวอยู่รอบ ๆ portal zones

เลือดที่มาเลี้ยงตับมีประมาณ 1/4 ของ cardiac output ซึ่งได้มาจากสองแหล่งใหญ่ที่แตกต่างกันคือ

1. portal vein เป็นหลอดเลือดดำที่นำเลือดมาสู่ตับถึง 75% ของเลือดที่มาเลี้ยงตับทั้งหมด เป็นเลือดที่มีสารอาหารในปริมาณสูงและแตกแขนงย่อยเป็น venules

2. hepatic artery เป็นหลอดเลือดที่นำเลือดมาสู่ตับประมาณ 25% ของเลือดที่มาสู่ตับทั้งหมด นำเลือดที่มีออกซิเจนสูงมาเลี้ยง connective tissue ต่าง ๆ รวมทั้งผนังของถุงน้ำดี และแตกแขนงออกเป็น arterioles



รูปภาพที่ 9 แสดงส่วนประกอบต่าง ๆ ภายในเซลล์ตับ
(Sherlock and Dooley, 1993)

เลือดจาก hepatic arterioles และ portal venules จะเทเข้าสู่ sinusoid ซึ่งเป็นหลอดเลือดที่มีรูปร่างไม่แน่นอน และมีขนาดใหญ่กว่าหลอดเลือดฝอยธรรมดา ผ่านเข้าสู่ central vein ซึ่งเป็นปลายของ hepatic vein เลือดที่ออกจากตับทาง hepatic vein จะเข้าสู่ inferior vena cava และเข้าสู่หัวใจห้องบนขวาต่อไป (รูปภาพที่ 10)

ทั้ง hepatic arterioles และ portal venules จะกระจายทั่วโครงสร้างของตับ โดยมีแขนงของ bile ductule ร่วมไปด้วย รวมเป็นโครงสร้างหนึ่ง ซึ่งเรียกว่า portal tract หรือ hepatic triad บางครั้งอาจพบเส้นประสาทหลอดน้ำเหลือง และ fibrous tissue รวมอยู่ในโครงสร้างนี้ด้วย

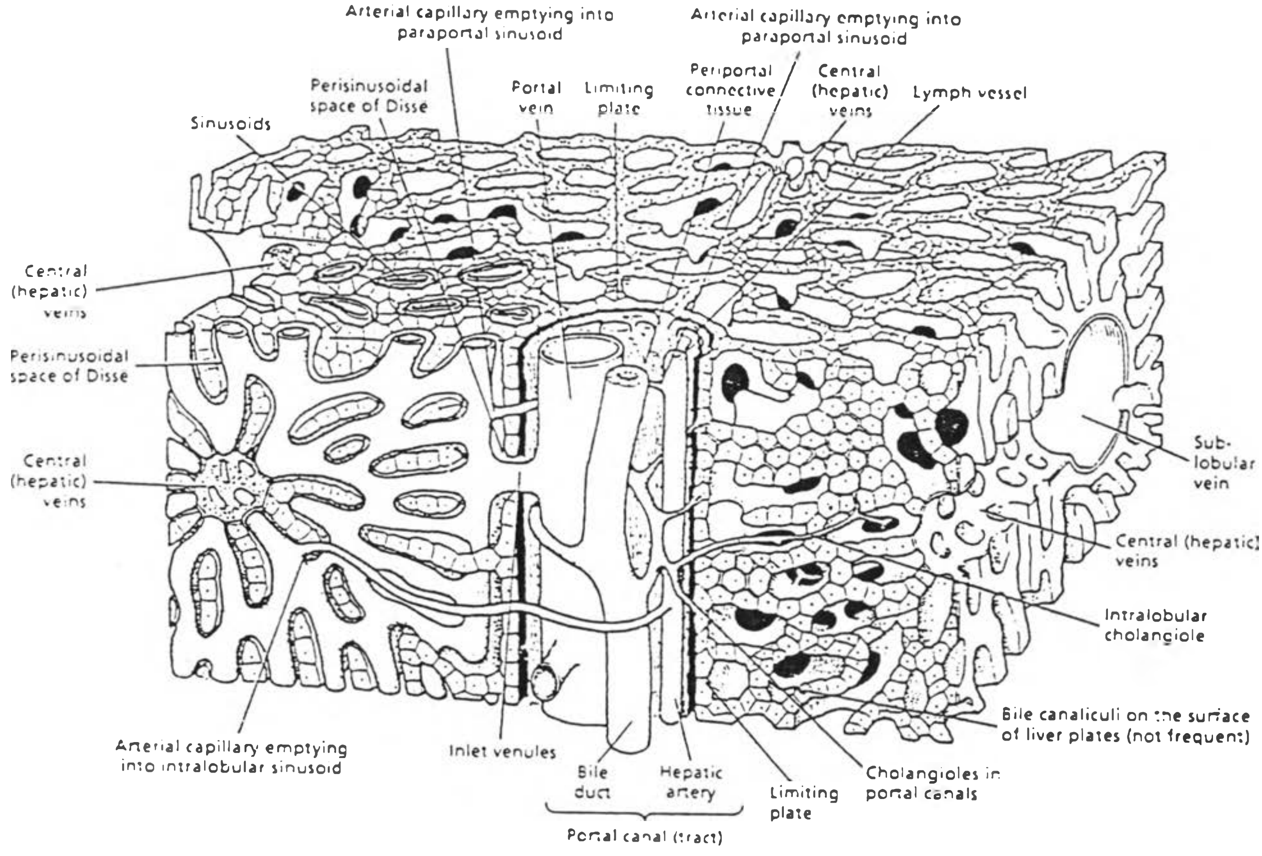
hepatocyte อาจแบ่งเป็นสามโซน เพื่อประโยชน์ทางพยาธิวิทยาของเซลล์ตับ โดยยึดระยะห่างระหว่างหลอดเลือดเป็นหลัก (รูปภาพที่ 11) (Rappaport,1956)

1. เซลล์ที่อยู่ในโซนที่ 1 (Zone 1) เรียก periportal area หมายถึง เซลล์ที่อยู่รอบ ๆ portal vein เป็นเซลล์ที่อยู่ใกล้ทางเข้าของเลือดที่มาเลี้ยง lobule ซึ่งเป็นเลือดที่มีส่วนประกอบของเลือดแดงมากกว่าเลือดดำ ดังนั้นเซลล์ที่อยู่บริเวณนี้ จึงเป็นเซลล์กลุ่มแรกที่ได้รับเลือด และเป็นเซลล์กลุ่มแรกที่จะเกิดการ regeneration ภายหลังการเกิดภยันตรายต่อตับ แต่จะเป็นเซลล์กลุ่มสุดท้ายที่จะเกิดการ necrosis

2. เซลล์ที่อยู่ในโซนที่ 2 (Zone 2) เรียก midzone หมายถึง เซลล์ที่อยู่ระหว่าง periportal area กับ centrilobular area

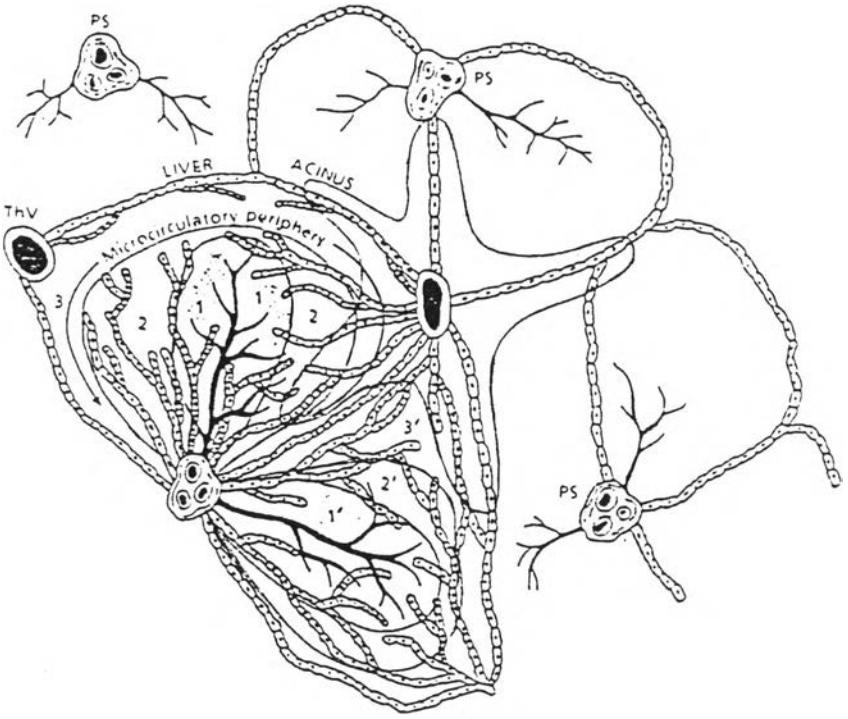
3. เซลล์ที่อยู่ในโซนที่ 3 (Zone 3) เรียก centrilobular หรือ periacinal area หมายถึง เซลล์ที่อยู่รอบ ๆ central vein เป็นเซลล์ที่อยู่ใกล้ทางออกของหลอดเลือดที่ออกจากตับ ซึ่งเป็นบริเวณที่ไม่มี hepatic arterioles มาเลี้ยงเลย

เซลล์ที่อยู่ในโซน 2 และโซน 3 จะได้รับเลือดที่มีสารอาหารและออกซิเจนต่ำและเป็นบริเวณที่มีความด้านทานต่อภยันตรายน้อย



รูปภาพที่ 10 แสดงโครงสร้างตับในคนปกติ

(Sherlock and Dooley, 1993)



รูปภาพที่ 11 แสดงเลือดที่มาเลี้ยงตับและการแบ่งโซนของ liver acinus

P.S. : Portal Space

T.h.V. : Terminal Hepatic Venules (Central Veins)

(Rappaport, 1956)

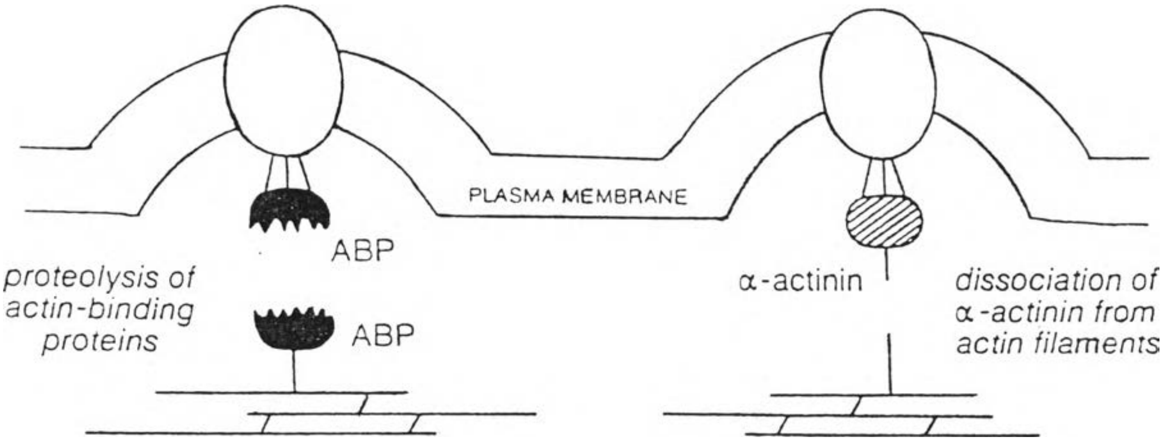
การตายของเซลล์ตับ (Liver Cell Necrosis)

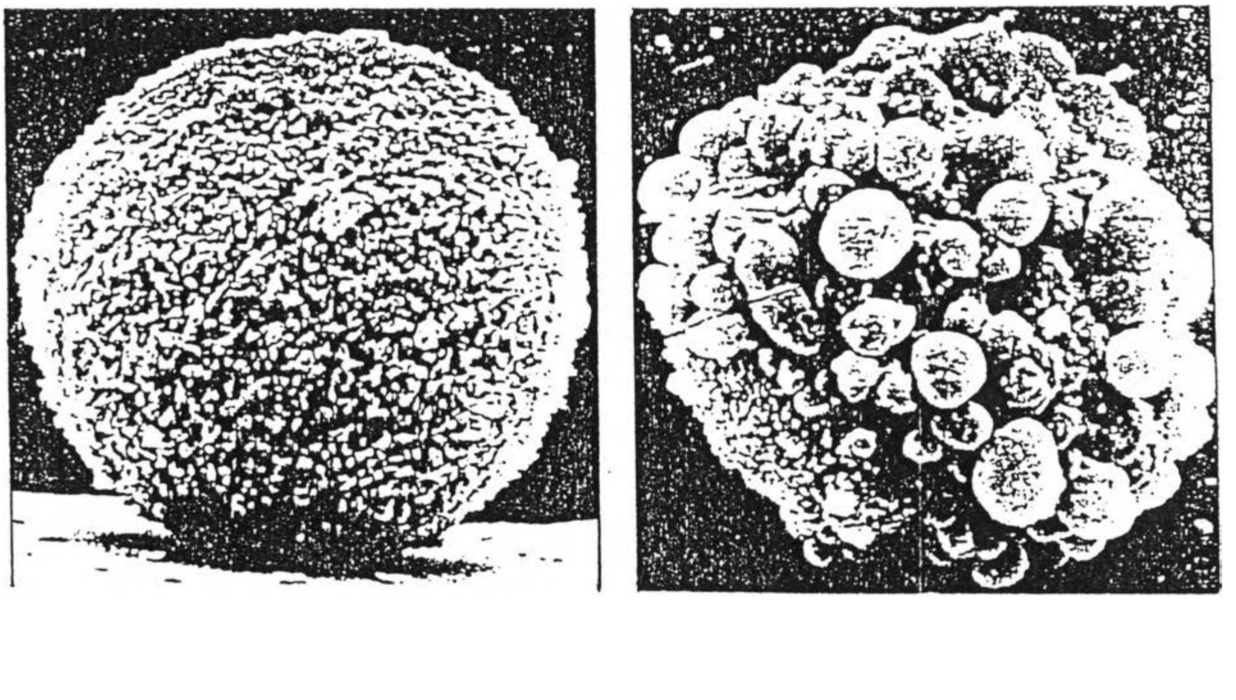
การเกิดภยันตรายต่อเซลล์ตับไม่เพียงแต่ก่อให้เกิดโรคของตับเอง ยังเป็นปัจจัยสำคัญในการก่อให้เกิดโรคแทรกซ้อนอื่นแก่ร่างกายมนุษย์ได้ ซึ่งขนาดของภยันตรายและระยะเวลาที่เซลล์ตับสัมผัสกับภยันตรายนั้น เป็นตัวบ่งชี้ว่าเซลล์ตับจะสามารถกลับสู่สภาพเดิมได้หรือไม่ (Keppler and Proper, 1986)

การประเมินรูปร่างลักษณะ (morphological assessment) ของเซลล์ตับที่ได้รับภยันตรายอย่างเฉียบพลัน (acute injury) แยกได้เป็น 4 ระยะคือ

1. ถ้าภยันตรายนั้นมีความรุนแรงน้อย จะทำให้มีการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ตับที่สามารถเปลี่ยนกลับได้ (reversible change) เรียก degeneration เป็นการเสื่อมของเซลล์ตับที่นำมาก่อนการเกิด cell death
2. ถ้าภยันตรายนั้นมีความรุนแรงมาก จะเกิดการเปลี่ยนแปลงที่ไม่สามารถกลับสู่สภาพเดิมได้ (irreversible change) เซลล์จะมีการสูญเสียความสามารถในการซ่อมแซมเซลล์ เรียกระยะนี้ว่า cell death
3. การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นภายหลังสมดุลระหว่างเซลล์ที่ตายกับของเหลวที่อยู่ล้อมรอบ เรียกว่า prenecrotic change
4. การเปลี่ยนแปลงของเซลล์ที่เกิดขึ้นภายหลัง cell death เรียก cell necrosis (สุพิศ จึงพาณิชย์, 2524; Keppler and Proper, 1986)

เมื่อมีภยันตรายเกิดขึ้น เซลล์จะมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์และสารชีวเคมีภายในเซลล์หลายอย่าง จากการศึกษานอกร่าง (*in vitro*) โดยการแยกเซลล์ออกมา และให้เซลล์ได้รับสารพิษชนิดต่าง ๆ พบว่า มีลักษณะสำคัญอย่างหนึ่งเกิดขึ้นที่ผิวของเซลล์ คือ มีการยื่นออก (protusion) ของ plasma membrane ที่เรียกว่า blebs (รูปภาพที่ 12) ซึ่งจากการศึกษาในร่าง (*in vivo*) ก็พบว่าเซลล์ที่ได้รับสารพิษต่างๆ มีลักษณะเช่นเดียวกัน จึงเชื่อว่ามีการเปลี่ยนแปลงการซึมผ่านของเยื่อหุ้มเซลล์ โดยอาจเป็นการเปลี่ยนแปลงที่สามารถผันกลับได้ (reversible change) หรืออาจมีการทำลายเซลล์มากจนไม่สามารถผันกลับได้ (irreversible change) และยังเชื่อกันอีกว่าเป็นสาเหตุทำให้มีการตายของเซลล์ที่ได้รับภยันตรายเกิดขึ้นเนื่องจากมีการแตกของ blebs ขนาดใหญ่ที่ plasma membrane ร่วมกับมีการสูญเสียส่วนประกอบภายในเซลล์ จากการศึกษาที่ผ่านมา พบว่า cell death เป็นลักษณะสำคัญของการเกิดพยาธิสภาพในตับ แต่ปัจจุบันนี้ได้มีการศึกษาเพิ่มเติม พบว่า การตายของเซลล์บางเซลล์เป็นลักษณะที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา (physiological phenomenon) ก็ได้เป็นลักษณะจำเป็นที่จะต้องเกิดขึ้นในพัฒนาการตามปกติของเซลล์ เพื่อรักษารูปร่างของ





รูปภาพที่ 12 แสดงการเกิด blebs ที่ plasma membrane

(Tee et al., 1978; Boobis, Fawthrop, and Davies, 1989)

เนื้อเยื่อ และเซลล์ที่เกิดขึ้นมาใหม่ ดังนั้นจึงมีการจำแนกรูปแบบการเกิด cell death ออกเป็นสองชนิดคือ apoptosis และ necrosis (Boobis, Fawthrop, and Davies,1989)

apoptosis เป็นลักษณะที่เกิดจาก apoptotic cell มีการสูญเสียการสัมผัสกันระหว่างเซลล์ที่อยู่ติดกันร่วมกับการเกิด condensation และ fragmentation ของส่วนประกอบใน cytoplasm ของ apoptotic cell แต่ mitochondria ยังมีลักษณะปกติ บนผิวของเซลล์มี blebs เกิดขึ้นทั่วไป นิวเคลียสมีการ condensation ของ chromatin ซึ่งส่งผลกระทบต่อการทำงานของเอนไซม์ endonuclease

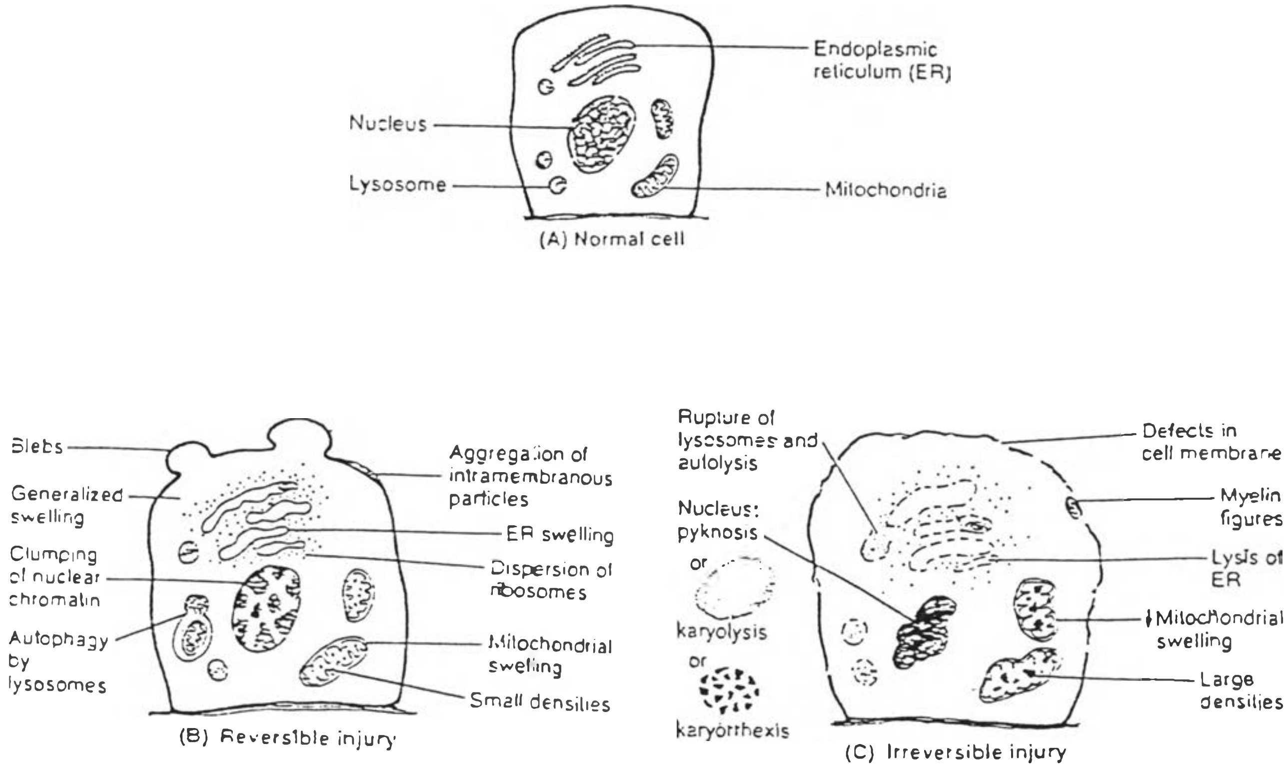
necrosis เป็นการตายของเซลล์ตับที่มักเกิดขึ้นภายหลังการมีพยาธิสภาพต่อเซลล์ โดยจะเกิดการบวมของเซลล์ร่วมกับการทำลาย internal และ external membrane และมี blebs เกิดขึ้นที่ plasma membrane ก่อนการเกิด necrosis การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยาในระยะนี้ของเซลล์จะสามารถผันกลับได้ เซลล์มีลักษณะบวมน้ำ (hydropic swelling) ส่วน endoplasmic reticulum จะขยายและมีการบวมของ mitochondria ลักษณะของ cell necrosis จะเกิดขึ้นก็ต่อเมื่อมีการขยายขนาดของ mitochondria อย่างรวดเร็ว และส่งผลกระทบ (disruption) ต่อโครงสร้างของ mitochondria (รูปภาพที่ 13)

กลไกการเกิด liver cell necrosis นั้นยังไม่ทราบแน่ชัด แต่จากสมมติฐานโดยทั่วไปเชื่อว่า liver cell necrosis อาจเกิดได้จากสาเหตุต่าง ๆ ดังนี้(Somsong Tuntaterdtum, 1994)

1. <u>ความบกพร่องของ mitochondria</u>

เนื่องจาก mitochondria มีบทบาทสำคัญในการเป็นแหล่งพลังงานให้แก่เซลล์ (Stryer, 1988) เป็นตำแหน่งที่มีการสังเคราะห์ ATP ให้กับเมตาบอลิสมต่าง ๆ ภายในเซลล์ (Lehninger, 1982) เนื่องจากอะเซตามิโนเฟนเป็นตัวทำให้ระดับ glutathione ภายในเซลล์ตับลดลง (Hinson, Mays, and Camerson, 1983) ทำให้เกิดความบกพร่องของการสังเคราะห์ ATP ซึ่งมีผลกระทบต่อการเปลี่ยนแปลงการมีชีวิต (viability) ของเซลล์ และอาจนำไปสู่การตายของเซลล์ตับ (liver cell necrosis) ได้

จากการศึกษาในร่าง (*in vivo*) พบว่า ความบกพร่องของ oxidative phosphorylation ใน mitochondria มีความสัมพันธ์กับการเกิดพิษต่อตับจากอะเซตามิโนเฟน (Meyers et al., 1988; Katyare and Satav, 1989) และจากการศึกษานอกร่าง (*in vitro*) พบว่า การให้อะเซตามิโนเฟนหรือ NABQI แก่เซลล์ตับจะทำให้การทำงานของ mitochondria



รูปภาพที่ 13 แสดงการเปลี่ยนแปลงของเซลล์หลังได้รับภยันตราย

respiratory apparatus ของเซลล์ตับลดลงก่อนที่จะมีการทำลาย plasma membrane เกิดขึ้น (Meyers et al., 1988; Esterline, Ray, and Ji, 1989; Ramsay, Rashed, and Nelson, 1989; Burcham and Harman, 1990 & 1991) ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าอะเซตามิโนเฟนทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสมดุล Ca^{2+} ภายในเซลล์ตับ และทำให้การทำงานของ mitochondria บกพร่อง (Schanne et al., 1979)

2. <u>ความบกพร่องของการควบคุมระดับ Ca^{2+} อิสระภายในเซลล์</u>

ในภาวะปกติ Ca^{2+} ที่อยู่นอกเซลล์มีอยู่ประมาณ 10^{-3} M (mM) แต่ Ca^{2+} ในเซลล์จะมีน้อยกว่านอกเซลล์ คือมีประมาณ 10^{-6} M (μM) ทำให้เกิดแรงขับ (drive) ให้ Ca^{2+} จากนอกเซลล์เข้าไปภายในเซลล์ แต่ถูกควบคุมให้อยู่ในสมดุลได้ด้วยเอนไซม์ที่อยู่บน plasma membrane และส่วนต่าง ๆ ภายในเซลล์ ดังนั้นเมื่อใดที่ระบบเหล่านี้ถูกรบกวนสมดุล Ca^{2+} ก็จะเสียไป ทำให้มีระดับ Ca^{2+} ภายในเซลล์มากขึ้น เกิดการรบกวนเมตาบอลิสมต่าง ๆ ภายในเซลล์ แล้วนำไปสู่การเกิด cell necrosis ได้ (รูปภาพที่ 13) (Schanne et al., 1979)

จากการศึกษานอกร่าง(*in vitro*) พบว่าระดับ Ca^{2+} ในเซลล์ที่สูงขึ้นถึง 10^{-4} M จะมีผลกระตุ้นเอนไซม์ Ca^{2+}- dependent protease (De Martino, 1981) nuclease (Wyllie, 1987) และ phospholipase (Chien et al., 1980) อธิบายได้ว่า ระดับ Ca^{2+} ภายในเซลล์ที่เพิ่มขึ้น อาจมีผลไปกระตุ้นเอนไซม์ protease ทำให้เกิดการทำลายโปรตีนที่ยึด plasma membrane เมื่อขาดที่ยึด plasma membrane จึงยื่นออกไปกลายเป็น bleb (bleb formation) แล้วแตกออก นำไปสู่เกิด cell death (รูปภาพที่ 12)

สำหรับเอนไซม์ endonuclease เป็นเอนไซม์ที่ให้เกิดการแตกหักของ DNA (DNA fragmentation) ก่อนที่จะมีการซ่อมแซม DNA เกิดขึ้น ดังนั้นระดับ Ca^{2+} ภายในเซลล์ที่เพิ่มขึ้น จะไปกระตุ้นเอนไซม์ endonuclease ให้ทำงานมากขึ้น และเกิดการแตกหักของ DNA เพิ่มมากขึ้น จนไม่สามารถซ่อมแซมได้ทัน เซลล์จึงถูกทำลายและเกิดการตายในที่สุด

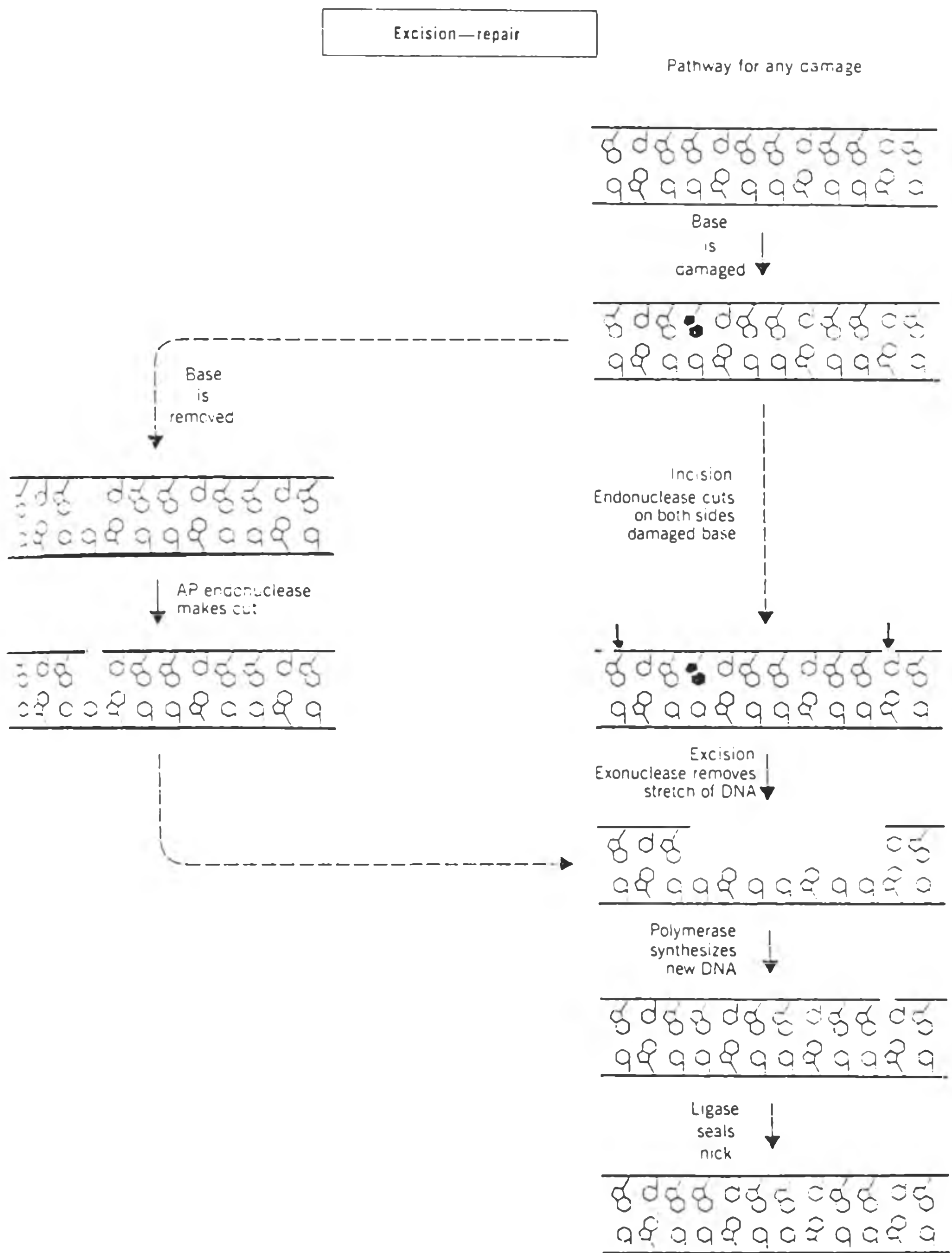
นอกจากนี้ยังเชื่อว่าระดับ Ca^{2+} ภายในเซลล์ที่เพิ่มขึ้นนี้ สามารถไปกระตุ้นให้มีการทำลาย mitochondria ทำให้ membrane potential ของ mitochondria ลดลง เกิดภาวะ

mitochondrial damage และ cell death ติดตามมา (Orrenious et al., 1989; Nicotera, Bellomo, and Orrenius, 1992)

จากการศึกษาของ Shen และคณะ (1991) พบว่า NABQI (*N*-acetyl-*p*-benzoquinoneimine) ซึ่งเป็นเมตาบอไลท์พิษของอะเซตามิโนเฟน มีฤทธิ์ทำให้เกิดการหักของ DNA โดยการหักของ DNA ที่เกิดขึ้นมีลักษณะคล้ายขั้นบันได (ladder) ซึ่งเป็นลักษณะที่เป็นผลมาจากการทำงานของเอนไซม์ endonuclease (รูปภาพที่ 14) ดังนั้นกลไกการเกิดพิษจากอะเซตามิโนเฟน อาจเกิดจากการที่ toxic metabolite ของอะเซตามิโนเฟน มีผลทำให้การควบคุมระดับ Ca^{2+} ภายในนิวเคลียสเสียไป ระดับ Ca^{2+} ในนิวเคลียสจึงเพิ่มขึ้นและไปกระตุ้นเอนไซม์ Ca^{2+}- dependent endonuclease ให้ทำงานมากเกินไป และเนื่องจากเอนไซม์นี้เป็นเอนไซม์ที่ทำให้เกิด DNA fragmentation ก่อนที่จะมีการซ่อมแซม DNA เกิดขึ้นภายหลังการได้รับภยันตราย ดังนั้นปริมาณของ DNA fragmentation จึงเพิ่มสูงขึ้น

ได้มีการศึกษาพบว่า อะเซตามิโนเฟน เป็นสารตัวหนึ่งที่ทำให้ Ca^{2+} ภายในเซลล์เพิ่มขึ้นโดย NABQI (*N*-acetyl-*p*-benzoquinoneimine) ซึ่งเป็น reactive metabolite ของอะเซตามิโนเฟน เกิดขึ้นภายหลังการขาด glutathione โดย NABQI นี้จะไปทำปฏิกิริยา oxidation กับ thiol group ของเอนไซม์ Ca^{2+} translocase ที่อยู่บน plasma membrane (Moore et al., 1985; Boobis et al., 1990) ทำให้ plasma membrane สูญเสียหน้าที่ในการควบคุมสมดุล Ca^{2+} ทำให้มี Ca^{2+} ผ่านเข้าเซลล์มากขึ้น ร่วมกับมีการปล่อย Ca^{2+} ออกจากแหล่งสะสมภายในเซลล์ ได้แก่ endoplasmic reticulum และ mitochondria ทำให้ปริมาณ Ca^{2+} ในเซลล์เพิ่มสูงขึ้นซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งที่นำไปสู่การเกิด cell death (Bellomo and Orrenius, 1985; Nicotera, Bellomo, and Orrenius, 1992)

อย่างไรก็ตามยังเชื่อกันว่า การเพิ่มขึ้นของระดับ Ca^{2+} ในเซลล์ไม่ได้เป็นสาเหตุสำคัญในการทำให้เกิด cell death (Burcham and Harman, 1988) เนื่องจากมักพบว่าสมดุล Ca^{2+} เสียไปภายหลังการเกิดภาวะบกพร่องของ oxidative phosphorylation ของ mitochondria ซึ่งเป็นสาเหตุให้เซลล์สูญเสีย ATP ในการ pump Ca^{2+} ออกจากเซลล์ (Tirmenstein and Nelson, 1989)



รูปภาพที่ 14 แสดงตำแหน่งการทำงานของเอนไซม์ endonuclease ที่ใช้ในการซ่อมแซม DNA (Lewin, 1990)

3. การเพิ่มขึ้นของ lipid peroxidation

จากการศึกษาในร่าง (Wendel, Feuerstein, and Konz, 1979; Younes et al., 1988; Minamide, Horie, and Awzu, 1992; Szymanska et al., 1992) และการศึกษานอกร่าง (Albano et al., 1983; Van de straat et al., 1988) พบว่า การเพิ่มขึ้นของ lipid peroxidation สัมพันธ์กับการเกิดพิษต่อตับจากอะเซตามิโนเฟน อาจอธิบายได้ว่า อะเซตามิโนเฟนส่งเสริมให้เกิดการ degradation ของ hepatic adenine nucleotide และการเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์ xanthine dehydrogenase ไปเป็น oxidised form เพิ่มมากขึ้น ทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของสารที่จะไปกระตุ้น oxygen และตัวอะเซตามิโนเฟนเองก็ทำให้ระดับ glutathione ลดลงด้วย (Mitchell et al., 1973) นอกจากนี้การทำงานของเอนไซม์ glutathione peroxidase ก็ลดลง (Tirmenstein and Nelson, 1990) จากการศึกษาในสัตว์ทดลอง โดยการให้ xanthine oxidase inhibitor และ liposome encapsulate superoxide dismutase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ใช้ในการขับ free radical พบว่าสามารถลดการเกิดพิษต่อตับจากอะเซตามิโนเฟนได้ อย่างไรก็ตามยังเชื่อกันว่า lipid peroxidation ไม่ใช่กลไกหลักในการทำให้เกิดพิษต่อตับจากอะเซตามิโนเฟน (Younes et al., 1988)

การแบ่งตัวของเซลล์ตับเพื่อทดแทนเซลล์เก่าที่ถูกทำลาย (Liver Cell Regeneration)

การบาดเจ็บเกิดขึ้นต่อตับ (hepatic injury) ไม่ว่าจะโดยการผ่าตัดหรือการได้รับสารเคมีที่มีพิษต่อตับ ล้วนเป็นสาเหตุให้เกิดการทำลายเนื้อเยื่อตับและการตายของเซลล์ตับทั้งสิ้น อย่างไรก็ตาม เซลล์ตับสามารถสร้างเซลล์ใหม่ขึ้นมาทดแทนเซลล์เก่าที่ถูกทำลายได้โดยอาศัยการแบ่งตัวของเซลล์ชนิดเดียวกันที่อยู่ใกล้เคียง จากการศึกษาที่ผ่านมา พบว่าเซลล์ตับที่อยู่ใกล้เคียงกับบริเวณที่ถูกทำลายจะมีการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมี (biochemical) และรูปร่างลักษณะ (morphology) ให้มีความพร้อมในการแบ่งตัว แต่เซลล์ตับที่อยู่ห่างออกไปไม่ปรากฎว่ามีการเปลี่ยนแปลงในลักษณะดังกล่าว (Koss, 1992)

ก่อนที่เซลล์จะแบ่งตัว เซลล์ต้องมีการเตรียมตัวให้พร้อมในการแบ่งตัวโดยเข้าสู่ระยะของการเตรียม เรียกว่า อินเตอร์เฟส (interphase) จากนั้นจึงเข้าสู่ระยะต่าง ๆ ของไมโตซิส (mitosis) ระยะที่เซลล์ใดเซลล์หนึ่งผ่านเข้าสู่อินเตอร์เฟสและ mitosis จนสิ้นสุดการแบ่งเซลล์ เรียกว่า 1 cell cycle (รูปภาพที่ 15)

ระยะอินเตอร์เฟส เป็นระยะที่ไม่สามารถมองเห็นการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของโครโมโซม (chromosome) ได้ชัดเจน เพียงแต่เมื่อมีการย้อมสีเซลล์ ส่วนของ nucleus จะติดสีเข้ม เรียกว่า โครมาติน (chromatin)

ระยะต่าง ๆ ของไมโตซิส (รูปที่ภาพ16)

1. ระยะโปรเฟส (Prophase) โครมาติดที่เห็นในระยะ interphase เริ่มมีการหดตัวมากขึ้น เห็นเป็นแท่งชัดเจน ซึ่งเรียกชื่อใหม่ว่า โครโมโซม แต่ยังมีส่วนติดกันตรงตำแหน่งของ centromere ตอนปลายของระยะโปรเฟสจะเห็นแต่ละโครโมโซมปรากฏเป็น 2 เส้นคู่กันตลอดแนวความยาว เนื่องจากโครโมโซมมีการจำลองตัวเอง nucleolus ที่เคยเห็นในระยะ interphase จะหายไป และเกิดการสลายของเยื่อหุ้มนิวเคลียส

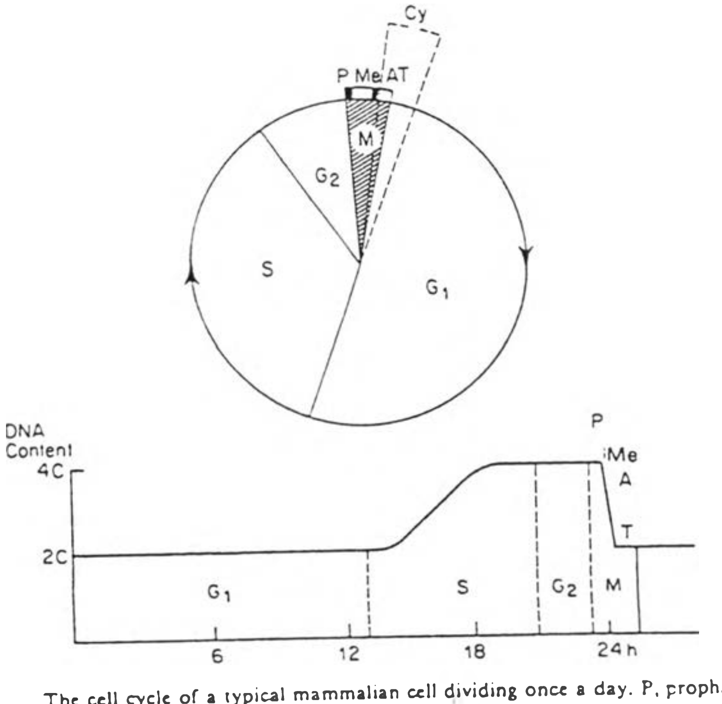
2. ระยะเมตาเฟส (metaphase) ระยะนี้เส้นโครโมโซมขดพันกันแน่นขึ้น ทำให้แต่ละโครโมโซมปรากฏเห็นเป็นเส้นคู่ชัดเจน โครโมโซมเริ่มเข้ามาเรียงตัวกันกึ่งกลางของ spindle fiber หรือเรียกว่าเรียงตัวที่แนวเส้นศูนย์สูตรของเซลล์ ในระยะนี้ centromere ในแต่ละโครโมโซมจะแบ่งครึ่ง จึงให้ sister chromatid ที่เคยติดกันมาตลอดเริ่มแยกจากกัน

3. ระยะแอนาเฟส (anaphase) ระยะนี้ centromere จะเป็นตัวช่วยให้โครโมโซมเคลื่อนที่ได้ sister chromatid 2 เส้น ที่เคยอยู่ด้วยกันจะแยกจากกันไปยังขั้วตรงข้ามของ

spindle fiber ขณะที่ sister chromatid เคลื่อนที่นี้ centromere ก็จะเคลื่อนตัวก่อนจุดอื่น ๆ ของโครโมโซม sister chromatid แต่ละเส้นที่แยกจากกันเรียก โครโมโซม

4. ระยะทีโลเฟส (telophase) sister chromatid ที่แยกจากกันในระยะแอนาเฟส จะแยกจากกันมากขึ้น และแยกไปจนอยู่ขั้วตรงข้ามของเซลล์ ในระยะนี้จะพบว่าขั้วของเซลล์แต่ละขั้วจะประกอบด้วย โครโมโซมที่มีจำนวนเท่ากันและเท่ากับเซลล์เริ่มต้น ในปลายระยะทีโลเฟส spindle fiber จะสลายตัวไป เยื่อหุ้มนิวเคลียสและ nucleolus จะเริ่มปรากฏให้เห็น กลุ่มของโครโมโซมเริ่มมีการสลายตัว ทำให้เห็นลักษณะเป็นเส้นบางยาวพันกันอยู่ แต่ละกลุ่มของโครโมโซมรวมตัวกันขึ้นด้านขั้วตรงข้ามของเซลล์จะอยู่ในสภาพที่เป็นนิวเคลียสใหม่ และมีลักษณะเหมือนกับนิวเคลียสของเซลล์ในระยะอินเทอร์เฟส

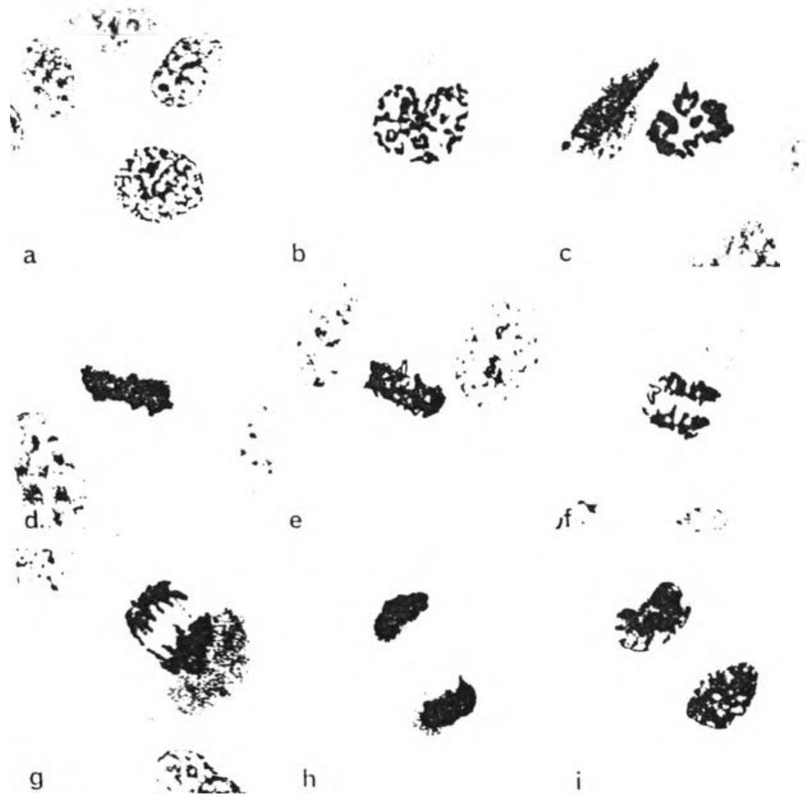
เมื่อการแบ่งนิวเคลียสในกระบวนการไมโตซิสสิ้นสุดลงแล้ว จะมีการแบ่งตัวของไซโตพลาสมตามมาเรียก cytokinesis เมื่อมี cytokinesis เกิดขึ้นในเซลล์สัตว์ ไซโตพลาสมจะคอดเข้าไปในบริเวณกลางเซลล์จนแยกเซลล์ออกเป็น 2 เซลล์



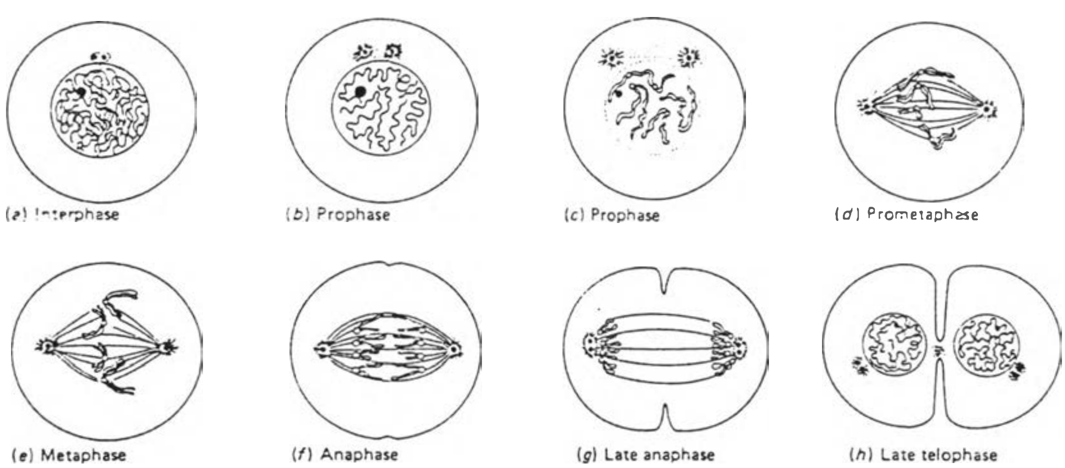
The cell cycle of a typical mammalian cell dividing once a day. P, prophase; M, mitosis; Me, metaphase; A, anaphase; T, telophase; Cy, cytokinesis. The lower curve indicates the change in nuclear DNA content in one cycle.

รูปภาพที่ 15 แสดงวัฏจักรเซลล์

(Wheatley, 1982)



Sequence of mitosis in human fibroblasts in culture. (a) Early prophase, (b) late prophase, (c) polar view of metaphase plate, (d) side view metaphase plate, (e) early anaphase, (f), and (g) later stages of anaphase, (h) early telophase, and (i) late telophase.



รูปภาพที่ 16 แสดงกระบวนการแบ่งตัวของเซลล์ (mitotic process)
(Oberling and Bernhard, 1961)

ก. <u>การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของตับในระหว่างการ regeneration</u> (Structural Changes in Liver During Regeneration)

จากการศึกษาในหนูขาวโดยการตัดตับออก 2/3 ของน้ำหนักตับทั้งหมด (partial hepatectomy) พบว่า ส่วนของตับที่เหลือจากการผ่าตัดมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วภายในเวลาไม่กี่ชั่วโมง และน้ำหนักตับเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่าที่เวลาประมาณ 48 ชั่วโมงหลังผ่าตัด ซึ่งส่วนใหญ่เป็นการเพิ่มขนาดของเซลล์ตับมากกว่าการเพิ่มช่องว่างระหว่างเซลล์ (extracellular space) นอกจากนี้ยังพบว่า เซลล์ตับหรือ hepatocytes (parenchymal cells) จะมีไมโตซิสเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วที่เวลา 24 ชั่วโมงหลังการผ่าตัด จากนั้นเซลล์ชนิดอื่น ๆ จึงมีการไมโตซิสเกิดขึ้น และการไมโตซิสนี้มักเกิดขึ้นรอบ ๆ portal tract ในขณะเดียวกันก็จะมีการสร้างพังผืด (collagen formation) ขึ้นในบริเวณที่มีการทำลายเซลล์ตับอย่างช้า ๆ (Harkness, 1964)

ข. <u>สารชีวเคมีที่เกี่ยวข้องกับการ regeneration</u> (Biochemistry of Regenerating Liver)

ในการศึกษาเพื่อติดตามการ regeneration ของเซลล์ตับในหนูขาวโดยการทำ partial hepatectomy พบว่า ภายในเวลา 30 นาทีหลังการผ่าตัด จะมีการหายไปของ hepatic cytoplasmic basophilic bodies ซึ่งเป็นตัวที่จะถูกเปลี่ยนไปเป็น RNA (ribonucleic acid) ขณะเดียวกันก็มีการเพิ่มขึ้นของ RNA และสาย nucleic acid อย่างรวดเร็วภายในเวลา 24-48 ชั่วโมงหลังการผ่าตัด การเปลี่ยนแปลงนี้เริ่มเกิดขึ้นในบริเวณ periportal area หรือ primary acinus ของ liver lobule ซึ่งเป็นบริเวณที่อยู่ใกล้กับหลอดเลือด portal vein และ hepatic artery ที่ไหลผ่านตับ หลังจากนั้นประมาณ 8 ชั่วโมงจึงมีการเปลี่ยนแปลงเหล่านี้เกิดขึ้นในบริเวณ midzonal และ central area ของ liver lobule

การทำงานของ DNA (deoxyribonucleic acid) เพิ่มมากขึ้นหลังการตัดตับ 12 ชั่วโมง พบว่า อัตราการสังเคราะห์ DNA เริ่มเพิ่มขึ้นที่เวลา 12-15 ชั่วโมงหลังการผ่าตัด เพิ่มขึ้นสูงสุดที่เวลา 20-24 ชั่วโมงหลังการผ่าตัด และอัตราการสังเคราะห์ DNA นี้จะลดต่ำลงเมื่อมีการไมโตซิสเกิดขึ้น แต่การแบ่งตัวของเซลล์ตับเริ่มเกิดขึ้นเมื่อใด หรืออัตราการแบ่งตัวของเซลล์ตับเพิ่มขึ้นสูงสุดเมื่อใดยังไม่สามารถชี้ชัดลงไปได้ จากการศึกษาที่ผ่านมาเชื่อว่าอัตราการเกิดไมโตซิสสูงสุด (maximum evidence) อยู่ระหว่างเวลา 24-48 ชั่วโมงหลังการผ่าตัด นอกจากนี้ยังพบว่าที่เวลาประมาณ 3 วันหลังการผ่าตัดจะมีการเพิ่มขึ้นของปริมาณ

โปรตีนภายในตับและน้ำหนักตับ อัตราการเกิดไมโตซิสจะลดลงเมื่อเวลาผ่านไป 7-10 วันหลังการผ่าตัด และหลังการผ่าตัด 10-20 วันจะมีการเพิ่มขึ้นของเนื้อตับ (liver mass) ในปริมาณมาก มีการซ่อมแซมตับเกิดขึ้นถึง 100 % (Weinbren, 1959)

ค. <u>การเปลี่ยนแปลงหน้าที่ของตับที่มีการ regeneration</u> (Functional Alterations in Regenerating Liver Tissue)

ในระยะแรกของการเกิด regeneration ขึ้นที่ตับ (early liver regeneration) พบว่า ความสามารถของตับในการทำหน้าที่หลั่งสารต่าง ๆ ลดลง เช่น ความสามารถของตับในการหลั่ง bilirubin ลดลงภายในเวลา 24 ชั่วโมงแรกหลังการผ่าตัด นอกจากนี้ยังมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณของ bile pigment, cholesterol และ plasma protein ร่วมด้วย มีการเพิ่มขึ้นของระดับ alkaline phosphatase ในกระแสเลือด และ microsomal fraction ในเนื้อเยื่อตับ ซึ่ง Rush (1954) ได้กล่าวว่า ในระยะแรกของการเกิด regeneration ตับจะทำหน้าที่ในการแบ่งเซลล์ (reduplicate) เพิ่มขึ้นแต่การทำหน้าที่อื่น ๆ ของตับจะลดลง

ง. <u>กลไกการเกิด regeneration</u>

ได้มีการศึกษาพบว่า การเกิด liver cell necrosis มีความสัมพันธ์กับการทำลายโครงสร้างของเซลล์และส่วนประกอบต่าง ๆ ภายในเซลล์ ซึ่งรวมทั้ง mitochondria ด้วย (Dixon, 1984) ภยันตรายเกิดขึ้นต่อตับจึงมีผลกระทบต่อกระบวนการ oxidative phosphorylation ในไมโตคอนเดรีย ทำให้ไมโตคอนเดรียไม่สามารถผลิต ATP ออกมาได้ เซลล์จึงขาด ATP ในการช่วยขับโซเดียมออกนอกเซลล์ และเกิดการคั่งของโซเดียมภายในเซลล์ มีการรั่วไหลของของเหลวจากนอกเซลล์เข้าไปภายในเซลล์ ทำให้เกิดเซลล์บวมและ pH ภายในเซลล์ลดลง ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อมที่อยู่ภายในเซลล์นี้จะส่งผลกระทบต่อ lysosomal membrane ทำให้เกิดการรั่วไหลและของเอนไซม์ที่อยู่ภายในเซลล์ (Robbins, 1974)

การแบ่งตัวของเซลล์ตับเพื่อทดแทนเซลล์เก่าที่ถูกทำลาย เกิดจากผลในการกระตุ้นของ EGF (epithelium growth factor) หรือ EGF-like factor ทำให้มีการเคลื่อนย้ายโซเดียมที่อยู่ภายในเซลล์ออกมานอกเซลล์มากขึ้น การคั่งของโซเดียมภายในเซลล์ลดลงและ pH เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังมีการเปลี่ยนแปลงกระแสไฟฟ้าที่ผิวของเซลล์ (depolarization) อย่างช้า ๆ ส่งผลให้เกิดการสังเคราะห์ RNA และโปรตีนโดยผ่านทาง Na^{+}-dependent amino acid “A” system transport ในระยะ G_0 หรือ early G_1

ในระยะ late G_1 ยังคงมีการเปลี่ยนแปลงของกระแสไฟฟ้าที่ผิวเซลล์และปริมาณ macromolecule ของเซลล์ตับ เนื่องจากมีการทำงานของ glucagon และ insulin โดยผ่านทาง “A” system เช่นเดียวกัน ทำให้เกิด hyperpolarization และ cAMP เพิ่มมากขึ้น ซึ่งเมื่อถึงระดับหนึ่ง (threshold) จะสามารถกระตุ้นให้มีการสังเคราะห์ DNA และกระบวนการต่าง ๆ ของไมโตซิสเกิดขึ้น (Leffert et al., 1982)

จ. การควบคุมการเกิด regeneration (Control of Regeneration)

ตัวกระตุ้นให้เกิดการ regeneration ของเซลล์ตับมีหลายอย่าง เช่น glucagon, insulin และ EGF (epithelium growth factor) ซึ่งจากการศึกษาพบว่า การแบ่งตัวเพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์ของตับสัมพันธ์กับการเพิ่มปริมาณ glucagon ใน plasma ร่วมกับการลดระดับของ insulin และ EGF ใน plasma ดังนั้นจึงเชื่อว่าการ regeneration ของตับอาจเป็นผลโดยตรงจากการเพิ่มระดับ glucagon ใน plasma

ปัจจัยอื่นที่มีผลกระทบต่อการ regeneration ของตับ ได้แก่ อาหารและการไหลเวียนของเลือดมายังตับ โดยพบว่า การขาดอาหารหรือการไหลเวียนของเลือดที่มายังตับลดน้อยลงจะมีผลทำให้ตับมีขนาดเล็กลง

นอกจากนี้ยังเชื่อว่า ขนาดปกติของตับก็มีผลควบคุมการ regeneration ด้วย แต่ยังมีข้อมูลการศึกษาที่มาสนับสนุนมีน้อยมาก อาจเนื่องมาจากความยากในการประเมินผลการเพิ่มจำนวนเซลล์ของตับและลักษณะทาง histopathology แต่จากการศึกษาการ regeneration ของเซลล์ตับโดยวิธีการรวม (incorporation) tritiated thymidine เข้าไปใน nuclei พบว่า การสูญเสียตับไปประมาณ 5% ของน้ำหนักตับทั้งหมดไม่มีผลกระตุ้นให้มีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์ของตับได้ (MacDonald, Roger, and Pechet quoted in Harkness, 1964)

เมื่อมีการ regeneration เพียงพอแล้ว อาจมีการหลั่งฮอร์โมนหรือสารยับยั้งที่จำเพาะเจาะจง (specific inhibitor) บางชนิดเข้าไปในกระแสโลหิต เพื่อการยับยั้งการเกิด regeneration หรืออาจเป็นผลย้อนกลับของปริมาณเนื้อตับที่มีการซ่อมแซมเพียงพอแล้ว (Harkness, 1964)

จะเห็นว่า ตับเป็นอวัยวะที่จำเป็นในการดำรงชีวิตของมนุษย์ มีหน้าที่ในการสร้างและหลั่งน้ำดีเข้าสู่ระบบทางเดินอาหารเพื่อช่วยย่อยอาหารจำพวกไขมัน ช่วยเก็บสะสมสารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรทและไขมัน นอกจากนี้ยังช่วยในการสังเคราะห์สารอาหารจำพวกโปรตีน และทำหน้าที่ในการทำลายพิษที่เกิดจากสารแปลกปลอมต่าง ๆ ภายในร่างกายได้อีกด้วย การเกิดภยันตรายขึ้นต่อตับ ย่อมทำให้หน้าที่และการทำงานของตับเสียไป นำไปสู่การเกิดโรคของตับและโรคแทรกซ้อนอื่น ๆ ดังนั้นการศึกษาที่พบว่าสารใดสามารถป้องกันการเกิดพิษต่อตับได้ ก็จะก่อให้เกิดประโยชน์ในการพัฒนาการรักษาผู้ป่วยอย่างสมเหตุสมผล

สำหรับแอนโดรกราโฟไลด์ เป็นสารประกอบประเภทแลคโตนที่สกัดได้จากต้นฟ้าทะลายโจรมีฤทธิ์ในการป้องกันการเกิดพิษต่อตับจากสารต่าง ๆ ได้หลายชนิด และในการศึกษาฤทธิ์ของแอนโดรกราโฟไลด์ในการป้องกันพิษต่อตับจากเอธานอล (วันดี อุดมอักษร, 2536) พบว่า แอนโดรกราโฟไลด์ไม่เพียงแต่ป้องกันไม่ให้เซลล์ตับถูกทำลายจากพิษของเอธานอลเท่านั้น ยังมีผลให้เซลล์มีความพร้อมในการแบ่งตัวอีกด้วย โดยพบว่า นิวเคลียสของเซลล์ตับโตขึ้นและมีลักษณะ dense nucleolus มากกว่าปกติ เกิดการคั่งของเม็ดเลือดแดงใน central vein และพบว่ามีเซลล์ที่กำลังแบ่งตัวมากกว่าปกติดังนั้น เชื่อว่า การกระตุ้นในเซลล์ตับให้มี regeneration เร็วขึ้น อาจเป็นกลไกหนึ่งในการป้องกันพิษต่อตับของแอนโดรกราโฟไลด์

ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้จึงมุ่งเน้นที่ผลของแอนโดรกราโฟไลด์ต่อการแบ่งตัวของเซลล์ตับเพื่อทดแทนเซลล์เก่าที่ถูกทำลาย โดยใช้อะเซตามิโนเฟนเป็นตัวก่อพิษต่อตับ เนื่องจากการก่อพิษต่อตับด้วยยาหรือสารเคมีที่ใช้ในการรักษาโรค นอกจากจะช่วยให้เกิดความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับกลไกการเกิดพิษต่อตับแล้ว ยังทำให้ทราบถึงความสัมพันธ์ของการใช้ยาดังกล่าวในผู้ป่วยโรคต่าง ๆ นอกเหนือจากคุณสมบัติของยาในการรักษาโรค วัตถุประสงค์ในการวิจัยจึงแบ่งออกเป็น 2 ข้อคือ

1. เพื่อศึกษาหาขนาดของอะเซตามิโนเฟนที่ให้ทางปากหนูขาว 1 ครั้งแล้วทำให้เกิดการตายของเซลล์ตับหนูขาวมากกว่า 50 % โดยที่หนูขาวยังมีชีวิตอยู่
2. เพื่อศึกษา ฤทธิ์ของแอนโดรกราโฟไลด์ต่อการแบ่งตัวของเซลล์ตับในหนูขาวเมื่อให้ก่อนการตายของเซลล์ตับจากอะเซตามิโนเฟน

พารามิเตอร์ที่ใช้ในการบ่งชี้การเกิดพิษต่อตับจากอะเซตามิโนเฟน ได้แก่ ระดับเอนไซม์ transaminase ในซีรั่ม และลักษณะทาง histopathology โดยปกติแล้วเอนไซม์ transaminase ได้แก่ aspatate transaminase หรือที่รู้จักกันทั่วไปว่า serum glutamic oxaloacetate transaminase (SGOT) และ alanine transaminase หรือ serum glutamic pyruvate transaminase (SGPT) จะอยู่ในถุงภายในเซลล์ และจับหลวม ๆ อยู่กับ organellar membrane ไม่สามารถซึมผ่าน (diffuse) ออกมานอกเซลล์ได้ แต่ถ้าเซลล์ได้รับภยันตรายที่มีการทำลาย plasma membrane ร่วมด้วย จะทำให้เอนไซม์เหล่านี้รั่วไหลเข้าไปใน interstitial fluid ซึ่งจากการศึกษาทาง histochemical ทั้งในคนและสัตว์ทดลองพบว่า การเกิด liver cell necrosis ทำให้การรั่วไหลของเอนไซม์ที่อยู่ภายในเซลล์ (intracellular enzyme) ผ่าน plasma membrane ที่มีความผิดปกติเข้าสู่กระแสเลือดได้เช่นกัน และการรั่วไหลของเอนไซม์ที่อยู่ภายในเซลล์ผ่าน plasma membrane ที่ผิดปกตินี้ก็สามารถนำมาใช้เป็นพารามิเตอร์ในการบ่งชี้พยาธิสภาพของเซลล์และตรวจวัดได้ในซีรั่ม (Robbins, 1974)

ส่วนพารามิเตอร์ที่ใช้ในการบ่งชี้การแบ่งตัวของเซลล์ตับเพื่อทดแทนเซลล์เก่าที่ถูกทำลาย (regeneration) คือ mitotic figure ทั้งนี้เนื่องจาก mitotic figure เป็นตัวแสดงถึงการแบ่งตัวเพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์ของร่างกาย ในการเจริญเติบโตของร่างกาย การแทนที่ของเนื้อเยื่อและการซ่อมแซมเซลล์ที่ถูกทำลาย