เภสัชจลนศาสตร์ของสาร capsaicin ในพริกขี้หนูสดและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของพริกขี้หนูสดต่อน้ำตาลในเลือดในอาสาสมัครสุขภาพดี

นายกมล ไชยสิทธิ์

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเภสัชวิทยา (สหสาขาวิชา)
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2550
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

PHARMACOKINETIC OF CAPSAICIN IN CAPSICUM FRUTESCENS AND PHARMACOLOGICAL EFFECT OF CAPSICUM FRUTESCENS ON PLASMA GLUCOSE IN HEALTHY VOLUNTEERS

Mr.Kamon Chaiyasit

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Pharmacology
(Interdisciplinary Program)
Graduate School Chulalongkorn University
Academic Year 2007

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	เภสัชจลนศาสตร์ของสาร capsaicin ในพริกขี้หนูสดและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของพริกขี้หนูสดต่อน้ำตาลในเลือดในอาสาสมัครสุขภาพดี
โดย	นาย กมล ไชยสิทธิ์
สาขาวิชา	เภสัชวิทยา
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ สุพีชา วิทยเลิศปัญญา
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นายแพทย์ วีรพันธุ์ โชวิฑูรกิจ

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ม.ร.ว.กัลยา ติงศภัทิย์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุรีย์ เจียรณ์มงคล)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(รองศาสตราจารย์ สุพีชา วิทยเลิศปัญญา)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ยุวดี วงษ์กระจ่าง)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. พ.ต.ท. หญิง สมทรง ลาวัณย์ประเสริฐ)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กมล ไชยสิทธิ์ : เภสัชจลนศาสตร์ของสาร capsaicin ในพริกขี้หนูสดและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของพริกขี้หนูสดต่อน้ำตาลในเลือดในอาสาสมัครสุขภาพดี.
(PHARMACOKINETIC OF CAPSAICIN IN CAPSICUM FRUTESCENS AND PHARMACOLOGICAL EFFECT OF CAPSICUM FRUTESCENS ON PLASMA GLUCOSE IN HEALTHY VOLUNTEERS) อ. ที่ปรึกษา : รศ.สุพีชา วิทยเลิศปัญญา, อ.ที่ปรึกษาร่วม : ผศ.ดร.นพ.วีรพันธุ์ โชวิฑูรกิจ , 84 หน้า.

พริกขี้หนูสดเป็นพืชผักสวนครัวที่บริโภคกันมาช้านาน และได้มีการค้นพบสารสำคัญในพริกขี้หนูที่ทำให้เกิดความเผ็ดร้อนคือ capsaicin และพบว่า capsaicin ส่งผลกระทบต่อระบบต่างๆ ในร่างกายได้หลายระบบ โดยการศึกษานี้จะทำการศึกษาฤทธิ์ของพริกขี้หนูสดต่อการลดระดับน้ำตาลในเลือด และหาค่าเภสัชจลนศาสตร์ของ capsaicin ในพริกขี้หนู โดยศึกษาในอาสาสมัครสุขภาพดีจำนวน 12 คน ให้อาสาสมัครทำ OGTT ร่วมกับการได้รับ placebo และพริกขี้หนูสดขนาด 5 กรัม จากนั้นให้อาสาสมัครกลุ่มเดิมได้รับ placebo และ พริกขี้หนูสดขนาดเดียวกัน เพื่อศึกษาการกระตุ้นการหลั่งอินสุลินและวัดระดับของ capsaicin ในเลือดโดยใช้เครื่อง HPLC ผลการศึกษาพบว่าอาสาสมัครกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดร่วมกับการทำ OGTT มีระดับน้ำตาลในเลือดต่ำกว่ากลุ่มที่ได้รับ placebo โดยที่เวลา 30 และ 45 นาทีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และอาสาสมัครกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดมีระดับอินสุลินสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับ placebo โดยที่เวลา 1 ชั่วโมง 1ชั่วโมง 15 นาที 1 ชั่วโมง 45 นาที และ 2 ชั่วโมง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และระดับอินสุลินเมื่อเทียบกับเวลาก่อนได้รับสารทดสอบ กลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดไม่มีความเปลี่ยนแปลง แต่ในกลุ่มที่ได้รับ placebo มีระดับอินสุลินลดลง และค่าเภสัชจลนศาสตร์ของ capsaicin ได้แก่ ค่า C_{max} เท่ากับ 2.47 $\pm$ 0.46 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ค่า T_{max} เท่ากับ 47.08 $\pm$ 6.89 นาที ค่า $AUC_{0-\infty}$ เท่ากับ 103.6 $\pm$ 38.99 นาโนกรัม.นาที/มิลลิลิตร K_{el} เท่ากับ 0.4 $\pm$ 0.4 นาที$^{-1}$ และค่า $T_{1/2}$ เท่ากับ 24.87 $\pm$ 17.2 นาที

จากการศึกษาพบว่าพริกขี้หนูสดขนาด 5 กรัมมีคุณสมบัติในการลดระดับน้ำตาลในเลือดและสามารถรักษาระดับอินสุลินไม่ให้ลดลงเมื่อเวลาผ่านไปได้ โดยผลที่ได้น่าจะมาจากสาร capsaicin ที่เข้าสู่ร่างกายด้วยค่าเภสัชจลนศาสตร์ดังกล่าว

ลายมือชื่อนิสิต.....

สาขาวิชา เภสัชวิทยา ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ปีการศึกษา 2550 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4789052120 : MAJOR PHARMACOLOGY

KEY WORD :CAPSAICIN / CAPSICUM FRUTESCENS/ PHARMACOKINETIC /PLASMA GLUCOSE/ INSULIN

KAMON CHAIYASIT : PHARMACOKINETIC OF CAPSAICIN IN CAPSICUM FRUTESCENS AND PHARMACOLOGICAL EFFECT OF CAPSICUM FRUTESCENS ON PLASMA GLUCOSE IN HEALTHY VOLUNTEERS

THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. SUPEECHA WITTAYALERTPANYA.

THESIS COADVISOR : ASST. PROF.DR. WEERAPAN KHOVIDHUNKIT, 84 pp.

Capsicum is a household vegetable which has been consumed for a long time. The active substance that gives hot and spicy flavour was found as capsaicin which has many effects on many organs. This research was conducted to study the effect of capsicum on plasma glucose level and find the pharmacokinetic of capsaicin in *Capsicum frutescens*. The study was performed in 12 healthy volunteers by having the OGTT as well as receiving the placebo and 5 grams of capsicum. Then the same volunteers were given placebo and the same amount of capsicum to study the insulin secretion and measure the capsaicin level in plasma by using the HPLC method. The results show that the volunteers who were given capsicum with OGTT have the tendency of the plasma glucose level lower than the placebo group with finding statistically significant different at 30 and 45 minutes ($P < 0.05$). The group given the capsicum has the tendency of insulin level higher than the placebo group with also finding statistically significant different at 1 hr.,1 hr. 15 minutes,1 hr. 45 minutes and 2 hrs ($P<0.05$). When comparing insulin level at time before to after receiving capsicum and placebo, capsicum group have not any change in insulin level. On the other hand, placebo group showed insulin level significantly gradually decreased. The pharmacokinetic parameters of capsaicin shown as C_{max}, T_{max}, $AUC_{0-\infty}$, K_{el}, $T_{1/2}$ are 2.47 $\pm$ 0.46 ng/ml, 47.08 $\pm$ 6.89 min, 103.6 $\pm$ 38.99 ng.min/ml, 0.4 $\pm$ 0.4 min^{-1} and 24.87 $\pm$ 17.2 min, respectively.

The study found that 5 grams of capsicum has the effect to decrease plasma glucose level and maintain insulin level. This result could be caused by capsaicin in capsicum which is absorbed and distributed to the body with PK parameters as mention.

Student's signature.....

Field of study Pharmacology Advisor's signature.....

Academic year 2007 Co-advisor's signature.....

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์สุพีชา วิทยเลิศปัญญา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และ ผศ.ดร.นพ. วีรพันธุ์ โชวิฑูรกิจ ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่เมตตาให้ความรู้และข้อคิดเห็นต่างๆ รวมถึง ผศ.ดร. วัชรี ลิมปนสิทธิกุล ที่เมตตาในความเห็นในบางช่วงของการศึกษา รศ.ยุวดี วงษ์กระจ่าง คอยให้ความสนับสนุนและความรู้เรื่อง capsaicin เป็นอย่างดียิ่ง

ขอขอบคุณ ดร.พัชราณี ภวัตกุล และ Dr. Akiba Yasu ที่ช่วยให้แนวทางและให้คำปรึกษาในการวิจัยและตอบข้อสงสัยในงานวิจัยที่เกิดขึ้น

ขอขอบคุณคุณนงนุช ถาวร คุณวันดี เข็มศรี และคุณวิลาวรรณ คูสิวิไล ที่ช่วยเหลือในเรื่องของการเจาะเลือดอาสาสมัคร และอื่นๆ

ขอขอบคุณนิสิตแพทย์ชั้นปี 5 และนิสิตหลักสูตรโภชนาการและการกำหนดอาหาร ที่ช่วยเหลือมาเป็นอาสาสมัครทำให้งานวิจัยนี้ผ่านลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณ คุณกาญจนา บุญเรือง ที่ช่วยเหลือในการตรวจวัดระดับอินสุลินให้ในครั้งนี้

ขอขอบคุณ คุณกนกพงษ์ ม่วงศรี ที่ช่วยให้กำลังใจและสนับสนุนในทุกด้านทำให้งานวิจัยชิ้นนี้สำเร็จออกมาได้ด้วยดี

ขอขอบคุณ บิดา มารดา ที่ให้โอกาส สนับสนุนให้การศึกษา สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

บทที่ หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....จ
กิตติกรรมประกาศ.....ฉ
สารบัญ.....ช
สารบัญตาราง.....ซ
สารบัญภาพ.....ฌ
คำอธิบายลักษณะและคำย่อ.....ฎ

บทที่
1 บทนำ.....1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....2
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง
ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....4
3 วิธีดำเนินการวิจัย
สารเคมี วัสดุ และอุปกรณ์.....21
รูปแบบการวิจัย.....22
วิธีดำเนินการวิจัย.....23
การรวบรวมผลและการวิเคราะห์ข้อมูล.....28
4 ผลการทดลอง
ผลการศึกษาการยืนยันความน่าเชื่อถือของวิธีการวิเคราะห์ capsaicin ในพลาสมา.....29
ผลการศึกษาในอาสาสมัคร.....34
5 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง.....47
รายการอ้างอิง.....51
ภาคผนวก.....55
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....84

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

บทที่ หน้า

1. ความเข้มข้นต่ำสุดของ capsaicin ในพลาสมาที่สามารถวิเคราะห์ได้.....30
2. ความเที่ยงตรงของการวิเคราะห์ capsaicin ในพลาสมาในวันเดียวกัน.....30
3. ความเที่ยงตรงของการวิเคราะห์ capsaicin ในพลาสมาในต่างวัน.....31
4. ค่าความถูกต้องของการวิเคราะห์ capsaicin ในพลาสมา.....31
5. ค่า % recovery ของวิธีการสกัด capsaicin ในพลาสมา.....32
6. ความเข้มข้นของกราฟมาตรฐาน.....33
7. ลักษณะทั่วไปของอาสาสมัครสุขภาพดีที่เข้าร่วมโครงการวิจัย.....34
8. ค่าทางชีวเคมีในเลือดของอาสาสมัครและค่าปกติ.....35
9. ระดับน้ำตาลในเลือดในอาสาสมัครแต่ละรายเมื่อได้รับสารทดสอบแบบ OGTT โดยอาสาสมัครรับประทานแคปซูลเปล่า (placebo) 37
10. ระดับน้ำตาลในเลือดในอาสาสมัครแต่ละรายเมื่อได้รับสารทดสอบแบบ OGTT โดยอาสาสมัครรับประทานพริกขี้หนูสด 5 กรัม ในแคปซูล.....38
11. ค่าพื้นที่ใต้กราฟของระดับน้ำตาลในเลือดในกลุ่มที่ได้รับ placebo และกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสด.....39
12. ระดับอินสุลินในอาสาสมัครที่ได้รับแคปซูลเปล่า (placebo).....41
13. ระดับอินสุลินในอาสาสมัครที่ได้รับพริกขี้หนูสด 5 กรัมในแคปซูล.....42
14. ค่าพื้นที่ใต้กราฟของระดับอินสุลินในเลือด ในกลุ่มที่ได้รับ placebo และกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสด.....44
15. ค่าเภสัชจลนศาสตร์ของ capsaicin ของอาสาสมัครได้แก่ C_{max}, T_{max}, $AUC_{0-\infty}$, K_{el} และ $T_{1/2}$.....46

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญภาพ

ภาพประกอบ หน้า

1. แสดงส่วนประกอบของพริกขี้หนูสดโดยส่วนของ placenta จะเป็นส่วนที่มี capsaicin มากที่สุด....5
2. สูตรโครงสร้างโมเลกุลของสาร capsaicin....6
3. กระบวนการสังเคราะห์สาร capsaicin....7
4. แสดงถึงกลไกการออกฤทธิ์ทำให้เกิดความเผ็ดร้อนของสาร capsaicin....8
5. แสดงฮอร์โมนอินสุลินตั้งแต่เริ่มสร้างจนพัฒนาอยู่ในรูปอินสุลินที่พร้อมออกฤทธิ์ได้....16
6. แสดงถึงตัวรับอินสุลิน เมื่อถูกอินสุลินกระตุ้นจะเกิดกระบวนการเติมหมู่ฟอสเฟตของสารภายในเซลล์....19
7. แสดงโครมาโตแกรมของพลาสมา blank เทียบกับโครมาโตแกรมของพลาสมา capsaicin ที่เวลา 19-20 นาที....29
8. แสดงกราฟมาตรฐานของ capsaicin ในพลาสมา....33
9. แสดงผลระดับน้ำตาลในเลือดของกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดและกลุ่มที่ไม่ได้รับพริกขี้หนูสดโดยวิธีทดสอบ OGTT....36
10. กราฟความสัมพันธ์ของระดับอินสุลินของกลุ่มที่ได้รับ placebo และกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดกับเวลา....43
11. ระดับของ capsaicin ในพลาสมาที่เวลาต่างๆ....45
12. แสดงระดับน้ำตาลในเลือดของกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดและกลุ่มที่ไม่ได้รับพริกขี้หนูสดโดยวิธีทดสอบ OGTT ของการศึกษานำร่องคนที่ 1....61
13. แสดงระดับน้ำตาลในเลือดของกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดและกลุ่มที่ไม่ได้รับพริกขี้หนูสดโดยวิธีทดสอบ OGTT ของการศึกษานำร่องคนที่ 2....61
14. แสดงระดับน้ำตาลในเลือดของกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดและกลุ่มที่ไม่ได้รับพริกขี้หนูสดโดยวิธีทดสอบ OGTT ของอาสาสมัครคนที่ 1....62
15. แสดงระดับน้ำตาลในเลือดของกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดและกลุ่มที่ไม่ได้รับพริกขี้หนูสดโดยวิธีทดสอบ OGTT ของอาสาสมัครคนที่ 2....62
16. แสดงระดับน้ำตาลในเลือดของกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดและกลุ่มที่ไม่ได้รับพริกขี้หนูสดโดยวิธีทดสอบ OGTT ของอาสาสมัครคนที่ 3....63
17. แสดงระดับน้ำตาลในเลือดของกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดและกลุ่มที่ไม่ได้รับพริกขี้หนูสดโดยวิธีทดสอบ OGTT ของอาสาสมัครคนที่ 4....63

ภาพประกอบ หน้า

18. แสดงระดับน้ำตาลในเลือดของกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดและกลุ่มที่ไม่ได้รับพริกขี้หนูสดโดยวิธีทดสอบ OGTT ของอาสาสมัครคนที่ 5.....64
19. แสดงระดับน้ำตาลในเลือดของกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดและกลุ่มที่ไม่ได้รับพริกขี้หนูสดโดยวิธีทดสอบ OGTT ของอาสาสมัครคนที่ 6.....64
20. แสดงระดับน้ำตาลในเลือดของกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดและกลุ่มที่ไม่ได้รับพริกขี้หนูสดโดยวิธีทดสอบ OGTT ของอาสาสมัครคนที่ 7.....65
21. แสดงระดับน้ำตาลในเลือดของกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดและกลุ่มที่ไม่ได้รับพริกขี้หนูสดโดยวิธีทดสอบ OGTT ของอาสาสมัครคนที่ 8.....65
22. แสดงระดับน้ำตาลในเลือดของกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดและกลุ่มที่ไม่ได้รับพริกขี้หนูสดโดยวิธีทดสอบ OGTT ของอาสาสมัครคนที่ 9.....66
23. แสดงระดับน้ำตาลในเลือดของกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดและกลุ่มที่ไม่ได้รับพริกขี้หนูสดโดยวิธีทดสอบ OGTT ของอาสาสมัครคนที่ 10.....66
24. แสดงระดับน้ำตาลในเลือดของกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดและกลุ่มที่ไม่ได้รับพริกขี้หนูสดโดยวิธีทดสอบ OGTT ของอาสาสมัครคนที่ 11.....67
25. แสดงระดับน้ำตาลในเลือดของกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดและกลุ่มที่ไม่ได้รับพริกขี้หนูสดโดยวิธีทดสอบ OGTT ของอาสาสมัครคนที่ 12.....67
26. แสดงระดับของอินสุลินในเลือดของกลุ่มที่ได้รับ placebo และกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดของอาสาสมัครคนที่ 1.....68
27. แสดงระดับของอินสุลินในเลือดของกลุ่มที่ได้รับ placebo และกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดของอาสาสมัครคนที่ 2.....68
28. แสดงระดับของอินสุลินในเลือดของกลุ่มที่ได้รับ placebo และกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดของอาสาสมัครคนที่ 3.....69
29. แสดงระดับของอินสุลินในเลือดของกลุ่มที่ได้รับ placebo และกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดของอาสาสมัครคนที่ 4.....69
30. แสดงระดับของอินสุลินในเลือดของกลุ่มที่ได้รับ placebo และกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดของอาสาสมัครคนที่ 5.....70
31. แสดงระดับของอินสุลินในเลือดของกลุ่มที่ได้รับ placebo และกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดของอาสาสมัครคนที่ 6.....70

ภาพประกอบ หน้า

32. แสดงระดับของอินสุลินในเลือดของกลุ่มที่ได้รับ placebo และกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดของอาสาสมัครคนที่ 7.....71
33. แสดงระดับของอินสุลินในเลือดของกลุ่มที่ได้รับ placebo และกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดของอาสาสมัครคนที่ 8.....71
34. แสดงระดับของอินสุลินในเลือดของกลุ่มที่ได้รับ placebo และกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดของอาสาสมัครคนที่ 9.....72
35. แสดงระดับของอินสุลินในเลือดของกลุ่มที่ได้รับ placebo และกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดของอาสาสมัครคนที่ 10.....72
36. แสดงระดับของอินสุลินในเลือดของกลุ่มที่ได้รับ placebo และกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดของอาสาสมัครคนที่ 11.....73
37. แสดงระดับของอินสุลินในเลือดของกลุ่มที่ได้รับ placebo และกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดของอาสาสมัครคนที่ 12.....73
38. แสดงความเข้มข้นของ capsaicin ในพลาสมาของอาสาสมัครคนที่ 1.....74
39. แสดงความเข้มข้นของ capsaicin ในพลาสมาของอาสาสมัครคนที่ 2.....74
40. แสดงความเข้มข้นของ capsaicin ในพลาสมาของอาสาสมัครคนที่ 3.....75
41. แสดงความเข้มข้นของ capsaicin ในพลาสมาของอาสาสมัครคนที่ 4.....75
42. แสดงความเข้มข้นของ capsaicin ในพลาสมาของอาสาสมัครคนที่ 5.....76
43. แสดงความเข้มข้นของ capsaicin ในพลาสมาของอาสาสมัครคนที่ 6.....76
44. แสดงความเข้มข้นของ capsaicin ในพลาสมาของอาสาสมัครคนที่ 7.....77
45. แสดงความเข้มข้นของ capsaicin ในพลาสมาของอาสาสมัครคนที่ 8.....77
46. แสดงความเข้มข้นของ capsaicin ในพลาสมาของอาสาสมัครคนที่ 9.....78
47. แสดงความเข้มข้นของ capsaicin ในพลาสมาของอาสาสมัครคนที่ 10.....78
48. แสดงความเข้มข้นของ capsaicin ในพลาสมาของอาสาสมัครคนที่ 11.....79
49. แสดงความเข้มข้นของ capsaicin ในพลาสมาของอาสาสมัครคนที่ 12.....79

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

ALT	=	alanine aminotransferase
AST	=	aspartate aminotransferase
AUC	=	area under the curve
BUN	=	blood urea nitrogen
BMI	=	body mass index
SBP	=	systolic blood pressure
DBP	=	diastolic blood pressure
R^2	=	coefficient of determination
CV	=	coefficient of variation
CGRP	=	calcitonin gene related peptide
RTX	=	resiniferatoxin
CYP 2E1	=	cytochrome P450 2E1
FBS	=	fasting blood sugar
OGTT	=	oral glucose tolerance test
HPLC	=	high performance liquid chromatography
Ht	=	height
Wt	=	weight
C_{max}	=	maximum concentration
dl	=	decilitre
ml	=	mililitre
mg	=	milligram
kg	=	kilogram
ng	=	nanogram
µl	=	microlitre
SD	=	standard derviation
SEM	=	standard error of mean

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

พริกขี้หนูเป็นพืชผักสวนครัวชนิดหนึ่งที่มนุษย์รู้จักกันมาเป็นเวลาช้านาน โดยนอกจากจะนำมาใช้ประโยชน์ในทางคหกรรมและประกอบอาหารแล้ว ยังถูกนำมาใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์แผนโบราณด้วย โดยในภูมิภาคต่างๆ ทั่วโลกจะมีพันธุ์ของพริกมากกว่า 10 สายพันธุ์ แต่ที่นิยมปลูกและเพาะพันธุ์กันอยู่ในปัจจุบันนั้นมีเพียง 5 สายพันธุ์คือ *Capsicum annum, Capsicum frutescens* (พริกขี้หนู), *Capsicum chinese, Capsicum pendulum* และ *Capsicum pubescens*

เช่นเดียวกันในประเทศไทยมีพริกอยู่หลายสายพันธุ์ แต่สายพันธุ์ที่เป็นที่นิยมมากที่สุดคือพริกขี้หนู ซึ่งในพริกขี้หนูนั้นมีสารประกอบอยู่มากมายหลายชนิดที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา หนึ่งในนั้นคือสารที่ชื่อว่า capsaicin โดยสารชนิดนี้จะเป็นตัวหลักในการทำให้พริกทั้งหมดมีคุณสมบัติ เผ็ดร้อน ในปัจจุบันเราพบว่าสาร capsaicin ไม่ได้มีแต่เฉพาะความเผ็ดร้อน หากแต่ยังมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาอื่น ๆ ที่สำคัญอีกมากมาย เช่น ฤทธิ์ระงับปวด ลดการติดเชื้อ ลดการอักเสบ และกระตุ้นการเคลื่อนตัวของระบบทางเดินอาหาร เป็นต้น

การศึกษาเกี่ยวกับ capsaicin มีมากขึ้นจนค้นพบ capsaicin receptor ชื่อว่า TRPV1 ซึ่งพบในหลายระบบอวัยวะของร่างกาย ทำให้งานวิจัยเกี่ยวกับการออกฤทธิ์ของ capsaicin มีความชัดเจนมากขึ้น มีการพัฒนา capsaicin รูปแบบของยาทาภายนอกเพื่อระงับปวด แต่เมื่อมองในแง่ของการบริโภคพริก พบว่าในประเทศไทยมีอัตราการบริโภคพริกขี้หนูสดเฉลี่ย 5 กรัมต่อวัน ในแต่ละบุคคลอยู่แล้ว ซึ่งการบริโภคในปริมาณดังกล่าวนำไปสู่ความสนใจในการศึกษาฤทธิ์ของสาร capsaicin ในพริกขี้หนูสด ดังนั้นในปี 2545 พัชราณีและคณะจึงได้ทำการศึกษาการบริโภคพริกขี้หนูสดกับการลดระดับน้ำตาลในเลือด การเพิ่มอัตราการเผาผลาญพลังงาน และการลดการจับตัวของลิ่มเลือด ซึ่งพบว่าพริกขี้หนูสดในปริมาณดังกล่าวให้ผลค่อนข้างดี แต่ในแง่ของการลดระดับน้ำตาลในเลือดนั้นยังไม่ทราบถึงกลไกการออกฤทธิ์แน่ชัดว่าออกฤทธิ์ผ่านกลไกใด จนกระทั่ง Akiba et al ได้ทำการศึกษาถึงฤทธิ์ในการลดระดับน้ำตาลในเลือดว่ามาจากกลไกใด โดยทำการวิจัยใน cell culture และ สัตว์ทดลอง จึงได้ค้นพบว่ามี TRPV1 ซึ่งเป็น capsaicin receptor ใน beta-cell ของตับอ่อน และทำการทดสอบโดยดูผลของสาร capsaicin ต่อการหลั่งอินสุลิน พบว่ามีการหลั่งอินสุลินเพิ่มมากขึ้นใน cell culture จึงเชื่อว่ากลไกการออกฤทธิ์ในการการลดระดับน้ำตาลในเลือดน่าจะมาจากกระบวน

การดังกล่าว แต่ทั้งนี้ก็มีรายงานถึง capsaicin ออกฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือดผ่านทางการยับยั้งการดูดซึมน้ำตาลจากลำไส้เข้าสู่กระแสเลือดในสัตว์ทดลอง ปัจจุบันยังไม่ทราบกลไกที่แน่ชัดของ capsaicin ในการลดระดับน้ำตาลในเลือด งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาในมนุษย์เพื่อดูฤทธิ์ของพริกขี้หนูสดซึ่งน่าจะเกิดจากสาร capsaicin ในการลดระดับน้ำตาลในเลือดและดูผลการหลั่งอินสุลิน และข้อมูลการศึกษาเกี่ยวกับสาร capsaicin ในมนุษย์ ยังมีไม่มากนักโดยเฉพาะในเรื่องของการดูดซึมและค่าเภสัชจลนศาสตร์ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงทำการศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของสาร capsaicin ในพริกขี้หนูสดในขนาดของพริกขี้หนูสดที่ให้ผลในการลดระดับน้ำตาลในเลือดด้วย

คำถามการวิจัย

พริกขี้หนูสด สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดโดยการกระตุ้นการหลั่งอินสุลินหรือไม่ และสาร capsaicin ในพริกขี้หนูสดที่ให้ผลในการลดระดับน้ำตาลในเลือดมีค่าทางเภสัชจลนศาสตร์เป็นเช่นไร

สมมุติฐานการวิจัย (Hypothesis)

สาร capsaicin ในพริกขี้หนูสด สามารถถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายได้ พริกขี้หนูสดให้ผลในการลดระดับน้ำตาลในกระแสเลือดผ่านทางการกระตุ้นการหลั่งอินสุลิน

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ทราบถึงผลและขนาดของพริกขี้หนูสดต่อการลดระดับน้ำตาลในเลือดมนุษย์และทราบกลไกการลดระดับน้ำตาลว่าเกิดจากการกระตุ้นการหลั่งอินสุลินหรือไม่
2. ทราบค่าทางเภสัชจลนศาสตร์ ได้แก่ $AUC_{0-\infty}$, C_{max}, T_{max} และ $T_{1/2}$ ของสาร capsaicin ในพริกขี้หนูสด ในมนุษย์ในขนาดที่ให้ผลลดระดับน้ำตาลในเลือด

คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย

- Capsaicin
- *Capsicum frutescens*
- Pharmacokinetic
- Glucose
- Insulin

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

1. พัฒนาวิธีตรวจวัดระดับสาร capsaicin ในพลาสมาของมนุษย์โดยเครื่อง HPLC
2. ทราบค่าทางเภสัชจลนศาสตร์ของสาร capsaicin ที่มีอยู่ในพริกขี้หนูสด
3. ทราบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของพริกขี้หนูสดในการลดระดับน้ำตาลในเลือด ผ่านทางกระตุ้นการหลั่งอินสุลินหรือไม่
4. สามารถนำข้อมูลที่ได้ไปพัฒนาพริกขี้หนูสดในรูปของยาหรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหารได้

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

พริกขี้หนูสดเป็นพืชผักสวนครัวที่ประชาชนชาวไทยและแถบเอเชียนิยมนำมาเป็นส่วนประกอบในการปรุงประกอบอาหาร เพื่อให้เกิดรสเผ็ดร้อน ซึ่งมีปลูกกันอย่างแพร่หลายในประเทศไทยอีกทั้งมีราคาไม่แพง จากรายงานการวิจัยพบว่าประชากรในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้บริโภคพริกขี้หนูสด เฉลี่ยวันละ 5 กรัม ต่อ 1 คน(*1*)

<u>อนุกรมวิธานของพริกขี้หนู</u>

Kingdom:	Plantae
Division:	Magnoliophyta
Class:	Magnoliopsida
Order:	Solanales
Family:	Solanaceae
Genus:	Capsicum
Species:	frutescens
Scientific name:	*Capsicum frutescens* Linn.

พริกขี้หนูจัดเป็นพืชตระกูลเดียวกับมะเขือ มันฝรั่งและยาสูบ พริกขี้หนูจัดเป็นพืชล้มลุกเพาะปลูกกันทั่วโลก เป็นพืชที่มีอายุได้หลายฤดู ลำต้นตั้งตรง สูงประมาณ 1-1.25 ฟุต ใบแบนเรียบเป็นมัน ดอกเป็นดอกเดี่ยวขนาดเล็ก กลีบดอกจะมีสีขาว หรือสีม่วง เกสรตัวผู้ 1-10 อัน เกสรตัวเมีย 1-2 อัน ผลหลายขนาด ผลขนาดเล็กยาวประมาณ 1-1.5 นิ้ว ลูกอ่อนสีเขียวเข้ม เมื่อแก่เป็นสีแดง ชอบดินร่วนซุย และอากาศร้อน(*2*)โดยคุณค่าทางโภชนาการของพริกขี้หนูสด 5 กรัมนั้นมีดังนี้

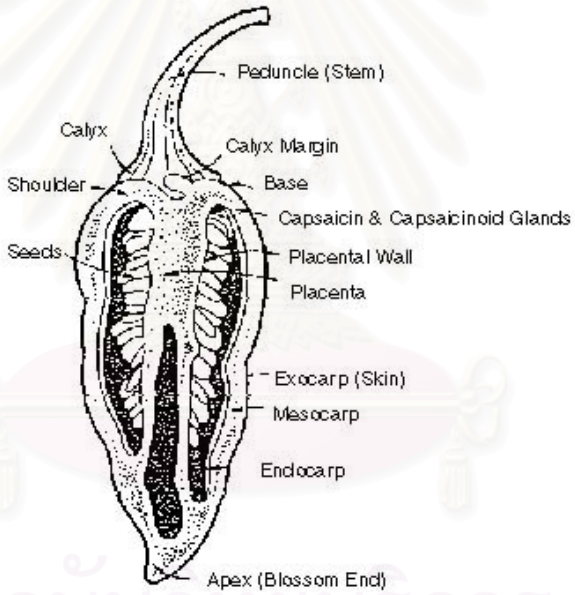
(ข้อมูลจากโปรแกรม INMUCAL-N สถาบันวิจัยโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล พ.ศ.2550)

พลังงาน	3.85	กิโลแคลอรี	คาร์โบไฮเดรต	0.63	กรัม
ไขมัน	0.08	กรัม	โปรตีน	0.17	กรัม
ความชื้น	4.07	กรัม	วิตามินซี	2.45	มิลลิกรัม

เบต้าแคโรทีน	42.25	ไมโครกรัม	โซเดียม	0.45	มิลลิกรัม
โพแทสเซียม	18.85	มิลลิกรัม			

ผลของพริกขี้หนูสดนั้นจะประกอบไปด้วยส่วนที่เรียกว่า endocarp, mesocarp, seed และอื่นๆ เป็นต้น(*3*) ดังรูปที่ 1 ในพริกขี้หนูสดนั้นจะมีความเผ็ดร้อน ที่คนนำมาใช้ประโยชน์ในการปรุงประกอบอาหาร ปัจจุบันทราบว่าสารที่ทำให้เกิดความเผ็ดร้อนดังกล่าวคือสาร capsaicin ซึ่งความเผ็ดของพริกแต่ละชนิดนั้นขึ้นกับปริมาณของ capsaicin

ในปัจจุบันเราวัดค่าความเผ็ดร้อนโดยเทียบเป็น Scoville units คือการเทียบโดยการหาปริมาณแอลกอฮอล์ระดับต่ำที่สุด ที่สามารถทำให้ลิ้นมนุษย์ไม่สามารถรับรสเผ็ดได้ เช่น สาร capsaicin มีค่าความเผ็ดร้อนอยู่ที่ 16,000,000 Scoville units หมายถึง สาร capsaicin 1หน่วย ต้องใช้แอลกอฮอล์จำนวน 16,000,000 หน่วย มาละลายจึงจะสามารถกลบฤทธิ์ความเผ็ดร้อนลงได้ (*1*)



รูปที่ 1 แสดงส่วนประกอบของพริกขี้หนูสดโดยส่วนของ placenta จะเป็นส่วนที่มี capsaicin มากที่สุด (*3*)

สาร capsaicinoid หรือ capsaicin นั้นจะถูกสร้างแล้วตอนเมื่อดอกของพริกขี้หนูบานเต็มที่แล้ว หลังจากนั้น 20 วันจะถูกเก็บไว้ในผล ร่วมไปกับระยะที่ผลของพริกขี้หนูเจริญเติบโต โดยส่วนที่ทำหน้าที่สร้างสาร capsaicinoid คือส่วน epidermal cells ของ placenta ซึ่งในเซลล์ที่สร้าง capsaicinoid นี้จะสร้างในส่วนของ vacuolar fraction และจะถูกเก็บไว้ใน vacuoles จากนั้นจะถูกส่งไปยังส่วนต่างๆของพริกขี้หนูโดยมีการกระจายตัวอย่างไม่สม่ำเสมอ ส่วนที่มีความเข้มข้นของ

สาร capsaicin มากสุดคือส่วนของรกพริกขี้หนู (placenta) ซึ่งการที่ capsaicin มีมากในบริเวณ placenta ดังกล่าวทำให้เราเห็นเป็นจุดสีเหลืองอ่อน หรือสีส้มตาม placenta ของผลพริกขี้หนูได้ (*3*)

สาร capsaicin มีชื่อทางเคมีว่า *trans*-8-methyl-N-vanillyl-6-nonenamide รายละเอียดโครงสร้างโมเลกุลแสดงในรูปที่ 2 โดยหากจัดกลุ่มประเภทของสาร capsaicin จะอยู่ในกลุ่มของสาร vanilloid ซึ่งสาร capsaicin นี้มิใช่จะพบได้แต่พริกเท่านั้นหากแต่ยังพบได้ในพืชที่ให้รสเผ็ดร้อนได้ เช่น กระเทียม, หอมใหญ่ และขิง เป็นต้น ซึ่งในพืชแต่ละชนิดนั้นจะมีความเผ็ดร้อนไม่เท่ากัน โดยหากชนิดไหนมีสาร capsaicin อยู่มากก็จะมีความเผ็ดร้อนมากกว่าชนิดที่มีสาร capsaicin อยู่น้อย ซึ่งคุณสมบัติของสาร capsaicin มีดังนี้ (*4*)

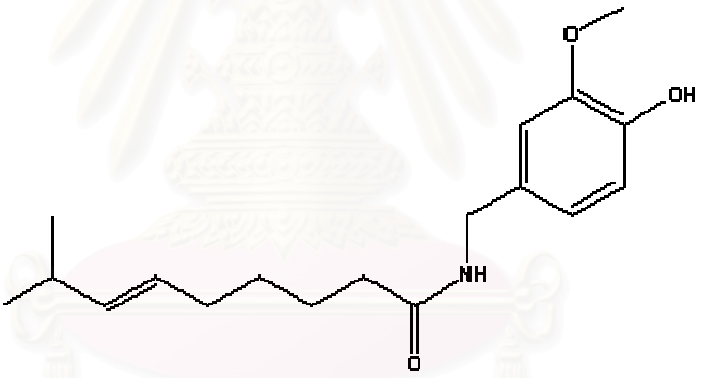
สูตรเคมี : $C_{18}H_{27}NO_3$

มวลโมเลกุล : 305.42

จุดหลอมเหลว : 65 ^{o}C

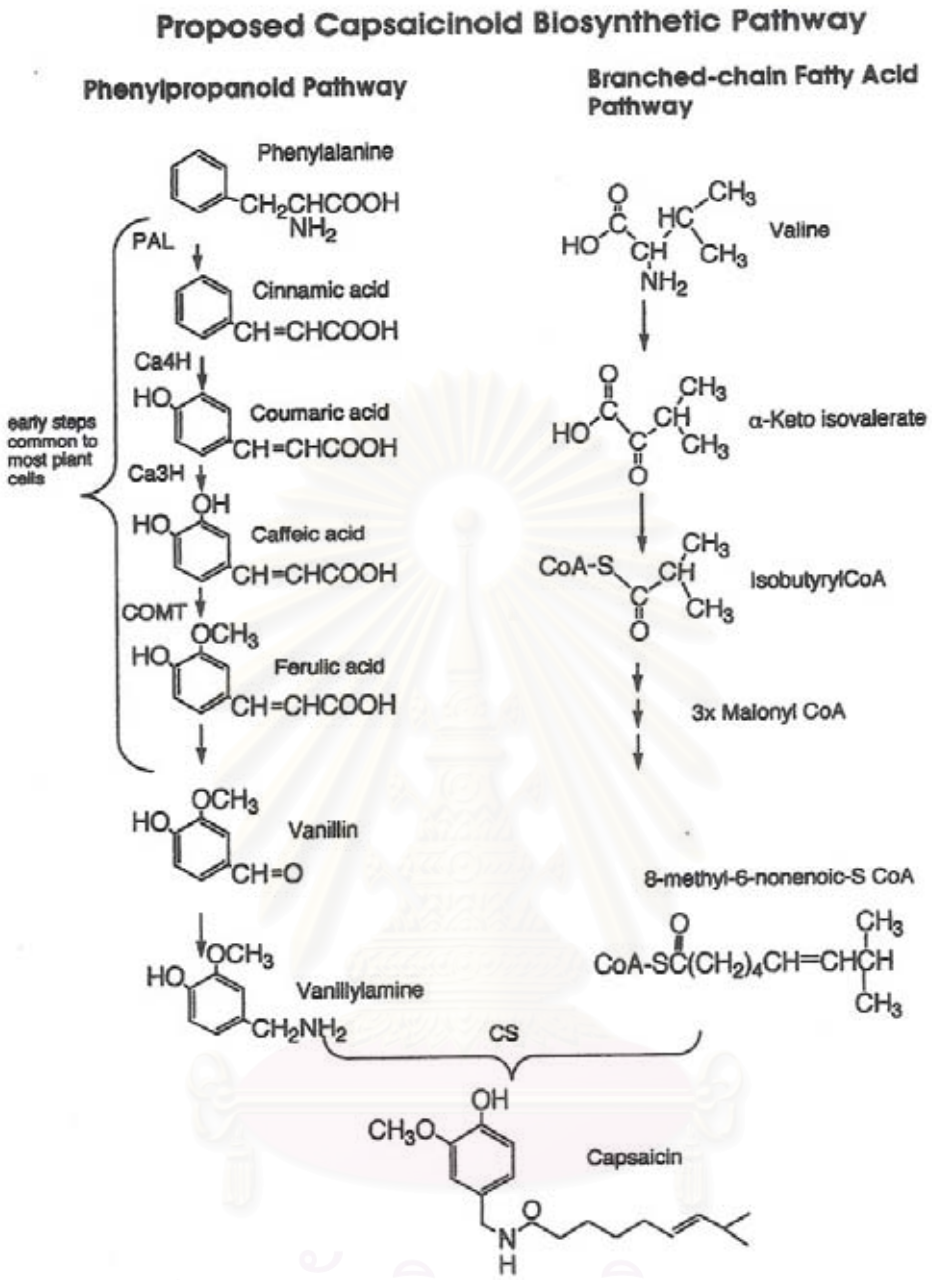
จุดเดือด : 210-220 ^{o}C ที่ 0.01 torr pressure

คุณสมบัติการละลาย : ละลายได้ดีใน ethanol, ether, benzene, chloroform, acetronitile ไม่ละลายในน้ำ (*1*)



รูปที่ 2 สูตรโครงสร้างโมเลกุลของสาร capsaicin (*1*)

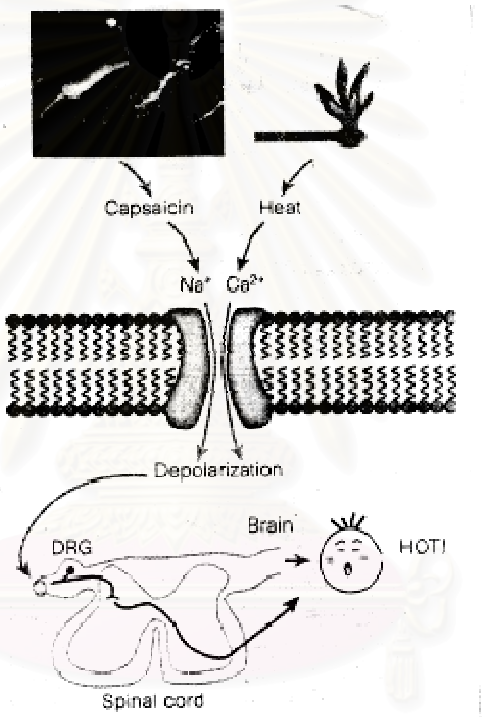
สาร capsaicin ในพริกขี้หนูนั้นถ้ามองลึกลงไปถึงกระบวนการทางชีวเคมีในการสร้างนั้น จะพบว่า สาร capsaicin สังเคราะห์โดยการรวมตัวของ vanillylamine กับ short-chain branched-fatty acid ซึ่งการสร้างของ vanillylamine นั้นมาจาก phenylpropanoid pathway และส่วนของ branched-chain fatty acid ถูกสร้างมาจาก branched-chain amino acid ได้แก่พวก valine สุดท้ายมารวมตัวกันได้กลายเป็น capsaicin (*5*) รายละเอียดแสดงในรูปที่ 3



รูปที่ 3 กระบวนการสังเคราะห์สาร capsaicin (*5*)

ด้วยความพยายามในการที่จะหาคำตอบของสาเหตุการเกิดความเผ็ดร้อนของพริกจึงทำให้นักวิทยาศาสตร์พบว่า capsaicin ที่มีอยู่ในพริกไม่ได้เกิดความเผ็ดร้อนผ่านตัวรับทั่วไปในร่างกาย หากแต่มีตัวรับที่เฉพาะเจาะจงต่อ capsaicin โดยการอาศัยความรู้ของการศึกษาเรื่อง Patch clamp technique ทำให้สามารถค้นพบ receptor ต่อ capsaicin ได้สำเร็จ โดย David Julius และคณะในปี 1997 ตั้งชื่อตามตัวกระตุ้นว่า capsaicin หรือ vanilloid receptor ในเวลาต่อมา IUPHAR ได้ตั้งชื่อ receptor นี้ใหม่เพื่อความเป็นสากลในการเรียกมากขึ้นเป็น Transient receptor potential vanilloid 1

(TRPV1) ซึ่งนอกจากสาร capsaicin แล้วยังมีสารอื่นๆ ที่สามารถกระตุ้นผ่านตัวรับนี้ได้เหมือนกับ capsaicin เช่น anadamide, lipoxygenase products และโปรตอน เป็นต้น แต่ตัวที่มีความแรงในการกระตุ้นผ่าน receptor นี้และเป็นประโยชน์อย่างมากในการศึกษากลไกการทำงานของ receptor นี้คือ สาร Resiniferatoxin ซึ่งเป็นสารที่ได้จากพืช *Euphorbia resinifera* (*6*) โดยกลไกการทำให้เกิดความเผ็ดร้อนของสาร capsaicin ต่อมนุษย์นั้นเกิดจาก capsaicin กระตุ้นผ่านตัวรับคือ TRPV1 ซึ่งเมื่อ TRPV1 ถูกกระตุ้นจะยอมให้โซเดียมและแคลเซียมอิออน ผ่านเข้าไปข้างในทำให้ลดความมีขั้วของเส้นใยประสาทรับความรู้สึกเจ็บปวด (depolarization) ส่งสัญญาณผ่าน dorsal root ganglion เข้าไปยังสมองทำให้เกิดความรู้สึกเผ็ดร้อนและเจ็บปวดได้ (*7*)



<u>รูปที่ 4</u> แสดงถึงกลไกการออกฤทธิ์ทำให้เกิดความเผ็ดร้อนของสาร capsaicin (*7*)

TRPV1/VR1 capsaicin receptor

โครงสร้างของ TRPV1 นี้จะเป็น six transmembrane proteins จะพบได้ทั้งใน cytoplasmic membrane, endoplasmic reticulum และ vesicle membrane ซึ่ง TRPV1 นี้ไม่ได้พบในสัตว์ทุกสปีชีส์ จะพบได้เฉพาะในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมเท่านั้น ในกรณีของสัตว์ประเภทนกและไก่ก็สามารถพบ TRPV1 ได้ เช่นเดียวกับสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม หากแต่สาร capsaicin ไม่สามารถกระตุ้นผ่าน receptor นี้ในสัตว์ประเภทนกและไก่

การศึกษาการแสดงออกของ TRPV1 ที่อวัยวะต่างๆ ในร่างกายนั้น นักวิทยาศาสตร์ได้อาศัย Resiniferatoxin ที่ติดฉลากด้วย ^{3}H ทำให้ทราบว่า TRPV1 จะแสดงออกอยู่ที่ทั้งในระบบประสาทส่วนกลางและระบบประสาทส่วนปลาย เช่น dorsal horn ของไขสันหลัง, caudal nucleus ของ spinal trigeminal complex , ผิวหนัง และ กระเพาะปัสสาวะ เป็นต้น มีรายงานจากการศึกษาวิจัยบางรายงานพบว่า TRPV1 สามารถพบได้ใน glial cell, mast cell และ epithelial cell ได้อีกด้วย แต่ในบทบาทของ TRPV1 ในเซลล์เหล่านี้ยังไม่ทราบแน่ชัด

TRPV1 ส่วนใหญ่แล้วจะพบในเซลล์ประสาท โดยเซลล์ประสาทรับความรู้สึก (Primary sensory neuron) ที่มี TRPV1 และสามารถถูกกระตุ้นได้ด้วย capsaicin จะเรียกว่า TRPV1-positive sensory neurons ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นพวก unmyelinated (C fibers) หรือ Aδ fibers

capsaicin เมื่อเข้าจับกับ TRPV1 จะจับที่ transmembrane domain ที่ 3 และ 4 ในตำแหน่งของกรดอะมิโนตัวที่ Y511 และ T550 แต่สำหรับสารชนิดอื่นๆ นอกเหนือจาก capsaicin จะจับที่ตำแหน่งกรดอะมิโนตำแหน่งอื่น ที่ไม่ใช่ตำแหน่งเดียวกับ capsaicin จับ ทั้งนี้น่าจะมีสาเหตุมาจากความเหมาะสมของรูปร่างลักษณะโมเลกุลของสาร

เมื่อ TRPV1 ถูกกระตุ้นโดย capsaicin จะทำให้เกิดการหลั่งของสารสื่อประสาทตามมาโดยเชื่อว่ากลไกที่ทำให้ vesicle ที่บรรจุสารสื่อประสาทเคลื่อนมาที่ผนังเซลล์เพื่อปลดปล่อยสารสื่อประสาทออกมานั้น มาจากผลของ capsaicin ที่ทำให้สารประจุบวก คือ แคลเซียมและโซเดียมเข้าเซลล์ได้มากขึ้น ซึ่งแคลเซียมจะช่วยในการเคลื่อนย้าย vesicle ให้มาที่ผนังเซลล์ และโซเดียมทำให้ความต่างศักย์เกิดขึ้นเกิดการสร้าง nerve impluse สารสื่อประสาทที่จะหลั่งจาก vesicle ได้แก่ substance P, neurokinin A, neuropeptide K, eledoisin-like peptide, somatostatin, vasoactive intestinal polypeptide, cholescytokinin-octapeptide, calcitonin gene related peptide (CGRP) , galanin, corticotropin-releasing factor, arginin vasopressin, bombesin-like peptides และพบว่าหากภายนอกเซลล์ไม่มีแคลเซียมจะไม่มีการปลดปล่อยสารสื่อเหล่านี้ถึงแม้จะมีการกระตุ้น TRPV1 ก็ตาม (*6*,*8*)

งานวิจัยเกี่ยวกับพริกขี้หนูสดและสาร capsaicin

1. ผลต่อระบบหัวใจและหลอดเลือด

สาร capsaicin และ capsaicinoids สามารถยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือด aortic ในหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการหดตัวของหลอดเลือดด้วย norepinephrine(*9*)ได้ นอกจากนี้ยังพบ TRPV1 อยู่ใน myocardium และ perivascular plexi ของหลอดเลือดโคโรนารี เมื่อให้สาร capsaicin ผ่านทางหลอดเลือดโดยตรง จะกระตุ้นผ่านตัวรับและทำให้เกิดการตอบสนองที่

เรียกว่า Bezold-Jarisch reflex คือการพยายามปรับตัวของระบบหัวใจและหลอดเลือดเพื่อตอบสนองต่อสาร capsaicin โดยการเพิ่มการทำงานของระบบประสาทเวกัส (parasympathetic) ทำให้หัวใจเต้นช้าลง (bradycardia) และหลอดเลือดขยายตัวทำให้ความดันเลือดต่ำกว่าปกติได้ ต่อหลอดเลือดอื่นๆ capsaicin จะกระตุ้นผ่าน TRPV1 ใน capsaicin sensitive neuron ให้มีการหลั่งสาร CGRP และ substance P ซึ่งสารเหล่านี้เป็นสารที่มีฤทธิ์ขยายหลอดเลือดอยู่แล้ว (*6*)

capsaicin มีผลต่อระดับไขมันในเลือด มาจากการที่ capsaicin มีส่วนช่วยในการเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ lipoprotein lipase และ glucose-6-phosphate dehydrogenase และผ่านกลไกอีกหนึ่งกลไกคือ capsaicin ทำให้การหลั่งและการเคลื่อนตัวของทางเดินอาหารดีขึ้น ทำให้น้ำดีถูกขับออกทางอุจจาระมากขึ้น cholesterol จึงถูกขับออกมากขึ้นด้วยในรูปของน้ำดีนั่นเอง (*1,10*)

มีการศึกษาผลของพริกขี้หนูสดต่อการสลายลิ่มเลือด โดย Visudhiphan และคณะ พบว่า capsaicin มีผลเพิ่มการสลายลิ่มเลือดโดยการให้อาสาสมัครได้รับบะหมี่ที่ผสมพริกขี้หนูสด (บะหมี่ 200 กรัม + พริกขี้หนูสด 2 ช้อนชา) จากนั้นทำการวัด fibrinolysis activity โดย euglobulin lysis time (ELT) ซึ่งพบว่าอาสาสมัครมีการสลายลิ่มเลือดเพิ่มขึ้น นอกจากนั้นพบว่าประชากรชาวไทยนั้นมีการสลายลิ่มเลือดมากกว่าประชากรชาวอเมริกาที่อาศัยอยู่ในประเทศไทย และประชากรไทยยังมี fibrinogen ในเลือดต่ำกว่าและ antithrombin III สูงกว่าประชากรชาวอเมริกา ซึ่งปกติประชากรชาวไทยรับประทานพริกพร้อมมื้ออาหารอยู่เป็นประจำทุกมื้อ ทำให้อุบัติการณ์การเกิด thromboembolism น้อยกว่าประชากรชาวอเมริกา (*11*) แต่จากงานวิจัยของพัชราณีและคณะ ให้หญิงที่มีภาวะไขมันในเลือดสูงได้รับพริกขี้หนูสด 5 กรัม และ 10 กรัม เป็นเวลา 4 สัปดาห์ไม่พบผลการเปลี่ยนแปลงของการลดการเกาะตัวของลิ่มเลือด ที่ถูกเหนี่ยวนำโดย ADP และ คอลลาเจน แต่อย่างใด (*1*)

2. ผลต่อการเผาผลาญพลังงาน

พริกขี้หนูสามารถทำให้เกิด negative energy balance ในหนูหลังจากบริโภคพริกขี้หนู 7 วัน นอกจากนี้การบริโภคพริกขี้หนูสดร่วมกับอาหารมื้อที่มีไขมันสูงสามารถเพิ่มการสลายไขมันในหญิงชาวญี่ปุ่น โดยปกติทั่วไปแล้วมนุษย์สามารถเพิ่มอัตราการเผาผลาญคาร์โบไฮเดรตและความต้องการพลังงาน (energy expenditure) ได้ในกรณีที่รับประทานอาหารที่มีคาร์โบไฮเดรตสูง แต่ไม่สามารถเพิ่มการสลายไขมัน (fat oxidation) และความต้องการพลังงาน (energy expenditure) ได้ในกรณีที่ได้รับไขมันในปริมาณมาก นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยของประเทศญี่ปุ่น โดยการให้ชายญี่ปุ่นบริโภคอาหารเช้าพลังงาน 650 Kcal แบ่งเป็นกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนู 10 กรัม กับอีกกลุ่มหนึ่งไม่ได้รับพริกขี้หนู พบว่าภายหลังจากการบริโภคแล้ว 30

นาทีกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูมีแนวโน้มการใช้พลังงานของร่างกายมากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับพริกขี้หนู การเกิดกระบวนการเผาผลาญคาร์โบไฮเดรตในกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูมีมากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับ (*12,13,14*)

3. ผลต่อการรับประทานอาหารและการควบคุมน้ำหนัก

พริกขี้หนูสดและ capsaicin มีผลต่อพฤติกรรมการบริโภคและการได้รับพลังงานโดยมีการทำวิจัยในประชากรชาวญี่ปุ่นและชาวผิวขาว มีรายงานถึงการได้รับพริกขี้หนูสดจะลดความอยากอาหารและการได้รับโปรตีนและไขมันในหญิงชาวญี่ปุ่น ซึ่งมีรายงานทำนองเดียวกันในการลดความอยากอาหารและการรับประทานอาหารในชายชาวผิวขาว caucasian ซึ่งมีรายงานที่พยายามอธิบายว่าผลดังกล่าวเกิดจากการเพิ่ม sympathetic nervous system activity เนื่องจากมีรายงานถึงการเพิ่มขึ้นของ plasma epinephrine และ norepinephrine หลังจากได้รับพริกขี้หนูสด (*15*)

ในผู้ป่วยโรคอ้วนมักจะพบภาวะ sympathetic nervous system activity ลดลงสารที่สามารถกระตุ้นผ่านระบบประสาทดังกล่าว น่าจะมีผลดีต่อการลดน้ำหนักคือเพิ่มอัตราการเผาผลาญพลังงาน ซึ่งสารสองชนิดที่มีคุณสมบัติดังกล่าว และมนุษย์บริโภคเป็นประจำคือ คาเฟอีน และ capsaicin มีรายงานว่าหนูที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับพริกขี้หนูสดจะมีน้ำหนักตัวที่น้อยกว่าหนูกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงอย่างเดียวเท่านั้น(*16,17*) นอกจากนี้งานวิจัยของพัชราณีและคณะ พบผลต่อการเพิ่มการเผาผลาญพลังงานในอาสาสมัครโดยผลที่เกิดขึ้นภายใน 30 นาทีหลังการบริโภคพริกขี้หนูสดขนาด 5 กรัม(*1*)

4. ผลต่อระบบทางเดินอาหาร

เป็นที่ทราบกันมานานว่า capsaicin สามารถกระตุ้นการเคลื่อนไหวของระบบทางเดินอาหารได้อย่างดี (gastrointestinal motility) (*18*) มีการศึกษาถึงผล capsaicin ต่อการกระตุ้นให้เกิดการหดตัวของลำไส้เล็กที่แยกจากกายของสุนัข หนูตะเภา และหนู (*1,19*) สารสกัดจากพริกสามารถกระตุ้นให้เกิดการหลั่งของน้ำลาย และน้ำย่อยได้ในสุนัขและมนุษย์ และ capsaicin สามารถกระตุ้นผ่าน H_2 receptor ในกระเพาะอาหารทำให้เพิ่มการไหลเวียนโลหิตที่กระเพาะอาหาร มีผลเพิ่มการหลั่งน้ำย่อยจากทางเดินอาหารด้วย (*20*) และมีรายงานถึงผลต่อการปกป้องเยื่อบุทางเดินอาหาร capsaicin ในระดับความเข้มข้นที่ไม่สูงมากจะช่วยเสริมกลไกการป้องกันเยื่อบุทางเดินอาหารจากสารเคมีต่างๆ ที่จะเข้ามาทำลายระบบทางเดินอาหาร โดยพบ TRPV1 ในเซลล์เยื่อบุส่วนของ endoplasmic reticulum ซึ่งมีแต่สาร capsaicin เท่านั้นที่สามารถผ่านผนังเซลล์เข้าไปกระตุ้น TRPV1 บน endoplasmic reticulum โดยไม่ทำให้เกิดความเสียหายขึ้นกับเซลล์ ซึ่งเมื่อ TRPV1 ถูกกระตุ้นจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของระดับ แคลเซียม

เหนี่ยวนำให้เกิดการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ cycloxygenase 1 มีผลทำให้เกิดการสังเคราะห์สารพรอสตาแกลนดิน ที่มีผลต่อการกระตุ้นการหลั่ง mucous ได้ และระดับแคลเซียมที่เปลี่ยนนี้เองยังมีผลทำให้เกิดการหลั่งของสารสื่อประสาทพวก acetylcholine มีผลทำให้เพิ่มการเคลื่อนตัวของลำไส้ และการหลั่งน้ำย่อยในระบบทางเดินอาหาร(*6*)

5. ผลต่อกระเพาะปัสสาวะ

กระเพาะปัสสาวะมีเส้นประสาทที่ไวต่อการกระตุ้นด้วยสาร vanilloid เรียกว่า vanilloid sensitive nerves มีผลควบคุมการขับถ่ายปัสสาวะ ผู้ป่วยที่ไม่สามารถควบคุมการขับถ่ายปัสสาวะมีอาการปัสสาวะบ่อย เกิดจากการรับรู้ของเส้นประสาทต่อการเปลี่ยนแปลงการยืดหดตัวของผนังกระเพาะปัสสาวะที่ไวเกินกว่าปกติ พบว่าเมื่อให้ capsaicin เข้าสู่กระเพาะปัสสาวะจะช่วยลดความไวต่อการรับรู้การเปลี่ยนแปลงผนังกระเพาะปัสสาวะได้ โดยผ่านทาง C fibers(*6*)

6. ผลระงับปวด

capsaicin ที่สกัดมาจากพริกถูกนำมาพัฒนาเป็นครีมทาบรรเทาอาการปวดที่เกิดจากโรค osteoarthritis, rheumatoid arthritis และ neuralgic pain ยาทา capsaicin ถูกเตรียมอยู่ในขนาด 0.025% และ 0.075% เมื่อให้ capsaicin ในระยะเริ่มแรกจะมีการปล่อยสาร substance P และ CGRP ออกมาจากเซลล์ประสาททำให้เกิดการปวด แต่หากได้รับสาร capsaicin อย่างต่อเนื่อง จะไล่ที่ substance P และ CGRP ออกจากเซลล์ประสาทจนหมดทำให้ระงับอาการปวดได้ ซึ่ง substance P ที่อยู่บริเวณ nerve ending ทำหน้าที่เป็นสารสื่อประสาทส่งสัญญาณไปสมองให้รับรู้ถึงความเจ็บปวด โดยเมื่อใช้ capsaicin cream ในช่วงแรกจะเกิดอาการร้อนหรือแสบบริเวณที่ทา จากสาร capsaicin กระตุ้นผ่านตัวรับ TRPV1 บริเวณผิวหนังทำให้เกิดความรู้สึกดังกล่าว และปล่อย substance P ออกมาในช่วงแรก แต่เมื่อใช้ต่อเนื่องเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ขึ้นไป อาการปวดจะลดลงตามลำดับ (*21,22*)

7. ผลต่อระดับน้ำตาลในเลือด

ผลของ capsaicin ต่อเอนไซม์ disaccharidase เช่น maltase, lactase, sucrase และ trehalase จากการทดลอง in vitro ในลำไส้หนูส่วน jejunum พบว่าสารละลาย capsaicin ความเข้มข้น 10^{-7}-10^{-2} M สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ดังกล่าวได้ เมื่อ incubate เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แต่มีงานวิจัย in vivo ในหนูโดยให้พริกขี้หนูสด 0.1 กรัม และ capsaicin 0.1 mg/kg BW ทางสายอาหาร หรือให้พร้อมกับอาหารปกติ พบว่า capsaicin ไม่มีผลต่อ disaccharidase

enzyme(*23*) นอกจากนี้มีงานวิจัยรายงานว่า capsaicin สามารถยับยั้งการดูดซึมน้ำตาลกลูโคสทั้ง in vitro และ in vivo ในสุนัขและหนู(*24,25*)

รายงานผลการวิจัยของพริกขี้หนูสด และ capsaicin ต่อระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือด ได้แก่ Gram et al รายงานว่าในหนู Zucker rat เมื่อให้ capsaicin ขนาด 100 mg/kg ฉีดเข้าใต้ผิวหนัง จากนั้นทำ OGTT (Oral glucose tolerance test) พบว่าระดับกลูโคสในกระแสเลือดลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนระดับของอินสุลินไม่มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับ capsaicin ขณะที่ทำการทดลองอีกครั้งโดยใช้ Resiniferatoxin (selective vanilloid receptor) แทน capsaicin พบว่าระดับน้ำตาลในเลือดของหนูลดลง และระดับอินสุลินเพิ่มขึ้นมากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับสารทดสอบ (*26,27*) Ahuja KD et al ได้ทำการทดลองโดยให้อาสาสมัคร 36 คน รับประทานพริกขี้หนู และอาหารอ่อนปราศจากพริกขี้หนู พบว่าเมื่ออาสาสมัครได้รับอาหารที่มีพริกขี้หนู มีผลทำให้เกิดภาวะ hyperinsulinemia (*28*) งานวิจัยเกี่ยวกับระดับน้ำตาลในเลือดที่น่าสนใจอีก คืองานวิจัยของ Gyula et al ทำการทดลองโดยให้ capsaicin ขนาด 400 μg กับอาสาสมัครสุขภาพดีจำนวน 14 คนและทำ OGTT เพื่อเทียบผลระหว่างกลุ่มได้รับและไม่ได้รับสาร capsaicin พบว่า กลุ่มที่ได้รับ capsaicin มีระดับน้ำตาลในเลือดมากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับสาร capsaicin และนอกจากนี้ยังพบระดับ glucagon เพิ่มขึ้นในกลุ่มที่ได้รับ capsaicin มากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับ(*29*) Akiba Y. และคณะพบ TRPV-1 ที่เซลล์ตับอ่อน โดยเฉพาะที่ beta cell ซึ่งทำหน้าที่หลั่งฮอร์โมนอินสุลิน จึงได้ทำการทดลองใน rat insulinoma cell lines (RIN) พบการแสดงออกของ TRPV-1 ในเซลล์ดังกล่าว และเมื่อให้ capsaicin ที่ความเข้มข้น 10^{-9} M จะให้ผลหลั่งอินสุลินได้มากที่สุด และเมื่อให้ capsazepine (capsaicin receptor antagonist) ร่วมกับ capsaicin พบว่าการหลั่งอินสุลินลดลงกว่าการได้รับ capsaicin อย่างเดียว จึงสันนิษฐานว่า capsaicin กระตุ้นTRPV-1 ทำให้แคลเซียมเข้าสู่เซลล์มากขึ้นเกิดการกระตุ้นการหลั่งอินสุลินเพิ่มขึ้น และยังได้มีการทดสอบ in vivo โดยให้ capsaicin10 mg/kg ฉีดเข้าใต้ผิวหนัง ในหนูที่อดอาหารข้ามคืน แล้ววัดระดับอินสุลินหลังได้รับ capsaicin 1 ชั่วโมงเทียบกับกลุ่มควบคุม พบว่ากลุ่มที่ได้รับสาร capsaicin มีระดับอินสุลินเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*30*)

พัชราณีและคณะได้ทำการศึกษาผลการบริโภคพริกขี้หนูต่อการเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลกลูโคสโดยศึกษาในประชากร 10-12 คน ให้พริกขี้หนูสับละเอียดขนาด 5 กรัมผสมกับน้ำตาลกลูโคสจำนวน 75 กรัม พบว่าภายหลังการบริโภคพริกขี้หนูที่เวลา 30 นาที ระดับน้ำตาลในเลือดลดได้ร้อยละ 20 แต่เมื่อให้อาสาสมัครได้รับพริกขี้หนูสดวันละ 5 กรัมเป็นเวลา 1 เดือน ไม่พบความแตกต่างของ fasting plasma glucose ในกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสด เทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับ(*1*)

พิษวิทยาและอันตรายจาก capsaicin

ในปี 1952 Hoch-Ligeti และคณะได้ทำการศึกษาโดยการให้หนูได้รับพริกป่นจำนวน 10% ของน้ำหนักอาหารพบว่าหนูมีแนวโน้มของการเกิดเนื้องอกในตับ แต่มีการโต้แย้งเกี่ยวกับผลการทดลองว่า กลไกการเกิดเนื้องอกนั้นอาจจะมาจากสาร Aflatoxin ที่มีอยู่ในเมล็ดพริกก็ได้ มีรายงานการศึกษาวิจัยบางรายงานได้ศึกษาพบว่า capsaicin สามารถกระตุ้นให้เกิดมะเร็งในกระเพาะอาหารได้ในมนุษย์แต่ข้อมูลงานวิจัยที่ได้ยังมีไม่เพียงพอ จนกระทั่ง Gannett และคณะได้ศึกษาวิจัยพบว่า CYP2E1 ทำหน้าที่ในการเปลี่ยนแปลงสาร capsaicin ให้กลายเป็น reactive phenoxy radical ซึ่งสามารถกลับมาสร้างพันธะโควาเลนท์กับ CYP2E1 เองได้ เป็นที่ทราบกันดีว่า CYP2E1 ทำหน้าที่ในการกำจัดสารพิษมากมายหลายชนิดแก่ร่างกาย แต่หากถูกยับยั้งโดย phenoxy radical แล้วทำให้ความสามารถในการกำจัดสารพิษของร่างกายลดลง(*31*)ได้มีการศึกษาถึงพิษวิทยาของพริกในสัตว์ทดลองมากมาย ยกตัวอย่างเช่น การให้สารสกัด capsaicin ในปริมาณสูง (10-20 mg/kg body weight) ทางหลอดเลือดดำในสุนัขจะทำให้เกิด “Triad effect” ซึ่งประกอบด้วย bradycardia, apnea และ hypotension ได้ ซึ่งการตอบสนองเหล่านี้เกิดจาก reflex ที่ผ่านทาง intra และ extrapulmonary receptor, coronary chemoreceptor, carotid sinus receptor และ receptor ที่อยู่ในกล้ามเนื้อลาย และมีรายงานว่า fatal oral dose ของ capsaicin ในหนูทดลองมีค่าประมาณ 150 mg/kg มีผลทำให้หนูตายได้ภายในเวลา 4-26 นาที สำหรับในมนุษย์นั้นคาดว่า capsaicin ปริมาณ 9 กรัมทำให้ผู้ใหญ่ที่มีน้ำหนัก 60 kg เสียชีวิตได้ โดยมีผลทำให้ความดันเลือดต่ำลง หรือหยุดหายใจได้ (*1,19,20,31,32*)

เภสัชจลนศาสตร์ของ capsaicin

มีรายงานการศึกษาการดูดซึมสาร capsaicinในหนูทดลอง ทั้งแบบ in vivo และ in situ โดยให้หนูได้รับสาร capsaicin พร้อมอาหาร จะพบว่า capsaicin ถูกดูดซึมในปริมาณ 85% ในระยะเวลา 3 ชั่วโมง ส่วนการทดลองแบบ in situ ที่ส่วนต่างๆ ของทางเดินอาหารได้ผลดังนี้ capsaicin ถูกดูดซึม 50 % ในกระเพาะอาหาร 80% ในส่วน jejunum และ 70% ในส่วน ileum ซึ่งพบว่า capsaicin ถูกดูดซึมดีที่สุดในส่วนของ jejunum และเป็นการดูดซึมแบบไม่ใช้พลังงาน โดยจะถูกดูดซึมเข้าสู่ portal system ไม่เข้าสู่ mesenteric lymphangial งานวิจัยยังพบว่าสาร capsaicin เมื่อถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายจะเกิดกระบวนการ first-pass effect ได้บ้าง (*33,34,35*) capsaicin และ hydrocapsaicin สามารถถูกเปลี่ยนแปลงได้โดยเอนไซม์ในตับเป็น N-(4,5-dihydroxyl-3-methoxybenzyl)-acyla-mide ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม catechol และมีการเปลี่ยนแปลงให้เป็นสารที่ละลายน้ำได้ดีขึ้นโดยปฏิกริยา hydroxylation บนหมู่ vanillyl ring Gannett และคณะได้ศึกษาวิจัยพบว่า cytochrome P450 2E1 (CYP2E1) ทำหน้าที่ในการเปลี่ยนแปลงสาร capsaicin ให้กลายเป็น reactive phenoxy radical ซึ่งสามารถกลับมาสร้างพันธะโควาเลนท์กับ CYP2E1 ได้ (*31*)

อินสุลิน (Insulin)

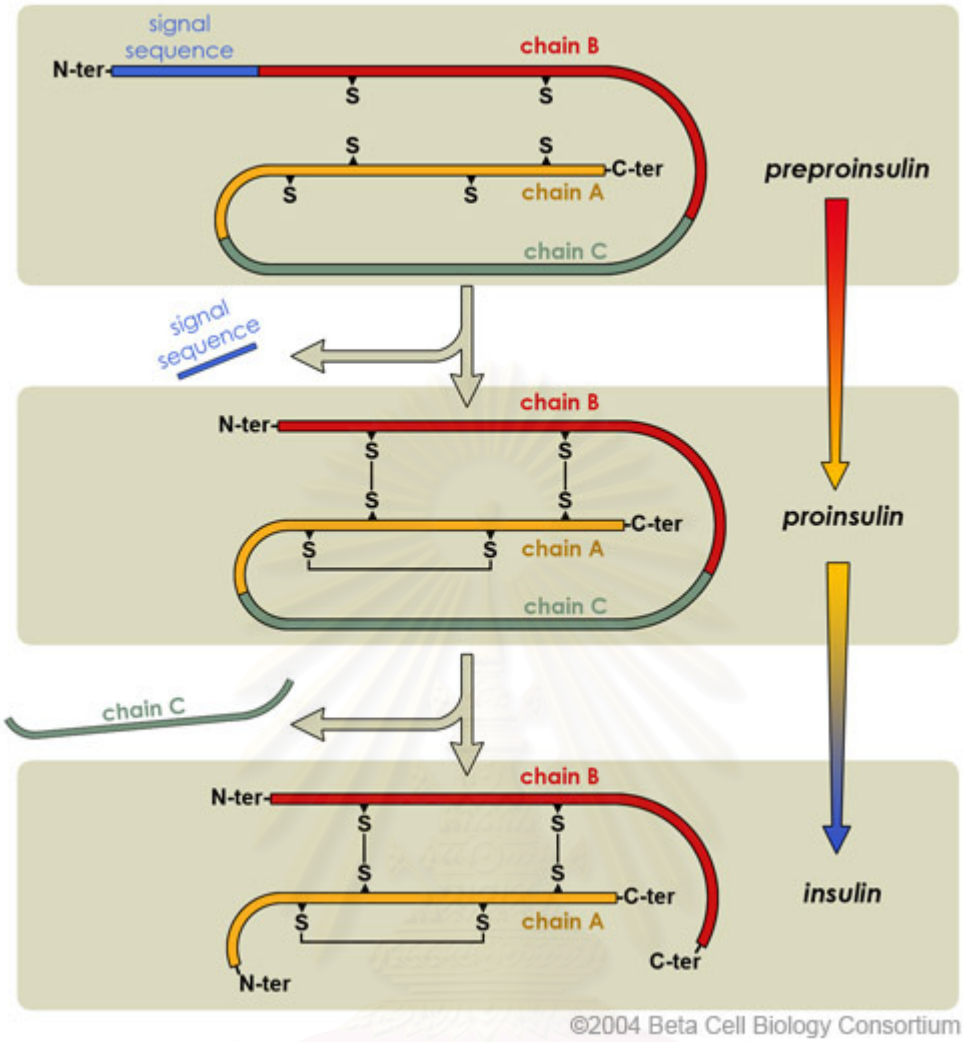
เป็นฮอร์โมนที่กระตุ้นให้ร่างกายสะสมอาหาร (anabolic hormone) ในรูปของคาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน และทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดลดต่ำลง โดยทำให้กลูโคสผ่านเข้าสู่เนื้อเยื่อต่างๆ และเปลี่ยนกลูโคสไปเป็น glycogen เก็บไว้ในตับและกล้ามเนื้อ ฉะนั้นถ้าเกิดการขาดอินสุลิน ระดับน้ำตาลในเลือดจะสูงขึ้น ซึ่งในผู้ป่วยเบาหวานจะมีความผิดปกติของการสร้างหรือการนำอินสุลินไปใช้(*36*)

การสังเคราะห์อินสุลิน

ฮอร์โมนนี้สร้างได้จากโครโมโซมที่ 11ใน β เซลล์ของ islet of Langerhans ซึ่งเป็นส่วนของต่อมไร้ท่อโดยฮอร์โมนที่สังเคราะห์ได้เป็นโมเลกุลที่มีขนาดใหญ่เรียกว่า preproinsulin สร้างจากส่วนของ rough endoplasmic reticulum (RER) แล้วถูกสารเร่งปฏิกริยาตัดออกบางส่วนเหลือเป็น proinsulin อันประกอบด้วยโมเลกุลของอินสุลินเส้น A มีกรดอะมิโน 21 หน่วย เชื่อมต่อกับเส้น B ซึ่งมีกรดอะมิโน 30 หน่วย โดยเปปไทด์เชื่อม (c peptide) ซึ่งมีกรดอะมิโน 35 หน่วย เปปไทด์เชื่อมนี้จะถูกสารเร่งปฏิกิริยาตัดออกในภายหลัง และโพรอินสุลินนี้จะม้วนตัวทำให้เกิดพันธะซัลฟายด์ 3 แห่ง และจะถูกส่งไปเก็บที่ Golgi apparatus ซึ่งฮอร์โมนจะบรรจุในถุงคัดหลั่งและจะถูกหลั่งออกจากเซลล์โดยกระบวนการ exocytosis เข้าสู่ระบบไหลเวียนเลือดในรูปของฮอร์โมนอิสระ และถูกนำเข้าไปในเซลล์เป้าหมายหลังจากจับตัวรับสัญญาณจะถูกกำจัดโดยสารเร่งปฏิกิริยาในตับไต และรก กรดอะมิโนซึ่งประกอบเป็นโครงสร้างของฮอร์โมนจะแตกต่างกันในสัตว์สปีชีส์ต่างๆกัน ซึ่งอินสุลินที่สกัดจากหมูจะมีเพียงหนึ่งกรดอะมิโนที่แตกต่างจากฮอร์โมนของคน จึงใช้ฮอร์โมนจากหมูมาใช้สำหรับคนที่ขาดอินสุลิน แต่ปัจจุบันสามารถใช้พันธุวิศวกรรมสังเคราะห์อินสุลินของคนเพื่อใช้ในทางการแพทย์ได้

บทบาทของอินสุลิน

อินสุลินเป็นฮอร์โมนที่สำคัญในการส่งเสริมให้ร่างกายเก็บสะสมสารอาหารที่ได้จากการดูดซึมเพื่อจะได้มีสำรองไว้ใช้ในช่วงระหว่างมื้ออาหารและเมื่อจำเป็น โดยทำหน้าที่เหมือนกุญแจไขเซลล์เพื่อให้กลูโคสผ่านผนังเซลล์ เพื่อสะสมสารอาหารเก็บไว้ในเซลล์ กระตุ้นการเจริญเติบโตของเซลล์ โดยอินสุลินจะไปเพิ่มตัวพาของเยื่อหุ้มเซลล์ในการขนส่งน้ำตาลเข้าเซลล์ (glucose transporter) เพราะปกติน้ำตาลไม่สามารถแพร่ผ่านเข้าเซลล์เหล่านี้ได้สะดวกต้องอาศัยตัวพา การเพิ่มตัวพาจึงเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการขนส่งน้ำตาลเข้าเซลล์ อินสุลินยังควบคุมการใช้สารอาหารพวกคาร์โบไฮเดรต โปรตีนและไขมันในร่างกาย ฉะนั้นอินสุลินจึงมีผลต่อเซลล์เกือบทุกชนิดในร่างกาย แต่มีผลต่ออวัยวะเป้าหมายหลักคือ ตับ กล้ามเนื้อ และเนื้อเยื่อไขมัน ดังนี้



รูปที่ 5 แสดงฮอร์โมนอินสุลินตั้งแต่เริ่มสร้างจนพัฒนาอยู่ในรูปอินสุลินที่พร้อมออกฤทธิ์ได้(*37*)

- ผลต่อ metabolism ของคาร์โบไฮเดรต เร่งการส่งผ่านน้ำตาลกลูโคสเข้าสู่เซลล์ต่างๆ ที่ตอบสนองต่ออินสุลิน เช่น เซลล์กล้ามเนื้อ เนื้อเยื่อไขมัน โดยเร่งการขนส่งกลูโคสแบบ carrier
- ช่วยกระตุ้นการสร้าง glycogen (glycogenesis) เก็บสะสมไว้ในตับและกล้ามเนื้อ โดยการกระตุ้นเอนไซม์ glycogen synthetase และยับยั้งการสลาย glycogen
- ผลต่อ metabolism ของโปรตีน กระตุ้นการสังเคราะห์โปรตีน (Proteogenesis) จากกรดอะมิโนที่กล้ามเนื้อและตับ และช่วยนำกรดอะมิโนเข้าสู่เซลล์กล้ามเนื้อสำหรับสร้างโปรตีนเพื่อการเจริญเติบโต และยับยั้งการสลายตัวของโปรตีน

- ผลต่อ metabolism ของไขมันกระตุ้นการขนส่งกรดไขมันเข้าสู่เนื้อเยื่อไขมันและการสร้างไขมัน triglyceride (lipogenesis) จากกรดไขมันในตับและเนื้อเยื่อไขมัน และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ lipase เพื่อป้องกันการสลายไขมันและป้องกันไม่ให้เกิด ketoacidosis
- กระตุ้นการเก็บโปแตสเซียมอิออนเข้าสู่เซลล์กล้ามเนื้อและเซลล์ไขมัน

ผลของอินสุลินทั้งหมดจึงทำให้น้ำตาลในเลือดมีความเข้มข้นพอเหมาะ หากมีการรับประทานอาหารมากเกินความจำเป็น อาหารเหล่านี้ก็จะถูกอินสุลินเก็บไว้ในรูปของ glycogen ไขมัน และโปรตีน ฉะนั้นอินสุลินจึงเป็น anabolic hormone และยังได้ชื่อว่าเป็นฮอร์โมนแห่งความอุดมสมบูรณ์ (hormone of plentry) เนื่องจากฮอร์โมนจะถูกกระตุ้นเมื่อร่างกายมีสารอาหารที่รับประทานเข้าไปมากปกติหลังจากรับประทานอาหาร ระดับกลูโคสในเลือดจะเพิ่มขึ้นเล็กน้อย แล้วจะลดลงเนื่องมาจากอินสุลินที่หลั่งออกมากระตุ้นให้กลูโคสถูกเก็บเข้าสู่เซลล์กล้ามเนื้อและเซลล์ไขมัน ซึ่งสามารถทดสอบดูว่า บุคคลดังกล่าวมีความสามารถในการกำจัดกลูโคสจากกระแสเลือดได้ดีหรือไม่ โดยให้ดื่มสารละลายกลูโคสแล้ววัดระดับกลูโคสในเลือด ซึ่งคนปกติระดับกลูโคสจะลดลงสู่ค่าปกติภายใน 2 ชั่วโมง และมีค่าสูงสุดไม่เกิน 180 มก% การทดสอบลักษณะดังกล่าวเรียกว่า glucose tolerance test เมื่อกลูโคสเพิ่มขึ้นจะมีผลกระตุ้นการหลั่งอินสุลินออกมาทันทีแล้วจะค่อยๆ เพิ่มขึ้นในช่วงต่อมา

อินสุลินกับการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด

ในคนปกติเมื่อมีระดับน้ำตาลในเลือดสูง กลูโคสจะเข้าเซลล์ตับอ่อนมากไปสลายให้ได้พลังงาน ATP การเพิ่มของ ATP ในเซลล์ β ของตับอ่อน จะทำให้มีการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เมมเบรนที่ยอมให้โปแตสเซียมออกนอกเซลล์และให้แคลเซียมเข้าเซลล์ แคลเซียมจะทำให้เมมเบรนของถุงที่หุ้มฮอร์โมนอินสุลินที่อยู่ในเซลล์แตกออก ฮอร์โมนอินสุลินจึงหลั่งออกมา และเข้าสู่กระแสเลือดไปยังเซลล์เป้าหมายที่มีโปรตีนตัวรับอินสุลินที่เมมเบรน ระดับพลาสมาอินสุลินที่เพิ่มขึ้นภายใน 2 ชั่วโมง จะมีผลต่อกล้ามเนื้อ เนื้อเยื่อไขมันและเซลล์เนื้อเยื่ออื่นๆ (ยกเว้นสมอง เม็ดเลือดแดง และตับ) โดยอินสุลินจะกระตุ้นให้อัตราการผ่านของกลูโคสเข้าเซลล์เพิ่มขึ้น โดยจับกับตัวรับอินสุลิน (insulin receptor) ซึ่งตัวรับสัญญานเป็นโปรตีนประกอบด้วยหน่วยอัลฟ่าและเบต้าอย่างละ 2 หน่วย โดยหน่วยอัลฟ่าจะยื่นไปนอกเซลล์และเชื่อมกับหน่วยเบต้าด้วยพันธะไดซัลไฟด์ เมื่อฮอร์โมนอินสุลินจับกับหน่วยอัลฟ่าทำให้หน่วยเบต้าจับกับฟอสเฟตมีผลกระตุ้น tyrosine kinase ที่ติดกับหน่วยเบต้าทำให้เกิดปฏิกริยาการเติมหมู่ฟอสเฟต ทำให้โปรตีนภายในเซลล์ชื่อ Insulin responsive substrate เปลี่ยนเป็น Insulin responsive substrate phosphate (IRS phosphate) นอกจากนี้การเติมฟอสเฟตของตัวรับสัญญานทำให้สามารถทำปฏิกิริยากับ G-protein เพื่อไปกระตุ้น Phospholipase C สร้างตัวสื่อสัญญานที่ 2 เช่น IP_3 และ Diacylglycerol และการเติม

ฟอสเฟตของตัวรับสัญญานยังกระตุ้นตัวขนส่งกลูโคส Glucose transporter (GLUT) ทำให้เกิดการเคลื่อนตัวมายังผิวของเมมเบรนทำให้กลูโคสสามารถเข้าสู่เซลล์ได้ *(38)*

การหลั่งอินสุลิน

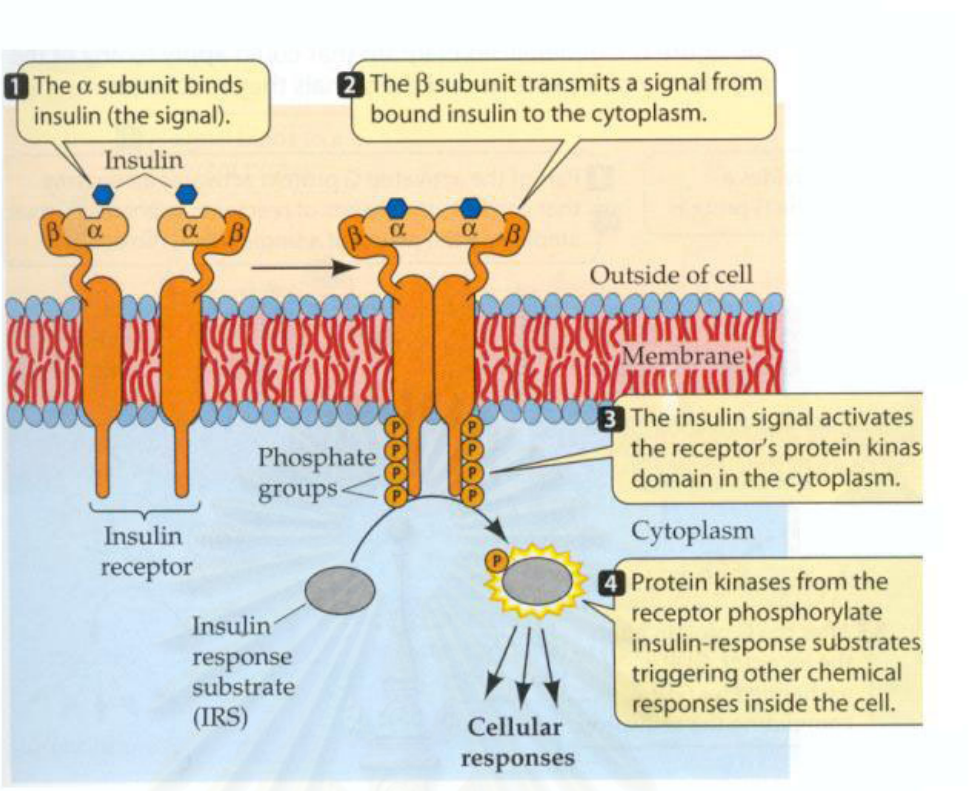
น้ำตาลกลูโคสเป็นตัวกระตุ้นการหลั่งอินสุลินที่แรงที่สุด ปกติระดับน้ำตาลในเลือดมีค่าประมาณ 80-100 มก.% ถ้าระดับน้ำตาลกลูโคสสูงขึ้นกว่านี้ จะกระตุ้นให้มีการหลั่งอินสุลินเพื่อนำกลูโคสไปใช้ในเนื้อเยื่อต่างๆ เมื่อระดับน้ำตาลกลูโคสเพิ่มจะเหนี่ยวนำให้เกิด “first phase” เป็นช่วงแรกของการหลั่งอินสุลินออกจากแกรนูล อินสุลินจะเริ่มหลั่งภายใน 1 นาทีแรก และมีระดับสูงสุดที่ 3-5 นาที จนกระทั่งถึงเวลาประมาณ 10 นาทีจะเริ่มเข้าสู่ “second phase” ซึ่งจะเกิดอย่างช้าๆ แต่จะรักษาระดับอยู่เป็นเวลานานกว่า first phase ซึ่งจะเป็นช่วงที่อินสุลินหลั่งจากแกรนูลพร้อมกับมีการสร้างอินสุลินขึ้นใหม่ร่วมด้วย (*39*) จนระดับน้ำตาลในเลือดลดลง ก็จะสื่อกลับไปยับยั้งเซลล์ ไม่ให้หลั่งอินสุลินเพื่อปล่อยให้ระดับกลูโคสสูงขึ้น ตัวแปรอื่นๆที่มีผลต่อการกระตุ้นการหลั่งอินสุลินเช่น secretin, vasoactive intestinal peptide, gastrin, acetylcholine, pituitary adenylate cycles-activating polypeptide (PACAP), cholescystokinin จากลำไส้ ยาพวก sulfonylurea กรดอะมิโนบางชนิด เช่น arginine lycine glycerol และตัวแปรที่มีผลยับยั้งการหลั่งอินสุลิน ได้แก่ ฮอร์โมนที่มีผลเพิ่มระดับน้ำตาลในเลือด เช่น glucagon, cortisol, CGRP, growth hormone และ epinephrine เป็นต้น (*38, 39*)

ในทางตรงกันข้ามถ้าระดับน้ำตาลในเลือดลดต่ำกว่าระดับปกติจะยับยั้งการหลั่งอินสุลิน แต่จะกระตุ้นการหลั่ง glucagon นอกจากนี้ภาวะเครียด สารเคมี alloxan, acetylcholine, α-epinephrine และ α-norepinephrine มีผลยับยั้งการหลั่งอินสุลินเช่นเดียวกัน

อินสุลินจึงเป็นฮอร์โมนที่หลั่งออกมาในขณะที่เลือดมีระดับน้ำตาลสูง ปกติอินสุลินจะถูกทำลายที่ตับประมาณ 80% ในผู้ป่วยโรคตับแข็ง ความสามารถในการทำลายอินสุลินลดลงจะมีผลให้ระดับน้ำตาลในเลือดต่ำกว่าปกติ

การทำ Oral glucose tolerance test (OGTT)

OGTT แปลว่าการทนต่อกลูโคส การเตรียมตัวก่อนทำ OGTT โดยให้รับประทานอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตเป็นส่วนประกอบอย่างน้อย 100-150 กรัมต่อวัน เป็นเวลา 3 วันก่อนรับการทดสอบ ก่อนวันทดสอบผู้ป่วยต้องอดอาหารก่อนทำการทดสอบอย่างน้อย 8-14 ชั่วโมง ต้องงดการดื่มกาแฟ แอลกอฮอล์ และสูบบุหรี่ ขณะทำการทดสอบผู้ป่วยจะได้รับน้ำตาล 75 กรัมในสารละลายทั้งหมดไม่เกิน 300 มิลลิลิตร ซึ่ง OGTT มีบทบาทสำคัญในการช่วยวินิจฉัยผู้ป่วยเบาหวาน โดยเฉพาะค่า 2-hours post 75g glucose load จะเป็นตัวช่วยในการวินิจฉัยได้อย่างดี และมีบทบาท



รูปที่ 6 แสดงถึงตัวรับอินสุลิน เมื่อถูกอินสุลินกระตุ้นจะเกิดกระบวนการเติมหมู่ฟอสเฟตของสารภายในเซลล์ (*40*)

ในการคัดกรองผู้ป่วยก่อนการเป็นโรคเบาหวาน ถ้าค่า 2-hours post glucose load อยู่ระหว่าง 140-199 mg/dl เรียกว่า IGT (Impaired glucose tolerance) เป็นกลุ่มที่ยังไม่จัดเป็นโรคเบาหวาน แต่มีความเสี่ยงที่จะเป็นโรคเบาหวาน

OGTT ทำเพื่อทดสอบความสามารถในการใช้น้ำตาลกลูโคสของร่างกายภายในเวลา 2 ชั่วโมง จึงใช้เป็นวิธีทดสอบของงานวิจัยนี้

กลไกการลดระดับน้ำตาลในเลือด

ปัจจุบันยาที่มีผลลดระดับน้ำตาลในเลือด ออกฤทธิ์โดยผ่านกลไกดังนี้

1. อินสุลิน ออกฤทธิ์โดยจับกับตัวรับที่เป้าหมาย ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเมตาบอลิสม โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมัน
2. Sulfonylurea ออกฤทธิ์ได้ในกรณีที่ผู้ป่วยยังมีตับอ่อนที่ยังสามารถสร้างอินสุลิน
   - กระตุ้นการหลั่งของอินสุลินจากตับอ่อน โดยจับกับตัวรับที่อยู่ติดกับ K^+ channel จะเกิดการปิดช่องของ K^+ ลดโปแทสเซียมออกจากเซลล์ ทำให้เกิด depolarization

ส่งผลให้ช่องแคลเซียมเปิด แคลเซียมจะเข้าเซลล์กระตุ้นการหลั่งของอินสุลินออกจากอินสุลินแกรนูล

- เสริมฤทธิ์ของอินสุลินต่อเนื้อเยื่อเป้าหมายนอกตับอ่อน ทำให้มีการลดระดับน้ำตาลในเลือด จากการลดการสร้างกลูโคสจากตับ
- ลดระดับกลูคากอน ซึ่งยังไม่ทราบกลไกที่แน่ชัดอาจเป็นผลจากการเพิ่มการหลั่งอินสุลิน และ somatostatin ทำให้ยับยั้งการหลั่งของกลูคากอน

3. Biguanides ยานี้ไม่ได้กระตุ้นการหลั่งของอินสุลิน และไม่ทำให้เกิด hypoglycemia แม้ว่าจะใช้ในปริมาณที่สูง โดยออกฤทธิ์ผ่านทาง
   - ยับยั้งการสร้างกลูโคสจากตับเป็นหลัก แต่ยังไม่ทราบกลไกที่แน่นอน
   - เพิ่ม peripheral sensitivity ต่ออินสุลิน
   - มีการเพิ่ม insulin receptor
   - ลดอัตราการดูดซึมกลูโคสในลำไส้ได้
   - มีผลในการลดกรดไขมันอิสระ และการสลายไขมัน
4. α-Glucosidase inhibitor จะจับกับเอนไซน์ยับยั้งการดูดซึมคาร์โบไฮเดรตในลำไส้ ผลจะลดระดับน้ำตาลหลังอาหารได้ประมาณร้อยละ 30-50 และทำให้ระดับของ HbA1c ดีขึ้นเพียงเล็กน้อยเท่านั้น คือเพียงร้อยละ 0.5-1 ยานี้ได้ผลดีในอาหารที่มีคาร์โบไฮเดรตสูงอย่างน้อยร้อยละ 50 และมีกากใยสูง บางครั้งอาจเรียกว่า starch blocker
5. Non-sulfonylurea insulin secretagogues เป็นอนุพันธ์ของ benzoic acid ที่กำเนิดจาก meglitinide โดยมี carboxylic structure แทน sulfonylurea structure ของ glibenclamide ออกฤทธิ์เหมือนกับ sulfonylurea คือจะกระตุ้นการหลั่งของอินสุลินโดยยับยั้ง K^+ channel บนเบต้าเซลล์ แต่ตัวรับต่างตำแหน่งกัน ซึ่งตำแหน่งของตับรับของยานี้จะจำเพาะเจาะจงต่อตับอ่อนมากกว่ากลุ่ม sulfonylurea (*41*)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

สารเคมี วัสดุ และอุปกรณ์

1. สารเคมี

- พริกขี้หนูสด ร้านดอยคำ สาขาฟิวเจอร์ปาร์ครังสิต เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส
- สารละลายน้ำตาลกลูโคส 25 กรัมในน้ำ50 มิลลิลิตร
- Capsaicin [Sigma Chemical Co, Germany]
- Acetonitrile HPLC grade [MERCK, Germany]
- Diethyl ether HPLC grade [MERCK, Germany]
- Methanol HPLC grade [MERCK, Germany]
- Acetic acid [MERCK, Germany]

2. วัสดุและอุปกรณ์

- Degassor model 2200 [Brandson Europa B.V. Netherland]
- ชุดเครื่องกรองสารละลาย [Water associates, USA]
- เครื่องชั่งสำหรับการวิเคราะห์มีความละเอียดถึงทศนิยม 4 ตำแหน่ง [Precisa Instruments, Switzerland]
- ชุดเครื่องมือ High-performance liquid chromatography (HPLC) : Spectra system isocratic pump (PC1000), Spectra system autosamples (AS3000), Spectra system detector fluorescent, Spectra system SN 4000, Computer, software program P1000 [Thermo separation product] , μ-bondapak มิลลิเมตร บรรจุด้วยซิลิกา C_{18} ขนาด 5 ไมครอน [Water Associates, USA]
- หลอดพลาสติกสำหรับเก็บตัวอย่างพลาสมาขนาด 5 มิลลิลิตรใส่ EDTA
- หลอดพลาสติกสำหรับเก็บตัวอย่างพลาสมาขนาด 3 มิลลิลิตรใส่ NaF
- หลอดพลาสติกสำหรับเก็บตัวอย่างซีรั่มขนาด 3 มิลลิลิตร

รูปแบบการวิจัย (Research design)

รูปแบบการศึกษาเป็นแบบ Experimental clinical study

การวางแผนการวิจัย

ศึกษานำร่องเพื่อหาขนาดของพริกขี้หนูสดในการลดระดับน้ำตาลในเลือด คัดเลือกชายไทย 2 ราย

↓

คัดเลือกชายไทยสุขภาพดี 12 รายเข้าสู่การทดลอง

↓

ทดสอบ พริกขี้หนูสด ที่มีผลต่อการลดระดับน้ำตาลในเลือดโดยใช้วิธี Oral glucose tolerance test (OGTT) ออกแบบการทดลองโดย randomize cross over design with placebo โดยอาสาสมัครจะได้รับพริกขี้หนูสดขนาด 5 กรัม บรรจุในแคปซูล และ placebo โดยการสุ่มเข้าสู่กลุ่ม เวลาในการ washout period คือ 1 สัปดาห์

↓

ทดสอบผลของ พริกขี้หนูสด ต่อการกระตุ้นการหลั่งอินสุลินและศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของ capsaicin ในพริกขี้หนูสดโดยให้อาสาสมัคร 12 ราย ได้รับ placebo ก่อนและวัดระดับอินสุลิน จากนั้นให้พริกขี้หนูสดขนาด 5 กรัม บรรจุในแคปซูล เจาะเลือดเพื่อวัดระดับอินสุลินเพื่อศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา และวัดระดับสาร capsaicin ในเลือดเพื่อศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของ capsaicin

วิธีดำเนินการวิจัย

ตอนที่ 1 การพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาความเข้มข้นของ capsaicin ในพลาสมาโดยวิธี HPLC

1. การเตรียมสารละลายมาตรฐานของ capsaicin (stock solution)

   เตรียม stock solution ของ capsaicin ความเข้มข้น 4 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยชั่ง capsaicin หนัก 4 มิลลิกรัม เติม acetonitrile จนปริมาตรครบ 1,000 มิลลิลิตร ใน volumetric flask

2. การเตรียมสารละลายมาตรฐานของ capsaicin ในพลาสมาเพื่อสร้างกราฟมาตรฐาน

   เตรียมสารละลายมาตรฐานของ capsaicin ความเข้มข้น 46.5, 62.5, 250, 500, 750, 1,000 และ 1,500 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ใน acetonotrile โดยการทำ serial dilution จากสารละลายมาตรฐาน (stock solution) ปิเปตสารละลายมาตรฐาน 20 ไมโครลิตร เติมลงในพลาสมาให้มีปริมาตรรวม 1,000 ไมโครลิตร จะได้พลาสมาที่มี capsaicin ความเข้มข้น 0.93, 1.25, 5, 10, 15, 20 และ 30 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

3. การเตรียมตัวอย่างสำหรับฉีดเข้าเครื่อง HPLC
   - นำตัวอย่างพลาสมา blank และ capsaicin 1 มิลลิลิตร มาสกัดโดยใช้ diethyl-ether 4 มิลลิลิตร
   - ดูดสารละลายเฉพาะส่วนใสมาทำให้แห้งโดยใช้ nitrogen gas ทำในตู้รมควัน
   - ทำการละลายส่วนใสด้วย methanol:water (1:1) 300 ไมโครลิตร
   - นำไปเข้าเครื่อง centrifuge ที่ความเร็วรอบ 5,500 รอบต่อวินาที เป็นเวลา 10 นาที
   - ดูดสารละลายส่วนใสฉีดเข้าเครื่อง HPLC ครั้งละ 100 ไมโครลิตร

4. การเตรียม mobile phase
   - นำ acetonitrile มาผสมกับน้ำกลั่นและ acetic acid ในอัตราส่วน 50:50:1
   - กรองด้วยกระดาษกรองและไล่อากาศด้วยเครื่อง sonicator เป็นเวลา 10 นาที

สภาวะของเครื่อง HPLC ที่ใช้ในการวิเคราะห์

Mobile phase	: Acetonitrile : น้ำกลั่น : acetic acid (50:50:1)
Column	: μ-bondapak C_{18} ขนาด 250 x 4.6 มิลลิเมตร บรรจุด้วยซิลิกา C_{18} ขนาด 5 ไมครอน
Flow rate	: 0.8 มิลลิลิตร/นาที
Detector	: Fluorescence ช่วงความยาวคลื่น excitation 320 นาโนเมตร และ emission 270 นาโนเมตร
Injection volume	: 100 ไมโครลิตร

ตอนที่ 2 การยืนยันความน่าเชื่อถือของวิธีการวิเคราะห์ระดับ capsaicin ในพลาสมา

- Pre-study phase validation

- Specificity/selectivity ทำโดยการวิเคราะห์พลาสมา blank จำนวนอย่างน้อย 6 ตัวอย่าง โดยวิธีที่พัฒนาขึ้น ผลการวิเคราะห์ต้องไม่ตรวจพบพีครบกวนต่อ capsaicin
- Accuracy ทำการสกัดพลาสมา capsaicin ที่ 3 ระดับความเข้มข้นคือ ต่ำ (LQC) กลาง (MQC) สูง (HQC) ในช่วงความเข้มข้นของกราฟมาตรฐาน ความเข้มข้นละ 5 ตัวอย่าง คำนวนค่า % accuracy ต้องอยู่ระหว่าง 85-115% ยกเว้นที่ LLOQ อยู่ที่ 80-120%
- Precision (within run- and between run-) ทำการสกัดพลาสมา capsaicin ที่ 3 ระดับความเข้มข้นคือ ต่ำ (LQC) กลาง (MQC) สูง (HQC) ในช่วงความเข้มข้นของกราฟมาตรฐาน ความเข้มข้นละ 5 ตัวอย่าง ภายในวันเดียวกันและระหว่างวัน คำนวนค่า

สัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (coefficient of variation; %CV) ค่าไม่ควรเกิน 15% ยกเว้นที่ LLOQ ไม่ควรเกิน 20%

- Lower limit of quantification (LLOQ) ทำการสกัดและวิเคราะห์ capsaicin ในพลาสมาโดยวิธีที่พัฒนาขึ้นที่ระดับความเข้มข้นต่ำ ๆ ความเข้มข้นละอย่างน้อย 5 ตัวอย่าง ค่าพื้นที่ใต้พีคของตัวอย่างที่วิเคราะห์ได้ควรมีค่ามากกว่าของพลาสมา blank อย่างน้อย 5 เท่า และเมื่อคำนวน % accuracy และ % CV (precision) ค่า % accuracy ควรอยู่ระหว่าง 80-120 และ % CV ไม่ควรเกิน 20%
- Linearity/ Standard calibration curve ทำการสกัดและวิเคราะห์ตัวอย่าง capsaicin ในพลาสมา โดยวิธีที่พัฒนาขึ้นที่ความเข้มข้นไม่น้อยกว่า 6 ความเข้มข้น โดยความเข้มข้นต่ำสุดของกราฟมาตรฐานเป็นความเข้มข้นที่ระดับ LLOQ หาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (linearity) ระหว่างค่าพื้นที่ใต้พีคกับความเข้มข้นของ capsaicin ที่ระดับต่าง ๆ โดยใช้ regression equation และคำนวนหาค่า coefficient of determination (r^2) ค่าที่คำนวนได้ควรมีค่ามากกว่า 0.99 และค่าความเข้มข้นที่วัดได้ของแต่ละความเข้มข้นไม่ควรเบี่ยงเบนจากความเข้มข้นที่เติมลงไปเกิน 15% ยกเว้นที่ LLOQ ไม่ควรเกิน 20%
- Recovery of extraction ทำการสกัดและวิเคราะห์ตัวอย่าง capsaicin ในพลาสมาโดยวิธีที่พัฒนาขึ้นที่ระดับความเข้มข้น 3 ระดับคือ ต่ำ (LQC) กลาง (MQC) และสูง (HQC) ในช่วงความเข้มข้นของกราฟมาตรฐาน ความเข้มข้นละอย่างน้อย 5 ตัวอย่าง และวิเคราะห์ตัวอย่าง capsaicin ใน mobile phase โดยไม่ต้องทำการสกัดที่ระดับความเข้มข้นและจำนวนตัวอย่างเช่นเดียวกับตัวอย่างในพลาสมา คำนวน % recovery ควรมีค่าใกล้เคียง 100% หรือไม่น้อยกว่า 50-60 % และมีความคงที่แม่นยำ

ตอนที่ 3 ขั้นตอนการดำเนินการวิจัยในอาสาสมัคร

1. คัดเลือกอาสาสมัครสุขภาพดีตามเกณฑ์การคัดเลือกเข้าสู่โครงการและเกณฑ์การคัดออก
2. ซักประวัติตามแบบสอบถามที่กำหนด (ภาคผนวก ข)
3. ชี้แจงรายละเอียดและขั้นตอนการวิจัย
4. ให้อาสาสมัครลงชื่อในใบยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัย (ภาคผนวก ค)
5. ให้อาสาสมัครงดการบริโภคแอลกอฮอล์และเครื่องดื่มที่มีแคฟเฟอีน ยา งดการสูบบุหรี่และอาหารที่มีส่วนประกอบของ capsaicin 1 สัปดาห์ก่อนการทดลอง
6. ให้อาสาสมัครงดอาหารหลังเที่ยงคืนก่อนการทดลอง

ขนาดของกลุ่มตัวอย่าง (Sample size)

จำนวนอาสาสมัครคำนวนจากสูตร ดังนี้

$$N = \frac{2(Z_{\alpha/2}+Z_{\beta})^2\delta^2}{(X_1-X_2)^2}$$

เมื่อ X_1 = ค่าเฉลี่ยในกลุ่มที่ 1

X_2 = ค่าเฉลี่ยในกลุ่มที่ 2

δ^2 = pooled variance = $\frac{(n_1-1)S_1^2+(n_2-1)S_2^2}{n_1+n_2-2}$

กำหนดค่า $\alpha = 0.05$; $Z_{\alpha/2} = 1.96$

$\beta = 0.10$; $Z_{\beta} = 1.28$

การคำนวนขนาดตัวอย่างอ้างอิงจากงานวิจัยของ พัชราณีและคณะ(*1*)

$n_1 = 10$ $n_2 = 10$

$X_1 = 183.7$ $X_2 = 133.1$

$S_1 = 38.98$ $S_2 = 17.26$

คำนวนค่า pooled variance = $\frac{(10-1)(38.98)^2+(10-1)(17.26)^2}{10+10-2}$ = 776.2

$N = \frac{2(1.96+1.28)^2 x 776.2}{(183.7-133.1)^2}$ = 6.4 = 7 คน

อาสาสมัครควรมีอย่างน้อยไม่ต่ำกว่า 7 คน และในการศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ควรเลือกอาสาสมัครอย่างน้อย 12 คน (*42,43*) ในงานวิจัยนี้ใช้จำนวนอาสาสมัคร 12 คน

เกณฑ์การคัดเลือกอาสาสมัครเข้าร่วมการทดลอง

- อาสาสมัครเพศชาย 12 ราย อายุระหว่าง 18-45 ปี
- มีค่าดัชนีมวลกาย (BMI) 18-25 kg/m^2
- มีสุขภาพดี ไม่มีประวัติป่วยเป็นโรคทางเดินอาหาร โรคตับ โรคไต โรคภูมิแพ้ โรคเบาหวาน โรคเอดส์ โดยผ่านการตรวจสอบประวัติการใช้ยา การตรวจร่างกาย และ vital signs
- ผลการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการคลินิกเป็นปกติ ได้แก่ blood urea nitrogen (BUN), serum creatinine, AST/ALT, alkaline phosphatase, blood glucose, complete blood count, serology (HIV, Hepatitis B)

- อาสาสมัครสามารถงดพริกทุกชนิด ขิง หัวหอม หรือสารอื่นๆ ที่มี capsaicin เป็นส่วนประกอบเป็นเวลา 1 สัปดาห์ก่อนทำการทดลอง
- ยินยอมเข้าร่วมศึกษาด้วยความเต็มใจและลงนามในหนังสือแสดงความยินยอมแล้ว

<u>เกณฑ์การคัดเลือกอาสาสมัครออกจากการทดลอง</u>

- มีประวัติการแพ้สาร capsaicin และพริกขี้หนูสดหรือทนต่อสาร capsaicin หรือพริกขี้หนูสดไม่ได้
- มีประวัติการป่วยเป็นโรคระบบทางเดินอาหาร โรคตับ โรคไต โรคภูมิแพ้ หรือโรคอื่นๆ ที่อาจมีผลต่อ bioavailability ของยา
- มีประวัติดื่มสุราเป็นประจำ และมีการใช้สารเสพติด
- มีประวัติสูบบุหรี่เป็นประจำ
- ได้รับการรักษาโรคด้วยยาอื่นภายใน 1 เดือนก่อนเริ่มการศึกษาโดยเฉพาะยาที่มีผลต่อเอนไซม์เมตาบอลิสมของตับในร่างกาย

<u>เกณฑ์การถอนตัวอาสาสมัครออกจากการศึกษา</u>

- อาสาสมัครเกิดอาการไม่พึงประสงค์ที่แพทย์เห็นควรให้ออกจากการศึกษา
- อาสาสมัครไม่ปฏิบัติตนตามข้อกำหนดของการศึกษา
- อาสาสมัครต้องการถอนตัวออกจากการศึกษา

<u>การยินยอมเข้าร่วมโครงการ</u>

อาสาสมัครจะต้องได้รับคำอธิบายถึงวัตถุประสงค์ วิธีการ ความเสี่ยง ผลที่จะได้จากการศึกษา และได้ลงนามในหนังสือแสดงความยินยอมแล้วก่อนทำการศึกษาวิจัย และยินยอมอยู่ในบริเวณที่กำหนดตลอดเวลาของการเจาะเลือด ไม่ออกกำลังกายระหว่างการทดลอง และปฏิบัติกิจกรรมเฉพาะเท่าที่จำเป็น และอาสาสมัครมีสิทธิ์ที่จะบอกเลิกการศึกษาเมื่อใดก็ได้

<u>จริยธรรม (Ethical Consideration)</u>

งานวิจัยนี้ได้ผ่านการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์จากคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ครั้งที่ 12/2550 (ภาคผนวก ก)

<u>การศึกษานำร่องเพื่อหาขนาดของพริกขี้หนูสดที่มีผลต่อการลดระดับน้ำตาลในเลือด โดยใช้การทดสอบแบบ OGTT</u>

ใช้อาสาสมัคร 2 คนโดยให้งดอาหารก่อนทำการทดสอบเป็นเวลา 8-10 ชั่วโมง จากนั้นอาสาสมัครจะได้รับสารละลายน้ำตาลกลูโคส 75 กรัม ในน้ำ 150 มิลลิลิตร พร้อมพริกขี้หนูสด 5

กรัม *(1)* บรรจุในแคปซูลหรือได้แคปซูลเปล่า (placebo) โดยอาสาสมัครต้องดื่มสารละลายน้ำตาลกลูโคสและสารทดสอบให้หมดภายในเวลา 5 นาที นำตัวอย่างเลือดที่ได้มาทำการหาระดับน้ำตาลในเลือดก่อนได้รับสารทดสอบและที่เวลา0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.25, 1.5, 1.75 และ2 ชั่วโมงหลังได้รับสารทดสอบ ใช้หลอดเก็บตัวอย่างพลาสมาขนาด 3 มิลลิลิตร ใส่ NaF ส่งตัวอย่างเลือดตรวจวัดระดับน้ำตาลโดยใช้หลักการ Enzymatic method (ภาคผนวก ฎ) หลังจากนั้น 1 สัปดาห์ (washout period) ทำการทดลองซ้ำโดยสลับสารทดสอบ ทำการวิเคราะห์หาความแตกต่างของระดับกลูโคสในกลุ่มที่ได้รับ placebo กับกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสด หากไม่เห็นผลลดระดับน้ำตาลในเลือดทำการทดลองซ้ำโดยเพิ่มขนาดพริกขี้หนูสด

<u>การศึกษาผลของพริกขี้หนูสดต่อการลดระดับน้ำตาลในเลือดโดยใช้การทดสอบแบบ OGTT</u>

คัดเลือกอาสาสมัคร 12 คนเข้าสู่การทดลองโดยงดอาหารก่อนทำการทดสอบเป็นเวลา 8-10 ชั่วโมง แบ่งอาสาสมัครเป็นสองกลุ่ม โดยการสุ่มเข้าสู่กลุ่มแบบ quota sampling กลุ่มแรกจะได้รับพริกขี้หนูสด 5 กรัม (ขนาดที่ได้จากการศึกษานำร่อง) บรรจุในแคปซูล ร่วมกับสารละลายน้ำตาลกลูโคส 75 กรัมในน้ำ 150 มิลลิลิตร กลุ่มที่สองได้รับสารละลายน้ำตาลกลูโคสและ placebo โดยอาสาสมัครต้องดื่มสารละลายให้หมดภายในเวลา 5 นาที จากนั้น 1 สัปดาห์ อาสาสมัครได้รับการทดสอบแบบเดิมโดยสลับสารทดสอบ (cross over design) เก็บตัวอย่างเลือดที่เวลาก่อนได้รับสารทดสอบและที่เวลา0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.25, 1.5, 1.75 และ2 ชั่วโมงหลังได้รับสารทดสอบ ใช้หลอดเก็บตัวอย่างพลาสมาขนาด 3 มิลลิลิตร ใส่ NaF ส่งตัวอย่างเลือดตรวจวัดระดับน้ำตาลโดยใช้หลักการ Enzymatic method (ภาคผนวก ฎ) ทำการวิเคราะห์หาความแตกต่างของระดับกลูโคสในกลุ่มที่ได้รับ placebo กับกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสด

<u>การศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของสาร capsaicinในพริกขี้หนูสด และฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของพริกขี้หนูสด ต่อการกระตุ้นการหลั่งอินสุลิน</u>

หลังจากการศึกษาแรกอย่างน้อย 1 สัปดาห์ อาสาสมัครกลุ่มเดิม 12 คน งดอาหารก่อนทำการทดสอบเป็นเวลา 8-10 ชั่วโมง อาสาสมัครทุกรายจะได้รับแคปซูลเปล่า (placebo) เก็บตัวอย่างเลือดเพื่อตรวจวัดระดับอินสุลินที่เวลาก่อนรับประทานสารทดสอบและที่เวลา 0.25, 0.5, 0.75 ,1 , 1.25, 1.5,1.75 และ 2 ชั่วโมงหลังรับประทานสารทดสอบโดยใช้หลอดเก็บตัวอย่างซีรั่มขนาด 5 มิลลิลิตร เพื่อวัดระดับอินสุลินโดยใช้หลักการ Chemiluminescent วิเคราะห์โดยใช้เครื่อง Elecsys 2010/1010 Roche Diagnostics (ภาคผนวก ฎ) หลังจากนั้น 1 สัปดาห์ อาสาสมัครทั้ง 12 คนได้รับพริกขี้หนูสดขนาด 5 กรัมบรรจุในแคปซูล ทำการเจาะเลือดเพื่อวัดระดับอินสุลินที่เวลาเดียวกันกับครั้งแรก พร้อมเก็บตัวอย่างเลือดก่อนรับประทานและที่เวลา 10, 15, 25, 30, 40, 45, 50, 60, 75, 90, 105 และ 120 นาทีหลังรับประทานพริกขี้หนูสด เพื่อวัดระดับ capsaicin โดยใช้หลอดเก็บตัวอย่าง

เลือดขนาด 9 มิลลิลิตร ใส่ EDTA ปั่นแยกพลาสมาด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็ว 3500 รอบ/นาที เป็นเวลา 15 นาที เก็บตัวอย่างพลาสมามาวิเคราะห์หาระดับ capsaicin โดยเครื่อง HPLC นำข้อมูลที่ได้มาคำนวณค่าทางเภสัชจลนศาสตร์ต่างๆได้แก่ C_{max}, T_{max}, $AUC_{0-\infty}$, K_{el} และ $T_{1/2}$

การรวบรวมผลและการวิเคราะห์ข้อมูล

รวบรวมผลข้อมูลที่ได้ ได้แก่ ค่าระดับน้ำตาลในเลือด ระดับอินสุลิน และระดับ capsaicin แสดงผลเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ใช้สถิติ ANOVA for two way crossover design ในการเปรียบเทียบระดับกลูโคสในกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูกับกลุ่มที่ได้รับ placebo ใช้ paired-samples t-test สำหรับการวิเคราะห์ข้อมูลของระดับอินสุลินในกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนู กับกลุ่ม placebo และใช้ one-way ANOVA สำหรับการวิเคราะห์ข้อมูลการเปลี่ยนแปลงของระดับอินสุลินที่เวลาต่างๆ เมื่อเทียบกับระดับอินสุลินก่อนได้รับสารทดสอบ ส่วนการวิเคราะห์ค่าเภสัชจลนศาสตร์ของ capsaicin โดย C_{max} และ T_{max} ใช้ข้อมูลจริงมาหาค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และส่วน $AUC_{0-\infty}$ ใช้หลัก trapezoidal rule รายละเอียดการคำนวณค่าทางเภสัชจลนศาสตร์แสดงในภาคผนวก ญ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

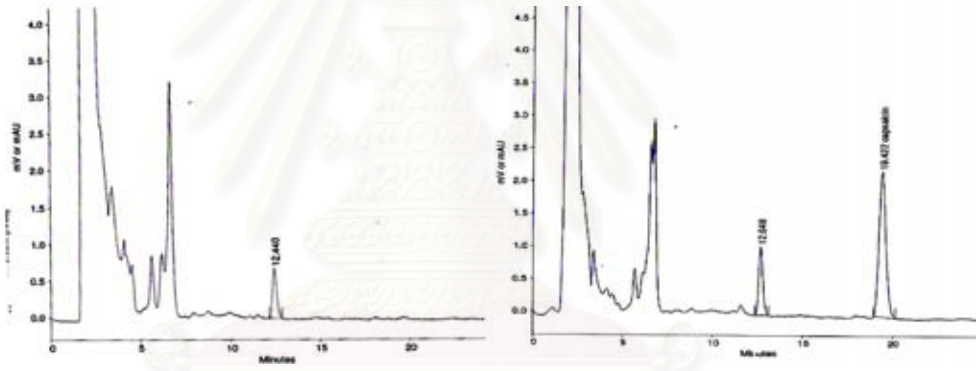
บทที่ 4

ผลการทดลอง

ผลการศึกษาการยืนยันความน่าเชื่อถือของวิธีการวิเคราะห์ capsaicin ในพลาสมา

1. ความจำเพาะเจาะจงของการวิเคราะห์ (Specificity)

ความจำเพาะเจาะจงของการวิเคราะห์แสดงได้จากโครมาโตแกรมในรูปที่ 7 พบว่าค่า retention time ของ capsaicin ในพลาสมามีค่าอยู่ระหว่าง 19.42 $\pm$ 0.6 นาที พีคของ capsaicin ไม่ถูกรบกวนด้วยสารอื่น ๆ ในพลาสมา ดูได้จากการเทียบโครมาโตแกรมของพลาสมา blank ไม่พบพีครบกวนที่เวลา 19-20 นาที (รูปที่ 7)



รูปที่ 7 แสดงโครมาโตแกรมของพลาสมา blank เทียบกับโครมาโตแกรมของพลาสมา capsaicin ที่เวลา 19-20 นาที

2. การวิเคราะห์หาความเข้มข้นต่ำสุดของ capsaicin ในพลาสมาที่วิธีการนี้สามารถวิเคราะห์ได้ (Lower limit of quantitation)

ความเข้มข้นต่ำสุดของ capsaicin ในพลาสมาที่วิธีสามารถวิเคราะห์ได้คือ 0.93 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีค่า precision แสดงด้วยค่า %CV เท่ากับ 6.01 (n=5) และ %Accuracy เท่ากับ 110.60 $\pm$5.92 ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ความเข้มข้นต่ำสุดของ capsaicin ในพลาสมาที่วิธีสามารถวิเคราะห์ได้

capsaicin concentration (ng/ml)	Precision peak area	%accuracy
0.93	7976	120
	6839	104.60
	7359	111.80
	7013	107
	7192	109.50
Mean±SD	7275.80±437.06	110.60±5.92
	%CV = 6.01	Range = 104.60-120

3. ความเที่ยงตรงของการวิเคราะห์ (Precision)

ความเที่ยงตรงของการวิเคราะห์ capsaicin ในพลาสมา แบ่งเป็นการวิเคราะห์ในวันเดียวกัน (intraday precision) และ การวิเคราะห์ในต่างวันกัน (interday precision) ที่ความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง ค่า %CV เฉลี่ยของความเข้มข้นทั้งสามเมื่อวิเคราะห์ในวันเดียวกันเท่ากับ 3.93 ± 1.15% และการวิเคราะห์ต่างวันกันเท่ากับ 7.58 ± 4.37% ดังตารางที่ 2 และ 3 ตามลำดับ

4. ความถูกต้องของการวิเคราะห์ (Accuracy)

ความถูกต้องของการวิเคราะห์ capsaicin ในพลาสมา แสดงด้วยค่า %accuracy ที่ความเข้มข้น ต่ำ กลาง สูง พบว่าค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความถูกต้องของการวิเคราะห์ capsaicin ในพลาสมา 3 ความเข้มข้นมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 103.80 ± 4.98 ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 2 ความเที่ยงตรงของการวิเคราะห์ capsaicin ในพลาสมาในวันเดียวกัน

Level	Capsaicin concentration (ng/ml)	Peak area							
		1	2	3	4	5	Mean	SD	%CV
Low	1.25	10352	10027	10336	11228	10101	10408.80	479.62	4.61
Medium	15	127371	119640	121260	132206	119306	123956.60	5640.11	4.60
High	30	271144	270654	280534	261314	267462	270221.60	6970.37	2.60
							Average (%)		3.93±1.15

ตารางที่ 3 ความเที่ยงตรงของการวิเคราะห์ capsaicin ในพลาสมาในต่างวัน

Level	Capsaicin concentration (ng/ml)	Peak area							
		1	2	3	4	5	Mean	SD	%CV
Low	1.25	8572.40	8008.60	10408.80	10134.80	9398.40	9304.60	1016.49	10.92
Medium	15	116851	119235.60	121780.80	116707.20	123956.60	119706.24	3151.88	2.63
High	30	225129	223807	256668.20	268521.60	270221.60	248869.48	22883.82	9.19
							Average (%)		7.58±4.37

ตารางที่ 4 ค่าความถูกต้องของการวิเคราะห์ capsaicin ในพลาสมา

capsaicin concentration (ng/ml)	%accuracy					% accuracy (Range)	% accuracy (mean ± SD)
	1	2	3	4	5		
1.25	103.70	87.10	95.10	107	90.50	87.10-107	96.70± 8.49
15	102.30	112.50	107.10	114.70	106	102.30-114.70	108.50 ± 5.03
30	95	111.30	100.50	100.90	113.80	95-113.80	104.30 ± 7.93
						Average (%)	103.17±5.98

5. ศึกษาความสามารถของวิธีการสกัด (Recovery of extraction)

ความสามารถของวิธีการสกัด capsaicin ในพลาสมาแสดงด้วยค่า %recovery พบว่า %recovery ของ capsaicin ที่ความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง มีค่าดังตารางที่ 5

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 5 ค่า % recovery ของวิธีการสกัด capsaicin ในพลาสมา

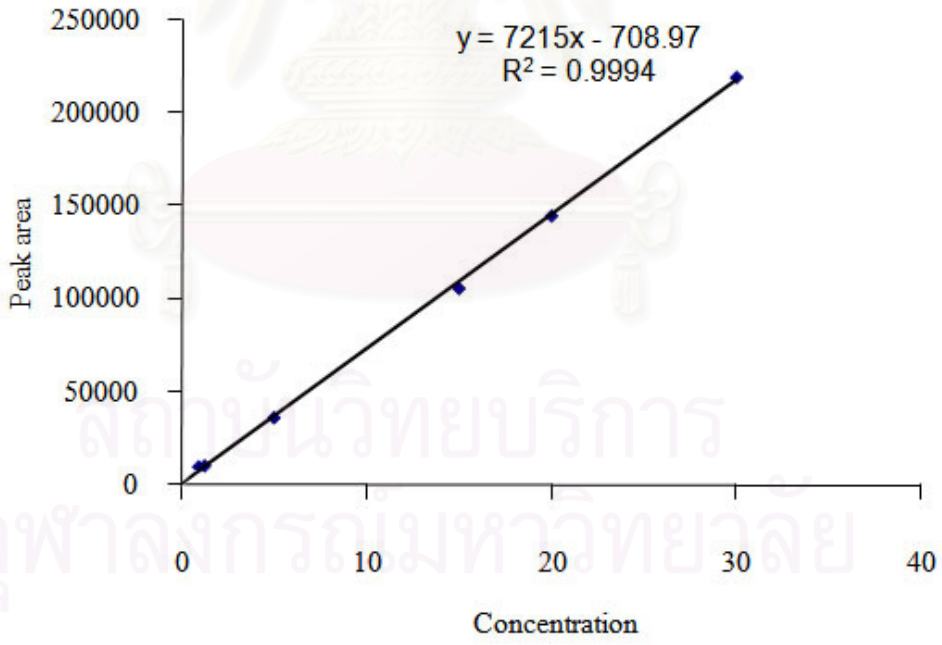
Level	Capsaicin concentration (ng/ml)	Peak area in plasma	Peak area in water:methanol	%recovery
Low	1.25	9802	12269	79.90
		9481	12135	78.10
		9594	12088	79.40
		8396	12591	66.70
		9719	13324	72.90
	Mean	9398.40	12481.40	75
	SD	573.49	510.36	5.60
Medium	15	127371	170576	74.70
		119640	172929	69.20
		121260	169871	71.40
		132206	171052	77.30
		119306	175042	68.20
	Mean	123956.60	171894	72.10
	SD	5640.11	2092.83	3.80
High	30	271144	337254	80.40
		270654	328817	82.30
		280534	336462	83.40
		261314	314179	83.20
		267462	324202	82.50
	Mean	270221.60	328182.80	82.30
	SD	6970.37	9528.74	1.20

6. ความเป็นเส้นตรง (Linearity)

ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ capsaicin ในพลาสมากับพื้นที่ใต้พีคโครมาโตแกรมของ capsaicin (peak area) มีลักษณะเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 0.93-30 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ดังรูปที่ 8 และได้ค่าสมการ $y = ax + b$ เมื่อ Y เป็นค่า peak area และ X เป็นค่าความเข้มข้นของ capsaicin ในพลาสมา ค่า coefficient of determination (R^2) ของ capsaicin เท่ากับ 0.9994

ตารางที่ 6 ความเข้มข้นของกราฟมาตรฐาน

Concentration	Peak area					
ng/ml	1	2	3	4	5	Mean ± SD
0.93	8185	8203	8172	8177	8159	8179.20±16.32
1.25	8677	8621	8721	8672	8668	8671.80±35.51
5	34615	34611	34582	34597	34620	34605±15.44
15	104125	104135	104142	104098	104151	104130.20±20.36
20	143189	143194	143202	143206	143205	143199.20±7.40
30	217742	217747	217732	217735	217740	217739.20±5.89



รูปที่ 8 แสดงกราฟมาตรฐานของ capsaicin ในพลาสมา

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลการศึกษาในอาสาสมัคร

1.ลักษณะทั่วไปของกลุ่มตัวอย่าง

อาสาสมัครเพศชายสุขภาพดีเข้าเกณฑ์การคัดเลือก 12 คน มีอายุระหว่าง 20-24 ปี (21.83 $\pm$ 1.47) น้ำหนักระหว่าง 56-78.3 (65.80 $\pm$ 6.51)กิโลกรัม ส่วนสูงระหว่าง 167-184 (174 $\pm$ 0.05) เซนติเมตร และค่าดัชนีมวลกายอยู่ระหว่าง 19.38-24.44 (21.80 $\pm$ 1.40) รายละเอียดดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ลักษณะทั่วไปของอาสาสมัครสุขภาพดีที่เข้าร่วมโครงการวิจัย

Subject No.	Sex	Age (years)	BW (kg)	Ht (m)	BMI	PR	SBP (mmHg)	DBP (mmHg)
1	Male	24	59	1.73	19.71	72	110	80
2	Male	20	62	1.70	21.45	68	120	90
3	Male	21	78.30	1.79	24.44	76	110	80
4	Male	20	56	1.70	19.38	68	100	70
5	Male	21	68.50	1.72	23.15	71	110	70
6	Male	24	72	1.84	21.27	60	110	70
7	Male	20	61	1.68	21.61	72	90	70
8	Male	23	66.50	1.74	21.96	72	90	70
9	Male	23	58.80	1.67	21.08	84	110	80
10	Male	22	68.50	1.74	22.63	56	120	80
11	Male	22	70	1.76	22.60	72	120	75
12	Male	22	69	1.76	22.28	80	110	65
Mean		21.83	65.80	1.74	21.80	70.92	108.33	75
SD		1.47	6.51	0.05	1.40	7.65	10.30	7.07

2. ผลการตรวจทางชีวเคมีในเลือดในการคัดกรองอาสาสมัครสุขภาพดี

ค่าตรวจทางชีวเคมีได้แก่ การทำงานของตับ ไต ฮีโมโกลบิน HIV และไวรัสตับอักเสบ บี แสดงในตารางที่ 8

ผลการศึกษานำร่องเพื่อหาขนาดของพริกขี้หนูสดที่มีผลต่อการลดระดับน้ำตาลในเลือดโดยใช้การทดสอบแบบ OGTT และผลการตรวจหาปริมาณ capsaicin ในพริกขี้หนูสด

จากการศึกษานำร่องโดยใช้อาสาสมัครจำนวน 2 คนพบว่าพริกขี้หนูสดขนาด 5 กรัม ให้ผลในการลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ โดยพบว่า น้ำตาลในเลือดในกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดมีแนวโน้มลดลงจาก baseline ในเวลาที่ 45 นาที ถึง 90 นาที ดังแสดงในภาคผนวก จ และทำการส่งตรวจวัดปริมาณสาร capsaicin ในพริกขี้หนูสดจำนวน 5 กรัม ที่ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พบว่าพริกขี้หนูสด 5 กรัมประกอบไปด้วย capsaicin ปริมาณ 26.6 มิลลิกรัม (ภาคผนวก ฒ)

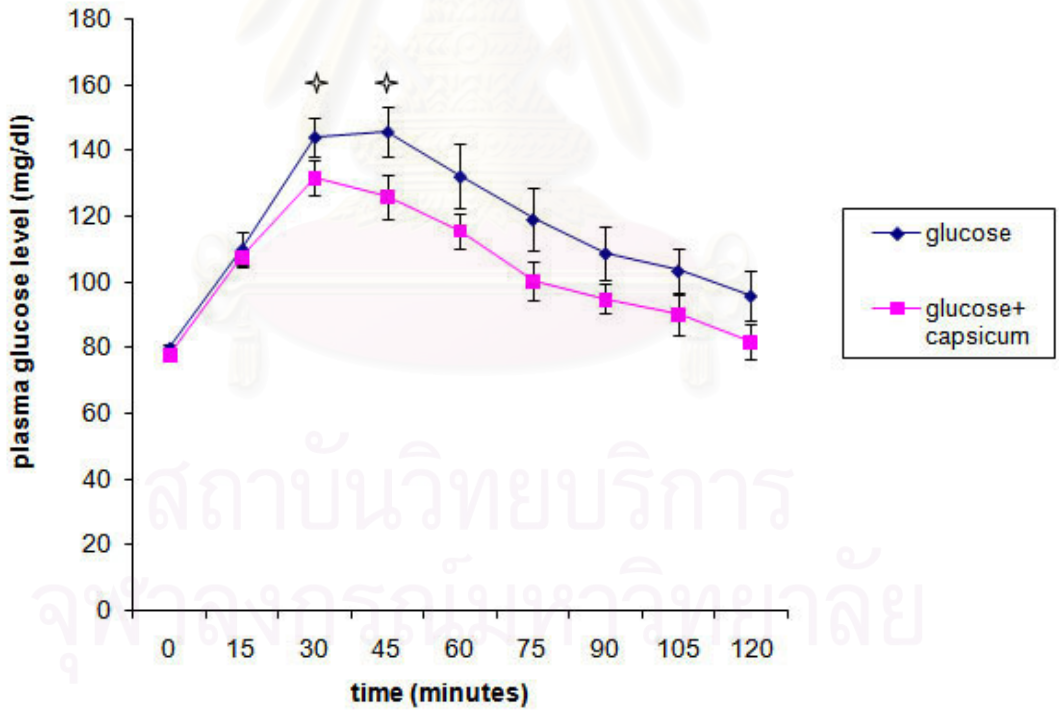
ตารางที่ 8 ค่าทางชีวเคมีในเลือดของอาสาสมัครและค่าปกติ

Parameters	Normal values	Mean ± SD	Range
Hemoglobin (g/dl)	12-18	14.62±0.91	13.20-16
Hematocrit (%)	37-54	43.81±2.45	40.20-48.10
Glucose (mg/dl)	70-110	86.50±5	75-93
BUN (mg/dl)	10-20	11.83±2.75	7-16
Creatinine (mg/dl)	0.50-2	0.89±0.13	0.68-1.10
AST (U/L)	0-38	19.50±4.98	14-29
ALT (U/L)	0-38	17.58±7.89	10-35
Alkaline phosphatase (U/L)	39-117	59.17±15.28	45-91
Anti HIV	Negative	Negative	Negative
Anti HBsAg	Negative	Negative	Negative

ผลของพริกขี้หนูสดต่อการลดระดับน้ำตาลในเลือดโดยใช้การทดสอบแบบ OGTT

ระดับน้ำตาลในเลือดที่แต่ละเวลาของอาสาสมัคร 12 คนที่ได้รับ placebo และ พริกขี้หนูสดร่วมกับสารละลายน้ำตาลกลูโคส แสดงในตารางที่ 9 และ 10 และจากกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง

ค่าเฉลี่ยระดับน้ำตาลในเลือดกับเวลาของอาสาสมัครที่ได้รับสารละลายกลูโคสร่วมกับ placebo และพริกขี้หนูสดในแคปซูล ดังแสดงในรูปที่ 9 พบว่าระดับน้ำตาลในเลือดของกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดมีระดับต่ำกว่ากลุ่มที่ได้รับ placebo โดยเริ่มเห็นความแตกต่างที่เวลา 30 นาทีจนถึง 2 ชั่วโมง และพบว่าที่เวลา 30 นาที ระดับน้ำตาลในเลือดในกลุ่มที่ได้รับ placebo และกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดมีค่า 144.08 $\pm$ 9.96 mg/dl และ 131.78 $\pm$ 17.73 mg/dl ตามลำดับ ซึ่งพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ P value = 0.047 และที่เวลา 45 นาที ระดับน้ำตาลในเลือดในกลุ่มที่ได้รับ placebo และกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสด มีค่า 145.69 $\pm$ 26.67 mg/dl และ 125.93 $\pm$ 22.79 mg/dl ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ P value = 0.006 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างระดับน้ำตาลในเลือดกับเวลาของอาสาสมัครแต่ละรายแสดงไว้ในภาคผนวก ฉ และเมื่อพิจารณาค่าพื้นที่ใต้กราฟ (AUC) ของกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ยระดับน้ำตาลในเลือดกับเวลา พบว่าค่า AUC ของกราฟกลุ่มที่ได้รับ placebo มีค่าเท่ากับ 14,265.50 $\pm$ 2185.10 mg.min/dl และกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดมีค่าเท่ากับ 12,686.63 $\pm$ 1582.86 mg.min/dl ต่ำกว่ากลุ่มที่ได้รับ placebo อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ P value = 0.02 ดังแสดงในตารางที่ 11



รูปที่ 9 แสดงผลระดับน้ำตาลในเลือดของกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดและกลุ่มที่ได้รับ placebo โดยวิธีทดสอบ OGTT

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ P-value < 0.05

ตารางที่ 9 ระดับน้ำตาลในเลือดในอาสาสมัครแต่ละรายเมื่อได้รับการทดสอบแบบ OGTT โดยอาสาสมัครรับประทานแคปซูลเปล่า (placebo)

Subject No.	Plasma glucose level (mg/dl)								
	0 min	15 min	30 min	45 min	60 min	75 min	90 min	105 min	120 min
1	75.40	86.40	105.70	110.90	111.60	126.30	103.90	92.90	95.80
2	84.90	134.70	154.10	144.20	103.90	114	107.40	74	86.20
3	75.80	111.60	112.70	99.90	101	87.20	89.30	80.40	76.40
4	75.40	84.20	167.70	144.60	134.10	127.60	116.80	104.50	91.40
5	82.80	116.60	141.80	128.50	110.30	111.60	105.10	105.10	77.30
6	85.50	102.10	140.40	174.60	151.10	121.60	106.80	111.90	107.40
7	82.20	124.20	135	138.40	94.50	65.20	62.10	76.70	71.80
8	77.90	145	164.70	170.20	159.80	115	95.20	103.70	79.70
9	76.10	113.10	170.10	184.60	170.80	142.40	115.50	103.80	87.50
10	79	90.40	140.40	174.70	207.50	202.70	187.80	165.50	169
11	84.10	114.70	145.20	127	119.80	104.30	104.40	118.40	118.30
12	81.40	97.30	151.10	150.70	120.50	110.70	110.80	104	89.50
Mean	80.04	110.03	144.08	145.69	132.08	119.05	108.76	103.41	95.86
SD	3.89	18.94	19.96	26.67	33.94	32.99	28.86	24.07	26.59

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 10 ระดับน้ำตาลในเลือดในอาสาสมัครแต่ละรายเมื่อได้รับการทดสอบแบบ OGTT โดยอาสาสมัครรับประทานพริกขี้หนูสด 5 กรัม ในแคปซูล

Subject No.	Plasma glucose level (mg/dl)								
	0 min	15 min	30 min	45 min	60 min	75 min	90 min	105 min	120 min
1	76.50	97.40	110	109.80	102	95	86.90	78	64.10
2	83.80	116.10	112.40	106.40	110.10	111.40	81.60	68.60	77.30
3	74.10	123.80	121.60	114.10	107.60	103.70	90.70	102.80	88.70
4	68.90	102.70	118.80	105.90	95.70	83.40	80.80	60.70	49.30
5	79.20	95.20	129.20	125.40	119.50	107.30	102.70	81.40	83.90
6	81.40	107.30	155	124.80	121.70	99.80	89.80	67	65.50
7	77	116.50	129.50	118.30	101.60	79.90	75.20	74.70	57.70
8	77.60	100.50	160.50	162.10	142.30	97.10	103.90	113.80	94.50
9	80.40	112.20	156.90	179.50	159.50	151.30	127.80	123.90	101
10	78.80	99.10	114.90	134	115.80	94.20	108.60	107.10	96.60
11	79.50	102.80	137.70	113.70	103.20	71.90	81.40	98.90	106.30
12	76.20	117	134.80	117.20	108.50	107.60	108.40	104.10	96.30
Mean	77.78	107.55	131.78*	125.93*	115.63	100.22	94.82	90.08	81.77
SD	3.81	9.30	17.73	22.79	18.51	20.05	15.51	20.77	18.70

* แตกต่างจากกลุ่ม placebo อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ P-value < 0.05

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 11 ค่าพื้นที่ใต้กราฟของระดับน้ำตาลในเลือดในกลุ่มที่ได้รับ placebo และกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสด

Subject No.	AUC (mg.min/dl) Placebo	AUC (mg.min/dl) Capsicum
1	12349.50	11241
2	13767.75	11807.25
3	11373	12685.50
4	14443.50	10606.50
5	13485.75	12633.75
6	15074.25	12582.75
7	11596.50	11445.75
8	15486	14493.75
9	16231.50	16527
10	19395	12921
11	14025	12037.50
12	13958.25	13257.75
Mean	14,265.50	12,686.63*
SD	2,185.10	1,582.86

* แตกต่างจากกลุ่ม placebo อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ P-value < 0.05

ผลการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของพริกขี้หนูสดต่อการกระตุ้นการหลั่งอินสุลิน

ระดับอินสุลินในเลือดที่แต่ละเวลาของอาสาสมัคร 12 คนที่ได้รับ placebo และ พริกขี้หนูสด แสดงในตารางที่ 12 และ 13 และจากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ยของระดับอินสุลินในเลือดกับเวลาของอาสาสมัครที่ได้รับ placebo และพริกขี้หนูสด (แสดงในรูปที่ 10) โดยพิจารณาความแตกต่างของระดับอินสุลินที่เวลาต่างๆ หลังได้รับสารทดสอบกับเวลาก่อนได้รับสารทดสอบ พบว่ากลุ่มที่ได้รับ placebo มีระดับอินสุลินลดลงจากก่อนได้รับ placebo ที่เวลา 1ชั่วโมง 1 ชั่วโมง 15 นาที 1 ชั่วโมง 45 นาที และ 2 ชั่วโมง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่ในกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดระดับอินสุลินที่เวลาต่างๆ หลังได้รับพริกขี้หนูสดไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับก่อนได้รับพริกขี้หนู และเมื่อพิจารณาระดับอินสุลินที่เวลาต่างๆ ในกลุ่มได้รับ placebo กับกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูพบว่ากลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูมีค่ามากกว่ากลุ่มที่ได้รับ placebo ที่เวลา 1 ชั่วโมง 1 ชั่วโมง 15 นาที 1 ชั่วโมง 45 นาที และ 2 ชั่วโมง โดยพบระดับอินสุลินในกลุ่มที่ได้รับ placebo มีค่า 2.218 ± 2.52, 2.218 ± 1.88, 2.1 ± 1.97 และ 1.879 ± 1.93 μI.U./ml ตามลำดับ และกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดมีค่า 4.525 ± 2.59, 4.513 ± 2.37, 3.637 ± 2.35 และ 3.625 ± 2.66 μI.U./ml ตามลำดับ พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ค่า P value เท่ากับ 0.049, 0.014, 0.031 และ 0.048 ตามลำดับ กราฟความสัมพันธ์ระหว่างระดับอินสุลินในเลือดกับเวลาของอาสาสมัครแต่ละรายแสดงไว้ในภาคผนวก ช และเมื่อพิจารณาพื้นที่ใต้กราฟ (AUC) ของความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ยระดับอินสุลินในเลือดกับเวลา พบว่าค่า AUC ของกราฟกลุ่มที่ได้รับ placebo มีค่าเท่ากับ 332.25 ± 241.11 μI.U.min/ml และกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูมีค่าเท่ากับ 526.38 ± 300.71 μI.U.min/ml มากกว่ากลุ่มที่ได้รับ placebo อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ P value เท่ากับ 0.008 ดังแสดงในตารางที่ 14

รายงานอาการไม่พึงประสงค์ที่พบ

- อาสาสมัคร 9 ราย พบอาการร้อนท้องหลังจากรับประทานพริกขี้หนูสดที่เวลา 5 นาทีและอาการหายไปที่เวลา 20 นาที
- อาสาสมัคร 3 รายมีอาการท้องเสียหลังรับประทานพริกขี้หนูสดเป็นเวลา 10 ชั่วโมง

ตารางที่12 ระดับอินสุลินในอาสาสมัครที่ได้รับแคปซูลเปล่า (placebo)

Subject No.	Insulin level (μI.U./ml)								
	0 min	15 min	30 min	45 min	60 min	75 min	90 min	105 min	120 min
1	3.70	3.10	2.80	1.40	2.70	1.40	1.30	0	0
2	3.70	4	4.60	3	2.40	1.90	1	1.30	1.30
3	0.78	0.55	0	0	0.21	0	0.22	0	0
4	2.70	1.10	0.53	0.36	0	0	0	0	0
5	4.50	3.70	2.50	2.10	0	0.62	1.80	1	1.40
6	3.80	3	3.30	2.50	2.30	2.20	4.90	3.40	1.50
7	5.70	6.40	4.80	5.10	5.10	5.20	4	3.50	4.30
8	1.40	2.60	0.34	0.92	0	1.60	1	0	0.73
9	3	5.40	2.40	4	1	1.80	3.30	3.40	0.22
10	5.60	4	4.20	1.30	0	1.90	2.20	2.70	4.30
11	6.70	7.90	7.90	8.10	6.50	5.50	6.50	5.80	5.10
12	6.40	5.90	6.20	6.10	6.40	4.50	4	4.10	3.70
Mean	4	3.97	3.30	2.91	2.22*	2.22*	2.52	2.10*	1.88*
SD	1.88	2.15	2.40	2.48	2.52	1.88	2.02	1.97	1.93

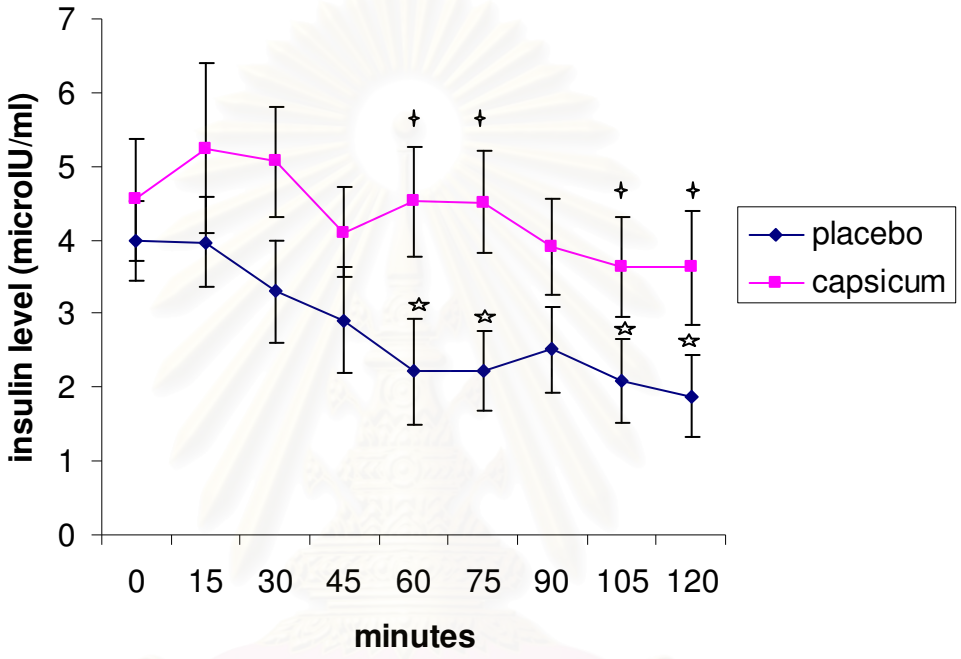
* แตกต่างจากเวลาที่ 0 ก่อนได้รับ placebo อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ P-value < 0.05

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่13 ระดับอินสุลินในอาสาสมัครที่ได้รับพริกขี้หนูสด 5 กรัมในแคปซูล

Subject No.	Insulin level (μI.U./ml)								
	0 min	15 min	30 min	45 min	60 min	75 min	90 min	105 min	120 min
1	6.20	4.80	4.60	4.10	4	3.80	3.20	3.30	3.40
2	1.60	0.80	2.50	2.10	1.30	2.70	0.46	1.80	2.30
3	3.30	6.60	5.90	4.50	3.50	4.50	4	3.50	2.70
4	1.10	1.60	1.70	1.70	1.50	0.45	1.60	0.59	1.20
5	1.60	1.90	2	2.20	1.90	2.50	1.40	0.65	0
6	7.20	5.90	5.40	5.70	5.10	5	4.70	5	5.10
7	3.90	3.80	4.10	2.90	4.60	4.40	3.80	3.90	3.80
8	2.10	2.30	5.60	3.40	6.10	6.60	4.60	2.20	3.40
9	4.50	5.20	5.80	5	5.20	4.80	4.40	4	4.90
10	10.70	15.30	11.50	9.20	11	9.90	9	9.30	10.30
11	6.30	5.70	4.90	2.80	4.90	3.40	4	4.10	1.30
12	6.10	9.10	6.80	5.60	5.20	6.10	5.80	5.30	5.10
Mean	4.55	5.25	5.07	4.10	4.53*	4.51*	3.91	3.64*	3.63*
SD	2.87	3.97	2.60	2.11	2.59	2.37	2.23	2.35	2.66

* แตกต่างจากกลุ่ม placebo อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ P-value < 0.05



รูปที่ 10 กราฟความสัมพันธ์ของระดับอินสุลินของกลุ่มที่ได้รับ placebo และกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดกับเวลา

✝ แตกต่างจากกลุ่ม placebo อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ P-value < 0.05

☆ แตกต่างจากเวลาที่ 0 ก่อนกินยาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ P-value < 0.05

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 14 ค่าพื้นที่ใต้กราฟของระดับอินสุลินในเลือด ในกลุ่มที่ได้รับ placebo และกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสด

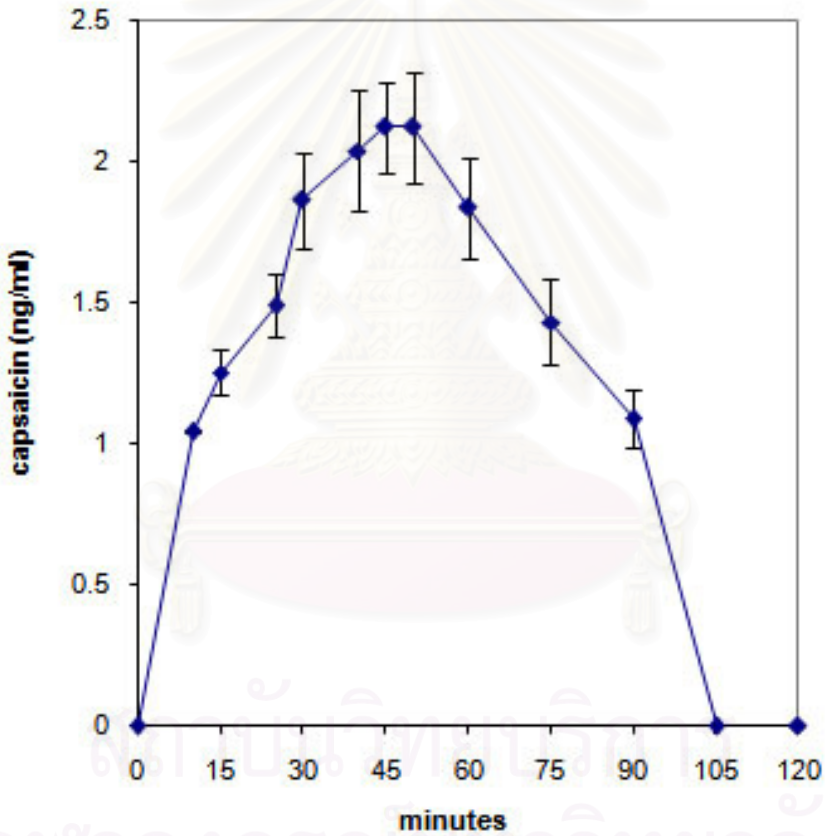
Subject No.	AUC (μI.U.min/ml) Placebo	AUC (μI.U.min/ml) Capsicum
1	218.25	489
2	310.50	204.15
3	17.33	532.50
4	50.10	154.35
5	633.75	742.50
6	220.05	200.25
7	586.50	470.25
8	318.75	504
9	811.50	1285.50
10	363.75	644.25
11	343.65	586.50
12	112.88	503.25
Mean	332.25	526.38*
SD	241.11	300.71

* แตกต่างจากกลุ่ม placebo อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ P-value < 0.05

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลการศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของ capsaicin ในพริกขี้หนูสด

ผลระดับ capsaicin ในพลาสมาที่เวลา 0 คือก่อนรับประทานพริกขี้หนูสด และที่เวลาตั้งแต่ 10 นาทีจนถึง 2 ชั่วโมงหลังรับประทานพริกขี้หนูสด ของอาสาสมัคร 12 คน แสดงไว้ในตารางที่ 14 และกราฟความสัมพันธ์ของค่าเฉลี่ยระดับ capsaicin ในพลาสมากับเวลา แสดงไว้ในรูปที่ 11 ได้ค่า C_{max} เท่ากับ 2.47 $\pm$ 0.46 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ค่า T_{max} เท่ากับ 47.08 $\pm$ 6.89 นาที ค่า AUC_{0-}□ เท่ากับ 103.6 $\pm$ 38.99 นาโนกรัม . นาที/ มิลลิลิตร K_{el} เท่ากับ 0.04 $\pm$ 0.04 และค่า $T_{1/2}$ เท่ากับ 24.87 $\pm$ 17.20 นาที



รูปที่ 11 ระดับของ capsaicin ในพลาสมาที่เวลาต่าง ๆ

ตารางที่ 15 ค่าเภสัชจลนศาสตร์ของ capsaicin ของอาสาสมัครได้แก่ C_{max}, T_{max}, $AUC_{0-\infty}$, K_{el} และ $T_{1/2}$

Subject No.	C_{max} (ng/ml)	T_{max} (minute)	$AUC_{0-\square}$ (ng.min/ml)	K_{el}	$T_{1/2}$ (minute)
1	3.06	40	74.75	0.09	8.06
2	2.97	50	144.85	0.03	21.66
3	2.33	50	73.10	0.05	13.86
4	2.29	40	57.63	0.14	4.91
5	1.33	45	41	0.02	28.88
6	2.37	60	152.50	0.02	30.13
7	2.28	45	78.65	0.01	69.30
8	2.46	45	103.20	0.02	38.50
9	2.45	45	124.13	0.02	28.88
10	3.04	40	149.68	0.03	21.46
11	2.53	60	144.20	0.03	22.14
12	2.55	45	99.48	0.07	10.66
Mean	2.47	47.08	103.60	0.04	24.87
SD	0.46	6.89	38.99	0.04	17.20

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 5

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาเพื่อยืนยันความเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์ความเข้มข้นของ capsaicin ในพลาสมา

พบว่าโครมาโตแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์ความเข้มข้นของ capsaicin ในพลาสมา ไม่ถูกรบกวนด้วยพีคใดใดในพลาสมา พิสูจน์ด้วยการเทียบกับพลาสมา blank สรุปได้ว่าวิธีนี้มีความจำเพาะในการวิเคราะห์หาความเข้มข้น capsaicin ในพลาสมา

ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของ capsaicin ในพลาสมาที่วิเคราะห์ได้คือ 0.93 นาโนกรัม/มิลลิลิตร มีค่า %CV เท่ากับ 6.01% แสดงถึงความเที่ยงตรง (precision) และมีค่าอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้คือไม่เกิน 20% และค่าความถูกต้อง (accuracy) มีค่า 110.6 $\pm$ 5.92% อยู่ในช่วง 80-120% เป็นเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ปริมาณต่ำสุดที่วัดได้นี้ นับว่าไวพอควรที่จะวัดระดับ capsaicin ในร่างกายที่ได้จากการรับประทานพริกขี้หนูสด 5 กรัม หากมีวิธีอื่นที่สามารถวัดได้ค่าต่ำสุดกว่านี้ เช่น วิธี LC/MS-MS ก็ควรทำการพัฒนาต่อไป

ความเที่ยงตรงของการวิเคราะห์ capsaicin ในพลาสมา แสดงด้วยค่า %CV พบว่าความเที่ยงตรงของการวิเคราะห์ capsaicin ในพลาสมาในวันเดียวกันมีค่าเฉลี่ย %CV เท่ากับ 3.93 $\pm$ 1.15% ความเข้มข้นของการวิเคราะห์ capsaicin ในพลาสมาในระหว่างวันมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 7.58 $\pm$ 4.37% ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้คือไม่เกิน 15% วิธีวิเคราะห์นี้จึงมีความเที่ยงตรง

ความถูกต้องของการวิเคราะห์แสดงในรูปของ % accuracy พบว่ามีค่าเฉลี่ย %accuracy ของ capsaicin ในพลาสมาเท่ากับ 103.8 $\pm$ 4.98% ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้คืออยู่ในช่วง 85-115 % วิธีวิเคราะห์นี้จึงมีความถูกต้องเชื่อถือได้

การหาประสิทธิภาพของการสกัดแสดงด้วยค่า %recovery พบว่ามีค่าเฉลี่ย % recovery เท่ากับ 76.5 $\pm$ 5.26 % วิธีการสกัดที่ใช้คือ organic extraction โดยใช้ diethyl ether แล้วนำมาทำแห้งด้วยการเป่าด้วยแก๊สไนโตรเจน แม้จะได้ % recovery ไม่ถึง 100 % แต่อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้คือ 60-100 % วิธีวิเคราะห์นี้จึงมีประสิทธิภาพพอควรในการสกัดสาร

ความเป็นเส้นตรงของ capsaicin ในพลาสมาในช่วงความเข้มข้น 0.93-30 นาโนกรัม/มิลลิลิตร พบว่ามีค่า Coefficient of determination (r^2) ของ capsaicin ในพลาสมาเท่ากับ 0.9994 ซึ่งมีค่าเข้าใกล้ 1 แสดงถึงความเป็นเส้นตรง

จะเห็นได้ว่าการวิเคราะห์หาความเข้มข้นของ capsaicin ในพลาสมาด้วยวิธีนี้มีความจำเพาะ ความไวพอประมาณ มีความถูกต้อง เที่ยงตรง และมีประสิทธิภาพในการสกัดพอควร ดังนั้นวิธี

วิเคราะห์นี้จึงมีความเหมาะสมและเชื่อถือได้ ที่จะนำไปใช้ในการหาความเข้มข้นของ capsaicin ในพลาสมา

การศึกษาผลของพริกขี้หนูสด ต่อการลดระดับน้ำตาลในเลือดโดยใช้การทดสอบแบบ OGTT

ผลของพริกขี้หนูสดต่อระดับน้ำตาลในเลือดโดยการทดสอบแบบ OGTT พบว่าเมื่อได้รับพริกขี้หนูสดระดับน้ำตาลในเลือดต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับพริกขี้หนูสด โดยพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.05$ ที่นาทีที่ 30 และ 45 และเมื่อพิจารณาค่าพื้นที่ใต้กราฟ (AUC) พบว่ากลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดมีค่าต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ P value < 0.05 เช่นกัน ค่าพื้นที่ใต้กราฟ (AUC) แสดงถึงปริมาณของน้ำตาลในร่างกายในเวลาตั้งแต่ 15 นาทีถึง 2 ชั่วโมง แสดงว่าทั้งระดับและปริมาณของน้ำตาลกลูโคสในกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดมีค่าต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับพริกขี้หนูสด ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับงานวิจัยของพัชราณีและคณะ (*1*) ที่ได้ทำการศึกษาในหญิงที่มีภาวะไขมันในเลือดสูง พบว่ากลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสด มีระดับน้ำตาลในเลือดต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับ แต่พบระดับน้ำตาลในเลือดลดลงเพียงนาทีที่ 30 เท่านั้นจากนั้นไม่พบความแตกต่าง ทั้งนี้น่าจะมาจากกลุ่มอาสาสมัครที่ไม่เหมือนกันโดยภาวะไขมันในเลือดสูงมักพบ insulin sensitivity ลดลง (*39*) ทำให้การตอบสนองต่ออินสุลินลดลงเมื่อเทียบกับอาสาสมัครสุขภาพดี และเมื่อพิจารณาระดับ capsaicin ในกระแสเลือดร่วมด้วยพบว่าค่า T_{max} ของ capsaicin อยู่ที่ 45 นาที สอดคล้องกับเวลาที่ระดับน้ำตาลในเลือดลดลง จากงานวิจัยหลายรายงานพบว่า capsaicin เป็นสารที่ให้ผลต่อร่างกายมากมายหลายระบบ (*22*) รวมทั้งผลต่อระดับน้ำตาลในเลือด (*26,27,28 ,30*) และมีการค้นพบ vanilloid receptor ของ capsaicin ที่ beta-cell ของตับอ่อน จึงอาจกล่าวได้ว่าผลของพริกขี้หนูสดขนาด 5 กรัม ที่ทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดลดลงนั้นเกิดจากสาร active compound คือ capsaicin

ผลการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของพริกขี้หนูสดต่อการกระตุ้นการหลั่งอินสุลิน

เมื่อพิจารณาจากกราฟของระดับอินสุลินกับเวลาพบว่ากลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดมีระดับอินสุลินสูงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับพริกขี้หนูสดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่เวลา 1ชั่วโมง 1ชั่วโมง 15 นาที 1ชั่วโมง 45 นาที และ 2 ชั่วโมง (P value < 0.05) เมื่อพิจารณาความแตกต่างของระดับอินสุลินที่เวลาต่างๆ หลังได้รับสารทดสอบกับที่เวลาก่อนได้รับสารทดสอบทั้งสองกลุ่ม พบว่ากลุ่มที่ได้รับ placebo มีระดับอินสุลินลดลง โดยลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับก่อนได้รับที่เวลา 1 ชั่วโมง 1 ชั่วโมง 15 นาที 1 ชั่วโมง 45 นาที และ 2 ชั่วโมง ในขณะที่กลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดระดับอินสุลินไม่มีความแตกต่างกับก่อนได้รับพริกขี้หนู อาจกล่าวได้ว่ากลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดสามารถรักษาระดับอินสุลินในเลือดไม่ให้ลดระดับลงเมื่อเวลาผ่านไปได้ และค่าพื้นที่ใต้กราฟของกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดมีค่ามากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P value < 0.01) ซึ่ง

ก่อนหน้านี้มีรายงานของ Tolan et al ได้ทำการศึกษาในสุนัขโดยวิธีการทดสอบ OGTT และวัดระดับอินสุลินพบว่ากลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูมีระดับน้ำตาลในเลือดน้อยกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับ และมีระดับอินสุลินสูงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับพริกขี้หนู Tolan et al เสนอว่าการลดระดับน้ำตาลในเลือดนั้นอาจเกิดจากกระบวนการกระตุ้นการหลั่งอินสุลิน (*43*) ดังที่ Akiba et al ได้เคยรายงานว่า beta-cell ในตับอ่อนมีตัวรับ capsaicin (TRPV1) และพบว่า capsaicin สามารถกระตุ้นการหลั่งอินสุลินจากตับอ่อนได้ Akiba et al ได้เสนอว่ากลไกการกระตุ้นการหลั่งอินสุลินของ capsaicin นั้นน่าจะเกิดจากการทำให้แคลเซียมเข้าสู่เซลล์มากขึ้น(*19*) เมื่อพิจารณาจากกราฟในรูปที่ 10 พบว่าที่เวลา 1 ชั่วโมง 45 นาที และ 2 ชั่วโมงระดับอินสุลินยังคงสูงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับ แต่ในเวลาดังกล่าวไม่สามารถตรวจวัดระดับ capsaicin โดยวิธี HPLC ได้ ก่อนหน้านี้ได้มีรายงานว่า capsaicin ถูกเมตาบอไลท์ได้สารอีกชนิดหนึ่งในกลุ่ม vanilloids ซึ่งสารดังกล่าวยังสามารถจับกับ capsaicin receptor (TRPV1) ได้อยู่ จึงอาจจะยังคงฤทธิ์กระตุ้นการหลั่งอินสุลิน (*47*) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า capsaicin สามารถทำให้เกิด desensitization ของ unmyelinated C fiber ทำให้มีการหลั่ง CGRP ออกจากเซลล์ประสาท และพบว่ามีการหลั่งอินสุลินเพิ่มมากขึ้นในหนู Zucker ส่งผลให้ระดับน้ำตาลในเลือดลดลงได้เช่นเดียวกัน (*27,46*) ขณะเดียวกันมีรายงานวิจัยของ Gyula et al (*18*) ศึกษาผลของ capsaicin ต่อน้ำตาลในเลือดและอินสุลิน โดยให้ capsaicin ขนาด 400 ไมโครกรัมกับอาสาสมัครสุขภาพดี ทำการทดสอบด้วยวิธี OGTT พบว่ากลุ่มที่ได้รับ capsaicin มีระดับน้ำตาลในเลือดสูงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับ นอกจากนี้ยังพบว่ามีการหลั่งกลูคากอนเพิ่มมากขึ้น ผลที่ได้แตกต่างจากงานวิจัยนี้ นอกจากนี้ มีรายงานการวิจัยของ Monsereenusorn et al พบว่า capsaicin สามารถยับยั้งการดูดซึมกลูโคสจากลำไส้เข้าสู่กระแสเลือดในสุนัขและหนู จึงเป็นไปได้ว่ากลไกในการลดระดับน้ำตาลในเลือดของ capsaicin อาจมีมากกว่า 1 กลไก

การศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของ capsaicin ในพริกขี้หนูสด

ที่ผ่านมายังไม่มีการรายงานถึงเภสัชจลนศาสตร์ของ capsaicin ในมนุษย์ มีแต่การศึกษาระดับ capsaicin ในตับของหนูขาว (*47*) และงานวิจัยระดับ in situ ศึกษาการดูดซึมของ capsaicin ที่ส่วนต่างๆ ของทางเดินอาหารของหนูขาวได้ผลดังนี้ capsaicin ถูกดูดซึม 50 % ในกระเพาะอาหาร 80% ในส่วน jejunum และ 70% ในส่วน ileum ซึ่งพบว่า capsaicin ถูกดูดซึมดีที่สุดในส่วนของ jejunum และเป็นการดูดซึมแบบไม่ใช้พลังงาน โดยจะถูกดูดซึมเข้าสู่ portal system ไม่เข้าสู่ mesenteric lymphangial งานวิจัยนี้พบว่า capsaicin ถูกดูดซึมได้เร็วสามารถตรวจพบระดับ capsaicin ในเลือดที่ 10 นาที และพบว่า capsaicin ถูกกำจัดได้เร็ว ตรวจระดับได้ถึงเพียง 1 ชั่วโมง 30 นาที ค่าเภสัชจลนศาสตร์ของ capsaicin ที่ได้จากงานวิจัยนี้ได้แก่ C_{max} มีค่า 2.47 $\pm$ 0.46 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ค่า T_{max} มีค่า 47.08 $\pm$ 6.89 นาที ค่า $AUC_{0-\infty}$ มีค่า 103.6 $\pm$ 38.99 นาโนกรัม . นาที/มิลลิลิตร และค่า $T_{1/2}$ มีค่า 24.87 $\pm$ 17.2 นาที ตามลำดับ การที่ capsaicin มีค่า C_{max} ต่ำ อาจมาจากมี

กระบวนการ first-pass effect เกิดขึ้นขณะดูดซึมตามรายงานการวิจัยของ Surh et al พบว่าค่า $T_{1/2}$ ของ capsaicin มีค่าสั้นมาก อาจเนื่องมาจาก capsaicin ถูกเปลี่ยนแปลงในร่างกายโดยเร็ว ซึ่งจากรายงานการวิจัยของ Kawada et al และ Leelahuta et al พบว่าในหนูขาว capsaicin ถูกเปลี่ยนแปลงเป็น N-(4,5-dihydroxyl-3-methoxybenzyl)-acylamide ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม catechol โดย CYP2E1 และถูกเปลี่ยนแปลงเป็นสารอื่นอีกได้แก่ vanillic acid (*31,47*)

สรุปผลการทดลอง

1. การหาความเข้มข้นของ capsaicin ในพลาสมาโดยวิธีวิเคราะห์นี้เป็นวิธีที่เชื่อถือได้ มีความถูกต้อง แม่นยำ สามารถนำมาใช้ในการศึกษาได้
2. จากการศึกษาพบว่าค่าเภสัชจลนศาสตร์ของ capsaicin ในอาสาสมัครสุขภาพดีเป็นดังนี้ C_{max} มีค่า 2.47 $\pm$ 0.46 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ค่า T_{max} มีค่า 47.08 $\pm$ 6.89 นาที $AUC_{0-\infty}$ มีค่า 103.60 $\pm$ 38.99 นาโนกรัม.นาที/มิลลิลิตร และค่า $T_{1/2}$ มีค่า 24.87 $\pm$ 17.20 นาที ตามลำดับ
3. พริกขี้หนูสด 5 กรัมมีผลต่อการลดระดับน้ำตาลในเลือด โดยสามารถรักษาระดับอินสุลินในเลือดไม่ให้มีปริมาณลดลงเมื่อเวลาเปลี่ยนแปลงไป

ข้อเสนอแนะ

1. พัฒนาเครื่องมือตรวจวัดระดับ capsaicin ที่มีความละเอียดในการวิเคราะห์มากขึ้นกว่า HPLC เช่น LC/MS-MS
2. ทำการศึกษาฤทธิ์ของ capsaicin ต่อการลดระดับน้ำตาลในเลือดและการกระตุ้นการหลั่งอินสุลินในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

1. Patcharanee Chaiyata. Effect of chili pepper (*Capsicum frutescens*) ingestion on glucose response, metabolic rate, lipid profile, lipid peroxidation, thrombogenic and fibrinolytic activities in hyperlipidemic thai women. Doctoral dissertation. Research unit Nutrition Faculty of medicine Ramathibodi hospital Mahidol University, 2003.
2. พริกขี้หนู [Online]. Available from: http://www.shc.ac.th/learning/botanical-garden/153.htm[2007, August]
3. CAP-STUN® OC Products [Online]. Available from: http://www.zarc.com/english/cap-stun/tech_info/oc/capsicums.html[2007, August]
4. SURH, Y.J.; and Lee, S.S. Capsaicin in Hot Chili Pepper: Carcinogen, Co-carcinogen or Anticarcinogen?. Fd Chem. Toxic. 34(1996): 313-316.
5. Jeanne, C.; Maneesha, A.; Marcus, M.; Jacob, N.; Martin, M.; and Marry, A.O. Transcripts for possible capsaicinoid biosynthetic gene are differentially accumulated in pungent and non-pungent in *Capsicum Spp*. Plant Science. 148(1999): 47-57.
6. Nagy, I.; Santha, P.; Jancso, G.; and Urban, L. The role of the vanilloid (capsaicin) receptor (TRPV1) in physiology and pathology. ejphar. 500(2004): 351-369.
7. ประโยชน์ทางยาของพริก [Online]. Available from: http://www.gpo.or.th/rdi/html/chada1.html[2007, August]
8. Janos, S. Forty years in capsaicin research for sensory pharmacology and physiology. Neuropeptides. 38(2004): 377-384.
9. Jaiarj, P.; Saichompoo, S.; Wongkrajang, Y.; Vongswan, N.; Peungvicha, P.; and Jiratchariyakul, W. Cardiovascular actions of capsaicinoid extract from Thai capsicum. Thai J Phytopharm. 5(1998): 1-13.
10. Donna, H. W. The vanilloid receptor and hypertension. Acta Pharmacologica Sinica. 26 (2005): 286-294.
11. Visudhiphan, S.; Poolsuppasit, S.; Piboonnukarintr, O.; and Tumliang, S. The relationship Between high fibrinolytic activity and daily capsicum. Am J Clin Nutr. 35(1982): 1452-1458.
12. Yoshioka, M.; Matsuo, T.; Lim, K.; Tremblay, A.; and Suzuki, M. Effect of capsaicin on abdominal fat and serum free fatty acid in exercise-trained rats. Nutr Res. 20(2000): 1041-1045.

13. Yoshioka, M.; St-Pierre, S.; Suzuki, M.; and Tremblay, A. Effect of red pepper added to high-fat and high-carbohydrate meals on energy metabolism and substrate utilization in Japanese women. Br J Nutr. 80(1998): 503-510.

14. Yoshioka, M.; Lim, K.; Kikuzato, S.; Kiyonaga, A.; Tanaka, H.; and Shindo, M. Effect of red pepper diet on the energy metabolism in men. J Nutr Sci Vitaminol(Tokyo). 41(1995): 647-656.

15. Yoshioka, M.; St-Pierre, S.; Drapeau, V.; Dionne, I.; Doucet, E.; and Suzuki, M. Effect of red Pepper on appetite and energy intake. Br J Nutr. 82(1999): 115-123.

16. Doucet, E.; and Tremblay, A. Food intake, energy balance and body weight control. Eur J Clin Nutr. 51(1997): 846-855.

17. Kawada, T.; Hagihara, K.; and Iwai, K. Effect of capsaicin on lipid metabolism in rats fed a high fat diet. J Nutr. 116(1986): 1272-1278.

18. Lille, J.; and Ramirez, E. Pharmacological action of the active principle of chili (Capsicum annum). Chem Abstr. 29(1935). 4836.

19. Toh, C.; Lee, T.S.; and Kiang, A.K. The pharmacological action of capsaicin and analogues. Bri J Pharmacol. 10(1955): 175-182.

20. Lee, T.S. Physiological gustatory sweating in a warmclimate. J Physiol. 125(1954): 528.

21. DermNet NZ [Online]. Available from: http://dermnetnz.org/treatments/capsaicin.html[2007, August]

22. Szallasi, A; and Blumberg, P. Vanilloid (capsaicin) receptors and mechanisms. Pharmacological reviews. 51(1999): 159-201.

23. Jonietz, P. Effect of red pepper and capsaicin on rat intestinal disaccharidases. J Sci Soc Thailand. 8(1982): 53-57.

24. Monsereenusorn, Y.; and Glinsukon, T. Inhibitory effect of capsaicin on intestinal glucose absorption in vitro. Food Cosmet Toxicol. 16(1978): 469-473.

25. Monsereenusorn, Y.; and Glinsukon, T. Effect of capsaicin on plasma glucose level and intestinal glucose absorption in vivo. J Pharm Sci. 7(1980): 9-12.

26. Wall, E.; Gram, D.X.; Strubbe, H.J.; Scheurink, J.W.; and Koolhaas, M.J. Ablation of capsaicin-sensitive afferent nerves affects insulin response during an intravenous glucose tolerance test. Life Sciences. 77(2005): 1283-1292.

27. Moesgaard, S.G.; Brand, C.L.; Sturis, J.; Ahrén, B.; Wilken, M.; Fleckner, J.; Carr, R.D.; Svendsen, O.; Hansen, A.J.; and Gram, D.X. Sensory nerve inactivation by resiniferatoxin improves insulin sensitivity in male obese Zucker rats. Am J Physiol Endocrinol Metab. 288(2005): 1137-1145.

28. Ahuja, K.D.; Robertson, I.K.; Geraghty, D.P.; and Ball, M.J. Effects of chili consumption on postprandial glucose, insulin, and energy metabolism. Am J Clin Nutr. 84(2006): 63-69.

29. Gyula, M.; Andras, D.; and Janos, S. Capsaicin and glucose absorption and utilization in healthy human subjects. ejphar. 534(2006): 280-283.

30. Akiba, Y.; Kato, S.; Katsube, K; Nakamura, M.; Takeuchi, K.; Ishii, H.; and Hibi, T. Transient receptor potential vanilloid subfamily 1 expressed in pancreatic islet beta cells modulates insulin secretion in rats. Biochem Biophys Res Commun. 321(2004): 219-225.

31. Surh, Y.J.; and Lee S.S. Capsaicin, a double-edged sword:Toxicity, metabolism, and chemopreventive potential. Life science. 56(1995): 1845-1855.

32. Chanda, S.; Erexson, G.; and Riach, C. Genotoxicity studies with pure trans-capsaicin. Mutation Research. 557(2004): 85-97.

33. Kawada, T. ; Suzuki, T. ; and Takahashi, M. Gastrointestinal Absorption and metabolism of Capsaicin and dihydrocapsaicin in Rats. Toxicology and applied pharmacology. 72(1984): 449-456.

34. Surh, Y.J.; Ahn, S.H.; and Kim, K.C. Metabolism of capsaicinoids:evidence for aliphatic hydroxylation and its pharmacological implications. Life science. 16(1995): 305-311.

35. Miller, M.S.; Brendel, K.; and Burks, T.F. Interaction of capsaicinoids with drug-metabolizing systems. Relationship to toxicity. Biochem Pharmacol. 3(1983): 547-551.

36. วิภา วีวัฒน์นภากูล. ระบบต่อมไร้ท่อ. ในคณาจารย์ภาควิชาสรีรวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล(บรรณาธิการ), สรีรวิทยา, หน้า 390-393. กรุงเทพมหานคร: เท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่น, 2542.

37. Beta Cell Biology Consortium [Online]. Available from: http://www.betacell.org/images/CMS/insulin-maturation_01_w500.jpg [2007, August]

38. นัยนา บุญทวียุวัฒน์. ฮอร์โมนอินสุลินกับระดับน้ำตาลในเลือด บทที่ 2 คาร์โบไฮเดรต. ใน นัยนา บุญทวียุวัฒน์(บรรณาธิการ), ชีวเคมีทางโภชนาการ, หน้า 33-35. กรุงเทพมหานคร: ซิกม่า ดีไซน์กราฟฟิก, 2546.

39. Wilcox, G. Insulin and insulin resistance. Clin Biochem Rev. 26(2005): 19-34.

40. Biology@Davidson [Online]. Available from: http://www.bio.davidson.edu/Courses/Molbio/MolStudents/spring2003/Williford/picturefrombook/Slide2.JPG[2007, August]

41. สุภีนันท์ อัญเชิญ. ยาลดระดับน้ำตาลในเลือด. ในคณาจารย์ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล(บรรณาธิการ), เภสัชวิทยา, หน้า 642-655. กรุงเทพมหานคร: เท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่น, 2539.

42. Clinical Pharmacokinetic studies of pharmaceuticals. Ministry of Health, labour and welfare. Japan. 1 June 2001.

43. Guideline for Bioequivalence studies of generic products. Ministry of Health, labour and welfare. Japan. 22 December 1997.

44. Tolan, I; Ragoobirsingh, D; and Morrison, EY. Isolation and purification of the hypoglycaemic principle present in *Capsicum frutescens*. Phytother Res. 18(2004): 95-96.

45. Tolan, I; Ragoobirsingh, D; and Morrison, EY. The effect of capsaicin on blood glucose, Plasma insulin levels and insulin binding in dog models. Phytother Res. 15(2001): 391-394.

46. Dorte, XG; Anker, JH; Michael, W; Torben, E; Ove, S; Ricahrd, DC; and Christian LB. Plasma calcitonin gene-related peptide is increased prior to obesity, and sensory nerve Desensitization by capsaicin improves oral glucose tolerance in obese Zucker rats. Eur J Endocrinol. 153(2005): 963-969.

47. Leelahuta, Y.; Glinsukon, T.; and Wangpanish, W. IN VITRO capsaicin metabolism in the rat, mouse and hamster: a preliminary report. Toxicon. 1.3(1983): 245-248.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

No. 376/2007
REC. No. 115/49

Certificate of Approval

The Institutional Review Board of the Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand, has approved the following study which is to be carried out in compliance with the ICH/GCP according to the protocol of the principal investigator

The Institutional Review Board of the Faculty of Medicine, Chulalongkorn University reviewed the protocol based on the international guidelines for human research protection and ICH-GCP

Study Title : Pharmacokinetic of capsaicin in Capsicum frutescents and Pharmacological effect of Capsicum frutescents on plasma glucose in healthy volunteers

Study Code :

Center : Chulalongkorn University

Principal Investigator : Kamon Chaiyasit

Document Reviewed :

: .....
(Emeritus Professor Anek Aribarg, M.D.)
Chairman of Institutional Review Board

: .....
(Associate Professor. Vilai Chentanez, M.D.)
Associate Dean for the Research Affairs
With Representative of Dean

Date of Approval : May 24, 2007

Approval Expire Date : May 24, 2008

Approval is granted subject to the following conditions: (see back of this Certificate)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข

No….....

วันที่.....เวลา.....น.

แบบ screen subject เข้าร่วมโครงการวิจัย

1. ข้อมูลทั่วไป

ชื่อ.....นามสกุล.....อายุ .....ปี

น้ำหนัก….....กิโลกรัมส่วนสูง….....เซนติเมตร อาชีพ.....……..

2. ประวัติความเจ็บป่วย

ปัจจุบันป่วยเป็นโรคใดหรือไม่ เช่น ไข้หวัด,น้ำมูกไหล.....

โรคประจำตัว

☐ โรคตับ ☐ โรคไต ☐ โรคภูมิแพ้ ☐ โรคเบาหวาน

โรคประจำตัวอื่นๆ (ระบุ).....

ยาที่รับประทานประจำ.....

การแพ้ยา

.....

3. ดื่มสุราหรือเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์หรือไม่ ☐ไม่ดื่ม ☐ ดื่ม

ปริมาณ.....

สูบบุหรี่หรือไม่ ☐ไม่สูบ ☐สูบ

ปริมาณ.....

ลงชื่อ.....ผู้บันทึก

(.....)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ค

แบบฟอร์มกรอกประวัติผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย

1. ชื่อ.....นามสกุล.....อายุ.....ปี
   น้ำหนัก.....กิโลกรัม ส่วนสูง.....เซนติเมตร อาชีพ
   .....
2. ที่อยู่ที่ติดต่อได้

.....

สถานที่ทำงาน

.....

เบอร์โทรศัพท์ที่ทำงาน.....ที่บ้าน…….....

3. เจาะเลือดตรวจร่างกายวันที่.....
4. ผลการตรวจร่างกาย (รายงานผลวันที่.....)

Vital signs

Temp.....°c, Pulse...../min, BP.....mmHg, HR...../min

General Appearances

Eyes.....ENT……

Heart.....Lung.....

Abdomen.....Extremities.....

ชนิดของ Lab ที่ส่งตรวจ	ค่าที่ตรวจพบ	ค่าปกติ
FBS		70-110 mg/dl
AST		0-38 U/L
ALT		0-38 U/L
Alkaline Phosphatase		39-117 U/L
BUN		10-20 mg/dl
Creatinine		0.5-2 mg/dl

Virology HBs antigen [ ] positive [ ] negative

5. เกณฑ์การคัดเลือกอาสาสมัครเข้าร่วมการศึกษา (Subject inclusion criteria)	Yes	No
- อาสาสมัครเพศชาย อายุระหว่าง 18-45 ปี	[ ]	[ ]
- มีค่า ดัชนีมวลกาย (BMI) 18-25 kg/m^2	[ ]	[ ]
- มีสุขภาพดี โดยผ่านการตรวจสอบประวัติการใช้ยา การตรวจร่างกาย และ vital signs	[ ]	[ ]
- ผลการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการคลินิกเป็นปกติ	[ ]	[ ]
- ยินยอมเข้าร่วมศึกษาด้วยความเต็มใจและ ลงนามในหนังสือแสดงความยินยอมแล้ว	[ ]	[ ]

6. เกณฑ์การคัดเลือกอาสาสมัครออกจากการศึกษา (Subject exclusion criteria)	Yes	No
- มีประวัติการแพ้พริกขี้หนูสด	[ ]	[ ]
- มีประวัติการป่วยเป็นโรคระบบทางเดินอาหาร โรคตับ โรคไต โรคภูมิแพ้ หรือโรคอื่นๆ ที่อาจมีผลต่อ bioavailability ของยา	[ ]	[ ]
- มีประวัติดื่มสุราเป็นประจำ และมีการใช้สารเสพติด	[ ]	[ ]
- มีประวัติสูบบุหรี่เป็นประจำ (มากกว่า 10 มวนต่อวัน) หรือ ไม่สามารถอดการสูบบุหรี่ได้ก่อนเริ่มศึกษาและระหว่างการศึกษา	[ ]	[ ]
- ได้รับการรักษาโรคด้วยยาอื่นภายใน 1 เดือนก่อนเริ่มการศึกษา โดยเฉพาะยาที่มีผลต่อ enzyme ในร่างกาย	[ ]	[ ]
- ได้รับประทานอาหารที่มีส่วนประกอบของสาร capsaicin เช่น พริก หอมหัวใหญ่ เป็นต้น ภายใน 7 วันก่อนเริ่มศึกษา	[ ]	[ ]

ลงชื่อ.....ผู้บันทึก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ง

ใบยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัย

การวิจัยเรื่อง เภสัชจลนศาสตร์ของสาร capsaicin ในพริกขี้หนูสดและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของพริกขี้หนูสด ต่อน้ำตาลในเลือดในอาสาสมัครสุขภาพดี

วันให้คำยินยอม วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

ก่อนที่จะลงนามในใบยินยอมเข้าร่วมการวิจัยนี้ ข้าพเจ้าได้รับการอธิบายจากผู้วิจัยถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย วิธีการวิจัย อันตราย หรืออาการที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัย หรือจากยาที่ใช้ รวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นอย่างละเอียด และมีความเข้าใจดีแล้ว

ผู้ทำการวิจัยรับรองว่าจะตอบคำถามต่างๆ ที่ข้าพเจ้าสงสัยด้วยความเต็มใจ ไม่ปิดบังซ่อนเร้นจนข้าพเจ้าพอใจ

ข้าพเจ้ามีสิทธิ์ที่จะบอกเลิกการเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้เมื่อใดก็ได้ และเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้ด้วยความสมัครใจ และการบอกเลิกเข้าร่วมโครงการนี้จะไม่เกิดผลเสียใดๆ ต่อข้าพเจ้าเลย

ผู้วิจัยรับรองว่าจะเก็บข้อมูลเฉพาะเกี่ยวกับตัวข้าพเจ้าเป็นความลับ และจะเปิดเผยได้เฉพาะในรูปที่เป็นสรุปผลการวิจัย การเปิดเผยข้อมูลเกี่ยวกับตัวข้าพเจ้าต่อหน่วยงานต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกระทำได้เฉพาะกรณีจำเป็น ด้วยเหตุผลทางวิชาการเท่านั้น

ข้าพเจ้าได้อ่านและทำความเข้าใจในข้อความทั้งหมดของใบยินยอมครบถ้วนดีแล้ว ทั้งนี้ข้าพเจ้ายินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัยด้วยความสมัครใจโดยไม่มีการบังคับใดๆ พร้อมทั้งลงลายมือชื่อเพื่อเป็นหลักฐานในการเข้าร่วมโครงการวิจัยดังกล่าว

ลงชื่อ.....ผู้ยินยอม

(.....)

ลงชื่อ.....แพทย์ผู้เกี่ยวข้อง

(.....)

ลงชื่อ.....ผู้ดำเนินการวิจัย

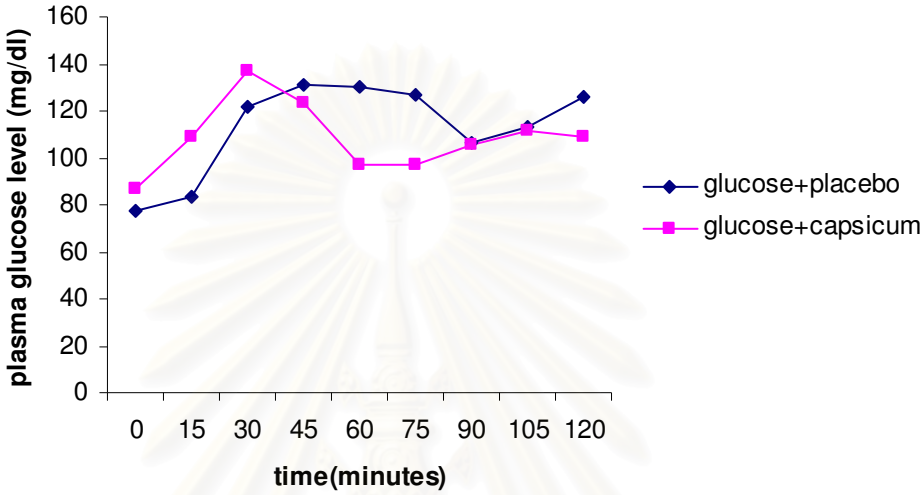
(.....)

ลงชื่อ.....พยาน

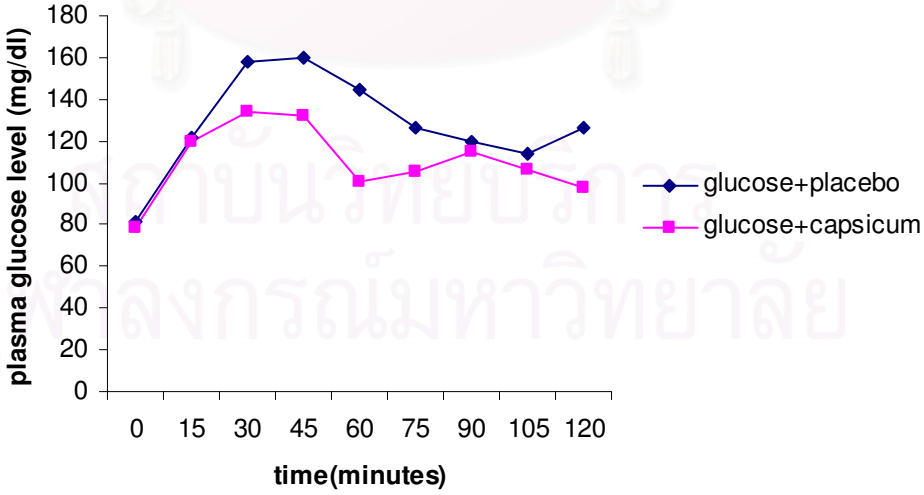
(.....)

ภาคผนวก จ

ผลการศึกษานำร่องแสดงระดับน้ำตาลในเลือดของกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสด และกลุ่มที่ไม่ได้รับพริกขี้หนูสด (placebo) โดยวิธีทดสอบ OGTT



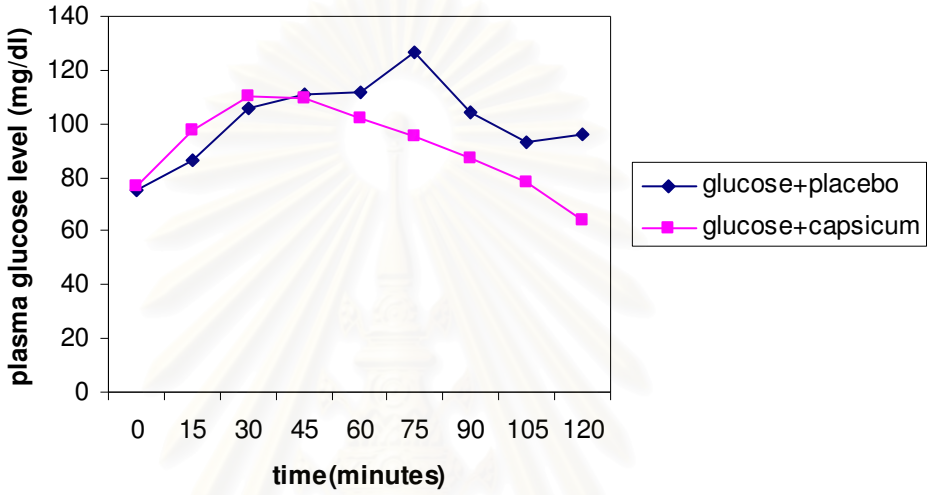
รูปที่ 12 แสดงระดับน้ำตาลในเลือดของกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสด และกลุ่มที่ไม่ได้รับพริกขี้หนูสด โดยวิธีทดสอบ OGTT ของการศึกษานำร่องคนที่ 1



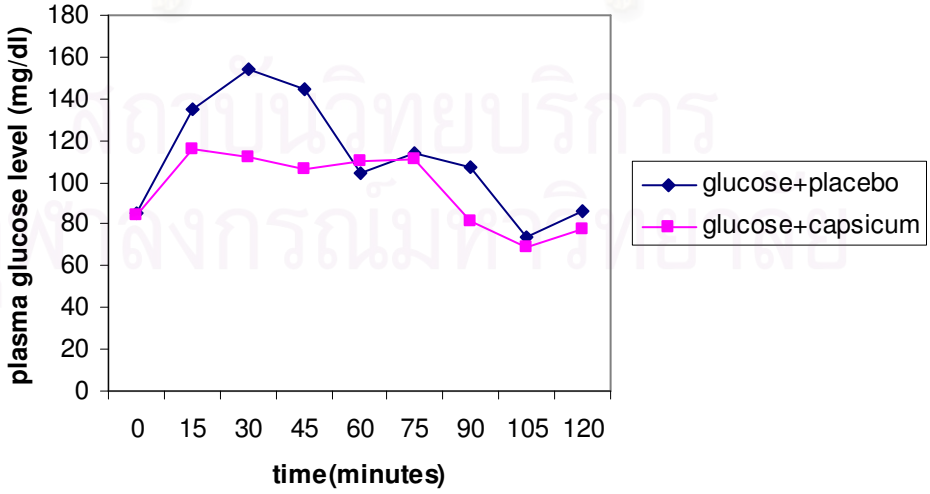
รูปที่ 13 แสดงระดับน้ำตาลในเลือดของกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสด และกลุ่มที่ไม่ได้รับพริกขี้หนูสด โดยวิธีทดสอบ OGTT ของการศึกษานำร่องคนที่ 2

ภาคผนวก ฉ

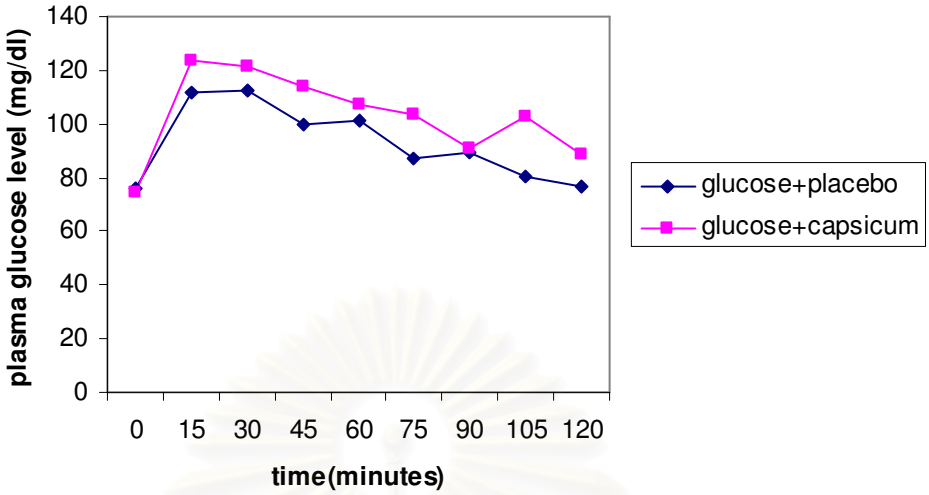
ผลแสดงระดับน้ำตาลในเลือดของกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสด และกลุ่มที่ไม่ได้รับพริกขี้หนูสด โดยวิธีทดสอบ OGTT



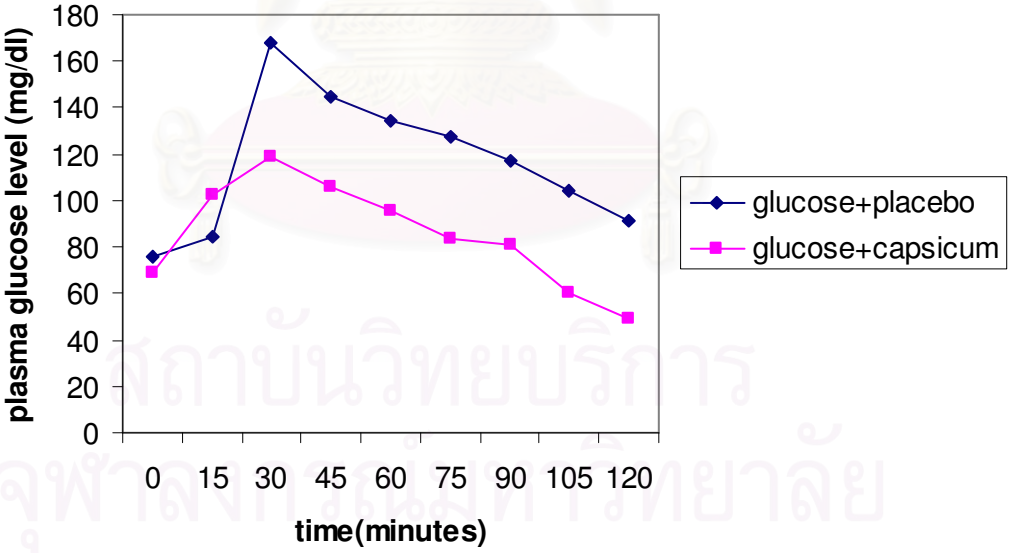
รูปที่ 14 แสดงระดับน้ำตาลในเลือดของกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสด และกลุ่มที่ไม่ได้รับพริกขี้หนูสด โดยวิธีทดสอบ OGTT ของอาสาสมัครคนที่ 1



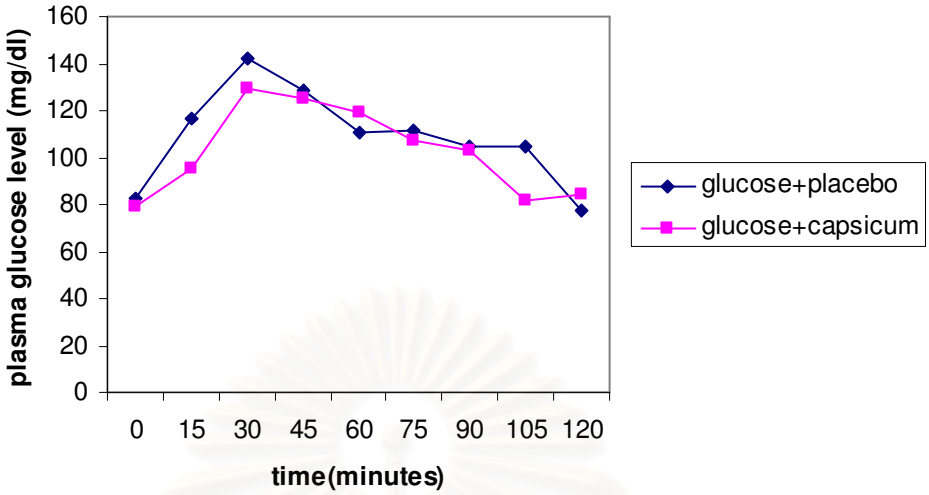
รูปที่ 15 แสดงระดับน้ำตาลในเลือดของกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสด และกลุ่มที่ไม่ได้รับพริกขี้หนูสด โดยวิธีทดสอบ OGTT ของอาสาสมัครคนที่ 2



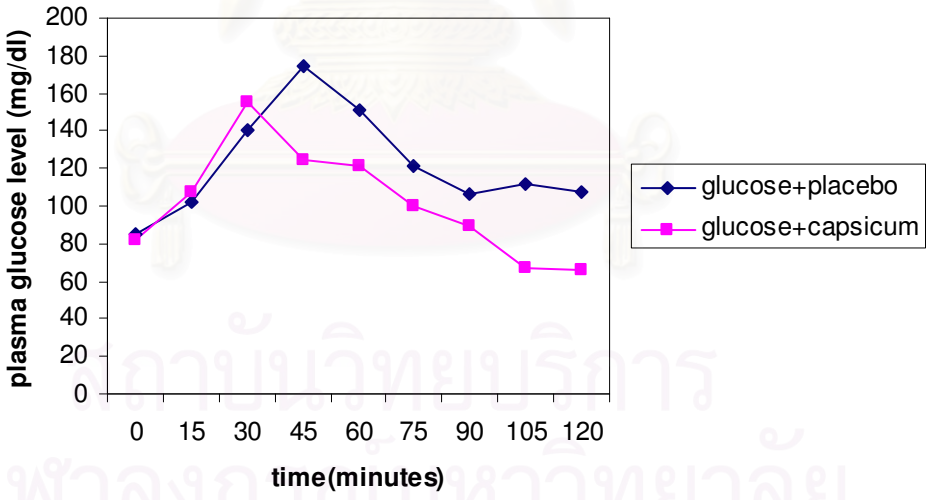
รูปที่ 16 แสดงระดับน้ำตาลในเลือดของกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสด และกลุ่มที่ไม่ได้รับพริกขี้หนูสด โดยวิธีทดสอบ OGTT ของอาสาสมัครคนที่ 3



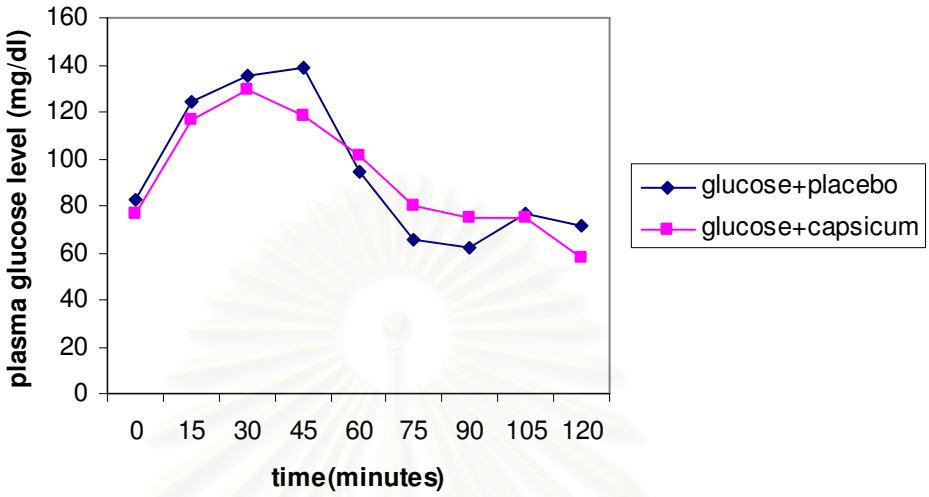
รูปที่ 17 แสดงระดับน้ำตาลในเลือดของกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสด และกลุ่มที่ไม่ได้รับพริกขี้หนูสด โดยวิธีทดสอบ OGTT ของอาสาสมัครคนที่ 4



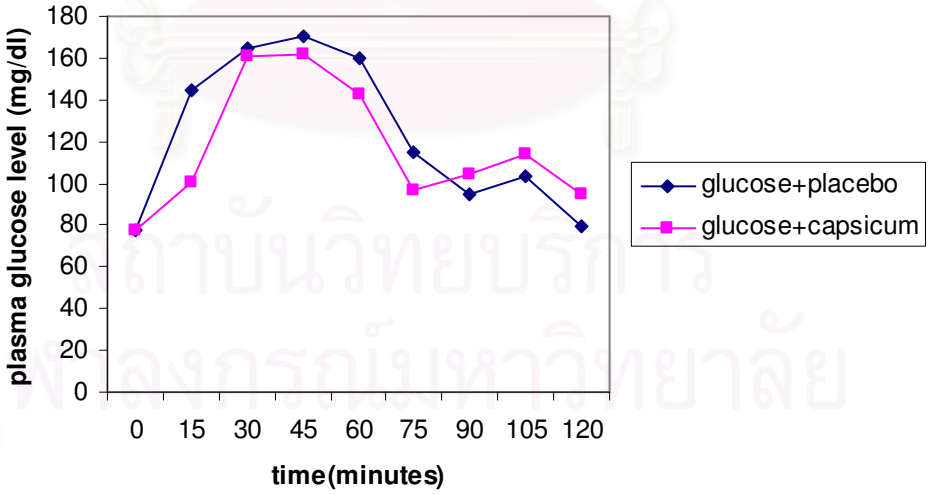
รูปที่ 18 แสดงระดับน้ำตาลในเลือดของกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสด และกลุ่มที่ไม่ได้รับพริกขี้หนูสด โดยวิธีทดสอบ OGTT ของอาสาสมัครคนที่ 5



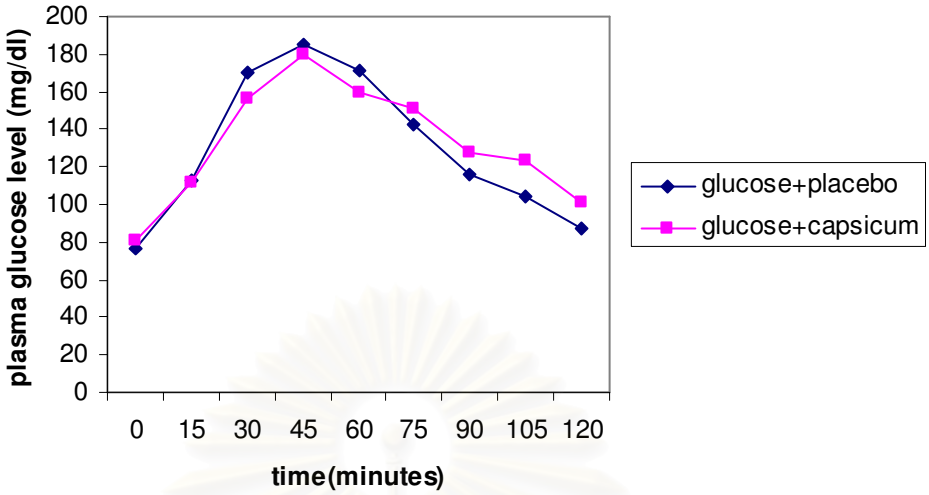
รูปที่ 19 แสดงระดับน้ำตาลในเลือดของกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสด และกลุ่มที่ไม่ได้รับพริกขี้หนูสด โดยวิธีทดสอบ OGTT ของอาสาสมัครคนที่ 6



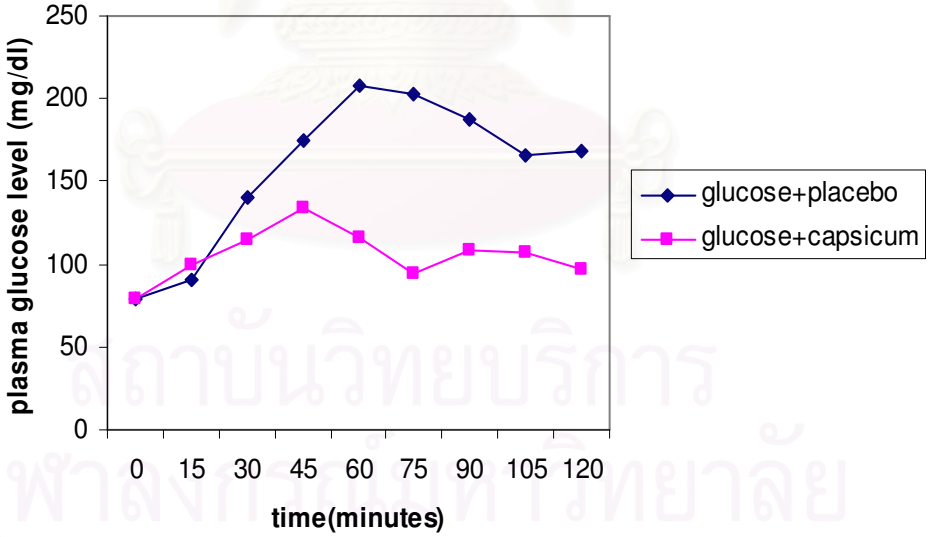
รูปที่ 20 แสดงระดับน้ำตาลในเลือดของกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสด และกลุ่มที่ไม่ได้รับพริกขี้หนูสด โดยวิธีทดสอบ OGTT ของอาสาสมัครคนที่ 7



รูปที่ 21 แสดงระดับน้ำตาลในเลือดของกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสด และกลุ่มที่ไม่ได้รับพริกขี้หนูสด โดยวิธีทดสอบ OGTT ของอาสาสมัครคนที่ 8

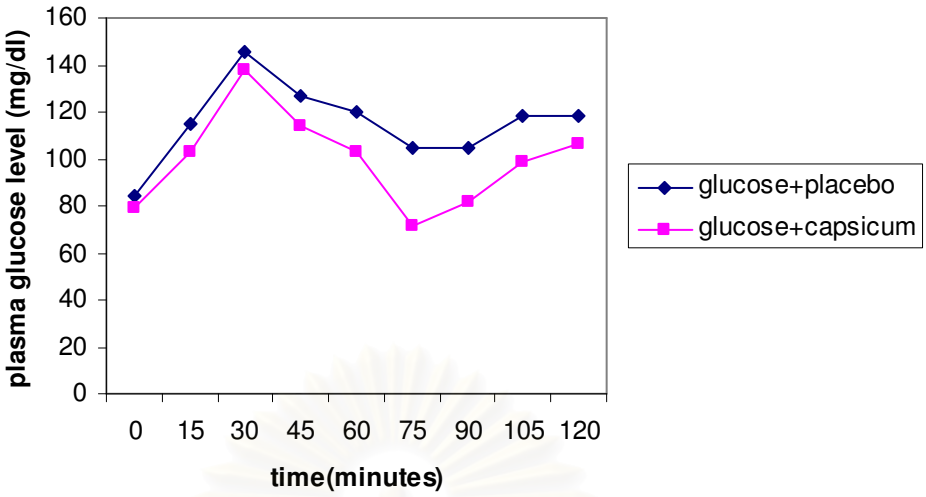


รูปที่ 22 แสดงระดับน้ำตาลในเลือดของกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสด และกลุ่มที่ไม่ได้รับพริกขี้หนูสด โดยวิธีทดสอบ OGTT ของอาสาสมัครคนที่ 9

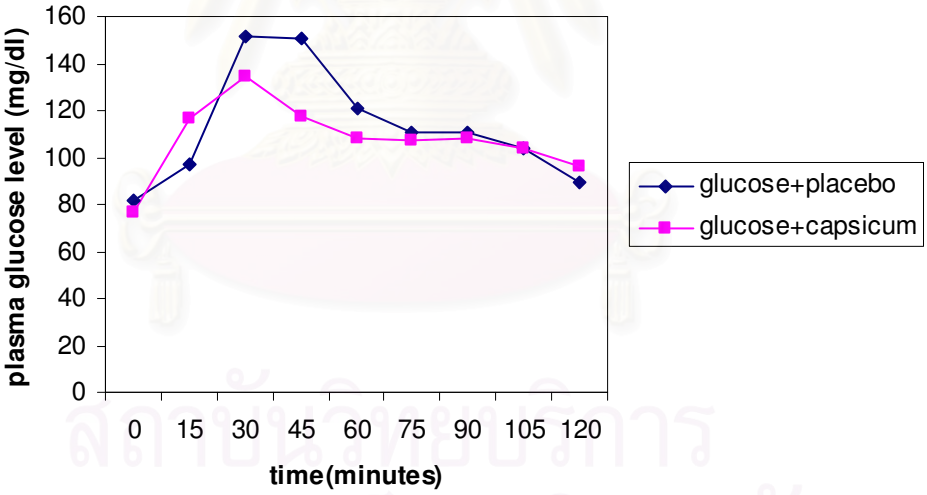


รูปที่ 23 แสดงระดับน้ำตาลในเลือดของกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสด และกลุ่มที่ไม่ได้รับพริกขี้หนูสด โดยวิธีทดสอบ OGTT ของอาสาสมัครคนที่ 10

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



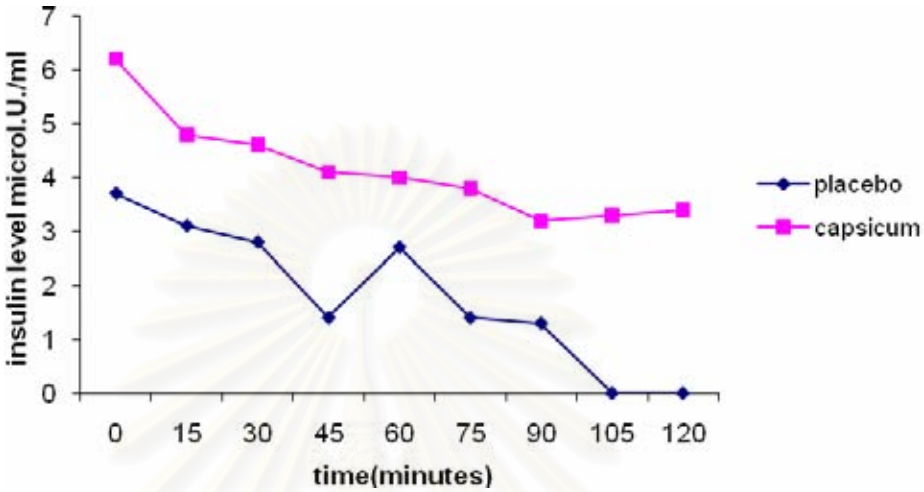
รูปที่ 24 แสดงระดับน้ำตาลในเลือดของกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสด และกลุ่มที่ไม่ได้รับพริกขี้หนูสด โดยวิธีทดสอบ OGTT ของอาสาสมัครคนที่ 11



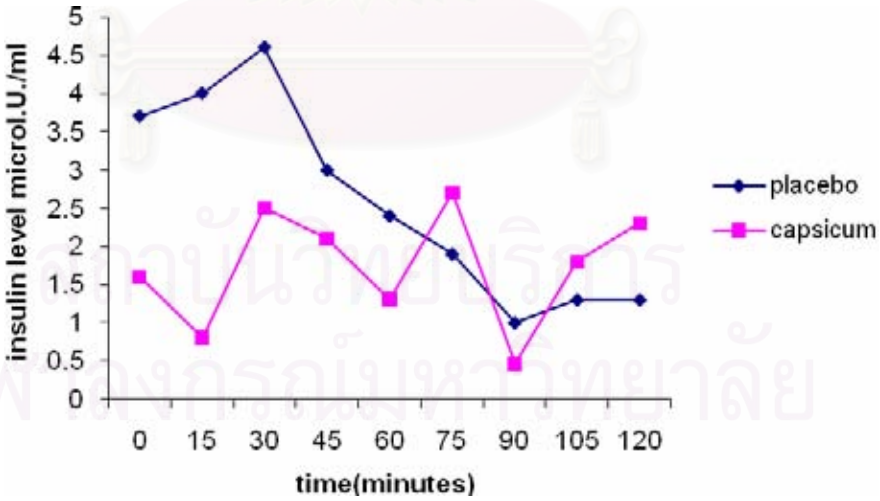
รูปที่ 25 แสดงระดับน้ำตาลในเลือดของกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสด และกลุ่มที่ไม่ได้รับพริกขี้หนูสด โดยวิธีทดสอบ OGTT ของอาสาสมัครคนที่ 12

ภาคผนวก ช

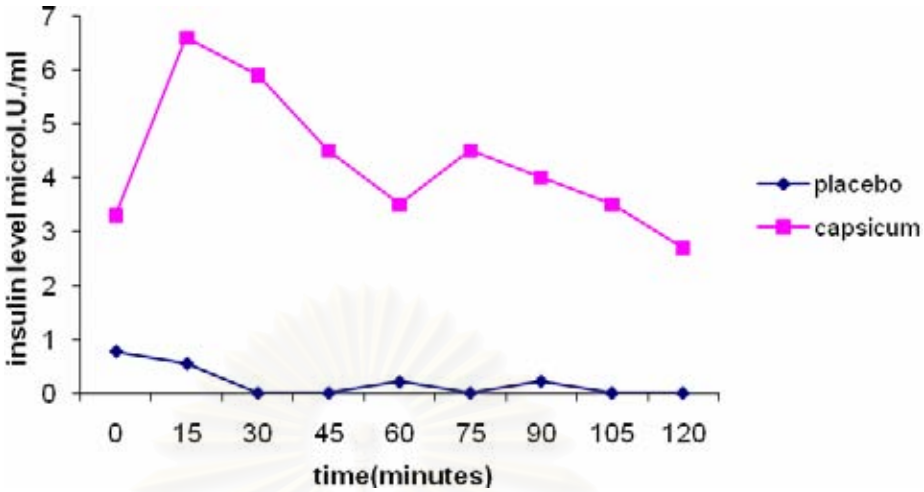
ผลแสดงระดับอินสุลินของกลุ่มที่ได้รับ placebo และกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสด



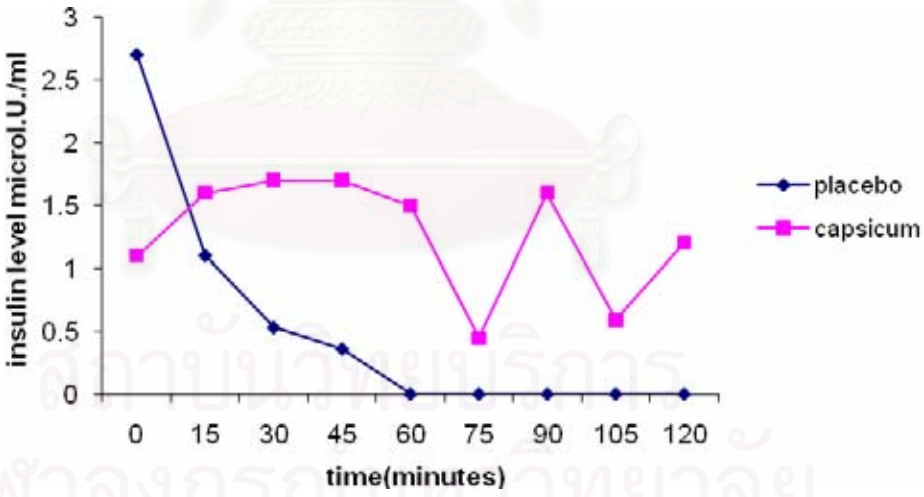
รูปที่ 26 แสดงระดับของอินสุลินในเลือดของกลุ่มที่ได้รับ placebo และกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดของอาสาสมัครคนที่ 1



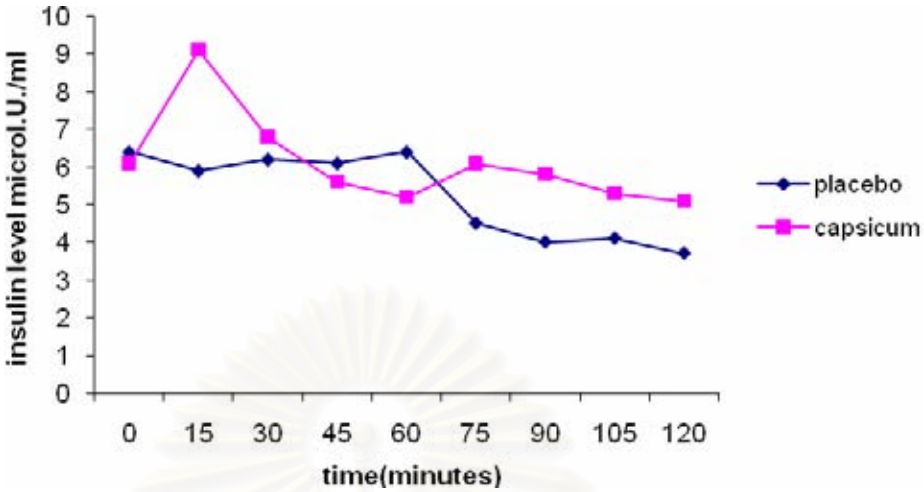
รูปที่ 27 แสดงระดับของอินสุลินในเลือดของกลุ่มที่ได้รับ placebo และกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดของอาสาสมัครคนที่ 2



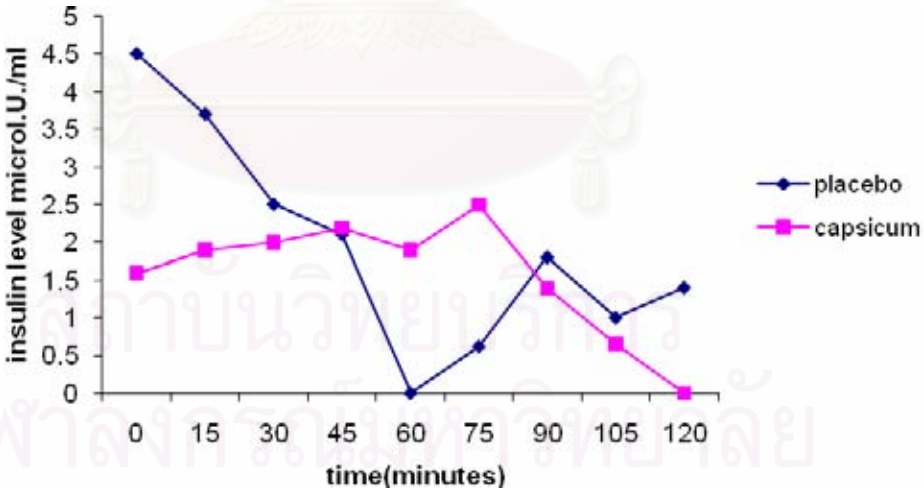
รูปที่ 28 แสดงระดับของอินสุลินในเลือดของกลุ่มที่ได้รับ placebo และกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดของอาสาสมัครคนที่ 3



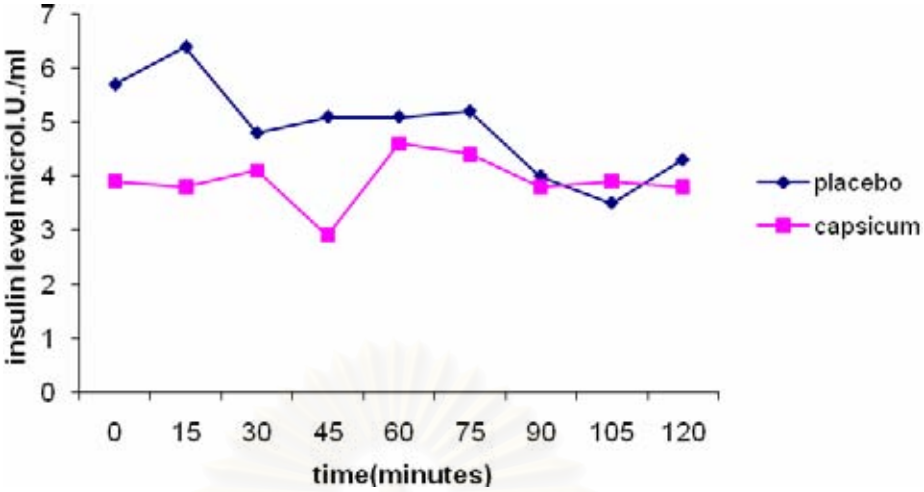
รูปที่ 29 แสดงระดับของอินสุลินในเลือดของกลุ่มที่ได้รับ placebo และกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดของอาสาสมัครคนที่ 4



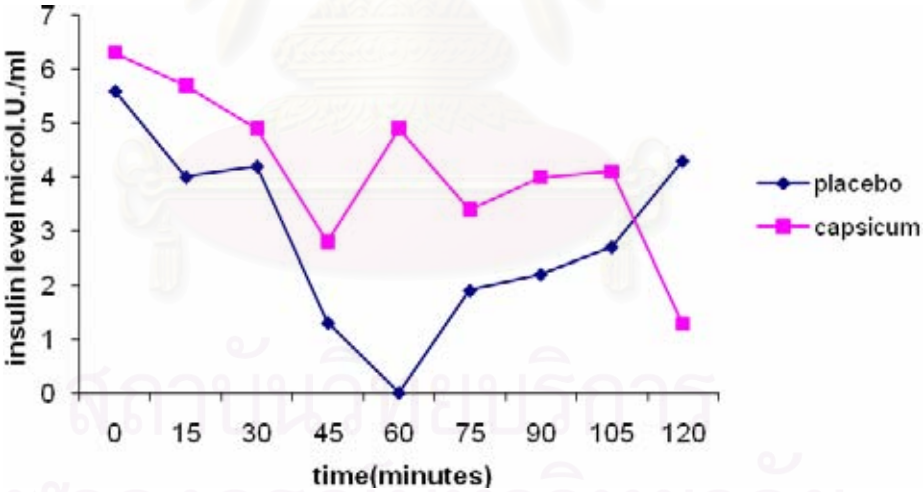
รูปที่ 30 แสดงระดับของอินสุลินในเลือดของกลุ่มที่ได้รับ placebo และกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดของอาสาสมัครคนที่ 5



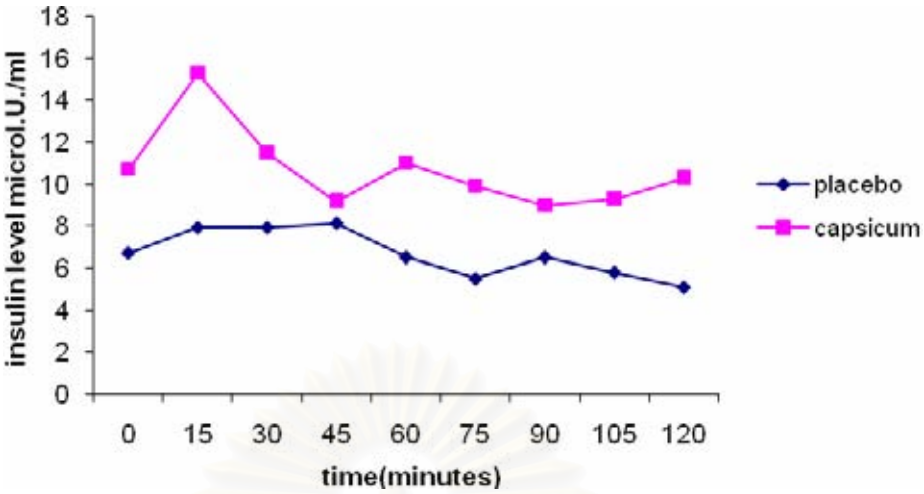
รูปที่ 31 แสดงระดับของอินสุลินในเลือดของกลุ่มที่ได้รับ placebo และกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดของอาสาสมัครคนที่ 6



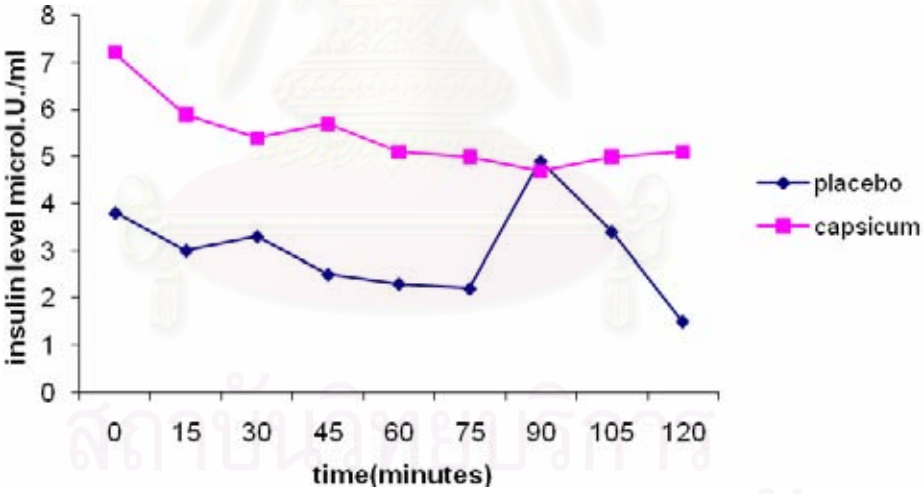
รูปที่ 32 แสดงระดับของอินสุลินในเลือดของกลุ่มที่ได้รับ placebo และกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดของอาสาสมัครคนที่ 7



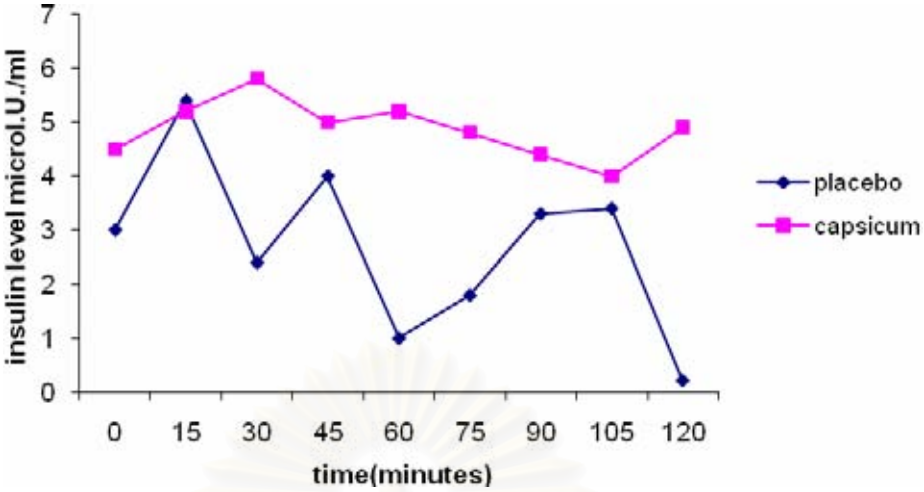
รูปที่ 33 แสดงระดับของอินสุลินในเลือดของกลุ่มที่ได้รับ placebo และกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดของอาสาสมัครคนที่ 8



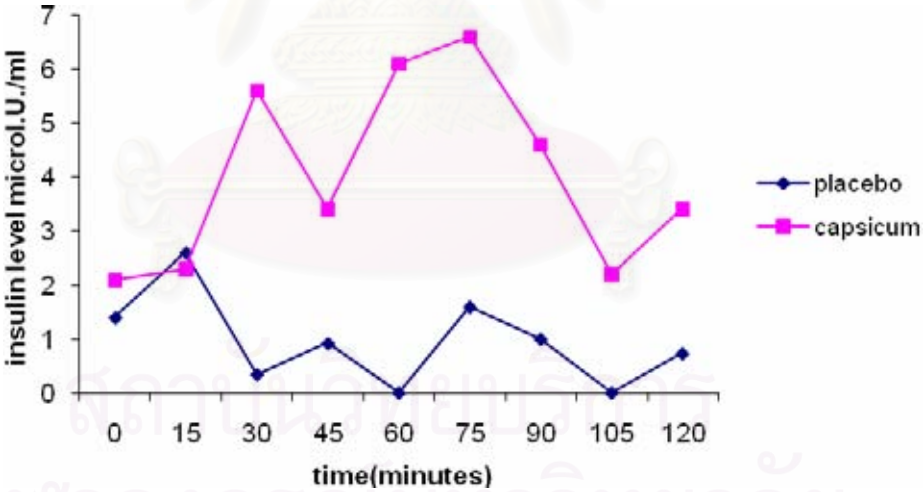
รูปที่ 34 แสดงระดับของอินสุลินในเลือดของกลุ่มที่ได้รับ placebo และกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดของอาสาสมัครคนที่ 9



รูปที่ 35 แสดงระดับของอินสุลินในเลือดของกลุ่มที่ได้รับ placebo และกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดของอาสาสมัครคนที่ 10



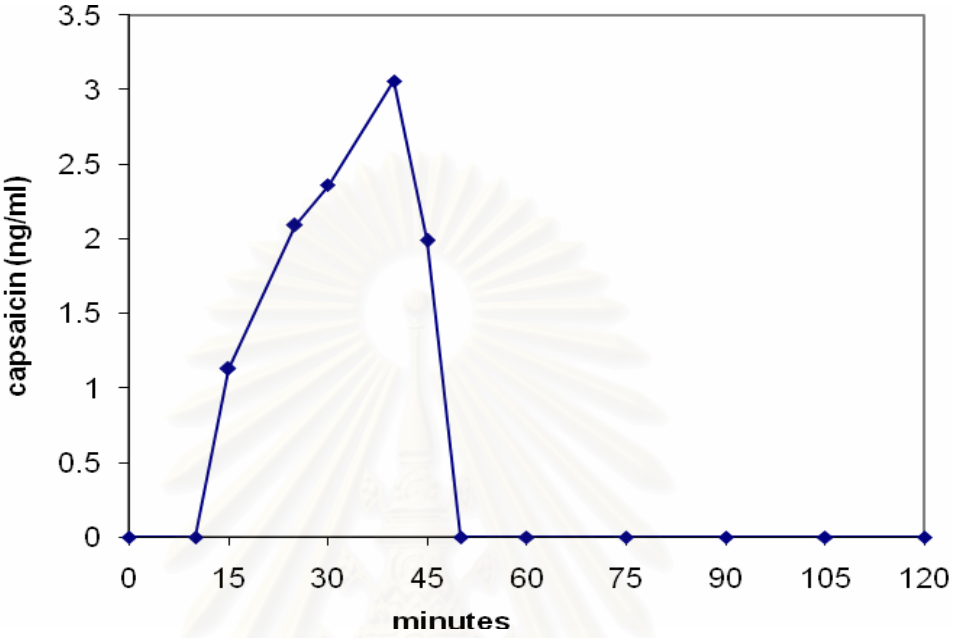
รูปที่ 36 แสดงระดับของอินสุลินในเลือดของกลุ่มที่ได้รับ placebo และกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดของอาสาสมัครคนที่ 11



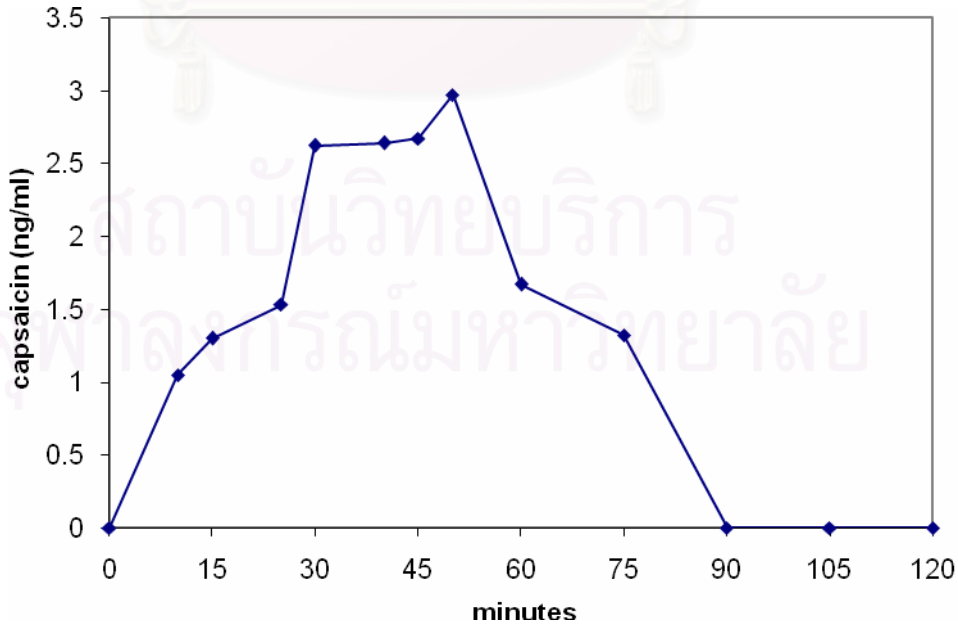
รูปที่ 37 แสดงระดับของอินสุลินในเลือดของกลุ่มที่ได้รับ placebo และกลุ่มที่ได้รับพริกขี้หนูสดของอาสาสมัครคนที่ 12

ภาคผนวก ซ

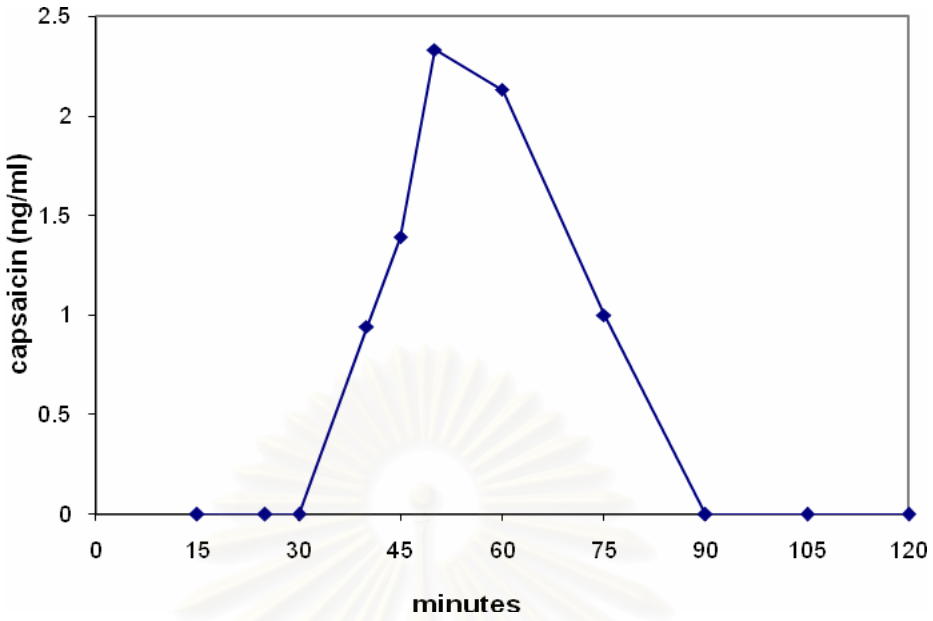
แสดงความเข้มข้นของ capsaicin ในพลาสมาของอาสาสมัครแต่ละคน



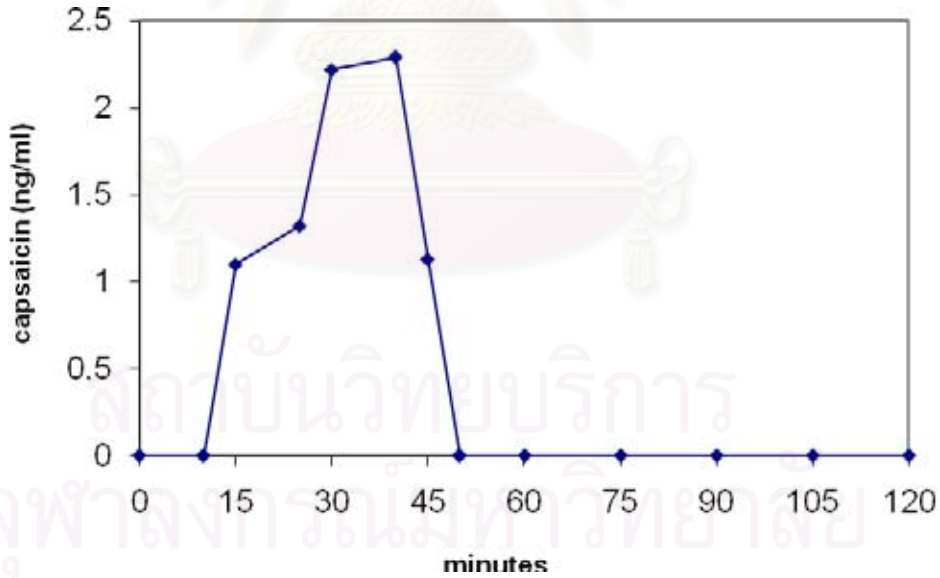
รูปที่ 38แสดงความเข้มข้นของ capsaicin ในพลาสมาของอาสาสมัครคนที่ 1



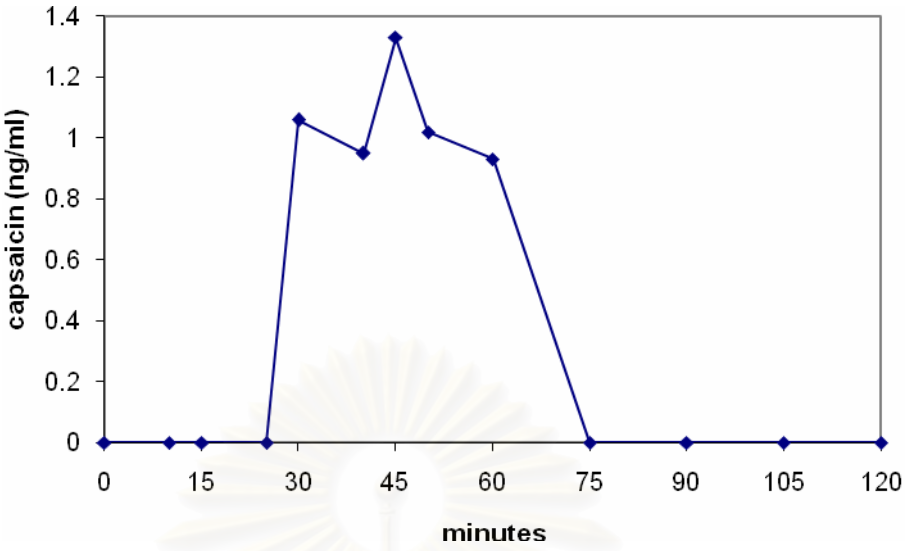
รูปที่ 39 แสดงความเข้มข้นของ capsaicin ในพลาสมาของอาสาสมัครคนที่ 2



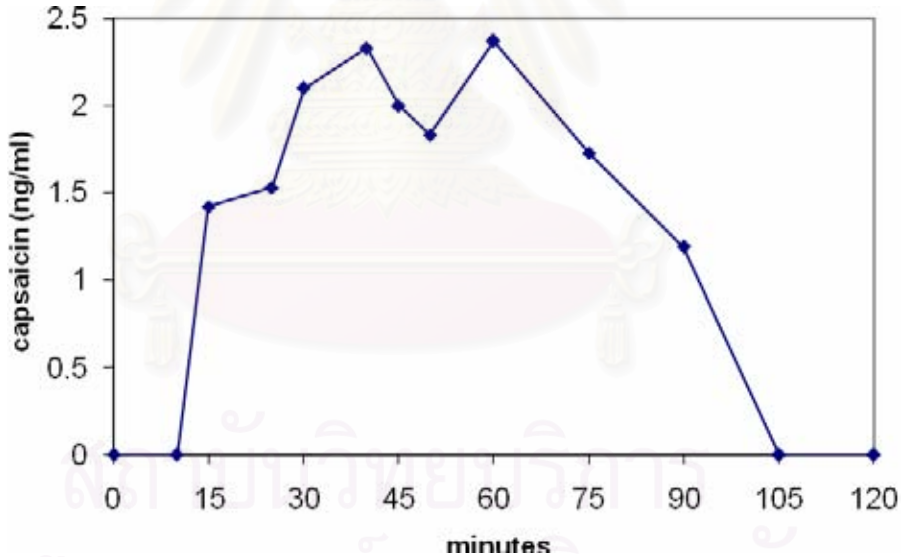
รูปที่ 40 แสดงความเข้มข้นของ capsaicin ในพลาสมาของอาสาสมัครคนที่ 3



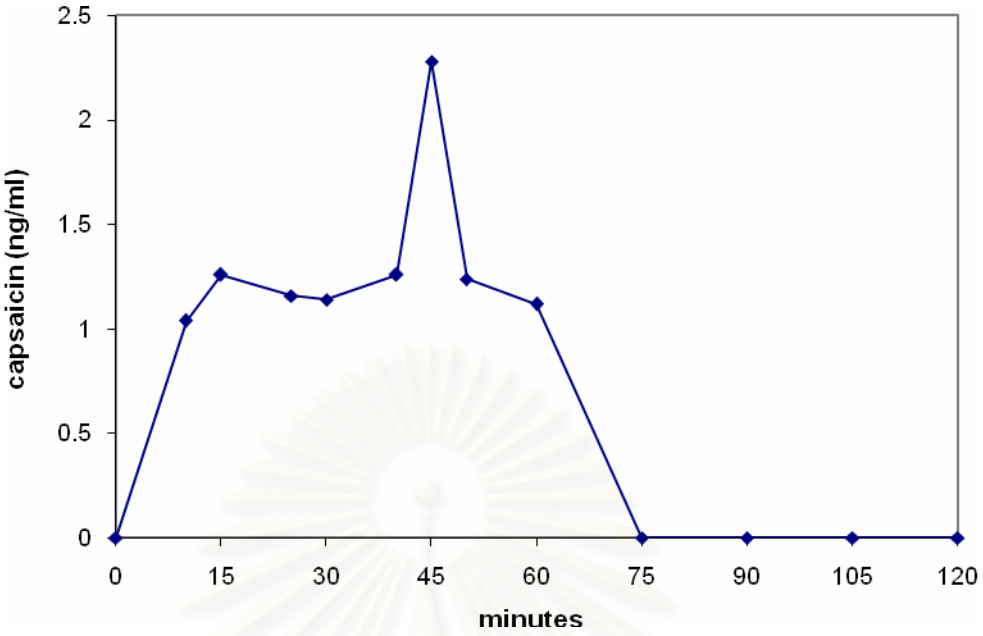
รูปที่ 41 แสดงความเข้มข้นของ capsaicin ในพลาสมาของอาสาสมัครคนที่ 4



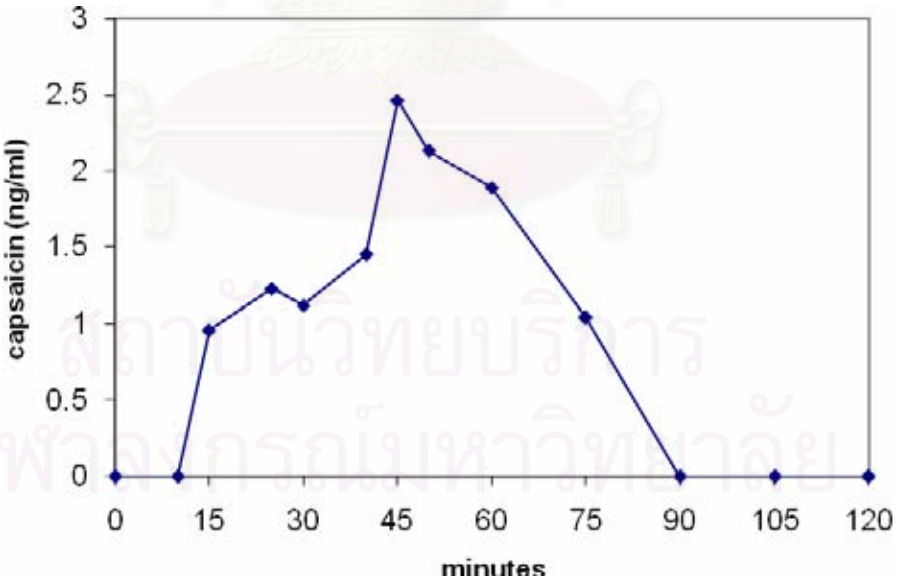
รูปที่ 42 แสดงความเข้มข้นของ capsaicin ในพลาสมาของอาสาสมัครคนที่ 5



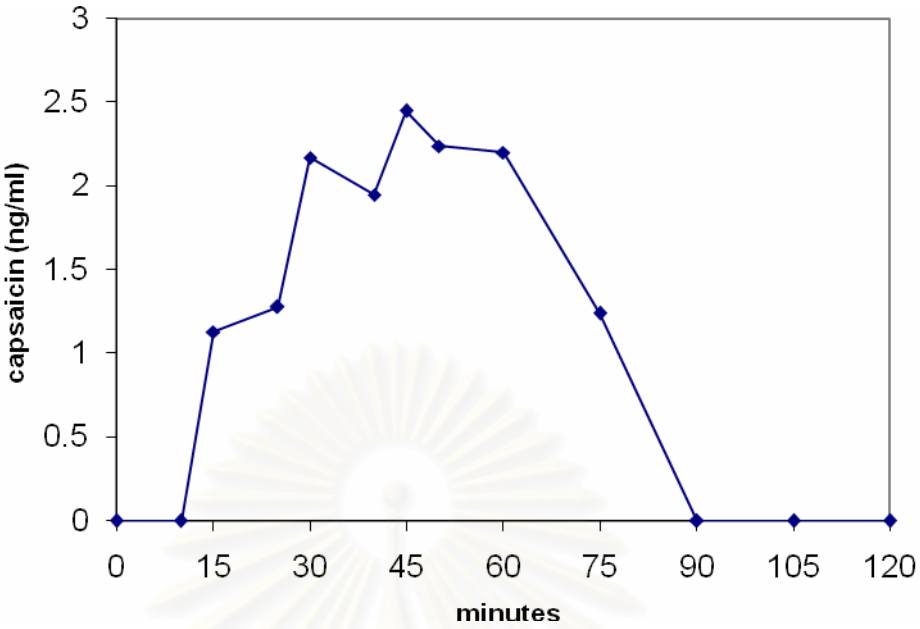
รูปที่ 43 แสดงความเข้มข้นของ capsaicin ในพลาสมาของอาสาสมัครคนที่ 6



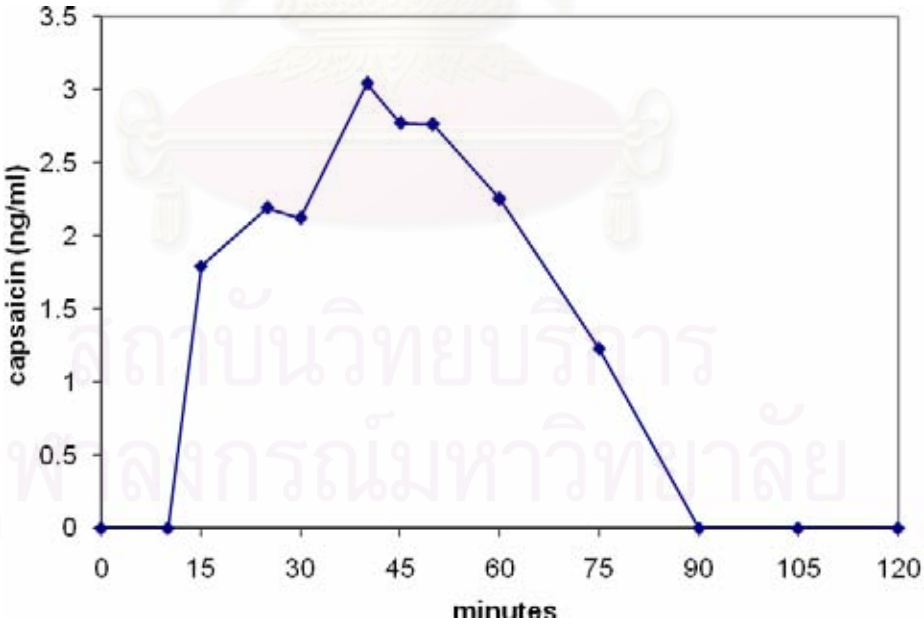
รูปที่ 44 แสดงความเข้มข้นของ capsaicin ในพลาสมาของอาสาสมัครคนที่ 7



รูปที่ 45 แสดงความเข้มข้นของ capsaicin ในพลาสมาของอาสาสมัครคนที่ 8

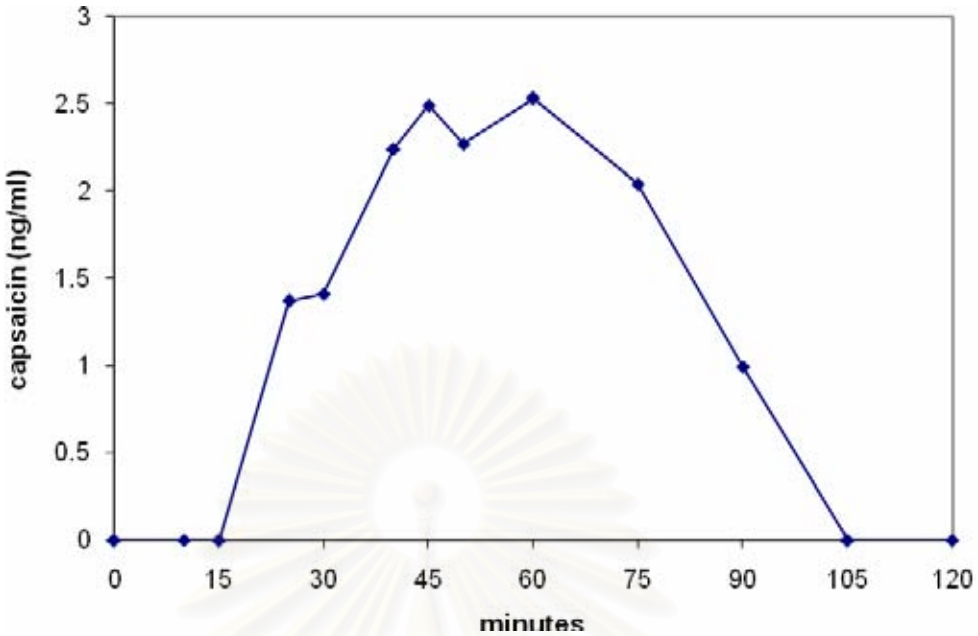


รูปที่ 46 แสดงความเข้มข้นของ capsaicin ในพลาสมาของอาสาสมัครคนที่ 9

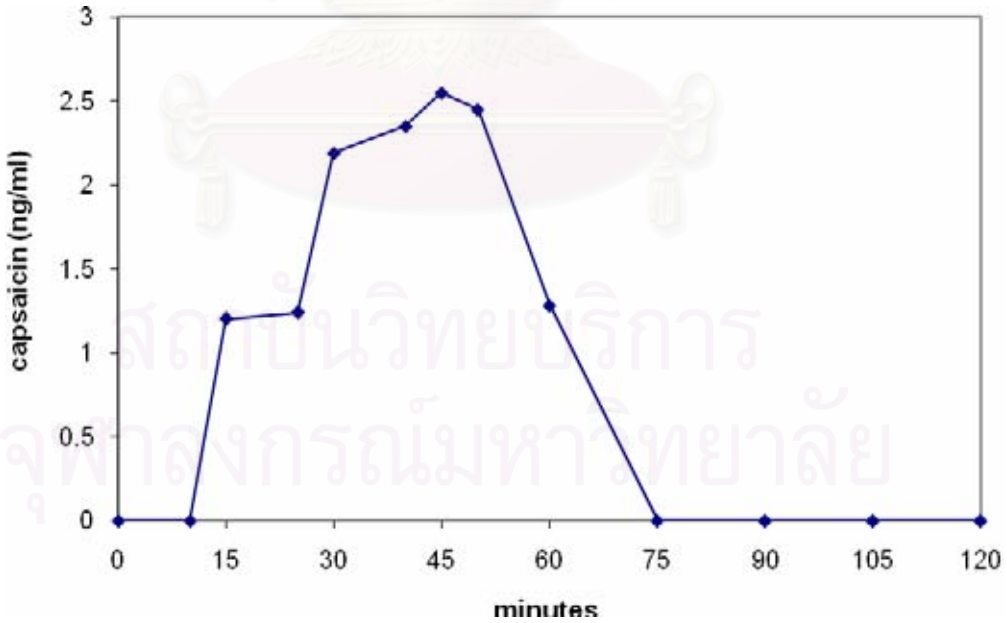


รูปที่ 47 แสดงความเข้มข้นของ capsaicin ในพลาสมาของอาสาสมัครคนที่ 10

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 48 แสดงความเข้มข้นของ capsaicin ในพลาสมาของอาสาสมัครคนที่ 11



รูปที่ 49 แสดงความเข้มข้นของ capsaicin ในพลาสมาของอาสาสมัครคนที่ 12

ภาคผนวก ฌ

ระดับ capsaicin ในเลือดของอาสาสมัคร

Subject No.	Capsaicin level (ng/ml)											
	10min	15min	25min	30min	40min	45min	50min	60min	75min	90min	105min	120min
1	<LLOQ	1.13	2.09	2.36	3.06	1.99	<LLOQ	<LLOQ	<LLOQ	<LLOQ	<LLOQ	<LLOQ
2	1.05	1.30	1.53	2.62	2.64	2.67	2.97	1.67	1.32	<LLOQ	<LLOQ	<LLOQ
3	<LLOQ	<LLOQ	<LLOQ	<LLOQ	0.94	1.39	2.33	2.13	1	<LLOQ	<LLOQ	<LLOQ
4	<LLOQ	1.10	1.32	2.22	2.29	1.13	<LLOQ	<LLOQ	<LLOQ	<LLOQ	<LLOQ	<LLOQ
5	<LLOQ	<LLOQ	<LLOQ	1.06	0.95	1.33	1.02	0.93	<LLOQ	<LLOQ	<LLOQ	<LLOQ
6	<LLOQ	1.42	1.53	2.10	2.33	2	1.83	2.37	1.73	1.19	<LLOQ	<LLOQ
7	1.04	1.26	1.16	1.14	1.26	2.28	1.24	1.12	<LLOQ	<LLOQ	<LLOQ	<LLOQ
8	<LLOQ	0.96	1.23	1.12	1.45	2.46	2.13	1.89	1.04	<LLOQ	<LLOQ	<LLOQ
9	<LLOQ	1.13	1.28	2.17	1.95	2.45	2.24	2.20	1.24	<LLOQ	<LLOQ	<LLOQ
10	<LLOQ	1.79	2.19	2.12	3.04	2.77	2.76	2.25	1.23	<LLOQ	<LLOQ	<LLOQ
11	<LLOQ	<LLOQ	1.37	1.41	2.24	2.49	2.27	2.53	2.04	0.99	<LLOQ	<LLOQ
12	<LLOQ	1.20	1.24	2.19	2.35	2.55	2.45	1.28	<LLOQ	<LLOQ	<LLOQ	<LLOQ
Mean	1.05	1.25	1.49	1.86	2.04	2.13	2.12	1.84	1.43	1.09	<LLOQ	<LLOQ
SD	0.01	0.24	0.36	0.57	0.74	0.56	0.61	0.56	0.37	0.14	N/A	N/A

ภาคผนวก ญ

การคำนวณหาค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์

1. พื้นที่ใต้กราฟ (Area under the curve, AUC)

การคำนวณหาค่า $AUC_{0-\infty}$ โดย trapezoidal rule คำนวณได้จากสูตร

$$AUC_{0-\infty} = AUC_{0-t} + AUC_{t-\infty}$$

AUC_{0-t} = พื้นที่สามเหลี่ยมและพื้นที่สี่เหลี่ยมคางหมู ที่ได้จากการแบ่งพื้นที่ภายใต้เส้นกราฟ ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของยาในพลาสมากับเวลาออกเป็นส่วนๆ แล้วนำพื้นที่ทั้งหมดที่คำนวณได้ตั้งแต่เวลา 0-t มารวมกันจะได้เป็น AUC_{0-t}

$AUC_{t-\infty} = C_t/K_{el}$

C_t = ความเข้มข้นที่เวลา t (เวลาในครั้งสุดท้ายที่เก็บตัวอย่างเลือด)

K_{el} = ค่าคงที่อัตราการกำจัดยา (elimination rate constant) คำนวณจากความชันกราฟ

2. ค่าครึ่งชีวิต (Half life, $t_{1/2}$)

ค่าครึ่งชีวิตคือ ระยะเวลาที่ต้องการในการลดระดับความเข้มข้นของยาในพลาสมาลงครึ่งหนึ่ง ซึ่งสามารถคำนวณได้จากสูตร

$$t_{1/2} = 0.693/ K_{el}$$

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ฎ

การตรวจวิเคราะห์ระดับกลูโคสในพลาสมา

พลาสมาที่ได้จะทำการวัดโดยวิธี enzymatic method เมื่อได้ตัวอย่างพลาสมาจะถูกเก็บโดยการใส่ glycolysis inhibitor, sodium fluoride และ anti coagulant โดยเอนไซม์ glucose oxidase (GOD) จะเปลี่ยนแปลงกลูโคสให้ได้เป็น gluculonic acid และ hydrogen peroxide ซึ่ง hydrogen peroxide ที่เกิดขึ้นจะทำปฏิกริยาต่อกับ 4-aminoantipyrine และ 4-hydroxybenzoic acid โดยอาศัยเอนไซม์ peroxidase (POD) ได้เป็น N-(4-antipyryl)-p-benzoquinone imine ซึ่งจำนวนของ quinoneimine dye ที่เกิดจะมีค่าเท่ากับจำนวนของกลูโคส ซึ่งความเข้มข้นของ quinoneimine dye ที่เกิดขึ้นจะถูกวัดโดย spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 510 nm. จึงนำค่าที่ได้มาแปลผล

การตรวจวิเคราะห์อินสุลินโดยเครื่อง Elecsys 2010/1010

เป็นการวิเคราะห์โดยหลักการ sandwich principle ใช้เวลาทั้งหมด 18 นาที โดยนำซีรั่มที่ได้มาตรวจวัดโดย อินสุลินในตัวอย่างซีรั่ม จะทำปฏิกริยากับโมโนโคลนอลแอนติบอดีต่ออินสุลินที่ติดฉลากด้วย ไบโอติน (anti-Insulin monoclonal antibody-biotin) และโมโนโคลนอลแอนติบอดีต่ออินสุลินที่ติดฉลากด้วย สารประกอบ ruthenium (anti-Insulin monoclonal antibody-ruthenium complex) เกิดเป็น immune complex เมื่อเติม streptavidin-coated microparticles ลงไป immune complex จะไปเกาะที่ streptavidin-coated microparticles (solid phase) โดยปฏิกริยาของ biotin และ streptavidin ส่วนผสมทั้งหมดจะถูกดูดเข้าไปในหลอดวัด (Photo multiplier tube) โดย microparticles ที่มี immune complex เกาะอยู่จะถูกแม่เหล็กจับไปเกาะที่แผ่น electrode สารที่ไม่เกิดปฏิกริยาจะถูกแยกออกด้วย ProCell เมื่อกระแสไฟฟ้าผ่าน electrode จะทำให้เกิด Chemiluminescent emission เครื่อง Elecsys 2010/1010 จะคำนวณผลให้โดยอัตโนมัติ

ภาคผนวก ฏ

วิเคราะห์ปริมาณ capsaicin ในพริก (สด) ด้วย HPLC May 26, 2007

<u>วิธีการเตรียมตัวอย่างสารละลายสำหรับวิเคราะห์</u>

1. ชั่งน้ำหนักแล้วนำมาบดด้วยโกร่งจนละเอียดจากนั้นละลายด้วย MeOH ปริมาณ 5 มล นำไป sonicate 15 นาที จากนั้นตั้งทิ้งไว้ 15 นาที
2. นำสารละลายส่วนใสจากข้อ 1. มา 100 ไมโครลิตร ละลายด้วย MeOH 900 ไมโครลิตร
3. นำสารละลายข้อ 1 กรองด้วย nylon syringe filter ขนาด 0.45 ไมครอน
4. นำไปวิเคราะห์ด้วย HPLC

ตัวอย่าง	น้ำหนัก(กรัม)	ปริมาณ capsaicin (มค.ก./มล.)	มก. ใน 5 มล.
1	1.39455	145.21	7.2605
2	1.41743	155.88	7.794
3	1.4641	155.11	7.7555

ปริมาณ capsaicin ต่อพริกขี้หนูสด 5 กรัม (มิลลิกรัม)

26

27.5

26.5

ปริมาณ capsaicin ต่อพริกขี้หนูสด 5 กรัม เฉลี่ย 26.6 มิลลิกรัม

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นายกมล ไชยสิทธิ์ เกิดวันที่ 17 กันยายน 2522 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี จากภาควิชาโภชนวิทยา คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ปีการศึกษา 2545 และ เข้าศึกษาต่อ สหสาขาวิชาเภสัชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยเมื่อปี 2547

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย