



รายงานการวิจัย

ผลของสารสกัดกวาวเครือขาวต่อการหดตัวของเส้นเลือดและมดลูกใน  
หนูทดลองเพศเมีย

(Effects of *Pueraria mirifica* extracts on vascular and uterine  
contraction in female rats)

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

ผศ.สพ.ญ. ดร. ศัจฉิรา คุปพิทยานันท์

สาขาวิชาชีววิทยา สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผู้ร่วมวิจัย

ผศ.น.สพ.ดร. ภคนิจ คุปพิทยานันท์

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2549

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

กุมภาพันธ์ 2553

## กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนอุดหนุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ 2549 ผู้วิจัยขอขอบคุณบริษัท Smith Natural Co. ที่ให้ความอนุเคราะห์สารสกัดกวางเครือขาวเพื่อทดสอบในเบื้องต้น ทำให้การวิจัยครั้งนี้ดูสว่างไปด้วยดี

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สัตวแพทย์หญิง ดร.ศศิรา กุปพิทยานันท์

พฤษภาคม 2553

## บทคัดย่อภาษาไทย

ยังไม่เคยมีการศึกษาผลของสารสกัดจากกวางเครือขาวต่อการหดตัวของเส้นเลือดและมดลูกมาก่อน วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้จึงศึกษาผลของสารสกัดจากกวางเครือขาวต่อการหดตัวของเส้นเลือดและมดลูก โดยสกัดกวางเครือขาวและวิเคราะห์สารสำคัญ จากนั้นศึกษาผลของสารสกัดจากกวางเครือขาวต่อการหดตัวของเส้นเลือดและมดลูกทั้งที่เกิดขึ้นโดยธรรมชาติและที่กระตุ้นโดยสารละลายโปแตสเซียม จากนั้นเปรียบเทียบผลของสารสกัดจากกวางเครือขาวในหนูปกติและหนูตัดรังไข่ และเปรียบเทียบผลของสารสกัดกับสารมาตรฐาน beta-sitosterol พบว่า สารสกัดจากกวางเครือขาวสามารถลดการดึงตัวของเส้นเลือดและมดลูกทั้งชนิดที่หดตัวแบบ phasic contraction และแบบ ionic contraction การลดการหดตัวขึ้นกับความเข้มข้นของสารสกัด โดยจะเริ่มออกฤทธิ์ตั้งแต่ 100 mg/100 mL เป็นต้นไป โดยเป็นการออกฤทธิ์ของ beta-sitosterol ซึ่งเป็นสารสำคัญที่พบในสารสกัดจากกวางเครือขาว เป็นที่น่าสนใจว่าสารสกัดจากกวางเครือขาวสามารถกระตุ้นให้เกิดการหดตัวของมดลูกในหนูตัดรังไข่ในสภาวะที่ปราศจากแคลเซียมจากภายนอกเซลล์ ทำให้เชื่อได้ว่ากลไกในการหดตัวเกิดจากการที่กวางเครือขาวสามารถเหนี่ยวนำแหล่งเก็บแคลเซียมภายในเซลล์ ซึ่งน่าจะเป็น sarcoplasmic reticulum (SR) ให้หลังแคลเซียมออกมาได้ และกลไกนี้ไม่น่าจะเกี่ยวข้องกับตัวรับบนผนังของ SR แต่น่าจะเกี่ยวกับความจุของ SR ในหนูตัดรังไข่ที่อาจจะแตกต่างจากหนูปกติ

**คำสำคัญ:** กวางเครือขาว, เส้นเลือด, มดลูก, การหดตัว

## บทคัดย่อภาษาอังกฤษ

The effects of white Kwao Krua (*Pueraria mirifica*) on vascular and uterine contraction have never been investigated. Its effects were investigated on vascular and uterine contraction. To do so white Kwao Krua was methanolic extract and the extract constituents identified. The effects of the extracts on vascular and uterine contraction either by spontaneous arising or induced by high  $K^+$  stimulation were examined. The effects on normal and ovariectomized rats were compared and the effects of the extract and the standard drug, beta-sitosterol compared. The extract reduced vascular and uterine contraction, irrespective how force was produced. Force was reduced in a dose-dependent manner. The reduction of force occurred at 100 mg/100 mL. The effects were due to beta-sitosterol, one of the most constituents found. It is interesting to note that the extract was able to induce uterine contraction in the absence of extracellular calcium. This indicates that the extract may induce calcium release from the sarcoplasmic reticulum (SR). The effect in the ovariectomized rats was pronounced when compared with the normal rats suggesting difference roles of the SR between the groups.

**Key words:** *Pueraria mirifica*, vascular, uterus, contraction

## สารบัญเรื่อง

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ .....	ก
บทคัดย่อภาษาไทย .....	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ .....	ค
สารบัญเรื่อง .....	ง
สารบัญรูป .....	จ
สารบัญตาราง .....	ฉ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ .....	ช
บทที่ 1 บทนำ	
ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย .....	1
ผลงานวิจัยที่มีมาก่อน .....	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย .....	5
ขอบเขตของการวิจัย .....	5
ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย .....	5
บทที่ 2 วิธีดำเนินการวิจัย	
แหล่งที่มาของข้อมูล .....	7
วิธีการเก็บรวบรวมข้อมูล .....	9
วิธีวิเคราะห์ข้อมูล .....	9
บทที่ 3 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล	
อภิปรายผล .....	10
บทที่ 4 บทสรุป	
สรุปผลการวิจัย .....	23
ข้อเสนอแนะ .....	26
บรรณานุกรม .....	27
ภาคผนวก	
ภาคผนวก ก .....	31
ภาคผนวก ข .....	32
ประวัติผู้วิจัย .....	33

## สารบัญรูป

รูปที่	เรื่อง	หน้า
3.1	ผลของสารสกัดจากกวาวเครือขาวที่ขนาดต่าง ๆ กันต่อการหดตัวของมดลูกที่เกิดขึ้น โดยธรรมชาติ	11
3.2	ผลของสารสกัดจากกวาวเครือขาวต่อการหดตัวของเส้นเลือดที่เกิดขึ้นโดยธรรมชาติ	13
3.3	ผลของสารสกัดจากกวาวเครือขาวต่อการหดตัวของเส้นเลือดที่เหนียวน้ำให้เกิด hypertension โดยการใช้ High-K <sup>+</sup> -solution	14
3.4	ผลของสารสกัดจากกวาวเครือขาวต่อการหดตัวของมดลูกที่เกิดขึ้นโดยธรรมชาติ	15
3.5	ผลของสารสกัดจากกวาวเครือขาวต่อการหดตัวของมดลูกที่เหนียวน้ำให้เกิด hypertension โดยการใช้ High-K <sup>+</sup> -solution	17
3.6	ผลของสารสกัดจากกวาวเครือขาวต่อ L-type Ca channels และ intracellular Ca store ของมดลูก	18
3.7	ผลของ beta-sitosterol ต่อ L-type Ca channels และ intracellular Ca store ของมดลูกในสภาวะที่มี estrogen antagonist	19
3.8	ผลของ beta-sitosterol ต่อการหดตัวของมดลูก	21
3.9	ผลของ beta-sitosterol ต่อ L-type Ca channels และ intracellular Ca store ของมดลูกในหนูตัดรังไข่	22

## สารบัญตาราง

ตารางที่	เรื่อง	หน้า
3.1	ผลวิเคราะห์ห้องค์ประกอบเคมีในสารสกัดจากถั่วเขียว	10

## คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

mm.	มิลลิเมตร
ATP	Adenosine 5-triphosphate
CaCl <sub>2</sub>	Calcium chloride
HEPES	N-2-hydroxyethylpiperazine-N'-2-ethanesulphonic acid
Mg <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Magnesium sulphate
NaCl	Sodium chloride
PGF <sub>2α</sub>	Prostaglandin F <sub>2α</sub>
°C	Degree Celsius
g	Gram
L	Liter
min	Minute, time
mM	Millimolar, concentration
μM	micro molar, concentration
n	Sample size
pH	-log of hydrogen concentration



## บทที่ 1

### บทนำ

#### ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย

กวาวเครือขาว (*Pueraria mirifica*) เป็นพืชสมุนไพรชนิดหนึ่งที่คนไทยได้ให้ความสนใจ และมีการนำมาบริโภคเป็นอย่างมากในปัจจุบันเนื่องด้วย “กระแสนิยมไพร่” โดยเฉพาะเพศหญิง เพราะเชื่อกันว่าเป็นยาบำรุงสุขภาพและยาบำรุงสตรีที่ประจำเดือนมาไม่ปกติ และบรรเทาอาการไม่สบายในสตรีวัยทอง ในตำรายาหัวกวาวเครือของหลวงอนุสารสุนทร (2474) ก็ได้กล่าวไว้ว่า กวาวเครือผสมกับน้ำผึ้ง 1 ต่อ 1 ปั้นเป็นเม็ดขนาดเท่าเม็ดพริกไทยรับประทานวันละ 1 เม็ด ใช้เป็นยาอายุวัฒนะของผู้ชายและหญิงที่สูงวัย คนหนุ่มสาวไม่ควรรับประทาน นอกจากนี้ยังมีรายงานสรรพคุณพื้นบ้านของกวาวเครือว่า สามารถทำให้ผิวหนังที่เหี่ยวแห้งกลับมาเต่งตึง มีน้ำมีนวล ทำให้หน้าอกโต ช่วยให้เห็นผมที่หงอกกลับดำ และเพิ่มเส้นผม แก้โรคตาฟาง ต้อกระจก ทำให้ความจำดี ช่วยให้การเดินเหินคล่องแคล่ว บำรุงโลหิต เจริญอาหาร ช่วยให้นอนหลับสนิท (1) ในปัจจุบัน ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ยังมีไม่เพียงพอที่จะยืนยันถึงสรรพคุณต่างๆ ที่ตำรายาแผนโบราณได้กล่าวไว้ อาจกล่าวได้ว่าข้อมูลของกวาวเครือขาวกำลังอยู่ระหว่างศึกษาวิจัย อย่างไรก็ตามได้มีรายงานว่า กวาวเครือขาวน่าจะมีผลต่อความสมบูรณ์พันธุ์ในเพศหญิงจริง เนื่องจากพบว่า กวาวเครือมีสารสำคัญ ซึ่งแสดงคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาเหมือนฮอร์โมนเพศหญิงเอสโตรเจน (2-6) แต่หลักฐานด้านอื่นๆ รวมทั้งความปลอดภัยในการนำมาบริโภคยังไม่มีที่ยืนยัน จากการสำรวจข้อมูลพบรายงานที่เกี่ยวข้องกับกวาวเครือขาวด้านองค์ประกอบเคมี 10 เรื่อง ด้านคุณสมบัติทางเภสัชวิทยา 20 เรื่อง ด้านพิษวิทยา 2 เรื่อง และด้านการทดลองทางคลินิก 2 เรื่อง จะเห็นว่ายังไม่มียานวิจัยด้านสตรีวิทยา ดังนั้น โครงการวิจัยนี้จึงมีแนวคิดในการวิจัยกวาวเครือขาว โดยศึกษาผลของสารสกัดจากกวาวเครือขาวต่อการหดตัวของเส้นเลือดและมดลูกในหนูทดลอง ข้อมูลที่ได้จากการวิจัยนี้ จะเป็นหลักฐานทางวิทยาศาสตร์อีกชิ้นหนึ่ง ที่จะยืนยันถึงสรรพคุณของกวาวเครือขาว และเมื่อประกอบกับข้อมูลที่ได้จากการศึกษาด้านอื่นๆ จะทำให้สามารถผลิตกวาวเครือขาวในรูปแบบของยาแผนปัจจุบันในอนาคตได้

#### ผลงานวิจัยที่มีมาก่อน

กวาวเครือขาวเป็นพืชวงศ์ถั่ว สกุล *Pueraria* พบในอินเดีย จีน ญี่ปุ่นและเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ลักษณะเป็นไม้เถาเนื้อแข็ง เลื้อยพันตามไม้ใหญ่ มีหัวใต้ดิน (tuber) คล้ายหัวมันแกวขนาดใหญ่ มีหลายขนาด เนื้อในสีขาว รสเบื่อเมา ใบเป็นใบประกอบ ประกอบด้วยใบย่อย 3 ใบ เรียงสลับ ใบย่อยรูปไข่ปลายเรียวแหลม โคนใบรูปกลมหรือตัด ใบย่อยคู่ข้างเบี้ยว กว้าง 8-14 ซม. ยาว 12-20 ซม. เนื้อใบด้านบนเกลี้ยง ด้านล่างมีขนสั้นๆ ประปราย ดอกออกเป็นช่อแยกแขนง ออกที่ซอกใบ

และปลายกิ่ง ช่อยาวได้ถึง 30 ซม. ดอกย่อยลักษณะเหมือนดอกถั่ว สีม่วง ผลเป็นฝักรูปขอบขนานแบน กว้าง 7 มม. ยาว 3 ซม. ผิวมีขน เมล็ดลักษณะคล้ายโล่แบน สีม่วงแกมน้ำตาล มีเมล็ด 3-5 เมล็ด/ฝัก (7, 8, 9)

สารสำคัญในกวาวเครือขาวคือ สารกลุ่มไอโซฟลาโวน ที่แสดงฤทธิ์คล้ายฮอร์โมนเพศหญิง เอสโตรเจน (phytoestrogen) โดยสารที่มีโครงสร้างใกล้เคียงเอสโตรเจนมากที่สุดคือ ไมโรเอสทรอล พบมากในปริมาณร้อยละ 0.002-0.003 ของน้ำหนักแห้ง หรือประมาณ 15 มก./กก.ของกวาวเครือขาวแห้ง (7) นอกจากนี้มีสารไอโซฟลาโวนที่เป็น phytoestrogen อื่นๆ ได้แก่ deoxymiroestrol, daidzein, daidzin, genistein, genestin, kwakhurin, kwakhurin hydrate, mirificin, puerarin, puerarin-6-monoacetate และ tuberosin (10, 11, 12) สารกลุ่มคูมารินส์ ได้แก่ coumestrol และ mirificoumestol สารกลุ่มสเตียรอยด์ ได้แก่  $\beta$ -sitosterol, stigmasterol, peuraria mirifica sterol (12, 13) นอกจากนี้ยังพบสารประกอบอื่นๆ เช่น น้ำตาลซูโครส ผลึกแคลเซียมออกซาเลต สารพวกแอลเคน อัลกอฮอล์ ไขมัน เช่น peuraria mirifica glyceride แร่ธาตุ เช่น ลิเทียม แคลเซียม ฟอสฟอรัส โปรตีน และใยอาหาร (14)

ปัจจุบันมีหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ที่สนับสนุนว่า กวาวเครือขาวมีผลต่อระบบการทำงานของร่างกายหลายระบบ เช่น กวาวเครือขาวมีผลต่อการคุมกำเนิด (15-18) ผลต่ออวัยวะสืบพันธุ์ของสัตว์ทดลอง (19-24) ผลยับยั้งการหลั่งน้ำนม (25, 26) ผลต่อการเจริญเติบโต (24, 27, 28) ผลต่อระดับของแคลเซียม โปรตีนและกลูโคสเดอรอลในเลือด (29, 30) ผลต่อการสร้างเม็ดเลือดและระบบภูมิคุ้มกัน (31, 32) และผลต่อการทำงานของตับ (33)

ผลของกวาวเครือขาวต่อการคุมกำเนิด มีรายงานว่า ในหนูตัวผู้ การให้ผงกวาวเครือผสมในอาหารลดจำนวนอสุจิและเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวของตัวอสุจิลงได้อย่างมีนัยสำคัญ และเมื่อนำไปผสมพันธุ์กับหนูเพศเมีย มีผลทำให้จำนวนและขนาดของตัวอ่อนที่ฝังตัวในมดลูกของหนูเพศเมียลดลง จำนวนและน้ำหนักของลูกหนูลดลง แต่ไม่ก่อให้เกิดความพิการ (15) ส่วนในเพศเมียนั้นพบว่า สารสกัดเมทานอลและสารสกัดน้ำจากใบกวาวเครือมีฤทธิ์ในการคุมกำเนิดได้ 100% และยังมีผลทำให้จำนวนตัวอ่อนที่ฝังตัวในมดลูกลดลง (16) นอกจากนี้พบว่า กวาวเครือขาวสามารถป้องกันการตั้งท้องในหนูได้ดี หากให้ในช่วงวันที่ 1-10 ซึ่งเป็นวันที่ตัวอ่อนอยู่ในท่อไข่ กวาวเครือขาว 1 มก. มีฤทธิ์เทียบเท่ากับเอthinilเอสตราไดออล 0.52-0.75 ไมโครกรัม (17) การทดลองในแมลงสาบอเมริกันนั้น พบว่า เมื่อให้สารสกัดเอทานอลและน้ำจากหัวกวาวเครือขาวแก่แมลงสาบตัวเมีย ทำให้ขนาดของไข่เล็กกว่ากลุ่มควบคุมและมีความผิดปกติของรังไข่ เมื่อให้กวาวเครือขาวทั้งเพศผู้และเมียแล้วเลี้ยงรวมกันพบว่า กลุ่มแมลงสาบที่กินกวาวเครือขาวมีจำนวนไข่ลดลงทั้งยังมีจำนวนไข่ฟ่อและไข่ที่ไม่ฟักเป็นตัวสูง แต่อาการดังกล่าวจะหายไปเมื่อหยุดให้ (18)

ผลของกวางเครือขาวต่ออวัยวะสืบพันธุ์ของสัตว์ มีการศึกษาทั้งในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ได้แก่ สุนัข หนูขาว หนูถีบจักร ในสัตว์ปีก ได้แก่ นกกระทา นกพิราบ และในสัตว์จำพวกแมลงเช่น ยุง พบว่า ผลที่เกิดจากกวางเครือคล้ายคลึงกับผลที่เกิดจากฮอร์โมนเอสโตรเจน เช่นเมื่อนำผงกวางเครือขาวป่นแห้งผสมอาหารให้ลูกสุนัขเพศเมียกิน จะทำให้ลูกสุนัขมีขนาดและน้ำหนักของมดลูกเพิ่มขึ้น ช่องคลอดมีขนาดใหญ่และมีลักษณะบวมเช่นเดียวกับสุนัขเพศเมียที่กำลังเป็นสัด (19) ในนกกระทาญี่ปุ่น พบว่า กวางเครือที่ผสมในอาหาร มีผลเพิ่มขนาดและจำนวนเซลล์ของท่อไข่ในนกกระทา แต่ไม่มีผลต่อน้ำหนักของรังไข่และอัมตะ (20) ในรายงานการศึกษาผลของกวางเครือขาวในนกพิราบ พบว่าเมื่อให้ลูกนกพิราบกินอาหารผสมกวางเครือป่น จะทำให้ท่อไข่มีน้ำหนักสูงกว่ากลุ่มควบคุม แต่เมื่อให้ผงกวางเครือผสมน้ำ กับนกพิราบที่โตเต็มที่ จะทำให้อัมตะและรังไข่มีน้ำหนักลดลง และยับยั้งการสร้างเชื้ออสุจิอย่างชัดเจน (21) นอกจากนี้ผลของกวางเครือแห้งป่นละลายน้ำ จะทำให้เกิดการกระจายของรังไข่ฝอยและจำนวนรังไข่ฝอยเฉลี่ยในรังไข่ 2 ข้างของยุงก้นปล่องเพศเมียที่โตเต็มวัยน้อยกว่ากลุ่มควบคุม ส่วนในเพศผู้ กวางเครือมีผลทำให้รูปร่างและขนาดของอสุจิเล็กกว่ากลุ่มควบคุม (22)

ผลของกวางเครือขาวในการผลยับยั้งการหลังของน้ำนมในแม่หนูระยะให้นม กวางเครือขาวสามารถยับยั้งการเจริญของต่อมน้ำนมและการสร้างน้ำนมคล้ายกับเอสโตรเจน (23) และฤทธิ์ดังกล่าวจะถูกยับยั้งได้ด้วยโปรแลคติน (24)

กวางเครือขาวในปริมาณที่เท่ากันมีผลเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตในนกกระทาพันธุ์ญี่ปุ่นแต่ยับยั้งการเจริญเติบโตในไก่เนื้อ (25) ในการทดลองในยุง พบว่า การผสมกวางเครือขาวในน้ำประปาที่ผ่านการกำจัดคลอรีน เมื่อนำไปเลี้ยงลูกน้ำยุงก้นปล่อง มีผลให้มีขนาดความยาวลำตัว อัตราการตาย และเวลาที่ใช้ในการเจริญจากลูกน้ำเป็นดักแด้ มากขึ้น (26)

การศึกษาผลของกวางเครือขาวต่อระดับแคลเซียม โปรตีนและคลอเรสเตอรอลในเลือดในนกกระทาพันธุ์ญี่ปุ่น พบว่า การเลี้ยงนกกระทาด้วยอาหารผสมกวางเครือขาว มีผลทำให้ระดับแคลเซียม โปรตีน และคลอเรสเตอรอลในเลือดเพิ่มขึ้น (27)

ในหนูขาวเพศผู้ที่เลี้ยงด้วยกวางเครือขาว พบว่า จำนวนเม็ดเลือดแดงลดลงแต่ไม่มีผลต่อจำนวนรวมของเม็ดเลือดขาว (28) และจากการศึกษาผลของกวางเครือขาวต่อระดับภูมิคุ้มกันของนกกระทาเพศผู้ พบว่า ทำให้ระดับภูมิคุ้มกันต่อเม็ดเลือดแดงต่ำลง (29)

ในหนูเพศผู้ที่ให้กวางเครือขาว พบว่า กวางเครือขาวไม่ทำให้ระดับเอนไซม์เกี่ยวข้องกับการทำงานของตับเปลี่ยนแปลง แต่ทำให้ตับมีขนาดเล็กลง (30)

นอกจากผลที่กล่าวมาข้างต้น ในคนนั้น พบว่า เมื่อให้สกัดสารสำคัญจากกวางเครือได้แก่สารไมโรเอสทรอลในสตรีที่ประจำเดือนไม่ปกติ (31) พบว่า สารดังกล่าวแสดงฤทธิ์ฮอร์โมนเพศหญิงเอสโตรเจน โดยจะทำให้มีประจำเดือนหลังจากหยุดยา นอกจากนี้ผลของกวางเครือขาวต่อการ

รักษาอาการ ไม่สบายในสตรีวัยทอง พบว่า หลังการให้รับประทานกวางเครือขาว สตรีวัยทองมีอาการดีขึ้นและไม่พบผลข้างเคียง (32)

จากที่กล่าวมาข้างต้นจะเห็นได้ว่ากวางเครือขาวมีผลต่อหลายระบบของร่างกายแตกต่างกันออกไป ทั้งนี้ อาจเป็นผลจากกรรมวิธีการเตรียมและวิธีการให้สัตว์ทดลองว่าอยู่ในรูปใด เป็นต้นว่า ในรูปผลป่นแห้ง สกัดด้วยเมทานอลหรือน้ำ ซึ่งกรรมวิธีที่แตกต่างกันย่อมทำให้ได้สารสำคัญที่ออกฤทธิ์แตกต่างกัน และนอกจากนี้การศึกษาผลที่ผ่านมาได้ถูกศึกษาต่อหลายระบบ และใช้สัตว์ทดลองที่แตกต่างกัน ทำให้เป็นการยากที่จะนำผลของกวางเครือขาวมาแปลผล เพื่อที่จะนำไปเป็นข้อมูลสำหรับใช้ในคน

สาระสำคัญของกวางเครือขาวมีหลายชนิด แต่สารสำคัญหลักมีฤทธิ์คล้ายคลึงกับฮอร์โมนเพศหญิง ได้แก่ เอสโตรเจน ดังนั้น การใช้ประโยชน์จากกวางเครือขาว จึงควรมุ่งเน้นไปที่การศึกษาถึงคุณสมบัติดังกล่าวในทางเภสัชวิทยา การเป็นพิษ ผลทางคลินิก และที่สำคัญคือกลไกการออกฤทธิ์ของกวางเครือขาวโดยการศึกษาทางสรีรวิทยา ซึ่งยังไม่มีรายงานไว้ ดังนั้น โครงการวิจัยนี้จึงมีแนวคิดในการศึกษาวิจัยพื้นฐานเพื่อให้ได้ทราบถึง กลไกการออกฤทธิ์ของสารสกัดกวางเครือขาวต่อการหดตัวของเส้นเลือดและมดลูกในหนูทดลอง จึงมีความสำคัญยิ่ง และควรค่าต่อการสนับสนุนให้มีการพัฒนาอย่างเร่งด่วน ควบคู่ไปกับการศึกษาและวิจัยในด้านอื่น ๆ ของกวางเครือขาว จะสามารถอธิบายกลไกการทำงานของกวางเครือขาวได้อย่างถูกต้อง เพื่อที่จะนำกวางเครือขาว ไปใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุด สิ่งที่น่าสนใจอีกประการหนึ่งคือ ฤทธิ์ของเอสโตรเจนต่อระบบหลอดเลือดของร่างกาย เป็นที่ทราบกันดีว่าเพศหญิงมีอุบัติการณ์การเกิดโรคหลอดเลือดน้อยกว่าเพศชาย ทั้งนี้เนื่องจากเอสโตรเจนทำให้เส้นเลือดมีความยืดหยุ่น ลดความดันที่เพิ่มขึ้นที่ผนังหลอดเลือด ดังนั้น จึงน่าจะมีการศึกษาข้อมูลของกวางเครือขาวต่อผลดังกล่าวนี้

เอสโตรเจนเป็นฮอร์โมนเพศหญิง (33) ส่วนใหญ่ผลิตมาจากรังไข่ มีส่วนน้อยที่ผลิตจากต่อมหมวกไตชั้นนอก เนื้อเยื่อไขมันและตับ แต่ในระหว่างตั้งครรภ์ เอสโตรเจนส่วนใหญ่จะถูกสร้างจากรก หน้าที่ของ เอสโตรเจนมีหลายประการ เช่น 1) กระตุ้นให้มีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์ของระบบสืบพันธุ์เพศหญิงในวัยเด็ก จึงทำให้มีการเจริญเติบโตของอวัยวะสืบพันธุ์ภายในและภายนอก 2) ทำให้มีการเจริญเติบโตของอวัยวะ 3) กระตุ้นร่างกายทำให้มีลักษณะของ secondary sex characteristics 4) กระตุ้นเซลล์ของปากมดลูกให้หลั่งน้ำเมือกใสออกมาจำนวนมาก ช่วยในการเคลื่อนที่ของอสุจิไปยังมดลูก 5) กระตุ้น epiphyseal plate ทำให้ตัวสูงขึ้นมากในวัยรุ่นและกระตุ้นให้มีการปิดของ epiphyseal plate หลังวัยรุ่น และ 6) ควบคุมการหลั่ง gonadotropin-releasing hormone (GnRH)

ภาวะหมดประจำเดือน (menopause) พบในเพศหญิงอายุระหว่าง 45-55 ปี สาเหตุเกิดจากอวัยวะสืบพันธุ์และ activity น้อยลง รังไข่ไม่ตอบสนองต่อ GnRH ทำให้ระดับเอสโตรเจนในเลือดต่ำ อาการที่พบ คือ ประจำเดือนมาไม่สม่ำเสมอในช่วง 2-3 ปีก่อนประจำเดือนหยุด มีอาการของโรค

กระดูกพรุน (osteoporosis) รู้สึกร้อนวูบวาบตามตัว (flush) เหงื่อออกมาก อวัยวะสืบพันธุ์ภายนอกมีขนาดเล็กถอง (atrophy) ต่อมในช่องคลอดจับน้ำเมือกน้อยลง อารมณ์เปลี่ยนแปลงได้ง่าย มีอาการซึมเศร้า และปวดศีรษะบ่อย บรรเทาโดยให้เอสโตรเจนขนาดต่ำๆ แต่มีข้อเสียคือ ทำให้มีโอกาสเกิดมะเร็งปากมดลูกสูง (33)

สำหรับงานวิจัยนี้ ได้ศึกษาถึงผลของกาวเครือขาวต่อการหดตัวของเส้นเลือดและมดลูกในหนู โดยเปรียบเทียบกับผลของเอสโตรเจน และเปรียบเทียบผลของกาวเครือขาวระหว่างหนูทดลองเพศเมียที่ปกติและที่ตัดรังไข่ทั้ง 2 ข้าง เพื่อจำลองภาวะหมดประจำเดือน

### วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาผลของสารสกัดจากกาวเครือขาว ต่อการหดตัวของเส้นเลือดและมดลูกในหนูทดลอง โดยศึกษา

1. ผลของสารสกัดจากกาวเครือขาว ต่อการหดตัวของเส้นเลือดที่เหนียวนำไปเกิด hypertension โดยการใช้ High-K<sup>+</sup>-solution
2. ผลของสารสกัดจากกาวเครือขาว ต่อการหดตัวของมดลูกแบบที่เกิดโดยธรรมชาติ และแบบที่เหนียวนำไปเกิด hypertension โดยการใช้ High-K<sup>+</sup>-solution
3. ผลของสารสกัดจากกาวเครือขาวต่อ L-type Ca channels และ intracellular Ca store ของเส้นเลือดและมดลูก
4. เปรียบเทียบผลของสารสกัดจากกาวเครือขาว ในข้อ 1-3 กับฮอร์โมนเอสโตรเจน
5. เปรียบเทียบผลของสกัดจากกาวเครือขาว ต่อการหดตัวของเส้นเลือดและมดลูกในหนูที่ปกติและที่ตัดรังไข่ทั้ง 2 ข้าง เพื่อจำลองภาวะหมดประจำเดือน

### ขอบเขตของการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นเพียงการศึกษาผลของสารสกัดจากกาวเครือขาว ใน in vitro เท่านั้น

### ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย

1. ได้ทราบผลของสารสกัดจากกาวเครือขาว ต่อการหดตัวของเส้นเลือดและมดลูกในหนูที่ไม่ได้ตัดรังไข่และที่ตัดรังไข่ ว่ามีความคล้ายคลึงหรือแตกต่างกัน ซึ่งจะเป็นข้อมูลประกอบและเป็นประโยชน์ ในการวางแผนการนำสารสกัดกาวเครือขาวไปใช้ในสตรีวัยเจริญพันธุ์และที่หมดประจำเดือน
2. ได้ข้อมูลพื้นฐานที่จะทำการวิจัยต่อไปใน in vivo

3. ได้ข้อมูลที่สามารถนำไปประกอบการนำเสนอสารสกัดจากกวางเครือขาว ไปใช้ในมนุษย์ หรือสัตว์เศรษฐกิจชนิดอื่นๆ

## บทที่ 2

### วิธีดำเนินการวิจัย

#### แหล่งที่มาของข้อมูล

##### ตัวอย่างสัตว์ทดลอง

ใช้หนูขาวเพศเมีย สายพันธุ์ Wistar น้ำหนักประมาณ 250 กรัม จำนวน 20 ตัว แบ่งหนูทดลองออกเป็น 2 กลุ่มๆ ละ 10 ตัว กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มที่ถูกตัดรังไข่ทั้ง 2 ข้าง เลี้ยงหนูในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 50 เปอร์เซ็นต์ แสงสว่าง 12 ชั่วโมง ให้กินอาหารและน้ำอย่างเพียงพอตามที่ต้องการ (ad libitum) และเลี้ยงในสภาพแวดล้อมที่เหมือนกันทั้ง 2 กลุ่ม วิธีการปฏิบัติต่อสัตว์ทดลองได้ผ่านความเห็นชอบจากคณะกรรมการกำกับดูแลการใช้สัตว์เพื่อการศึกษาวิจัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

##### การตัดรังไข่

วางยาสลบหนูโดยให้ pentobarbital ขนาด 30 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว ทางช่องท้อง ทำการตัดรังไข่ทั้ง 2 ข้าง ผูกท่อหน้าไข่ เย็บปิดช่องท้อง

##### สารสกัดกวางเครือขาว

ลุ่มซึ่อกวางเครือขาว (หัวใต้ดิน) จากหลายๆ แหล่ง (stratified random sampling) และผสมกันเป็นตัวอย่างเดียว (pooled sample) การเตรียมสารสกัดจากกวางเครือขาวปรับปรุงจากวิธีของ Jones และ Pope (34) โดยนำหัวสดมาผ่านแล้วอบแห้งโดยใช้เครื่องอบแห้ง ที่ 60 องศาเซลเซียส จากนั้นบดให้เป็นผง นำไปสกัดด้วยแอลกอฮอล์ (95%) (กวางเครือ 25 กรัม สกัดด้วยแอลกอฮอล์ 1 ลิตร) โดยใช้ soxhlet extractor ระเหยแอลกอฮอล์ด้วยเครื่อง rotary evaporator และ dry freezer ตามลำดับ จากนั้นเก็บสารที่สกัดได้ไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส สำหรับการตรวจหาสารสำคัญส่งตรวจที่มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โดยวิธี Gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS)

##### การศึกษาผลของกวางเครือขาวต่อการหดตัวของเส้นเลือดและมดลูก

- 1) ทำให้หนูตายโดยไม่ทรมานโดยให้ดมคลอโรฟอร์มในขนาดสูง จากนั้นเก็บตัวอย่างเส้นเลือด hepatic portal vein และมดลูก แช่ไว้ใน physiological saline solution (ภาคผนวก ก) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ตัวอย่างที่ได้จะใช้ทดลองทันทีเมื่อถึงห้องปฏิบัติการ หรือเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสไม่เกิน 12 ชั่วโมง ก่อนที่จะใช้ในการทดลอง

- 2) แยก vascular rings จาก hepatic portal vein ตามวิธีของ Babiychuk และ คณะ (35) โดยนำ hepatic portal vein ใ้ลงใน plate ที่บรรจุสารละลาย physiological saline solution จากนั้นใช้กรรไกรตัด vascular rings จาก hepatic portal vein ภายใต้กล้อง stereo microscope จำนวน 4-5 rings ต่อ 1 ตัวอย่างเส้นเลือด ผูก vascular rings ด้วยไหมเย็บแผลเบอร์ 4 โดยทำห่วงที่ปลายด้านหนึ่ง อีกด้านหนึ่งผูกเงื่อนตายที่ปลายไหมไว้ สำหรับมดลูก แยก longitudinal uterine smooth muscle strips ตามวิธีของ Longbottom และ คณะ (36) โดยนำมดลูกใ้ลงใน plate ที่บรรจุสารละลาย physiological saline solution จากนั้นใช้กรรไกรตัด longitudinal uterine smooth muscle strips ขนาด 1 x 5 x 1 มิลลิเมตร ภายใต้กล้อง stereo microscope จำนวน 4-5 strips ต่อ 1 ชิ้นตัวอย่างมดลูก สำหรับการผูก strips ปฏิบัติเช่นเดียวกับ vascular rings
- 3) ทดลองใน organ bath ตามวิธีของ Babiychuk และ คณะ (35) และ Kupittayanant และ คณะ (37) เพื่อทดสอบผลของสารสกัดจากกวางเครือขาวต่อการหดตัวของเส้นเลือดและมดลูกที่ถูกกระตุ้นด้วย high  $K^+$ -solution โดยทดสอบผลต่อ amplitude, frequency, และ duration ของการหดตัว โดยย่อ นำ vascular rings หรือ uterine strips ที่เตรียมไว้ เกี่ยวข้องเข้ากับตะขอที่ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ (fixed hook) ส่วนปลายไหมอีกด้านหนึ่งเกี่ยวกับ transducer ในขั้นตอนนี้ vascular rings หรือ uterine strips จะแขวนอยู่ใน organ bath chamber ที่บรรจุด้วยสารละลาย physiological saline solution ที่มีอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และมีออกซิเจน 100 เปอร์เซ็นต์ ทำให้สารละลายนี้จะมีองค์ประกอบคล้ายกับ extracellular fluid ที่ล้อมรอบเซลล์กล้ามเนื้อเรียบของเส้นเลือดและมดลูก หลังจากปล่อยให้ vascular rings หรือ uterine strips แห้งอยู่สารละลาย physiological saline solution จนกระทั่งเริ่มหดตัวได้เองโดยธรรมชาติแล้ว จึงเริ่มทำการทดสอบผลของสารสกัดกวางเครือขาวต่อการหดตัวของ vascular rings หรือ uterine strips
- 4) เปรียบเทียบผลของสารสกัดจากกวางเครือขาวกับ ฮอร์โมนเอสโตรเจน โดยจะเปรียบเทียบผลต่อ amplitude, frequency และ duration ของการหดตัว โดยวิเคราะห์จากกราฟการหดตัว
- 5) เปรียบเทียบผลของสารสกัดจากกวางเครือขาวในหนูทดลองเพศเมียที่ไม่ได้ตั้งครรภ์ กับที่ตั้งครรภ์ไข่ออก 2 ข้างได้ 2 สัปดาห์ โดยวิเคราะห์จากกราฟการหดตัว
- 6) ทำการวิเคราะห์ทางสถิติ เปรียบเทียบผลที่ได้จากการทดลอง



### สารเคมี

ซื้อจากบริษัท Sigma® เตรียมโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย โดยให้ความเข้มข้นของตัวทำละลายไม่เกิน 0.1% (V/V) ก่อนการทดลองได้ทำการตรวจสอบเบื้องต้นแล้วว่า ความเข้มข้นของเอทานอลที่ใช้กับเนื้อเยื่อ (working concentration) ไม่มีผลต่อการหดตัวของมดลูก

### วิธีการเก็บรวบรวมข้อมูล

ในการบันทึกข้อมูลนั้น แรงดึงที่เปลี่ยนแปลงเนื่องจากการหดหรือคลายตัวของกล้ามเนื้อจะส่งผ่านตัว transducer ซึ่ง transducer จะส่งสัญญาณผ่านต่อไปยัง bridge amp และมีการแปลงสัญญาณต่อโดยเครื่อง PowerLab ให้เป็นความสัมพันธ์ระหว่างแรงดึงและเวลาซึ่งจะถูกประมวลและบันทึกผลโดยโปรแกรม Chart Recorder และแสดงให้เห็นบนจอคอมพิวเตอร์ สำหรับอุปกรณ์ในการทดลองแสดงไว้ในภาคผนวก ข

### วิธีวิเคราะห์ข้อมูล

#### การวิเคราะห์ทางสถิติ

ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง ได้แก่ ความแรง ความถี่ และพื้นที่ใต้กราฟการหดตัว (area under the contraction; AUC) นำมาคำนวณหาค่าทางสถิติ จากนั้นแสดงผลในรูปของค่าเฉลี่ย  $\pm$  ความคลาดเคลื่อน (เทียบกับ 100% ของกลุ่มควบคุม) ค่า  $n$  แสดงถึงจำนวนสัตว์ทดลอง (ไม่ใช่จำนวน strips หรือ rings) นัยสำคัญทางสถิติวิเคราะห์โดย t-tests กำหนดนัยสำคัญที่  $P < 0.05$

### บทที่ 3

#### ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

#### ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบเคมีในสารสกัดจากกวาวเครือขาว

พบสารจำนวน 29 ชนิด สามารถระบุว่าเป็นสารชนิดใดได้จำนวน 26 ชนิด ไม่สามารถระบุได้จำนวน 3 ชนิด ดังแสดงในตารางที่ 3.1

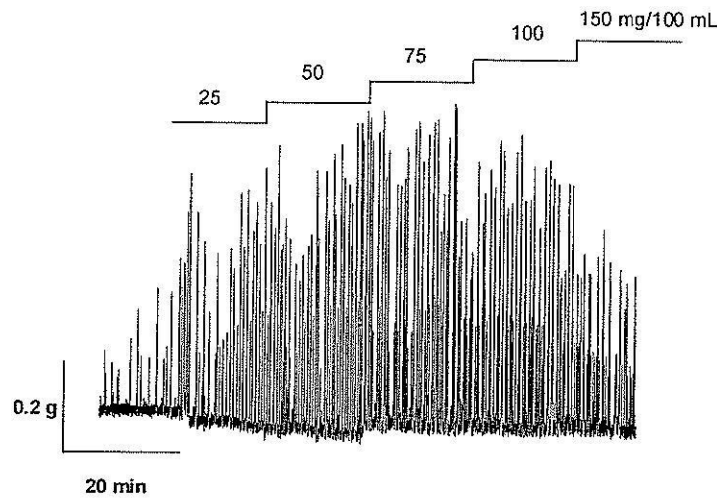
ตารางที่ 3.1: ผลวิเคราะห์องค์ประกอบเคมีในสารสกัดกวาวเครือขาว

ลำดับที่	Library/ID	Retention Time	% of Total
1	Propyl ester	21.780	41.022
2	Beta-sitosterol	60.412	11.898
3	Linolic acid	29.638	5.430
4	Stigmasterol	56.571	5.231
5	Palmitinic acid	27.462	4.116
6	7,10,13-Hexzdecatrienoic acid	29.703	3.890
7	Oleamide	31.979	2.980
8	4H-pyran-4-one	11.363	2.843
9	Lidocaine	26.703	2.093
10	Stearic acid	29.932	2.043
11	Di-isooctyl phthalate	34.155	1.722
12	Beta-monolinolein	36.320	1.547
13	Mome inositol	24.344	1.389
14	Larixic acid	10.621	1.248
15	Cyclohexadecane	26.220	1.227
16	Unknown	23.850	1.204
17	Isopropyl myristate	25.309	1.193
18	Palmatic acid amide	30.150	1.048
19	Benzyl butyl phthalate	31.932	1.048
20	Palmatic acid beta-monoglyceride	33.591	1.027
21	Unknown	26.815	1.022
22	Unknown	23.544	0.805
23	2-Propenoic acid	31.597	0.749
24	Linoleic acid methylester	29.191	0.697
25	1-Octadecanol	29.038	0.663
26	Palmitic acid	28.314	0.658
27	Ethyl palmitate	27.914	0.448
28	Alpha-Hexxylcinnamic aldehyde	24.032	0.379
29	Tetradecanoic acid	24.132	0.378

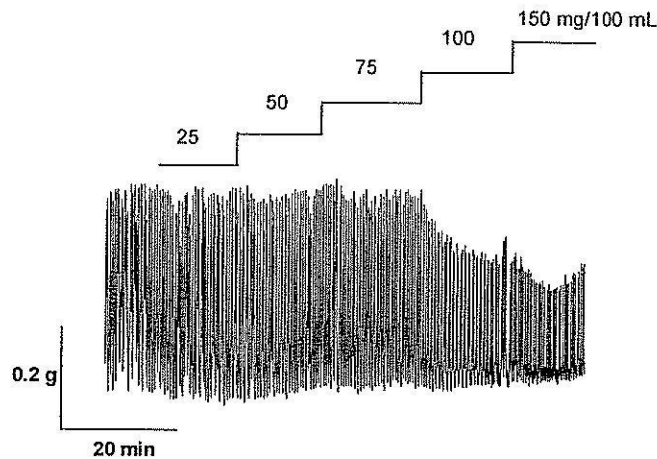
### ความเข้มข้นของสารสกัดจากกวาวเครือขาว

รูปที่ 3.1 แสดงผลของสารสกัดจากกวาวเครือขาวที่ความเข้มข้นต่างๆกัน (25, 50, 75, 100, 150, mg/100 mL) ต่อการหดตัวของมดลูกพบว่า กวาวเครือขาวจะเริ่มมีผลต่อการหดตัวที่ความเข้มข้น 100 mg/100 mL ดังนั้นจึงใช้ความเข้มข้น 100 mg/100 mL สำหรับทดสอบผลในการทดลองลำดับต่อไป รวมทั้งการทดลองที่ใช้เส้นเลือด เป็นที่น่าสังเกตว่าผลของสารสกัดจากกวาวเครือขาวที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กันทั้งในหนูปกติและหนูตัดรังไข่จะคล้ายคลึงกันในแง่ของความแรงและความถี่ในการหดตัว

A



B



รูปที่ 3.1 ผลของสารสกัดจากกวาวเครือขาวที่ความเข้มข้นต่างๆกันต่อการหดตัวของมดลูกที่เกิดขึ้นโดยธรรมชาติ ( $n = 7$ ) แกนตั้งแสดงถึงแรงในการหดตัว (กรัม) แกนนอนแสดงถึงเวลา (นาที) A. หนูปกติ B. หนูตัดรังไข่

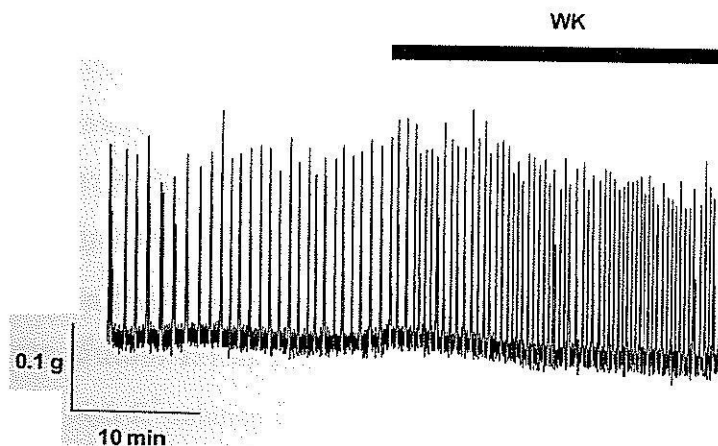
### ผลของสารสกัดจากกวาวเครือขาวต่อการหดตัวของเส้นเลือด

#### ผลต่อการหดตัวของเส้นเลือดที่เกิดขึ้นโดยธรรมชาติ

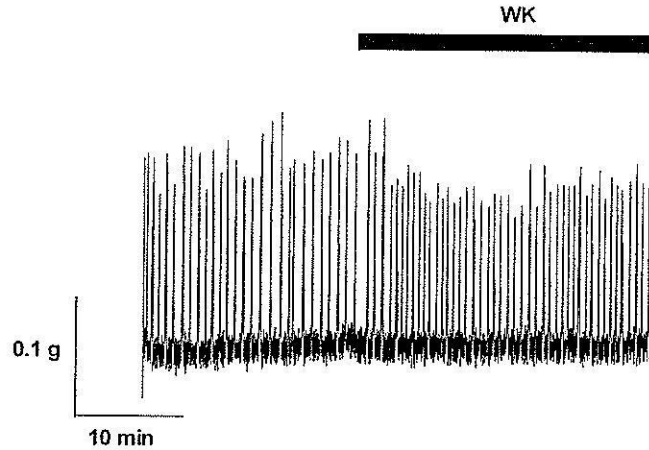
ผลของสารสกัดจากกวาวเครือขาวต่อการหดตัวของเส้นเลือดของหนูปกติแสดงไว้ในรูปที่ 3.2A ( $n = 6$ ) ในสภาวะธรรมชาติแล้วเส้นเลือด portal vein จะหดตัวด้วยความถี่  $1.47 \pm 0.19$  ครั้งต่อนาที และความแรง  $0.41 \pm 0.08$  g ค่า AUC ของการหดตัว  $47.53 \pm 3.17$  เมื่อได้รับสารสกัดจากกวาวเครือขาวที่ความเข้มข้น  $100$  mg/100 mL เส้นเลือดจะหดถี่ขึ้นเป็น  $140.17 \pm 10.24\%$  ( $P < 0.05$ ) แต่ความแรงในการหดตัวจะลดลง  $93.87 \pm 10.26\%$  ( $P > 0.05$ ) เมื่อเทียบกับช่วงที่ยังไม่ได้ให้สารสกัดจากกวาวเครือขาว (100%) ซึ่งผลจากการที่ความถี่เพิ่มขึ้นแต่ความแรงในการหดตัวลดลง ทำให้พื้นที่ใต้กราฟการหดตัวลดลง คิดเป็น  $96.97 \pm 6.13\%$  ( $P > 0.05$ ) เมื่อเทียบกับช่วงที่ยังไม่ได้ให้สารสกัดจากกวาวเครือขาว (100%)

ผลของสารสกัดจากกวาวเครือขาวต่อการหดตัวของเส้นเลือดของหนูตัดรังไข่แสดงไว้ในรูปที่ 3.2B ( $n = 6$ ) ในสภาวะธรรมชาติแล้วเส้นเลือด portal vein จะหดตัวด้วยความถี่  $2.13 \pm 0.42$  ครั้งต่อนาที และความแรง  $0.30 \pm 0.05$  g ค่า AUC ของการหดตัว  $40.44 \pm 1.66$  เมื่อได้รับสารสกัดจากกวาวเครือขาวที่ความเข้มข้น  $100$  mg/100 mL เส้นเลือดจะหดถี่ขึ้นเป็น  $109.83 \pm 10.91\%$  ( $P > 0.05$ ) แต่ความแรงในการหดตัวจะลดลงเป็น  $96.24 \pm 5.31\%$  ( $P > 0.05$ ) เมื่อเทียบกับช่วงที่ยังไม่ได้ให้สารสกัดจากกวาวเครือขาว (100%) ซึ่งผลจากความถี่ที่เพิ่มขึ้นแต่ความแรงในการหดตัวลดลง ทำให้พื้นที่ใต้กราฟการหดตัวเพิ่มขึ้น คิดเป็น  $111.07 \pm 10.74\%$  ( $P > 0.05$ ) ในบางการทดลอง พบว่าสารสกัดจากกวาวเครือขาวมีผลไปเพิ่ม basal tone ของหลอดเลือดร่วมด้วย เช่นที่แสดงในรูปที่ 3.1

A



B

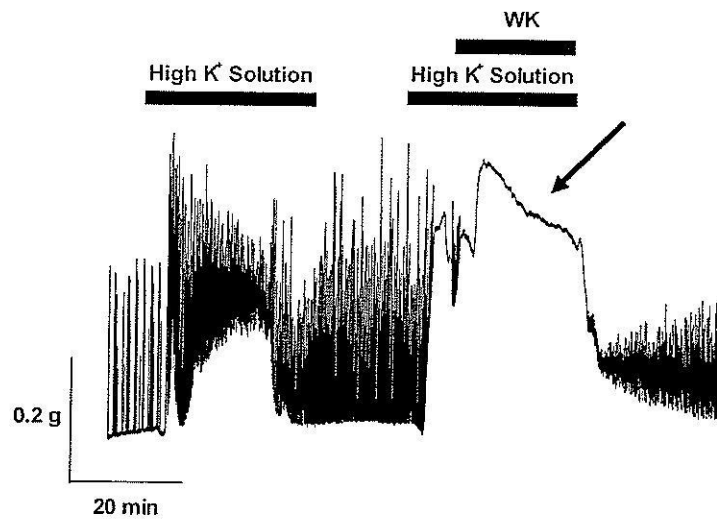


รูปที่ 3.2 ผลของสารสกัดจากกวางเครือขาวต่อการหดตัวของเส้นเลือดที่เกิดขึ้นโดยธรรมชาติ แกนตั้งแสดงถึงแรงในการหดตัว (กรัม) แกนนอนแสดงถึงเวลา (นาที) A. หนูปกติ B. หนูตัดรังไข่

ผลต่อการหดตัวของเส้นเลือดที่เหนียวนำไปให้เกิด hypertension โดยการให้ High-K<sup>+</sup>-solution

ผลของสารสกัดจากกวางเครือขาวต่อการหดตัวของเส้นเลือดที่เหนียวนำไปให้เกิด hypertension โดยการให้ High-K<sup>+</sup>-solution ในหนูปกติแสดงไว้ในรูปที่ 3.3A เมื่อได้รับสารละลาย high-K<sup>+</sup>-solution ( $n = 3$ ) เส้นเลือดจะหดตัวเพิ่มมากขึ้นในลักษณะ tonic contraction (incomplete tetanus) เมื่อเทียบกับการหดตัวช่วงที่ไม่มี high-K<sup>+</sup>-solution หลังจากนำสารละลาย high-K<sup>+</sup>-solution ออก เส้นเลือดจะหดตัวลดลงและกลับเข้าสู่ภาวะปกติภายในเวลา 15 นาที ต่อมาเมื่อได้รับสารละลาย high-K<sup>+</sup>-solution อีกครั้ง เส้นเลือดจะหดตัวเพิ่มมากขึ้นในลักษณะ tonic contraction เช่นเดิม เมื่อให้สารสกัดจากกวางเครือขาวขนาด 100 mg/100 mL ไปพร้อมๆกับที่ให้สารละลาย high-K<sup>+</sup>-solution พบว่า สารสกัดจะมีผลไปยัง phasic phase ของ tonic contraction (ตำแหน่งลูกศรชี้)

จากการศึกษาผลของสารสกัดจากกวางเครือขาวต่อการหดตัวของเส้นเลือดที่เหนียวนำไปให้เกิด hypertension โดยการให้ High-K<sup>+</sup>-solution ในหนูตัดรังไข่ พบว่า ผลที่ได้เป็นเช่นเดียวกับที่พบในหนูปกติโดยเมื่อได้รับสารละลาย high-K<sup>+</sup>-solution ( $n = 3$ ) เส้นเลือดจะหดตัวเพิ่มมากขึ้นในลักษณะ tonic contraction เมื่อเทียบกับการหดตัวช่วงที่ไม่มี high-K<sup>+</sup>-solution หลังจากนำสารละลาย high-K<sup>+</sup>-solution ออก เส้นเลือดจะหดตัวลดลงและกลับเข้าสู่ภาวะปกติภายในเวลา 15 นาที ต่อมาเมื่อได้รับสารละลาย high-K<sup>+</sup>-solution อีกครั้ง เส้นเลือดจะหดตัวเพิ่มมากขึ้นในลักษณะ tonic contraction เช่นเดิม แต่เมื่อให้สารสกัดจากกวางเครือขาวขนาด 100 mg/100 mL ไปพร้อมๆกับที่ให้สารละลาย high-K<sup>+</sup>-solution พบว่า สารสกัดจะมีผลไปยัง phasic phase ของ tonic contraction



รูปที่ 3.3 ผลของสารสกัดจากกวางเครือขาวต่อการหดตัวของเส้นเลือดที่เหนียวทำให้เกิด hypertension โดยการใช้ High-K<sup>+</sup>-solution แขนงตั้งแสดงถึงแรงในการหดตัว (กรัม) แขนงนอนแสดงถึงเวลา (นาที)

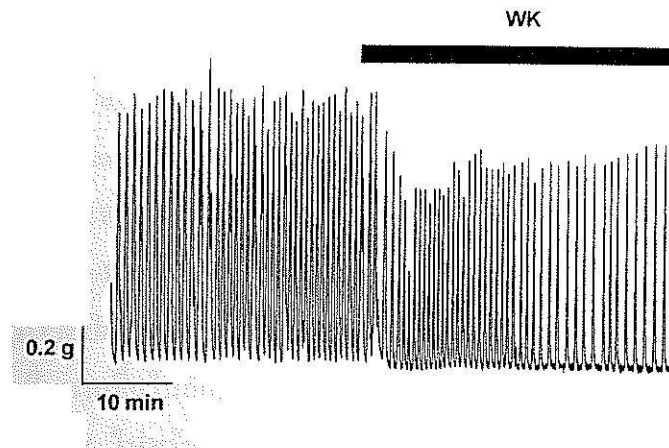
#### ผลของสารสกัดจากกวางเครือขาวต่อการหดตัวของมดลูก

ผลของสารสกัดจากกวางเครือขาวต่อการหดตัวของมดลูกแบบที่เกิด โดยธรรมชาติ

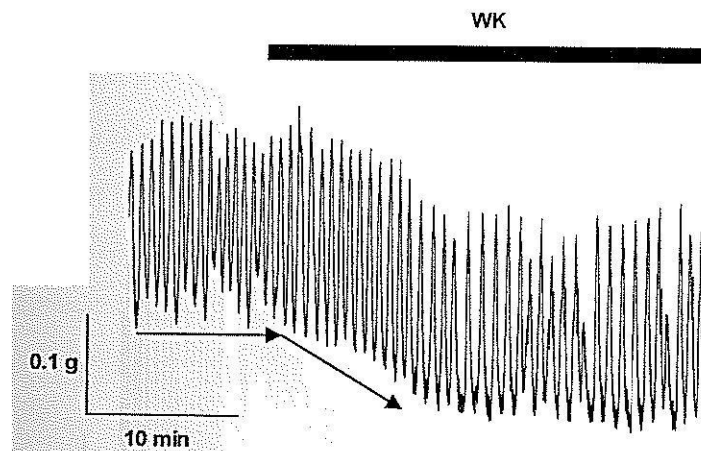
ผลของสารสกัดจากกวางเครือขาวต่อการหดตัวของมดลูกหนูปกติแสดงไว้ในรูปที่ 3.4A ( $n = 7$ ) โดยปกติแล้วมดลูกจะหดตัวด้วยความถี่  $0.91 \pm 0.09$  ครั้งต่อนาที และความแรง  $1.32 \pm 0.18$  g เมื่อได้รับสารสกัดจากกวางเครือขาวที่ความเข้มข้น  $100 \text{ mg}/100 \text{ mL}$  ความถี่และความแรงในการหดตัวของมดลูกจะลดลงเป็น  $94.99 \pm 5.87\%$  ( $P > 0.05$ ) และ  $89.79 \pm 2.99\%$  ( $P < 0.05$ ) เมื่อเทียบกับช่วงที่ยังไม่ได้ให้สารสกัดจากกวางเครือขาว (100%) ทำให้พื้นที่ใต้กราฟการหดตัวลดลง คิดเป็น  $80.05 \pm 3.77$  111 ( $P < 0.05$ ) เมื่อเทียบกับช่วงที่ยังไม่ได้ให้สารสกัดจากกวางเครือขาว (100%)

ผลของสารสกัดจากกวางเครือขาวต่อการหดตัวของมดลูกหนูตั้งครรภ์แสดงไว้ในรูปที่ 3.4B ( $n = 6$ ) โดยปกติแล้วมดลูกจะหดตัวด้วยความถี่  $1.15 \pm 0.07$  ครั้งต่อนาที และความแรง  $1.06 \pm 0.11$  g เมื่อได้รับสารสกัดจากกวางเครือขาวที่ความเข้มข้น  $100 \text{ mg}/100 \text{ mL}$  ความถี่และความแรงในการหดตัวของมดลูกจะลดลงเป็น  $78.77 \pm 8.19\%$  ( $P < 0.05$ ) และ  $94.89 \pm 4.58\%$  ( $P > 0.05$ ) เมื่อเทียบกับช่วงที่ยังไม่ได้ให้สารสกัดจากกวางเครือขาว (100%) ทำให้พื้นที่ใต้กราฟการหดตัวลดลง คิดเป็น  $91.11 \pm 6.73$  ( $P > 0.05$ ) เมื่อเทียบกับช่วงที่ยังไม่ได้ให้สารสกัดจากกวางเครือขาว (100%) นอกจากนี้สารสกัดกวางเครือขาวยังมีผลลด basal tone ของมดลูกร่วมด้วย (รูปที่ 3.4B ลูกสรชี) โดย basal tone จะลดลงประมาณ 5-20% เมื่อเทียบกับช่วงที่ยังไม่ได้ให้สารสกัดจากกวางเครือขาว (100%)

A



B



รูปที่ 3.4 ผลของสารสกัดจากกวางเครือขาวต่อการหดตัวของมดลูกที่เกิดขึ้นโดยธรรมชาติ แกนตั้งแสดงถึงแรงในการหดตัว (กรัม) แกนนอนแสดงถึงเวลา (นาที) A. หนูปกติ B. หนูตั้งครรภ์

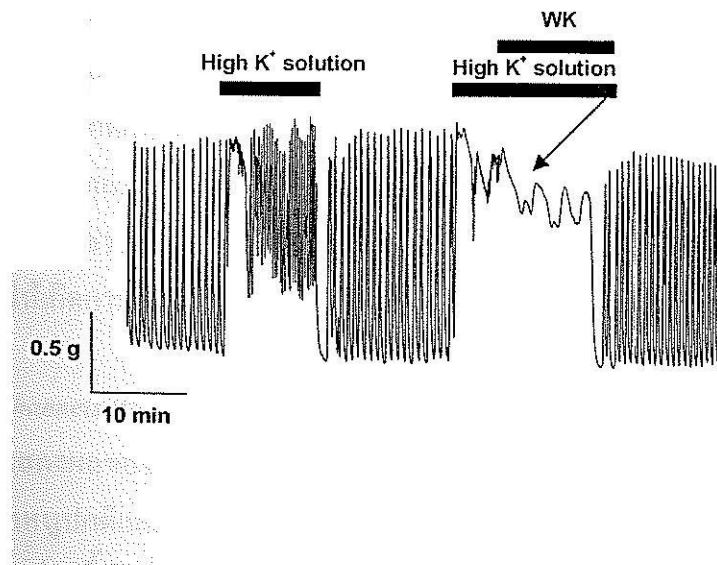
ผลของสารสกัดจากกวางเครือขาวต่อการหดตัวของมดลูกแบบที่เหนียวนำไปให้เกิด hypertension โดยการให้  $\text{High-K}^+$ -solution

ผลของสารสกัดจากกวางเครือขาวต่อการหดตัวของมดลูกที่เหนียวนำไปให้เกิด hypertension โดยการให้  $\text{High-K}^+$ -solution ในหนูปกติแสดงไว้ในรูปที่ 3.5A ( $n = 3$ ) เมื่อได้รับสารละลาย  $\text{high-K}^+$ -solution มดลูกจะหดตัวเพิ่มมากขึ้นในลักษณะ tonic contraction เมื่อเทียบกับการหดตัวช่วงที่ไม่มีสารละลาย  $\text{high-K}^+$ -solution หลังจากนำสารละลาย  $\text{high-K}^+$ -solution ออกมดลูกจะหดตัวลดลง

และกลับเข้าสู่ภาวะปกติภายในเวลา 15 นาที ต่อมาเมื่อได้รับสารละลาย high-K<sup>+</sup>-solution อีกครั้ง มดลูกจะหดตัวเพิ่มมากขึ้นในลักษณะ tonic contraction เช่นเดิม เมื่อให้สารสกัดจากกวาวเครือขาวขนาด 100 mg/100 mL ไปพร้อมกับที่ให้สารละลาย high-K<sup>+</sup>-solution พบว่า สารสกัดมีผลไปยับยั้ง phasic phase ของ tonic contraction (ตำแหน่งลูกศรชี้)

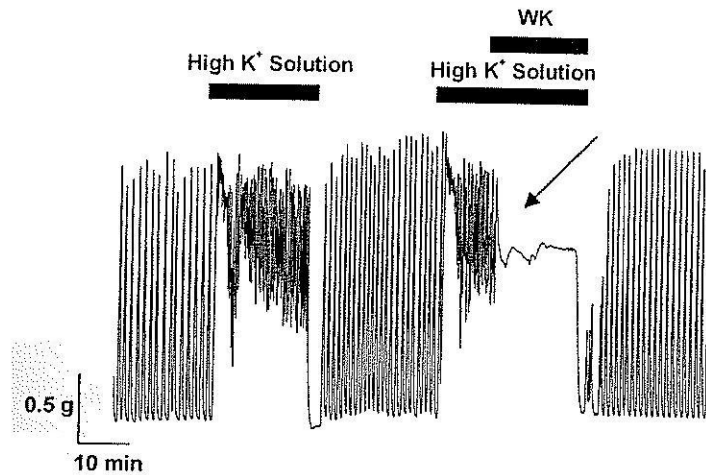
ผลของสารสกัดจากกวาวเครือขาวต่อการหดตัวของมดลูกที่เหนี่ยวนำให้เกิด hypertension โดยการใช้ High-K<sup>+</sup>-solution ในหนูตัวครั้งแรกแสดงไว้ในรูปที่ 3.5B (n = 3) เมื่อได้รับสารละลาย high-K<sup>+</sup>-solution มดลูกจะหดตัวเพิ่มมากขึ้นในลักษณะ tonic contraction เมื่อเทียบกับการหดตัวช่วงที่ไม่มีสารละลาย high-K<sup>+</sup>-solution หลังจากนำสารละลาย high-K<sup>+</sup>-solution ออกมดลูกจะหดตัวลดลงและกลับเข้าสู่ภาวะปกติภายในเวลา 15 นาที ต่อมาเมื่อได้รับสารละลาย high-K<sup>+</sup>-solution อีกครั้ง มดลูกจะหดตัวเพิ่มมากขึ้นในลักษณะ tonic contraction เช่นเดิม เมื่อให้สารสกัดจากกวาวเครือขาวขนาด 100 mg/100 mL ไปพร้อมกับที่ให้สารละลาย high-K<sup>+</sup>-solution พบว่า สารสกัดจะมีผลไปยับยั้ง phasic phase ของ tonic contraction (ตำแหน่งลูกศรชี้)

A





B



รูปที่ 3.5 ผลของสารสกัดจากกวางเครือขาวต่อการหดตัวของมดลูกที่เหนี่ยวนำให้เกิด hypertension โดยการใช้ High-K<sup>+</sup>-solution แกนตั้งแสดงถึงแรงในการหดตัว (กรัม) แกนนอนแสดงถึงเวลา (นาที) A. หนูปกติ B. หนูตัดรังไข่

ผลของสารสกัดจากกวางเครือขาวต่อ L-type Ca channels และ intracellular Ca store

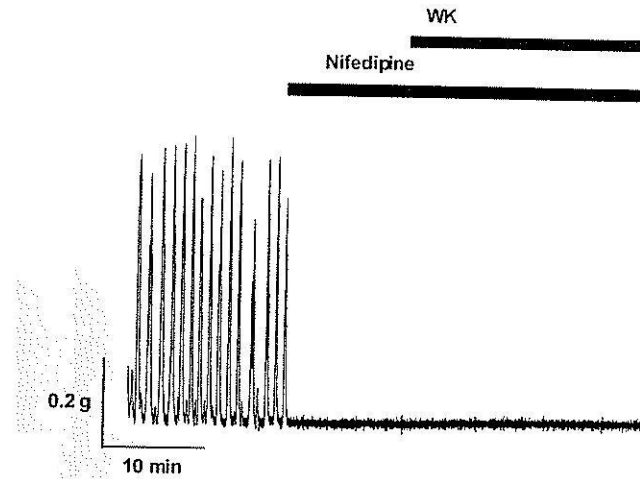
ผลต่อ L-type Ca channels และ intracellular Ca store ของเส้นเลือดหนูปกติและตัดรังไข่

เมื่อศึกษาผลของสารสกัดจากกวางเครือขาวต่อ L-type Ca channels และ intracellular Ca store ของเส้นเลือดหนูปกติและตัดรังไข่ โดยพบว่าเมื่อยับยั้ง L-type Ca channels ด้วย nifedipine มดลูกจะไม่หดตัว ผลดังกล่าวนี้เกิดขึ้นเช่นเดียวกันทั้งในเส้นเลือดหนูปกติและหนูตัดรังไข่ อย่างไรก็ตามเมื่อให้กวางเครือขาวในช่วงที่ยังให้ nifedipine แก่มดลูกอยู่นั้น พบว่ากวางเครือขาวไม่สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการหดตัวในขณะที่ L-type Ca channels ถูกปิด (ไม่ได้แสดงรูปไว้)

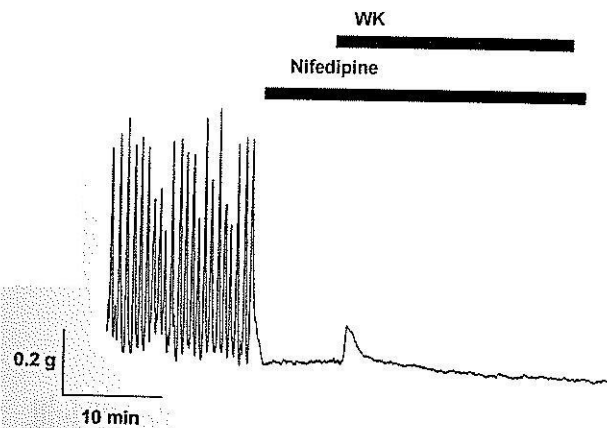
ผลต่อ L-type Ca channels และ intracellular Ca store ของมดลูกหนูปกติและตัดรังไข่

รูปที่ 3.6 แสดงผลของสารสกัดจากกวางเครือขาวต่อ L-type Ca channels และ intracellular Ca store ของมดลูกหนูปกติและตัดรังไข่ พบว่า เมื่อยับยั้ง L-type Ca channels ด้วย nifedipine มดลูกจะไม่หดตัว ผลดังกล่าวนี้เกิดขึ้นเหมือนกันทั้งในมดลูกหนูปกติและหนูตัดรังไข่ อย่างไรก็ตามเมื่อให้กวางเครือขาวในช่วงที่ยังให้ nifedipine แก่มดลูกอยู่นั้น พบว่า กวางเครือขาวสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการหดตัวในขณะที่ L-type Ca channels ถูกปิดในหนูปกติ จำนวน 1 ตัวจากหนูทั้งหมด 5 ตัว คิดเป็นเปอร์เซ็นต์สามารถเหนี่ยวนำเท่ากับ 16.67% ซึ่งน้อยมากเมื่อเทียบกับหนูตัดรังไข่ ในหนูตัดรังไข่นั้นกวางเครือขาวสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการหดตัวในขณะที่ L-type Ca channels ถูกปิด จำนวน 12 ตัวจากหนูทั้งหมด 14 ตัว คิดเป็นเปอร์เซ็นต์สามารถเหนี่ยวนำเท่ากับ 85.71%

A



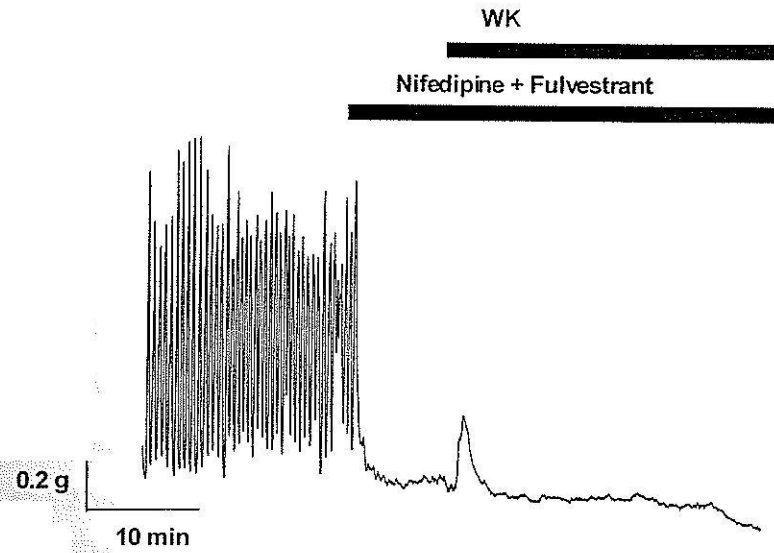
B



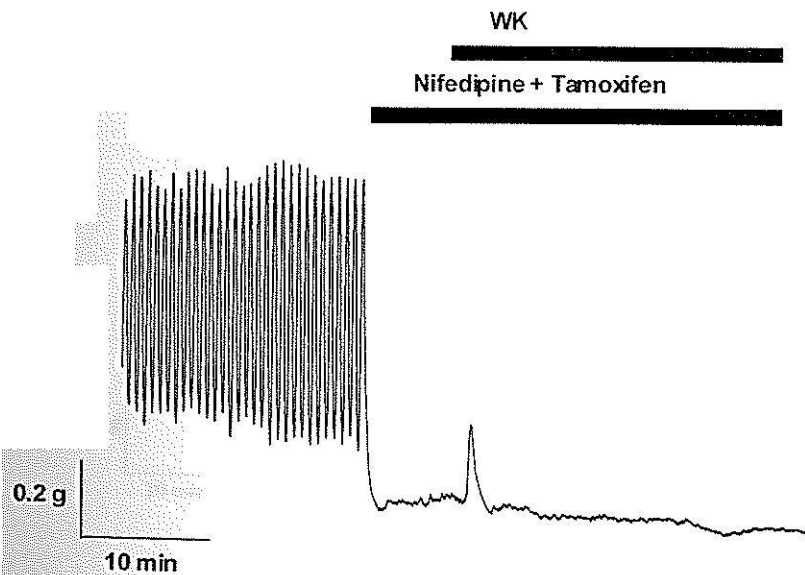
รูปที่ 3.6 ผลของสารสกัดจากกวางเครือขาวต่อ L-type Ca channels และ intracellular Ca store ของมดลูก แกนตั้งแสดงถึงแรงในการหดตัว (กรัม) แกนนอนแสดงถึงเวลา (นาที) A. หนูปกติ B. หนูตัดรังไข่

เพื่อทดสอบว่าการเหนี่ยวนำให้เกิดการหดตัวในขณะที่ L-type Ca channels ถูกปิดกั้นจากการหลั่งของ Ca จาก internal store โดยไม่ได้เกิดจากการกระตุ้น estrogen receptor จึงให้ fulvestrant หรือ tamoxifen ร่วมกับ nifedipine จากนั้นจึงให้กวางเครือขาวแก่มดลูก ผลปรากฏว่ากวางเครือขาวยังคงกระตุ้นให้เกิดการหดตัวได้เช่นเดิม ดังแสดงในรูปที่ 3.7A และ B ตามลำดับ

A



B



รูปที่ 3.7 ผลของ beta-sitosterol ต่อ L-type Ca channels และ intracellular Ca store ของมดลูกในสภาวะที่มี estrogen antagonist แกนตั้งแสดงถึงแรงในการหดตัว (กรัม) แกนนอนแสดงถึงเวลา (นาที) A. fulvestrant B. tamoxifen

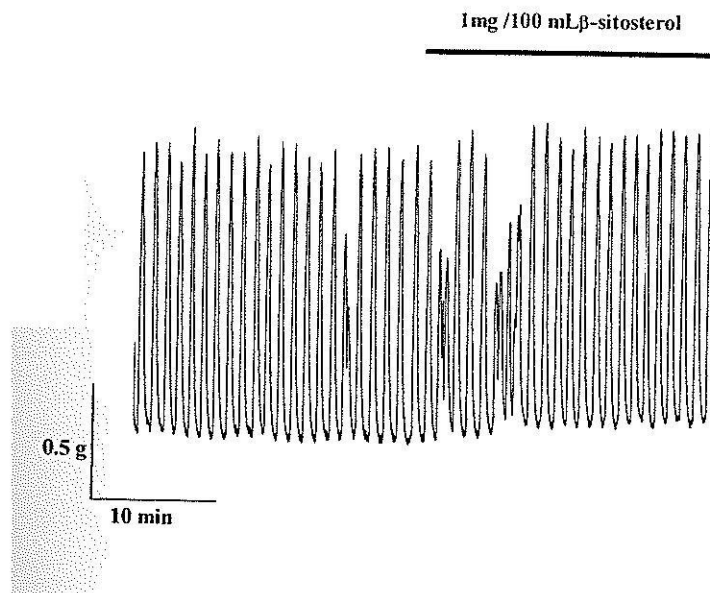
### ผลของ beta-sitosterol

#### ผลของ beta-sitosterol ต่อการหดตัวของมดลูกหนู

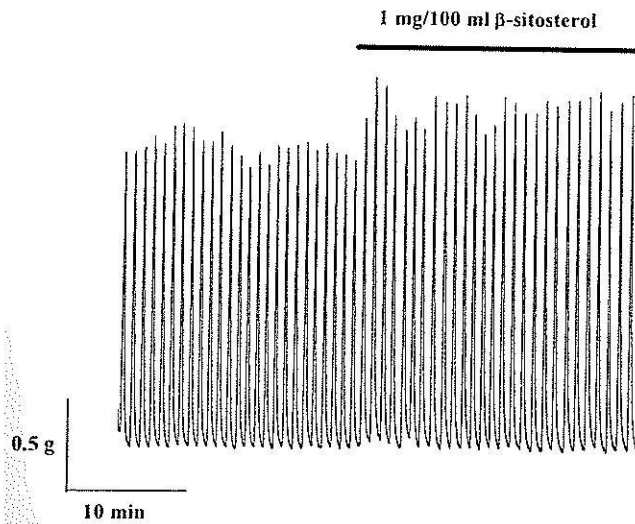
รูปที่ 3.8 แสดงผลของ beta-sitosterol ต่อการหดตัวของมดลูกหนูปกติ (A;  $n = 5$ ) และหนูตัดรังไข่ (B;  $n = 5$ ) พบว่า ในหนูปกติ beta-sitosterol ขนาด 1 mg/100 mL (39) ทำให้มดลูกหดตัวเพิ่มขึ้น โดย beta-sitosterol จะเพิ่มความแรงและความถี่ในการหดตัวในหนูปกติเป็น  $110.43 \pm 0.02\%$  ( $P < 0.05$ ) และ  $102.77 \pm 2.77\%$  ( $P > 0.05$ ) ตามลำดับเมื่อเทียบกับช่วงที่ยังไม่ให้ beta-sitosterol และ beta-sitosterol ทำให้พื้นที่ใต้กราฟการหดตัวเพิ่มขึ้น คิดเป็น  $130.99 \pm 9.9\%$  ( $P < 0.05$ ) เมื่อเทียบกับช่วงที่ยังไม่ได้ให้ beta-sitosterol (100%)

ในหนูตัดรังไข่ beta-sitosterol ขนาด 1 mg/100 mL (39) จะทำให้มดลูกหดตัวเพิ่มขึ้น โดย beta-sitosterol จะเพิ่มความแรงและความถี่ในการหดตัวในหนูตัดรังไข่เป็น  $112.03 \pm 0.87\%$  ( $P < 0.05$ ) และ  $94.43 \pm 2.56\%$  ( $P > 0.05$ ) ตามลำดับเมื่อเทียบกับช่วงที่ยังไม่ให้ beta-sitosterol และ beta-sitosterol ทำให้พื้นที่ใต้กราฟการหดตัวเพิ่มขึ้น คิดเป็น  $106.07 \pm 0.03\%$  ( $P < 0.05$ ) เมื่อเทียบกับช่วงที่ยังไม่ได้ให้ beta-sitosterol (100%)

A



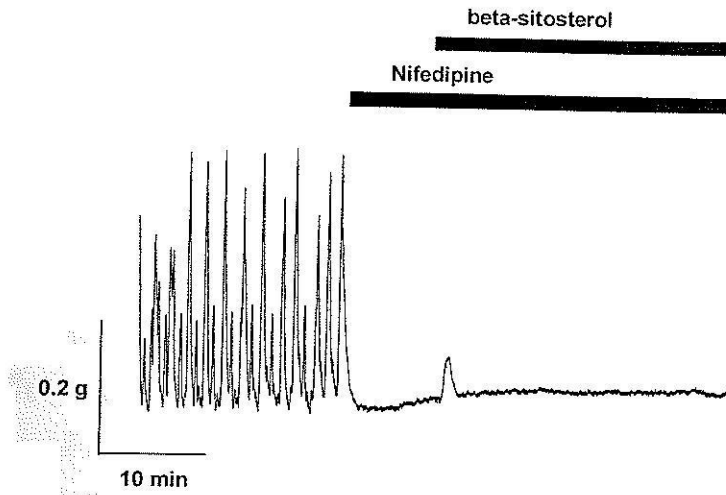
B



รูปที่ 3.8 ผลของ *beta-sitosterol* ต่อการหดตัวของมดลูก แกนตั้งแสดงถึงแรงในการหดตัว (กรัม) แกนนอนแสดงถึงเวลา (นาที) A. หนูปกติ B. หนูตั้งครรภ์

ผลของ *beta-sitosterol* ต่อ *L-type Ca channels* และ *intracellular Ca store* ของมดลูกหนูตั้งครรภ์

รูปที่ 3.9 แสดงผลของ *beta-sitosterol* ต่อ *L-type Ca channels* และ *intracellular Ca store* ของมดลูกตั้งครรภ์ พบว่า เมื่อยับยั้ง *L-type Ca channels* ด้วย *nifedipine* มดลูกจะไม่หดตัว ใดๆ ก็ตามเมื่อให้ *beta-sitosterol* ในช่วงที่ยังให้ *nifedipine* แก้มดลูกอยู่นั้น พบว่า *beta-sitosterol* สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการหดตัวในขณะที่ *L-type Ca channels* ถูกปิดได้ จำนวน 5 ตัวจากหนูทั้งหมด 5 ตัว คิดเป็นเปอร์เซ็นต์สามารถเหนี่ยวนำเท่ากับ 100%



รูปที่ 3.9 ผลของ beta-sitosterol ต่อ L-type Ca channels และ intracellular Ca store ของมดลูกในหนูตั้งครรภ์ไข  
แกนตั้งแสดงถึงแรงในการหดตัว (กรัม) แกนนอนแสดงถึงเวลา (นาที)

## บทที่ 4

### บทสรุป

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสารสกัดจากกวาวเครือขาว 1) ต่อการหดตัวของเส้นเลือดที่เหนี่ยวนำให้เกิด hypertension โดยการใช้ High-K<sup>+</sup>-solution 2) ต่อการหดตัวของมดลูกแบบที่เกิดโดยธรรมชาติ และแบบที่เหนี่ยวนำให้เกิด hypertension โดยการใช้ High-K<sup>+</sup>-solution 3) ต่อ L-type Ca channels และ intracellular Ca store ของเส้นเลือดและมดลูก 4) เปรียบเทียบผลของสารสกัดจากกวาวเครือขาว ในข้อ 1-3 กับฮอร์โมนเอสโตรเจน 5) เปรียบเทียบผลของสกัดจากกวาวเครือขาว ต่อการหดตัวของเส้นเลือดและมดลูกในหนูเพศเมียที่ปกติและที่ตัดรังไข่ทั้ง 2 ข้าง เพื่อจำลองภาวะหมดประจำเดือน ผลสรุปมีรายละเอียดเป็นดังนี้

### สารสำคัญในสารสกัดจากกวาวเครือขาว

พบว่าสารสำคัญในสารสกัดจากกวาวเครือขาวมีทั้งสิ้น 29 ตัว สารสำคัญที่พบมากที่สุด 5 ชนิดแรกคือ Propyl ester (41.022%), Beta-sitosterol (11.898%), Linolic acid (5.430%), Stigmasterol (5.231%) และ Palmitinic acid (4.116%) นอกจากนี้พบสารที่ไม่สามารถวินิจฉัยได้อีก 3 ชนิด

### ผลของสารสกัดจากกวาวเครือขาวต่อการหดตัวของเส้นเลือด

Hepatic portal vein เป็นเส้นเลือดดำขนาดใหญ่ที่รับเลือดจากอวัยวะในช่องท้องผ่านเข้าสู่ตับและส่งต่อไปที่หัวใจ การหดตัวของ hepatic portal vein เป็นชนิด phasic contraction หรือเป็นจังหวะ ซึ่งแตกต่างจากหลอดเลือดดำอื่นๆ และหลอดเลือดแดงทั้งหมดของร่างกาย ซึ่งจะไม่มีการหดตัวเป็นจังหวะแต่จะมีแรงคงอยู่ในระดับหนึ่ง นอกเหนือจากการหดตัวเป็นจังหวะแล้ว hepatic portal vein ยังตอบสนองต่อ depolarization ด้วยสารละลายที่มี K<sup>+</sup> สูงเป็นองค์ประกอบ สามารถหดตัวแบบ tonic contraction ได้เช่นเดียวกับหลอดเลือดดำอื่นๆ และหลอดเลือดแดงทั้งหมดของร่างกาย จึงเหมาะที่จะนำเส้นเลือด hepatic portal vein มาเป็นโมเดลในการศึกษาผลของสารสกัดจากกวาวเครือขาวต่อการหดตัวของเส้นเลือด

ผลการทดลองชี้ชัดว่าสารสกัดจากกวาวเครือขาวสามารถลดการตั้งตัวของเส้นเลือดทั้งชนิดที่หดตัวแบบ phasic contraction (รูปที่ 3.2) และที่หดตัวแบบ tonic contraction (รูปที่ 3.3) และผลในการลดการหดตัวขึ้นกับความเข้มข้นของสารสกัด (รูปที่ 3.1A) โดยจะเริ่มออกฤทธิ์ตั้งแต่ 100 mg/100 mL เป็นต้นไป จึงเป็นไปได้ที่กวาวเครือขาวมีผลลดความดันโลหิต เช่นที่เชื่อกันก่อนหน้านี้โดยยังไม่มีหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ยืนยัน (1) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเป็นงานวิจัยแรกที่ชี้ให้เห็นว่าสารสกัดจาก

กวางเครือขาวสามารถลดการตีตัวของเส้นเลือดได้ อย่างไรก็ตามพบว่าสารสกัดจากกวางเครือขาวไม่สามารถกระตุ้นให้หลอดเลือดของหนูปกติและหนูตัดรังไข่หดตัวในสภาพที่ปราศจากแคลเซียมจากภายนอกเซลล์ได้ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากกวางเครือขาวไม่มีผลต่อการหลั่งแคลเซียมจาก SR

### ผลของสารสกัดจากกวางเครือขาวต่อการหดตัวของมดลูก

มดลูกมีหน้าที่หลายประการ เช่น ช่วยบีบตัวให้ออกซิเจนเดินทางไปสู่อวัยวะสืบไข่ เป็นตำแหน่งที่ตัวอ่อนมาฝังตัว บีบตัวขณะคลอด และขับรก

โดยทั่วไปแล้วกล้ามเนื้อเรียบมดลูกของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมจะมีความตีตัวอยู่เสมอสามารถทำงานหรือหดตัวได้เองเป็นจังหวะติดต่อกันตลอดเวลาเมื่ออยู่ในสภาวะที่เหมาะสม (เช่นใน organ bath system) แม้ว่าจะถูกตัดออกจากร่างกายแล้วก็ตาม ทั้งนี้เนื่องจากเซลล์บางเซลล์ของกล้ามเนื้อเรียบ มีศักย์ไฟฟ้าขณะพักไม่คงที่ แต่จะมีขบวนการ depolarization สลับกับขบวนการ repolarization เป็นจังหวะเรียกว่า slow wave potential ซึ่ง slow wave potential นี้เกิดขึ้นเองโดยไม่มีอาศัยสิ่งกระตุ้นจากภายนอก การเกิด slow wave potential นี้ไม่สามารถถ่ายทอดผ่าน gap junction ไปยังเซลล์ข้างเคียงได้ และไม่สามารถทำให้กล้ามเนื้อหดตัวได้ แต่หากขบวนการ depolarization ถึงค่า threshold potential (ประมาณ -35 มิลลิโวลต์) จะเกิด action potential บนยอดคลื่นของ slow wave potential ทำให้แคลเซียมเข้าสู่เซลล์และมีการหดตัวตามมา action potential ที่เกิดขึ้นนี้จะถ่ายทอดให้กับเซลล์ข้างเคียงผ่านทาง gap junction เซลล์ที่สร้าง slow wave potential นี้เรียกว่า pacemaker ด้วยเหตุนี้แม้จะขาดเส้นประสาทไปควบคุมการทำงาน (innervate) เช่น การแยก strip ของกล้ามเนื้อเรียบมดลูกออกจากร่างกายก็ยังหดตัวเป็นจังหวะได้ใน organ bath system การหดตัวของมดลูกในสภาวะปกติจะอาศัยแคลเซียมจากภายนอกเซลล์เป็นสิ่งสำคัญ จากนั้นจะกระตุ้นเอนไซม์ myosin light chain kinase ยังผลให้เกิดการหดตัวตามมา วิธีการหดตัวเช่นนี้เรียก Ca-calmodulin-myosin light chain kinase pathway อย่างไรก็ตามฮอร์โมนหรือสารบางชนิดสามารถเหนี่ยวนำให้มดลูกเกิดการหดตัวเพิ่มขึ้นโดยเหนี่ยวนำให้แคลเซียมเข้าสู่เซลล์มากขึ้นและเหนี่ยวนำให้มีการหลั่งแคลเซียมออกมาจากแหล่งเก็บภายในเซลล์ (39)

ผลการทดลองชี้ชัดว่าสารสกัดจากกวางเครือขาวสามารถลดการตีตัวของมดลูกทั้งชนิดที่หดตัวแบบ phasic contraction (รูปที่ 3.4) และที่หดตัวแบบ tonic contraction (รูปที่ 3.5) และผลในการลดการหดตัวขึ้นกับความเข้มข้นของสารสกัด (รูปที่ 3.1B) โดยจะเริ่มออกฤทธิ์ตั้งแต่ 100 mg/100 mL เป็นต้นไป เช่นเดียวกับที่พบในเส้นเลือด ผลการวิจัยสอดคล้องในหนูปกติกับงานวิจัยที่รายงานในหนูทดลอง (40) ซึ่งในสภาวะที่ระดับ estrogen ในเลือดสูง การหดตัวของมดลูกหนูจะลดลงซึ่งคาดว่าจะเป็นเนื่องมาจากการที่ estrogen ไปยับยั้ง 1) voltage-dependent  $Ca^{2+}$  current, 2)  $Ca^{2+}$  and  $K^+$  channels และ 3) ปลาย amplitude and frequency ของ action potentials นอกจากนี้งานวิจัยยังชี้ให้เห็นว่าสารสกัด



จากภาวะเครือข่ายให้ผลต่อการหดตัวของเส้นเลือดในหนูปกติและหนูตัดรังไข่เหมือนกัน อย่างไรก็ตาม เนื่องจากสารสกัดจากภาวะเครือข่ายมีสารสำคัญหลายชนิดเป็นองค์ประกอบ จึงเป็นที่น่าสนใจว่า สารสำคัญชนิดอื่นมีผลต่อการหดตัวหรือไม่ (อธิบายในหัวข้อต่อไป)

#### ผลของเอสโตรเจน (17 beta-sitosterol) ต่อการหดตัวของมดลูก

เนื่องจากสารสำคัญที่พบ คือ beta-sitosterol (มากเป็นอันดับ 2) งานวิจัยนี้จึงใช้ 17beta-sitosterol ซึ่งเป็นสารสังเคราะห์มาตรฐาน ผลการทดลองพบว่า beta-sitosterol กระตุ้นให้มดลูกของทั้งหนูปกติและหนูตัดรังไข่หดตัวเพิ่มขึ้น (รูปที่ 3.8) ซึ่งตรงกันข้ามกับผลของสารสกัดจากภาวะเครือข่าย ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากสารสกัดมีส่วนผสมของกรดไขมันที่มีรายงานว่าสามารถทำให้เกิดการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้ (41) จึงทำให้ฤทธิ์ของสารหักล้างกัน

#### ผลของสารสกัดจากภาวะเครือข่ายต่อการหดตัวของมดลูกในสถานะที่ปราศจาก Ca จากภายนอกเซลล์

เป็นที่น่าสนใจว่าสารสกัดจากภาวะเครือข่ายสามารถกระตุ้นให้เกิดการหดตัวในสถานะที่ปราศจากแคลเซียมจากภายนอกเซลล์ได้ สันนิษฐานว่าเกิดจากการที่ภาวะเครือข่ายสามารถเหนี่ยวนำให้แหล่งเก็บแคลเซียมภายในเซลล์หรือ SR (39) ให้สามารถปล่อยแคลเซียมออกมาได้ โดยฤทธิ์ดังกล่าวของภาวะเครือข่ายจะมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้นในหนูตัดรังไข่ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากจำนวนตัวรับบนผนังของ SR ต่อสารบางชนิดในสารสกัดจากภาวะเครือข่ายที่อาจจะเพิ่มขึ้นในหนูตัดรังไข่ หรืออาจเนื่องจากความจุของ SR ในหนูตัดรังไข่มากกว่าหนูปกติ ซึ่งเป็นเพียงสมมติฐานเท่านั้น ยังต้องมีการทดลองในอนาคต อย่างไรก็ตามพบว่าสารสำคัญที่เหนี่ยวนำให้มีการหดตัวได้ในสถานะที่ปราศจากแคลเซียมจากภายนอกเซลล์น่าจะมาจาก beta-sitosterol ในสารสกัด เพราะ beta-sitosterol สามารถกระตุ้นให้เกิดการหดตัวในสถานะที่ปราศจากแคลเซียมจากภายนอกเซลล์เช่นเดียวกับสารสกัดจากภาวะเครือข่าย และนอกจากนี้สารต้านการออกฤทธิ์ของ estrogen ทั้ง fulvestrant และ tamoxifen ต่างไม่สามารถยับยั้งการออกฤทธิ์ของ beta-sitosterol จึงเป็นการพิสูจน์ให้เห็นว่าการที่สารสกัดจากภาวะเครือข่ายสามารถกระตุ้นให้เกิดการหดตัวในสถานะที่ปราศจากแคลเซียมจากภายนอกเซลล์ไม่น่าจะเกี่ยวข้องกับตัวรับบนผนังของ SR ต่อสารบางชนิดในสารสกัดจากภาวะเครือข่ายที่อาจจะเพิ่มขึ้นในหนูตัดรังไข่แต่น่าจะเกี่ยวกับความจุของ SR ในหนูตัดรังไข่ที่มากกว่าหนูปกติ

## สรุป

สารสกัดจากกวาวเครือขาวสามารถลดการตีตัวของเส้นเลือดและมดลูกทั้งชนิดที่หดตัวแบบ phasic contraction และที่หดตัวแบบ tonic contraction และผลในการลดการหดตัวขึ้นกับความเข้มข้นของสารสกัด โดยจะเริ่มออกฤทธิ์ตั้งแต่ 100 mg/100 mL เป็นต้นไป ทั้งนี้เป็นฤทธิ์ของ beta-sitosterol ซึ่งเป็นสารสำคัญที่พบในสารสกัดจากกวาวเครือขาว เป็นที่น่าสนใจว่าสารสกัดจากกวาวเครือขาวสามารถกระตุ้นให้เกิดการหดตัวของมดลูกในสภาวะที่ปราศจากแคลเซียมจากภายนอกเซลล์ เชื่อว่าเกิดจากการที่กวาวเครือขาวสามารถเหนี่ยวนำให้แหล่งเก็บแคลเซียมภายในเซลล์ ซึ่งน่าจะเป็น SR สามารถหลั่งแคลเซียมออกมาได้ สำหรับกลไกที่เกี่ยวข้องนั้น ไม่น่าจะเกี่ยวข้องกับตัวรับบนผนังของ SR แต่น่าจะเกี่ยวกับความจุของ SR ในหนูตัวครึ่งไข่ที่อาจจะใหญ่กว่าหนูปกติ

## ข้อเสนอแนะ

ในปัจจุบันยังไม่มียานวิจัยที่พิสูจน์ให้เห็นว่า SR ของหนูตัวครึ่งไข่มีลักษณะเป็นอย่างไร และมีบทบาทอย่างไรในการเก็บและหลั่งแคลเซียมของเซลล์มดลูก ดังนั้นการศึกษาดังกล่าวจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการเข้าใจสรีรวิทยาของมดลูกในสตรีวัยทอง

บรรณานุกรม

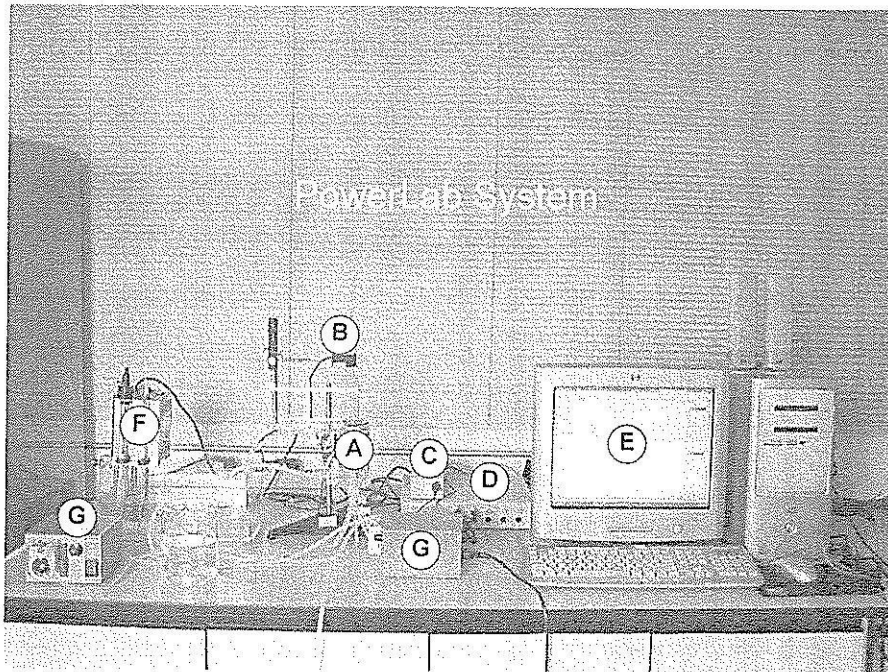
1. ยุทธนา สมิตะสิริ. ภาพรวมงานวิจัยและพัฒนาควาวเครือขาวตั้งแต่อดีต (พ.ศ. 2524) ถึงปัจจุบัน (พ.ศ. 2541) เอกสารสัมมนาวิชาการ “ควาวเครือ” กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข 2541: 31-35.
2. Knight DC, Eden JA. A review of clinical effects of phytoestrogens. *Obstetrics & Gynecology* 1996; 87(5): 897-904.
3. Harbone JB, Baxter H, eds. *Phytochemical dictionary*. London: Taylor and Francis, 1995.
4. Whiting DA. Lignans and Neolignans. *Nat Prod Rep* 1985; 2(3): 191-211.
5. Tahara S, Ibrahim RK. Prenylated isoflavonoids-an update. *Phytochemistry* 1995; 38(5): 1073-1094.
6. Dewick PM. Isoflavonoids. In: Harborne JB, ed. *The flavonoids*. London: Chapman & Hall, 1995; 117-238.
7. ควาวเครือขาว. <http://www.pharmacy.mahidol.ac.th/NANA/2004-11-19-peuraria.pdf>
8. นันทวัน บุญยะประภัศร อรุณช โขคชัยเจริญพร. สมุนไพรไม้พุ่มบ้าน (1). กรุงเทพฯ: บริษัทประชาชนจำกัด, 2542.
9. ภาวนา อัสวประภา. คู่มือการปลูกพืชสมุนไพร. กรมส่งเสริมการเกษตร, 2543.
10. Chansakaow S, Ishikawa T, Seki H, Sekine (née Yoshizawa) K, Okada M and Chaichantipyuth C. Identification of deoxymiroestrol as the actual rejuvenating principle of “Kwao Keur”, *Pueraria mirifica*. The known miroestrol may be an artifact. *J Nat Prod* 2000; 63(2): 173-175.
11. Chansakaow S, Ishikawa T, Sekine K, Okada M, Higuchi Y, Kudo M and Chaichantipyuth C. Isoflavonoids from *Pueraria mirifica* and their estrogenic activity. *Planta Med* 2000; 66(6): 572-5.
12. Ingham JL, Tahara S, Dziedzic SZ. A chemical investigation of *Pueraria mirifica*. *Z Naturforsch Ser C* 1986; 41: 403-408.
13. Ingham JL, Tahara S, Dziedzic SZ. Coumestans from the roots of *Pueraria mirifica*. *Z Naturforsch Ser C* 1988; 43(1/2): 5-10.
14. Hoyodom M. Constituents of the tuberous roots of *Pueraria mirifica*. Thesis-Master-Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand, 1971: 33p.

15. ยุพดี ลางคจันทร์ และยุทธนา สมิตะสิริ. ผลของกวาวขาวต่อการสืบพันธุ์ในหนูขาวเพศผู้. การประชุมวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 11 วันที่ 24-26 ต.ค. 2528.
16. กนกพร กวีวัฒน์ ยุทธนา สมิตะสิริ และวรรณธนา ขนนไทย. ผลของสารสกัดจากพืชสมุนไพรบางชนิดต่อการสืบพันธุ์ของหนูขาวเพศเมีย. การประชุมวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 20 วันที่ 19-21 ต.ค. 2537.
17. Smitasiri Y, et al. Postcoital antifertility effects of *Pueraria mirifica* in rats. J Sci Fac CMU 1986; 13(1): 19-28.
18. อุทัยวรรณ ระคมสุข และยุทธนา สมิตะสิริ. ผลของสารสกัดจากกวาวเครือขาวบางชนิดต่อการสืบพันธุ์ของแมลงสาบอเมริกัน. วารสารเทคโนโลยีสุรนารี 1(2); 2537: 89-95.
19. พูลศิลป์ ไวยยะโชติ กิตตินันท์ นิवासบุตร และยุทธนา สมิตะสิริ. การศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับกวาวเครือขาวในลูกสุนัข. การประชุมวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 13 วันที่ 20-22 ต.ค. 2530.
20. นิรันดร์ เมืองเดช และสมบุรณ์ อนันตลาโภชัย. ผลของกวาวเครือขาว (*Pueraria mirifica*) ปริมาณต่ำต่ออัตราการพาพันธุ์ผู้ปุ่นเพศเมีย. วารสารคณะวิทยาศาสตร์ ม.เชียงใหม่ 12(1): 2528.
21. ยุทธนา สมิตะสิริ และกนกพร กวีวัฒน์. ผลของกวาวเครือขาวต่อระบบสืบพันธุ์ของนกพิราบ. การประชุมวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 18 วันที่ 27-29 ต.ค. 2535.
22. จามรี เต็งไตรรัตน์ ฉมาภรณ์ นิवासบุตร ยุทธนา สมิตะสิริ และคณะ. ผลของกวาวขาว (*Pueraria mirifica*) ต่อยุงก้นปล่อง (*Anopheles dirus* Peyton, Harrison). การประชุมวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 16 วันที่ 25-27 ต.ค. 2533.
23. ยุทธนา สมิตะสิริ เสรี แปงจิตต์ และสมบุรณ์ อนันตลาโภชัย. การยับยั้งการให้นมในลูกหนูที่กำลังให้นมด้วยกวาวเครือขาว เปรียบเทียบกับเอสโตรเจน. วารสารคณะวิทยาศาสตร์ ม.เชียงใหม่ 16: 2532. 7-11.
24. จุรีภรณ์ ไชยเหล็ก และยุทธนา สมิตะสิริ. การศึกษากลไกของกวาวเครือขาวในการยับยั้งการให้นมในหนูที่กำลังให้นมโดยใช้โปรแลคติน. การประชุมวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 13 วันที่ 20-22 ต.ค. 2530.
25. สมบุรณ์ วิริยะ และยุทธนา สมิตะสิริ. ผลของกวาวเครือขาวปริมาณต่ำต่อลูกไก่พันธุ์เนื้อ. บทคัดย่อการประชุมวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 13 วันที่ 20-22 ต.ค. 2530.

26. สมบูรณ์ อนันตลาโภชัย ยุทธนา สมิตะสิริ และประสงค์ โรจน์เลิศจรรยา. ผลการตอบสนองของนกกระทาพันธุ์ญี่ปุ่นต่อกวาวขาวต่างปริมาณและต่อรำ. วารสารคณะวิทยาศาสตร์ ม.เชียงใหม่ 10(1): 2526: 35-46.
27. Anuntalabhochai S and Jesrichai S. Effects of high doses of a local Thai plant, White Gwow (*Pueraria mirifica*) on coturnix quail: II changes in calcium, total protein and cholesterol concentration in blood serum. J. Sci Fac CMU 13 (1) Jan-Jun: 1986.
28. วราภรณ์ พงษ์คำ และคณะ. ผลของกวาวต่อเม็ดเลือดแดงของหนูขาวเพศผู้. บทความวิชาการประชุมวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 13 วันที่ 20-22 ต.ค. 2530. 490-491.
29. ปกรณ์ ไทยานันท์ พิพิช ตระกูลบุญ สมบูรณ์ อนันตลาโภชัย และยุทธนา สมิตะสิริ. ผลของกวาวขาวต่อระบบภูมิคุ้มกันของนกกระทาเพศผู้. บทความวิชาการประชุมวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 13 วันที่ 20-22 ต.ค. 2530. ตีพิมพ์ในวารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่ 25(3): 2535.
30. อษรธา คันธเสวี ยุทธนา สมิตะสิริ สุชาติชื่นประเสริฐ และวีระ วงศ์คำ. ผลของกวาวขาวต่อเอ็นไซม์ glutamic oxalacetic transaminase และ glutamic pyruvic transaminase ในซีรัมและพยาธิสภาพของตับของหนูขาวเพศผู้. บทความวิชาการประชุมวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 13 วันที่ 20-22 ต.ค. 2530. 480-481.
31. ขนิษฐา ทองโปร่ง และยุทธนา สมิตะสิริ. การศึกษากวาวขาวที่ได้จากต่างแหล่ง: ฤทธิ์เอสโตรเจน ผลต่อพฤติกรรมการณ์ และผลการวิเคราะห์ดิน. บทความวิชาการประชุมวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 13 วันที่ 20-22 ต.ค. 2530. 480-481.
32. Clinical trail of the phytoestrogen-rich herb, *Pueraria mirifica* of tropical herbal products as a crude drug in the treatment of symptoms in menopausal women. [http://www.pueriathai.com/clinical\\_trail\\_treatment\\_of\\_s.html](http://www.pueriathai.com/clinical_trail_treatment_of_s.html).
33. คณะกรรมาธิการวิสามัญ สภาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. สรีรวิทยา. กรุงเทพฯ: บริษัท เท็กแอนด์เจอร์นัลส์ จำกัด, 2545.
34. Jones HEH, Pope GS. A method for the isolation of miroestrol from *Pueraria mirifica*. J Endocrinol 1961; 22: 303.
35. Babiychuk EB, Smith RD, Burdyga T, Babiychuk VS, Wray S. and Draeger A. Membrane cholesterol regulates smooth muscle phasic contraction. J Membr Biol. 2004; 198(2): 95-101.

36. Longbottom ER, Lukas MJM, Kupittayanant S, Badrick E, Shmygol A and Wray S. The effect of wortmannin, an inhibitor of myosin light chain kinase (MLCK) on calcium and contraction in isolated human and rat myometrium. *Pflugers Arch* 2000; 440: 315-321.
37. Kupittayanant S, Lukas MJM and Wray S. Effect of inhibiting the sarcoplasmic reticulum on spontaneous and oxytocin-induced contractions of human myometrium. *BJOG* 2002; 109: 289-296.
38. Cassidy, A. Dietary phytoestrogens-potential anti-cancer agents? British Nutrition Foundation. *Nutrition Bulletin* 1999; 24: 22-31.
39. Wray S, Kupittayanant, S, Shmygol A, Smith, RD and Burdyga T. The physiological basis of uterine contractility: a short review. *Exp Physiol* 2001; 86: 239-246.
40. Wray, S., Noble K., 2008. Sex hormones and excitation-contraction coupling in the uterus: the effects of oestrous and hormones. *J Neuroendocrinol* 2008; 20(4): 451-61.
41. Jack AM, Keegan A, Cotter MA and Cameron NE. Effects of diabetes and evening primrose oil treatment on responses of aorta, corpus cavernosum and mesenteric vasculature in rats. *Life Sci* 2002; 71(16): 1863-77.

## ภาคผนวก ก



แสดงเครื่องมือที่ใช้วัดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบมดลูก

A, Organ bath chamber

B, Transducer

C, Bridge Amp

D, PowerLab

E, Computer Set

F, Water bath chamber with temperature controller

G, Peristaltic pumps

## ภาคผนวก ข

## สารเคมีที่ใช้เตรียมสารละลาย Physiological Saline Solution

## ส่วนประกอบ

	mM		1 L
NaCl	154	9	g/L
KCl	5.6	0.42	g/L
Mg.SO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.12	0.29	g/L
HEPES	10.9	2.6	g/L
Glucose	11.7	2.1	g/L
CaCl <sub>2</sub>	2	2	g/L



### ประวัติผู้วิจัย

นางศศิรา คุปพิทยานันท์ ตำแหน่งอาจารย์ เกิดวันเสาร์ที่ 7 มีนาคม พุทธศักราช 2513 ที่อำเภอบัวใหญ่ จังหวัดนครราชสีมา สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีสัตวแพทยศาสตร์บัณฑิตเกียรตินิยม จากมหาวิทยาลัยขอนแก่นในปีพุทธศักราช 2537 จากนั้นได้รับทุนจากบริติสเคาน์ซิลและรัฐบาลไทยให้ไปศึกษาต่อระดับมหาบัณฑิตและดุษฎีบัณฑิตในสาขาสรีรวิทยา ที่มหาวิทยาลัยลิเวอร์พูล ประเทศอังกฤษ สำเร็จการศึกษาในปีพุทธศักราช 2546 ขณะกำลังศึกษา ณ สถานศึกษาดังกล่าว ได้รับทุนนักสรีรวิทยารุ่นเยาว์ (Young Physiologist) จากมหาวิทยาลัยฯ เพื่อนำเสนอผลงานวิจัย ปีละ 1,000 ปอนด์ตลอดระยะเวลาการศึกษา ปัจจุบันปฏิบัติงานที่ สาขาวิชาชีววิทยา สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี 111 ถนนมหาวิทยาลัย ตำบลสุรนารี อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา รหัสไปรษณีย์ 30000 มีประสบการณ์ในการวิจัยและผลงานทางวิชาการทางด้านสรีรวิทยาระบบสืบพันธุ์ที่ได้รับการตีพิมพ์ในช่วงปี 2543-2552 ผลงานฉบับเต็มในวารสารนานาชาติจำนวน 12 เรื่อง วารสารไทยจำนวน 3 เรื่อง และบทความย่อในวารสารระดับชาติ 5 เรื่องและวารสารระดับนานาชาติจำนวน 14 เรื่อง