รหัสโครงการ IRD3-305-49-24-01

รายงานการวิจัย

ความเป็นไปได้ในการใช้สมุนไพรไทยเป็นยาแก้ไขอาการหย่อนสมรรถภาพในชาย

(Possibility of using Thai herbal medicine to correct male erectile dysfunction)

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. มาโนชญ์ สุธีรวัฒนานนท์

สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร

สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผู้ร่วมวิจัย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชัยณรงค์ โตจรัส

ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากกองทุนสนับสนุนการวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี งบประมาณ พ.ศ. 2549

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

พฤศจิกายน 2552

บทคัดย่อ

อาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศมักพบเสมอในชายสูงอายุ ผู้ป่วยมีอาการเล็กน้อยจนถึงรุนแรง ซึ่งก่อให้เกิดความหงุดหงิดไม่พอใจในกิจกรรมทางเพศ และนำมาซึ่งการหย่าร้างในที่สุด ตำรับยาสมุนไพรไทยที่อ้างสรรพคุณด้านการแก้ไขอาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศในชายมีจำนวนมาก แต่ไม่มีรายงานการศึกษาอย่างเป็นระบบทางด้านวิทยาศาสตร์ ดังนั้นจึงคัดเลือกตำรับยาสมุนไพร 4 ตำรับมาทำการทดสอบ โดยนำมาสกัดด้วยน้ำ และเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 60 โดยปริมาตร จากนั้นศึกษาประสิทธิภาพในการคลายกล้ามเนื้อเรียบในแกนองคชาตของหนูเพศผู้สายพันธุ์ Sprague-Dawley จากการวิเคราะห์ข้อมูลพบว่าสารสกัดจากตำรับ 3 ให้ผลดีที่สุด เมื่อทดสอบความเป็นพิษแบบเฉียบพลันและแบบเรื้อรัง พบว่าหนูที่ได้รับยาไม่มีพยาธิสภาพแตกต่างจากกลุ่มควบคุม นอกจากนี้หนูที่ได้รับยาสมุนไพรมีความสนใจทางเพศสูงกว่าหนูกลุ่มควบคุม และมีค่า ICP และความเข้มข้นของอสุจิสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อหนูได้รับยานานติดต่อกัน 6 เดือน จะทำให้หนูคงความหนุ่มไว้ได้ แต่หนูที่ไม่ได้รับยาจะแสดงอาการเป็นหนูแก่ปกติ สำหรับหนูแก่ที่มีอายุ 27 เดือน เมื่อได้รับยานาน 3 เดือนจะมีค่า ICP และพฤติกรรมทางเพศใกล้เคียงกับหนูหนุ่มที่ไม่ได้รับยา

Abstract

Erectile dysfunction or ED is a common occurrence found in aging males. Sufferers may have symptoms ranging from mild to severe, which can cause frustration, unsatisfied-sexual activity, and divorce. Some traditional Thai medicine that has claimed to improve male sex drive and libido may help relieve the ED symptoms. However, none are proven scientifically. Based on this knowledge, four formulas of traditional Thai medicine were selected for this study. Each formula was extracted with water or 60% ethanol. Resulting extracts were concentrated, freeze-dried, and kept at room temperature in a controlled humidity until used. The effects of extracts on cavernosal smooth muscle tone in *in vitro* was investigated. From EC 50, the alcoholic extract of formula no. 3 effectively relaxed the cavernosal smooth muscle of male Sprague-Dawley rats. Rats fed herbal medicine extract did not show significant differences from the control in both acute and chronic toxicity studies. Moreover, rats fed herbal medicine showed more sexually active behavior and had significantly higher intracavernous pressure (ICP) and sperm concentration than the control. The rats fed the no. 3 herbal medicine extract for 6 months appeared young, active, and healthy whereas rats in the control group showed significant signs of aging. Old rats (27 months) fed the no. 3 herbal medicine extract for 3 months were sexually active and had ICP the same level as the normal young rats.

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัย "ความเป็นไปได้ในการใช้สมุนไพรไทยเป็นยาแก้ไขอาการไร้สมรรถภาพในชาย" ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2549 คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีที่ให้การสนับสนุนงบประมาณในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ ขอขอบคุณศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีที่ให้การสนับสนุนด้านอุปกรณ์ เครื่องมือ และห้องปฏิบัติการในการดำเนินการวิจัย โดยเฉพาะอย่างยิ่งบุคคลากรสังกัดศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 1 และ 3 ที่มีส่วนช่วยอำนวยความสะดวกในการดำเนินงาน และขอขอบคุณพนักงานธุรการ และเจ้าหน้าบริหารงานทั่วไป สถานวิจัยและพัฒนา สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร ที่ช่วยดูแลเอกสารโครงการตลอดระยะเวลาดำเนินงานวิจัยด้วยดี

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ (ภาษาไทย)..... ก

บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ)..... ข

กิตติกรรมประกาศ..... ค

สารบัญ..... ง

สารบัญตาราง..... ช

สารบัญภาพ..... ญ

บทที่

1. บทนำ..... 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา..... 1

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย..... 3

1.3 ขอบเขตของการวิจัย..... 3

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย..... 3

2. ปริทรรศน์วรรณกรรมและงานวิจัย..... 4

2.1 กายวิภาคและจุลกายวิภาคขององคชาต..... 4

2.2 การแข็งตัวขององคชาต..... 7

2.3 ลักษณะของเซลล์อสุจิ..... 10

2.4 กระบวนการสร้างเซลล์อสุจิ (spermatogenesis)..... 11

2.5 การปฏิสนธิ (fertilization)..... 12

2.6 อาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศ (Impotence or Erectile dysfunction)..... 15

2.6.1 ความหมาย..... 15

2.6.2 สาเหตุและปัจจัยเสี่ยงต่อเกิดอาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศ..... 15

2.7 การรักษาอาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศ..... 18

2.8 การใช้สมุนไพรในการรักษาอาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศ..... 21

3. วิธีการดำเนินการวิจัย..... 25

3.1 การเตรียมตัวอย่างสมุนไพร..... 25

3.2 การทดลองวิธีการสกัดสมุนไพร..... 25

3.3 การสกัดสมุนไพร..... 26

3.4 สัตว์ทดลอง..... 27

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.5 การคัดกรองสารสกัดสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบในองคชาต 27
3.6 การศึกษาพิษแบบเฉียบพลันของสมุนไพรไทย (acute toxicity) 28
3.7 การศึกษาผลของสมุนไพรไทยในสัตว์ทดลองติดต่อกันนาน 14 วัน 29
3.8 การศึกษาผลของสมุนไพรไทยในสัตว์ทดลองติดต่อกันนาน 3 เดือน 30
3.9 การศึกษาผลของสมุนไพรไทยในสัตว์ทดลองติดต่อกันนาน 6 เดือน (chronic toxicity) 31
3.10 การวัดความดันเลือดในองชาต และความดันเลือดของร่างกายของสัตว์ทดลอง 32
3.11 การทดสอบพฤติกรรมทางเพศของสัตว์ทดลอง (sexual behavior) 33
3.12 การนับจำนวนเซลล์อสุจิ (sperm count) 33
3.13 การศึกษาการเคลื่อนไหวของเซลล์อสุจิ (sperm motility test) 33
3.14 การทดสอบผลทางเคมีคลินิก 34
3.15 การตรวจพยาธิสภาพ (histopathology) 34
3.16 การทดสอบอายุการเก็บของสารสกัดสมุนไพรตำรับที่ 3 สกัดด้วยเอทานอล 34
3.17 การวิเคราะห์เชิงคุณภาพของสารสเตียรอยด์ในสารสกัดสมุนไพร 36
4. ผลการทดลองและวิจารณ์ผล 38
4.1 ตัวอย่างสมุนไพร 38
4.2 การสกัดสมุนไพร 38
4.3 การคัดกรองสารสกัดสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบในองคชาติ 41
4.4 การศึกษาพิษแบบเฉียบพลันของสมุนไพรไทย (acute toxicity) 46
4.5 การศึกษาผลของสมุนไพรไทยในสัตว์ทดลองติดต่อกันนาน 14 วัน 47
4.5.1 ผลของสารสกัดสมุนไพรต่อพฤติกรรมทางเพศ 47
4.5.2 ผลของสารสกัดสมุนไพรต่อแรงดันเลือดในองคชาต 49
4.5.3 ผลของสารสกัดสมุนไพรต่อน้ำหนักของอวัยวะที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์ 50
4.6 การศึกษาผลของสมุนไพรไทยในสัตว์ทดลองติดต่อกันนาน 3 เดือน 51

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.6.1 ผลของสารสกัดสมุนไพรต่อพฤติกรรมทางเพศ..... 51
4.6.2 ผลของสารสกัดสมุนไพรต่อแรงดันเลือดในองคชาต..... 53
4.6.3 ผลของสารสกัดสมุนไพรต่อเซลล์อสุจิ..... 53
4.6.4 ผลของสารสกัดสมุนไพรต่อน้ำหนักของอวัยวะภายในร่างกาย..... 54
4.7 การศึกษาผลของสมุนไพรไทยในสัตว์ทดลองติดต่อกันนาน 6 เดือน..... 56
4.7.1 ผลของสารสกัดสมุนไพรต่อพฤติกรรมทางเพศ..... 56
4.7.2 ผลของสารสกัดสมุนไพรต่อแรงดันเลือดในองคชาต..... 56
4.7.3 ผลของสารสกัดสมุนไพรต่อความดันเลือดของร่างกาย..... 58
4.7.4 ผลของสารสกัดสมุนไพรต่อเซลล์อสุจิ..... 59
4.7.5 ผลของสารสกัดสมุนไพรต่อน้ำหนักของอวัยวะภายในร่างกาย..... 59
4.7.6 การวิเคราะห์เลือดทางเคมีคลินิก..... 61
4.7.7 การวิเคราะห์ทางพยาธิสภาพ (histopathology) ของอวัยวะภายในร่างกาย... 62
4.8 อายุการเก็บของสารสกัดสมุนไพร..... 65
4.8.1 ผลของความชื้นต่อลักษณะปรากฏของสารสกัดสมุนไพร..... 65
4.8.2 การทดสอบหาอายุการเก็บของสารสกัดสมุนไพรเบื้องต้นโดยใช้
สภาวะเร่ง..... 65
4.9 การวิเคราะห์เชิงคุณภาพของสารสเตียรอยด์ในสารสกัดสมุนไพรตำรับที่ 3..... 73
5. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ..... 75
5.1 สรุปผลการทดลอง..... 75
5.2 ข้อเสนอแนะ..... 76
เอกสารอ้างอิง..... 78
ภาคผนวก..... 83

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 อาการแทรกซ้อนที่เกิดจากยาไวอากร้าเมื่อทำการทดสอบกับอาสาสมัครจำนวน 157 คน..... 19

3.1 ค่าความชื้นสัมพัทธ์ของสารเกลืออิ่มตัวชนิดต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส..... 35

4.1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดสมุนไพรเมื่อใช้ตัวทำละลาย อุณหภูมิ และระยะเวลาต่าง ๆ.... 40

4.2 ค่าความดันเลือดในองคชาตในหนูกลุ่มควบคุมกับหนูที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรที่มีความเข้มข้น 2000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว เพียงครั้งเดียว แล้วทิ้งไว้ 14 วัน จึงวัดค่าความดันเลือด..... 47

4.3 พฤติกรรมการขึ้นคร่อมตัวเมีย การสอดอวัยวะเพศเข้าไปในช่องคลอดของหนูเพศเมีย และการหลั่งน้ำอสุจิในหนูกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้สารสกัดสมุนไพรเป็นเวลานาน 14 วัน..... 47

4.4 เปรียบเทียบระยะเวลาก่อนที่จะแสดงออกทางพฤติกรรมทางเพศต่าง ๆ ในหนูกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเป็นเวลานาน 14 วัน..... 49

4.5 เปรียบเทียบความถี่ของพฤติกรรมการขึ้นคร่อมตัวเมีย การสอดอวัยวะเพศเข้าไปในช่องคลอดของหนูเพศเมีย และการหลั่งน้ำอสุจิของหนูกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้สารสกัดสมุนไพรเป็นเวลานาน 14 วัน..... 49

4.6 ค่าความดันเลือดในองคชาต ของหนูกลุ่มควบคุมกับกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่าง ๆ นาน 14 วัน..... 50

4.7 ตารางเปรียบเทียบน้ำหนักอวัยวะต่อน้ำหนักตัวของหนูกลุ่มควบคุมกับกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่าง ๆ นาน 14 วัน..... 50

4.8 เปรียบเทียบพฤติกรรมการขึ้นคร่อมตัวเมีย การสอดอวัยวะเพศเข้าไปในช่องคลอดของหนูเพศเมีย และการหลั่งน้ำอสุจิของหนูกลุ่มควบคุม หนูที่ได้รับสารสกัดสมุนไพร และหนูที่ได้รับยาไวอากร้าเป็นเวลานาน 3 เดือน..... 52

4.9 เปรียบเทียบระยะเวลาก่อนที่จะแสดงออกทางพฤติกรรมทางเพศต่าง ๆ ของหนูกลุ่มควบคุม หนูที่ได้รับสารสกัดสมุนไพร และหนูที่ได้รับยาไวอากร้าเป็นเวลานาน 3 เดือน..... 52

4.10 เปรียบเทียบความถี่ของพฤติกรรมการขึ้นคร่อมตัวเมีย การสอดอวัยวะเพศเข้าไปในช่องคลอดของหนูเพศเมีย และการหลั่งน้ำอสุจิ ของหนูกลุ่มควบคุม หนูที่ได้รับสารสกัดสมุนไพร และหนูที่ได้รับยาไวอากร้าเป็นเวลานาน 3 เดือน..... 53

4.11 เปรียบเทียบค่าความดันเลือดในองคชาตของหนูกลุ่มควบคุม หนูที่ได้รับสารสกัดสมุนไพร และหนูที่ได้รับยาไวอากร้าเป็นเวลานาน 3 เดือน..... 54

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

4.12 เปรียบเทียบจำนวนเซลล์อสุจิของของหนูกลุ่มควบคุม หนูที่ได้รับสารสกัดสมุนไพร และหนูที่ได้รับยาไวอากร้าเป็นเวลานาน 3 เดือน 54

4.13 เปรียบเทียบความผิดปกติของเซลล์อสุจิในส่วนของหัว และส่วนหางของหนูกลุ่มควบคุม หนูที่ได้รับสารสกัดสมุนไพร และหนูที่ได้รับยาไวอากร้าเป็นเวลานาน 3 เดือน 55

4.14 เปรียบเทียบน้ำหนักอวัยวะภายในต่อน้ำหนักตัวของหนูกลุ่มควบคุม หนูที่ได้รับสารสกัดสมุนไพร และหนูที่ได้รับยาไวอากร้าเป็นเวลานาน 3 เดือน 55

4.15 เปรียบเทียบพฤติกรรมการขึ้นคร่อมตัวเมีย การสอดอวัยวะเพศเข้าไปในช่องคลอดของหนูเพศเมีย และการหลั่งน้ำอสุจิในหนูกลุ่มควบคุม และกลุ่มหนูที่ได้สารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลานาน 6 เดือน 57

4.16 เปรียบเทียบระยะเวลาก่อนที่จะแสดงออกทางพฤติกรรมทางเพศ ในหนูกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลานาน 6 เดือน 57

4.17 เปรียบเทียบความถี่ของพฤติกรรมทางเพศ ในหนูกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้สารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลานาน 6 เดือน 57

4.18 เปรียบเทียบค่าความดันเลือดในองคชาตของหนูกลุ่มควบคุม และหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลานาน 6 เดือน 58

4.19 เปรียบเทียบความดันเลือดของร่างกายหนูกลุ่มควบคุมกับหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในระยะเวลาการได้รับสารสกัดสมุนไพรที่แตกต่างกัน 58

4.20 เปรียบเทียบจำนวนเซลล์อสุจิของหนูกลุ่มควบคุม และหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลานาน 6 เดือน 60

4.21 เปรียบเทียบความผิดปกติของเซลล์อสุจิในส่วนของหัว และส่วนหางของหนูกลุ่มควบคุม และหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลานาน 6 เดือน 60

4.22 เปรียบเทียบอัตราการเคลื่อนที่ของเซลล์อสุจิของหนูกลุ่มควบคุม และหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลานาน 6 เดือน 60

4.23 เปรียบเทียบน้ำหนักอวัยวะภายในของหนูกลุ่มควบคุม และหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลานาน 6 เดือน 61

4.24 เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์เลือดทางเคมีคลินิกของหนูกลุ่มควบคุม และหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลานาน 6 เดือน 63

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

4.25 เปรียบเทียบผลทางพยาธิสภาพของอวัยวะภายในร่างกายของหนูกลุ่มควบคุม และหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลานาน 6 เดือน..... 64

4.26 ผลของอุณหภูมิ และระยะเวลาต่อปริมาณสารชนิดหนึ่งที่พบในตัวอย่างสารสกัดสมุนไพร เมื่อเทียบกับปริมาณเริ่มต้นที่มีค่าเท่ากับร้อยละ 100..... 70

4.27 ผลของความชื้นสัมพัทธ์ และระยะเวลาต่อปริมาณสารชนิดหนึ่งที่พบในตัวอย่างสารสกัดสมุนไพรเมื่อเทียบกับปริมาณเริ่มต้นที่มีค่าเท่ากับร้อยละ 100..... 73

1ผ ตัวอย่างผลการตรวจทางโลหิตของสัตว์ทดลองจากสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล..... 84

2ผ ตัวอย่างผลการตรวจหาค่าทางเคมีคลินิคในซีรั่มของสัตว์ทดลองจากสำนักสัตว์ทดลอง แห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล..... 85

สารบัญภาพ

รูปที่ **หน้า**

2.1 ลักษณะกายวิภาคการตัดตามขวางขององคชาต..... 4

2.2 ลักษณะของโพรงเล็ก ๆ (sinusoids) ใน corpus cavernosum..... 5

2.3 ภาพตัดขวางขององคชาต และสรีรวิทยาขององคชาตในสภาวะปกติและสภาวะแข็งตัว..... 9

2.4 กลไกการเกิดการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบเมื่อมีไนตริกออกไซด์เป็น primary messenger และ cGMP เป็น secondary messenger..... 9

2.5 ลักษณะของอสุจิ..... 10

2.6 กระบวนการสร้างเซลล์อสุจิ..... 12

2.7 กระบวนการ spermiogenesis..... 13

2.8 ขั้นตอนการปฏิสนธิ..... 14

2.9 กลไกการทำงานของไวอากร้า..... 19

2.10 ลักษณะผล ใบ ต้น และรากของโสม..... 24

3.1 แผนผังการคัดกรองสารสกัดสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบในองคชาต..... 28

3.2 แผนผังการศึกษาพิษแบบเฉียบพลันของสมุนไพรไทย..... 29

3.3 แผนผังการศึกษาผลของสมุนไพรไทยในสัตว์ทดลองติดต่อกันนาน 14 วัน..... 30

3.4 แผนผังการศึกษาผลของสมุนไพรไทยในสัตว์ทดลองติดต่อกันนาน 3 เดือน..... 31

3.5 แผนผังการศึกษาผลของสมุนไพรไทยในสัตว์ทดลองติดต่อกันนาน 6 เดือน..... 32

4.1 ลักษณะผงสมุนไพร..... 38

4.2 การเปรียบเทียบการออกฤทธิ์ของสารสกัดด้วยเอทานอลทั้ง 4 ชนิดที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบในองคชาต..... 41

4.3 กราฟแสดงการเปรียบเทียบการออกฤทธิ์ของสารสกัดด้วยน้ำทั้ง 4 ชนิดที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบในองคชาต..... 42

4.4 กราฟแสดงการเปรียบเทียบการออกฤทธิ์ของสารสกัดด้วย Ethanol 3 เทียบกับ Water 2 ที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบในองคชาต..... 43

4.5 กราฟแสดงการเปรียบเทียบการออกฤทธิ์ของสารสกัดกวาวเครือแดง (K) Ethanol 3 สารสกัด Water 2 โดยผสมกับสารสกัดกวาวเครือแดง (K) ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ..... 44

สารบัญภาพ (ต่อ)

รูปที่ **หน้า**

4.6 กราฟแสดงการเปรียบเทียบการออกฤทธิ์ของสารสกัด Ethanol 3 กับสารสกัด Ethanol 3 ผสมด้วยสารสกัดกวาวเครือแดง (K) ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบในองคชาต..... 45

4.7 กราฟแสดงการเปรียบเทียบการออกฤทธิ์ของสารสกัด Water 2 กับสารสกัด Water 2 ผสมด้วยสารสกัดกวาวเครือแดง (K) ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบในองคชาต..... 45

4.8 กราฟแสดงการเปรียบเทียบการออกฤทธิ์ของสาร cGMP กับ IBMX ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบในองคชาต..... 46

4.9 ลักษณะปรากฏของสารสกัดสมุนไพรตำรับที่ 3 ที่ความชื้นสัมพัทธ์ต่าง ๆ เมื่อผ่านไป 24 ชั่วโมง..... 66

4.10 ผลของความร้อนต่อสีของสารสกัดสมุนไพรเมื่อได้รับความร้อนนาน 1 เดือนที่ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 30..... 68

4.11.กราฟความสัมพันธ์ระหว่างล็อกธรรมชาติของค่าคงที่อัตราของแต่ละอุณหภูมิที่ได้จากสมการ ปฏิกิริยาเคมีอันดับศูนย์กับส่วนกลับของอุณหภูมิสัมบูรณ์..... 70

4.12 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างล็อกธรรมชาติของค่าคงที่อัตราของแต่ละอุณหภูมิที่ได้จากสมการปฏิกิริยาเคมีอันดับหนึ่งกับส่วนกลับของอุณหภูมิสัมบูรณ์..... 71

4.13 ลักษณะของสารสกัดสมุนไพรที่เก็บไว้ในความชื้นต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 1 เดือน..... 72

4.14 โครมาโทแกรมของสารมาตรฐาน prednisolone dexamethazone และ hydrocortisone และสารสกัดสมุนไพรตำรับที่ 3 วิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC..... 74

1ผ ภาพแสดงส่วนของ crus of penis ซึ่งภายในจะมีกล้ามเนื้อเรียบ (carvernosal smooth muscle) ประกอบเป็นแอ่งเลือด (sinusoid) ที่เวลามีเลือดมาคั่งจะทำให้ขนาดของอวัยวะเพศขยายใหญ่ขึ้น และเป็นบริเวณที่จะสอดเข็มเข้าไปเพื่อวัดค่าความดันในองคชาต..... 86

2ผ ภาพแสดงองคชาตของหนูแรทก่อนการกระตุ้นให้เกิดการแข็งตัว..... 86

3ผ ภาพแสดงการแข็งตัวขององคชาตเมื่อได้รับการกระตุ้นให้เกิดการแข็งตัวด้วยกระแสไฟฟ้า..... 87

4ผ ภาพแสดงค่าของความดันเลือดในองคชาต (ICP) ที่วัดได้จากเครื่อง MacLab ของหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับน้ำกลั่น นาน 6 เดือน..... 87

สารบัญภาพ (ต่อ)

รูปที่ **หน้า**

5ผ ภาพแสดงค่าของความดันเลือดในองคชาต (ICP) ที่วัดได้จากเครื่อง MacLab ของหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมนาน 6 เดือน 88

6ผ ภาพแสดงการสอดอวัยวะเพศของหนูเพศผู้เข้าไปในช่องคลอดของหนูเพศเมีย (intromission) 88

7ผ ภาพแสดงเปรียบเทียบขนาดของหนูแก่เพศผู้อายุ 2 ปี 3 เดือน น้ำหนัก 750 กรัม กับหนูเพศเมียอายุ 2 เดือน น้ำหนัก 220 กรัม 89

8ผ ภาพแสดงการสอดอวัยวะเพศของหนูแก่เพศผู้อายุ 2 ปี 3 เดือน ที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรนาน 3 เดือน เข้าไปในช่องคลอดของหนูเพศเมีย (intromission) 89

9ผ ตัวอย่างโครมาโทแกรมของสารสกัดสมุนไพรตำรับที่ 3 วิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC 90

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของงานวิจัย

ความล้มเหลวทางเพศของเพศชายแบ่งได้เป็น 3 ประเภทหลักคือ ลูกอัณฑะไม่สร้างตัวอสุจิ องคชาตไม่ยอมแข็งตัว และไม่สามารถหลั่งน้ำอสุจิได้ แต่ความล้มเหลวที่เพศชายทั่วไปพบมากที่สุดคือองคชาตไม่ยอมแข็งตัว หรือแข็งตัวไม่พอที่จะสอดใส่เข้าไปในช่องคลอด ทางการแพทย์เรียกว่าโรคหย่อนสมรรถภาพทางเพศ (Erectile Dysfunction, ED) ซึ่งหมายถึง การที่อวัยวะเพศชายไม่แข็งตัวและ/หรือแข็งตัวได้ไม่นานพอที่จะทำภารกิจจนประสบผลสำเร็จ จนเป็นที่พึงพอใจอยู่เป็นประจำหรืออย่างต่อเนื่อง (อภิชาติ กงกะนันทน์, 2546) กระบวนการแข็งตัวขององคชาตเกิดจากการกระตุ้นที่ genital organ หรือที่สมองส่วนกลางด้วยสิ่งเร้าที่ผ่านทางประสาทรับความรู้สึก เช่น เสียง กลิ่น หรือ การสัมผัส ทำให้เกิดการแข็งตัวของอวัยวะเพศโดยมีการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบส่งผลให้มีการไหลของเลือดเข้าไปในองคชาตทำให้เกิดการขยายตัวอย่างมาก และเกิดการคั่งของเลือด จึงทำให้เกิดการแข็งตัวได้ การเกิด normal erection ในคนนั้นจะเกิดจากสมดุลของการขยายตัวและการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในองคชาต แต่ในทางตรงกันข้ามก็ไม่เกิดการแข็งตัวขึ้นในภาวะที่กล้ามเนื้อเรียบในองคชาตไม่ขยายตัว

ปัจจุบันปัญหาเรื่องความบกพร่องในการแข็งตัวขององคชาตเพิ่มมากขึ้น ซึ่งเป็นปัญหาที่ได้รับความสนใจทั้งในหมู่ประชาชนทั่วไปและในวงการแพทย์ และเป็นปัญหาที่พบได้ทั่วไปในชายทั่วโลก ปัญหาความบกพร่องของการแข็งตัวขององคชาตไม่ได้เป็นปัญหาเฉพาะตัวบุคคลเท่านั้น แต่มีผลกระทบต่อครอบครัวและสังคมอีกด้วย ซึ่งจากการสำรวจพบว่าชายทั่วโลกที่มีอาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศนั้นสูงถึง 55 ล้านคน โดยพบได้ตั้งแต่วัยหนุ่ม จนถึงมากกว่า 60 ปี โดยคนเอเชียมีปัญหาถึงร้อยละ 10 ส่วนชาวอเมริกันประสบปัญหานี้ราว 20 – 30 ล้านคน โดยชายชาวอเมริกันที่อายุ 40 ปีขึ้นไปจะประสบปัญหานี้ประมาณร้อยละ 40 (ชุมศักดิ์ พฤกษาพงศ์, 2541 และ นริศ เจนวิริยะ, 2541) และจากการศึกษาระบาดวิทยาของโรค ED ในประเทศไทย พบว่าชายไทยที่มีอายุ 40-70 ปี จากจำนวนกลุ่มตัวอย่าง 1,250 คนเมื่อปี 1998 ในเขตกรุงเทพมหานคร และเขตเมืองอีก 8 จังหวัด ทั้ง 4 ภาคทั่วประเทศไทย พบว่าชายไทยที่มีอายุระหว่าง 40-70 ปีมี ED ในระดับความรุนแรงต่าง ๆ รวมกันคิดเป็นร้อยละ 37.5 (กฤษฎา รัตนโอพาร และ สมบุญ เหลืองวัฒนากิจ, 2544) และมีแนวโน้มในการเกิด ED เพิ่มมากขึ้นเรื่อย ๆ ทุกปี สาเหตุหลักที่ทำให้เกิดอาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศแบ่งออกได้เป็น 2 สาเหตุ คือ สาเหตุทางด้านร่างกาย และสาเหตุทางด้านจิตใจ สาเหตุทางด้านร่างกาย เช่น ผู้ที่ป่วยเป็นโรคเบาหวานมีอัตราเสี่ยงต่อการเกิดอาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศได้ถึงร้อยละ 75 ขณะที่ผู้ป่วยที่เป็นโรคหัวใจ และโรคความดันโลหิตสูงมีความเสี่ยงร้อยละ 64 และ 62 ตามลำดับ

เป็นต้น (ศูนย์ข้อมูลสุขภาพเพศชาย, 2549) ส่วนสาเหตุทางด้านจิตใจ เช่น ความเครียด ความกังวล รวมไปถึงภาวะซึมเศร้า ซึ่งบุคคลที่มีภาวะซึมเศร้ามีความเสี่ยงที่จะเกิดอาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศสูงถึงร้อยละ 50–90 (อนุพันธ์ ตันติวงศ์, 2544) อาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศส่งผลกระทบโดยตรงต่อจิตใจของชายที่หย่อนสมรรถภาพและคู่สมรสเป็นอย่างมาก ซึ่งส่งผลต่อความมั่นคงของครอบครัว และอาจนำไปสู่การหย่าร้างในที่สุด ผู้ที่ป่วยเป็นโรคนี้มักจะไม่ยอมรับอาการเนื่องจากรู้สึกเสียศักดิ์ศรีและอายที่จะไปพบแพทย์ ทำให้มีชีวิตอยู่ภายใต้ความกดดันและเป็นทุกข์ การรักษาผู้ป่วยกลุ่มนี้มีหลายวิธี ได้แก่ การใช้ยาฉีดเข้าที่องคชาต การใช้กระบอกสูญญากาศ การผ่าตัดโดยใช้องคชาตเทียม และการรักษาด้วยการใช้ยาสอดเข้าที่ท่อปัสสาวะ ซึ่งยาที่ใช้คือ intraurethral alprostadil หรือ MUSE® (Medicated Urethral System for Erection) การรักษาข้างต้นพบว่ามีผลข้างเคียงคือ จะพบอาการเจ็บระคายเคืองภายในท่อปัสสาวะ และการอักเสบของท่อปัสสาวะดังนั้นแนวทางการรักษาผู้ป่วยโรค ED นั้น จึงนิยมให้ยารับประทาน ซึ่งเป็นยาในกลุ่ม phosphodiesterase-5 inhibitor (PDE-5 inhibitor) เช่น sildenafil หรือ ไวอากร้า (viagra), verdanafil และ tadalafil เป็นต้น ยาที่นิยมใช้กันแพร่หลายคือไวอากร้า โดยยานี้จะทำให้กล้ามเนื้อเรียบเกิดการคลายตัวโดยผ่านการทำงานของ cGMP และไปมีผลให้อวัยวะเพศเกิดการแข็งตัวได้ แต่เนื่องจากยานี้อาจทำให้มีผล hypertensive effect เกิดขึ้นถ้าใช้ร่วมกับไนไตรท์ จึงห้ามผู้ที่รับประทานยาขยายหลอดเลือดหัวใจใช้ยานี้ เพราะอาจทำให้ช็อกได้ นอกจากนี้ยากลุ่มนี้มีผลข้างเคียงที่พบได้คือ อาการหน้าแดง ปวดศีรษะ คัดจมูก อาหารไม่ย่อย และตาพร่า ดังนั้นการรับประทานยาจึงต้องอยู่ในการควบคุมของแพทย์ นอกจากนั้นยังเกิดความไม่สะดวกกับผู้ใช้ยา เนื่องจากยาเหล่านี้จะมีผลได้ในทันทีที่เกิดการดูดซึม และหมดฤทธิ์เมื่อตัวยาสลายไป ส่วนใหญ่แล้วไม่เกิน 24 ชั่วโมง ดังนั้นผู้ใช้จึงต้องกำหนดเวลาว่าจะต้องรับประทานก่อนนานเท่าใดจึงจะเริ่มมีเพศสัมพันธ์ได้ ทั้งนี้ยาที่รักษาโรค ED ยังต้องนำเข้าจากต่างประเทศในราคาแพงทำให้ประเทศไทยเราเสียดุลการค้ากับต่างประเทศจำนวนมาก

สมุนไพรไทยเป็นที่รู้จักและมีการใช้กันอย่างแพร่หลายทั้งในอดีตจนถึงปัจจุบัน โดยในประเทศไทยมีสมุนไพรอยู่เป็นจำนวนมากมายหลายชนิด ซึ่งเป็นเครื่องบ่งชี้ถึงความอุดมสมบูรณ์ทางทรัพยากรธรรมชาติของประเทศไทย ในปัจจุบันมีพืชชั้นสูงที่ได้ลงทะเบียนเป็นสมุนไพรประมาณ 1,200 ชนิด (นิจศิริ เรืองรังษี, 2547) มีสมุนไพรหลายชนิดที่ได้รับการศึกษาทางวิทยาศาสตร์ถึงประสิทธิภาพ และประสิทธิผลในการบำบัดรักษา หรือแม้แต่การส่งเสริมสุขภาพ สมุนไพรของไทยหลายชนิดได้ถูกระบุไว้ว่ามีสรรพคุณในการกระตุ้นหรือเสริมสร้างสมรรถภาพทางเพศ เช่น โด่ไม่รู้ล้ม ม้ากระทืบโรง มะเขือแจ้เครือ กำลังช้างเผือก และกวาวเครือแดง เป็นต้น แต่อย่างไรก็ตามยังไม่มีการวิจัยทางวิทยาศาสตร์เกี่ยวกับความสามารถในการเพิ่มสมรรถภาพ และผลข้างเคียงในระยะยาวต่อร่างกายที่ชัดเจนมารองรับ และยังไม่มีสมุนไพรไทยชนิดใดที่ได้รับการยอมรับว่ามีสรรพคุณใกล้เคียงกับไวอากร้า ดังนั้นการวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นการศึกษาถึงความเป็นไปได้ในการใช้สมุนไพรไทยเป็นยา

รักษาอาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศ โดยการทดสอบประสิทธิภาพและประสิทธิผลของยาสมุนไพร รวมถึงผลข้างเคียงของยาสมุนไพรดังกล่าวในสัตว์ทดลอง เพื่อนำข้อมูลที่มีประโยชน์ไปทดสอบกับมนุษย์ต่อไป ซึ่งการผลิตยาสมุนไพรไทยที่สามารถรักษาอาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศได้ จะช่วยลดการนำเข้ายาจากต่างประเทศซึ่งเป็นจำนวนมากในแต่ละปี อีกทั้งยังช่วยเพิ่มมูลค่าของสมุนไพรไทยให้สูงขึ้นอีกด้วย

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพและประสิทธิผลในการรักษาอาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศของยาสมุนไพรทั้ง 4 ตำรับในสัตว์ทดลอง

1.2.2 เพื่อทดสอบความเป็นพิษและผลกระทบของการใช้ยาสมุนไพรในระยะยาวแบบต่อเนื่อง

1.2.3 เพื่อหาอายุการเก็บแบบเร่งของยาสมุนไพรในการเก็บที่สภาวะต่างๆ

1.2.4 เพื่อประเมินความเป็นไปได้ของการนำยาสมุนไพรไปทดสอบในมนุษย์ต่อไป

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

การวิจัยในครั้งนี้จะเน้นการศึกษาประสิทธิภาพการสกัดสมุนไพรไทย โดยใช้ตัวทำละลายและสภาวะในการสกัดที่แตกต่างกัน เพื่อหาสภาวะในการสกัดที่ดีที่สุด จากนั้นจึงนำยาที่ผ่านการสกัดไปทดสอบกับสัตว์ทดลอง เพื่อดูประสิทธิภาพของยาทั้งแบบ *in vivo* และ *in vitro* model ศึกษาความเป็นพิษของยาทั้งแบบเฉียบพลัน และแบบต่อเนื่อง รวมทั้งทำการศึกษาข้อมูลเบื้องต้นของการผลิต การแปรรูป วัตถุดิบสมุนไพร และการทำนายอายุการเก็บของยาสมุนไพรที่ผ่านการแปรรูป โดยผลที่ได้จากการวิจัยครั้งนี้จะนำมาวางแผนในการประเมินศักยภาพของสูตรยา และทำการศึกษาวิจัยในระดับสูงเพื่อทดสอบในมนุษย์ต่อไป

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

1.4.1 ได้ตำรับยาสมุนไพรที่มีประสิทธิภาพและประสิทธิผลในการรักษาอาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศ

1.4.2 ทราบถึงความเป็นพิษและผลกระทบของการใช้ยาสมุนไพรในระยะยาวแบบต่อเนื่อง

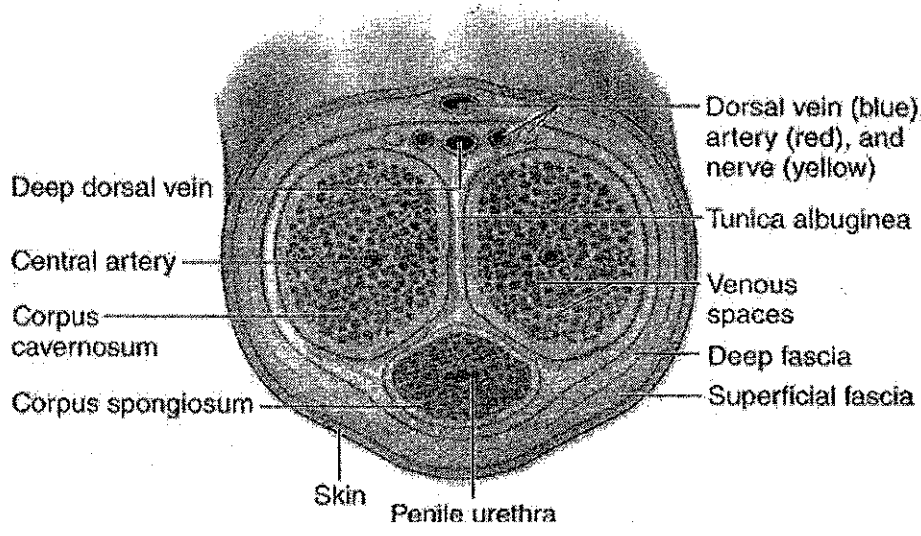
1.4.3 ทราบอายุการเก็บของยาสมุนไพร

บทที่ 2

ปริทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 กายวิภาคและจุลกายวิภาคขององคชาต

องคชาตประกอบด้วยเนื้อเยื่อแข็งตัวได้ (erectile tissue) ซึ่งมีรูปคล้ายกระบอก 3 ส่วนด้วยกัน คือ corpus cavernosum 2 แท่ง เรียงตัวติดกันอยู่ทางด้านบน (dorsal) และ corpus spongiosum 1 แท่ง อยู่ทางด้านล่าง (ventral) ดังรูปที่ 2.1 ใจกลางของ corpus spongiosum จะมีท่อปัสสาวะ (urethra) ผ่านมาตลอดความยาว นอกจากนั้นก็มีเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) หลอดเลือด หลอดน้ำเหลือง (lymphatics) และเส้นประสาทที่มาเลี้ยงรวมอยู่ด้วย corpus cavernosum ทั้งสองนั้นจะเป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ขององคชาต กล่าวคือ ส่วนต้นหรือส่วนโคนจะยึดติดอยู่กับกระดูก pubic rami และ ischium ส่วนปลายจะไปเชื่อมต่อกับหัวองคชาต (glans penis) (Gaudin and Jones, 1998) โดยรอบของ corpus cavernosum จะถูกห่อหุ้มด้วยปลอกเส้นใย (fibrous sheath) ที่มีความหนามากประกอบด้วย collagenous fibers ทั้งชนิดที่วิ่งตามความยาวและวิ่งเป็นวงกลม ปลอกเส้นใยนี้เรียกว่า tunica albuginea จาก tunica albuginea จะมีแผ่นเยื่อบาง ๆ ที่เรียกว่า trabeculas ยื่นเข้าไปในใจกลางจนทำให้เกิดเป็นโพรงเลือดเล็ก ๆ (blood sinusoids) เป็นจำนวนมาก แผ่นเยื่อ trabeculas นี้ประกอบด้วย collagen elastic fiber ใยกล้ามเนื้อ และ fibroblasts เป็นจำนวนมาก ผิวของแผ่นเยื่อนี้ถูกปลุกคลุมด้วยเยื่อบุโพรง (endothelium) คล้ายกันกับในหลอดเลือด นอกจากนั้น corpus cavernosum ยังถูกห่อหุ้มด้วยกล้ามเนื้อ ischeocavernosus อีกด้วย

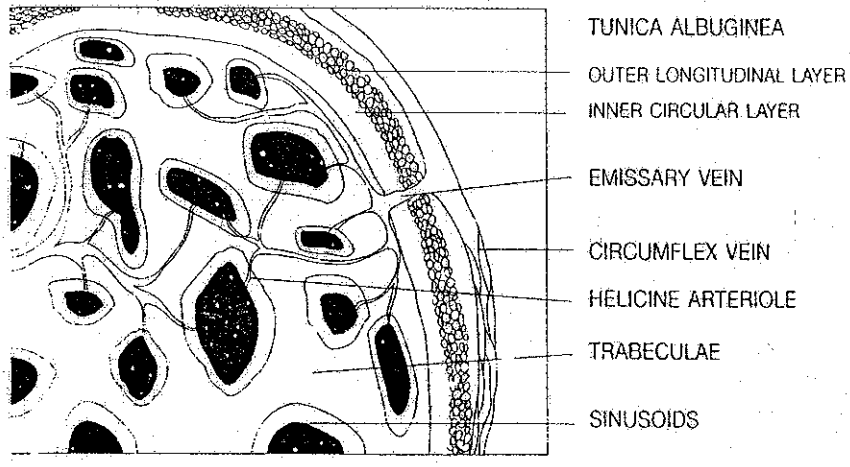


รูปที่ 2.1 ลักษณะกายวิภาคการตัดตามขวางขององคชาต

ที่มา: McKinley and O'Loughlin (2006)

corpus spongiosum ตั้งอยู่ในแอ่งระหว่าง corpus cavernosum ทางด้านล่าง ตรงส่วนปลายจะกลายเป็นหัวองคชาตที่ปลกคลุมส่วนปลายของ corpus carvernosum ส่วนหน้าสุดของหัวองคชาตจะเป็นช่องเปิดของท่อปัสสาวะ (urethral meatus) ส่วนหลังของฐานองคชาตเรียกว่า corona penis corpus spongiosum นี้ห่อหุ้มด้วยปลอกเส้นใยที่เรียกว่า tunica albuginea ด้วยเหมือนกันแต่มีลักษณะบางกว่ามาก นอกจากนั้น trabuculas ก็บางกว่าแต่ยืดหยุ่นกว่า โพรงเลือดมีขนาดเล็กแต่เท่ากัน ตรงบริเวณหัวองคชาตจะมีโครงข่ายของหลอดเลือดดำ (venous plexus) อยู่หนาแน่น แต่ไม่มี tunica albuginea เมื่อเป็นเช่นนี้จะเห็นว่าเนื้อเยื่อแ ได้ของหัวองคชาตประกอบด้วยหลอดเลือดดำขนาดใหญ่ที่คดเคี้ยวเป็นโครงข่ายเพียงอย่างเดียว ฉะนั้นเมื่อมีการแข็งตัวขององคชาตขณะมีอารมณ์ทางเพศจะเห็นได้ว่าปลายองคชาตจะไม่มีความแข็งตัวเท่าส่วนลำตัว (shaft) ขององคชาต นอกจากนั้นบริเวณโคนขององคชาตจะมีขนที่ละเอียดมากอยู่ด้วย ผิวหนังจะทบเป็นสองชั้นยื่นคลุมบริเวณหัวองคชาตซึ่งเรียกว่าหนังหุ้มปลายองคชาต (prepuce) และมีผิวด้านใน (inner surface) ค่อนข้างชุ่มชื้นคล้ายเยื่อเมือก (mucous membrane)

โดยสรุปแล้วเนื้อเยื่อแข็งตัวได้ขององคชาตคือ โพรง หรือแอ่งเล็ก ๆ (รูปที่ 2.2) ของเลือดที่มีแผ่นเยื่อ trabeculas มาเป็นผนังกันโดยจะมีเลือดไหลเข้ามาตามหลอดเลือดแดงเล็ก (afferent arterioles) เข้าสู่โพรง และมีหลอดเลือดดำเล็ก (venules) นำเลือดออกไปจากโพรง ในสภาวะที่ไม่มีการแข็งตัวพบว่ามีเลือดอยู่ในโพรงเหล่านั้นเพียงเล็กน้อย และโพรงมีลักษณะแคบ เมื่อมีการแข็งตัวขององคชาตจะเห็นว่ามีเลือดเป็นปริมาณมากไปคั่งอยู่ในโพรง



รูปที่ 2.2 ลักษณะของโพรงเล็ก ๆ (sinusoids) ใน corpus cavernosum

ที่มา: Leungwattnakij (2001)

ระบบเลือดที่มาหล่อเลี้ยงองคชาตได้มาจากหลายทาง ระบบหลอดเลือดแดงได้มาจากแขนงส่วนปลาย (terminal branches) ของ internal pudendal artery ได้แก่ deep arteries, dorsal arteries และ bulbar arteries ซึ่ง deep arteries จะแยกเป็นแขนงเล็ก ๆ ที่รียกว่า helicine arteries (Lue, 1999) มีผนังค่อนข้างหนา และมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 65-80 ไมโครเมตร วิ่งเข้าสู่ trabuculas ไปตามความยาวของ corpus cavernosum และในที่สุดก็จะเปิดเข้าโพรงเลือดเล็ก ๆ เหล่านั้น dorsal arteries วิ่งมาทางด้านบน (dorsal surface) ขององคชาต โดยวิ่งขนานมาตามด้านข้าง (lateral) ของ deep dorsal vein ขององคชาตแล้วมาหล่อเลี้ยงบริเวณผิวหนังขององคชาต และปลอกเส้นใยของ corpus cavernosum นอกจากนั้นยังส่งแขนงไปเชื่อมโยง (anastomosis) กับ deep arteries เลือดส่วนใหญ่ที่ไหลเข้ามาอยู่ในโพรงเล็ก ๆ ของ corpus cavernosum ในขณะที่มีการแข็งตัวขององคชาตจะได้มาจาก dorsal arteries สำหรับ bulbar arteries จะมาเลี้ยง corpus spongiosum ระบบหลอดเลือดดำขององคชาตแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่อยู่ผิวนอก (superficial groups) และกลุ่มที่อยู่ส่วนลึก (deep groups) ส่วนมากของเลือดจะไหลกลับจาก corpus cavernosum และหัวขององคชาตโดยระบบหลอดเลือดดำของกลุ่มที่อยู่ส่วนลึกนั้นคือ deep vein ซึ่งมีผนังของของหลอดเลือดที่ประกอบด้วยกล้ามเนื้อหนามาก หลอดเลือดดำนี้จะเริ่มต้นด้วยแขนงเล็ก ๆ ภายใต้ tunica albuginea แล้วต่อมาจะรวมตัวเป็นหลอดเลือดดำที่ใหญ่ขึ้นซึ่งภายในจะมีลิ้นรูปกรวย (funnel-shaped valves) เพื่อทำหน้าที่ชะลอการไหลกลับของหลอดเลือดให้ช้าลง ในที่สุด deep veins ก็เปิดเข้าสู่ pudendal plexus เลือดจาก corpus spongiosum จะไหลออกโดยกลุ่มหลอดเลือดดำที่ผิวนอก ซึ่งได้แก่ superficial และ deep dorsal vein ที่ทอดอยู่ใต้ผิวหนังไปตามความยาวขององคชาตทางด้านบน (dorsal) ภายใน deep dorsal ก็มีลิ้นรูปกรวยอยู่และทำหน้าที่เช่นดังกล่าว และในที่สุดหลอดเลือดดำเหล่านี้ก็เปิดเข้าสู่ pudendal plexus ด้วยเหมือนกัน

ระบบน้ำเหลือง (lymphatics) จากผิวหนังบริเวณองคชาตจะไหลเข้าสู่ต่อมน้ำเหลือง superficial และ deep inguinal nodes แต่ระบบน้ำเหลืองจากหัวองคชาตรวมทั้ง corpus cavernosum และ corpus spongiosum จะไหลเข้าสู่ต่อมน้ำเหลือง deep inguinal และ external iliac nodes ตามลำดับ

ระบบเส้นประสาทที่มาเลี้ยงองคชาตได้มาจาก pudendal nerve และ pelvic autonomic plexus ใน pudendal nerve จะประกอบด้วยใยประสาทสั่งการ (motor fibers) เพื่อมาเลี้ยงกล้ามเนื้อบริเวณ urogenital diaphragm และกล้ามเนื้อหูรูดด้านนอก (external sphincter) ของท่อปัสสาวะ นอกจากนั้น pudendal nerve ยังมีใยประสาทรับความรู้สึก (sensory fibers) มาเลี้ยงผิวหนังขององคชาต ฝีเย็บ (perineum) และบริเวณด้านหลังของถุงอัณฑะ ส่วนกล้ามเนื้อเรียบที่อยู่รอบ ๆ corpus cavernosum และในผนังของหลอดเลือดแดงฝอย (arterioles) ซึ่งอยู่ภายใน trabecules ที่เป็นผนังกั้นโพรงเลือดเล็ก ๆ เหล่านั้นจะได้รับการเลี้ยงจาก pelvic autonomic plexus โดยผ่านมาตาม hypogastric และ prostatic plexuses

2.2 การแข็งตัวขององคชาต

กระบวนการแข็งตัวขององคชาตเกิดขึ้นโดยกลไกหลายอย่างที่ปฏิบัติหน้าที่ไปพร้อม ๆ กัน และเกิดต่อเนื่องกันเป็นลำดับ โดยมีกระบวนการอยู่ 2 ส่วน คือ

1. การทำงานของระบบประสาท

การแข็งตัวขององคชาตจะมีการทำงานที่สัมพันธ์กัน ทั้งจากระบบประสาทส่วนกลาง ส่วนปลาย และไขสันหลัง การประสานงานของระบบประสาทส่วนกลางและส่วนปลาย โดยทุกอย่างจะเริ่มต้นจากการรับรู้สิ่งเร้าต่าง ๆ คือ

- การรับรู้จากกลิ่นและสัมผัส (olfactory และ tactile perception) เข้าสู่ rhinencephalon และ thalamus

- การรับรู้จากการมองเห็นภาพ และได้ยินเสียง (audiovisual perception) เข้าสู่ occipital center

- การรับรู้จากการจินตนาการ และประสบการณ์ในอดีต (imagination และ postexperiences) เข้าสู่ limbic system

เมื่อสมองรับรู้สิ่งเหล่านี้จะประมวล และส่งข้อมูลไปยัง hypothalamus โดยจะมี dopamine เป็น neurotransmitter หลักที่ medial preoptic area (MPOA) และ paraventricular nucleus (PVN) ซึ่งเป็นบริเวณที่มี dopamine receptor อยู่

ในระดับสมองส่วน hypothalamus นี้จะมี serotonin, noradranaline และ prolactin จะเป็นสารยับยั้งกลไกการแข็งตัวขององคชาต

การกระตุ้นการแข็งตัวขององคชาตจากการสัมผัส (tactile erection) ร่างกายอาศัย free nerve ending ที่บริเวณ gland ผิวหนังขององคชาต และท่อปัสสาวะ ส่งผ่าน dorsal nerve ไปรวมตัวที่ pudendal nerve แล้วเข้าสู่ไขสันหลังมายัง sacral erection center ผ่าน spinothalamic tract ขึ้นสู่ thalamus แล้วผ่านกระบวนการขั้นต้นย้อนลงมายัง motor nuclei S2-4 ลงสู่ sacral nerve และ pudendal nerve (Lue, 2002) ไปควบคุมการหดตัวของ ischiocavernous และ bulbo-carvernous muscle ในขณะที่มีการแข็งตัวขององคชาตเต็มที่ (rigid erection) (อภิชาต กงกะนันทน์, 2546)

2. การทำงานของหลอดเลือดในองคชาต

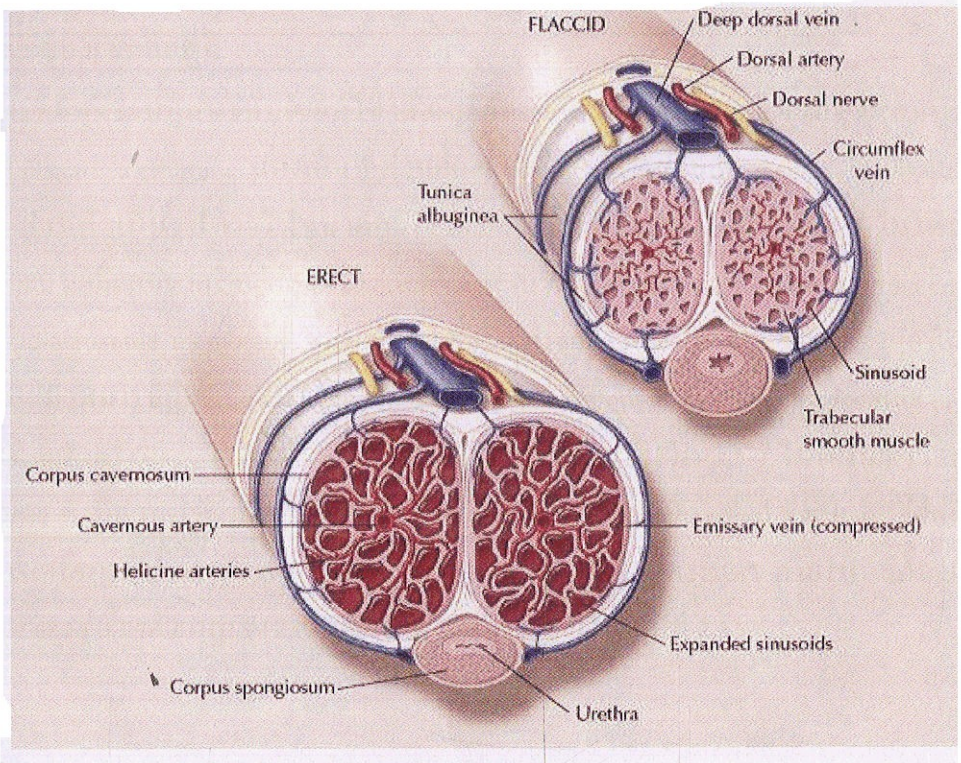
2.1 ในระยะอ่อนตัว (flaccid stage) ภายในองคชาต หลอดเลือดแดงจะมีเส้นประสาท sympathetic วิ่งควบคู่ไปด้วย และจะหลั่ง noradrenaline ออกมา ทำให้เส้นเลือดเหล่านี้หดตัว ซึ่งเป็นสภาพที่ไม่มีเลือดคั่งอยู่ใน sinusoids และมีการสกัดกั้นเลือดจากเส้นเลือดแดงไม่ให้ไหลเข้าสู่ช่องพรุนของ sinusoids (รูปที่ 2.3) แต่ก็มีเลือดเพียงพอเพื่อนำออกซิเจนมาเลี้ยงเซลล์ ซึ่งจะพบภาวะนี้ในช่วงก่อนการแข็งตัวและหลังจากการหลั่งน้ำอสุจิ (ejeculation)

2.2 ในระยะแข็งตัว (tumescence stage) เมื่อมีสัญญาณกระตุ้นทางเพศ ได้แก่ ความคิดทางเพศ หรือการรับรู้ทางประสาทสัมผัส เช่น รูป เสียง หรือการสัมผัส จะทำให้เกิดการกระตุ้นผ่านระบบประสาท บริเวณรอบ ๆ เส้นเลือดในอวัยวะเพศชาย และเซลล์กล้ามเนื้อเรียบภายใน corpus cavernosa มี cholinergic nerve fiber ของระบบพาราซิมพาธิติก (parasympathetic) สัมผัสอยู่ จะสร้าง acetylcholine และกระตุ้น endothelium ให้หลั่งไนตริกออกไซด์ (nitric oxide : NO) ออกมาซึ่งเป็น primary messenger โดยไนตริกออกไซด์ที่อยู่นอกเซลล์จะจับกับ receptor ที่ตำแหน่ง cavernous smooth muscle cell และเกิดการกระตุ้นเอนไซม์ guanylate cyclase ภายในเซลล์ ซึ่งเอนไซม์ดังกล่าวเป็นเอนไซม์ที่เร่งให้เกิดการเปลี่ยน guanosine triphosphate (GTP) ให้กลายเป็น cyclic guanosine monophosphate (cGMP) ส่วน cAMP ซึ่งเป็น secondary messenger อีกตัวหนึ่งเกิดจากสารสื่อประสาทที่มีชื่อว่า vasoactive intestinal peptide (VIP) ซึ่งกระตุ้นให้เอนไซม์ adenylate cyclase ให้เกิดการเปลี่ยน adenosine triphosphate (ATP) ให้กลายเป็น cyclic adenosine monophosphate (cAMP) (รูปที่ 2.4)

ทั้ง cGMP และ cAMP มีคุณสมบัติในการเป็น secondary messenger โดย cGMP จะกระตุ้น protein kinase G ส่วน cAMP จะกระตุ้น protein kinase A ซึ่งทำให้ระดับแคลเซียมในเซลล์กล้ามเนื้อเรียบลดลงเหมือนกัน โดยแคลเซียมบางส่วนจะถูกขับออกจากเซลล์ทาง calcium pump และบางส่วนจะถูกดึงไปเก็บไว้ใน endoplasmic reticulum (ER) ซึ่งการลดลงของแคลเซียมในเซลล์นั้นเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ (สมบุญ เหลืองวัฒนากิจ, 2544)

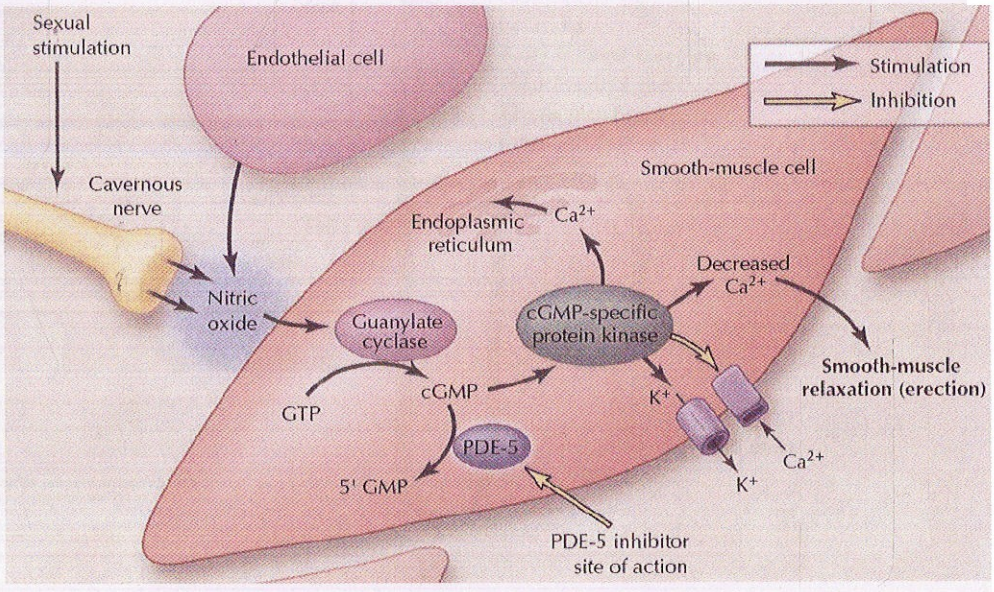
เมื่อมีปริมาณ cGMP และ cAMP มากขึ้น และกล้ามเนื้อเรียบเริ่มคลายตัวจะทำให้รอยต่อระหว่างหลอดเลือดกับร่างแหของหลอดเลือดฝอยใน corpus cavernosum ทั้งสองแห่งเปิดออก ทำให้เลือดสามารถไหลเข้าสู่ช่อง sinusoids ในแกน corpus cavernosum ได้ มีผลทำให้ลำองคชาตขยายตัว โดยในขณะนั้นเส้นเลือดดำที่ปกติทำหน้าที่ระบายเลือดที่อยู่ใน sinusoids ออกจะถูกกักโดยเนื้อเยื่อที่ชื่อ tunica albuginea เป็นผลทำให้เลือดไหลออกจากอวัยวะเพศไม่ได้ หรือออกได้ในปริมาณน้อยกว่าเข้า และเกิดการคั่งของเลือดในลำองคชาต จึงทำให้ลำองคชาตกลายสภาพเป็นแท่ง และมีความแข็ง (รูปที่2.3)

cGMP จะถูกทำลายโดยเอนไซม์ phosphodiesterase type 5 (PDE 5) โดยจะเร่งการเปลี่ยนจาก cGMP ให้กลายเป็น guanosine monophosphate (GMP) ในขณะเดียวกัน cAMP จะถูกทำลายโดยเอนไซม์ phosphodiesterase type 2 และ 3 (PDE 2 และ PDE 3) ให้กลายเป็น adenosine monophosphate (AMP) เมื่อมีปริมาณ cGMP และ cAMP ในเซลล์ลดลง กล้ามเนื้อเรียบของ corpus cavernosum จะหดตัวลง และเลือดจะไหลออกจาก sinusoids จึงทำให้ลำอวัยวะเพศอ่อนตัวลง (สมบุญ เหลืองวัฒนากิจ, 2544)



รูปที่ 2.3 ภาพตัดขวางขององคชาต และสรีรวิทยาขององคชาตในสภาวะปกติและสภาวะแข็งตัว

ที่มา: Fazio and Brock (2004)

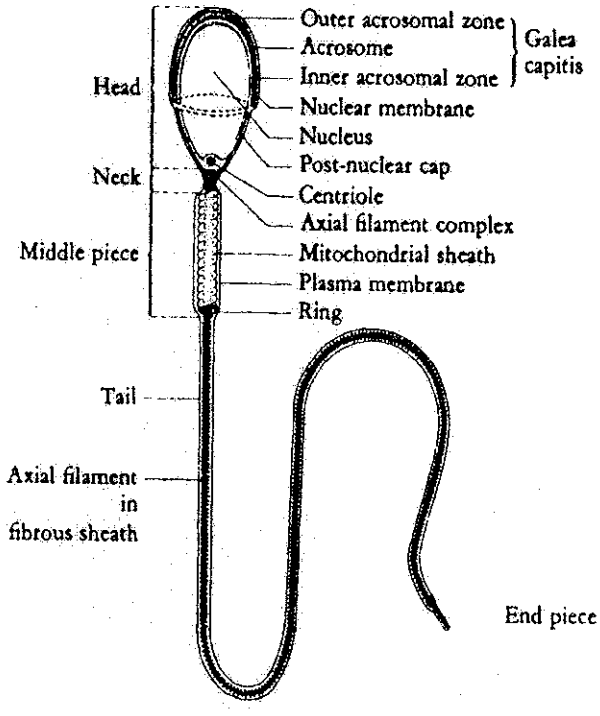


รูปที่ 2.4 กลไกการเกิดการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบเมื่อมีไนตริกออกไซด์เป็น primary messenger และ cGMP เป็น secondary messenger

ที่มา: Fazio and Brock (2004)

2.3 ลักษณะของเซลล์อสุจิ

การที่อสุจิจะปฏิสนธิกับเซลล์ไข่ได้ อสุจิต้องมีลักษณะที่สมบูรณ์ ซึ่งอสุจิที่สมบูรณ์ถูกห่อหุ้มด้วย plasma membrane แบ่งเป็น 3 ส่วนคือ ส่วนหัว (head) ส่วนกลาง (mid piece) และส่วนหาง (tail) ส่วนหัวเป็นรูปทรงรีมีขนาดกว้าง 2.5-3.5 ไมโครเมตร และยาว 4-5 ไมโครเมตร ประกอบด้วยนิวเคลียสขนาดใหญ่คลุมด้วย acrosome ส่วนของ acrosome เปลี่ยนมาจาก golgi complex ประกอบด้วย acrosome membrane ชั้นนอกและชั้นใน ตรงกลางจะมีสารต่าง ๆ หลายชนิดที่มีความสำคัญในกระบวนการปฏิสนธิ เช่น hyaluronidase, acrosin, corona dispersing enzyme และ protease เป็นต้น (Speroff and Glass, 1994) ส่วนกลางของอสุจิมีความยาวประมาณ 5-7 ไมโครเมตร และหนา 1 ไมโครเมตร ซึ่งมีส่วนประกอบที่สำคัญ คือ ไมโตคอนเดรีย (mitochondria) ซึ่งเป็นแหล่งพลังงานสำหรับการเคลื่อนที่ของอสุจิ ส่วนหางยาวประมาณ 40-60 ไมโครเมตร ภายในมีลักษณะเป็น microtubule axon เรียงตัวแบบ 9+2 เช่นเดียวกับ flagellum ทั่วไป (รูปที่ 2.5)



รูปที่ 2.5 ลักษณะของอสุจิ

ที่มา: Diem and Lentner (1971)

2.4 กระบวนการสร้างเซลล์อสุจิ (spermatogenesis)

กระบวนการสร้างเซลล์อสุจิ การพัฒนา และการเจริญเติบโตเต็มที่ของเซลล์อสุจิจาก spermatogonia สามารถแบ่งได้เป็น 2 ส่วน คือ spermatogenesis (กระบวนการสร้าง spermatocytes จาก spermatogonia) และ spermiogenesis (กระบวนการที่ spermatid ค่อย ๆ วิวัฒนาการมาเป็น spermatozoa) ดังรูปที่ 2.6

1. spermatogenesis เมื่อเข้าสู่วัยหนุ่ม gonadotropin-releasing hormone (GnRH) จะมีการหลั่งกระตุ้นให้ต่อมใต้สมองส่วนหน้าสร้างและหลั่ง luteinizing hormone (LH) และ follicle-stimulating hormone (FSH) ฮอร์โมนทั้งสองชนิดมีความจำเป็นในกระบวนการสร้างอสุจิ (de Kretser, McLachlan, Robertson, and Wreford, 1992) FSH จะทำหน้าที่กระตุ้นให้เกิดการสร้างอสุจิ และการทำงานของเซลล์ Sertoli ส่วน LH จะกระตุ้นให้เซลล์ Leydig สร้างแอนโดรเจน ซึ่งทำหน้าที่เกี่ยวกับการเจริญทางเพศ และส่วนในการสร้างอสุจิ FSH และ testosterone จะกระตุ้นให้ spermatogonia ซึ่งเป็นเซลล์ชั้นนอกสุดของ seminiferous tubule แบ่งตัวแบบ mitosis เพื่อสร้าง daughter cells โดยแต่ละ spermatogonia จะแบ่งเซลล์เพื่อให้ได้ 2 daughter cells ที่มีจำนวนโครโมโซม 23 คู่ (46 โครโมโซม) ซึ่งเรียกเซลล์เหล่านี้ว่า diploid cells ภายหลังสิ้นสุดกระบวนการนี้จะเรียกเซลล์ในระยะนี้ว่า primary spermatocyte จากนั้น primary spermatocyte จะแบ่งตัวแบบ meiosis ครั้งที่ 1 เพื่อให้ได้ secondary spermatocyte ซึ่งจะมีโครโมโซม 23 โครโมโซม จากนั้นจะเกิดการแบ่งตัวแบบ meiosis ครั้งที่ 2 โดยเริ่มจาก secondary spermatocyte จนได้เป็น spermatid ซึ่งมีจำนวนโครโมโซม 23 โครโมโซม (Van De Graaff, 1995)

2. spermiogenesis เป็นกระบวนการที่เริ่มจาก spermatid ค่อย ๆ มีการพัฒนาในระยะต่าง ๆ จนได้เป็น spermatozoon ประกอบไปด้วย 4 ระยะดังนี้ (รูปที่ 2.7)

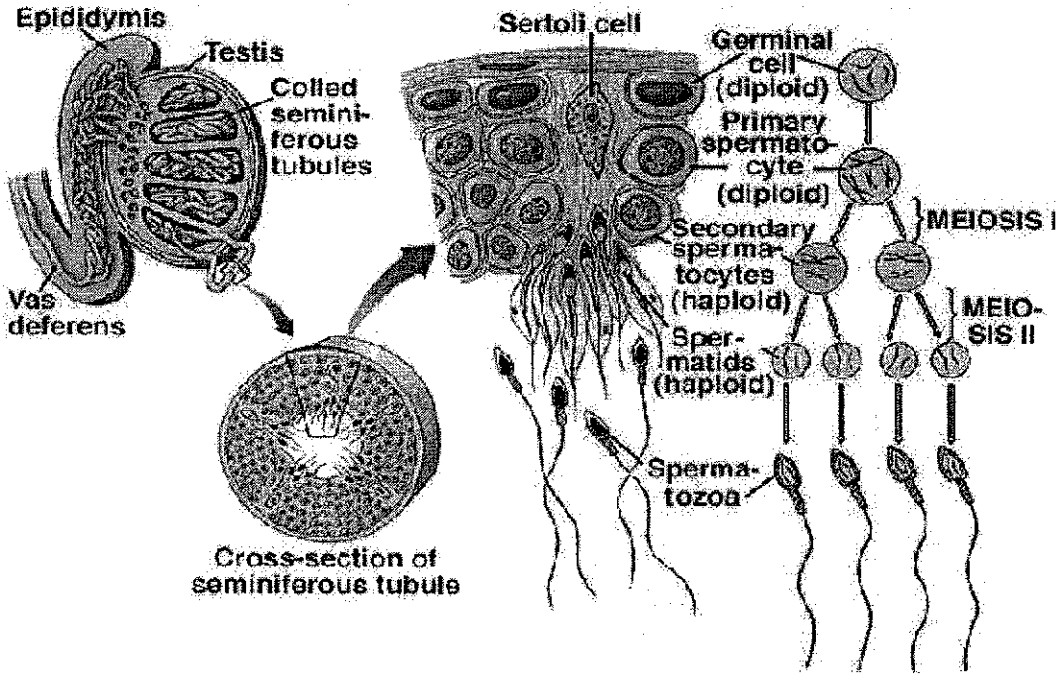
2.1 **golgi phase** ระยะนี้จะมี proacrosomal granules ที่อยู่ใน golgi apparatus จะมารวมตัวเชื่อมกันเป็น acrosomal granule อยู่ใน acrosomal vesicle ต่อมา acrosomal ทั้งสองนี้จะเชื่อมกันอีกและมีขนาดใหญ่ขึ้น ขณะเดียวกัน centriol ส่วนท้ายจะไปประกอบกันเป็น axoneme เริ่มเป็นส่วนหางของเซลล์อสุจิ ส่วน centriol ส่วนต้นจะพัฒนาไปเป็นส่วนตรงกลางที่เชื่อมระหว่างส่วนที่จะเป็นหัวและหาง

2.2 **cap phase** คือระยะที่เกิด acrosomal cap จากการแผ่ตัวบางลงของ acrosomal vesicle คลุมส่วนด้านหน้าของ spermatid nucleus และ nuclear envelop บริเวณนี้จะหนาขึ้น annulus จะเป็นรูปร่างขึ้นอยู่รอบ centriol ส่วนท้าย (axoneme)

2.3 **acrosome phase** คือระยะที่มีการสร้าง acrosome ขึ้นรอบ nucleus จากการแน่นตัวของ acrosomal vesicle ขณะเดียวกัน microtubular manchette จะควบคุมให้ nucleus มีลักษณะยาวขึ้น nuclear chromatin จะรวมตัวกันแน่นเป็นกลุ่มเล็ก ๆ ส่วนหางจะเริ่มมี fiber เป็นเปลือกหุ้มไปติดต่อกับ striated column ในส่วนที่เป็นคอของ spermatid annulus จะเคลื่อนต่ำลงไปทางส่วนหางซึ่งเป็น

จุดเริ่มต้นของ mitochondria ที่ห่อหุ้มอยู่ภายนอกอีกชั้นหนึ่งของส่วนหางพัฒนาขึ้นเป็น mitochondria sheath ตรงส่วนกลางของหาง ในเวลาเดียวกัน cytoplasm ที่เป็นส่วนเหลือของตัวอสุจิจะถูกกลืนกิน (phagocyte) โดยเซลล์ Sertoli

2.4 **maturation phase** เป็นระยะที่ nuclear chromation จะรวมตัวกันแน่นขึ้นเป็นส่วนหัวของอสุจิอย่างสมบูรณ์ อสุจิจะถูกปล่อยเข้าสู่ท่อ seminiferous แต่ยังเคลื่อนไหวตัวเองไม่ได้ การที่อสุจิเคลื่อนไปสู่ epididymis ได้นั้น อาศัยการบีบรัดตัวเป็นจังหวะของ myofibroblast ที่อยู่รอบนอกของท่อ seminiferous เมื่อสิ้นสุดระยะนี้แล้ว ตัวอสุจิจะมีส่วนหัว และส่วนหางแยกกันได้ชัดเจน (Mckinley and O'Loughlin, 2006)



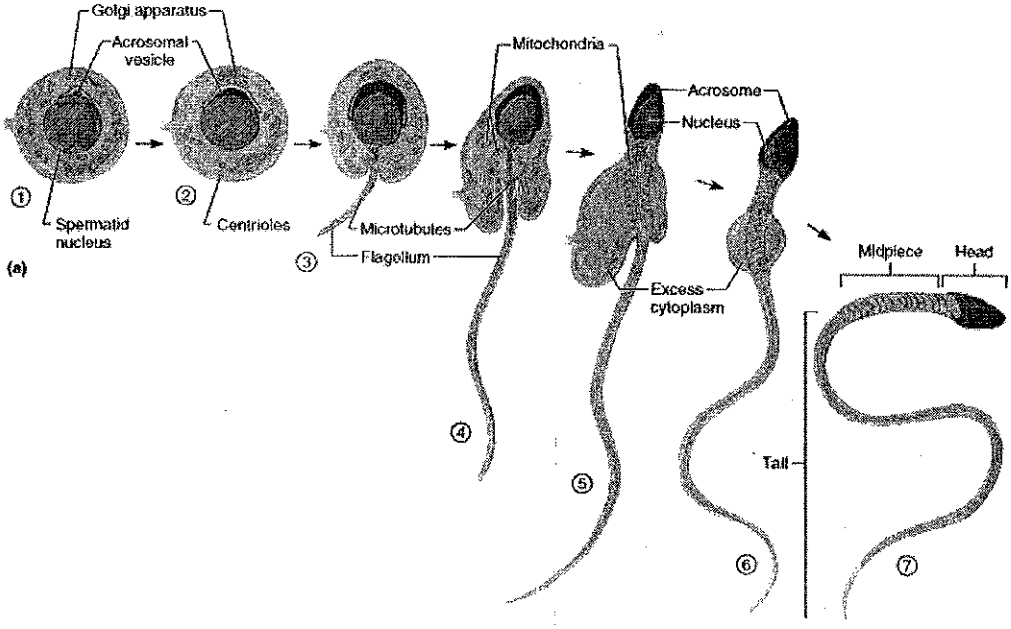
รูปที่ 2.6 กระบวนการสร้างเซลล์อสุจิ
ที่มา: Sadler (2000)

2.5 การปฏิสนธิ (fertilization)

การปฏิสนธิหมายถึง การที่อสุจิผสมกับไข่โดยมีจุดมุ่งหมายเพื่อให้สารพันธุกรรมจากฝ่ายชายและฝ่ายหญิงมารวมกัน การปฏิสนธิแบ่งออกเป็น การปฏิสนธิภายนอกร่างกาย และการปฏิสนธิภายในร่างกาย

1. การปฏิสนธินอกร่างกาย (*in vitro* fertilization) เป็นกระบวนการที่นำเอาเซลล์อสุจิและเซลล์ไข่ที่ผ่านการคัดเลือกแล้วมาปฏิสนธิกันภายในหลอดทดลอง ซึ่งไข่ที่ถูกผสมแล้วจะนำไปใส่ภายใน

โพรงมดลูกหรือท่อนำไข่เพื่อให้เกิดการตั้งครรภ์ (อร่าม โรจนสกุล และ สมพร ชินสมบูรณ์, 2539) ซึ่งกระบวนการปฏิสนธิภายนอกร่างกายนี้มีหลักการเช่นเดียวกับการปฏิสนธิภายในร่างกาย



รูปที่ 2.7 กระบวนการ spermiogenesis

ที่มา: Fawcett (1994)

2. การปฏิสนธิภายในร่างกาย (*in vivo* fertilization) ในธรรมชาติภายหลังการร่วมเพศจะมีการหลั่งน้ำอสุจิ (semen) เข้าสู่ช่องคลอดของเพศหญิง โดยอสุจิจะเดินทางผ่านปากมดลูก โพรงมดลูกไปจนถึงบริเวณ ampulla ของท่อนำไข่ (รูปที่ 2.6)

กระบวนการปฏิสนธิเริ่มต้นเมื่ออสุจิพบกับไข่ และจะสิ้นสุดเมื่อมีการแบ่งตัวครั้งแรก โดยตัวอสุจิจะผ่านชั้นโซนาแพลลูซิดา (zona pellucid; ZP) เข้าไปในเซลล์ไข่ และมีการรวมตัวกันตามขั้นตอนดังต่อไปนี้

2.1 อสุจิผ่านชั้น corona radiata ของเซลล์ไข่

ไข่ที่ตกจากรังไข่จะมีเซลล์และสารต่าง ๆ ล้อมรอบ แบ่งเป็นชั้น corona radiata และ cumulus oophorus เอนไซม์ที่ส่วนหัวของอสุจิจะถูกปล่อยออกมาย่อยสลายชั้นต่าง ๆ (acrosome reaction) ประกอบด้วย hyaluronidase, corona-dispersing enzyme และ acrosin ทำให้เซลล์อสุจิจำนวนหนึ่งเข้าถึงชั้น ZP (Speroff and Glass, 1994; White, Phillips, and Bedford, 1990)

2.2 อสุจิเจาะผ่านชั้น zona pellucida

ZP เป็นสาร glycoprotein ซึ่งมีความหนาประมาณ 15 ไมโครเมตร ตัวอสุจิจะทำการจับกับตัวรับ (receptor) บน ZP ซึ่งพบว่ามีหลายชนิดได้แก่ ZP_1, ZP_2 และ ZP_3 (Yanagimachi, 1994) ในการผ่านชั้นนี้ต้องอาศัยเอนไซม์ช่วยย่อยสลาย ZP คือ trypsin-like proteinase และ zona lysin จากส่วนหัว

ของเซลล์อสุจิ เมื่อย่อยสลาย ZP ได้แล้ว อสุจิจะผ่านไปใน perivitellin space ระยะเวลาที่อสุจิเจาะผ่านชั้น ZP น้อยกว่า 1 ชั่วโมง ส่วนใหญ่จะผ่านชั้น ZP เพียงตัวเดียว

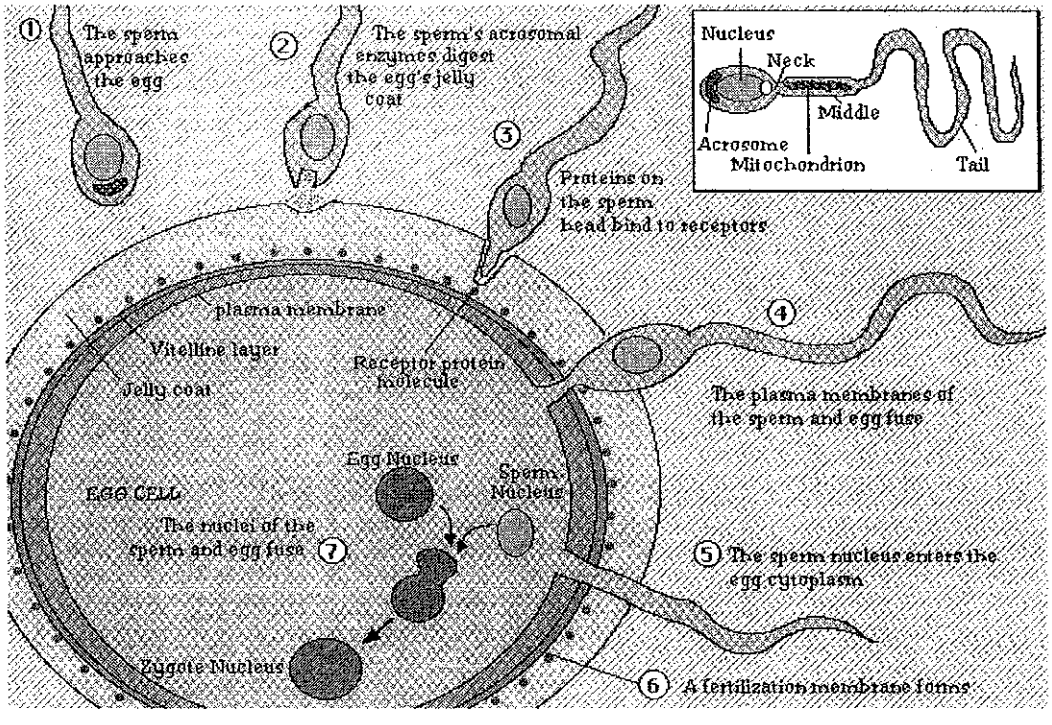
2.3 การรวมกันระหว่าง mambrane ของอสุจิและไข่

เมื่ออสุจิผ่าน ZP เข้าไปได้แล้ว ส่วนของ plasma membrane ของอสุจิ และไข่จะรวมกันในการปฏิสนธินอกร่างกายจะพบการรวมของ membrane ของอสุจิ และไข่ประมาณ 2 ชั่วโมงหลัง insemination

2.4 zona reaction

ZP เปลี่ยนแปลงไป โดยมีความแข็งมากขึ้น และตัวรับต่ออสุจิที่อยู่บน ZP จะลดจำนวนลง เป็นการป้องกันไม่ให้อสุจิอื่นผ่านเข้าไปในไข่ได้อีก (Breckwoldt, Newmann, and Brauer, 1994)

อสุจิที่ผ่านเข้าไปในเซลล์จะรวมกับไข่เกิดการปฏิสนธิ ในระยะนี้ไข่จะมีการแบ่งตัวต่อจากที่หยุดไว้ในระยะไมโอซิส II จากการแบ่งตัวนี้จะได้ 2 ส่วน คือ ไข่ และเซลล์ขั้วที่สอง ไข่ในระยะนี้มี decondensation ของโครโมโซมเพื่อสร้าง pronucleus ของไข่ ส่วนนิวเคลียสของเซลล์อสุจิเมื่อเข้าไปในไซโตพลาสซึมของเซลล์ไข่แล้วจะมีการขยายตัว และเปลี่ยนแปลงเป็น pronucleus โดย pronucleus membrane จะหายไป pronucleus ของเซลล์ไข่ และอสุจิจะมีขนาดใหญ่ เนื่องจากมี nucleoli จำนวนมาก เมื่อ pronucleus membrane สลายตัวทำให้เกิดการรวมตัวของ pronucleus ทั้งสอง ในห้องปฏิบัติการเมื่อตรวจพบลักษณะของ pronucleus 2 อันในเซลล์แสดงว่าเกิดการปฏิสนธิแล้ว จากนั้นจะเริ่มการแบ่งตัวเป็น 2 เซลล์เป็นการสิ้นสุดกระบวนการปฏิสนธิ



รูปที่ 2.8 ขั้นตอนการปฏิสนธิ

ที่มา: Carlson (1994)

2.6 อาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศ (Erectile dysfunction)

2.6.1 ความหมาย

อาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศ (erectile dysfunction, ED) หมายถึง การที่อวัยวะเพศชายไม่แข็งตัวและ/หรือแข็งตัวได้ไม่นานพอที่จะทำภารกิจจนประสบผลสำเร็จจนเป็นที่พึงพอใจอยู่เป็นประจำหรืออย่างต่อเนื่อง ซึ่งกลไกที่ทำให้เกิดการหย่อนสมรรถภาพทางเพศสามารถแบ่งได้เป็น 3 ขั้นตอน คือ

1. ความล้มเหลวในการเริ่มต้น (failure to initiate) หมายถึง ความล้มเหลวในการกระตุ้นให้เกิดการแข็งตัว สาเหตุอาจเกิดมาจากความผิดปกติของระบบประสาท สมอง ระบบฮอร์โมนเพศ รวมไปถึงจิตใจที่ไม่สามารถทำให้เกิดหรือรับรู้การกระตุ้น หรือส่งต่อการกระตุ้นไปจนถึงปลายประสาท จึงทำให้เกิดภาวะการหย่อนสมรรถภาพทางเพศในที่สุด

2. ความล้มเหลวในการแข็งตัว (failure to fill) หมายถึง ความล้มเหลวในการที่เลือดจะไหลเข้ามาคั่งอยู่ใน corpus cavernosum ดังนั้น ถึงแม้จะมีการกระตุ้นทางเพศแล้วก็ตาม แต่เลือดแดงก็ไม่สามารถไหลเข้ามาอยู่ใน sinusoids ได้มากพอที่จะทำให้องคชาตขยายตัว และแข็งตัวจนกระทั่งมีเพศสัมพันธ์จนสำเร็จ ความล้มเหลวดังกล่าวส่วนใหญ่มีสาเหตุมาจากระบบไหลเวียนโลหิตที่มาเลี้ยงองคชาต รวมทั้งกล้ามเนื้อเรียบรอบ sinusoids ใน corpus cavernosum ไม่สามารถคลายตัวเพื่อรับเลือดให้เข้ามาคั่งอยู่ในองคชาตได้

3. ความล้มเหลวในการคงการแข็งตัวไว้ (failure to store) หมายถึง ความล้มเหลวในการกักกันเส้นเลือดแดงที่ไหลเข้ามาคั่งอยู่ในองคชาตแล้วให้คงค้างอยู่ได้มาก และนานพอที่จะทำให้องคชาตแข็งตัวเต็มที่ และนานพอที่จะมีเพศสัมพันธ์สำเร็จ สาเหตุส่วนใหญ่มาจากเส้นเลือดดำที่นำเลือดไหลออกจาก sinusoid หรืออาจเกิดจาก tunica albuginea ไม่แข็งแรงทำให้ไม่สามารถบีบรัด emissary vein ได้เต็มที่ องคชาตจึงแข็งตัวได้ไม่เต็มที่และเกิดภาวะการหย่อนสมรรถภาพทางเพศตามมา

นอกจากนี้แล้วทางการแพทย์ได้ถือว่าอาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศเป็นโรค ซึ่งแบ่งเป็น 3 ระดับคือ (อภิชาติ กงกะนันทน์, 2546)

1. อ่อน (mild)
2. ปานกลาง (moderate)
3. มาก (severe)

โดยให้คำจำกัดความของแต่ละระดับ ดังนี้

1. ระดับคนปกติ อวัยวะเพศแข็งตัวได้ทุกครั้งเมื่อต้องการมีเพศสัมพันธ์
2. ระดับอ่อน อวัยวะเพศแข็งตัวได้เกือบจะทุกครั้งเมื่อมีความต้องการ
3. ระดับปานกลาง อวัยวะเพศแข็งตัวได้บ้างไม่ได้บ้าง
4. ระดับมาก อวัยวะเพศแข็งตัวไม่ได้เลย

2.6.2 สาเหตุและปัจจัยเสี่ยงต่อเกิดอาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศ

จากการศึกษาสาเหตุของการเกิดอาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศ พบว่ามีสาเหตุมาจากด้านร่างกาย (organic) ร้อยละ 70 สาเหตุทางด้านจิตใจ (psychogenic) ร้อยละ 11 หรือทั้งสองสาเหตุร่วมกัน (mixed ED) ร้อยละ 18 สำหรับสาเหตุทางร่างกายนั้น ที่พบบ่อยมักจะเกิดจากโรคเรื้อรังต่าง ๆ เช่น โรคเบาหวาน (diabetes) เส้นโลหิตแข็งตัว (atherosclerosis) จากอายุที่มากขึ้นหรือไขมันในเลือดสูง และโรคหัวใจและหลอดเลือด (cardiovascular disease) เป็นต้น ส่วนสาเหตุทางด้านจิตใจนั้นอาจเกิดจากความเครียด ความวิตกกังวลเกี่ยวกับงาน ครอบครัว ความกลัวความล้มเหลวทางเพศสัมพันธ์ หรือถูกตำหนิจากคู่ครองทำให้หมดความมั่นใจ สาเหตุของโรคหย่อนสมรรถภาพทางเพศมักจะมีหลายสาเหตุร่วมกัน หากมีหลายสาเหตุก็จะทำให้มีโอกาศเกิดมากขึ้น ปัจจัยที่เป็นสาเหตุได้แก่ (อนุพันธ์ ตันติวงศ์, 2544)

1. ปัจจัยเสี่ยงด้านอายุ เป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญที่สุดและหลีกเลี่ยงไม่ได้ เมื่อผู้ชายมีอายุมากขึ้นจะมีโอกาสเกิดอาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศเพิ่มขึ้นตามไปด้วย จากการศึกษาพบว่าชายไทยอายุ 40-49 ปี มีอัตราความเสี่ยงของการหย่อนสมรรถภาพทางเพศร้อยละ 20 อายุ 50-59 จะมีอัตราเสี่ยงประมาณร้อยละ 50 และจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วสูงถึงร้อยละ 70 ในชายอายุ 60-70 ปี (อภิชาติ กงกะนันทน์, 2546) อย่างไรก็ตามอายุไม่ทำให้เกิดการหย่อนสมรรถภาพทางเพศโดยตรง แต่อาจเกิดจากปัจจัยอื่นที่เกี่ยวข้องกับอายุโดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคภัยไข้เจ็บ ที่ทำให้มีอัตราการเกิดการหย่อนสมรรถภาพทางเพศมากขึ้น นอกจากนี้เมื่ออายุมากขึ้นทำให้ฮอร์โมนเทสโทสเทอโรน (testosterone) ซึ่งเป็นฮอร์โมนเพศชายจะลดลงตามอายุ ซึ่งเป็นปัจจัยเสริมที่ทำให้เกิดอาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศมากขึ้นด้วย

2. ปัจจัยเสี่ยงด้านสังคมและเศรษฐกิจ จากการศึกษาของ Thailand Erectile Dysfunction Epidemiology Study (TEDES) พบว่า ทั้งการศึกษา อาชีพ และรายได้มีความสัมพันธ์กับอาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศ อาชีพที่มีสถานภาพทางสังคมสูง เช่น นักวิชาชีพ และนักบริหาร มีอัตราการเกิดอาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศค่อนข้างต่ำ คือประมาณร้อยละ 31-35 ส่วนเกษตรกรหรือชาวนาเป็นอาชีพที่มีอาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศสูงมากที่สุดคือร้อยละ 48 ด้านรายได้ พบว่า ผู้ที่มีรายได้ 5,000 บาท หรือน้อยกว่า มีอาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศประมาณร้อยละ 58 เมื่อเทียบกับผู้มีรายได้อยู่ระหว่าง 10,000-30,000 บาท ซึ่งมีอาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศเพียงร้อยละ 31 และด้านการศึกษาโดยผู้ที่มีการศึกษาสูงในระดับมหาวิทยาลัยจะมีอาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศเพียงร้อยละ 24 ในขณะที่ผู้มีสำเร็จการศึกษาระดับประถมศึกษามีอาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศสูงถึงร้อยละ 52 ทั้งนี้เนื่องจาก คนที่มีการศึกษาสูงและรายได้สูง จะมีโอกาสได้รับข้อมูลและความรู้ การดูแลเอาใจใส่เกี่ยวกับสุขภาพอนามัยทั่วไปและสุขภาพทางเพศ รวมไปถึงการแสวงหาการรักษาพยาบาลที่ดีกว่า ในทางกลับกันคนที่มีการศึกษาต่ำหรือมีรายได้ต่ำจะไม่มีโอกาสได้รับความรู้ และไม่มีเงินเพียงพอในการรักษาอาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศได้

3. ปัจจัยเสี่ยงด้านที่อยู่อาศัย เมื่อพิจารณาความเสี่ยงของอาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศโดยแยกออกเป็น 4 ภาคและกรุงเทพมหานคร พบว่า ภาคที่พบอัตราการเกิดอาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศสูงสุดคือภาคเหนือ คือร้อยละ 45.6 รองลงมาคือ ภาคภาคกลาง ภาคใต้ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ คือร้อยละ 42.4, 40.0 และ 37.6 ตามลำดับ ส่วนกรุงเทพมหานครพบความเสี่ยงในการเกิดอาการหย่อนสมรรถภาพต่ำสุดคือร้อยละ 34.4 ซึ่งสาเหตุมาจากในเมืองใหญ่มีความเจริญ และวิถีชีวิตที่แตกต่างกับเมืองเล็ก โดยเนื่องจากเมืองใหญ่เต็มไปด้วยผู้คนที่มีการศึกษารวมไปถึงผู้ที่มีรายได้สูงอาศัยอยู่เป็นจำนวนมาก จึงเป็นปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับปัจจัยด้านสังคม และเศรษฐกิจ

4. ปัจจัยเสี่ยงด้านโรคประจำตัวและโรคเรื้อรัง โรคที่เกี่ยวข้องกับอาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศมีหลายโรค เช่น โรคเบาหวานเป็นโรคที่มีปัจจัยเสี่ยงกับอาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศสูงสุดถึงร้อยละ 75 ในขณะที่โรคความดันโลหิตสูงมีปัจจัยเสี่ยงที่จะเกิดอาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศร้อยละ 62 ส่วนโรคหัวใจและหลอดเลือดได้รับการยอมรับว่าเป็นปัจจัยเสี่ยงสำคัญของการหย่อนสมรรถภาพทางเพศในคนสูงอายุ โดยจะมีผลกระทบต่อการไหลเวียนของเลือดแดงในองคชาต

5. ปัจจัยเสี่ยงด้านพฤติกรรมเสี่ยง มีหลายปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการหย่อนสมรรถภาพทางเพศดังนี้

1) การสูบบุหรี่ไม่มีผลโดยตรงแก่การเกิดอาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศ แต่มีผลกระทบทางอ้อมผ่านอาการเจ็บป่วยเรื้อรัง เช่น การเกิดโรคหัวใจ หรือโรคหลอดเลือดตีบ เป็นต้น ซึ่งจากการศึกษาของ TEDES พบว่า ผู้ที่เคยสูบบุหรี่ และกำลังสูบบุหรี่ มีอัตราความเสี่ยงต่ออาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศเท่ากับร้อยละ 45 และ 40 ตามลำดับ ในขณะที่คนไม่เคยสูบบุหรี่มีอัตราความเสี่ยงเพียงร้อยละ 21 แต่ผลการศึกษานี้ไม่รวมถึงอิทธิพลของการดื่มแอลกอฮอล์ และการดื่มกาแฟต่อการเกิดการหย่อนสมรรถภาพทางเพศ

2) การดื่มแอลกอฮอล์ พบว่ามีผลเช่นกัน โดยพบว่าคนดื่มแอลกอฮอล์เป็นประจำมีอัตราการเกิดการหย่อนสมรรถภาพทางเพศร้อยละ 54 ในขณะที่คนไม่ดื่มแอลกอฮอล์มีอัตราการเกิดการหย่อนสมรรถภาพทางเพศร้อยละ 28

3) การออกกำลังกายมีผลต่อสุขภาพทั่วไป รวมไปถึงสุขภาพทางเพศด้วย จากการศึกษาของ TEDES พบว่า ความเสี่ยงต่อการเกิดการหย่อนสมรรถภาพทางเพศในคนที่ออกกำลังกายสม่ำเสมอมีเพียงร้อยละ 3.9 และคนที่ไม่ออกกำลังกายพบความเสี่ยงร้อยละ 8.3

4) พฤติกรรมทางเพศ มีผลต่อการหย่อนสมรรถภาพทางเพศ จากการวิจัย พบว่าชายไทยอายุ 40-70 ปี มีเพศสัมพันธ์เฉลี่ยประมาณ 7 ครั้งต่อเดือน โดยที่ความถี่ของการมีเพศสัมพันธ์ลดลงอย่างเห็นได้ชัดเจนตามระดับของอาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศ ชายปกติมีเพศสัมพันธ์เฉลี่ย 9 ครั้งต่อเดือน ลดลงเป็น 6, 3 และน้อยกว่า 1 ครั้งต่อเดือนในผู้ที่มีอาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศระดับต่ำ ปานกลาง และระดับสูงตามลำดับ เหตุผลพบมากที่สุดของผู้ที่มีอาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศระดับสูง

เช่น ไม่มีอารมณ์ทางเพศ ไม่มีแฟน สุขภาพไม่ดี กลัวติดโรค แก่แล้ว และภรรยาไม่ต้องการหรือสุขภาพไม่ดี เป็นต้น

6. ปัจจัยเสี่ยงด้านภาวะทางจิตใจ ถือเป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญอีกปัจจัยหนึ่ง เนื่องจากปัจจัยทางด้านจิตใจจะเข้ามามีส่วนร่วม หรือส่งเสริมปัจจัยการเกิดการหย่อนสมรรถภาพทางเพศอื่น ๆ ความผิดปกติเกี่ยวกับเรื่องจิตใจแบ่งได้เป็นสองกลุ่ม คือกลุ่มที่มีโรคทางจิตใจอยู่เก่า เช่นภาวะซึมเศร้า ความเครียด จากการศึกษาพบว่าคนที่มีภาวะซึมเศร้ามีความเสี่ยงที่จะเกิดอาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศร้อยละ 50-90 ส่วนกลุ่มที่สองคือกลุ่มที่มีปัญหาทางเพศ ซึ่งอาจจะเกิดจากการหลั่งเร็ว หรือแข็งตัวไม่เต็มที่แล้วเกิดความกังวลใจเรื้อรัง

นอกจากนี้การผ่าตัดและอุบัติเหตุที่มีผลต่อเส้นประสาทที่ไปควบคุมการแข็งตัวขององคชาต เช่น การผ่าตัดในอุ้งเชิงกราน การผ่าตัดต่อมลูกหมาก การผ่าตัดผ่านทางท่อปัสสาวะ การได้รับอุบัติเหตุที่อวัยวะเพศ ประสาทไขสันหลัง กระเพาะปัสสาวะ กระดูกเชิงกราน อาจจะทำลายเส้นประสาททำให้เกิดอาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศได้

2.7 การรักษาอาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศ

การรักษาอาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศในปัจจุบันมีหลายวิธีที่ได้รับความนิยม ซึ่งจะรักษาตามสาเหตุที่ทำให้เกิดอาการ

2.7.1 การรักษาทางด้านจิตใจ (psychotherapy) หากอาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศเกิดจากสาเหตุทางด้านจิตใจ ควรปรึกษาแพทย์ซึ่งจะช่วยลดความกังวลได้

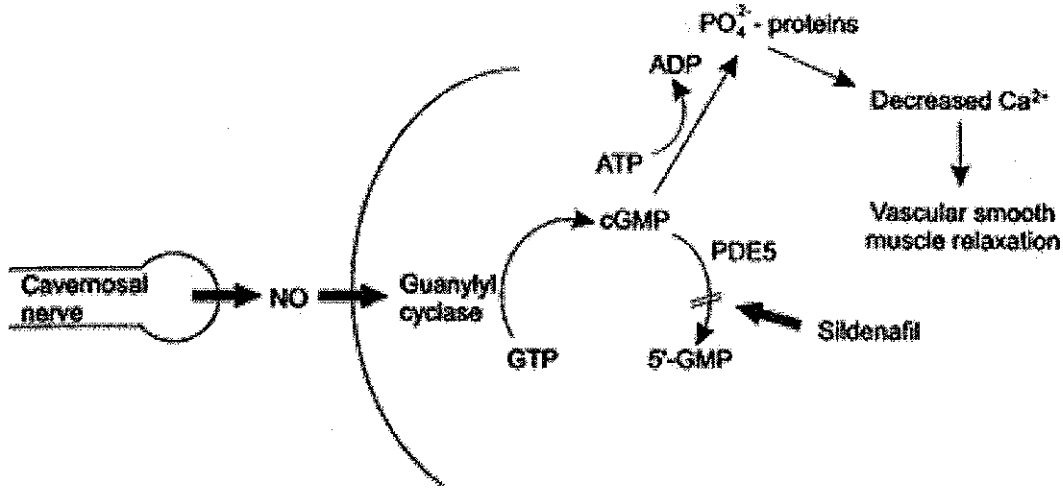
2.7.2 การรักษาทางด้านร่างกาย สามารถแบ่งได้ดังต่อไปนี้

1. การรักษาโดยใช้ยา (drug therapy) ซึ่งมียาทั้งแบบรับประทาน ยาฉีดหรือยาสอด

ก. sildenafil

sildenafil หรือชื่อทางการค้าว่า "Viagra™" ที่พัฒนาและผลิตโดยบริษัท Pfizer ออกจำหน่ายครั้งแรกเมื่อวันที่ 27 มีนาคม ค.ศ. 1998 ไวอากร้าเป็นยาที่ได้รับความนิยมเป็นอย่างสูงโดยในระยะเวลาที่วางจำหน่าย 2 ปี (ค.ศ. 1999-2000) โดยสามารถทำรายได้มากถึง 1 พันล้านเหรียญสหรัฐฯ (Wikipedia, 2008a) ซึ่งในประเทศไทยได้รับอนุญาตจากคณะกรรมการอาหารและยาให้ออกจำหน่ายในสถานพยาบาลได้ในปี พ.ศ. 2541 ไวอากร้าเป็นยาแบบรับประทาน ซึ่งออกฤทธิ์ประมาณ 30-60 นาทีก่อนมีเพศสัมพันธ์ การใช้ยานี้จะต้องมีสิ่งเร้าหรือจินตนาการ ซึ่งจะมีการกระตุ้นเกิดขึ้นจึงจะมีการแข็งตัวเหมือนธรรมชาติ กลไกการทำงานของยาไวอากร้าคือ จะทำหน้าที่เป็นตัวยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ PDE 5 หรือเรียกว่าเป็น "PDE 5 inhibitor" โดยเอนไซม์ PDE 5 สามารถเปลี่ยน cGMP ให้กลายเป็น GMP ดังนั้นเมื่อรับประทานยา sildenafil จะทำให้ cGMP ในกล้ามเนื้อเรียบถูกทำลายโดย PDE 5 ช้าลง

และน้อยลง ฤทธิ์ของ cGMP จึงมากขึ้น และอยู่ได้นานขึ้น ทำให้การแข็งตัวขององคชาตดีขึ้น และนานขึ้นด้วยกลไกการทำงานของไวอากร้าแสดงได้ดังรูปที่ 2.9



รูปที่ 2.9 กลไกการทำงานของไวอากร้า

ที่มา: Rotella (2001)

Virag (1999) ทำการศึกษาถึงความพึงพอใจของยาไวอากร้าจากอาสาสมัครเพศชายที่มีอายุเฉลี่ย 58 ปี จำนวน 157 คน พบว่าร้อยละ 31.84 พึงพอใจมาก ร้อยละ 29.29 พึงพอใจปานกลาง และร้อยละ 38.85 ไม่พึงพอใจในยาชนิดนี้ และจากการศึกษาอาการแทรกซ้อนที่เกิดจากยาไวอากร้าพบว่าร้อยละ 25 ไม่พบอาการแทรกซ้อนซึ่งเกิดจากยาไวอากร้าส่วนอาการแทรกซ้อนที่เกิดแสดงดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 อาการแทรกซ้อนที่เกิดจากยาไวอากร้าเมื่อทำการทดสอบกับอาสาสมัครจำนวน 157 คน

Adverse Event	No. of Patients (%)
Flush	14 (9)
Headache	13 (8)
Dizziness	14 (9)
Dyspepsia	1 (0.64)
Blue vision	5 (3.18)
Nasal obstruction	1 (0.64)
Decrease of efficacy	3 (1.91)

ที่มา : Virag (1999)

นอกจากนี้ยาในกลุ่ม PDE 5 inhibitor ที่มีการจำหน่าย และการมีการใช้อย่างแพร่หลายในปัจจุบันได้แก่ vardenafil hydrochloride (Levitra) และ tadalafil (Cialis) แต่อย่างไรก็ตามแม้ว่ายากลุ่มนี้จะมีผลการรักษาที่ดีมาก แต่ก็มีข้อห้ามที่สำคัญมากคือ ห้ามใช้ในคนไข้ที่รับประทานยากลุ่มไนเตรต เช่น isosorbide ISMO และ ยากลุ่มไนโตรกลีเซอรีนทุก ๆ ชนิด ซึ่งเป็นยาที่ใช้ในคนไข้หัวใจขาดเลือด ซึ่งพบได้มากถึงร้อยละ 15 ของคนไข้โรคหย่อนสมรรถภาพทางเพศ เนื่องจากการรับประทานยากลุ่มไนเตรต เช่น nitroglycerin จะทำให้ระดับของสารไนตริกออกไซด์ ซึ่งปกติมีอยู่น้อยมากในกระแสเลือดเพิ่มมากขึ้นกว่าปกติมาก ดังนั้นเมื่อทานยากลุ่ม PDE-5 inhibitor เข้าไป ก็จะทำให้ระดับของ cGMP มากกว่าปกติ ทำให้หลอดเลือดขยายตัว และความดันโลหิตลดลงได้ถึง 30-40 มิลลิปรอท ทำให้เกิดอาการช็อกหมดสติได้ จึงเป็นอันตรายแก่ผู้ที่รับประทานยาทั้งสองชนิดนี้พร้อม ๆ กัน (สมบุญ เหลืองวัฒนากิจ , 2551) นอกจากนั้นยากลุ่มนี้มีผลข้างเคียงที่พบได้คือ อาการหน้าแดง ปวดศีรษะ คัดจมูก อาหารไม่ย่อย และตาพร่า ดังนั้นการรับประทานยาจึงต้องอยู่ในการควบคุมของแพทย์

ข. ยาในกลุ่ม alpha blocker ได้แก่ โยฮิมบีน (yohimbine [Procomil]) โยฮิมบีนมีกลไกการออกฤทธิ์แบบ central conditioner และ peripheral initiator โดยมีฤทธิ์แบบ α_2-adrenoceptor antagonist ทำให้กล้ามเนื้อเรียบของ cavernous artery คลายตัว และทำให้องคชาตเกิดการแข็งตัวขึ้น (อนุพันธ์ ตันติวงศ์, 2544) ขนาดของยาที่ใช้ประมาณ 18-30 มิลลิกรัม รับประทานติดต่อกัน 1-3 เดือน แต่การรับประทานโยฮิมบีนติดต่อกันนานเกินไปอาจเกิดอาการข้างเคียงขึ้นได้ เช่น เหงื่อออก คลื่นไส้อาเจียน กระสับกระส่าย และความดันโลหิตสูงขึ้น ซึ่งจะเกิดอันตรายถ้าใช้กับผู้ที่มีความดันโลหิตสูง

ค. ยาอะโปมอร์ฟีน (apo-morphine) หรือชื่อทางการค้าว่า Uprima หรือ Ixense เป็น dopaminergic D_2 receptor agonist ซึ่งกระตุ้นโดปามีน (dopamine) ทำให้เกิดการออกฤทธิ์ผ่านประสาทส่วนกลาง หรือสมองส่วน hypothalamus ให้ส่งสัญญาณไฟฟ้าไปตามประสาทไขสันหลังเพื่อเพิ่มการไหลเวียนของเลือดไปที่ลำอวัยวะเพศชาย ซึ่งมีวิธีการใช้คืออมใต้ลิ้นนาน 10 นาที มีประสิทธิภาพประมาณร้อยละ 50 ได้ผลเร็วภายใน 30 นาที ส่วนผลข้างเคียงของ apo-morphine พบค่อนข้างน้อยและไม่รุนแรงโดยขึ้นกับขนาดของยา อาการส่วนใหญ่ได้แก่ คลื่นไส้ พบได้ประมาณร้อยละ 2.1 ถึงร้อยละ 39 (อนุพันธ์ ตันติวงศ์, 2544)

ง. ยาสอดทางท่อปัสสาวะ หรือ Medicated Urethral System for Erection (MUSE) จะมีตัวยา prostaglandin E-1 ซึ่งออกฤทธิ์เป็นยาขยายหลอดเลือด แต่การใส่ทางท่อปัสสาวะต้องใช้ขนาดยาสูง และร้อยละ 30 มีอาการแสบในองคชาต อีกทั้งราคาค่อนข้างสูงจึงไม่ค่อยได้รับความนิยมมากนัก อย่างไรก็ตามจัดว่าเป็นยาที่มีความปลอดภัยสูง

จ. ยาฉีดเข้าโคนองคชาต (intracavernous injection therapy; ICI) ยาที่นิยมใช้คือ papaverine hydrochloride, phentolamine และ alprostadil (Caverject) ยาเหล่านี้จะทำให้หลอดเลือดขยาย จะเริ่มออกฤทธิ์หลังจากฉีดไปแล้ว 5-20 นาทีและออกฤทธิ์ได้นาน 1 ชั่วโมง ได้ผลดีถึงร้อยละ 90

ขยาย จะเริ่มออกฤทธิ์หลังจากฉีดไปแล้ว 5-20 นาทีและออกฤทธิ์ได้นาน 1 ชั่วโมง ได้ผลดีถึงร้อยละ 90 แต่จะทำให้เกิดผลข้างเคียงคือ มีอาการปวดหลังการฉีดได้บ่อย ทั้งยังมีราคาแพง จึงหมดความนิยมลงไป

ฉ. การใส่ยาเม็ด alprostadil (Muse) เข้าทางท่อปัสสาวะจะเริ่มออกฤทธิ์ในเวลา 8-10 นาที และอยู่ได้นาน 30-60 นาที และต้องใช้ยางรัดไว้เพื่อให้อวัยวะเพศแข็งตัวนาน ผลข้างเคียงมีการระคายเคืองต่อท่อปัสสาวะ อัณฑะ และอาจจะมีเลือดออกจากท่อปัสสาวะได้

2. การรักษาโดยใช้อุปกรณ์เสริม ได้แก่การใชปั๊มสูญญากาศ (vacuum devices) เป็นวิธีการรักษาง่าย ๆ ที่ได้ผลดี เกือบร้อยละ 90 แต่ความไม่เป็นธรรมชาติ อีกทั้งการต้องใช้ยางรัดที่โคนองคชาตอาจทำให้ผู้ใช้รำคาญ รู้สึกชา หลั่งน้ำอสุจิไม่สะดวก จึงได้รับความนิยมไม่มากนัก อย่างไรก็ตามเป็นวิธีทางเลือกที่เหมาะกับผู้ที่มีรายได้น้อย เพราะลงทุนเพียงครั้งเดียว

3. การผ่าตัดใส่แกนองคชาตเทียม เป็นการรักษาอาการหย่อนสมรรถภาพที่เกิดจากความผิดปกติของระบบไหลเวียนเลือดภายในองคชาต ซึ่งจะได้ผลดีในผู้ป่วยที่อยู่ในวัยผู้ใหญ่ แต่จะไม่ได้ผลหากเป็นผู้ป่วยวัยชรา แกนองคชาตเทียมที่ได้รับความนิยมจะเป็นแบบ 3 ชิ้น คือ มีแกน 2 แกน ปั๊มน้ำ และถุงเก็บน้ำ การผ่าตัดทำได้ค่อนข้างง่าย มีประสิทธิภาพสูง ใกล้เคียงธรรมชาติ จะได้ผลดีแต่มีข้อเสียคือมีราคาแพงมาก (National Kidney and Urologic Diseases Information Clearinghouse, 2005)

2.8 การใช้สมุนไพรในการรักษาอาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศ

สมุนไพรมีจำนวนมากมายหลายชนิด เป็นที่รู้จักและมีการใช้กันอย่างแพร่หลายทั้งในอดีตจนถึงปัจจุบัน สมุนไพรมีความหมายต่อชีวิตมนุษย์โดยเฉพาะทางสุขภาพ อันได้แก่ การส่งเสริมสุขภาพและการรักษาโรค ซึ่งสมุนไพรแต่ละชนิดจะมีองค์ประกอบและคุณสมบัติในการรักษาโรคที่แตกต่างกัน สมุนไพรที่มีการอ้างถึงสรรพคุณการเป็นยารักษาอาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศนั้นมีหลายชนิด เช่น ม้ากระทืบโรง โด่ไม่รู้ล้ม มะเขือแจ้เครือ แปะก๊วย กำลังช้างเผือก พญาช้างสาร และกำลังเสือโคร่ง เป็นต้น ซึ่งสมุนไพรเหล่านี้ยังไม่มีงานวิจัยมารับรองอย่างชัดเจนว่ามีผลทำให้ผู้ที่หย่อนสมรรถภาพทางเพศมีอาการดีขึ้น แต่อย่างไรก็ตามสมุนไพรชนิดเด่นที่ได้รับการยอมรับและมีงานวิจัยสนับสนุนแล้วคือ กวาวเครือแดง และโสม ซึ่งมีฤทธิ์ที่มีผลช่วยลดอาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศ และยังมีการศึกษากันอย่างต่อเนื่องในปัจจุบัน

2.8.1 กวาวเครือแดง

กวาวเครือแดง หรือ จานเครือ กวาวเครือ ตานจอมทอง ไพ้ตะกุ หรือไพมือ มีชื่อทางพฤกษศาสตร์คือ *Butea superba* Roxb. เป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Papilionaceae กวาวเครือแดงเป็นไม้เลื้อยขนาดใหญ่ ลำต้นใหญ่เปลือกมีเข้มสีน้ำตาล ใบบาง ปลายใบสอบแหลม ดอกสีส้ม ปีนป่ายพันต้นไม้ใหญ่ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 15 เซนติเมตร ยอดอ่อน ใบอ่อน ก้านใบ และก้านดอกมีขนอ่อน สีน้ำตาล ส่วนที่นำมาใช้คือส่วนหัวใต้ดิน

ธนาธิป์ รักศิลป์ (2538) ได้ทำการศึกษาถึงองค์ประกอบทางเคมีในหัวกวาวเครือแดง โดยการสกัดด้วยตัวทำละลายต่างชนิด แล้วแยกด้วยเทคนิคทางโครมาโทกราฟีได้สารประกอบ 5 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 กรดอินทรีย์โซ่ตรง ได้แก่ dodecosanoic acid, tricosanoic acid, tetracosanoic acid, pentacosanoic acid และ hexacosanoic acid

กลุ่มที่ 2 สเตียรอยด์ ได้แก่ campesterol, stigmasterol และ β-sitosterol

กลุ่มที่ 3 สเตียรอยด์ไกลโคไซด์ ได้แก่ β-sitosteryl-3-O-β-D-glucopyranoside และ stigmasteryl -3-O-β-D-glucopyranoside

กลุ่มที่ 4 ฟลาโวนอยด์ ได้แก่ 3,7,5′-trihydroxy-4′-methoxy flavone, 4′-Methoxyfisetin และ 2-(5-hydroxy-4-methoxyphenyl)-3,7-dihydroxy-4H-1-benzopyran-4-one

กลุ่มที่ 5 ฟลาโวนอยด์ไกลโคไซด์ ได้แก่ 4′-methoxyfisetin-7-O-β D-glucopyranoside, 3,5′-dihydroxy-4′methoxyflavone-7-O-β-D-glucopyranoside และ 2-(5-hydroxy-4-methoxyphenyl)-3-hydroxy-4H-1-benzopyran-4-one-7-O-β-D-glucopyranoside

ในปัจจุบันได้มีผู้ทำการศึกษากวาวเครือแดงที่มีผลในการรักษาอาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศ รวมไปถึงผลข้างเคียงต่อร่างกายในระยะยาว และเฉียบพลัน ชัยณรงค์ โตจรัส (2549) ได้ทำการศึกษาผลของสารสกัดกวาวเครือแดงต่อการแข็งตัวขององคชาต ปริมาณอสุจิ และพิษวิทยาในหนูขาว โดยใช้หัวกวาวเครือที่สกัดจากแอลกอฮอล์ พบว่า กวาวเครือแดงจากจังหวัดแพร่มีฤทธิ์ในการเพิ่มความดันเลือดในองคชาต และมีฤทธิ์ทำให้กล้ามเนื้อเรียบคลายตัวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนผลที่มีต่ออสุจิพบว่ากวาวเครือแดงมีผลทำให้สัตว์ทดลองมีปริมาณอสุจิเพิ่มขึ้น และทำให้อสุจิสามารถเคลื่อนไหวได้นานกว่ากลุ่มควบคุม จากการศึกษาพิษแบบเฉียบพลันของกวาวเครือแดงไม่พบการเสีย ชีวิตของหนูขาวในช่วงเวลา 14 วันเมื่อให้สารสกัดขนาดสูง 5,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมแก่สัตว์ทดลอง ส่วนพิษแบบเรื้อรังพบว่า ไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มควบคุม และกลุ่มทดลองทางด้านคลินิก แต่มีความผิดปกติของเม็ดเลือดขาวซึ่งไม่เกินกว่าค่าปกติ

อธิพงษ์ มานะเสถียร (2544) ทำการศึกษาผลของสารสกัดกวาวเครือแดงต่อน้ำหนักตัว หัวใจ ตับ ไต และต่อมหมวกไต จากผลการศึกษาพบว่า ทุกกลุ่มแสดงน้ำหนักตัวเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นต่อวัน และไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางมหกายวิภาค และจุลกายวิภาคของหัวใจ ไต และต่อมหมวกไต เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

2.8.2 โสม (ginseng)

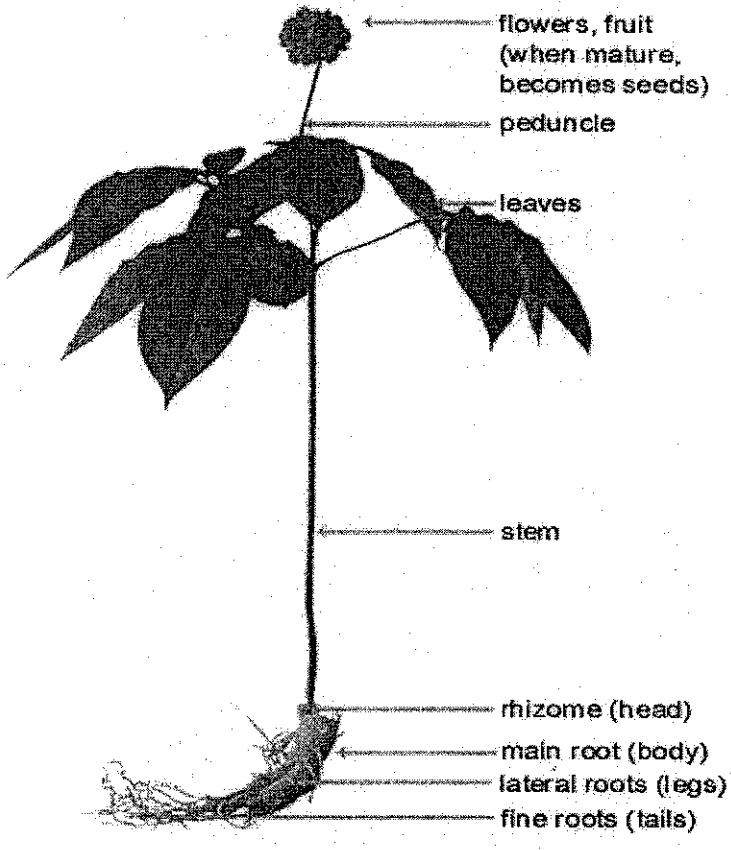
โสม (ginseng) เป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Araliaceae สกุล *Panex* เป็นพืชโตช้า มีอายุมากกว่า 2 ปี มีรากอวบรูปร่างคล้ายคน (คนจีนจึงเรียกว่า ginseng ซึ่งแปลว่า man-root หมายถึง รากไม้ที่มีรูปร่างคล้ายคน) เจริญได้ดีในภูมิอากาศหนาวเย็น มักพบมากในประเทศเกาหลี เขตทางเหนือของประเทศจีน และเขตทางตะวันออกของประเทศไซบีเรีย โสมมีหลายชนิดแต่ชนิดที่ได้รับการยอมรับว่ามีคุณประโยชน์

มาก และมีการวิจัยแล้วนั้นมี 2 ชนิดคือ โสมเกาหลีหรือโสมจีนหรือโสมเอเชีย มีชื่อทางพฤกษศาสตร์ว่า *Panak ginseng* (รูปที่ 2.10) แบ่งได้เป็น 2 ประเภทคือ โสมขาว คือ โสมเกาหลีที่นำรากมาล้างน้ำให้สะอาดแล้วมาตากแดดให้แห้งให้มีความชื้นน้อยกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 12 จะมีสีเหลืองปนขาว ซึ่งกล่าวกันว่าการทำแห้งโดยวิธีนี้จะทำให้สารสำคัญบางชนิดถูกเอนไซม์ที่มีอยู่ในรากโสมย่อยสลายได้ อีกประเภทคือ โสมแดง ซึ่งเป็นโสมที่ได้รับความนิยมสูงสุด เป็นโสมเกาหลีที่นำรากมาล้างน้ำให้สะอาดแล้วนึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำร้อนอุณหภูมิ 120-130 องศาเซลเซียส นาน 2-3 ชั่วโมง ทำให้รากโสมเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแดง จากนั้นนำไปตากแดดให้แห้งสนิท ซึ่งการทำแห้งวิธีนี้จะทำให้เกิดการเปลี่ยน แปลงของสารประกอบบางชนิด และหยุดการทำงานของเอนไซม์ป้องกันการเสื่อมสลายของสารสำคัญเนื่องจากเอนไซม์ในรากโสมได้ โสมอีกชนิดหนึ่งคือโสมอเมริกัน มีชื่อทางพฤกษศาสตร์คือ *Panax quinquefolium* L. เดิมเป็นไม้ป่าทั่วไปจึงเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า wild ginseng มีอยู่ชุกชุมในป่าประเทศแคนาดา และทางตะวันออกเฉียงเหนือของสหรัฐอเมริกา (Wigipedia, 2008b)

รากของโสมมีสารประกอบเคมีที่สำคัญหลายชนิด ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม triterpenoid และ saponins เรียกรวมว่า ginsenosides หรือ panaxosides ปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์ได้ค้นพบแล้วกว่า 50 ชนิด โดยมี ginsenoside Rb1, ginsenoside Rb2, ginsenoside Rg1 และสารประกอบน้ำตาลเชิงซ้อน (polysaccharide) เป็นองค์ประกอบหลักที่แสดงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา นอกจากนั้นในรากโสมยังมีวิตามิน และเกลือแร่โดยเฉพาะเยอร์มาเนียม (germanium) และสารชนิดอื่น ๆ ที่ยังไม่ได้ทำการวิเคราะห์ ซึ่งรากโสมที่ดีจะต้องมีอายุตั้งแต่ 3 ถึง 7 ปีขึ้นไปจึงจะมีสารสำคัญที่เหมาะต่อการนำไปเป็นยาหรือบำรุงร่างกายได้ดีที่สุด ซึ่งในอดีตถึงปัจจุบันโสมได้ถูกนำมาใช้เป็นยาสมุนไพรที่มีสรรพคุณบำรุงกำลัง บำรุงร่างกาย แก้อาการเหนื่อยอ่อนเพลีย ลดน้ำตาลและไขมันในเลือด กระตุ้นระบบประสาทส่วนกลางทำให้รู้สึกกระปรี้กระเปร่า ช่วยให้โลหิตไหลเวียนได้ดี ช่วยเสริมสมรรถภาพทางเพศ และชะลอความแก่

ด้วยเหตุนี้ โสมจึงเป็นสมุนไพรที่ถูกนำมาวิจัยถึงคุณสมบัติการเป็นยารักษาอาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศมากที่สุด โดยเฉพาะโสมแดงเกาหลี ซึ่งในประเทศจีนเชื่อว่าโสมช่วยส่งเสริมพละกำลัง เพิ่มฮอร์โมนเพศชายซึ่งจะส่งเสริมให้มีพฤติกรรมทางเพศที่ดีขึ้น (Low and Tan, 2007) มีงานวิจัยเกี่ยวกับโสมรายงานว่า เมื่อทดลองให้กระต่ายได้รับโสมแดงเกาหลี 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว เป็นเวลานาน 3 เดือน พบว่าความดันเลือดในองคชาตของกระต่ายสูงขึ้นจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Choi, Rha, and Choi, 1999) Hong, Ji, Hong, Nam, and Ahn (2002) ทำการศึกษาผลของโสมแดงเกาหลีต่อผู้ป่วยที่มีอาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศจำนวน 45 คน แบบสุ่มปิดการรักษาทั้งสองทาง ที่มียาไม่ออกฤทธิ์เป็นตัวควบคุม โดยจะมีผู้ทดสอบที่ได้รับประทานโสมแดงเกาหลี 3 ครั้งต่อวัน ครั้งละ 900 มิลลิกรัม และผู้ทดสอบที่ได้ยาไม่ออกฤทธิ์ ติดต่อกันนาน 8 สัปดาห์ หยุดรับประทาน 2 สัปดาห์ และรับประทานต่ออีก 2 สัปดาห์ จากนั้นให้ผู้ทดสอบทั้งหมดตอบแบบสอบถามสมรรถภาพเพศชาย (International Index of Erectile Function, IIEF) พบว่าผู้ทดสอบที่ได้รับโสมแดงเกาหลีจะมีสมรรถภาพเพศชายที่ดีกว่าผู้ทดสอบที่ได้รับยาไม่ออกฤทธิ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือองคชาตจะแข็งตัวและสามารถสอดองคชาตเข้า

ไปในช่องคลอดได้สูงกว่า และสามารถแข็งตัวได้นานพอที่จะทำภารกิจจนประสบผลสำเร็จ ซึ่งแตกต่างจากผู้ทดสอบที่ได้รับยาไม่ออกฤทธิ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนั้นยังมีรายงานการวิจัยถึงผลของโสมเกาหลีต่ออสุจิ โดยให้หนูทดลองอายุ 8 สัปดาห์กินโสมเกาหลี 1.0 กรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวต่อวัน นาน 56 วัน พบว่าเซลล์อสุจิของหนูทดลองที่ได้รับโสมเกาหลีจะมีปริมาณมากกว่า และมีการเคลื่อนที่ดีกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (Park et al., 2007)



รูปที่ 2.10 ลักษณะผล ใบ ต้น และรากของโสม

ที่มา: The House of Ginseng (2005)

บทที่ 3
วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 การเตรียมตัวอย่างสมุนไพร

สมุนไพรที่ใช้ในการทดลองมีทั้งหมด 4 ตำรับ ซึ่งแต่ละตำรับจะมีชนิดของสมุนไพร และสัดส่วนปริมาณสมุนไพรที่แตกต่างกันออกไป ดังนี้

ตำรับที่ 1 ประกอบด้วยสมุนไพรหลัก เช่น โด่ไม่รู้ล้ม (ลำต้นและใบ) กำลังเสือโคร่ง (ลำต้น) และโคคลาน (ลำต้น) เป็นต้น

ตำรับที่ 2 ประกอบด้วยสมุนไพรหลัก เช่น บอระเพ็ด (เถา) แห้วหมู (หัวใต้ดิน) และพริกไทยดำ (เมล็ด) เป็นต้น

ตำรับที่ 3 ประกอบด้วยสมุนไพรหลัก เช่น กำลังวัวเถลิง (ลำต้น) ว่านสากเหล็ก (ลำต้น) และกำแพงเจ็ดชั้น (ลำต้น) เป็นต้น

ตำรับที่ 4 ประกอบด้วยสมุนไพรหลัก เช่น ดอกจันทร์ บัวหลวง (เกสร) และกานพลู (ดอก) เป็นต้น

นำส่วนของสมุนไพรแต่ละตำรับมาล้างน้ำให้สะอาด ทำการลดขนาดโดยหั่นเป็นชิ้นเล็ก ตากแดดทิ้งไว้ หลังจากนั้นนำไปอบที่ตู้อบแห้งแบบถาด (135/60/180, Newway, Thailand) โดยใช้อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หรือจนกว่าจะได้สมุนไพรที่แห้งสนิท หลังจากนั้นจึงนำสมุนไพรแต่ละตำรับไปบดให้เป็นผงละเอียด และเก็บใส่ถุงพลาสติกมัดปากถุงให้แน่น เก็บไว้ในที่แห้งรอการนำไปใช้ในขั้นตอนต่อไป

3.2 การทดลองวิธีการสกัดสมุนไพร

นำผงสมุนไพรทั้ง 4 ตำรับมาทดลองสกัดสารสำคัญตามวิธีที่ดัดแปลงจาก Vudhivanich (2003) Chao, Chiang, Wang, Tsai, and Wu (2006) Ingkaninan, Temkitthawon, Chuenchom, Yuyaem, and Thongnoi (2003) และ Sriwanthana, Treesangsri, Boriboontrakul, Niumsakul, and Chavalittumrong (2007)โดยใช้น้ำกลั่น เมทานอลเข้มข้นร้อยละ 85 โดยปริมาตร และเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 40, 60 และ 95 โดยปริมาตร เป็นตัวทำละลาย และใช้อัตราส่วนของสมุนไพรต่อตัวทำละลายเท่ากับ 1 ต่อ 9 ทำการสกัดที่อุณหภูมิ และเวลาดังต่อไปนี้

3.2.1 สกัดด้วยน้ำกลั่น

- อุณหภูมิ 50, 70 และ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
- อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน

3.2.2 สกัดด้วยเมทานอลเข้มข้นร้อยละ 85 โดยปริมาตร

- อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 1, 2 และ 4 ชั่วโมง
- อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน

3.2.3 สกัดด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 40 โดยปริมาตร

- อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
- อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน

3.2.4 สกัดด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 60 โดยปริมาตร

- อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 1, 2 และ 4 ชั่วโมง
- อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน

3.2.5 สกัดด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 โดยปริมาตร

- อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
- อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน

หลังจากสกัดตจมสภาวะ และเวลาที่กำหนดดังกล่าวจึงทำการแยกสารละลาย และกากออก โดยใช้เครื่องปั่นเหวี่ยง (RC 5CPLUS, Sorvall, Newtown, U.S.A.) ที่ความเร็ว 9000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส จากนั้นนำมากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 (Whatman International Ltd., England) จนได้สารละลายใส ทำการเจือจางตัวอย่างให้มีความเจือจาง 2 ด้วยตัวทำละลายชนิดเดียวกันกับที่ใช้ในการสกัด จากนั้นนำสารละลายที่เจือจางไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-visible spectrophotometer (Libra S22, biochrom, England) ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ทำการวัดตัวอย่างละ 2 ซ้ำ

3.3 การสกัดสมุนไพร

ชั่งตัวอย่างผงสมุนไพรทั้ง 4 ตำรับ และเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 60 โดยปริมาตร อัตราส่วน 1 ต่อ 4 แล้วจึงนำมากวนผสมเป็นเวลา 3 วัน ด้วย hot plate (Stuart Heat-Stir CB162, U.S.A.) ที่มีแท่งแม่เหล็กเป็นตัวผสม เพื่อทำให้เอทานอล และผงสมุนไพรได้สัมผัสกันเกิดการสกัดที่มีประสิทธิภาพสูงสุด เมื่อครบเวลาจึงนำมากรองด้วยผ้าขาวบางหนา 4 ชั้น จากนั้นคั้นบีบเอาแต่น้ำจนได้กากสมุนไพรที่มีลักษณะแห้ง เก็บส่วนของสารละลายที่ได้นำไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ส่วนกากสมุนไพรนำไปสกัดครั้งที่ 2 โดยเติมเอทานอลข้มข้นร้อยละ 60 โดยปริมาตร ในอัตราส่วน 1 ต่อ 4 และนำไปกวนผสมบน hot plate อีกครั้งเป็นเวลา 2 วันเมื่อครบเวลาจึงนำมากรองด้วยผ้าขาวบาง และคั้นจนเหลือแต่กาก นำส่วนของเหลวที่กรองได้ผสมกันแล้วนำไปกรองอีกครั้งด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 นำสารละลายที่สกัดได้ไประเหยเอทานอลออกด้วยเครื่องระเหยแบบสูญญากาศ (BUCHI Rotavaper model R-114, Switzerland) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ความดัน 120 มิลลิบาร์ เมื่อระเหยเอทานอลออกหมดแล้ว จึงกำจัดน้ำออกโดยการใช้เครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dryer) (LYOVAC GT2-

S, GEA Lyophil GmbH, Geramany) จะได้ผงสีน้ำตาลแห้ง เก็บไว้ในถุงปิดสนิทในโถดูดความชื้นป้องกันการดูดน้ำกลับคืน

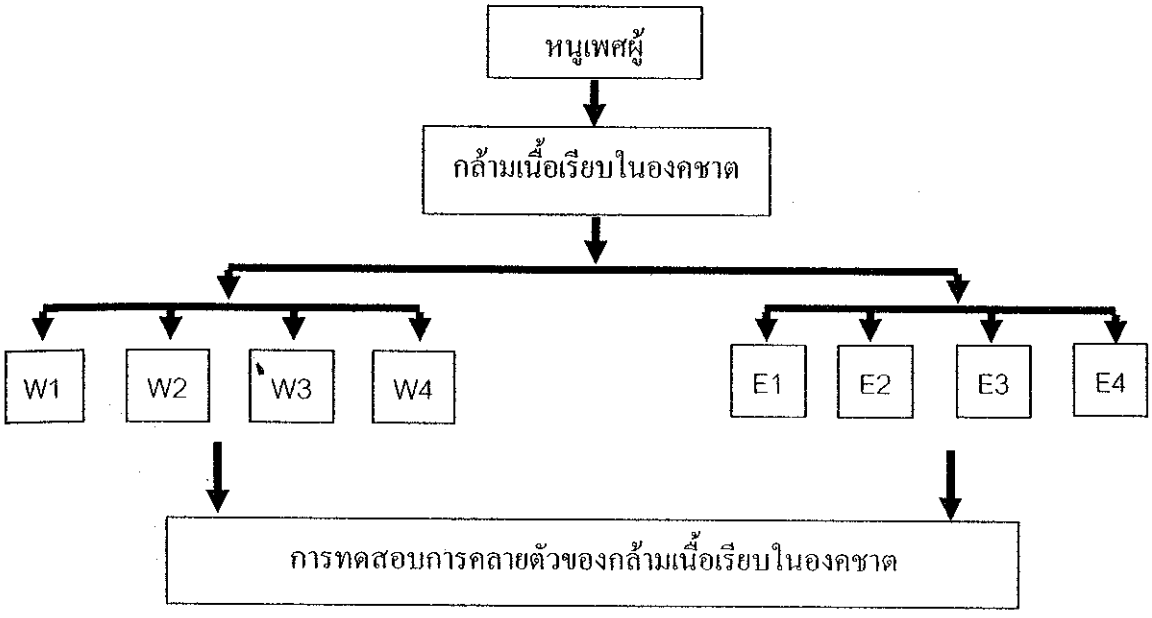
3.4 สัตว์ทดลอง

หนูแรทเพศผู้และเพศเมียสายพันธุ์ Sprague-Dawley ในการทดลองนี้ใช้หนูเพศผู้ทั้งอายุเริ่มตั้งแต่ 8 สัปดาห์จนถึงหนูแก่ ส่วนเพศเมียจะใช้หนูสาวอายุ 8-10 สัปดาห์ จากสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติศาลายา มหาวิทยาลัยมหิดล นำมาเลี้ยงที่ห้องควบคุมแสง light-dark cycle เท่ากับ 12:12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิให้คงที่ 25±2 องศาเซลเซียส และควบคุมไฟให้เปิดในช่วงเวลา 6.00-18.00 น. หนูทดลองได้รับอาหารและน้ำอย่างเพียงพอตลอดการทดลอง ขั้นตอนการใช้สัตว์ทดลองจะดำเนิน การตามข้อกำหนดของจรรยาบรรณการใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ (สภาวิจัยแห่งชาติ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ปี พ.ศ. 2549)

3.5 การคัดกรองสารสกัดสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบในองคชาต

ทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดสมุนไพรต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบในองคชาต ประกอบด้วย สารสกัดสมุนไพรที่สกัดด้วยน้ำจำนวน 4 ตำรับ (W1, W2, W3 และ W4) และสารสกัดสมุนไพรที่สกัดด้วยเอทานอลจำนวน 4 ตำรับ (E1, E2, E3 และ E4) โดยใช้ความเข้มข้นที่ 0.01, 0.1, 1 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังรูปที่ 3.1 จากนั้นวัดการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบในองคชาตของหนูทดสอบเปรียบเทียบก่อนและหลังการให้สารสกัดสมุนไพรตามวิธีของ Tocharus, Smitasiri, and Jeenapongsa (2006) โดยทำการสลบหนูด้วย pentobarbital sodium (Nembutal®, 35 mg/kg) ทางหน้าท้อง แล้วทำการแยก penis ของหนูออกมา จากนั้นทำการผ่าแยกเอาเฉพาะเนื้อเยื่อส่วน corpus cavernosum แล้วจึงนำเนื้อเยื่อใส่ไว้ในบัฟเฟอร์ HPSS (Hepes-buffered physiological salt solution) ที่ประกอบด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 140 มิลลิโมลาร์ โพแทสเซียมคลอไรด์ 5 มิลลิโมลาร์ แคลเซียมคลอไรด์ 2 มิลลิโมลาร์ แมกนีเซียมคลอไรด์ 1 มิลลิโมลาร์ HEPES 5 มิลลิโมลาร์ กลูโคส 11 มิลลิโมลาร์ ความเป็นกรด-ด่าง 7.4 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และมีออกซิเจนร้อยละ 100 จากนั้นทำการแขวนชิ้นของเนื้อเยื่อติดกับ probe ส่วนอีกข้างหนึ่งติดกับ force transducer ที่ต่อกับเข้ากับ เครื่องคอมพิวเตอร์ที่มีโปรแกรม MacLab สำหรับการอ่านค่าความแรงของการหดตัวและคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบโดยเริ่มด้วยการหยดสาร 10^{-6}M phenylephrine เข้าไปเพื่อให้กล้ามเนื้อเกิดการหดตัว จากนั้นทำการล้างกล้ามเนื้อด้วยบัฟเฟอร์ 3 ครั้ง เป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง แล้วจึงหยดสารสกัดสมุนไพรไทยที่ความเข้มข้นแตกต่างกันลงไป เพื่อทดสอบการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบในองคชาตโดยกำหนดให้ค่าความแรงของการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบก่อนการหยดสาร phenylephrine เท่ากับร้อยละ 100 หรือมีค่าความแรงของการหดตัวร้อยละ 0 ทำการศึกษาเปรียบเทียบกับสาร isobutyl-methylxanthine (IBMX) และ cGMP ซึ่งเป็น non-selective phosphodiesterase inhibitor ผลของสารสมุนไพรไทยต่อการคลายตัว

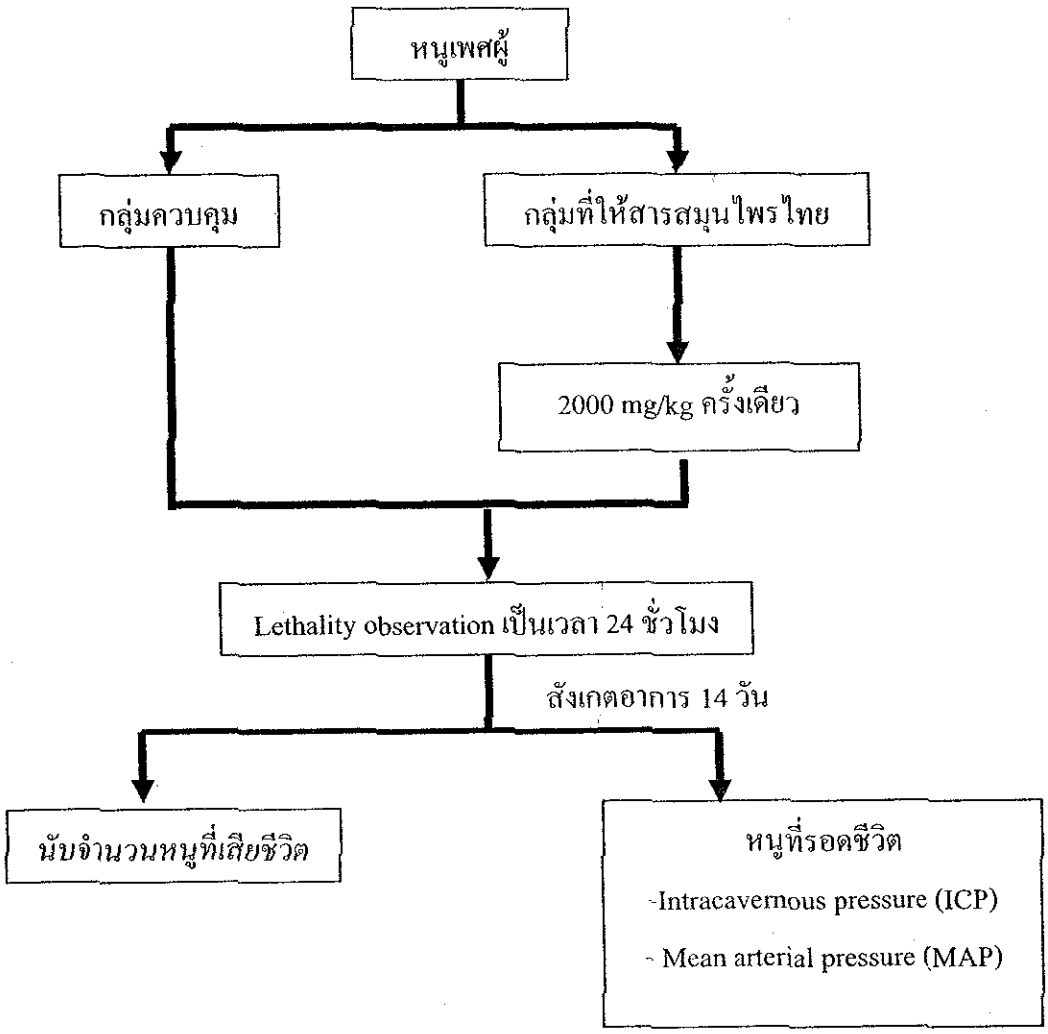
ของกล้ามเนื้อเรียบดูจากการใช้สารสมุนไพรไทยอย่างเดียว หรือการใช้สารสมุนไพรไทยร่วมกับ IBMX หรือ cGMP จากผลการทดลองนี้จะทำให้ทราบกลไกการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบในองคชาตที่ถูกเหนี่ยวนำโดยสารสกัดสมุนไพรไทย ซึ่งการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบในองคชาตถ้ามีมากจะทำให้เลือดไหลเข้ามาคั่งในองคชาตมากด้วย ส่งผลให้เกิดการแข็งตัวขององอวัยวะเพศมากขึ้น



รูปที่ 3.1 แผนผังการคัดกรองสารสกัดสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบในองคชาต

3.6 การศึกษาพิษแบบเฉียบพลันของสมุนไพรไทย (acute toxicity)

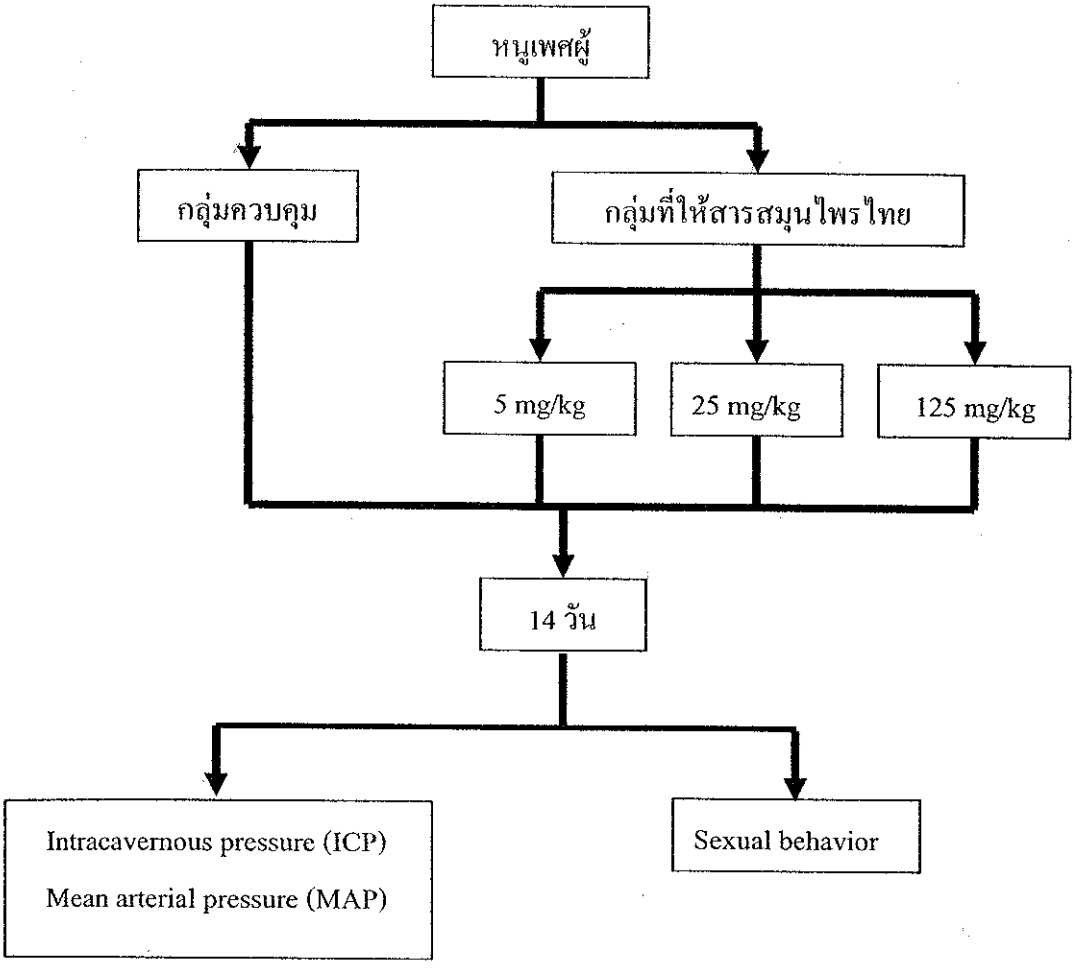
ทำการทดสอบความเป็นพิษแบบเฉียบพลันของสมุนไพรไทยตามวิธีของ Tocharus, Smitasiri, and Jeenapongsa (2006) โดยนำสารสกัดสมุนไพรที่สามารถทำให้กล้ามเนื้อเรียบในองคชาตคลายตัวได้มากที่สุด มาทำการป้อนให้หนูกินโดยทำการป้อนทางปากเพียงครั้งเดียวที่ความเข้มข้น 2000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม หลังจากนั้นบันทึกผลความผิดปกติต่าง ๆ เช่น ตาย ท้องเสีย เดินโซเซไม่ตรงทาง อาเจียน อาการหนาวสั่น โดยเฝ้าดูอาการอย่างใกล้ชิดตลอดในช่วง 24 ชั่วโมงแรก ถ้ายามีความเป็นพิษสูงสัตว์มักจะตายในช่วงเวลานี้ หลังจากนั้นถ้าสัตว์ไม่ตายจะเลี้ยงตามปกติต่อไป ดังรูปที่ 3.2 โดยจะเลี้ยงไว้นาน 14 วัน สัตว์จะได้น้ำและอาหารตามปกติ จากนั้นนำมาทำการวัดค่าความดันเลือดในองคชาต (intracarvernous pressure; ICP) และความดันเลือดของร่างกาย (mean arterial pressure; MAP) แล้วทำการเปรียบเทียบค่าดังกล่าวกับหนูกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับสารสกัดสมุนไพร



รูปที่ 3.2 แผนผังการศึกษาพิษแบบเฉียบพลันของสมุนไพรไทย

3.7 การศึกษาผลของสมุนไพรไทยในสัตว์ทดลองติดต่อกันนาน 14 วัน

แบ่งหนูเพศผู้ออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มแรกเป็นกลุ่มควบคุมจะป้อนน้ำกลั่นปริมาตร 1 มิลลิลิตร วันละครั้งนาน 14 วัน กลุ่มที่สองจะเป็นกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรที่ผ่านการคัดกรองที่ความเข้มข้น 5, 25 และ 125 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว ทางปากเป็นเวลานาน 14 วัน ตามวิธีของ Tocharus, Smitasiri, and Jeenapongsa (2006) และ Ag mo, 1997 เมื่อครบกำหนดนำสัตว์ทดลองมาทดสอบพฤติกรรมทางเพศ (sexual behavior) วัดความดันเลือดในองคชาต วัดค่าความดันเลือดของร่างกาย เปรียบเทียบระหว่างหนูกลุ่มควบคุมและหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพร (รูปที่ 3.3)

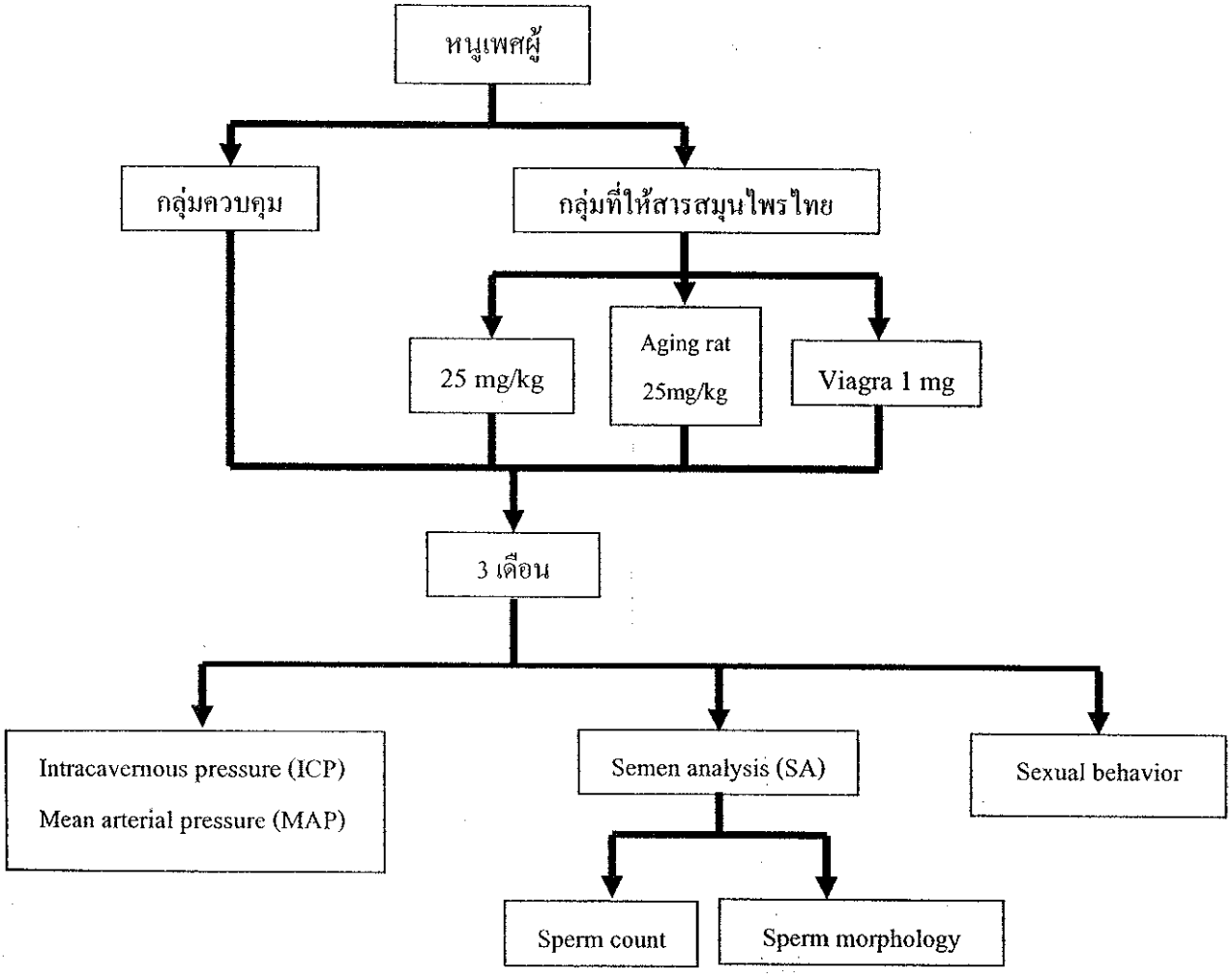


รูปที่ 3.3 แผนผังการศึกษาผลของสมุนไพรไทยในสัตว์ทดลองติดต่อกันนาน 14 วัน

3.8 การศึกษาผลของสมุนไพรไทยในสัตว์ทดลองติดต่อกันนาน 3 เดือน

ศึกษาผลของสมุนไพรไทยในสัตว์ทดลองติดต่อกันนาน 3 เดือน ตามวิธีของ Tocharus, Smitasiri, and Jeenapongsa (2005) Tocharus, Smitasiri, and Jeenapongsa (2006) และ Agmo (1997) โดยแบ่งหนูเพศผู้ออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มแรกเป็นกลุ่มควบคุมทำการป้อนน้ำกลั่นปริมาตร 1 มิลลิลิตร วันละครั้งนาน 3 เดือน กลุ่มที่สองเป็นกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรที่ผ่านการคัดกรอง และยาไวอากร้าโดยแบ่งกลุ่มนี้ออกเป็น 3 กลุ่มย่อย กลุ่มที่ 1 เป็นหนูที่มีอายุเท่ากับกลุ่มควบคุมได้รับสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวต่อวัน กลุ่มที่ 2 เป็นหนูแก่อายุ 2 ปี จะได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวต่อวัน กลุ่มที่ 3 เป็นหนูที่มีอายุเท่ากับกลุ่มควบคุมได้รับยาไวอากร้าที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม (เทียบเท่าในคนได้รับ 100 มิลลิกรัม) ซึ่งทุกกลุ่มจะได้รับสารต่าง ๆ ดังกล่าวทุกวัน วันละครั้งทางปากเป็นเวลานาน 3 เดือน (รูปที่ 3.4) เมื่อครบกำหนดนำสัตว์ทดลองมาทดสอบพฤติกรรมทางเพศ วัดความดันเลือดในองคชาต ทำ semen analysis

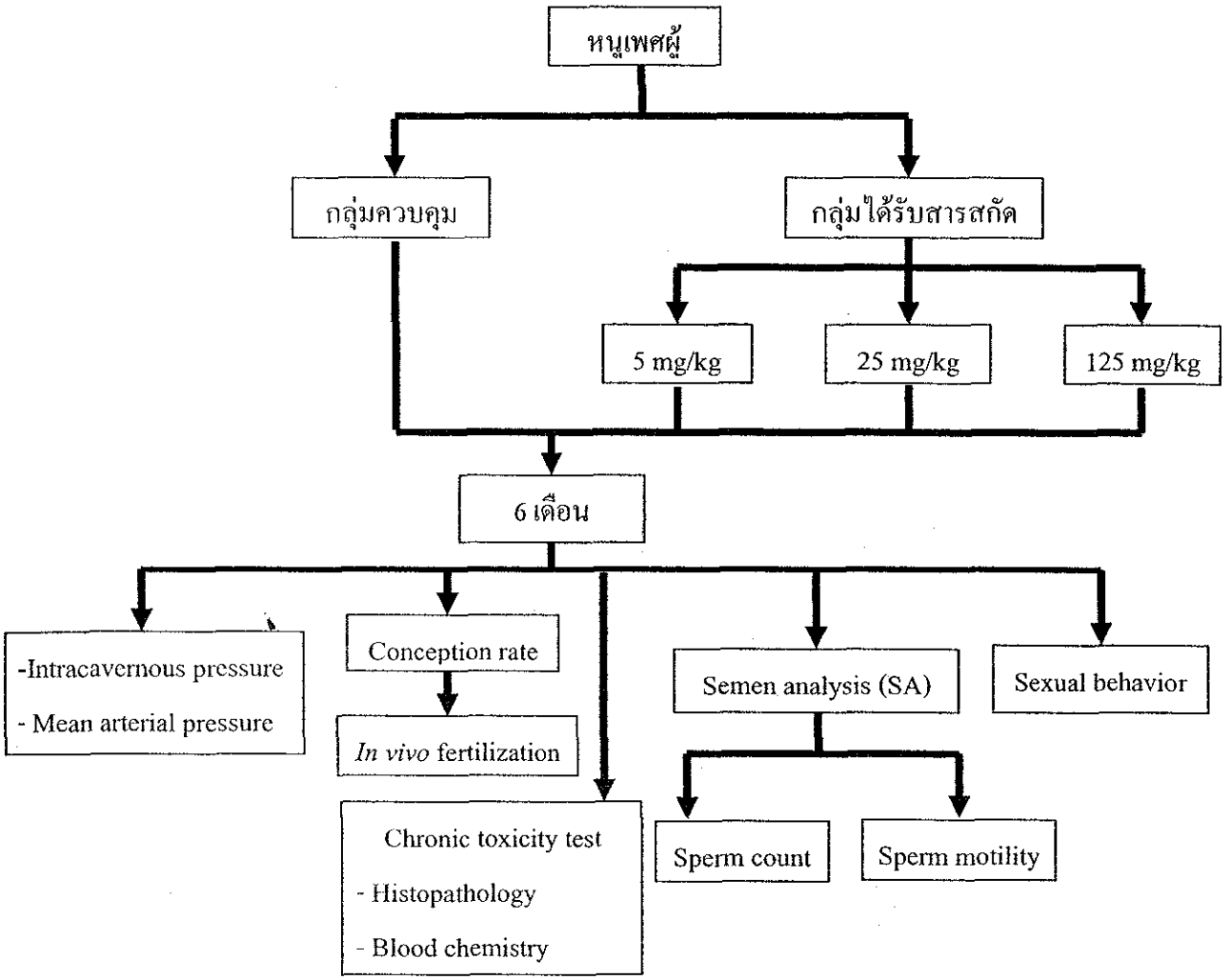
(SA) เพื่อเปรียบเทียบค่าต่าง ๆ ทั้งกลุ่มควบคุมกับกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพร และกลุ่มที่ได้รับยาไวอากร้า



รูปที่ 3.4 แผนผังการศึกษาผลของสมุนไพรไทยในสัตว์ทดลองติดต่อกันนาน 3 เดือน

3.9 การศึกษาผลของสมุนไพรไทยในสัตว์ทดลองติดต่อกันนาน 6 เดือน (chronic toxicity)

แบ่งหนูเพศผู้ออกเป็น 2 กลุ่ม (รูปที่ 3.5) กลุ่มแรกเป็นกลุ่มควบคุมทำการป้อนน้ำกลั่นปริมาตร 1 มิลลิลิตร วันละครั้งนาน 6 เดือน กลุ่มที่สองจะเป็นกลุ่มที่ได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้น 5, 25, 125 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว ทางปากเป็นเวลานาน 6 เดือน (Tocharus, Smitasiri, and Jeenapongsa, 2005; Tocharus, Smitasiri, and Jeenapongsa, 2006) เมื่อครบกำหนดนำสัตว์ทดลองทั้งสองกลุ่มมาตรวจวัดความดันเลือดในองคชาต วัดค่าความดันเลือดของร่างกาย วัดอัตราการปฏิสนธิภายในร่างกาย (*in vivo* fertilization) ตรวจสอบความผิดปกติของสัตว์ทดลองทางเคมีคลินิก (blood chemistry) พยาธิสภาพของอวัยวะภายในร่างกาย (histopathology) นับจำนวนและวัดอัตราการเคลื่อนไหวของเซลล์อสุจิ และทดสอบพฤติกรรมทางเพศ



รูปที่ 3.5 แผนผังการศึกษาผลของสมุนไพรไทยในสัตว์ทดลองติดต่อกันนาน 6 เดือน

3.10 การวัดความดันเลือดในองคชาต และความดันเลือดของร่างกายของสัตว์ทดลอง

(intracavernous pressure; ICP และ mean arterial pressure; MAP)

ทำตามวิธีของ Tocharus, Smitasiri, and Jeenapongsa (2006) โดยหลักจากป้อนสารสกัดสมุนไพรให้หนูทดสอบเป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง ทำการสลบหนูด้วย pentobarbital sodium (Nembutal® 35 mg/kg) โดยการฉีดเข้าช่องท้อง ทำการเปิดผนังตรงถุงหุ้มอัณฑะให้เห็นส่วนของ corpus cavernosum ใช้เข็มเบอร์ 23 ที่ต่อเข้ากับท่อพลาสติกที่ใส่สารโซเดียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 0.9 แล้วผสมด้วยสาร heparin ที่มีความเข้มข้น 100 ยูนิตต่อมิลลิลิตร สอดเข้าไปโดยให้ปลายเข็มอยู่ในส่วนของ corpus cavernosum เพื่อวัดความดันเลือดในองคชาตโดยตรง ขณะเดียวกันใช้เข็มเบอร์ 23 สอดเข้าไปใน หลอดเลือด femoral artery เพื่อวัดความดันเลือดของร่างกาย (mean arterial pressure; MAP) โดยความดันที่วัดทั้งสองตำแหน่งนี้จะต่อกับเครื่องวัดความดันเลือด (blood pressure transducer) และต่อเข้ากับเครื่องแปลงสัญญาณ (Mac Lab/8e ADI Instruments, MA) โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ของ

เครื่อง Macintosh (Mac Lab Software V 4.0, ADI Instruments, MA) หลังจากนั้นทำการกระตุ้นการแข็งตัวขององคชาต โดยทำการผ่าตัดผนังหน้าท้องหนูแล้วเปิดให้เห็นเส้นประสาท (cavernous nerve) ที่ติดกับต่อมลูกหมาก จากนั้นใช้ตะขอตัวนำไฟฟ้ามาคล้องเส้นประสาทนี้ไว้ และทำการกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้าที่ มีความดัน 5 โวลต์ ความถี่ 20 เฮิรตซ์ เป็นเวลานาน 20 มิลลิวินาที แล้ววัดค่าความดันที่เกิดขึ้น จากผลการทดลองนี้จะทำให้ทราบว่าสารสมุนไพรไทยตัวใดที่สามารถกระตุ้นให้เกิดการแข็งตัวขององคชาต และจะไปมีผลต่อความดันโลหิต ของร่างกายหรือไม่

3.11 การทดสอบพฤติกรรมทางเพศของสัตว์ทดลอง (sexual behavior)

หนูเพศเมียน้ำหนัก 200-240 กรัม จำนวน 40 ตัว มาทำการกระตุ้นการเป็นสัดด้วย estradiol benzoate ขนาด 600 ไมโครกรัมต่อตัว ฉีดใต้ผิวหนังและเลี้ยงหนูตามปกติ หลังจากนั้น 72 ชั่วโมง ฉีด progesterone ขนาด 600 ไมโครกรัมต่อตัว ใต้ผิวหนังอีกครั้งก่อนที่จะทำการสังเกตพฤติกรรมประมาณ 6 ชั่วโมง เมื่อครบเวลา 6 ชั่วโมงแล้ว ทำการบันทึกภาพของหนูตัวผู้ต่อหนูตัวเมีย (1:1) ในกรงแก้ว โดยทำการบันทึกแต่ละคู่นาน 20 นาที จากนั้นนับจำนวนที่ทำการผสม หรือจำนวนครั้งที่หนูเพศผู้พยายามผสมหนูตัวเมีย (Agmo, 1997)

3.12 การนับจำนวนเซลล์อสุจิ (sperm count)

นำ cauda epididymis ของหนูมาชั่งน้ำหนัก และแช่ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (saline) เข้มข้นร้อยละ 0.85 บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 10-15 นาที ตามวิธีของ Parveen, Das, Kundra, and Pereira (2003) และ Elangovan, Chiou, Tzeng, and Chu (2006) จากนั้นนำมากรองด้วยตะแกรงร่อน แล้วนำมาเจือจางโดยนำมาผสมกับน้ำยาที่ประกอบด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 157 มิลลิโมลาร์ ฟอร์มาลินร้อยละ 1 และ trypan blue เข้มข้นร้อยละ 0.4 จากนั้นหยดลงใน Neubauer hemocytometor แล้วนับจำนวนของเซลล์อสุจิภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 100 เท่า

3.13 การศึกษาการเคลื่อนไหวของเซลล์อสุจิ (sperm motility test)

ประเมินการเคลื่อนไหวของเซลล์อสุจิที่มีการเคลื่อนไหวแบบ forward progressive movement ใช้วิธีของ Bavister and Andrews (1988) โดยมีขั้นตอนคือ ขั้นแรกเตรียม culture drop เอาไว้ก่อนทำการทดลองโดยใช้น้ำยาเลี้ยงเซลล์อสุจิคือ TALP ขนาด 100 ไมโครลิตร ใส่ไว้ใน culture dish ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 60 มิลลิเมตร และนำไปไว้ในตู้บ่มคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2 incubator) ที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้ทดลอง จากนั้นนำ cauda epididymis มาเจาะเอาเซลล์อสุจิออกมาใส่ใน plastic dish ขนาดเส้นผ่านเส้นกลางศูนย์กลาง 35 มิลลิเมตร ที่มีน้ำยา TALP อยู่ 2 มิลลิลิตร และนำไปใส่ในตู้ CO_2 incubator นาน 3 นาที จากนั้นดูดเซลล์อสุจิใส่ไว้ในน้ำยา TALP ปริมาตร 100 ไมโครลิตรที่เตรียมเอาไว้โดยให้มีความ

หนาแน่นของเซลล์อสุจิเท่ากับ $2x10^6$ spermatozoa ต่อมิลลิลิตร จากนั้นทำการบันทึกผลอัตราการเคลื่อนไหวของเซลล์อสุจิทุก ๆ 2 ชั่วโมง เป็นเวลานาน 6 ชั่วโมง

3.14 การทดสอบผลทางเคมีคลินิก

เก็บเลือดจากสัตว์ทดลองนำไปส่งตรวจ white blood cells (WBC), neutrophil, lymphocyte, monocyte, eosinophil, basophil, red blood cell (RBC), platelet, hemoglobin, hematocrit (HCT), alkaline phosphatase (ALP), aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), glucose, uric acid, creatinine, cholesterol และ triglyceride (ปราณี ชวลิตธำรง, ทรงพล ชีวะพัฒน์, สมเกียรติ ปัญญามัง, สดุดี รัตนจรัสโรจน์, และ เรวดี บุตราภรณ์, 2544)

3.15 การตรวจพยาธิสภาพ (histopathology)

ทำการตัดอวัยวะของสัตว์ทดลองได้แก่ หัวใจ ปอด ตับ ไต ม้าม ต่อมลูกหมาก ท่อพักเซลล์อสุจิ (epididymis) และลูกอัณฑะ (testis) ชั่งน้ำหนักและนำมาแช่ในสารละลายฟอร์มาลินเข้มข้นร้อยละ 10 ทำการตัดชิ้นเนื้อให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ ด้วยใบมีดผ่าตัดให้มีความหนาไม่เกิน 3 มิลลิเมตร และผ่านขั้นตอนการเตรียมชิ้นเนื้อ จากนั้นนำไปย้อมด้วย Hematoxylin และ Eosin (H&E) เพื่อให้เห็นรายละเอียดของเนื้อเยื่อและเซลล์เพื่อศึกษาพยาธิสภาพต่อไป (ปราณี ชวลิตธำรง และคณะ, 2544)

3.16 การทดสอบอายุการเก็บของสารสกัดสมุนไพรตำรับที่ 3 สกัดด้วยเอทานอล

3.16.1 ผลของความชื้นต่อลักษณะปรากฏของสารสกัดสมุนไพร

ทำการทดสอบผลของความชื้นสัมพัทธ์ต่าง ๆ ต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะปรากฏของสารสกัดสมุนไพร โดยดัดแปลงวิธีจาก The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH) (2003) ชั่งตัวอย่างสารสกัดสมุนไพรตำรับที่ 3 สกัดด้วยสารละลายเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 60 โดยปริมาตร ประมาณ 1 กรัมใส่ในจานเพาะเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 60 มิลลิเมตร เกลี่ยตัวอย่างให้กระจายอย่างสม่ำเสมอ ใส่ลงในกล่องควบคุมความชื้นปิดสนิทที่บรรจุสารละลายเกลืออิ่มตัวชนิดที่ทำให้ภายในกล่องมีร้อยละความชื้นสัมพัทธ์ 20, 30, 40, 50, 60, 70 และ 75 ดังตารางที่ 3.1 จากนั้นตั้งกล่องดังกล่าวไว้ที่อุณหภูมิห้อง ตรวจลักษณะปรากฏของสารสกัดสมุนไพรทุกวันจนกว่าจะมีการเปลี่ยนแปลง

3.16.2 การทดสอบหาอายุการเก็บของสารสกัดสมุนไพรโดยใช้สภาวะเร่ง

(The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH), 2003)

ก. ผลของอุณหภูมิต่ออายุการเก็บของสารสกัดสมุนไพร

ชั่งตัวอย่างสารสกัดสมุนไพรตำรับที่ 3 สกัดด้วยสารละลายเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 60

ตารางที่ 3.1 ค่าความชื้นสัมพัทธ์ของสารเกลืออิ่มตัวชนิดต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

ร้อยละความชื้นสัมพัทธ์ (relative humidity)	ชนิดสารละลายเกลืออิ่มตัว
10	LiCl
20	K-acetate
30	$MgCL_2$
40	KCO_3
50	$Mg(NO_3)_2$
60	$CoCl_2$ หรือ $NaNO_2$
70	$SrCl_2$
75	NaCl

ที่มา: ดัดแปลงจาก Labuza (1963)

โดยปริมาตร ประมาณ 1 กรัม ใส่ในจานเพาะเชื้อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 60 มิลลิเมตร เกลี่ยตัวอย่างให้กระจายอย่างสม่ำเสมอ (2 ซ้ำ) สำหรับทดสอบความคงตัวของสารสกัดสมุนไพรด้วยเทคนิค high performance liquid chromatography นำตัวอย่างใส่ลงในกล่องควบคุมความชื้นปิดสนิทที่บรรจุสารละลายเกลือแมกนีเซียมคลอไรด์อิ่มตัว เพื่อให้ภายในกล่องมีร้อยละความชื้นสัมพัทธ์เท่ากับ 30 จากนั้นปิดกล่องให้สนิท และนำไปไว้ในตู้บ่มอุณหภูมิ 40, 50, 55 และ 60 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 เดือน ตรวจผลความคงตัว และปริมาณน้ำอิสระของสารสกัดสมุนไพรเปรียบเทียบกับตัวอย่างเริ่มต้น โดยที่เดือนแรกเก็บตัวอย่างทุก ๆ 7 วัน เดือนที่ 2 ถึง 6 เก็บตัวอย่างทุก ๆ 14 วัน

ข. ผลของความชื้นต่ออายุการเก็บของสารสกัดสมุนไพร

ชั่งตัวอย่างสารสกัดสมุนไพรตำรับที่ 3 สกัดด้วยสารละลายเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 60 โดยปริมาตร ประมาณ 1 กรัมใส่ในจานเพาะเชื้อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 60 มิลลิเมตร เกลี่ยตัวอย่างให้กระจายอย่างสม่ำเสมอ (2 ซ้ำ) สำหรับทดสอบความคงตัวของสารสกัดสมุนไพรด้วยเทคนิค high performance liquid chromatography นำตัวอย่างใส่ลงในกล่องควบคุมความชื้นปิดสนิทที่บรรจุสารละลายเกลืออิ่มตัวชนิดที่ทำให้ให้ภายในกล่องมีร้อยละความชื้นสัมพัทธ์เท่ากับ 30, 40 และ 50 จากนั้นนำกล่องดังกล่าวใส่ในตู้บ่มอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 เดือน ตรวจผลความคงตัว และปริมาณน้ำอิสระของสารสกัดสมุนไพรเปรียบเทียบกับตัวอย่างเริ่มต้น โดยที่เดือนแรกเก็บตัวอย่างทุก ๆ 7 วัน เดือนที่ 2 ถึง 6 เก็บตัวอย่างทุก ๆ 14 วัน

3.16.3 การทดสอบความคงตัวของสารสกัดสมุนไพรโดยใช้เทคนิค high performance liquid chromatography (HPLC)

เตรียมสารละลายสารสกัดสมุนไพรเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยชั่งตัวอย่างสารสกัดสมุนไพร 0.1000±0.0002 กรัม ใส่ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร ละลายตัวอย่างและปรับปริมาตรให้ครบด้วยสารละลายเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 60 โดยปริมาตร เขย่าให้สารสกัดละลาย และตั้งทิ้งไว้ค้างคืนที่อุณหภูมิห้อง เพื่อให้เกิดการละลายอย่างสมบูรณ์ จากนั้นเจือจางสารละลายสารสกัดสมุนไพรดังกล่าวให้มีความเข้มข้น 80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำสารละลายที่ได้กรองผ่านตัวกรอง (syringe filters) ชนิด cellulose acetate ที่มีขนาดรู 0.45 ไมโครเมตร บรรจุในขวดปิดสนิทแล้วนำไปแช่เยือกแข็งอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC

นำตัวอย่างที่เตรียมได้มาวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของสารประกอบด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatograph-Photodiode Array Detector (Hewlett Packard series 1100, Germany) โดยใช้คอลัมน์ RP-18 ODS Hypersil (250x4 mm, 5 µm particle size) (Hewlett Packard, ODS Hypersil, Germany) ตามสภาวะดังนี้ (ดัดแปลงจาก Zhao, Huang, Shan, Xinag, and Mei, 2005)

Mobile phase: 0 min=60% water-acetic acid (100:0.1, v/v) : 40% acetonitrile

15 min=50% water-acetic acid (100:0.1, v/v) : 50% acetonitrile

20 min=40% water-acetic acid (100:0.1, v/v) : 60% acetonitrile

Flow rate: 1 ml/min

Detector: Diode Array Detector (DAD) at 280 nm

Column temperature: room temperature

Volume injection: 30 µl

ในการตรวจวิเคราะห์ใช้โครมาโทแกรมของตัวอย่างควบคุมเป็นแบบสำหรับเปรียบเทียบการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของสารประกอบที่ตรวจพบในตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ

3.16.4 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำอิสระ (water activity, Aw)

วิเคราะห์ปริมาณน้ำอิสระด้วยเครื่องวัดปริมาณน้ำอิสระ (AquaLab, CX2, Washington, U.S.A.) ซึ่งจะวัดปริมาณน้ำอิสระในตัวอย่าง โดยวัดปริมาณความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศเหนือตัวอย่างที่จุดสมดุลด้วยเทคนิค chilled-mirror dewpoint

3.17 การวิเคราะห์เชิงคุณภาพของสารสเตียรอยด์ในสารสกัดสมุนไพร

วิเคราะห์หาสารสเตียรอยด์ในสารสกัดสมุนไพรตำรับที่ 2 สกัดด้วยน้ำร้อนอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง และสารสกัดสมุนไพรตำรับที่ 3 สกัดด้วยสารละลายเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 60 โดยปริมาตร นาน 72 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง โดยนำตัวอย่างดังกล่าวที่ผ่านการทำแห้งแล้วมาชั่งให้ได้น้ำหนัก 0.1000±0.0002 กรัม ใส่ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ละลายตัวอย่างด้วยตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด และปรับปริมาตรให้ครบ จากนั้นเจือจางสารละลายสารสกัดสมุนไพรดังกล่าว

ให้มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำสารละลายที่ได้กรองผ่านตัวกรอง (syringe filters) ชนิด cellulose acetate ที่มีขนาดรู 0.45 ไมโครเมตร บรรจุในขวดสีชาปิดสนิทแล้วนำไปแช่เยือกแข็งอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC

นำตัวอย่างที่เตรียมได้มาวิเคราะห์หาสารสเตียรอยด์ด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatograph-Photodiode Array Detector (Hewlett Packard series 1100, Germany) โดยใช้คอลัมน์ RP-18 ODS Hypersil (250x4 mm, 5 µm particle size) (Hewlett Packard, ODS Hypersil, Germany) ตามสภาวะดังนี้ (ดัดแปลงจาก Grippa et al., 2000)

Mobile phase: Acetonitrile:water (0.1% trifluoracetic acid) (51:49, v/v)

Flow rate: 1.0 ml/min

Detector: Diode Array Detector (DAD) at 242 nm

Column temperature: room temperature

Volume injection: 1 µl

ในการวิเคราะห์ใช้สารละลายมาตรฐาน hydrocortisone dexamethasone และ prednisolone (Sigma Chemical Co. St. Louis, Mo., U.S.A.) ในเมทานอลเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ระบุตำแหน่งของสารมาตรฐาน hydrocortisone deamethasone และ prednisolone ในโครมาโทแกรมของตัวอย่างโดยเปรียบเทียบกับ retention time ของสารมาตรฐานดังกล่าว

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

4.1 ตัวอย่างสมุนไพร

สมุนไพรไทยแต่ละตำรับมีส่วนประกอบของพืชที่เป็นสมุนไพรหลายชนิด โดยมีอัตราส่วนผสมต่าง ๆ เมื่อผ่านกระบวนการทำความสะอาด อบแห้ง และบดละเอียดจะได้ผงสมุนไพรแต่ละตำรับดังรูปที่ 4.1 เนื่องด้วยส่วนประกอบที่แตกต่างกันทำให้สีของผงสมุนไพรมีความแตกต่างกันซึ่งจะขึ้นอยู่กับสีสมุนไพรที่เป็นวัตถุดิบ

รูปที่ 4.1 ลักษณะผงสมุนไพร

4.2 การสกัดสมุนไพร

จากการศึกษาวิธีการสกัดสารสำคัญของสมุนไพรไทยนั้น โดยทั่วไปจะใช้ตัวทำละลายที่เป็นน้ำ สารละลายเอทานอล และเมทานอลที่ความเข้มข้นต่าง ๆ พร้อมกันนั้นจะมีการให้ความร้อนเพื่อให้สารประกอบในสมุนไพรละลายออกมาได้ดีมากยิ่งขึ้น ซึ่งจากการสกัดสมุนไพรทั้ง 4 ตำรับด้วยตัวทำละลายดังกล่าวที่สภาวะต่าง ๆ และวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดที่ 600 นาโนเมตรได้ผลดัง

ตารางที่ 4.1 พบว่า เมื่อให้ความร้อนในระหว่างการสกัดจะทำให้สารสกัดมีค่าการดูดกลืนแสงมากขึ้น ซึ่งมีความเป็นได้ว่าความร้อนน่าจะมีผลช่วยให้เกิดการละลายของสารประกอบในสมุนไพรออกมามากขึ้น นอกจากนั้นสมุนไพรแต่ละตำรับจะมีค่าการดูดกลืนแสงแตกต่างกันแม้ว่าจะใช้ตัวทำละลายเดียวกัน ซึ่งอาจเป็นเพราะสมุนไพรแต่ละตำรับมีองค์ประกอบ และอัตราส่วนของสมุนไพรที่แตกต่างกัน ทำให้สารประกอบที่ละลายออกมามีปริมาณมากน้อยต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของสมุนไพร

การใช้น้ำเป็นตัวทำละลายนั้นพบว่า การสกัดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน จะทำให้ตัวอย่างเกิดการเน่าเสีย มีฟองเกิดขึ้น ซึ่งอาจเป็นการเน่าเสียจากจุลินทรีย์ เนื่องจากในตัวอย่างสมุนไพรมีส่วนประกอบของผลและใบซึ่งมีแป้งเป็นส่วนประกอบ จุลินทรีย์ในอากาศหรือน้ำสามารถเจริญ เติบโตได้โดยใช้แป้งเป็นแหล่งคาร์บอน และอาจมีการสร้างแก๊สซึ่งเป็นผลมาจากกระบวนการเผาผลาญให้ได้พลังงานของจุลินทรีย์จึงทำให้มีกลิ่นเน่าเสีย และมีฟองอากาศเกิดขึ้น ส่วนการใช้น้ำร้อนอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสในการสกัดสมุนไพรทั้ง 4 ตำรับ เป็นเวลานาน 2 ชั่วโมงจะทำให้ได้สารสกัดที่มีค่าการดูดกลืนแสงมากที่สุด โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารสกัดตำรับที่ 4 ซึ่งมีค่าการดูดกลืนแสงสูงถึง 2.367 ซึ่งมีความเป็นไปได้ที่สารประกอบในสมุนไพรจะละลายออกมามากที่สุดเช่นเดียวกัน รองลงมาคือการใช้น้ำร้อนอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส แต่อย่างไรก็ตามการใช้น้ำร้อนอุณหภูมิสูงเกินไปนั้นอาจทำให้สารสำคัญหรือสารอื่น ๆ ที่มีประโยชน์ในสมุนไพรที่ไม่คงตัวต่อความร้อนเกิดการเสื่อมสลาย และอาจส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารประกอบบางชนิด รวมไปถึงคุณสมบัติทางด้านสี และกลิ่นอาจเปลี่ยนแปลงไป อีกทั้งการสกัดที่อุณหภูมิสูงเกินไปจะทำให้เสียค่าใช้จ่ายด้านพลังงานที่สูงยิ่งขึ้นในกรณีของการผลิตยาสมุนไพรในระดับโรงงาน ดังนั้นการสกัดโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายควรทำที่สภาวะน้ำร้อน 50 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง น่าจะเป็นวิธีที่ดีที่สุด ด้วยเหตุนี้จึงนำสารสกัดสมุนไพรที่สกัดด้วยน้ำสภาวะดังกล่าว ไปทดสอบฤทธิ์ที่ทำให้เกิดการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบในองคชาตของสัตว์ทดลองต่อไป

เมื่อพิจารณาการสกัดสารสำคัญในสมุนไพรด้วยเมทานอล พบว่า ได้สารละลายที่มีค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในระดับปานกลางเมื่อเปรียบเทียบกับตัวทำละลายชนิดอื่น แต่อย่างไรก็ตามการสกัดสารสำคัญในสมุนไพรโดยใช้เมทานอลนั้นเป็นสิ่งที่ควรหลีกเลี่ยง เนื่องจากเมทานอลเป็นสารที่มีพิษสูง ซึ่งในกรณีที่เมทานอลตกค้างอยู่ในสมุนไพรอาจทำให้เกิดความเป็นพิษแก่ผู้บริโภคได้

การสกัดสมุนไพรโดยใช้สารละลายเอทานอลที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นวิธีที่นิยมมากที่สุด เนื่องจากจะทำให้ได้สารประกอบที่ละลายทั้งในเอทานอล และ/หรือน้ำไปพร้อมกัน ทั้งยังไม่เป็นพิษ หาได้ง่าย และราคาถูก จากการทดลองพบว่า การเพิ่มความเข้มข้นของเอทานอลมากขึ้นไม่ได้ช่วยให้ค่าการดูดกลืนแสงนั้นมากขึ้น การสกัดด้วยสารละลายเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 60 โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิห้องนาน 3 วัน จะทำให้ได้สารสกัดที่มีค่าการดูดกลืนแสงสูงที่สุด ยกเว้นสมุนไพรตำรับที่ 4 ที่ต้องทำการสกัดโดยใช้สารละลายเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 40 โดยปริมาตร สกัดนาน 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 50

องศาเซลเซียส แต่เมื่อใช้สารละลายเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 โดยปริมาตร กลับทำให้สารสกัดที่ค่าการดูดกลืนแสงต่ำลงอย่างมาก ซึ่งมีความเป็นไปได้ว่าสารประกอบในสมุนไพรที่ละลายได้ดีในน้ำไม่ได้ถูกสกัดออกมา จึงทำให้มีค่าการดูดกลืนแสงต่ำกว่าการใช้สารละลายเอทานอลที่เข้มข้นน้อยกว่า เมื่อพิจารณาโดยภาพรวมจะพบว่า สารละลายเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 60 โดยปริมาตรน่าจะสามารถสกัดสารสำคัญในสมุนไพรออกมาได้ดีที่สุด ดังนั้นจึงเลือกวิธีการสกัดด้วยสารละลายเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 60 โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิห้องนาน 3 วัน และนำสารสกัดสมุนไพรทั้ง 4 ตำรับที่สกัดด้วยวิธีดังกล่าวไปทดสอบฤทธิ์ที่ทำให้เกิดการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบในองคชาตของสัตว์ทดลอง

ตารางที่ 4.1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดสมุนไพรเมื่อใช้ตัวทำละลาย อุณหภูมิ และระยะเวลาต่างๆ

ตัวทำละลาย	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร			
			ตำรับที่ 1	ตำรับที่ 2	ตำรับที่ 3	ตำรับที่ 4
น้ำ	อุณหภูมิห้อง	72	-	-	-	-
	50	2	0.433 ± 0.004^{f}	0.217 ± 0.001^{m}	0.288 ± 0.000^{l}	0.495 ± 0.004^{k}
	70	2	0.636 ± 0.003^{c}	0.396 ± 0.003^{h}	0.418 ± 0.003^{j}	0.683 ± 0.004^{h}
	100	2	1.341 ± 0.004^{a}	1.975 ± 0.004^{a}	1.199 ± 0.001^{a}	2.367 ± 0.001^{a}
เมทานอล ร้อยละ 85 โดยปริมาตร	อุณหภูมิห้อง	72	0.085 ± 0.001^{k}	0.162 ± 0.003^{n}	0.367 ± 0.001^{k}	0.418 ± 0.000^{n}
	50	1	0.385 ± 0.007^{g}	0.460 ± 0.006^{e}	0.518 ± 0.003^{g}	0.595 ± 0.004^{i}
	50	2	0.336 ± 0.000^{i}	0.302 ± 0.003^{k}	0.503 ± 0.001^{h}	0.816 ± 0.006^{d}
	50	4	0.366 ± 0.008^{h}	0.298 ± 0.006^{k}	0.544 ± 0.008^{f}	0.584 ± 0.003^{j}
เอทานอล ร้อยละ 40 โดยปริมาตร	อุณหภูมิห้อง	72	0.482 ± 0.003^{e}	0.324 ± 0.003^{j}	0.686 ± 0.003^{e}	0.504 ± 0.003^{k}
	50	2	0.591 ± 0.001^{d}	0.381 ± 0.001^{i}	0.745 ± 0.001^{d}	0.881 ± 0.004^{b}
เอทานอล ร้อยละ 60 โดยปริมาตร	อุณหภูมิห้อง	72	0.756 ± 0.003^{b}	0.511 ± 0.007^{b}	0.801 ± 0.004^{b}	0.827 ± 0.004^{c}
	50	1	0.594 ± 0.008^{d}	0.406 ± 0.003^{g}	0.743 ± 0.010^{d}	0.763 ± 0.10^{f}
	50	2	0.628 ± 0.003^{c}	0.473 ± 0.001^{d}	0.786 ± 0.003^{c}	0.733 ± 0.001^{g}
	50	4	0.629 ± 0.004^{c}	0.418 ± 0.003^{f}	0.778 ± 0.000^{c}	0.795 ± 0.007^{e}
เอทานอล ร้อยละ 95 โดยปริมาตร	อุณหภูมิห้อง	72	0.292 ± 0.008^{j}	0.246 ± 0.006^{l}	0.426 ± 0.006^{j}	0.452 ± 0.008^{l}
	50	2	0.384 ± 0.003^{g}	0.491 ± 0.001^{c}	0.486 ± 0.003^{i}	0.430 ± 0.006^{m}

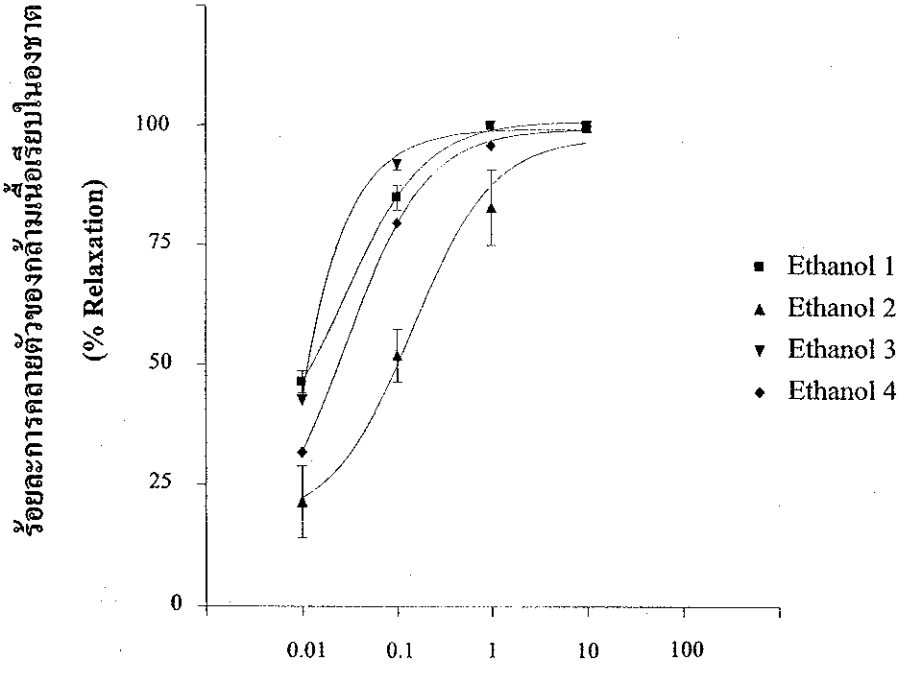
หมายเหตุ: - หมายถึง ไม่ได้วัดค่าการดูดกลืนแสง

ตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้งแสดงถึงค่าวิเคราะห์ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p<0.05$) วิเคราะห์ด้วยโปรแกรมสถิติ SAS

4.3 การคัดกรองสารสกัดสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบในองคชาต

ทำการทดลองเปรียบเทียบความสามารถของสารสกัดสมุนไพร 8 ตัวอย่างในการชักนำให้กล้ามเนื้อเรียบในองชาตของหนูแรทเพศผู้สายพันธุ์ Sprague-Dawley เกิดการคลายตัว (relaxation) ซึ่งตัวอย่างสารสกัดสมุนไพรมีดังต่อไปนี้

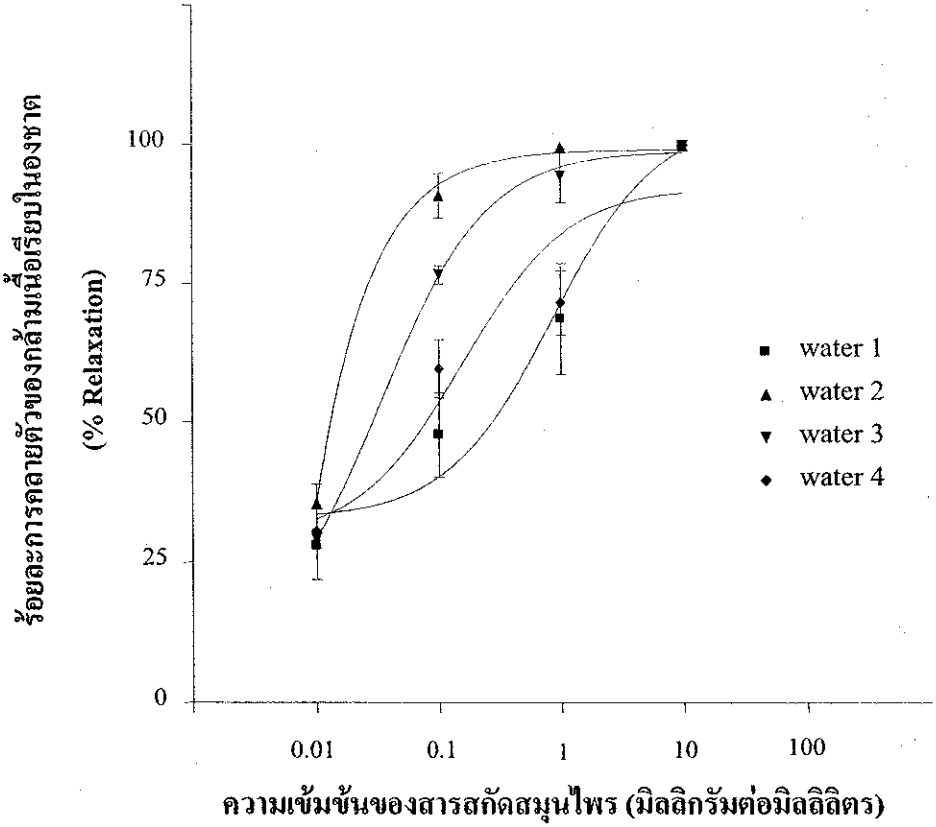
Ethanol 1	หมายถึง สารสกัดสมุนไพรตำรับที่ 1 สกัดด้วยเอทานอล
Ethanol 2	หมายถึง สารสกัดสมุนไพรตำรับที่ 2 สกัดด้วยเอทานอล
Ethanol 3	หมายถึง สารสกัดสมุนไพรตำรับที่ 3 สกัดด้วยเอทานอล
Ethanol 4	หมายถึง สารสกัดสมุนไพรตำรับที่ 4 สกัดด้วยเอทานอล
Water 1	หมายถึง สารสกัดสมุนไพรตำรับที่ 1 สกัดด้วยน้ำ
Water 2	หมายถึง สารสกัดสมุนไพรตำรับที่ 2 สกัดด้วยน้ำ
Water 3	หมายถึง สารสกัดสมุนไพรตำรับที่ 3 สกัดด้วยน้ำ
Water 4	หมายถึง สารสกัดสมุนไพรตำรับที่ 4 สกัดด้วยน้ำ
K	หมายถึง สารสกัดกวาวเครือแดง
cGMP	หมายถึง cyclic guanosinemonophosphate
IBMX	หมายถึง non specific phosphodiesterase



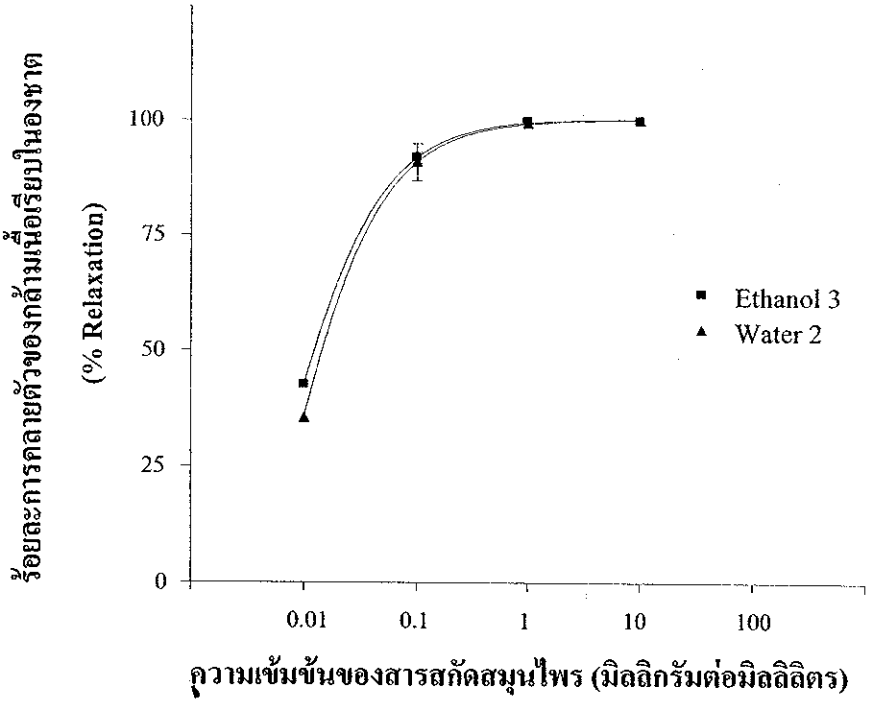
รูปที่ 4.2 การเปรียบเทียบการออกฤทธิ์ของสารสกัดด้วยเอทานอลทั้ง 4 ชนิดที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบในองคชาต (n=10)

จากผลการทดลองพบว่าสารสกัด Ethanol 3 สามารถทำให้เกิดการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบในองคชาตได้สูงที่สุด รองลงมาคือสารสกัด Ethanol 1, Ethanol 4 และ Ethanol 2 ตามลำดับ (รูปที่ 4.2) ซึ่งในกลุ่มสารสกัดด้วยเอทานอลนี้ควรเลือกสารสกัด Ethanol 3 ไปทำการทดลองต่อไป แต่ในส่วนของสารสกัดสมุนไพรที่สกัดด้วยน้ำ พบว่าสารสกัด Water 2 สามารถทำให้เกิดการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบในองคชาตได้สูงที่สุด รองลงมาคือสารสกัด Water 3, Water 4 และ Water 1 ตามลำดับ (รูปที่ 4.3) ซึ่งในกลุ่มสารสกัดด้วยน้ำควรเลือกสารสกัด Water 2 ไปทำการทดลองต่อไป

จากการเปรียบเทียบฤทธิ์ของสารสกัดสมุนไพรระหว่างสารสกัด Ethanol 3 และ Water 2 ดังรูปที่ 4.4 พบว่าสารสกัด Ethanol 3 สามารถทำให้เกิดการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบในองคชาตได้สูงที่สุด รองลงมาคือสารสกัด Water 2 แต่จะเห็นว่ามีค่าค่อนข้างใกล้เคียงกันมาก เพียงแต่ Ethanol 3 จะให้ผลดีกว่าอย่างเห็นได้ชัดเจนที่ความเข้มข้นที่ 0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนั้นควรเลือกสารสกัด Ethanol 3 ไปทำการทดลองต่อไป แต่ควรให้ความสนใจกับสารสกัด Water 2 ด้วยว่าน่าจะเป็นอีกสารหนึ่งที่ควรจะนำไปทำการวิจัยต่อไป



รูปที่ 4.3 กราฟแสดงการเปรียบเทียบการออกฤทธิ์ของสารสกัดด้วยน้ำทั้ง 4 ชนิดที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบในองคชาต (n=10)



รูปที่ 4.4 กราฟแสดงการเปรียบเทียบการออกฤทธิ์ของสารสกัดด้วย Ethanol 3 เทียบกับ Water 2 ที่มีความเข้มข้นแตกต่างกันต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบในองคชาต

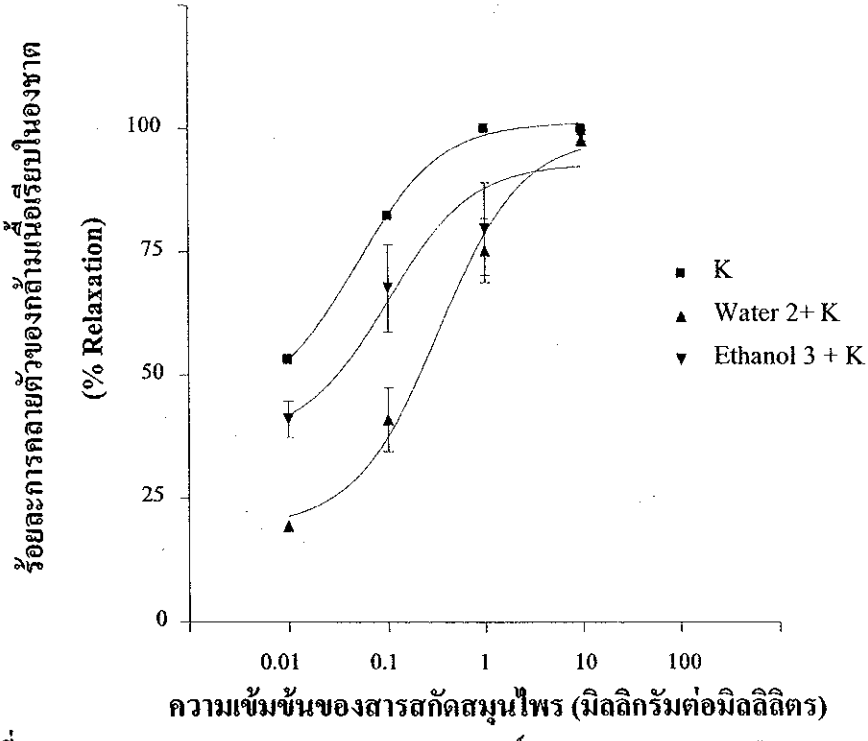
จากการทดลองนำสารสกัดสมุนไพร Ethanol 3 และ Water 2 ผสมกับสารสกัดจากกวาวเครือแดงเพื่อเสริมการออกฤทธิ์ พบว่า กลับมีผลทำให้ลดการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบลง แต่เมื่อทดสอบโดยใช้สารสกัดกวาวเครือแดงเพียงอย่างเดียวกลับทำให้การคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบเพิ่มมากขึ้น ดังรูปที่ 4.5 ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบของหนูที่ได้รับสารสกัด Ethanol 3 หรือ Water 2 กับหนูที่ได้รับสารสกัดกวาวเครือแดงพบว่า สารสกัด Ethanol 3 และ Water 2 มีการออกฤทธิ์ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบในองคชาตได้ดีกว่าสารสกัดจากกวาวเครือแดงที่มีความเข้มข้นเท่า ๆ กัน ซึ่งจากรูปที่ 4.6 และ 4.7 จะเห็นได้อย่างชัดเจนว่าสารสกัด Ethanol 3 และ Water 2 สามารถทำให้เกิดการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้ดีกว่าการผสมสารสกัดกวาวเครือแดงลงไป แสดงให้เห็นว่าสารสกัด Ethanol 3 และ Water 2 ควรที่จะใช้เพียงชนิดเดียวไม่ควรเสริมสารสกัดกวาวเครือแดง ซึ่งเหตุผลที่แน่นอนยังไม่มีงานวิจัยอื่นมาสนับสนุน แต่มีความเป็นไปได้ที่จะมาจากสารสำคัญในกวาวเครือแดง และสารสกัดสมุนไพรเกิดการแย่งจับตัวรับเฉพาะ (receptor) ที่ผิว endothelial cell ของกล้ามเนื้อเรียบจึงทำให้เกิดกระบวนการยับยั้งย้อนกลับ (fed back inhibition) เกิดขึ้นได้

โดยปกติกลไกการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบในองคชาต (cavernosal smooth muscle) จะเกี่ยวข้องกับวิถี (pathway) cGMP, cAMP และ phosphodiesterase type 5 inhibitor (Ding, Takada, Kaneko, and Mizuno, 1995) ดังนั้นจึงทำการทดสอบการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบโดยใช้ cGMP (cyclic guanosinemonophosphate) เป็นสารกระตุ้น และใช้สาร IBMX (non specific phosphodiesterase)

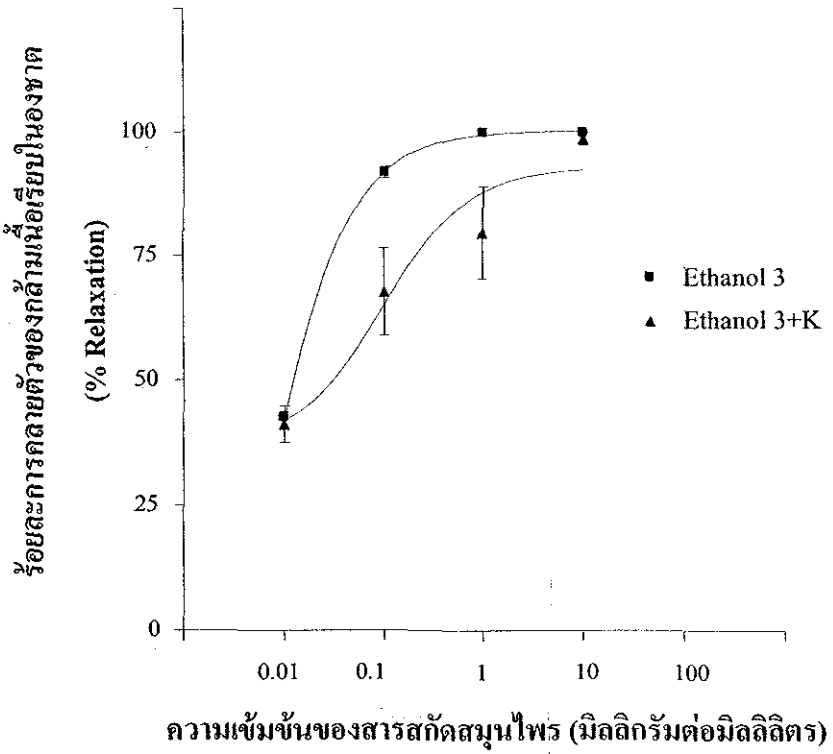
ซึ่งเป็นสารที่มีผลต่อ pathway ของการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบในองคชาตด้วยเช่นเดียวกัน ได้ผลการทดลองดังรูปที่ 4.8 ซึ่งเมื่อพิจารณาจากเส้นกราฟจะเห็นว่ามีลักษณะคล้ายกับเส้นกราฟการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบเมื่อสัตว์ทดลองได้รับสารสกัดจากสมุนไพร ดังนั้นอาจเป็นไปได้ว่าการที่สารสกัดสมุนไพรสามารถชักนำให้กล้ามเนื้อเรียบเกิดการคลายตัวได้นั้น มีความเกี่ยวข้องกับ pathway ของ cGMP และ cAMP ซึ่งควรที่จะทำการศึกษาในเรื่องนี้ต่อไป

จากการทดลองแสดงให้เห็นว่า สารสกัดสมุนไพรมีศักยภาพในการรักษาโรคความบกพร่องทางเพศที่มีสาเหตุมาจากความบกพร่องของแอ่งเลือด (sinusoid) ในองคชาตไม่ขยายตัวได้ ซึ่งอาจทำการทดสอบได้จากการขยายตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่บุล้อมรอบอยู่ใน sinusoid คือนำสารสกัดสมุนไพรที่มีความเข้มข้นที่ 0.01-0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มาทำการทดลองกับกล้ามเนื้อเรียบในองคชาต โดยทำการทดสอบใน organ bath แล้วค่อย ๆ เพิ่มความเข้มข้นของสารดังกล่าวตั้งแต่ 0.01-0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และผลที่ได้เกิดการชักนำให้กล้ามเนื้อเรียบเกิดการคลายตัวสูงถึงร้อยละ 80-100 ซึ่งถือว่าเป็นสารที่มีศักยภาพในการนำไปทำการศึกษาต่อเพื่อพัฒนาเป็นยารักษาอาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศได้ (Tocharus, Smitasiri, and Jeenapongsa, 2006)

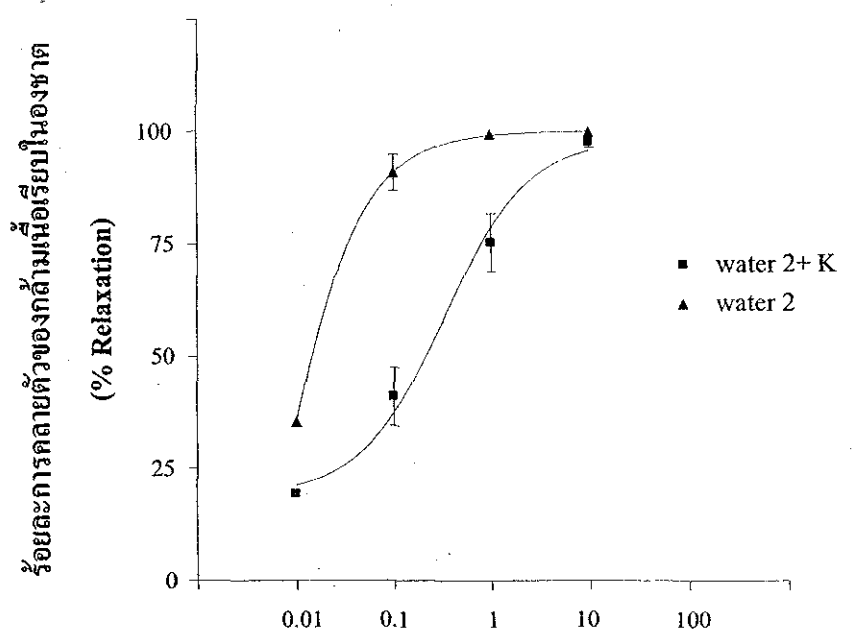
การทดลองการคัดกรองสารสกัดสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบในองคชาตได้ข้อสรุปว่าสารสกัดที่จะนำไปศึกษาในการทดลองขั้นต่อไปคือ สารสกัดสมุนไพรตำรับที่ 3 สกัดด้วยเอทานอล (Ethanol 3) เนื่องจากให้ผลในการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบในองคชาตดีที่สุด



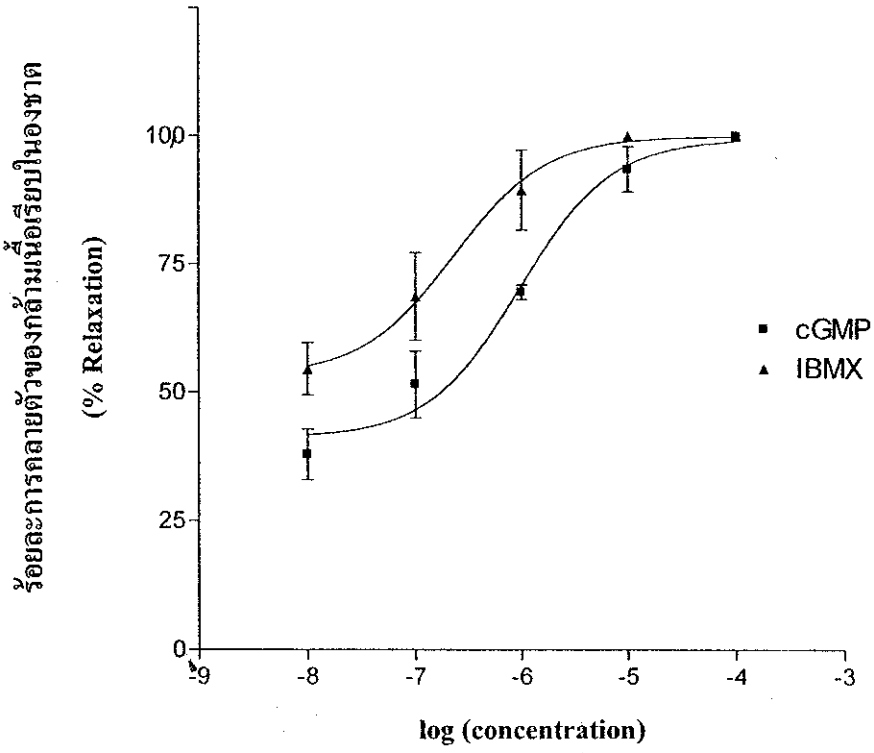
รูปที่ 4.5 กราฟแสดงการเปรียบเทียบการออกฤทธิ์ของสารสกัดกวาวเครือแดง (K) Ethanol 3 สารสกัด Water 2 โดยผสมกับสารสกัดกวาวเครือแดง (K) ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบในองคชาต



รูปที่ 4.6 *กราฟแสดงการเปรียบเทียบการออกฤทธิ์ของสารสกัด Ethanol 3 กับสารสกัด Ethanol 3* ผสมด้วยสารสกัดกวาวเครือแดง (K) ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบในองชาต



รูปที่ 4.7 กราฟแสดงการเปรียบเทียบการออกฤทธิ์ของสารสกัด Water 2 กับสารสกัด Water 2 ผสมด้วยสารสกัดกวาวเครือแดง (K) ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบในองชาต



รูปที่ 4.8 กราฟแสดงการเปรียบเทียบการออกฤทธิ์ของสาร cGMP กับ IBMX ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบในองคชาต

4.4 การศึกษาพิษแบบเฉียบพลันของสมุนไพรไทย (Acute toxicity)

จากการทดสอบความเป็นพิษแบบเฉียบพลันของสารสกัดสมุนไพร โดยให้สัตว์ทดลองคือหนูแรทเพศผู้มีอายุ 3 เดือน จำนวน 10 ตัว ได้รับสารสกัดที่มีความเข้มข้นสูงถึง 2000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว ซึ่งถือว่าเป็นค่าที่สูงมากที่สุดในการทดสอบความเป็นพิษตามข้อกำหนดของ OECD (Organization for Economic Co-operation and Development) ซึ่งไม่พบว่ามีสัตว์ทดลองตาย และไม่พบความผิดปกติใด ๆ ของสัตว์ทดลองในระหว่างทำการศึกษา แสดงให้เห็นว่าสารสกัดสมุนไพรนี้มีความปลอดภัยในการนำมาพัฒนาเป็นยาที่ใช้ในมนุษย์ต่อไปได้ ซึ่งผลของความดันเลือดร่างกาย และความดันเลือดในองคชาตของสัตว์ทดลองไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุม แต่พบว่ามีความดันเลือดในองคชาตในสภาวะปกติ (baseline) ในกลุ่มที่ได้รับสารสกัด (3.16 ± 0.55 มิลลิเมตรปรอท) สูงกว่ากลุ่มควบคุม (2.06 ± 0.74 มิลลิเมตรปรอท) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.2) แสดงว่าสารสกัดสมุนไพรน่าจะมีผลต่อการเพิ่มสภาวะการตึงตัวของกล้ามเนื้อเรียบในองคชาต ผลที่ตามมาคือเมื่อเกิดการกระตุ้นทางเพศ ทำให้กล้ามเนื้อดังกล่าวจะสามารถขยายตัวได้อย่างรวดเร็ว ทำให้เลือดไหลเข้ามาคั่งได้มากขึ้น และเร็วขึ้นจึงเกิดการแข็งตัวของอวัยวะเพศได้ดี

ตารางที่ 4.2 ค่าความดันเลือดในองคชาตในหนูกลุ่มควบคุมกับหนูที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรที่มีความเข้มข้น 2000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว เพียงครั้งเดียว แล้วทิ้งไว้ 14 วัน จึงวัดค่าความดันเลือด

Groups	No. of rats	Baseline (mmHg)	Intracavernous pressure (mmHg)	Blood pressure (mmHg)	
				Systolic	diastolic
Control DW 1 ml (one time)	10	2.06 ± 0.74	50.35 ± 5.24	101.06 ± 7.40	81.79 ± 6.10
2000 mg/kg BW (one time)	10	3.16 ± 0.55*	59.09 ± 7.51	107.78 ± 9.45	83.66 ± 7.21

หมายเหตุ: * หมายถึง ค่าวิเคราะห์ในแนวตั้งที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4.3 พฤติกรรมการขึ้นคร่อมตัวเมีย การสอดอวัยวะเพศเข้าไปในช่องคลอดของหนูเพศเมีย และการหลั่งน้ำอสุจิในหนูกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้สารสกัดสมุนไพรเป็นเวลานาน 14 วัน

Groups	No. of rats	Mounting		Intromission		Ejaculation	
		Show	%	Show	%	Show	%
Control	10	5	50	3	30	0	0
5 mg/kg BW/day	10	10	100*	7	70*	0	0
25 mg/kg BW/day	10	5	50	4	40	0	0
125 mg/kg BW/day	10	7	70*	5	50*	0	0

หมายเหตุ: * หมายถึง ค่าวิเคราะห์ในแนวตั้งที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4.5 การศึกษาผลของสมุนไพรไทยในสัตว์ทดลองติดต่อกันนาน 14 วัน

4.5.1 ผลของสารสกัดสมุนไพรต่อพฤติกรรมทางเพศ

เปรียบเทียบพฤติกรรมทางเพศของกลุ่มหนูแรทเพศผู้อายุ 3 เดือน ที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กับกลุ่มควบคุมที่กำหนดให้ได้รับการป้อนน้ำปริมาตร 1 มิลลิลิตร แทนการป้อนด้วยเอทานอลที่ใช้เป็นตัวทำละลายในการสกัดสมุนไพร เนื่องจากสารสกัดสมุนไพรที่ได้จะผ่านกระบวนการระเหยเอทานอลออกในสภาพความดันต่ำ เหลือเพียงของเหลวที่ประกอบไปด้วยสารสกัดสมุนไพรและน้ำเท่านั้น ซึ่งหลังจากการป้อนทุกวันนาน 14 วัน พบว่า หนูสองกลุ่มมีการแสดงพฤติกรรมทางเพศแตกต่างกัน โดยกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรที่ทุกความเข้มข้นจะมีการ

แสดงออกของพฤติกรรมทางเพศดีกว่ากลุ่มควบคุม โดยเฉพาะหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวต่อวัน จะแสดงพฤติกรรมการขึ้นคร่อมตัวเมีย (mount) และการสอดอวัยวะเพศเข้าไปในช่องคลอดของหนูเพศเมีย (intromission) สูงที่สุด และแตกต่างจากหนูกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.3) เมื่อพิจารณาถึงระยะเวลาที่หนูแสดงพฤติกรรมการขึ้นคร่อมตัวเมีย และการสอดอวัยวะเพศเข้าไปในช่องคลอดของหนูเพศเมียในครั้งแรก (ตารางที่ 4.4) พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรจะใช้เวลาน้อยกว่าหนูกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเฉพาะระยะเวลาในการขึ้นคร่อมตัวเมียของหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรที่ทุกความเข้มข้นจะแสดงพฤติกรรมดังกล่าวเร็วกว่าหนูกลุ่มควบคุมเกือบสองเท่า แต่เมื่อพิจารณาระยะเวลาที่จะแสดงพฤติกรรมการสอดอวัยวะเพศเข้าไปในช่องคลอดของหนูเพศเมียในครั้งแรกกลับพบว่า ที่ความเข้มข้น 125 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวต่อวัน จะใช้เวลาน้อยที่สุดเพียง 874.80 วินาที ซึ่งแตกต่างจากหนูกลุ่มควบคุม (1266.33 วินาที) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรมีแนวโน้มความต้องการที่จะผสมพันธุ์ที่ดีกว่า และแสดงให้เห็นถึงความแข็งแรงของอวัยวะเพศของหนูเพศผู้ที่สามารถสอดใส่เข้าไปในช่องคลอดของหนูเพศเมียได้สำเร็จ ซึ่งผลจะสอดคล้องกับความถี่ในการขึ้นคร่อมหนูเพศเมียของหนูเพศผู้และจำนวนครั้งในการสอดอวัยวะเพศเข้าไปในช่องคลอดของหนูเพศเมีย (ตารางที่ 4.5) หนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรจะมีความถี่มากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุม โดยเฉพาะหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้น 125 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวต่อวัน จะมีการแสดงพฤติกรรมทางเพศมากกว่ากลุ่มควบคุมถึง 2 เท่า แต่จากผลการทดลองจะพบว่าหนูทุกกลุ่มไม่ได้แสดงการหลั่งของอสุจิ (ejaculation) เลย การที่สัตว์ทดลองไม่มีการหลั่งของอสุจิอาจเป็นเพราะตัวของสัตว์ทดลองเอง หรืออาจต้องมีการฝึกสัตว์ทดลองให้อยู่กับเพศเมียก่อน เพื่อให้เกิดการเรียนรู้ของสัตว์ทดลองจึงค่อยนำมาทำการทดลองดังกล่าว ส่วนการทดลองที่สัตว์ทดลองเกิดการหลั่งของอสุจิเร็วอาจทำให้การแปลผลค่าอื่น ๆ ผิดพลาดได้ เนื่องจากเมื่อสัตว์ทดลองมีอาการหลั่งเร็ว การแสดงการขึ้นคร่อมตัวเมีย และการสอดอวัยวะเพศเข้าไปในช่องคลอดของหนูเพศเมียก็จะต่ำมาก ซึ่งทำให้การวัดค่าอื่น ๆ ผิดพลาดไปด้วยเช่นกัน (Agmo, 1997) นอกจากนั้นการสังเกตการแสดงพฤติกรรมทางเพศของหนูทดลองใช้เวลาเพียง 30 นาที ซึ่งเป็นระยะเวลาที่สั้นเกินไปที่หนูแรทจะแสดงการหลั่งอสุจิ เนื่องจากในธรรมชาติของหนูแรทจะมีการผสมพันธุ์ตลอดช่วงกลางคืน ซึ่งใช้เวลานานหลายชั่วโมงจนหนูแรทเพศเมียผ่านช่วงเวลาการเป็นสัด หนูแรทเพศผู้จึงจะหยุดการผสมพันธุ์ โดยเฉลี่ยจะใช้เวลานาน 2-3 ชั่วโมง จึงเป็นผลให้การทดลองนี้ไม่พบการแสดงการหลั่งอสุจิทั้งในกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพร จากการทดลองเรื่องพฤติกรรมทางเพศสรุปได้ว่า กลุ่มที่ได้รับสารสกัดทุกความเข้มข้นมีพฤติกรรมความต้องการในการผสมพันธุ์ดีกว่ากลุ่มควบคุม แต่ยังไม่สามารถ

สรุปได้ว่าสารที่ความเข้มข้นที่เท่าไหร่ที่ให้ผลดีที่สุด แต่อย่างไรก็ตามผลการทดลองนี้บ่งชี้ให้เห็นว่าสารสกัดสมุนไพรสามารถกระตุ้นให้หนูมีพฤติกรรมทางเพศที่ดีขึ้นแม้จะได้รับสารสกัดเพียง 14 วัน

ตารางที่ 4.4 เปรียบเทียบระยะเวลาก่อนที่จะแสดงออกทางพฤติกรรมทางเพศต่าง ๆ ในหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเป็นเวลานาน 14 วัน

Groups	Latency (second)					
	N	Mounting	N	Intromission	N	Ejaculation
Control	5	688.20 ± 598.19	3	1266.33 ± 395.18	0	-
5 mg/kg BW/day	10	363.90 ± 340.95 *	7	1072.42 ± 532.83	0	-
25 mg/kg BW/day	5	385.40 ± 312.39 *	4	1372.25 ± 225.88	0	-
125 mg/kg BW/day	7	383.71 ± 339.35*	5	874.80 ± 281.36*	0	-

หมายเหตุ: N หมายถึง จำนวนหนูที่แสดงพฤติกรรมทางเพศ

* หมายถึง ค่าวิเคราะห์ในแนวตั้งที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4.5 เปรียบเทียบความถี่ของพฤติกรรมการขึ้นคร่อมตัวเมีย การสอดอวัยวะเพศเข้าไปในช่องคลอดของหนูเพศเมีย และการหลั่งน้ำอสุจิ ของหนูกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้สารสกัดสมุนไพรเป็นเวลานาน 14 วัน

Groups	Frequencies (times)					
	N	Mounting	N	Intromission	N	Ejaculation
Control	5	2.20 ± 0.83	3	2.00 ± 1.00	0	-
5 mg/kg BW/day	10	3.50 ± 1.50	7	3.57 ± 2.76	0	-
25 mg/kg BW/day	5	3.40 ± 1.67	4	3.50 ± 1.29	0	-
125 mg/kg BW/day	7	4.00 ± 1.41*	5	4.60 ± 2.07*	0	-

หมายเหตุ: N หมายถึง จำนวนหนูที่แสดงพฤติกรรมทางเพศ

* หมายถึง ค่าวิเคราะห์ในแนวตั้งที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4.5.2 ผลของสารสกัดสมุนไพรต่อแรงดันเลือดในองคชาต

เมื่อนำหนูที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรนาน 14 วัน และกลุ่มควบคุมมาวัดความดันเลือดในองคชาตพบว่า การที่หนูได้รับสารสกัดสมุนไพรที่ทุกความเข้มข้นมีผลทำให้ความดันเลือดในองคชาตสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติดังข้อมูลในตารางที่ 4.6 แสดงให้เห็นว่าสารสกัดนี้มีความสำคัญในการกระตุ้นให้องคชาตแข็งตัวมากยิ่งขึ้น ซึ่งการที่ความดันเลือดในองคชาตสูงขึ้นจะไปมีผลต่อกล้ามเนื้อเรียบในองคชาตให้เกิดการขยายตัวมากขึ้น ทำให้เกิดการคั่งของเลือดในองคชาตมากยิ่งขึ้น โดยอาจเกี่ยวข้องกับการสะสมของเอนไซม์ cGMP และ cAMP ซึ่งจะมีผลโดยตรงต่อการคลาย

ตัวของกล้ามเนื้อเรียบในองคชาต แต่พบว่าค่าของความดันเลือดในองคชาตใน กลุ่มที่ได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้น 5, 25, 125 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวต่อวัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าที่ความเข้มข้นต่ำ ๆ ใช้เวลาเพียง 14 วันก็สามารถช่วยเพิ่มการแข็งตัวขององคชาตได้

ตารางที่ 4.6 ค่าความดันเลือดในองคชาต ของหนูกลุ่มควบคุมกับกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่าง ๆ นาน14 วัน

Groups	No. of rats	Baseline (mmHg)	Intracavernous pressure (mmHg)
Control	10	4.99 ± 0.66	52.46 ± 6.23
5 mg/kg BW/day	10	5.09 ± 3.04	78.65 ± 5.38*
25 mg/kg BW/day	10	5.41 ± 0.71	79.53 ± 8.80*
125 mg/kg BW/day	10	5.93 ± 3.11	79.74 ± 11.04*

หมายเหตุ: * หมายถึง ค่าวิเคราะห์ในแนวตั้งที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4.7 ตารางเปรียบเทียบน้ำหนักอวัยวะต่อน้ำหนักตัวของหนูกลุ่มควบคุมกับกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่าง ๆ นาน 14 วัน

Parameters	Control	Extract (mg/kg BW/day)		
		5	25	125
No. of rats	10	10	10	10
Testis (g%)	0.86 ± 0.09	0.95 ± 0.07*	0.88 ± 0.08	0.83 ± 0.09
Epididymis (g%)	0.28 ± 0.02	0.32 ± 0.02*	0.30 ± 0.02	0.29 ± 0.02
Seminal vesicle (g%)	0.41 ± 0.03	0.46 ± 0.09*	0.46 ± 0.04*	0.44 ± 0.05
Prostate gland (g%)	0.11 ± 0.02	0.11 ± 0.02	0.13 ± 0.01*	0.11 ± 0.02
Liver (g%)	3.28 ± 0.13	3.33 ± 0.15	3.54 ± 0.19**	3.45 ± 0.26
Kidney (g%)	0.63 ± 0.02	0.65 ± 0.04	0.65 ± 0.06	0.64 ± 0.03
Thyroid gland (g%)	0.006 ± 0.001	0.007 ± 0.002	0.006 ± 0.001	0.005 ± 0.001

หมายเหตุ: * หมายถึง ค่าวิเคราะห์ในแนวนอนที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

** หมายถึง ค่าวิเคราะห์ในแนวนอนที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 99

4.5.3 ผลของสารสกัดสมุนไพรต่อน้ำหนักของอวัยวะที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์

จากการทดสอบน้ำหนักอวัยวะที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์ต่อน้ำหนักตัวของหนูกลุ่มควบคุมกับกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่าง ๆ นาน 14 วัน พบว่ากลุ่มที่ได้รับสาร

สกัดที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวต่อวัน มีน้ำหนักของต่อมสร้างน้ำเลี้ยงอสุจิ (seminal vesicle) ต่อมลูกหมาก และ ตับมากกว่ากลุ่มควบคุม (ตารางที่ 4.7) กลุ่มที่ได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวต่อวัน มีน้ำหนักของอัณฑะ และท่อพักเซลล์อสุจิ (epididymis) มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นเดียวกัน แสดงให้เห็นว่าสารสกัดสมุนไพรนี้น่าจะมีผลโดยตรงในการสร้างสารอาหารสำหรับเลี้ยงเซลล์อสุจิ ซึ่งจะส่งผลโดยตรงในการเพิ่มจำนวนอสุจิ รวมทั้งน่าจะมีส่วนช่วยเพิ่มอัตราการปฏิสนธิด้วยเช่นกัน โดยเฉพาะที่ความเข้มข้นที่ต่ำ (5 และ 25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวต่อวัน) จะให้ผลดีกว่า แสดงให้เห็นว่าสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่ำน่าจะมีผลต่อการกระตุ้นได้ดีกว่าความเข้มข้นสูง ๆ ซึ่งจากผลการทดลองทำให้กล่าวได้ว่าสารสกัดสมุนไพรมีผลต่อการเพิ่มน้ำเลี้ยงเซลล์อสุจิ และการได้รับสารสกัดสมุนไพรนาน 14 วัน สามารถกระตุ้นให้ร่างการผลิตน้ำเลี้ยงเซลล์อสุจิให้มีปริมาณมากขึ้นได้

4.6 การศึกษาผลของสมุนไพรไทยในสัตว์ทดลองติดต่อกันนาน 3 เดือน

4.6.1 ผลของสารสกัดสมุนไพรต่อพฤติกรรมทางเพศ

ศึกษาผลของสารสกัดสมุนไพรในหนูทดลองเพศผู้ โดยใช้หนูทดลองที่อยู่ในวัยหนุ่มอายุ 11 เดือนทดสอบผลของสารสกัดสมุนไพร และยาไวอากร้า ส่วนหนูวัยแก่ซึ่งมีอายุ 2 ปี 3 เดือนสำหรับทดสอบผลของสารสกัดสมุนไพร ทำการป้อนทุกวันติดต่อกันนาน 3 เดือนจึงนำมาตรวจสอบพฤติกรรมทางเพศซึ่งได้ผลการทดสอบดังตารางที่ 4.8 พบว่าหนูหนุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวต่อวัน นาน 3 เดือน แสดงพฤติกรรมการขึ้นคร่อมตัวเมียและการสอดอวัยวะเพศเข้าไปในช่องคลอดของหนูเพศเมียสูงถึงร้อยละ 100 ซึ่งแตกต่างกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับยาไวอากร้าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนหนูแก่ที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวต่อวันก็แสดงพฤติกรรมดังกล่าวสูงถึงร้อยละ 100 เช่นเดียวกัน

เมื่อพิจารณาถึงระยะเวลาก่อนที่จะแสดงออกทางพฤติกรรมทางเพศต่าง ๆ พบว่าหนูที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรจะใช้เวลาในการแสดงพฤติกรรมการขึ้นคร่อมตัวเมีย และการสอดอวัยวะเพศเข้าไปในช่องคลอดของหนูเพศเมียเร็วกว่าหนูกลุ่มควบคุม และหนูที่ได้รับยาไวอากร้าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนหนูแก่ที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรจะใช้เวลาในการแสดงพฤติกรรมการสอดอวัยวะเพศเข้าไปในช่องคลอดของหนูเพศเมียสั้นกว่าหนูกลุ่มควบคุม และหนูที่ได้รับยาไวอากร้าเช่นเดียวกัน ส่วนหนูหนุ่มที่ได้รับยาไวอากร้ากลับพบว่า แสดงพฤติกรรมดังกล่าวไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุม(ตารางที่ 4.9) แต่อย่างไรก็ตามความถี่ของการแสดงพฤติกรรมดังกล่าวกลับพบว่า ทุกกลุ่มมีความถี่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 4.10)

ตารางที่ 4.8 เปรียบเทียบพฤติกรรมการขึ้นคร่อมตัวเมีย การสอดอวัยวะเพศเข้าไปในช่องคลอดของหนูเพศเมียและการหลั่งน้ำอสุจิของหนูกลุ่มควบคุม หนูที่ได้รับสารสกัดสมุนไพร และหนูที่ได้รับยาไวอากร้าเป็นเวลานาน 3 เดือน

Groups	No. of rats	Mounting		Intromission		Ejaculation	
		Show	%	Show	%	Show	%
Control DW 1 ml/day	6	4	66.66	4	66.66	0	0
25 mg/kg BW/day	6	6	100*	6	100*	0	0
Viagra 1 mg/day	6	4	66.66	4	66.66	0	0
25 mg/kg BW/day (Aging)	3	3	100*	3	100*	0	0

หมายเหตุ: * หมายถึง ค่าวิเคราะห์ในแนวตั้งที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4.9 เปรียบเทียบระยะเวลาก่อนที่จะแสดงออกทางพฤติกรรมทางเพศต่าง ๆ ของหนูกลุ่มควบคุม หนูที่ได้รับสารสกัดสมุนไพร และหนูที่ได้รับยาไวอากร้าเป็นเวลานาน 3 เดือน

Groups	Latency (second)					
	N	Mounting	N	Intromission	N	Ejaculation
Control DW 1 ml/day	4	547.0 ± 91.5	4	1019.7 ± 212.0	0	-
25 mg/kg BW/day	6	205.0 ± 109.0*	6	574.7 ± 132.7**	0	-
Viagra 1 mg/day	4	418.5 ± 143.5	4	1068.7 ± 162.2	0	-
25 mg/kg BW/day (Aging)	3	515.5 ± 275.4	3	769.0 ± 251.3*	0	-

หมายเหตุ: N หมายถึง จำนวนหนูที่แสดงพฤติกรรมทางเพศ

* หมายถึง ค่าวิเคราะห์ในแนวตั้งที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

** หมายถึง ค่าวิเคราะห์ในแนวตั้งที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 99

จากผลการทดลองข้างต้นกล่าวได้ว่าหนูหนุ่ม และหนูแก่ที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรจะมีการแสดงพฤติกรรมทางเพศดีกว่าหนูกลุ่มควบคุม และหนูที่ได้รับยาไวอากร้า ซึ่งน่าจะมาจากการที่สารสกัดสมุนไพรไปช่วยเพิ่มความกำหนัด (libido) ทั้งหนูหนุ่มและหนูแก่ แต่ในทางตรงกันข้ามยาไวอากร้ากลับไม่ได้มีผลในการเพิ่มความกำหนัดเลย นอกจากนั้นการทดลองนี้ยังชี้ให้เห็นว่าสารสกัดสมุนไพรสามารถเพิ่มสมรรถภาพทางเพศได้เป็นอย่างดี เนื่องจากหนูแก่ที่ใช้ทดลองนั้นมีอายุ 2 ปี 3 เดือนซึ่งเทียบเท่ากับคนอายุประมาณ 65-70 ปี น่าจะมีความเสื่อมสมรรถภาพทางเพศมากที่สุด เพราะมีรายงานการศึกษาก่อนหน้านี้ว่าหนูที่มีอายุ 11 เดือนขึ้นไปจะแสดงพฤติกรรมทางเพศลดลงเรื่อย ๆ ตามอายุที่มากขึ้น (Smith, Stefanick, Clark, and Davidson, 1992) แสดงว่าหนูแรทเริ่มมีการเสื่อมสมรรถภาพ

ทางเพศเมื่อมีอายุตั้งแต่ 11 เดือนขึ้นไป แต่เมื่อหนูแก่ดังกล่าวได้รับสารสกัดสมุนไพรกลับมีการแสดงพฤติกรรมทางเพศดีมาก แสดงว่าสารสกัดสมุนไพรนี้ช่วยทำให้สัตว์ทดลองมีความกำหนัดกลับคืนมาได้ ส่วนเหตุผลที่สนับสนุนว่าอะไรเป็นตัวการสำคัญยังไม่ได้มีการศึกษาเรื่องนี้

ตารางที่ 4.10 เปรียบเทียบความถี่ของพฤติกรรมการขึ้นคร่อมตัวเมีย การสอดอวัยวะเพศเข้าไปในช่องคลอดของหนูเพศเมีย และการหลั่งน้ำอสุจิ ของหนูกลุ่มควบคุม หนูที่ได้รับสารสกัดสมุนไพร และหนูที่ได้รับยาไวอากร้าเป็นเวลานาน 3 เดือน

Groups	Frequencies (times)					
	N	Mounting	N	Intromission	N	Ejaculation
Control DW 1 ml/day	4	1.50 ± 0.57	4	6.00 ± 1.41	0	-
25 mg/kg BW/day	6	1.50 ± 0.57	6	7.25 ± 4.50	0	-
Viagra 1 mg/day	4	1.75 ± 0.95	4	5.00 ± 1.4	0	-
25 mg/kg BW/day (Aging)	3	1.33 ± 0.63	3	5.33 ± 3.5	0	-

หมายเหตุ: N หมายถึง จำนวนหนูที่แสดงพฤติกรรมทางเพศ

4.6.2 ผลของสารสกัดสมุนไพรต่อแรงดันเลือดในองคชาต

ค่าความดันเลือดในองคชาตของหนูทดลองกลุ่มควบคุม หนูหนุ่ม และหนูแก่ที่ได้รับสารสกัดสมุนไพร และหนูที่ได้รับยาไวอากร้าเป็นเวลาติดต่อกันนาน 3 เดือน (ตารางที่ 4.11) พบว่า ความดันเลือดในองคชาตของหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพร และยาไวอากร้ามีค่าไม่แตกต่างกัน แต่ค่าความดันเลือดของทั้งสองกลุ่มสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนหนูแก่ที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรมีแรงดันเลือดในองชาตใกล้เคียงกับหนูหนุ่มปกติ แต่เมื่อพิจารณาค่าความดันเลือดสภาพปกติ (baseline) พบว่าหนูแก่ที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรกลับมีค่าต่ำมาก แต่เมื่อได้รับการกระตุ้นกลับมีแรงดันเลือดในองคชาตสูงเท่ากับหนูหนุ่มที่เป็นกลุ่มควบคุม ซึ่งผลการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่าสารสกัดสมุนไพรสามารถเพิ่มการแข็งตัวของอวัยวะเพศของหนูแก่ให้เท่ากับหนูหนุ่มที่เป็นกลุ่มควบคุมได้ เพราะโดยปกติหนูแก่จะมีความดันเลือดในองคชาตที่ 30-40 มิลลิเมตรปรอทเท่านั้น แต่เมื่อได้รับสารสกัดสมุนไพรทำให้ความดันเลือดในองคชาตสูงขึ้นเทียบเท่ากับหนูหนุ่มปกติได้

4.6.3 ผลของสารสกัดสมุนไพรต่อเซลล์อสุจิ

เมื่อตรวจสอบผลของสารสกัดสมุนไพรต่อเซลล์อสุจิ เปรียบเทียบกับหนูที่ได้รับยาไวอากร้าและหนูกลุ่มควบคุมพบว่า กลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรทั้งหนูหนุ่มและหนูแก่ และกลุ่มที่ได้รับยาไวอากร้าจะมีจำนวนเซลล์อสุจิสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.12) โดย เฉพาะอย่างยิ่งหนูหนุ่มซึ่งมีจำนวนอสุจิสูงถึง $277x10^6$ สเปิร์มต่อมิลลิลิตร ส่วนหนูหนุ่มปกติมีจำนวนอสุจิเพียง $190.66x10^6$ สเปิร์มต่อมิลลิลิตร นอกจากนั้นเซลล์อสุจิของหนูทุกกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพร

หรือยาไวอากร้ามีความผิดปกติทั้งส่วนหัว และส่วนหางไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุมดังตารางที่ 4.13 ทำให้กล่าวได้ว่าสารสกัดสมุนไพรไม่มีผลทำให้เซลล์อสุจิมีรูปร่างที่ผิดปกติไปจากเซลล์อสุจิทั่วไป

ตารางที่ 4.11 เปรียบเทียบค่าความดันเลือดในองคชาตของหนูกลุ่มควบคุม หนูที่ได้รับสารสกัดสมุนไพร และหนูที่ได้รับยาไวอากร้าเป็นเวลานาน 3 เดือน

Groups	No. of rats	Baseline (mmHg)	Intracavernous pressure (mmHg)
Control DW 1 ml/day	6	3.49 ± 0.50	53.74 ± 4.11
25 mg/kg BW/day	6	6.51 ± 0.70***	87.94 ± 4.68***
Viagra 1 mg/day	6	3.59 ± 0.79	75.76 ± 5.23***
25 mg/kg BW/day (Aging)	3	1.57 ± 0.41***	54.48 ± 3.14

หมายเหตุ: *** หมายถึง ค่าวิเคราะห์ในแนวตั้งที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 99.9

ตารางที่ 4.12 เปรียบเทียบจำนวนเซลล์อสุจิของของหนูกลุ่มควบคุม หนูที่ได้รับสารสกัดสมุนไพร และหนูที่ได้รับยาไวอากร้าเป็นเวลานาน 3 เดือน

Groups	No. of rats	Sperm concentration ($x10^6$ sperms/ml)
Control DW 1 ml/day	6	190.66 ± 20.26
25 mg/kg BW/day	6	277.00 ± 23.89***
Viagra 1 mg/day	6	237.33 ± 39.93**
25 mg/kg BW/day (Aging)	3	238.33 ± 11.93*

หมายเหตุ: * หมายถึง ค่าวิเคราะห์ที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
** หมายถึง ค่าวิเคราะห์ที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 99
*** หมายถึง ค่าวิเคราะห์ที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 99.9

4.6.4 ผลของสารสกัดสมุนไพรต่อน้ำหนักของอวัยวะภายในร่างกาย

หลังจากที่หนูได้รับสารสกัดสมุนไพร และยาไวอากร้าครบ 3 เดือน นำหนูทุกกลุ่มมาตรวจสอบน้ำหนักของอวัยวะภายในร่างกายได้ผลดังตารางที่ 4.14 น้ำหนักของอวัยวะภายในของหนูกลุ่มควบคุม และหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพร และยาไวอากร้าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ยกเว้นต่อมไทรอยด์ พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดและยาไวอากร้า ต่อมไทรอยด์จะเล็กกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และหนูแก่จะมีน้ำหนักของ ตับ ไต และปอดน้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่อย่างไรก็ตามขนาดของอวัยวะดังกล่าวไม่มีผลกระทบต่อการทำงานหรือบ่งบอกถึงการเกิดโรคแต่อย่างใด

ตารางที่ 4.13 เปรียบเทียบความผิดปกติของเซลล์อสุจิในส่วนของหัว และส่วนหางของหนูกลุ่มควบคุมหนูที่ได้รับสารสกัดสมุนไพร และหนูที่ได้รับยาไวอากร้าเป็นเวลานาน 3 เดือน

Groups	No. of rats	Head abnormal	Tail abnormal
Control DW 1 ml/day	6	1.67 ± 0.82	11.75 ± 1.25
25 mg/kg BW/day	6	1.50 ± 0.55	13.42 ± 2.11
Viagra 1 mg/day	6	1.67 ± 0.74	12.25 ± 3.46
25 mg/kg BW/day (Aging)	3	1.56 ± 0.58	9.83 ± 2.36

ตารางที่ 4.14 เปรียบเทียบน้ำหนักอวัยวะภายในต่อน้ำหนักตัวของหนูกลุ่มควบคุม หนูที่ได้รับสารสกัดสมุนไพร และหนูที่ได้รับยาไวอากร้าเป็นเวลานาน 3 เดือน

Parameters	Control	Drug		
		25 mg/kg BW/day	Viagra 1 mg	125 mg/kg BW/day (Aging)
No. of rats	6	6	6	3
Penis (g%)	0.048 ± 0.004	0.053 ± 0.006	0.050 ± 0.004	0.041 ± 0.005
Testis (g%)	0.733 ± 0.064	0.764 ± 0.047	0.775 ± 0.068	0.665 ± 0.047
Epididymis (g%)	0.25 ± 0.01	0.27 ± 0.01	0.29 ± 0.02*	0.24 ± 0.03
Postage gland (g%)	0.10 ± 0.01	0.10 ± 0.02	0.12 ± 0.03	0.06 ± 0.02
Seminal vesicle (g%)	0.44 ± 0.07	0.50 ± 0.02	0.52 ± 0.05	0.41 ± 0.16
Liver (g%)	3.08 ± 0.23	3.14 ± 0.14	2.96 ± 11	2.42 ± 0.08 ***
Spleen (g%)	0.20 ± 0.01	0.20 ± 0.03	0.20 ± 0.01	0.21 ± 0.06
Kidney (g%)	0.61 ± 0.01	0.61 ± 0.04	0.65 ± 0.07	0.47 ± 0.04**
Adrenal gland (g%)	0.009 ± 0.001	0.010 ± 0.001	0.010 ± 0.001	0.010 ± 0.000
Lung (g%)	0.35 ± 0.03	0.37 ± 0.03	0.37 ± 0.03	0.28 ± 0.00*
Heart (g%)	0.31 ± 0.02	0.31 ± 0.01	0.29 ± 0.01	0.27 ± 0.07
Thyroid gland (g%)	0.0056 ± 0.0008	0.0043 ± 0.0006**	0.0047 ± 0.0006*	0.0050 ± 0.0008

หมายเหตุ: * หมายถึง ค่าวิเคราะห์ในแนวนอนที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

** หมายถึง ค่าวิเคราะห์ในแนวนอนที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 99

*** หมายถึง ค่าวิเคราะห์ในแนวนอนที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 99.9

4.7 การศึกษาผลของสมุนไพรไทยในสัตว์ทดลองติดต่อกันนาน 6 เดือน (Chronic toxicity)

4.7.1 ผลของสารสกัดสมุนไพรต่อพฤติกรรมทางเพศ

ทดสอบผลของสารสกัดสมุนไพรโดยใช้หนูแรทเพศผู้อายุ 9 เดือน ทำการป้อนสารสกัดที่ความเข้มข้น 5, 25 และ 125 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมให้หนูทดลองทางปากทุกวันติดต่อกันนาน 6 เดือน เปรียบเทียบกับหนูที่ได้รับน้ำ 1 มิลลิลิตรซึ่งเป็นกลุ่มควบคุม จากนั้นนำหนูดังกล่าวมาศึกษาพฤติกรรมทางเพศต่าง ๆ พบว่าหนูทดลองที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรทุกความเข้มข้นแสดงพฤติกรรมการขึ้นคร่อมตัวเมีย และการสอดอวัยวะเพศเข้าไปในช่องคลอดของหนูเพศเมียมีจำนวนมากกว่า แต่ไม่แตกต่างกับหนูกลุ่มควบคุมทางสถิติ (ตารางที่ 4.15) และหนูทุกกลุ่มไม่แสดงการหลั่งน้ำอสุจิ แต่เมื่อเปรียบเทียบระยะเวลาก่อนที่จะแสดงออกทางพฤติกรรมทางเพศกลับพบว่า หนูทดลองที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรทุกความเข้มข้นใช้เวลาในการแสดงการขึ้นคร่อมตัวเมียสั้นกว่าหนูกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.16) โดยเฉพาะหนูที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเข้มข้น 5 และ 25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวต่อวัน จะมีระยะเวลาก่อนที่จะแสดงพฤติกรรมทางเพศเพียง 73.3 และ 43.8 วินาที ตามลำดับ แต่หนูกลุ่มควบคุมจะใช้ระยะเวลาถึง 413.7 วินาที นอกจากนั้นกลุ่มที่ได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว จะใช้เวลาในการแสดงการสอดอวัยวะเพศเข้าไปในช่องคลอดของหนูเพศเมียสั้นกว่ากลุ่มอื่น ๆ แต่ความถี่ในการแสดงพฤติกรรมทางเพศของหนูทุกกลุ่มไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 4.17) อย่างไรก็ตามจากการทดลองเรื่องพฤติกรรมทางเพศสามารถกล่าวได้ว่าหนูที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรมีแนวโน้มความต้องการที่จะผสมพันธุ์ที่ดีกว่าหนูปกติ

4.7.2 ผลของสารสกัดสมุนไพรต่อแรงดันเลือดในองคชาต

เมื่อตรวจสอบความดันเลือดในองชาตของหนูทดลองที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ติดต่อกันนาน 6 เดือน พบว่า ค่าความดันเลือดในองคชาตของหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดทุกความเข้มข้นมีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.18) ส่วนค่าความดันเลือดสภาพปกติพบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้น 5 และ 25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว มีค่าความดันเลือด 6.96±1.35 และ 7.88±1.67 มิลลิเมตรปรอท ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าสารสกัดนี้มีศักยภาพในการเพิ่มความดันเลือด และความแข็งตัวขององคชาตในทุกความเข้มข้น แต่ดีที่สุดจะเป็นความเข้มข้นที่ 25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว ซึ่งจะให้ความดันเลือดสูงถึง 102.47±3.19 มิลลิเมตรปรอท ซึ่งโดยปกติแรงดันเลือดในองคชาต 50-60 มิลลิเมตรปรอทก็สามารถสอดใส่อวัยวะเพศเข้าไปในช่องคลอดได้แล้ว นอกจากนั้นสารสกัดสมุนไพรยังสามารถเพิ่มความดันเลือดสภาพปกติให้สูงขึ้นอีกด้วย

ตารางที่ 4.15 เปรียบเทียบพฤติกรรมการขึ้นคร่อมตัวเมีย การสอดอวัยวะเพศเข้าไปในช่องคลอดของหนูเพศเมีย และการหลั่งน้ำอสุจิในหนูกลุ่มควบคุม และกลุ่มหนูที่ได้สารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลานาน 6 เดือน

Groups	No. of rats	Mounting		Intromission		Ejaculation	
		Show	%	Show	%	Show	%
Control DW 1 ml/day	10	7	70	7	70	0	0
5 mg/kg BW/day	10	9	90	9	90	0	0
25 mg/kg BW/day	10	8	80	8	80	0	0
125 mg/kg BW/day	10	7	70	7	70	0	0

ตารางที่ 4.16 เปรียบเทียบระยะเวลาก่อนที่จะแสดงออกทางพฤติกรรมทางเพศ ในหนูกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลานาน 6 เดือน

Groups	Latency (second)					
	N	Mounting	N	Intromission	N	Ejaculation
Control DW 1 ml/day	7	413.7 ± 206.4	7	1034.0 ± 529.9	0	-
5 mg/kg BW/day	9	73.2 ± 54.0***	9	1012.8 ± 383.8	0	-
25 mg/kg BW/day	8	43.8 ± 63.0***	8	541.2 ± 48.8*	0	-
125 mg/kg BW/day	7	182.7 ± 81.7*	7	1334.0 ± 133.6	0	-

หมายเหตุ: N หมายถึง จำนวนหนูที่แสดงพฤติกรรมทางเพศ

* หมายถึง ค่าวิเคราะห์ในแนวตั้งที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

*** หมายถึง ค่าวิเคราะห์ในแนวตั้งที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 99.9

ตารางที่ 4.17 เปรียบเทียบความถี่ของพฤติกรรมทางเพศ ในหนูกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้สารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลานาน 6 เดือน

Groups	Frequencies (times)					
	N	Mounting	N	Intromission	N	Ejaculation
Control DW 1 ml/day	7	1.75 ± 0.50	7	3.20 ± 2.48	0	-
5 mg/kg BW/day	9	1.88 ± 1.26	9	4.66 ± 5.50	0	-
25 mg/kg BW/day	8	2.60 ± 1.14	8	5.55 ± 4.39	0	-
125 mg/kg BW/day	7	1.77 ± 1.30	7	3.50 ± 1.91	0	-

หมายเหตุ: N หมายถึง จำนวนหนูที่แสดงพฤติกรรมทางเพศ

ตารางที่ 4.18 เปรียบเทียบค่าความดันเลือดในองคชาตของหนูกลุ่มควบคุม และหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลานาน 6 เดือน

Groups	No. of rats	Baseline (mmHg)	Intracavernous pressure (mmHg)
Control DW 1 ml/day	10	2.82 ± 0.74	58.64 ± 3.29
5 mg/kg BW/day	10	6.96 ± 1.35***	79.14 ± 3.68***
25 mg/kg BW/day	10	7.88 ± 1.67***	102.47 ± 3.19***
125 mg/kg BW/day	10	3.82 ± 1.47	76.57 ± 4.81***

หมายเหตุ: *** หมายถึง ค่าวิเคราะห์ในแนวตั้งที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 99.9

4.7.3 ผลของสารสกัดสมุนไพรต่อความดันเลือดของร่างกาย

เมื่อพิจารณาความดันเลือดร่างกายของหนูทดลองที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรในระยะเวลา 14 วัน 3 เดือน และ 6 เดือน พบว่า ค่าความดันเลือดของร่างกายหนูเมื่อได้รับสารสกัดสมุนไพรปริมาณ 25 และ 125 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวต่อวัน เป็นระยะเวลานาน 6 เดือน มีค่าลดลงเมื่อเทียบกับหนูกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.19) และในกลุ่มควบคุมพบว่าหนูยิ่งมีอายุมากจะมีค่าความดันเลือดมากตามไปด้วย แต่ในทางกลับกันเมื่อได้รับสารสกัดเป็นเวลานานมีแนวโน้มที่ความดันเลือดลดลงเมื่ออายุมากขึ้น ดังนั้นสารสกัดสมุนไพรนี้อาจเป็นผลดีกับผู้ป่วยที่มีความดันเลือดสูงได้

ตารางที่ 4.19 เปรียบเทียบความดันเลือดของร่างกายหนูกลุ่มควบคุมกับหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในระยะเวลาการได้รับสารสกัดสมุนไพรที่แตกต่างกัน

Groups	No. of rats	Mean arterial pressure (mmHg)		
		14-Day	3-Month	6-Month
Control DW 1 ml/day	5	83.07 ± 2.49	92.62 ± 4.43	102.77 ± 3.15^{cd}
5 mg/kg BW/day	5	84.81 ± 4.13	89.15 ± 4.69	99.57 ± 4.25^{cd}
25 mg/kg BW/day	5	84.15 ± 3.27	88.13 ± 7.23	94.56 ± 2.07^{ab}
125 mg/kg BW/day	5	84.58 ± 2.00	90.58 ± 6.48	94.07 ± 2.65^{ab}

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงค่าวิเคราะห์ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4.7.4 ผลของสารสกัดสมุนไพรต่อเซลล์อสุจิ

การตรวจวัดจำนวนเซลล์อสุจิ ความผิดปกติของส่วนหัว และส่วนหาง และการเคลื่อนที่ของอสุจิของหนูที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุม พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดทุกความเข้มข้นจะมีจำนวนเซลล์อสุจิสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเฉพาะอย่างยิ่งหนูที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวมีจำนวนเซลล์อสุจิสูงที่สุดถึง 307.20×10^6 สเปิร์มต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 4.20) นอกจากนั้นความผิดปกติทั้งส่วนหัว และส่วนหางของเซลล์อสุจิยังไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมดังตารางที่ 4.21 และเมื่อวัดอัตราการเคลื่อนที่ของเซลล์อสุจิที่มีการเคลื่อนที่แบบ forward progressive movement ซึ่งจะบ่งชี้ถึงความแข็งแรงของเซลล์อสุจิ และมีความสำคัญต่ออัตราการปฏิสนธิ พบว่า หนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรทุกความเข้มข้นจะมีร้อยละการเคลื่อนที่ดีกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยที่หนูที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเข้มข้น 5 และ 125 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว จะมีอัตราการเคลื่อนที่ดีกว่ากลุ่มควบคุมตั้งแต่ชั่วโมงที่ 4 ถึงชั่วโมงที่ 6 แต่หนูที่ได้รับสารสมุนไพรเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว เซลล์อสุจิมีอัตราการเคลื่อนที่ดีกว่ากลุ่มควบคุมตั้งแต่ชั่วโมงที่ 2 ถึงชั่วโมงที่ 6 (ตารางที่ 4.22) การที่สารสกัดสมุนไพรสามารถเพิ่มประสิทธิภาพของเซลล์อสุจิได้นั้นยังไม่ทราบเหตุผลเนื่องจากยังไม่มีการศึกษาคุณสมบัติของสารประกอบในสารสกัดนี้มาก่อน และเป็นที่น่าสนใจในการศึกษาสารองค์ประกอบในสารสกัดสมุนไพรต่อไป แต่จากการศึกษาที่ผ่านมา เช่น สมุนไพรกวาวเครือแดงมีสารกลุ่มสเตียรอยด์โดยเฉพาะ ß-sitosterol ที่เป็นองค์ประกอบของกวาวเครือแดงสามารถเปลี่ยนเป็น pregnenolone โดยเอนไซม์ภายในอัณฑะ (Pertiwi, Kwan, and Gower, 2002) นอกจากนี้ pregnenolone ยังเป็นสารตั้งต้นที่สำคัญของการสังเคราะห์ฮอร์โมนเทสโทสเทอโรน (testosterone) จึงไปมีผลกระตุ้น gonadotrophin releasing hormone (Gn-RH) จาก hypothalamus ทำให้เกิดการหลั่ง follicle stimulating hormone (FSH) และ luteinizing hormone (LH) จาก pituitary ซึ่งมีผลทำให้ laydig cell และ seminiferous tubule ที่อยู่ภายในอัณฑะมีการเจริญขึ้น โดยที่ FSH จะไปมีผลต่อ Sertoli cell และขนาดของท่อ seminiferous tubule ซึ่งเป็นที่สร้างเซลล์อสุจิ ส่วน LH จะมีผลต่อ Leydig cell ซึ่งเป็นเซลล์ที่สำคัญในการผลิตฮอร์โมนเทสโทสเทอโรน และมีผลต่อการเจริญจนเป็นตัวเต็มวัยของเซลล์

4.7.5 ผลของสารสกัดสมุนไพรต่อน้ำหนักของอวัยวะภายในร่างกาย

การตรวจวัดน้ำหนักอวัยวะภายในของหนูกลุ่มควบคุม และหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้น 5, 25 และ 125 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวต่อวัน นาน 6 เดือน ได้ผลดังตารางที่ 4.23 หนูที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว มีน้ำหนักอวัยวะภายในไม่แตกต่างกับหนูกลุ่มควบคุม แต่หนูที่ได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว มีน้ำหนักของตับ ไต และหัวใจน้อยกว่าหนูกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนหนู

ที่ได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้น 125 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว มีน้ำหนักของต่อมลูกหมาก ต่อมสร้างน้ำเลี้ยงอสุจิ ไต และหัวใจมากกว่าหนูกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 4.20 เปรียบเทียบจำนวนเซลล์อสุจิของหนูกลุ่มควบคุม และหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลานาน 6 เดือน

Groups	No. of rats	Sperm concentration ($x10^6$ sperms/ml)
Control DW 1 ml/day	10	230.80 ± 23.38
5 mg/kg BW/day	10	266.80 ± 41.17*
25 mg/kg BW/day	10	307.20 ± 37.38***
125 mg/kg BW/day	10	270.20 ± 39.49*

หมายเหตุ: * หมายถึง ค่าวิเคราะห์ในแนวตั้งที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

*** หมายถึง ค่าวิเคราะห์ในแนวตั้งที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 99.9

ตารางที่ 4.21 เปรียบเทียบความผิดปกติของเซลล์อสุจิในส่วนของหัว และส่วนหางของหนูกลุ่มควบคุมและหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลานาน 6 เดือน

Groups	No. of rats	Head abnormal	Tail abnormal
Control DW 1 ml/day	10	1.60 ± 0.70	12.60 ± 1.51
5 mg/kg BW/day	10	1.50 ± 0.71	13.10 ± 2.18
25 mg/kg BW/day	10	1.40 ± 0.69	12.10 ± 2.42
125 mg/kg BW/day	10	1.70 ± 0.67	13.90 ± 2.88

ตารางที่ 4.22 เปรียบเทียบอัตราการเคลื่อนที่แบบ forward progressive movement ของเซลล์อสุจิของหนูกลุ่มควบคุม และหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลานาน 6 เดือน

Groups	No. of rats	Sperm motility (%)			
		0 hr.	2 hr.	4 hr.	6 hr.
Control DW 1 ml/day	6	90.83 ± 2.04	81.66 ± 4.08	71.66 ± 4.08	61.66 ± 4.08
5 mg/kg BW/day	6	91.66 ± 2.58	86.66 ± 5.16	80.00 ± 6.32*	75.00 ± 5.47***
25 mg/kg BW/day	6	93.33 ± 2.58	91.66 ± 2.58***	88.33 ± 4.08***	83.33 ± 5.16***
125 mg/kg BW/day	6	92.50 ± 2.73	85.00 ± 5.47	81.66 ± 7.52**	78.33 ± 7.52***

หมายเหตุ: * หมายถึง ค่าวิเคราะห์ในแนวตั้งที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

** หมายถึง ค่าวิเคราะห์ในแนวตั้งที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 99

*** หมายถึง ค่าวิเคราะห์ในแนวตั้งที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 99.9

ตารางที่ 4.23 เปรียบเทียบน้ำหนักอวัยวะภายในของหนูกลุ่มควบคุม และหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลานาน 6 เดือน

Parameters	Control	Extract (mg/kg BW/day)		
		5	25	125
No. of rats	10	10	10	3
Penis (g%)	0.30 ± 0.5	0.27 ± 0.20	0.32 ± 0.30	0.32 ± 0.30
Testis (g%)	0.75 ± 0.05	0.78 ± 0.03	0.75 ± 0.07	0.80 ± 0.11
Epididymis (g%)	0.26 ± 0.03	0.27 ± 0.15	0.26 ± 0.31	0.28 ± 0.03
Postage gland (g%)	0.13 ± 0.02	0.11 ± 0.01	0.11 ± 0.02	0.15 ± 0.04*
Seminal vesicle (g%)	0.49 ± 0.06	0.46 ± 0.06	0.47 ± 0.07	0.56 ± 0.07*
Liver (g%)	3.00 ± 0.24	2.70 ± 0.29**	2.98 ± 0.11	2.80 ± 0.14
Spleen (g%)	0.19 ± 0.02	0.20 ± 0.01	0.21 ± 0.01	0.20 ± 0.01
Kidney (g%)	0.64 ± 0.05	0.59 ± 0.03*	0.62 ± 0.03	0.69 ± 0.06*
Adrenal gland (g%)	0.011 ± 0.002	0.011 ± 0.001	0.011 ± 0.001	0.012 ± 0.002
Lung (g%)	0.36 ± 0.02	0.33 ± 0.05	0.38 ± 0.02	0.36 ± 0.04
Heart (g%)	0.31 ± 0.02	0.28 ± 0.02*	0.31 ± 0.02	0.33 ± 0.02*
Thyroid gland (g%)	0.0049 ± 0.0013	0.0052 ± 0.0008	0.0051 ± 0.0010	0.0054 ± 0.0010

หมายเหตุ: * หมายถึง ค่าวิเคราะห์ในแนวนอนที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

** หมายถึง ค่าวิเคราะห์ในแนวนอนที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 99

4.7.6 การวิเคราะห์เลือดทางเคมีคลินิก

จากการนำเลือดหนูที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่าง ๆ นาน 6 เดือนมาตรวจวิเคราะห์พบว่า หนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดทุกความเข้มข้นจะมีปริมาณน้ำตาลในเลือด และปริมาณเกล็ดเลือด (platelet, PLT) สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กลุ่มที่ได้รับสารสกัดความเข้มข้น 125 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว จะมีกรดยูริกสูงกว่ากลุ่มควบคุมมาก และกลุ่มที่ได้รับสารสกัดเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว มีปริมาณ high density lipoprotein (HDL) ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม (ตารางที่ 4.24) จากผลการวิเคราะห์เลือดทางเคมีคลินิกดังกล่าวอาจจะต้องระวังเรื่องของน้ำตาล เพราะทุกความเข้มข้นของสารสกัดทำให้น้ำตาลในเลือดเพิ่มมากขึ้น แต่ยังอยู่ในช่วงที่เป็นปกติโดยเปรียบเทียบกับตัวอย่างค่าทางโลหิตของสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ (ภาคผนวก ตารางที่ 1ผ) และถ้าได้รับสารสกัดความเข้มข้นสูงที่ 125 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว อาจเพิ่มปริมาณกรดยูริกซึ่งควรมีการศึกษาในกรณีนี้เพิ่มมากขึ้น ข้อมูลที่น่าให้ความสนใจคือที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว พบว่า

ปริมาณ HDL ลดลง ซึ่งอาจบ่งบอกถึงการที่ร่างกายอยู่ในช่วงที่ออกกำลังกายหรือร่างกายมีความแข็งแรงได้ แต่ที่น่าสนใจคือปริมาณของเกล็ดเลือดเพิ่มมากขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม แต่ค่าของเกล็ดเลือดที่ต่างจากกลุ่มควบคุมนั้นยังคงอยู่ในช่วงที่ปกติ โดยเทียบกับตัวอย่างผลตรวจทางโลหิตวิทยาของสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล ดังตารางที่ 2ผ (ภาคผนวก) โดยที่การเพิ่มขึ้นของเกล็ดเลือดอาจทำให้เลือดมีความเข้มข้นมากขึ้นแต่ปริมาณของเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวไม่มีความผิดปกติแต่อย่างใด ซึ่งการที่มีเกล็ดเลือดเพิ่มมากขึ้นอาจมีผลดีในผู้ป่วยที่มีปัญหาเกี่ยวกับจำนวนเกล็ดเลือดน้อยได้

นอกจากนี้คณะผู้วิจัยได้ทดสอบปริมาณฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนในเลือดหนูที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรตำรับที่ 3 เข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัวต่อวัน ติดต่อกันนาน 5 สัปดาห์ พบว่าในเลือดของหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรจะมีปริมาณฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนเท่ากับ 7.25 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งเพิ่มสูงขึ้นจากหนูกลุ่มควบคุมที่มีปริมาณเพียง 3.03 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลการตรวจสอบนี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดสมุนไพรตำรับที่ 3 มีผลในการเพิ่มปริมาณเทสโทสเทอโรน ซึ่งอาจเป็นส่วนสำคัญที่ทำให้หนูมีพฤติกรรมทางเพศที่ดีขึ้นได้

4.7.7 การวิเคราะห์ทางพยาธิสภาพ (histopathology) ของอวัยวะภายในร่างกาย

จากผลการตรวจพยาธิสภาพของอวัยวะภายในร่างกายไม่พบความผิดปกติของโรคต่าง ๆ ยกเว้นเกิดการขยายตัวของท่อพักเซลล์อสุจิมีขนาดใหญ่ขึ้นเมื่อได้รับสารสกัดสมุนไพร (ตารางที่ 4.25) ซึ่งการขยายขนาดนั้นสอดคล้องกับปริมาณอสุจิที่ตรวจพบคือ หนูที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว จะมีจำนวนอสุจิสูงที่สุด ซึ่งน่าจะมีน้ำเลี้ยงปริมาณมากขึ้นด้วยเช่นเดียวกัน (ตารางที่ 4.20) จึงเป็นผลให้ขนาดท่อพักเซลล์อสุจิมีการขยายขนาดมากขึ้นได้ แต่โดยภาพรวมแล้วถือได้ว่าสารสกัดสมุนไพรนี้มีความปลอดภัยถึงแม้จะได้รับในระยะยาว เพราะไม่พบความผิดปกติของอวัยวะภายในร่างกาย

จากการสังเกตของนักวิจัยที่มีความเชี่ยวชาญ และมีประสบการณ์ที่ทำงานวิจัยเกี่ยวกับสัตว์ทดลองนานกว่า 21 ปี พบว่า การป้อนสารสกัดสมุนไพร (5, 25 และ 125 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวต่อวัน) ให้สัตว์ทดลองกินทุกวันเป็นเวลานาน 6 เดือน สัตว์ทดลองจะมีความแข็งแรงมาก เวลาจับมักจะดิ้นและมีกำลัง ลำตัวส่วนท้องจะไม่ค่อยมีไขมัน ตัวจะแน่นเหมือนมีกล้ามเนื้อเพิ่มขึ้นซึ่งสังเกตได้ชัดเจนมากที่สุด นอกจากนั้นขนจะมีความหยาบน้อย ขนบริเวณหลังไม่ปรากฏเป็นสีน้ำตาล การเคลื่อนไหวรวดเร็ว ดวงตาจะมีสีแดงใสเป็นประกาย แต่เมื่อพิจารณาลักษณะภายนอกของหนูกลุ่มควบคุม (อายุเท่ากับหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพร) จะมีลักษณะที่ตรงกันข้ามและสังเกตได้อย่างชัดเจนว่าเป็นหนูแก่ คือ ขนหยาบ บริเวณกลางหลังมีสีน้ำตาล เมื่อจับหรือสัมผัสจะรู้สึกสากมือ ลำตัวนิ่มเหมือนมีปริมาณไขมันหนาอยู่ที่ส่วนท้อง ดวงตาไม่มีสีแดงใส แต่มีสีแดงขุ่น ไม่ค่อยมีกำลัง เมื่อจับจะนิ่งไม่ดิ้น การเคลื่อนไหวช้ามาก และมักนอนนิ่ง ๆ ซึ่งแตกต่างจากหนูที่มีอายุใกล้เคียงกันแต่ได้รับสารสกัดสมุนไพรอย่างชัดเจน

ตารางที่ 4.24 เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์เลือดทางเคมีคลินิกของหนูกลุ่มควบคุม และหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลานาน 6 เดือน

Parameters	Control	Extract (mg/kg BW/day)		
		5	25	125
No. of rats	10	10	10	10
Glucose (mg/dl)	149.00 ± 11.66	161.80 ± 13.12*	160.80 ± 7.22*	163.40 ± 12.83*
BUN (mg/dl)	23.40 ± 1.64	21.40 ± 1.89	20.80 ± 5.90	22.60 ± 1.95
Creatinine (mg/dl)	0.40 ± 0.09	0.37 ± 0.06	0.32 ± 0.10*	0.35 ± 0.05
Uric acid (mg/dl)	0.73 ± 0.30	0.70 ± 0.21	0.87 ± 0.43	1.36 ± 0.11***
Cholesterol (mg/dl)	99.80 ± 10.84	111.50 ± 12.39*	93.40 ± 7.74	102.90 ± 9.50
Triglyceride (mg/dl)	21.40 ± 5.64	18.60 ± 3.40	25.80 ± 7.80	16.70 ± 3.56
AST (U/L)	118.40 ± 27.41	128.20 ± 24.28	100.20 ± 34.21	146.80 ± 56.86
ALT (U/L)	49.70 ± 14.09	45.80 ± 15.26	48.50 ± 15.26	58.60 ± 31.69
ALP (U/L)	77.20 ± 7.95	62.60 ± 8.73	75.30 ± 31.43	65.70 ± 6.11
HDL (mg/dl)	42.53 ± 3.28	44.97 ± 4.63	38.81 ± 2.72*	41.80 ± 3.58
LDL (mg/dl)	26.35 ± 3.81	29.71 ± 3.17	25.18 ± 2.15	28.32 ± 5.09
CBC	WBC (x10^{9}cell/L)	2.25 ± 0.59	2.64 ± 0.87	2.29 ± 0.68	2.14 ± 0.92
	% neutrophil	34.20 ± 10.79	36.00 ± 9.35	32.40 ± 5.18	42.50 ± 10.24
	% Lymphocyte	63.60 ± 11.16	59.10 ± 13.09	65.70 ± 4.90	55.40 ± 9.72
	% monocyte	0.70 ± 0.94	2.80 ± 3.99*	0.60 ± 0.51	0.60 ± 0.69
	% eosinophil	0.80 ± 0.63	1.20 ± 1.13	1.20 ± 0.63	1.20 ± 0.63
	% basophil	0.70 ± 0.48	0.90 ± 1.19	0.30 ± 0.48	0.30 ± 0.48
	RBC (x10^{12}cell/L)	8.54 ± 0.27	8.71 ± 0.35	7.84 ± 0.23***	8.40 ± 0.35
	HGB (g/dl)	14.61 ± 0.39	14.99 ± 0.46*	14.05 ± 0.27**	14.61 ± 0.32
	HCT (%)	50.84 ± 1.33	51.86 ± 1.89	47.66 ± 1.01***	49.80 ± 1.98
	PLT (x10^9/L)	276.2 ± 28.2	652.2 ± 82.8***	767.8 ± 86.0***	792.0 ± 79.6***

หมายเหตุ: * หมายถึง ค่าวิเคราะห์ในแนวตั้งที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

** หมายถึง ค่าวิเคราะห์ในแนวตั้งที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 99

*** หมายถึง ค่าวิเคราะห์ในแนวตั้งที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 99.9

blood urea nitrogen (BUN), aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), high density lipoprotein (HDL), low density lipoprotein (LDL), complete blood count (CBC), white blood cells (WBC), red blood cells (RBC), hemoglobin (HGB), hematocrit (HCT), platelet (PLT)

ตารางที่ 4.25 เปรียบเทียบผลทางพยาธิสภาพของอวัยวะภายในร่างกายของหนูกลุ่มควบคุม และหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลานาน 6 เดือน

Organs	Lesions	Control (n=10)	Extract (mg/kg BW/day)		
			5 (n=10)	25 (n=10)	125 (n=10)
Heart	Focal myocardiosis	0	0	0	0
Lung	Lymphoid proliferated peribronchioles	0	0	0	0
Liver	Fatty degeneration	0	0	0	0
	Hepatocyte megalocytosis	0	0	0	0
	Lymphoid aggregated periportal area	0	0	0	0
	Bile duct proliferation	0	0	0	0
	Peliosis hepatitis	0	0	0	0
Kidney	Multifocal tubular cyst	0	0	0	0
	Tubular cast	0	0	0	0
	Tubulonephrosis	0	0	0	0
Adrenal gland	Cortical fatty degeneration	0	0	0	0
Testis	Interstitial edema	0	0	0	0
	Seminiferous tubule degeneration	0	0	0	0
	Congestion	0	0	0	0
Epididymidis	Dilated lumen	1	1	3	2
Seminal vesicle	Epithelial hyperplasia	0	0	0	0
	Dilated lumen	0	0	0	0
Spleen	Lymphomas	0	0	0	0

หมายเหตุ: n หมายถึง จำนวนหนูทดลอง

0 หมายถึง ไม่ผิดปกติ

1, 2 และ 3 หมายถึง อวัยวะมีขนาดใหญ่ขึ้นตามลำดับ

4.8 อายุการเก็บของสารสกัดสมุนไพร

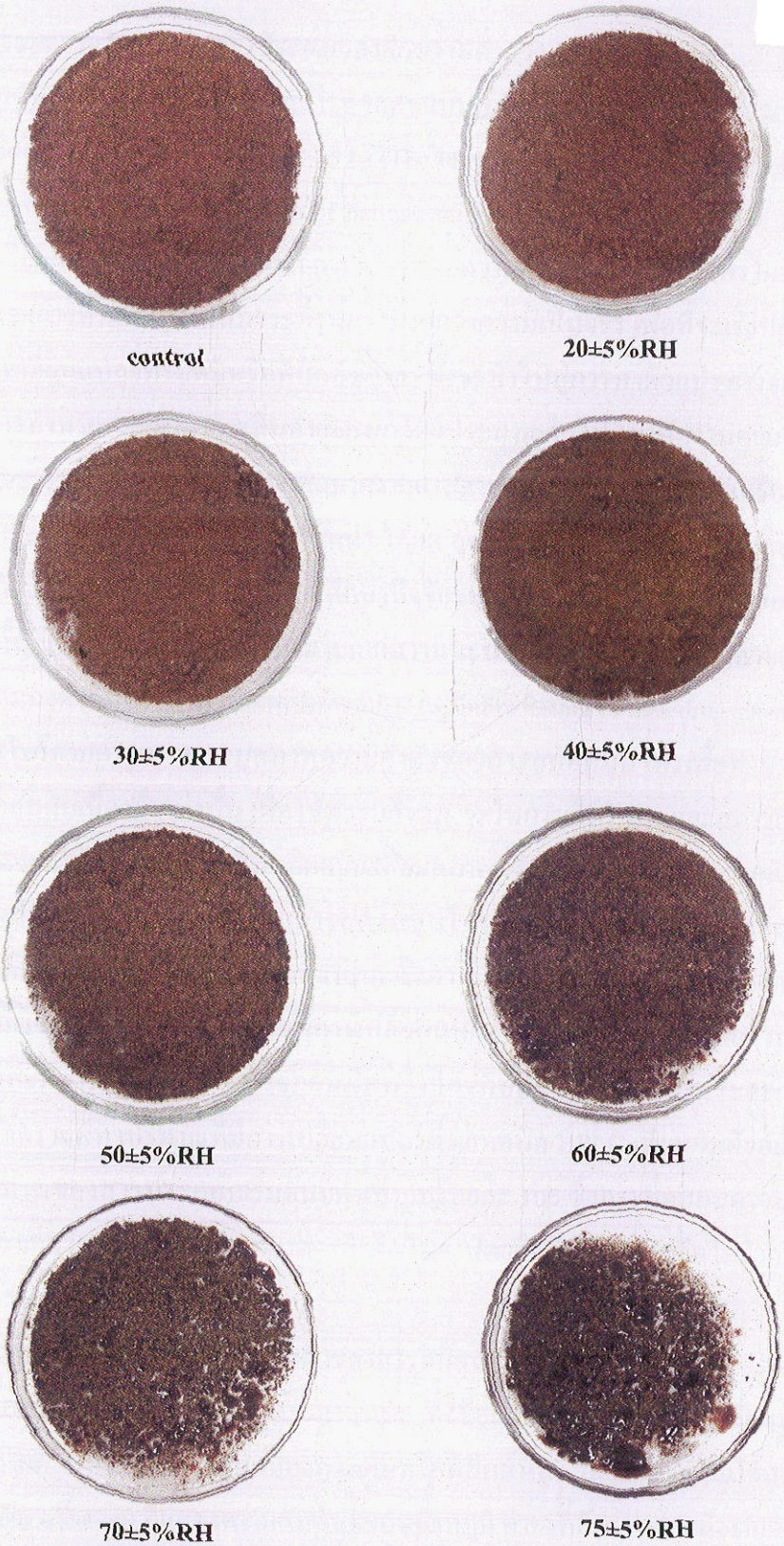
เนื่องด้วยสารสกัดสมุนไพรตำรับที่ 3 สกัดด้วยสารละลายเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 60 โดยปริมาตร นาน 72 ชั่วโมง เป็นสารสกัดที่ทำให้กล้ามเนื้อเรียบในอวัยวะของสัตว์ทดลองมีการคลายตัวมากที่สุด และถูกนำมาใช้ในการทดลองตรวจสอบความเป็นพิษ และฤทธิ์ในการเพิ่มสมรรถภาพทางเพศในสัตว์ทดลองดังผลการทดลองที่ผ่านมา จึงกล่าวได้ว่าในขณะนี้สารสกัดสมุนไพรตำรับที่ 3 มีคุณสมบัติที่มีความเป็นไปได้ในการนำไปพัฒนาเป็นยารักษาอาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศ ด้วยเหตุนี้จึงนำสารสกัดสมุนไพรดังกล่าวมาทดสอบหาอายุการเก็บ ตามหลักการการทดสอบความคงตัวของยา (The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH), 2003) เพื่อทำนายอายุการเก็บของสารสกัดสมุนไพร และทราบสภาวะการเก็บที่ควรหลีกเลี่ยงที่จะส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทั้งทางกายภาพ และสารประกอบ

4.8.1 ผลของความชื้นต่อลักษณะปรากฏของสารสกัดสมุนไพร

เนื่องด้วยสารสกัดสมุนไพรตำรับที่ 3 สกัดด้วยสารละลายเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 60 โดยปริมาตร และผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dry) จะมีความชื้นอยู่ในช่วงร้อยละ 9.70-9.96 และมีปริมาณน้ำอิสระโดยเฉลี่ย 0.361 มีลักษณะเป็นผงแห้งที่ดูดความชื้นได้ดี ดังนั้นจึงต้องทำการทดสอบผลของความชื้นสัมพัทธ์ที่ระดับต่าง ๆ ต่อลักษณะปรากฏของสารสกัดสมุนไพร เพื่อให้ทราบถึงช่วงความชื้นสัมพัทธ์ที่ไม่ทำให้ผงสารสกัดสมุนไพรเกิดการเกาะตัวกัน เนื่องจากการเกาะตัวกันของผงสมุนไพรที่ความชื้นใด ๆ นั้นแสดงให้เห็นว่าสารสกัดสมุนไพรไม่คงตัวเมื่ออยู่ในสภาวะที่มีความชื้นนั้น ๆ จึงเปรียบเสมือนเป็นการทดลองหาระดับความชื้นสัมพัทธ์ที่อาจมีผลต่อองค์ประกอบแต่ไม่ทำให้ผงสมุนไพรเปลี่ยนสภาพ เพื่อนำไปใช้ในการทดลองผลของความชื้นต่ออายุการเก็บของสารสกัดสมุนไพรในสภาวะเร่ง เมื่อทำการทดลองทำให้พบว่าลักษณะปรากฏของผงสารสกัดสมุนไพรในสภาวะที่มีความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 20-40 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ไม่มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม (รูปที่ 4.9) ตัวอย่างยังมีลักษณะเป็นผงแห้ง แต่ตัวอย่างที่อยู่ในสภาวะที่มีความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 50 จะมีผงบางส่วนที่หลอมละลาย และจับตัวกันเป็นก้อน ส่วนความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 60-75 ทำให้ตัวอย่างเกิดการหลอมละลายอย่างชัดเจน และทำให้สารสกัดมีสีเข้มขึ้น ดังนั้นการทดสอบผลของความชื้นต่ออายุการเก็บในสภาวะเร่งจะเลือกทดสอบที่ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 30, 40 และ 50 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

4.8.2 การทดสอบหาอายุการเก็บของสารสกัดสมุนไพรเบื้องต้นโดยใช้สภาวะเร่ง

การทดสอบความคงสภาพของยามีวัตถุประสงค์เพื่อหาข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ ในการที่จะให้แน่ใจในประสิทธิภาพและความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์ยา และเพื่อกำหนดวันสิ้นอายุของยา ข้อกำหนดในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ และอายุของยาที่เหมาะสม วิธีการทดสอบความคงตัวดังกล่าวมี 2 วิธีหลัก ได้แก่ การทดสอบแบบระยะยาว (long term testing) และการทดสอบแบบเร่ง (accelerated testing) สำหรับ



รูปที่ 4.9 ลักษณะปรากฏของสารสกัดสมุนไพรตำรับที่ 3 ที่ความชื้นสัมพัทธ์ต่าง ๆ เมื่อผ่านไป 24 ชั่วโมง

การทดสอบแบบระยะยาวโดยทั่วไปจะใช้ระยะเวลาศึกษาไม่ต่ำกว่า 12 เดือน ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 60±5 ส่วนการทดสอบแบบเร่งจะศึกษาไม่ต่ำกว่า 6 เดือน ที่อุณหภูมิ 40±2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75±5 (The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of harmaceuticals for Human Use (ICH), 2003) ด้วยระยะเวลาของงานวิจัยที่จำกัด ดังนั้นจึงเลือกวิธีการตรวจสอบความคงตัวของผงสมุนไพรโดยใช้สภาวะเร่ง โดยการเก็บตัวอย่างที่ทดสอบในสภาวะที่รุนแรงมากกว่าความเป็นจริง เพื่อที่จะเร่งปฏิกิริยาการสลายตัว หรือการเปลี่ยนแปลงทางเคมีหรือฟิสิกส์ของยา ซึ่งจะนำไปสู่การหาตัวแปรทางจลนศาสตร์และนำไปใช้ในการทำนายระยะเวลาการสิ้นอายุของยาโดยประมาณต่อไป (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข, 2535) การศึกษาความคงสภาพของสารประกอบในยาหรือผลิตภัณฑ์ยามีปัจจัยของสภาวะแวดล้อมหลักที่ใช้ในการศึกษา ได้แก่ อุณหภูมิ ความชื้น และแสง แต่ด้วยความไม่พร้อมของอุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับการศึกษาปัจจัยของแสง จึงทำการศึกษาผลของอุณหภูมิและความชื้นเท่านั้น โดยวางแผนการทดลองตามเอกสารแนะนำของ ICH (2003) ว่าด้วยเรื่อง "การทดสอบสภาพความคงตัวของยาใหม่ และผลิตภัณฑ์ยา" (Stability testing of new drug substances and products) แต่อย่างไรก็ตามการตรวจสอบสภาพความคงตัวของสารสกัดสมุนไพรเพื่อทำนายอายุการเก็บเป็นเพียงการทดสอบเบื้องต้นเท่านั้น เพื่อให้ทราบถึงสภาวะในการเก็บรักษา และสภาวะการเก็บที่ควรหลีกเลี่ยงที่จะส่งผลให้สารสกัดสมุนไพรเกิดความเสื่อมสภาพทั้งทางกายภาพ และทางเคมี และด้วยเหตุที่ยังไม่ทราบแน่ชัดว่าสารประกอบใดในสารสกัดสมุนไพรที่เป็นสารสำคัญออกฤทธิ์กระตุ้นให้สัตว์ทดลองมีพฤติกรรมทางเพศดีกว่ากลุ่มควบคุม ซึ่งอาจมีสาร ประกอบที่สำคัญมากกว่าหนึ่งสารประกอบ ดังนั้นจึงเลือกใช้การตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงขององค์ ประกอบโดยรวมเทียบกับตัวอย่างควบคุม และพิจารณาเลือกองค์ประกอบที่พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงไปตามระยะเวลา และสภาวะที่ทดสอบ วิเคราะห์หาปริมาณที่มีการเปลี่ยนแปลงด้วยเทคนิค HPLC เทียบกับตัวอย่างเริ่มต้น โดยกำหนดให้ปริมาณของสารประกอบเริ่มต้นมีค่าเท่ากับร้อยละ 100 ซึ่งการทดสอบความคงสภาพของยาโดยทั่วไปจะยอมรับความคงสภาพของสารสำคัญในยา โดยมีปริมาณคง เหลือไม่ต่ำกว่าร้อยละ 90 (Anderson and Scott, 1991)

ก. ผลกระทบของอุณหภูมิต่อความคงตัวของสารสกัดสมุนไพร

การศึกษาอายุการเก็บของตัวอย่างในสภาวะเร่ง ที่ใช้อุณหภูมิที่สูงขึ้นเป็นปัจจัยหลักในการเร่งปฏิกิริยาการสลายตัว หรือการเปลี่ยนแปลงทางเคมีหรือฟิสิกส์นั้น โดยทั่วไปนิยมใช้สมการของอาร์เรเนียส (Arrhenius equation) ที่แสดงความสัมพันธ์ของอุณหภูมิ ค่าคงที่อัตรา และพลังงานก่อกัมมันต์ (สมการ 1) การทำนายอายุการเก็บของตัวอย่างที่สภาวะการเก็บรักษาจะทำได้โดยการทราบพลังงานก่อกัมมันต์ของปฏิกิริยา และค่าคงที่อัตราที่อุณหภูมิหนึ่งที่ทำการทดลอง จากนั้นคำนวณหาค่าคงที่อัตรา

ของปฏิกิริยาการเสื่อมสลาย หรืออัตราการเพิ่มขึ้นของสารที่อุณหภูมิในการเก็บรักษา หรือที่อุณหภูมิอื่นโดยใช้ความสัมพันธ์ของสมการที่ 2

$$\ln k = \ln A - \frac{E_a}{RT} \qquad ...(1)$$

เมื่อ k คือ ค่าคงที่อัตรา

A คือ แฟกเตอร์ความถี่ (frequency factor)

E_a คือ พลังงานก่อกัมมันต์ (activation energy) ของปฏิกิริยา มีหน่วยเป็น กิโลจูลต่อโมล

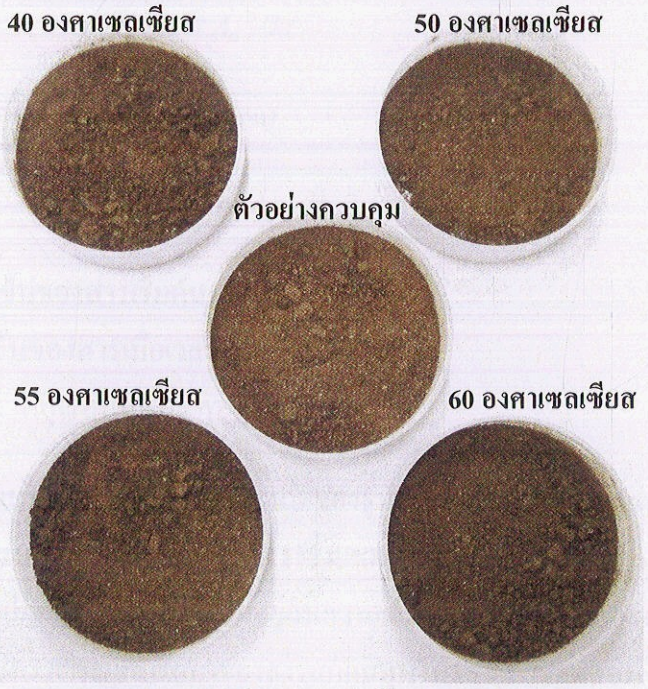
R คือ ค่าคงที่ของแก๊ส มีค่าเท่ากับ 8.312 จูลต่อโมล.เคลวิน

T คือ อุณหภูมิสัมบูรณ์ มีหน่วยเป็น เคลวิน

$$\ln \frac{k_1}{k_2} = \frac{E_a}{R}\left(\frac{T_1 - T_2}{T_1 T_2}\right) \qquad ...(2)$$

เมื่อ k_1 คือ ค่าคงที่อัตราที่อุณหภูมิสัมบูรณ์ T_1

k_2 คือ ค่าคงที่อัตราที่อุณหภูมิสัมบูรณ์ T_2



รูปที่ 4.10 ผลของความร้อนต่อสีของสารสกัดสมุนไพรเมื่อได้รับความร้อนนาน 1 เดือนที่ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 30

จากการศึกษาความคงสภาพของผงสมุนไพรตำรับที่ 3 เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 40, 50, 55 และ 60 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 30±5 นาน 30 วัน พบว่า ผงสมุนไพรยังมีลักษณะความเป็นผง แต่จะมีสีน้ำตาลเข้มมากขึ้นเมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุม โดยเฉพาะอย่างยิ่งผงสมุนไพรที่ทดสอบที่อุณหภูมิ 55 และ 60 องศาเซลเซียส ดังปรากฏในรูปที่ 4.10 และเมื่อนำผงสมุนไพรที่ทดสอบความคงสภาพนาน 7, 14, 21 และ 28 วัน มาวิเคราะห์องค์ประกอบโดยรวมด้วยเทคนิค HPLC พบสารชนิดหนึ่งในโครมาโทแกรมมีค่า retention time เท่ากับ 5.95 (ภาคผนวก รูปที่ 9ผ) ซึ่งไม่ทราบแน่ชัดว่าเป็นสารชนิดใด แต่เมื่อเทียบกับปริมาณที่พบในตัวอย่างควบคุม ซึ่งมีค่าเท่ากับร้อยละ 100 จะมีปริมาณลดลงตามระยะเวลา และอุณหภูมิที่มากขึ้น (ตารางที่ 4.26) จึงนำสารดังกล่าวมาเป็นดัชนีชี้วัดการเสื่อมสภาพของสารสกัดสมุนไพรเบื้องต้น นำข้อมูลการลดลงของสารประกอบดังกล่าวมาเขียนกราฟระหว่างความเข้มข้นของสาร ณ ที่เวลาต่าง ๆ กับเวลา ตามสมการปฏิกิริยาเคมีอันดับศูนย์ (สมการ 3) และปฏิกิริยาเคมีอันดับหนึ่ง (สมการ 4) เพื่อหาค่าคงที่อัตราของแต่ละอุณหภูมิที่ทดสอบ จากนั้นเขียนกราฟระหว่างล็อกธรรมชาติของค่าคงที่อัตราของสารแต่ละอุณหภูมิกับส่วนกลับของอุณหภูมิสัมบูรณ์ เพื่อหาพลังงานก่อกัมมันต์ของปฏิกิริยาตามสมการของอาร์เรเนียส (สมการ 1) ได้ความสัมพันธ์ดังรูปที่ 4.11 และ 4.12

ปฏิกิริยาอันดับศูนย์ (Zero order reaction)

$$A = A_0 - kt \qquad ...(3)$$

ปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง (First order reaction)

$$\ln A = \ln A_0 - kt \qquad ...(4)$$

เมื่อ A_0 คือ ความเข้มข้นของสารเริ่มต้น (t = 0)

A คือ ความเข้มข้นของสารเมื่อเวลาผ่านไปเท่ากับ t

k คือ ค่าคงที่อัตราที่อุณหภูมิหนึ่ง ๆ

เมื่อพิจารณาค่าสหสัมพันธ์ (Correlation, R^2) ของรูปที่ 4.11 และ 4.12 จะพบว่า กราฟในรูปที่ 4.12 จะมีความสัมพันธ์กันมากกว่ากราฟในรูป 4.11 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารประกอบที่พบในสารสกัดสมุนไพรนี้มีอัตราการเกิดปฏิกิริยาเสื่อมสลายขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารตั้งต้นยกกำลังหนึ่ง ดังนั้นการคำนวณอายุการเก็บที่สภาวะการเก็บรักษาของสารสกัดสมุนไพรจากการทดสอบในสภาวะเร่ง โดยใช้สารประกอบที่พบนี้เป็นสารดัชนี ควรเลือกใช้ค่าคงที่อัตราที่ได้จากการเขียนกราฟของปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง ซึ่งจะได้ค่าพลังงานก่อกัมมันต์ของปฏิกิริยาเท่ากับ 57.72 กิโลจูลต่อโมล จากนั้นคำนวณหาค่าคงที่อัตราที่อุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษาสารสกัดสมุนไพรคือ 25 องศาเซลเซียส ตามสมการที่

2 และคำนวณอายุการเก็บที่อุณหภูมิดังกล่าวตามสมการที่ 5 (Anderson and Scott, 1991) ซึ่งสารสกัดสมุนไพรตำรับที่ 3 นี้มีอายุการเก็บประมาณ 41 วัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 30

$$t_{90} = 0.105/k \qquad ...(5)$$

เมื่อ t_{90} คือ ระยะเวลาที่สารลดลงไปเหลือร้อยละ 90 จากเริ่มต้น

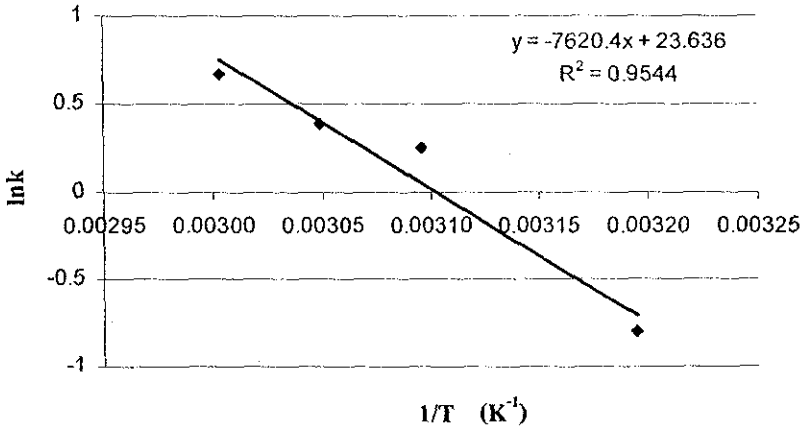
k คือ ค่าคงที่อัตราที่อุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษา

ตารางที่ 4.26 ผลของอุณหภูมิ และระยะเวลาต่อปริมาณสารชนิดหนึ่งที่พบในตัวอย่างสารสกัดสมุนไพร เมื่อเทียบกับปริมาณเริ่มต้นที่มีค่าเท่ากับร้อยละ 100

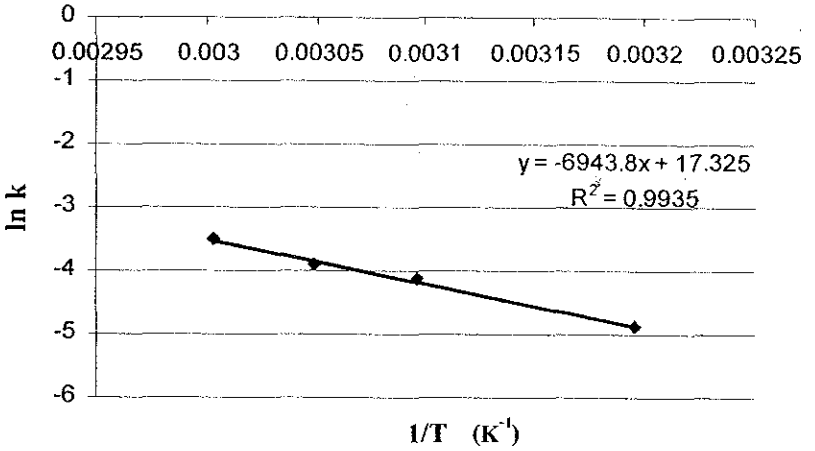
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ร้อยละของปริมาณสารชนิดหนึ่งที่พบในตัวอย่างสารสกัดสมุนไพร			
	7 วัน	14 วัน	21 วัน	28 วัน
40±2	$89.43 \pm 1.23^{a,a}$	$88.62 \pm 0.49^{a,a}$	$87.26 \pm 0.61^{a,a}$	$77.40 \pm 4.46^{a,a}$
50±2	$83.75 \pm 2.55^{a,a}$	$75.34 \pm 0.33^{b,b}$	$69.70 \pm 0.04^{b,b}$	$62.48 \pm 0.17^{c,b}$
55±2	$70.55 \pm 0.26^{a,b}$	$63.57 \pm 0.12^{b,c}$	$59.81 \pm 1.08^{b,c}$	$53.82 \pm 1.01^{c,b}$
60±2	$64.76 \pm 0.36^{a,b}$	$53.17 \pm 2.02^{b,d}$	$49.03 \pm 0.49^{b,d}$	$40.04 \pm 0.17^{c,c}$

หมายเหตุ - อักษรตัวแรกที่แตกต่างกันหมายถึงค่าเฉลี่ยตามแนวนอนที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p<0.05$)

- อักษรตัวที่สองที่แตกต่างกันหมายถึงค่าเฉลี่ยตามแนวตั้งที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p<0.05$) วิเคราะห์ด้วยโปรแกรมสถิติ SAS



รูปที่ 4.11 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างล็อกธรรมชาติของค่าคงที่อัตราของแต่ละอุณหภูมิที่ได้จากสมการปฏิกิริยาเคมีอันดับศูนย์กับส่วนกลับของอุณหภูมิสัมบูรณ์



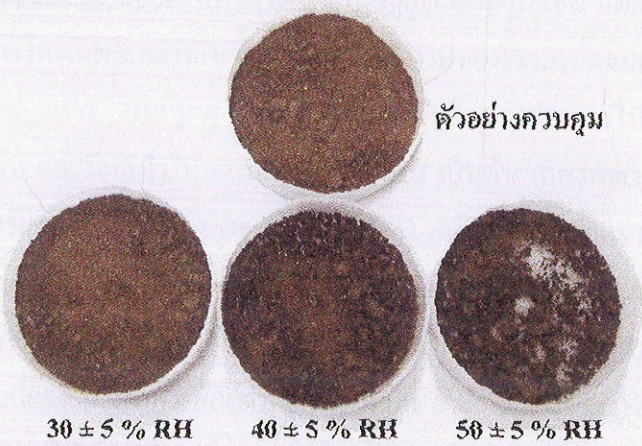
รูปที่ 4.12 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างล็อกธรรมชาติของค่าคงที่อัตราของแต่ละอุณหภูมิที่ได้จากสมการปฏิกิริยาเคมีอันดับหนึ่งกับส่วนกลับของอุณหภูมิสัมบูรณ์

จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าตัวอย่างสารสกัดสมุนไพรผ่านการทดสอบเพียง 30 วัน มีการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารที่พบลดต่ำลงกว่าร้อยละ 90 เมื่อเทียบกับตัวอย่างเริ่มต้นที่ทุกอุณหภูมิที่ทดสอบ ซึ่งมีความเป็นไปได้ที่สารประกอบดังกล่าวอาจไม่เสถียรต่อความร้อน ด้วยเหตุนี้จึงไม่มีความจำเป็นต้องทดสอบนาน 6 เดือน แต่อย่างไรก็ตามสารประกอบที่พบนี้อาจไม่ใช่สารสำคัญหลักในสารสกัดสมุนไพร เนื่องจากผลการหาอายุการเก็บที่พบว่าเก็บได้นานเพียง 41 วัน ขัดแย้งกับผลการป้อนสารสกัดสมุนไพรให้กับหนูเพศผู้วันละครั้งนาน 6 เดือน ที่พบว่าหนูทดลองแสดงผลพฤติกรรมทางเพศดีกว่ากลุ่มควบคุมอย่างชัดเจน (ตารางที่ 4.15, 4.16 และ 4.17) จึงมีความเป็นไปได้ที่สาร สำคัญในสารสกัดสมุนไพรยังคงสภาพและสามารถออกฤทธิ์ได้แม้เก็บไว้นาน 6 เดือน ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาวิเคราะห์จำแนกองค์ประกอบในสารสกัดสมุนไพรและบ่งชี้สารสำคัญที่แท้จริงเพื่อนำมา ใช้เป็นดัชนีชี้วัดความคงสภาพของสารสกัดสมุนไพรเมื่อทดสอบในสภาวะเร่ง และระยะยาว ซึ่งเป็นข้อมูลที่สำคัญในการขึ้นทะเบียนยาต่อไป

ข. ผลกระทบของความชื้นต่อความคงตัวของสารสกัดสมุนไพร

ความชื้นมีผลต่อลักษณะทางกายภาพของตัวอย่างยาที่มีสถานะเป็นของแข็ง โดยจะทำให้ยาเกิดการเปลี่ยนรูปได้ เช่น เกิดกระบวนการดูดน้ำ และเกิดการละลายของตัวอย่างยา เป็นต้น การทดสอบผลของความชื้นอาจไม่ได้หาระยะเวลาสิ้นอายุของยาโดยตรง แต่มีประโยชน์อย่างมากสำหรับการพัฒนาบรรจุภัณฑ์ สำหรับบรรจุยาให้อยู่ในสิ่งแวดล้อมที่มีระดับความชื้นที่ไม่ทำให้ยาเกิดการเสื่อมสภาพทั้งทางกายภาพและทางเคมี ช่วยส่งเสริมให้ยามีอายุการเก็บที่นานมากขึ้น ซึ่งจากการศึกษาผลกระทบของความชื้นต่อความคงตัวของสารสกัดสมุนไพรตำรับที่ 3 ทดสอบในกล่องควบคุมความชื้นที่มีความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 30, 40 และ 50 โดยใช้สารละลายเกลืออิ่มตัว $MgCL_2$, KCO_3 และ $Mg(NO_3)_2$ ตามลำดับในการควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ เป็นเวลานาน 30 วัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบลักษณะปรากฏของผงสารสกัดสมุนไพรดังรูปที่ 4.13 ผงสารสกัดสมุนไพรที่ทดสอบที่ความชื้นสัมพัทธ์

ร้อยละ 30 มีลักษณะความเป็นผง และสีคล้ายคลึงกับตัวอย่างควบคุม แต่ผงสมุนไพรจะมีสีน้ำตาลเข้ม และเกาะกันเป็นก้อนมากขึ้นเมื่ออยู่ในสภาวะที่มีความชื้นสูงขึ้น (ร้อยละ 40 และ 50) ซึ่งเป็นผลมาจากตัวอย่างสารสกัดสมุนไพรหลังกระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีปริมาณน้ำอิสระโดยเฉลี่ย 0.361 เมื่ออยู่ในสภาพที่มีความชื้นสัมพัทธ์เหนือตัวอย่างสูงกว่าร้อยละ 36.1 จึงเกิดกระบวนการดูดน้ำจากบรรยากาศจนเข้าสู่สมดุล สารสกัดสมุนไพรจะมีปริมาณน้ำอิสระเท่ากับปริมาณน้ำอิสระในบรรยากาศ ซึ่งทำให้บางองค์ประกอบในสารสกัดสมุนไพรเกิดการละลาย และทำหน้าที่เป็นสารเสริมสภาพพลาสติก (plasticizer) ช่วยให้ผงสมุนไพรจับกันเป็นก้อน และมีสีเข้มมากขึ้น เมื่อนำตัวอย่างที่ผ่านการทดสอบนาน 7, 14, 21 และ 28 วัน มาวิเคราะห์องค์ประกอบโดยรวมเช่น เดียวกับผลกระทบของอุณหภูมิ พบว่าสารประกอบที่มีการเปลี่ยนแปลงนั้น มีความเป็นไปได้ที่จะเป็นสารประกอบชนิดเดียวกันกับที่พบในการทดสอบผลกระทบของอุณหภูมิ เนื่องจากมีค่า retention time เท่ากัน เมื่อวิเคราะห์ปริมาณการเปลี่ยนแปลง พบว่า สารประกอบชนิดนี้มีแนวโน้มของปริมาณลดลงแปรผกผันกับระยะเวลาการเก็บ และความชื้นสัมพัทธ์ที่มากขึ้น ซึ่งการเก็บสารสกัดสมุนไพรที่ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 30 อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส จะสามารถเก็บได้นานที่สุด คือ 21 วัน แต่เมื่อเก็บไว้ที่ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 40 และ 50 จะสามารถเก็บสารสกัดสมุนไพรได้น้อยกว่า 7 วัน (ตารางที่ 4.27) จึงมีความเป็นไปได้ที่ไอน้ำในบรรยากาศจะเร่งอัตราการเสื่อมสลายของสารประกอบดังกล่าว อีกทั้งทำให้สารสกัดสมุนไพรสูญเสียลักษณะความเป็นผง และจับตัวกันเป็นก้อนเมื่ออยู่ในบรรยากาศที่มีความชื้นสัมพัทธ์สูงกว่าร้อยละ 30 ดังนั้นการเก็บรักษาสารสกัดสมุนไพรตำรับที่ 3 ควรเก็บไว้ในภาชนะที่สามารถควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ในบรรยากาศไม่ให้เกินร้อยละ 30 และไม่มีการผ่านเข้า-ออกของไอน้ำ แต่อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาผลของความชื้นในบรรยากาศต่อความคงสภาพของสารสกัดสมุนไพร โดยใช้สารสำคัญที่แท้จริงเป็นดัชนีชี้วัดการเปลี่ยนแปลง และศึกษาในระยะเวลาที่นานขึ้น พร้อมกับใช้อุปกรณ์หรือเครื่องมือที่สามารถควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ได้อย่างแม่นยำ และคงที่ เพื่อให้ได้ข้อมูลความคงสภาพของสารสกัดสมุนไพรที่ถูกต้องที่สุด



รูปที่ 4.13 ลักษณะของสารสกัดสมุนไพรที่เก็บไว้ในความชื้นต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 1 เดือน

ตารางที่ 4.27 ผลของความชื้นสัมพัทธ์ และระยะเวลาต่อปริมาณสารชนิดหนึ่งที่พบในตัวอย่างสารสกัดสมุนไพรเมื่อเทียบกับปริมาณเริ่มต้นที่มีค่าเท่ากับร้อยละ 100

ร้อยละความชื้นสัมพัทธ์	ร้อยละของปริมาณสารชนิดหนึ่งที่พบในตัวอย่างสารสกัดสมุนไพร			
	7 วัน	14 วัน	21 วัน	28 วัน
30±5	$94.26 \pm 0.22^{a,a}$	$97.12 \pm 0.26^{a,a}$	$91.51 \pm 1.41^{a,a}$	$79.66 \pm 3.46^{b,a}$
40±5	$88.33 \pm 2.55^{a,ab}$	$86.53 \pm 1.29^{a,ab}$	$81.99 \pm 2.89^{a,ab}$	$79.47 \pm 1.70^{a,a}$
50±5	$81.23 \pm 0.76^{a,b}$	$71.90 \pm 3.79^{ab,b}$	$69.58 \pm 0.07^{b,b}$	$72.37 \pm 0.36^{ab,a}$

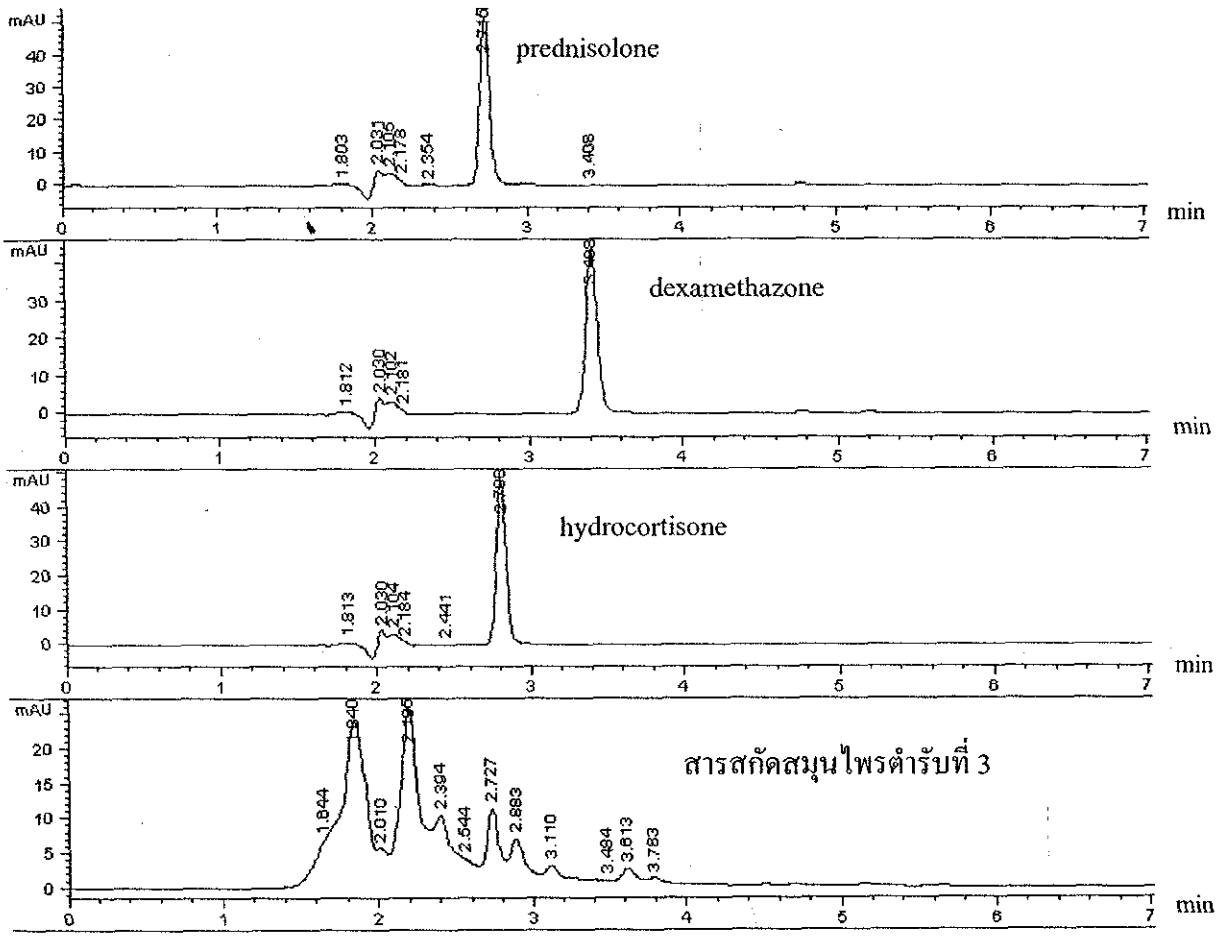
หมายเหตุ - อักษรตัวแรกที่แตกต่างกันหมายถึงค่าเฉลี่ยตามแนวนอนที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p<0.05$)

อักษรตัวที่สองที่แตกต่างกันหมายถึงค่าเฉลี่ยตามแนวตั้งที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p<0.05$) วิเคราะห์ด้วยโปรแกรมสถิติ SAS

4.9 การวิเคราะห์เชิงคุณภาพของสารสเตียรอยด์ในสารสกัดสมุนไพรตำรับที่ 3

สเตียรอยด์เป็นฮอร์โมนชนิดหนึ่งที่ร่างกายสร้างมาจากต่อมหมวกไตชั้นนอก (adrenal cortex steroids) สำหรับสเตียรอยด์ที่ใช้ในการทางการแพทย์นั้นเป็นสารที่สังเคราะห์ขึ้น เพื่อใช้ประโยชน์ในการรักษาโรค เช่น โรคภูมิแพ้ โรคผิวหนังที่เกิดจากการแพ้ การอักเสบ และโรคผิวหนังที่ทำให้เกิดอาการคันต่าง ๆ โรคตาที่เกิดจากอาการแพ้ และโรคข้ออักเสบชนิดรูมาตอยด์ เป็นต้น รวมถึงใช้ทดแทนในกรณีที่ร่างกายไม่สามารถสร้างฮอร์โมนดังกล่าวได้ โดยยาที่มีส่วนผสมของสเตียรอยด์นี้ กฎหมายกำหนดให้เป็นยาควบคุมพิเศษ เนื่องจากมีความเป็นพิษสูง และต้องให้แพทย์เป็นผู้สั่งจ่ายเท่านั้น แต่ในปัจจุบันพบว่ามีการลักลอบเติมสเตียรอยด์ลงในยาสมุนไพร และอ้างสรรพคุณรักษาโรคได้หลายชนิด ทำให้ผู้บริโภคหลงเชื่อได้รับยาสเตียรอยด์ในปริมาณสูงโดยรู้เท่าไม่ถึงการณ์ ซึ่งจะเป็นอันตรายต่อสุขภาพอย่างมากเมื่อได้รับสเตียรอยด์ในปริมาณสูงและระยะเวลานาน เช่น มีผลกดภูมิต้านทานของร่างกายทำให้ติดเชื้อได้ง่ายโดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อรา กดการทำงานของระบบที่ควบคุมการหลั่งฮอร์โมนทำให้เกิดแผลในกระเพาะอาหาร กระดูกผุ ยับยั้งการเจริญเติบโตของร่างกายในเด็กทำให้กล้ามเนื้ออ่อนแรง หน้ากาง ตัวอ้วน และมีผลทำให้ความดันลูกตาสูงขึ้น เป็นต้น (กองพัฒนาศักยภาพผู้บริโภค สำนักงานกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข, 2545) สเตียรอยด์ที่มักตรวจพบในยาสมุนไพรปลอม ได้แก่ hydrocortisone, dexamethazone และ prednisolone ซึ่งสเตียรอยด์เหล่านี้ถูกสังเคราะห์ขึ้นเพื่อใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์เท่านั้นมิได้เป็นองค์ประกอบอยู่ในยาสมุนไพร แต่อย่างไรก็ตามเพื่อสร้างความเชื่อมั่นถึงความปลอดภัยของสารสกัดสมุนไพรตำรับที่ 3 จึงได้ทำการตรวจวิเคราะห์สเตียรอยด์ดังกล่าวด้วยเทคนิค HPLC ซึ่งได้ผลดังรูปที่ 4.14 โดยสามารถกล่าวได้ว่าไม่พบสเตียรอยด์ทั้ง 3 ชนิดในสารสกัดสมุนไพรตำรับที่ 3 เนื่องจากองค์ประกอบที่พบในโครมาโทแกรมไม่มีองค์ประกอบใดที่มีค่า retention time เท่ากับสารสเตียรอยด์มาตรฐาน แต่อย่างไรก็ตามในธรรมชาติของพืชจะสามารถ

ผลิตสารในกลุ่มสเตียรอยด์เพื่อการเจริญเติบโตและดำรงชีวิตได้ เช่น ฮอร์โมนช่วยในการเจริญเติบโต pheromones, ecdysteroids, brassinosteroids, sapogenins และ steroidal alkaloids เป็นต้น (Dinan, Harmatha, Lafont, 2001) ซึ่งสารสเตียรอยด์ในพืชนี้จะสามารถละลายได้ในตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่สารสกัดสมุนไพรนี้จะมีส่วนประกอบของสารสเตียรอยด์จากพืชที่ละลายออกมาในขั้นตอนการสกัดด้วยสารละลายเอทานอลร้อยละ 60 โดยปริมาตร และอาจมีโครงสร้างใกล้เคียงกับสเตียรอยด์มาตรฐาน ส่งผลให้พบสารประกอบในโครมาโทแกรมที่มีค่า retention time ใกล้เคียงกับสเตียรอยด์มาตรฐานได้



รูปที่ 4.14 โครมาโทแกรมของสารมาตรฐาน prednisolone dexamethazone และ hydrocortisone และสารสกัดสมุนไพรตำรับที่ 3 วิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

สมุนไพร 4 ตำรับที่ใช้ในการทดลองนี้แต่ละตำรับจะมีพืชที่เป็นสมุนไพรประกอบอยู่หลายชนิด และมีอัตราส่วนผสมที่แตกต่างกัน เมื่อนำสมุนไพรดังกล่าวมาสกัดสารประกอบในด้วยน้ำ สารละลายเมทานอล และสารละลายเอทานอลที่ความเข้มข้น และอุณหภูมิต่าง ๆ พบว่า การสกัดสมุนไพรด้วยน้ำร้อนอุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส จะทำให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร สูงที่สุด ซึ่งมีความเป็นไปได้ว่าน่าจะมีการละลายของสารประกอบออกมามากที่สุด แต่อย่างไรก็ตามการใช้ความร้อนสูงดังกล่าวอาจทำให้สารสำคัญบางชนิดที่ไม่เสถียรต่อความร้อนถูกทำลายไป ดังนั้นการสกัดสมุนไพรด้วยสารละลายเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 60 โดยปริมาตรที่อุณหภูมิห้องนาน 3 วัน จึงเป็นวิธีการที่เหมาะสมในการสกัดสารสมุนไพรทั้ง 4 ตำรับ โดยจะมีทั้งสารประกอบที่ละลายได้ดีในเอทานอล และน้ำอยู่ร่วมกัน เมื่อนำสารสกัดสมุนไพรทั้ง 4 ตำรับที่สกัดด้วยสารละลายเอทานอลที่สภาวะดังกล่าว พร้อมกับสารสกัดสมุนไพรทั้ง 4 ตำรับที่สกัดด้วยน้ำร้อนอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง ไปทดสอบการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบในองชาตของหนูทดลองเพศผู้สายพันธุ์ Sprague-Dawley เพื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ของสารสกัดที่สกัดด้วยสารละลายเอทานอล และการสกัดด้วยน้ำ พบว่า สารสกัดสมุนไพรตำรับที่ 3 สกัดด้วยสารละลายเอทานอลจะทำให้เกิดการคลายตัวมากที่สุด รองลงมาคือสารสกัดสมุนไพรตำรับที่ 2 ที่สกัดด้วยน้ำร้อน ดังนั้นจึงเลือกสารสกัดสมุนไพรตำรับที่ 3 สกัดด้วยสารละลายเอทานอลไปทำการทดลองในสัตว์ทดลองต่อไป ซึ่งพบว่าสารสกัดสมุนไพรดังกล่าวไม่เป็นพิษต่อร่างกายของสัตว์ทดลองทั้งแบบเฉียบพลัน (acute toxicity) และแบบเรื้อรัง (chronic toxicity) (ทำการทดลองนาน 6 เดือน) สามารถเพิ่มความดันเลือดในองคชาต (intracavernous pressure) ของหนูทดลองให้สูงกว่าหนูกลุ่มควบคุมแม้จะได้รับเพียง 5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวต่อวันติดต่อกันนาน 14 วัน 3 เดือน และ 6 เดือน โดยเฉพาะหนูทดลองได้รับสารสกัดสมุนไพรเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวต่อวันติดต่อกันนาน 6 เดือนจะทำให้ค่าความดันเลือดในองคชาตมีค่าสูงที่สุดถึง 102.47 มิลลิเมตรปรอท ซึ่งสูงกว่าปกติเกือบ 2 เท่า แต่ไม่ทำให้ความดันเลือดของร่างกายสูงขึ้น พร้อมกันนั้นหนูที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรติดต่อกันนานเพียง 14 วันจะแสดงพฤติกรรมทางเพศสูงกว่าหนูปกติอย่างชัดเจน และเมื่อทำการทดลองป้อนสารสกัดสมุนไพรเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวนาน 3 เดือน ให้กับหนูหนุ่ม และหนูแก่อายุ 2 ปี 3 เดือนซึ่งเทียบเท่ากับคนอายุ 65-70 ปี พบว่ามีการแสดงพฤติกรรมทางเพศสูงกว่าหนูหนุ่มที่ได้รับยาไวอากร้าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งเมื่อวิเคราะห์น้ำอสุจิ หนูที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรจะมีจำนวนเซลล์อสุจิเพิ่มมากขึ้น เพิ่ม

ความแข็งแรงในการเคลื่อนไหวของเซลล์อสุจิ นอกจากนั้นลักษณะภายนอกของหนูที่ได้รับสารสกัดนาน 6 เดือนยังแสดงความแข็งแรง สุขภาพดีมากกว่าหนูปกติที่มีอายุเท่ากันอย่างเห็นได้ชัดเจน ดังนั้นสารสกัดสมุนไพรตำรับที่ 3 สกัดด้วยเอทานอลจึงมีศักยภาพในการนำไปพัฒนาเป็นยารักษาอาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศของเพศชายได้เป็นอย่างดียิ่ง ด้วยเหตุนี้จึงนำสารสกัดสมุนไพรตำรับที่ 3 มาทดสอบความคงตัวเพื่อหาอายุการเก็บ และสภาวะการเก็บที่ควรหลีกเลี่ยงเบื้องต้นโดยใช้สภาวะเร่ง และตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบโดยรวมด้วยเทคนิค HPLC เนื่องจากไม่ทราบแน่ชัดว่าสารใดในสารสกัดสมุนไพรเป็นสารออกฤทธิ์ที่สำคัญ ปัจจัยที่ใช้ในการศึกษาความคงสภาพได้แก่ ความร้อน และความชื้น ในด้านปัจจัยของความร้อน การตรวจสอบด้วยเทคนิค HPLC ทำให้พบสารประกอบชนิดหนึ่งมีอัตราการลดลงแบบปฏิกิริยาเคมีอันดับหนึ่ง ซึ่งเมื่อใช้สารประกอบที่พบเป็นดัชนีชี้วัดความคงสภาพของสารสกัดสมุนไพร และยอมรับความคงสภาพเมื่อสารประกอบดังกล่าวมีปริมาณคงเหลือไม่ต่ำกว่าร้อยละ 90 จะทำนายได้ว่าสารสกัดสมุนไพรตำรับที่ 3 จะมีอายุการเก็บนาน 41 วัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 30 ในด้านปัจจัยของความชื้น ผลการศึกษาลักษณะปรากฏทำให้ทราบว่า ควรเก็บสารสกัดสมุนไพรไว้ที่ความชื้นสัมพัทธ์ไม่สูงกว่าร้อยละ 30 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส จะสามารถคงสภาพลักษณะปรากฏของผงสารสกัดสมุนไพรได้ใกล้เคียงกับเริ่มต้น เมื่อตรวจสอบด้วยเทคนิค HPLC พบว่า ความชื้นของบรรยากาศที่ใช้ในการเก็บรักษาส่งผลให้สารประกอบที่ใช้เป็นดัชนีมีปริมาณลดลงด้วยเช่นกัน กล่าวได้ว่าการเก็บรักษาสารสกัดสมุนไพรที่ความชื้นสัมพัทธ์บรรยากาศไม่สูงกว่าร้อยละ 30 จะสามารถคงสภาพสารสกัดสมุนไพรให้มีลักษณะปรากฏ และคุณภาพได้นานกว่าการเก็บที่ความชื้นสัมพัทธ์ที่สูงขึ้น นอกจากนั้นเมื่อตรวจสอบการปนเปื้อนของสารสเตียรอยด์ prednisolone, hydrocortisone และ dexamethazone ด้วยเทคนิค HPLC ไม่พบสารดังกล่าวในสารสกัดสมุนไพรตำรับที่ 3 สามารถเชื่อมั่นได้ว่าสารสกัดสมุนไพรนี้ไม่มีการปนเปื้อนของสารสเตียรอยด์ที่มีความเป็นพิษสูง

5.2 ข้อเสนอแนะ

จากผลการทดลองฤทธิ์ของสารสกัดสมุนไพรในสัตว์ทดลองแสดงให้เห็นว่า มีความเป็นไปได้ในการนำสารสกัดสมุนไพรไปเป็นยารักษาโรคหย่อนสมรรถภาพทางเพศ และอาจสามารถนำไปพัฒนาเป็นยารักษาโรคอื่น ๆ ได้อีก เช่น โรคความดันโลหิตสูง และโรคชรา เป็นต้น ดังนั้นจึงเห็นควรที่จะมีการศึกษาวิจัยในด้านต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องดังต่อไปนี้

1. สารออกฤทธิ์ที่สำคัญในสารสกัดสมุนไพรที่ทำให้กล้ามเนื้อเรียบในองคชาตขยายตัวได้
2. อายุการเก็บของสารสกัดสมุนไพรโดยใช้สารออกฤทธิ์ที่สำคัญเป็นดัชนี
3. การออกฤทธิ์ของสารสกัดสมุนไพรในการช่วยการแข็งตัวขององคชาต
4. ศึกษาเกี่ยวข้องกับการเพิ่มความแข็งแรงของร่างกาย และกล้ามเนื้อ

5. การชะลอความชรา
6. ความจำ และการเรียนรู้
7. การต่อต้านมะเร็ง
8. การรักษาหลอดเลือดในผู้ป่วยโรคเบาหวาน
9. การรักษาหลอดเลือดในผู้ป่วยที่เป็นโรคความดันโลหิตสูง
10. ภูมิคุ้มกันของร่างกาย
11. ผลกระทบในสัตว์ทดลองเพศเมีย 2 สปีชีส์

เอกสารอ้างอิง

กฤษฎา รัตนโอพาร และ สมบุญ เหลืองวัฒนากิจ. (2544). **ความบกพร่องของการแข็งตัวขององคชาต**. กรุงเทพฯ: บียอนด์ เอ็นเทอร์ไพรซ์.

กองพัฒนาศักยภาพผู้บริโภค สำนักงานกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข. (2545). **รู้จักสเตียรอยด์ดีหรือยัง** [ออนไลน์]. ได้จาก:http://www.parliament.go.th/parcy/sapa_db/committee-upload/29-20080317123911_f_32_1171706599.pdf

ชุมศักดิ์ พฤกษาพงษ์. (2541). **ยาบำรุงกามมีจริงหรือ?**. นิตยสารใกล้หมอ. 22(6).

ชัยณรงค์ โตจรัส. (2549). **การศึกษาผลต่อการแข็งตัวของคงชาต สเปิร์ม และพิษวิทยาของกวาวเครือแดง**. วิทยานิพนธ์ปริญญาดุษฎีบัณฑิต คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร.

ธนาธิป รักศิลป์. (2538). **องค์ประกอบทางเคมีในหัวกวาวเครือแดง *(Butea superba* Roxb.)**. วิทยานิพนธ์ วท.ม. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

นิจศิริ เรืองรังษี. (2547). **สมุนไพรไทย**. กรุงเทพฯ: บี เฮลท์ตี้.

นริศ เจนวิริยะ. (2541). **ยากินแก้โรคจู๋**. นิตยสารใกล้หมอ. 22(6).

ปราณี ชวลิตธำรง, ทรงพล ชีวะพัฒน์, สมเกียรติ ปัญญามัง, สดุดี รัตนจรัสโรจน์ และ เรวดี บุตราภรณ์. (2544). พิษเรื้อรังของกวาวเครือแดง. **วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์**. 3(43): 182-195.

ศูนย์ข้อมูลสุขภาพเพศชาย. (2549). **การศึกษาระบาดวิทยา ของอาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศ** [ออนไลน์]. ได้จาก: http://menhealth.pfizer.co.th/

สมบุญ เหลืองวัฒนากิจ. (2544). สรีรวิทยาของการแข็งตัวขององคชาต. ใน กฤษฎา รัตนโอพาร และ สมบุญ เหลืองวัฒนากิจ (บรรณาธิการ). **ความบกพร่องของการแข็งตัวขององคชาต**. (หน้า 1-16). กรุงเทพฯ: บียอนด์ เอ็นเทอร์ไพรซ์.

สมบุญ เหลืองวัฒนากิจ. (2551). **โรคหย่อนสมรรถภาพทางเพศ** [ออนไลน์]. ได้จาก: http://ramaclinic.com/patient/P2360-0502-01/p2360-0502-01-002.asp

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข. (2535). **แนวทางการทดสอบความคงสภาพของยา**. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด.

อธิพงษ์ มานะเสถียร. (2544). การศึกษาเปรียบเทียบผลของกวาวเครือแดง (*Butea superba* Roxb.) ที่พบในพื้นที่ที่แตกต่างกันสองแห่ง ต่อ หัวใจ ตับ ไต ต่อมหมวกไต และ องค์ประกอบของเลือดในหนูขาวเพศผู้ (*Rattus norvegicus*). วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

อนุพันธ์ ตันติวงศ์. (2544). ระบาดวิทยาของความบกพร่องของการแข็งตัวขององคชาต: ความชุก และปัจจัยเสี่ยง. ใน กฤษฎา รัตนโอฬาร และ สมบุญ เหลืองวัฒนากิจ (บรรณาธิการ). **ความบกพร่องของการแข็งตัวขององคชาต**. (หน้า 17-108). กรุงเทพฯ: บียอนด์ เอ็นเทอร์ไพรซ์.

อภิชาต กงกะนันท์. (2546). **ตำราโรคหย่อนสมรรถภาพทางเพศ**. กรุงเทพฯ: บียอนด์ เอ็น เทอร์ไพรซ์.

อร่าม โรจนสกุล และ สมพร ชินสมบูรณ์ (บรรณาธิการ). (2539). **การปฏิสนธินอกร่างกายทางคลินิค**. กรุงเทพฯ: บริษัท เยลโลการพิมพ์ (1988) จำกัด.

Agmo A. (1997). Male rat sexual behavior. **Brain Research Protocols**. 1(2): 203-209.

Anderson, G. and Scott, M. (1991). Determination of product shel life and activation energy for five drugs of abuse. **Clinical Chemistry**. 37(3): 398-402.

Bavister, B. D. and Andrews, J. C (1988). A rapid sperm motility bioassay procedure for quality-control testing of water and culture media. **Journal of in vitro fertilization and embryo transfer : IVF**. 5(2): 67-75.

Breckwoldt, M., Newmann, F. and Brauer, H. (1994) **Example endocrinologica**. Berlin : Shering AG.

Carlson, B. M. (1994). **Human embryology and developmental biology**. St. Louis; Mosby.

Chao, J. C-J., Chiang, S-W., Wang, C-C., Tsai, Y-H. and Wu, M-S. (2006). Hot water-extracted Lycium barbarum and Rehmannia glutinosa inhibit proliferation and induce apoptosis of hepatocellular carcinoma cells. **World journal of gastroenterology**. 12(28): 4478-4484.

Choi, Y. D., Rha, K. H.O. and Choi, H. K.I. (1999). Invitro and in vivo experiment effect of Korean red ginseng on erection. **The Journal of Urology**. 162(4): 1508-1511.

de Kretser, D. M., McLachlan, R. I., Robertson, D. M. and Wreford, N. G. (1992). Control of spermatogenesis by follicle stimulating hormone and testosterone. **Bailliere's Clinical Endocrinology and Metabolism**. 6(2): 335-354.

iem, K. and Lentner, C. (1971). **Spermatozooa**. 7th edition. Germany; CIBA-GEIGY,868

inan, L., Harmatha, J., Lafont, R. (2001). Chromatographic procedures for the isolation of plant steroids. **Journal of Chromatography A**. 935: 105–123.

Ding, Y-Q., Takada, M., Kaneko, T. and Mizuno, N. (1995). Colocalization of vasoactive intestinal polypeptide and nitric oxide in penis-innervating neurons in the major pelvic ganglion of the rat. **Neuroscience Research**. 22: 129-131.

Elangovan, N., Chiou, T. J., Tzeng, W. F. and Chu, S. T. (2006). Cyclophosphamide treatment causes impairment of sperm and its fertilization ability in mice. **Toxicity**. 222: 60-70.

Eliasson, R. and Treichl, M. B. (1971). Supervital staining of human spermatozoa. **Fertility and Sterility**. 22: 134-137.

Fawcett, D. W. (1994). **A textbook of histology system**. New York; Chapman & Hall.

Fazio, L. and Brock, G. (2004). Erectile dysfunction: management update. **Canadian Medical Association**. 170 : 1429 – 1437.

Gaudin, A. J. and Jones, K. C. (1998). **Human anatomy and physiology**. Harcourt brace Jovanovich.

Grippa, E., Santini, L., Castellano, G., Gatto, M. T., Leone, M. G. and Saso, L. (2000). Simultaneous determination of hydrocortisone, dexamethasone, indomethacin, phenylbutazone and oxyphenbutazone in equine serum by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography B**. 738: 17-25.

Ingkaninan, K., Temkitthawon, P., Chuenchom, K., Yuyaem, T. and Thongnoi, W. (2003). Screening for acetylcholinesterase inhibitor activity in plants used in Thai traditional rejuvenating and neurotonic remedies. **Journal of Ethnopharmacology**. 89: 261-264.

The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of harmaceuticals for Human Use (ICH). (2003). **ICH harmonized tripartite guideline: Stability testing of new drug substances and products Q1A (R2)** [On-line]. Available: http://www.ich.org/LOB/media/MEDIA419.pdf

Labuza T. (1963). Creation of moisture sorption isotherms for hygroscopic materials. Sorption Isotherm Methods. **International Symposium on Humidity and Moisture**. (www.fsci.umn.edu/Ted_Labuza/PDF_files/papersCreation_Moisture_Isotherms.PDF)

Leungwattanakij, S. (2001). **Erectile dysfunction**. Bangkok: Beyond Enterprise.

Low, W-Y. and Tan, H-M. (2007). Asian traditional medicine for erectile dysfunction. **The Journal of Men's Health and Gender**. 4(3): 245-250.

Lue, T. F. (1999). Anatomy **and Physiology of the Penis**. Pennsylvania: Handbooks in Health Care.

Lue, T. F. (2002). **Physiology of penile erection and pathology of erectile dysfunction and priapism**. 8th edition. Philadelphia: WB Saunders.

National Kidney and Urologic Diseases Information Clearinghouse. (2005). **Erectile dysfunction** [On-line]. Available: http://kidney.niddk.nih.gov/kudiseases/pubs/impotence/

ertiwi, A. K. D., Kwan, T. K. and Gower, D. B. (2002). Pregnenolone metabolites in rat testis: endogenous concentrations, and intracellular distribution in whole testes during incubation in vitro. **Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biololgy**. 81, 363-367.

Park, W. S., Shin, D. Y., Kim, D. R., Yang, W. M., Chang, M. S. and Park, S. K. (2007). Korean ginseng induces spermatogenesis in rats through the activation of cAMP-respansive element modulator (CREM). **Fertility and Sterility**. 88(4):1000-1002.

Parveen, S., Das, S., Kundra, C. P. and Pereira, B. M. J. (2003). A comprehensive evaluation of the reproductive toxicity of *Quassia amara* in male rats. **Reproductive Toxicity**. 17: 45-50.

Rotella, D. P. (2001). Phosphodiesterase type 5 inhibitors: Discovery and therapeutic utility. **Drugs of the Future**. 26(2): 153.

Sadler, T. W. (2000). **Langman's Medical Embryology**. 8th edition. Maryland; Lippicott Williams & Wilkins.

Smith, E.R., Stefanick, M. L., Clark, J. T. and Davidson, J. M. (1992). Hormones and sexual behavior in relationship to aging in male rats. **Hormones and behavior**. 26: 110-135.

Speroff, L. and Glass, R. H. (1994). **Clinical gynecologic endocrinology and infertility**. Baltimore: Williams & Wilkins.

Sriwanthana, B., Treesangsri, W., Boriboontrakul, B., Niumsakul, S. and Chavalittumrong, P. (2007). *In vitro* effects of Thai medicinal plants on human lymphocyte activity. **Songklanakarin Journal Science Technology**. 29: 17-28.

The House of Ginseng. (2005). **The ginseng story** [On-line]. Available: http: // www.ginsengshotzer.com/wst_page4.php

Tocharus, C., Jeenapongsa, R. and Smitasiri, Y. (2005). Effect of long-term treatment of *Butea Superba* on sperm motility and concentration. **Naresuan University Journal**. 13: 11-17.

Tocharus, C., Smitasiri, Y. and Jeenapongsa, R. (2006). *Butea superba* Roxb. enhances penile erection in rats. **Phytotherapy Research**. 20: 484-489.

Van De Graaff, K. M. (1995). **Concepts of human anatomy and physiology**. 4th edition. Wm.C. Brown Publishers.

Virag, R. (1999). Indications and early results of Sildenafil (Viagra) in erectile dysfunction. **Urology**. 54: 1073–1077.

Vudhivanich, S. (2003). Potential of some Thai herbal extract for inhibiting growth of *Ralstonia solanacerum*, the causal agent of bacterial wilt of tomato. **Kamphaengsaen Academic Journal**. 1: 70-76.

Waterman, K. C. and Adami, R. C. (2005). Accelerated aging: Prediction of chemical stability of pharmaceuticals. **International Journal of Pharmaceutics**. 293: 101-125.

White, D. R., Phillips, D. M. and Bedford, J. M. (1990). Factor affecting the acrosome reaction in human spermatozoa. **Journal of Reproduction Fertility**. 6: 71-80.

Wikipedia. (2008a). **Sildenafil** [On-line]. Available: http://en.wikipedia.org/wiki/Viagra

Wikipedia. (2008b). **Ginseng** [On-line]. Available: http://en.wikipedia.org/wiki/Panax_ginseng

Yanagimachi R. (1994). **The physiology of reproductive**. New York: Raven Press.

Zhao, L., Huang, C., Shan, Z., Xinag, B. and Mei, L. (2005). Fingerprint analysis of *Psoralea corylifoia* L. by HPLC and LC-MS. **Journal of Chromatography B**. 821: 67-74.

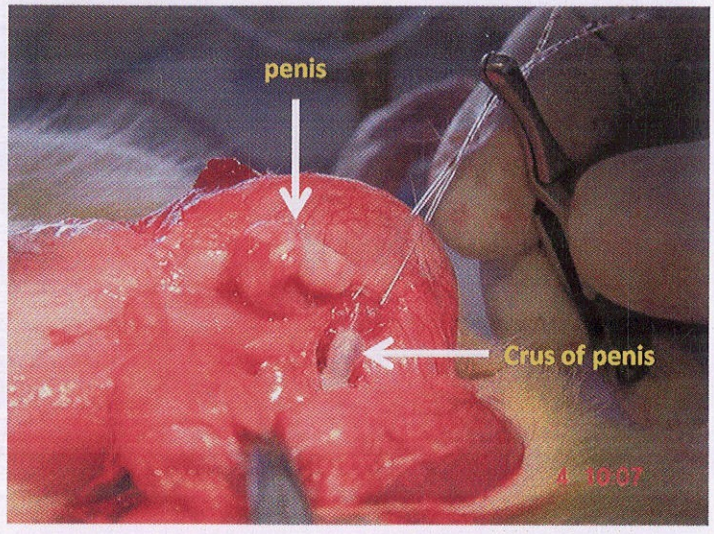
ภาคผนวก

ตารางที่ 1ผ ตัวอย่างผลการตรวจทางโลหิตของสัตว์ทดลองจากสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล

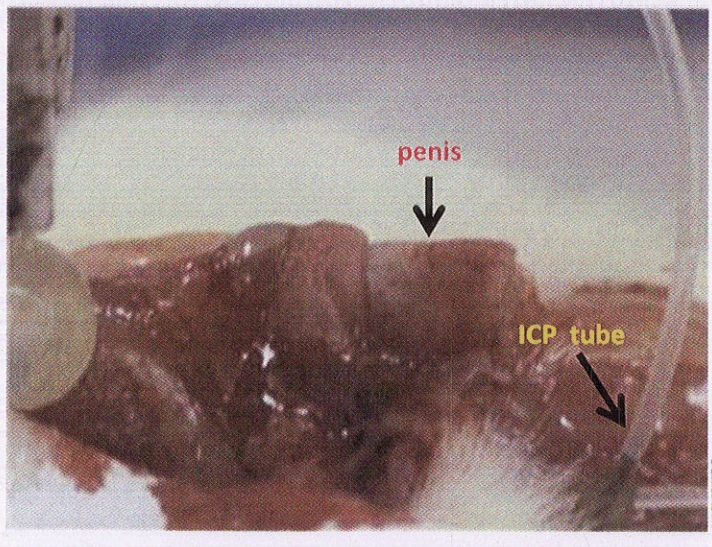
STRAIN	SEX	AGE	WBC	RBC	HGB	HCT	PLT	DIFFERENTIAL COUNT (%)					MCV	MCH	MCHC
			($*10^3$/ul)	($*10^6$/ul)	(g/dl)	(%)	($*10^9$/ul)	NEU	LYM	EOS	MONO	AB.WBC	(fl)	(pg)	(g/dl)
		4wks.	2.9	6.5	12.2	37.9	1054	26.1	72.7	1.1	0.06	1.7	58.4	18.8	32.2
Swiss	Male	17wks.	5.3	8.2	13.8	40	1155	33.4	65.5	0.9	0.18	1.6	49.1	17	34.6
Albino		RB.	2.9	7.9	13.2	38.4	1021	45	53.2	1.7	0.07	1.4	48.6	16.8	34.4
Mouse		4wks.	3.2	6.9	12.9	39.1	993	28.4	70.1	1.4	0.05	1.3	57.4	18.7	32.7
	Female	17wks.	3.8	8.4	14.6	41.6	1080	20.7	77.5	1.7	0.12	1.5	49.3	17.3	35.1
		RB.	3.2	7.8	13.9	39.9	1127	44.7	52.7	2.6	0.05	3.1	51.5	18	35
		4wks.	4	5.6	11.9	35.4	893	15.5	84.1	0.3	0.01	0.3	63.8	21.4	33.5
	Male	17wks.	6.2	8.6	15.9	44	790	15.8	83.1	1	0.07	0.2	51.3	17.8	36
Wistar		RB.	5.1	8.4	16.2	43.2	891	20.2	78.4	0.9	0.1	0.2	51.6	19.3	37.4
Rat		4wks.	3.9	5.7	12.1	35.8	906	14.9	83.9	0.3	0.01	0.4	63.1	21.4	33.8
	Female	17wks.	5.3	7.8	15.5	42.5	803	14.2	84.9	0.9	0.03	0.2	54.4	19.9	36.5
		RB.	7.1	8	17	46.5	815	42.6	56.7	0.6	0.17	0.2	58.1	21.2	36.5
		4wks.	4.5	5.7	12.3	36.6	1025	15.1	84.3	0.5	0.01	0.4	64.1	21.5	33.5
	Male	17wks.	6.4	8.6	15.9	43.9	929	17	81.9	1	0.02	0.3	51.3	18.6	36.2
Sprague		RB.	5.8	8.4	16	43.7	896	25.1	73.4	1.4	0.04	0.4	52.2	19.1	36.6
Dawley		4wks.	4.4	5.9	12.7	37.3	1017	13.5	86	0.5	0.02	0.3	63.1	21.5	34.1
Rat	Female	17wks.	5.6	7.9	15.1	41.4	831	13.3	84.8	2	0.02	0.3	52.8	19.3	36.6
		RB.	6.1	8	16.6	46.5	792	28.2	69.9	1.8	0.14	0.4	58.3	20.8	35.7
SHEEP	-	-	5.52	8..94	12.7	30.97	-	47.31	40.25	7.83	0.74	0.52	41.6	16.1	33..83
MONKEY	-	-	8.71	4.87	12.2	37.87	319.34	34.91	68.87	1.7	1.04	1.3	71.91	24	30.76

ตารางที่ 2ผ ตัวอย่างผลการตรวจหาค่าทางเคมีคลินิคในซีรั่มของสัตว์ทดลองจากสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล

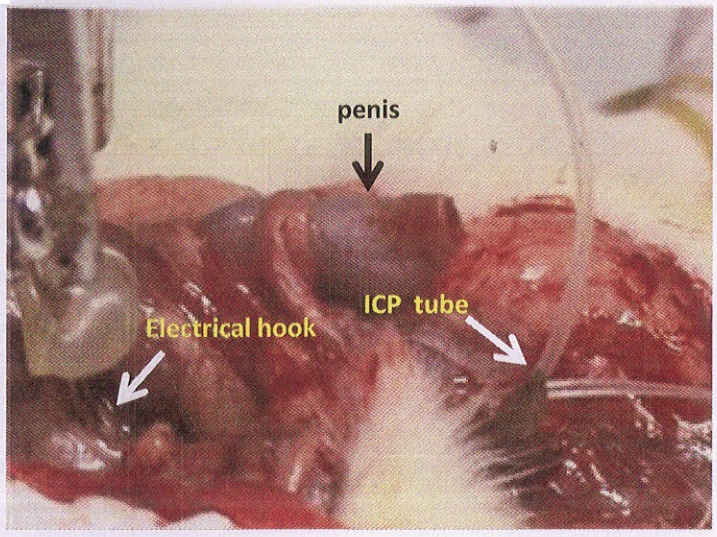
STRAIN	Sex	Total Bilirubin (mg/dl)	AST/GOT (U/L)	ALT/GPT (U/L)	Alkaline phosphatase (U/L)	Blood *urea* nitrogen (mg/dl)	Glucose (mg/dl)	Cholesterol (mg/dl)	Triglyceride (mg/dl)	Uric acid (mg/dl)	Albumin (mg/dl)	Total protein (mg/dl)	Creatinine (mg/dl)
Swiss albino	Male	0.37	136.97	33	62.7	20.38	102.73	68.47	72.63	1.71	3.09	5.29	0.36
mouse	Female	0.48	173	38.16	66.63	16.79	102.68	70.04	105.68	1.62	3.07	5.54	0.36
Wistar rat	Male	0.38	135.05	29	47.05	13.21	112.68	77.89	103.05	1.45	4.15	7.11	0.74
	Female	0.45	164.79	33.16	48.11	15.95	126.16	57.68	129.11	1.32	4.04	6.61	0.74
Sprague Dawley rat	Male	0.24	160.83	47.53	59.73	12.93	105.87	92.43	77.77	1.3	4.01	6.73	0.53
	Female	0.35	158	45.7	56	13.7	127.9	76	85.2	1.25	3.38	6.1	0.72
Sheep	-	0.51	206	21019	143.56	19.69	64.36	69.36	33.37	0.61	3.8	7.16	1.2
Monkey	-	0.44	39.41	28.71	100.25	13.92	36.6	122.13	56.34	0.5	4.11	7.9	1.41



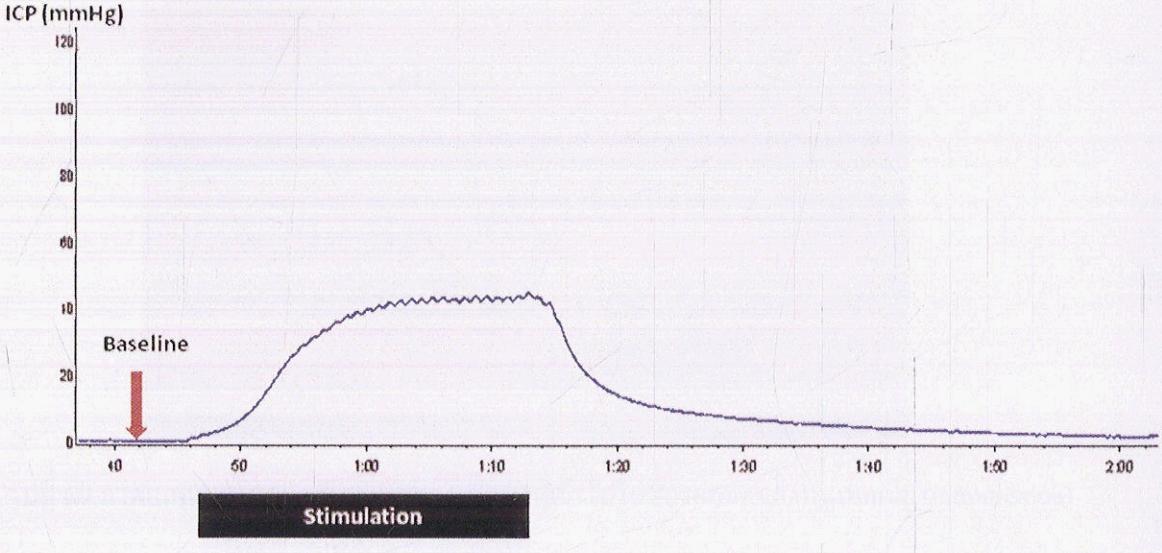
รูปที่ 1ผ ภาพแสดงส่วนของ crus of penis ซึ่งภายในจะมีกล้ามเนื้อเรียบ (carvernosal smooth muscle) ประกอบเป็นแอ่งเลือด (sinusoid) ที่เวลามีเลือดมาคั่งจะทำให้ขนาดของอวัยวะเพศขยายใหญ่ขึ้น และเป็นบริเวณที่จะสอดเข็มเข้าไปเพื่อวัดค่าความดันในองคชาต



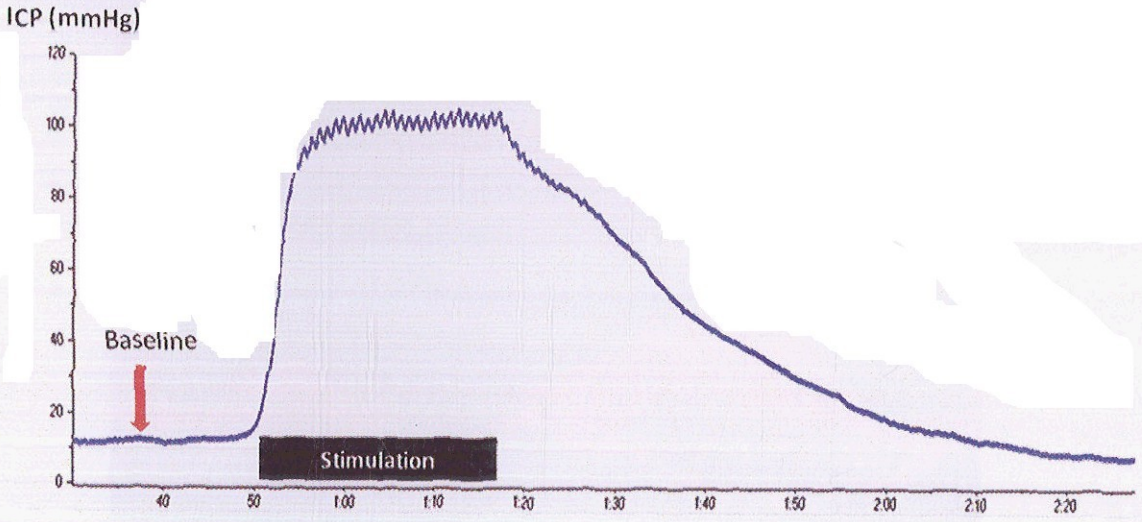
รูปที่ 2ผ ภาพแสดงองคชาตของหนูแรทก่อนการกระตุ้นให้เกิดการแข็งตัว จะเห็น ICP tube ที่ปลายข้างหนึ่งไปต่อเข้ากับ pressure transducer ที่ต่อเข้ากับเครื่อง MacLab เพื่อวัดค่าความดันเลือดในองคชาต และปลายอีกข้างหนึ่งต่อเข้ากับเข็มแล้วสอดเข้าไปในโพรงของ crus of penis เพื่อเชื่อมต่อสองส่วนเข้าด้วยกัน



รูปที่ 3ผ ภาพแสดงการแข็งตัวขององคชาตเมื่อได้รับการกระตุ้นให้เกิดการแข็งตัวด้วยกระแสไฟฟ้า จะเห็นว่าใช้ electrical hook ลักษณะเป็นตะขอ 2 อันที่มีทั้งขั้วบวกและขั้วลบ ไปคล้องที่เส้นประสาท cavernous nerve ที่เป็นเส้นประสาทที่นำสัญญาณประสาทระบบ parasympathetic เมื่อทำการกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้าที่เส้นประสาทนี้ก็จะทำให้เกิดการแข็งตัวขององคชาตได้



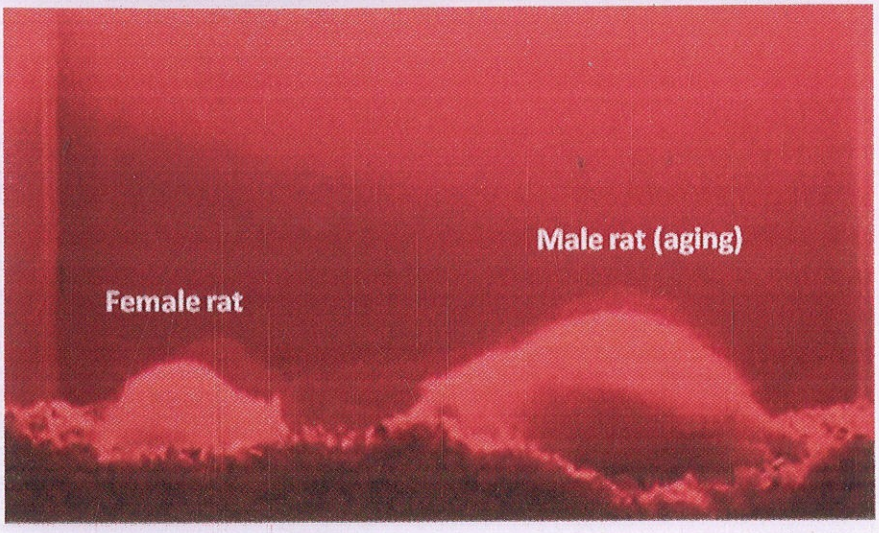
รูปที่ 4ผ ภาพแสดงค่าของความดันเลือดในองคชาต (ICP) ที่วัดได้จากเครื่อง MacLab สูง 45 มิลลิเมตรปรอท เมื่อกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้า (stimulation) จะเห็นค่าของความดันสภาวะปกติ (baseline) ก่อนการกระตุ้นที่ต่ำ จากภาพเป็นกลุ่มควบคุมที่ได้รับน้ำกลั่น นาน 6 เดือน



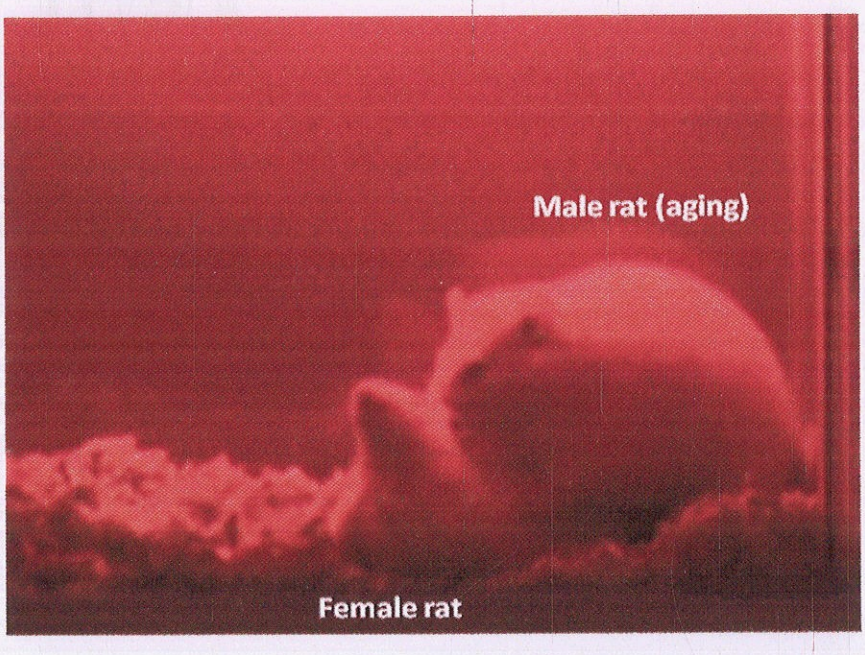
รูปที่ 5ผ ภาพแสดงค่าของความดันเลือดในองคชาต (ICP) ที่วัดได้จากเครื่อง MacLab สูงถึง 105 มิลลิเมตรปรอท เมื่อกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้า (stimulation) จะเห็นค่าของความดันสภาวะปกติ (baseline) ก่อนการกระตุ้นที่สูงมาก จากภาพเป็นกลุ่มที่ได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมนาน 6 เดือน

รูปที่ 6ผ ภาพแสดงการสอดอวัยวะเพศของหนูเพศผู้เข้าไปในช่องคลอดของหนูเพศเมีย (intromission)

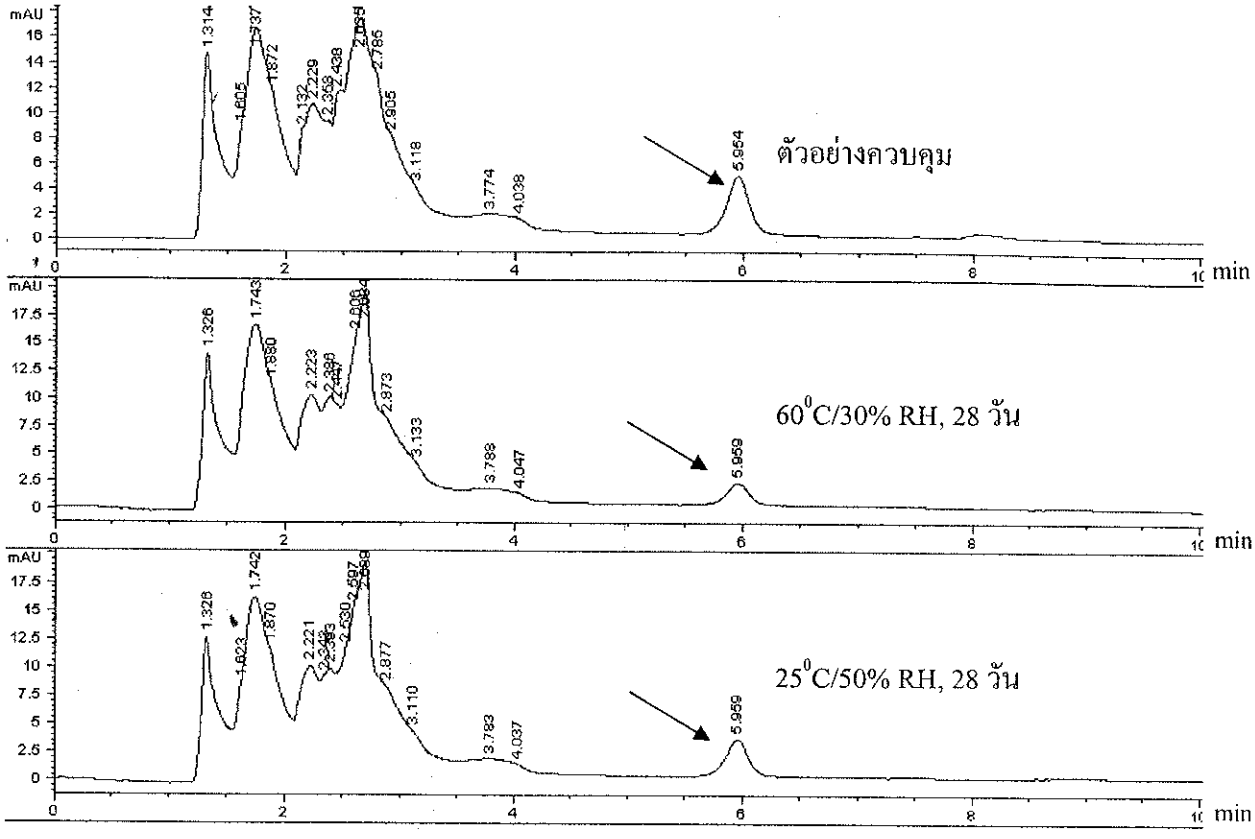
จะเห็นว่าหนูเพศเมียแสดงการพร้อมที่จะรับการผสมอย่างเต็มที่โดยจะเหยียดตัวให้ตรงและยกส่วนก้นขึ้น เพื่อให้หนูเพศผู้ได้สอดใส่อวัยวะเพศได้สะดวก ส่วนหนูเพศผู้ก็จะขึ้นคร่อมหนูเพศเมีย พร้อมทั้งได้สอดแกนองคชาตเข้าไปในช่องคลอดของหนูเพศเมียด้วย



รูปที่ 7ผ ภาพแสดงเปรียบเทียบขนาดของหนูแก่เพศผู้อายุ 2 ปี 3 เดือน น้ำหนัก 750 กรัม กับหนูเพศเมีย อายุ 2 เดือน น้ำหนัก 220 กรัม



รูปที่ 8ผ ภาพแสดงการสอดอวัยวะเพศของหนูแก่เพศผู้อายุ 2 ปี 3 เดือน ที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรนาน 3 เดือน เข้าไปในช่องคลอดของหนูเพศเมีย (intromission) จะเห็นว่าหนูเพศเมียแสดงการพร้อมที่จะรับการผสมอย่างเต็มที่โดยจะเหยียดตัวให้ตรงและยกส่วนก้นขึ้น เพื่อให้หนูเพศผู้ได้สอดใส่อวัยวะเพศได้สะดวก ส่วนหนูเพศผู้ก็จะขึ้นคร่อมหนูเพศเมียพร้อมทั้งได้สอดองคชาตเข้าไปในช่องคลอดของหนูเพศเมีย



รูปที่ 9ผ ตัวอย่างโครมาโทแกรมของสารสกัดสมุนไพรตำรับที่ 3 วิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC