



รายงานการวิจัย

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในหัวกวาวเครือแดง
(Bioactive Compounds from the Tuberos Roots of
Butea superba Roxb.)

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว



รายงานการวิจัย

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในหัวกวาวเครือแดง (Bioactive Compounds from the Tuberos Roots of *Butea superba* Roxb.)

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

ผศ.ภก.ดร. เกรียงศักดิ์ เอี่ยมเก็บ

สาขาวิชาเภสัชวิทยา

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์

ผู้ร่วมวิจัย

รศ.ดร.สันติ ศักดารัตน์

นางสาววณัทกมล นาคณรงค์

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ 2552-2554

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

สิงหาคม 2556

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยเรื่องสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในหัวกวาวเครือแดงในครั้งนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ 2552-2554 ทำให้งานวิจัยในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี และขอขอบคุณ คุณสุภารัตน์ แทนพลกรัง ที่ช่วยในการสกัดและพิสูจน์เอกลักษณ์สารทำให้งานวิจัยในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี และคุณกิตติพงษ์ สิริชัยเวชกุล ที่ช่วยทั้งการทำวิจัยและวิเคราะห์ผลงานวิจัยในครั้งนี้ ด้วยความทุ่มเท กลุ่มงานพยาธิวิทยาภาค โรงพยาบาลมหาราชนครราชสีมา ที่อำนวยความสะดวกในการเรื่องของพยาธิของเนื้อเยื่อและตัวอสุจิ คุณจรรยา วงศ์วิวัฒนาและคุณ Yanling Hua ที่ช่วยในการพิสูจน์เอกลักษณ์สารสกัด ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่อนุเคราะห์ ทั้งอุปกรณ์และสถานที่ในการทำวิจัยจนประสบผลสำเร็จ



บทคัดย่อภาษาไทย

กวางเครือแดงได้รับการอ้างว่าสามารถใช้ในผู้ชายไทยเพื่อการกลับสู่ภาวะหนุ่มในการเพิ่มสมรรถภาพทางเพศ ป้องกันมะเร็งต่อมลูกหมากและต่อมลูกหมากโต เพราะมีสารแอนโดรเจนจากพืช ในความเป็นจริง

ไม่สามารถที่จะรักษาการแข็งตัวของอวัยวะเพศชายในการมีกิจกรรมทางเพศ ที่มีสาเหตุมาจากสภาพร่างกายและจิตใจหลายประการ ยาในกลุ่มยับยั้งฟิลาอี-5, ซิลเดนาฟิล, ได้รับการรับรองสำหรับการรักษา

นอกจากนั้นยังพบว่า ยานี้สามารถเพิ่มระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน และกระตุ้นเลดิกเซลล์ ส่งผลให้กระตุ้นกระบวนการสร้างตัวอสุจิ อย่างไรก็ตามรายงานผลข้างเคียงที่พบบ่อย ได้แก่ อาการปวดศีรษะ หน้าแดง อาหารไม่ย่อย คัดจมูก และรบกวนการมองเห็นภาพสี ดังนั้นจุดประสงค์ของการศึกษารั้งนี้ เพื่อศึกษาผลของสารสกัดจากรากของกวางเครือแดง เปรียบเทียบกับซิลเดนาฟิลต่อระบบสืบพันธุ์ของหนูไม่ซ์เพศผู้ จากนั้นผงแห้งของรากพืชกวางเครือแดงจึงถูกสกัดด้วยเอทานอล และถูกแยกสารสกัดออกจากกัน โดยซิลิกาเจลคอลัมน์ด้วยเทคนิค

โครงสร้างทางเคมีของสารที่แยกออกมานั้นพบว่าเป็นสาร 5,7-ไดไฮดรอกซี-4'เมท็อกซีไอโซฟลาโวนหรือไบโอซานินเอ, 5,7,4'-ไตรไฮดรอกซีไอโซฟลาโวนหรือเจนิสติน และสติมาสเตอร์ล-3-โอเบตา-ดี-กลูโคไพราโนไซด์

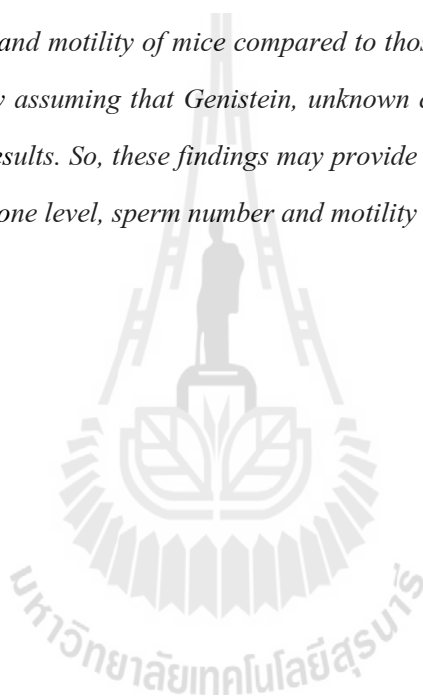
ป้อนหนูไม่ซ์เพศผู้ โดยให้ทางปาก ขนาดที่ให้ สารสกัดหยาบ ซิลเดนาฟิล แพลกซันบี แพลกซันซี และแพลกซันอี ได้แก่ 1,250, 10, 40, 50 และ 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อน้ำหนักตัวต่อวันตามลำดับ ส่วนประกอบของสารสกัดเหล่านี้พบว่าเป็นเจนิสตินและไบโอซานินเอ ทุกกลุ่มได้รับการทดลองเป็นเวลา 14 วันติดต่อกัน เลือดและอสุจิได้ถูกเก็บเพื่อการวิเคราะห์ก่อนและหลังการทดลองในทุกกลุ่ม นอกจากนี้เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ได้ทำการเก็บส่วนต่างๆ ของอวัยวะสืบพันธุ์และอวัยวะที่สำคัญเพื่อการเปรียบเทียบ การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวสัมพัทธ์ได้ถูกนำมาวิเคราะห์ด้วย ผลการศึกษาพบว่าน้ำหนักตัวสัมพัทธ์ของหนูในกลุ่มที่ได้รับสารทั้งหมด ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่น้ำหนักม้ามของหนูในกลุ่มที่ได้รับแพลกซันบี ซีและอี จะมีน้ำหนักมากกว่ากลุ่มควบคุม ในทางตรงข้ามกับน้ำหนักของกระเพาะอาหารในกลุ่มแพลกซันอี จะมีน้ำหนักเบาว่าเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตามน้ำหนักอวัยวะในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดหยาบและกลุ่มได้รับซิลเดนาฟิล ตลอดจนน้ำหนักของเอพิไดไมส ของกลุ่มที่ได้รับแพลกซันอีและซี มีน้ำหนักมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยิ่งไปกว่านั้นหนูภายหลังการทดสอบทุกกลุ่ม มีระดับของเทสโทสเตอโรนสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับก่อนการให้สาร ยกเว้นกลุ่มควบคุม นอกจากนี้ระดับของเทสโทสเตอโรน ในกลุ่มที่ได้รับแพลกซันซีและอี ยังสูงกว่ากลุ่มอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญ ยิ่งไปกว่านั้นในทุกกลุ่มภายหลังการให้สารทดสอบ พบว่ามีจำนวนตัวอสุจิและการเคลื่อนที่ของอสุจิสูงขึ้นกว่าก่อนได้รับสาร



บทคัดย่อภาษาอังกฤษ

Butea superba Roxb. has been claimed to use in Thai men for rejuvenation, improve sexual function, prevent prostate cancer and prostatic hyperplasia because it contains Phytoandrogen. In fact, Erectile dysfunction (ED) is the inability to maintain penile erection for the successful performance of sexual activity that has many physical and psychological causes. The PDE-5 inhibitors, sildenafil, is approved for the treatment of ED. In addition, sildenafil has increased testosterone level and stimulated Leydig cells results in increase spermatogenesis. However, the most frequent adverse effects reported for sildenafil is headache, flushing, dyspepsia, nasal congestion and disturbances in color vision. Hence, the objective of this study was to investigate the effects of the tuberous root of *Butea superba* Roxb extract compared with sildenafil on the reproductive system of male mice. Then, the dried powder of the tuberous roots of *Butea superba* Roxb. was extracted with ethanol, separated by silica gel column chromatography and separation process was performed. The chemical names of the isolated compounds were identified by High performance Liquid Chromatography (HPLC) and NMR compared with standard compounds. The chemical constituents were identified as isoflavonoids 3,7-dihydroxy-4'-methoxyisoflavone (biochanin A) and 3,7,4'-trihydroxyisoflavone (genistein). The other was stigmasteryl-3-O- β -D-glucopyranoside. Then, these compounds were orally administered to male mice. The crude extract, sildenafil, fraction B, C and D were fed at the dose of 1,250, 10, 40, 50 and 150 mg /kg BW/day respectively. The majority of these extract compounds such as Genistein and Biochanin A were elucidated. All groups were treated for 14 consecutive days. Blood and sperm were collected for analysis before (pre-) and after (post-) treatment in all groups. Also, at the end of the experiments, the selected reproductive and vital organs were collected for comparative measurement. A relative change of body weight was also analyzed. The results showed that the relative body weights in all treated groups were not significant difference from the control. Whereas, the spleen weight of fraction B, C and E treated groups were significantly heavier, stomach weight of fraction E group was lighter than those of control ($p < 0.01$). However, the testes weight of crude extract and sildenafil treated groups, the epididymis weight of fraction E and C treated group, were significantly heavier than those of control ($p < 0.01$). In addition, the results exhibited that there were significant increase in testosterone level of all post-treated groups compared to pre-treatment except for the control ($p < 0.01$). In addition, the testosterone level of fraction C and E treated groups were significantly higher than those of other groups ($p < 0.01$). Apart from this, the results exhibited that there were significant increase in sperm number and motility of all post-treated groups compared to pre-

treatment except for control ($p < 0.05$). Also, the sperm number of all treated groups were significantly higher than control group ($p < 0.01$) as well as the fraction C showed the highest. These results were confirmed by sperm morphology. Apart from this, the highest motility level was found in the fraction C and E compared to others including sildenafil ($p < 0.01$). These findings provide evidence that Genistein, unknown compound 1 (Un1) and Biochanin A may play an important role in increase testosterone level, sperm number and motility. The blood analysis showed that the cholesterol level of fraction C, E and sildenafil were significantly higher than those of control ($p < 0.05$). Moreover, the hemoglobin level of fraction E treated group was significantly higher than those of control and crude extract groups ($p < 0.05$). These findings provide evidence that *Butea superba* extract in fraction C and E can increase cholesterol, testosterone level, sperm number and motility of mice compared to those of sildenafil and control groups. These results can be explained by assuming that Genistein, unknown compound 1 and Biochanin A may play the important role of these results. So, these findings may provide evidence that these BS extract may be developed to increase testosterone level, sperm number and motility or infertility treatment in men after safety level is investigated.

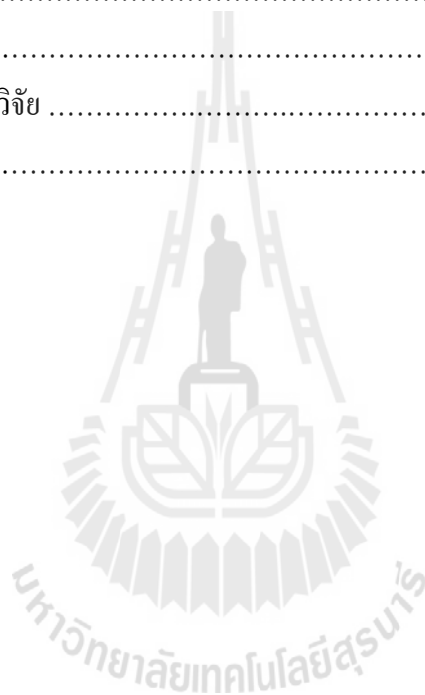


สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญภาพ	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	
ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	25
ขอบเขตของการวิจัย	25
ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย	26
บทที่ 2 วิธีดำเนินการวิจัย	
แหล่งที่มาของวัตถุดิบพืช.....	27
สารเคมี.....	27
เครื่องมือ.....	28
การสกัด.....	28
การแยก.....	28
ลักษณะจำเพาะของสารที่แยกออกมา.....	29
การหาปริมาณสารด้วย HPLC.....	31
การทดสอบฤทธิ์ของสาร.....	31
บทที่ 3 ผลการวิจัยอภิปรายผลการวิจัย	
คุณสมบัติและโครงสร้างของสาร 1	35
คุณสมบัติและโครงสร้างของสาร 2.....	39
คุณสมบัติและโครงสร้างของสาร 3.....	43
เส้นโค้งเปรียบเทียบของไอโซฟลาโวนอยด์มาตรฐาน.....	49
การวิเคราะห์หาการเคลื่อนที่ของอสุจิและปริมาณของอสุจิ.....	53
โลหิตวิทยาและสารเคมีในเลือด.....	58
จุลกายวิภาคศาสตร์ของอวัยวะ.....	65

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
บทที่ 3 ผลการวิจัยอภิปรายผลการวิจัย (ต่อ)	
ระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน.....	66
น้ำหนักตัว.....	68
อวัยวะสืบพันธุ์และอวัยวะอื่นๆที่สำคัญ.....	69
บทที่ 4 สรุปผลการศึกษา.....	86
บรรณานุกรม	90
ภาคผนวก	93
Output ที่ได้จากโครงการวิจัย	94
ประวัติผู้วิจัย	95



สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
ตาราง 1.1 โครงสร้างทางเคมีของกลุ่ม Flavonoid.....	10
ตาราง 1.2 สารประกอบทางเคมีของพืชในวงศ์ Papilionaceae.....	13
ตาราง 3.1 IR Absorption Band Assignment of Compound 1.....	36
ตาราง 3.2 The ¹ H-NMR Chemical Shifts of Compound 1 [#] and Biochanin A [*]	37
ตาราง 3.3 The ¹³ C-NMR Chemical Shifts of Compound 1 [#] and Biochanin A [*]	38
ตาราง 3.4 IR Absorption Band Assignment of Compound 2.....	39
ตาราง 3.5 The ¹ H-NMR Chemical Shifts of Compound 2 [#] and Genistein [*]	41
ตาราง 3.6 The ¹³ C-NMR Chemical Shifts of Compound 2 [#] and Genistein [*]	42
ตาราง 3.7 IR Absorption Band Assignment of Compound 3.....	44
ตาราง 3.8 The ¹ H-NMR Chemical Shifts of Compound 3 [#] and Stigmasteryl-3- <i>O</i> -β-D-glucopyranoside [*] .3.....	45
ตาราง 3.9 The ¹³ C-NMR Chemical Shifts of Compound 3 and Stigmasteryl-3- <i>O</i> -β-D-glucopyranoside.....	47
ตาราง 3.10 ผลทางโลหิตวิทยาและสารเคมีในเลือดของหนู จากสารสกัดจากรากของ <i>Butea superba</i>	59
ตาราง 3.11 ผลของสารสกัดจากรากของ <i>Butea superba</i> และ Sildenafil ต่อน้ำหนักของอวัยวะต่างๆของระบบ สืบพันธุ์(ต่อน้ำหนักตัว 100 กรัม)ในหนูทดลอง.....	70
ตาราง 3.12 ผลของสารสกัดจากรากของ <i>Butea superba</i> และ Sildenafil ต่อน้ำหนักของอวัยวะที่สำคัญ (ต่อน้ำหนักตัว 100 กรัม) ของหนูทดลอง.....	75

สารบัญภาพ

รูปภาพ	หน้า
รูปภาพ 1.1 ภาพประกอบทางสัณฐานวิทยาของ <i>Butea superba</i> Roxb.....	5
รูปภาพ 1.2 โครงสร้างทางเคมีของ Sildenafil และภาพผลิตภัณฑ์ยา Viagra [®]	23
รูปภาพ 1.3 กลไกการแข็งตัวของอวัยวะเพศชาย.....	23
รูปภาพ 1.4 ผลของการยับยั้ง phosphodiesterase ต่อระดับ cGMP ในกล้ามเนื้อ corpus cavernosum.....	24
รูปภาพ 2.1 Makler counting chamber.....	33
รูปภาพ 3.1 โครงสร้างของสาร 1.....	35
รูปภาพ 3.2 โครงสร้างของสารประกอบ 2.....	39
รูปภาพ 3.3 โครงสร้างของสาร 3.....	43
รูปภาพ 3.4 แสดงผลจากการวิเคราะห์ ฟลาโวนอยด์ซึ่งแยกจากราก ของ <i>Butea superba</i> แสดงกราฟมาตรฐานของ genistein และ biochanin โดยวิธี HPLC.....	49
รูปภาพ 3.5 แสดงผลจากการวิเคราะห์ในสารสกัดหยาบ ซึ่งแยก ฟลาโวนอยด์จากรากของ <i>Butea superba</i> โดยวิธี HPLC.....	50
รูปภาพ 3.6 แสดงผลจากการวิเคราะห์ในแฟลคชัน B ซึ่งแยก ฟลาโวนอยด์จากรากของ <i>Butea superba</i> โดยวิธี HPLC.....	50
รูปภาพ 3.7 แสดงผลจากการวิเคราะห์ในแฟลคชัน C ซึ่งแยก ฟลาโวนอยด์จากรากของ <i>Butea superba</i> โดยวิธี HPLC.....	51
รูปภาพ 3.8 แสดงผลจากการวิเคราะห์ในแฟลคชัน E ซึ่งแยก ฟลาโวนอยด์จากรากของ <i>Butea superba</i> โดยวิธี HPLC.....	51
รูปภาพ 3.9 โครงสร้างสารประกอบที่แยกได้จากรากของ <i>Butea superba</i>	52
รูปภาพ 3.10 ผลของสารสกัดจากรากของ <i>Butea superba</i> และ Sildenafil ต่อร้อยละการเคลื่อนที่ของอสุจิของหนูทดลอง.....	54
รูปภาพ 3.11 ผลของสารสกัดจากรากของ <i>Butea superba</i> และ Sildenafil ต่อจำนวนอสุจิ (x100,000 n / ml) ของหนูทดลอง.....	56
รูปภาพ 3.12 ภาพถ่ายโครงสร้างในระดับจุลภาค ลักษณะทางสัณฐานวิทยาตัวอสุจิของหนู.....	57
รูปภาพ 3.13 ผลของสารสกัดจากรากของ <i>Butea superba</i> และ Sildenafil ต่อคอเลสเตอรอลในหนูทดลอง.....	61

สารบัญญภาพ (ต่อ)

รูปภาพ	หน้า
รูปภาพ 3.14 ผลของสารสกัดจากรากของ <i>Butea superba</i> และ Sildenafil ต่อฮีโมโกลบินในหนูทดลอง.....	62
รูปภาพ 3.15 ผลของสารสกัดจากรากของ <i>Butea superba</i> และ Sildenafil ต่อปริมาณเกล็ดเลือด(MPV)ในหนูทดลอง.....	63
รูปภาพ 3.16 ผลของสารสกัดจากรากของ <i>Butea superba</i> และ Sildenafil ต่อฮีมาโตคริตในหนูทดลอง.....	64
รูปภาพ 3.17 ภาพถ่ายโครงสร้างในระดับจุลภาคของหลอดอัมตะของหนู.....	65
รูปภาพ 3.18 ผลของสารสกัดจากรากของ <i>Butea superba</i> และ Sildenafil ต่อระดับเทสโทสเตอโรนในหนูทดลอง.....	67
รูปภาพ 3.19 ผลของสารสกัดจากรากของ <i>Butea superba</i> และ Sildenafil ต่อน้ำหนักหนูทดลอง.....	68
รูปภาพ 3.20 ผลของสารสกัดจากรากของ <i>Butea superba</i> และ Sildenafil ต่อน้ำหนักของอัมตะ (ต่อน้ำหนักตัว 100 กรัม) ของหนูทดลอง.....	71
รูปภาพ 3.21 ผลของสารสกัดจากรากของ <i>Butea superba</i> และ Sildenafil ต่อน้ำหนักของหลอดเก็บอสุจิ (ต่อน้ำหนักตัว 100 กรัม) ของหนูทดลอง.....	72
รูปภาพ 3.22 ผลของสารสกัดจากรากของ <i>Butea superba</i> และ Sildenafil ต่อน้ำหนักของต่อมสร้างน้ำเลี้ยงอสุจิ (ต่อน้ำหนักตัว 100 กรัม) ของหนูทดลอง.....	73
รูปภาพ 3.23 ผลของสารสกัดจากรากของ <i>Butea superba</i> และ Sildenafil ต่อน้ำหนักของต่อมลูกหมาก (ต่อน้ำหนักตัว 100 กรัม) ของหนูทดลอง.....	74
รูปภาพ 3.24 สันฐานวิทยาของอวัยวะหลักในร่างกายของหนูที่ ได้รับสารสกัดหยาบ (Cr) ของ <i>Butea superba</i>	76
รูปภาพ 3.25 สันฐานวิทยาของอวัยวะหลักในร่างกายของหนูที่ได้รับSildenafil...	77
รูปภาพ 3.26 สันฐานวิทยาของอวัยวะหลักในร่างกายของหนู ที่ได้รับสารแฟลกซ์ัน B (FrB).....	78

สารบัญภาพ (ต่อ)

รูปภาพ	หน้า
รูปภาพ 3.27 สันฐานวิทยาของอวัยวะหลักในร่างกายของหนู ที่ได้รับสารแฟลกซัน C (FrC)	79
รูปภาพ 3.28 สันฐานวิทยาของอวัยวะหลักในร่างกายของหนู ที่ได้รับสารแฟลกซัน E (FrE)	80
รูปภาพ 3.29 สันฐานวิทยาของอวัยวะสืบพันธุ์หลักของหนู ที่ได้รับสารสกัดหยาบ (Cru) ของ <i>Butea superba</i>	81
รูปภาพ 3.30 สันฐานวิทยาของอวัยวะสืบพันธุ์หลักของหนู ที่ได้รับ Sildenafil.....	82
รูปภาพ 3.31 สันฐานวิทยาของอวัยวะสืบพันธุ์หลักของหนู ที่ได้รับสารแฟลกซัน B (FrB)	83
รูปภาพ 3.32 สันฐานวิทยาของอวัยวะสืบพันธุ์หลักของหนู ที่ได้รับสารแฟลกซัน C (FrC)	84
รูปภาพ 3.33 สันฐานวิทยาของอวัยวะสืบพันธุ์หลักของหนู ที่ได้รับสารแฟลกซัน E (FrE)	85

บทที่ 1

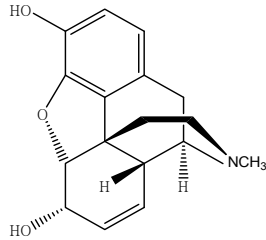
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย

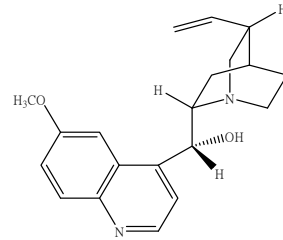
พืชสมุนไพรนั้นได้มีการใช้ในประเทศไทยตั้งแต่สมัยสุโขทัย (ศตวรรษที่ 14) ต่อเนื่องไปถึงการใช้สูตรยาแผนโบราณในช่วงสมัยอยุธยา ยาแบบดั้งเดิมได้รับความนิยมอยู่ในราชอาณาจักรไปทั่วกรุงศรีอยุธยา ในสมัยรัชกาลที่ 3 (ประมาณ 200 ปีก่อน) ได้มีการรวบรวมสูตรยาแผนโบราณเพื่อใช้รักษาโรคและขนาดยาแผนโบราณตามวรรณกรรม, บทกวีและคำจารึกที่อยู่บนแผ่นหินบนผนังของวัด (วัดพระเชตุพน วิมลมังคลารามและวัด โอรสาราม) ในช่วงปี ค.ศ. 1895-1900 พระบาทสมเด็จพระจุลจอมเกล้าหาราช ได้ให้มีการเก็บรวบรวมความรู้เกี่ยวกับยาแผนโบราณจากแพทย์แผนโบราณ และได้มีการพิมพ์และจัดจำหน่ายเป็นครั้งแรก โดยใช้ชื่อว่า "ตำราแพทยศาสตร์สงเคราะห์" โดยการใช้ยาสมุนไพรนั้นได้มีการใช้อย่างแพร่หลายแต่มาตรฐานและการควบคุมคุณภาพของการเตรียมเหล่านั้นนั้นยังขาดซึ่งองค์ความรู้ ดังนั้นเภสัชกรไทยและนักวิทยาศาสตร์จึงได้ตระหนักถึงปัญหาซึ่งควรได้รับการแก้ไขเพื่อยกระดับคุณภาพของยาสมุนไพรและผลิตภัณฑ์สมุนไพรสำเร็จรูป (Dechatiwongsena Ayudhaya, 1997)

ยาสมุนไพรนั้นได้ถูกนำมาใช้เป็นพันๆปีทั้งในประเทศจีน, ไทย, ญี่ปุ่น ฯลฯ โดยพืชสมุนไพรที่ใช้ นั้นได้นำมาใช้กันอย่างกว้างขวางในการรักษาโรคซึ่งเรียกว่ายาสมุนไพร บางส่วนจะถูกนำมาใช้เป็นสารปรุงแต่งรส กลิ่น สีและเครื่องสำอาง องค์การอนามัยโลก (WHO) ได้ประมาณไว้ว่า 80% ของคนที่อาศัยอยู่ในโลกส่วนใหญ่ใช้นั้นใช้ยาสมุนไพรแผนโบราณสำหรับการดูแลสุขภาพ (Farnsworth, Akerele, Bingel, Soejarto, Guo, 1985) สารเคมีกว่า 100 ชนิดที่ได้มาจากพืชที่แตกต่างกันนั้นถือเป็นยาที่มีความสำคัญอย่างมากในปัจจุบันซึ่งมีการใช้กันอย่างแพร่หลายๆประเทศ ประมาณ 75% ของสารสำคัญทางยาที่ถูกค้นพบนั้นเป็นผลโดยตรงมาจากการศึกษาสารเคมีที่มุ่งเน้นไปที่การแยกของสารจากพืชใช้ในการแพทย์พื้นบ้าน (Gad, 2005)

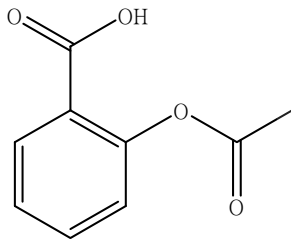
มีการรายงานครั้งแรกที่ใ้รากของพืชเป็นยาพื้นบ้าน (Cragg, Newman และ Snader, 1997) ปัจจุบัน บางส่วนของพืชเหล่านี้ยังคงใช้เป็นยาสำหรับการรักษาของโรคตั้งแต่อาการไอและหวัดติดเชื้อจนถึงการติดเชื้อปรสิตและการอักเสบ (Newman, Cragg และ Snader, 2000) ตัวอย่างยาที่มาจากพืช เช่นมอร์ฟีน นั้น ค้นพบเป็นครั้งแรกจากฝิ่น (*Papaver somniferum*) ในปี ค.ศ. 1816 (Cragg และ Newman, 2001), ยาควินิน



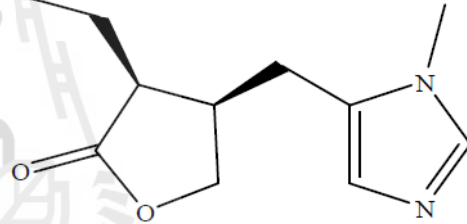
Morphine



Quinine

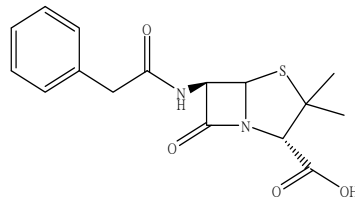


Aspirin

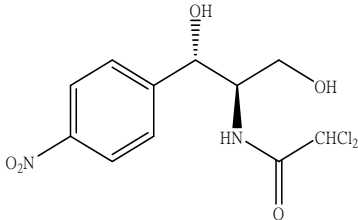


Pilocarpine

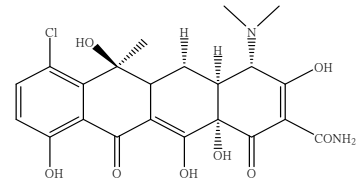
มากไปกว่านั้นในงานวิจัยผลิตภัณฑ์ธรรมชาติมีแนวโน้มที่จะใช้เทคนิคการคัดกรองเพื่อตรวจสอบฤทธิ์ทางชีวภาพที่น่าสนใจ (Colegate และ Molyneux, 1993) ในปี ค.ศ. 1928 เฟลมมิงได้ค้นพบยาปฏิชีวนะ (5) ที่มีการรักษาที่มีประสิทธิภาพต้านเชื้อแบคทีเรียจาก *Penicillium notatum* ซึ่งเป็นแนวทางวิธีการใหม่สำหรับนักวิจัยในการค้นหายาปฏิชีวนะ ผลลัพธ์ของการวิจัยยาปฏิชีวนะนี้มีตัวอย่าง เช่น chloramphenicol, Chlortetracyclin และ Erythromycin ซึ่งยาเหล่านี้ก็ยังคงใช้ในปัจจุบัน (Gad, 2005)



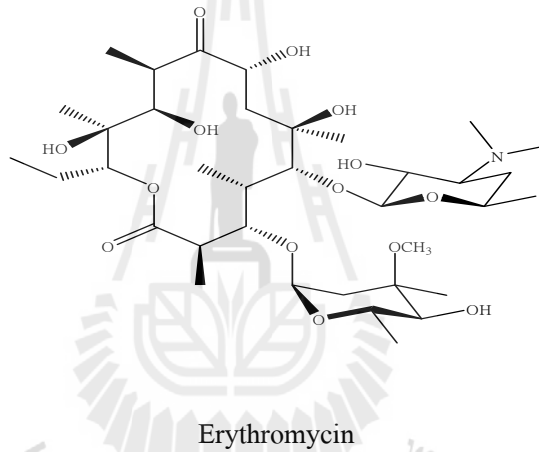
Penicillin



Chloramphenicol



Chlortetracycline



Erythromycin

1.2 แนวคิดและการควบคุมคุณภาพของพืชสมุนไพร

แม้ยาสมัยใหม่จะมีประสิทธิภาพที่ดีแต่ยาสมุนไพรก็ยังคงมีการใช้กันอย่างแพร่หลายและมีความสำคัญมากขึ้นเพราะมีโรคที่ยังไม่มีวิธีการรักษา เช่น โรคเอดส์และโรคเรื้อรังบางชนิด เป็นที่ทราบกันดีว่าสมุนไพรที่จะนำมาใช้เป็นยาต่าง ๆ นั้น ควรมีคุณภาพในการออกฤทธิ์รักษาโรคและมีความสะอาด พืชสมุนไพรบางชนิดนั้นเป็นพืชสมุนไพรชนิดเดียวกัน แต่ได้มาจากแหล่งกำเนิดที่แตกต่างกัน ดังนั้นอาจได้ผลการรักษาที่แตกต่างกันและอาจนำไปสู่ความเป็นพิษแปรผันตามธรรมชาติของสมุนไพรนั้นๆ นอกจากนี้ยาสมุนไพรเหล่านี้ อาจจะมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ซึ่งอาจก่อให้เกิดการติดเชื้อต่างๆ ให้กับผู้บริโภค เพื่อลดความเสี่ยงและอันตรายที่เป็นไปได้ดังกล่าวข้างต้นจึงต้องมีการกำหนดมาตรฐานและควบคุมคุณภาพยา

1.2.1 ปัจจัยที่สำคัญของการควบคุมคุณภาพ

มีปัจจัยสำคัญหลายประการที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพและความปลอดภัยของวัสดุพืชสมุนไพร (Dechatiwongse, Ayutthaya, 1997 และ Chavalittumrong 2000) ปัญหาหนึ่งที่พบคือชื่อของพืชเพราะพืชบางชนิดมีชื่อท้องถิ่นเหมือนกัน แต่มีต้นกำเนิดพฤกษศาสตร์ที่แตกต่างกัน ซึ่งถ้าใช้พืชที่ผิดชนิดก็อาจจะทำให้เกิดอาการไม่พึงประสงค์และอาจเป็นพิษได้ ส่วนที่ใช้ของพืชที่แตกต่างกันโดยทั่วไปนั้นจะมีส่วนประกอบของสารที่แตกต่างกัน อายุเวลาการเก็บเกี่ยวที่เหมาะสมก็เป็นสิ่งสำคัญที่จะทำให้ได้ผลการรักษาที่ดี การจัดเตรียมและการเก็บรักษาที่เหมาะสม กระบวนการของการทำความสะอาดการอบแห้ง และการเก็บรักษาควรจะมีการป้องกันการปนเปื้อนและการเสื่อมสภาพของวัตถุดิบพืช ถึงแม้ว่าเราจะทราบชนิดพืชที่ถูกต้อง ใช้เวลาเก็บเกี่ยวที่เหมาะสมและมีกระบวนการที่เหมาะสมในการเตรียมและการจัดเก็บแต่เราก็ยังไม่สามารถสรุปได้ว่าวัตถุดิบที่ได้นั้นมีคุณภาพสูงจนสามารถรับได้ องค์ประกอบทางเคมีของพืชมักจะได้รับผลกระทบจากปัจจัยภายนอก เช่น สภาพภูมิอากาศ คุณสมบัติทางกายภาพของดินน้ำและปุ๋ย ดังนั้นจึงมีความจำเป็นในการตั้งค่าเกณฑ์ทางวิทยาศาสตร์สำหรับมาตรฐานและการควบคุมคุณภาพของยาสมุนไพรเพื่อให้มั่นใจว่าผู้บริโภคได้รับยาที่มีคุณภาพสูง

1.3 กวาวเครือแดง

Butea superba หรือ "กวาวเครือแดง" เป็นพืชสมุนไพรไทยแผนโบราณที่ถูกนำมาใช้ในประเทศไทยเป็นระยะเวลาช้านาน กวาวเครือแดงนั้นช่วยในการเสริมสร้างสุขภาพของผู้ใช้ การใช้สมุนไพรจากพืชชนิดนี้นั้นเชื่อว่าจะให้ความแข็งแรง ให้พลังงานและฟื้นฟูสมรรถภาพทางเพศหรือการป้องกันการหย่อนสมรรถภาพทางเพศ (Suntara, 1931) จากการใช้งานตามการแพทย์แผนโบราณนั้นเชื่อว่าจะช่วยให้ผู้สูงอายุที่มีพลังเหมือนกลับไปเป็นวัยรุ่นอีกครั้ง และกระตุ้นให้เกิดความต้องการทางเพศและใช้สำหรับการรักษาการเสื่อมสภาพของเพศชาย หลายคนเชื่อว่ามันเป็นหนึ่งในสมุนไพรมหัศจรรย์ (Sutjit, 2003) เพราะสารออกฤทธิ์นั้นน่าสนใจแต่ในความเป็นจริงนั้นข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับสารเคมีที่ได้จากพืชนั้นยังมีอยู่น้อยมาก

1.3.1 คุณสมบัติของ กวาวเครือแดง

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Butea superba*

วงศ์ : Leguminosae

อนุวงศ์ : Papilionaceae

ชื่อสามัญ : Kwao kreu (Phayub), Jan-Kwao (Isaan), Ton-Jom-Thong(Chumporn), Thong-Kwao (Thai), Pho-Ta Ku (Karen-Kanchanaburi), Pho-Mue (Karen-Mae Hong Son)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์: *Butea superba* นั้นมีลักษณะต้นสูง 5-10 เมตร มีใบขนาดใหญ่ ลำต้นมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 4-10 ซม. , เปลือกมีสีน้ำตาลเข้ม กิ่งไม้มีลักษณะเป็น 1 กิ่งมีใบ 3 ใบและดอกเป็นสีส้มสีเหลืองกว้างประมาณ 4-5 เซนติเมตรเมื่อบานเต็มที่ ฝักมีลักษณะแบนยาวและมีความยาวประมาณ 10-15 เซนติเมตร เมล็ดมีขนาดใหญ่มีสีน้ำตาลอ่อน รากนั้นจะถูกฝังอยู่ใต้พื้นดินคล้ายรากหัวของมันเทศ รากพืชชนิดนี้มีความยาว 30-50 เซนติเมตร ซึ่งหากมีการตัดรากพืชจะมีน้ำเลี้ยงสีแดงออกมา (เต็มสมิตินันท์, 2544) ลักษณะของพืชนั้นแสดงในรูปที่ 1.1

นิเวศวิทยาและการกระจายตัว : มักจะถูกพบส่วนใหญ่ในป่าในภาคเหนือ, ภาคกลาง, ภาคตะวันตกและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย ซึ่งพบในแหล่งที่อยู่อาศัยเดียวกับกวาวเครือขาวและยังสามารถพบได้ในบริเวณภูเขา ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดและราก



รูปที่ 1.1 ภาพประกอบทางสัณฐานวิทยาของ *Butea superba* Roxb.

1.3.2 การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

กวาวเครือแดงนั้นสามารถช่วยรักษาความผิดปกติของอวัยวะเพศชายได้ โดยมีรายงานว่าสามารถเพิ่มคะแนนจากการประเมินผลจากแบบสอบถามอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งพบว่า 82.4% ของผู้ป่วยนั้นแสดงให้เห็นอาการที่ดีขึ้นอย่างเห็นได้ชัด ผลทางโลหิตวิทยาและการวิเคราะห์สารเคมีในเลือดนั้นพบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงที่เห็นได้ชัด ซึ่งแสดงผลให้เห็นว่าพืชนั้นสามารถเพิ่มสมรรถภาพทางเพศในผู้ป่วยที่มีการทำงานที่ผิดปกติของอวัยวะเพศชายและไม่เกิดผลข้างเคียงที่ทำให้เกิดพิษ (Cherdshewasart และ Nimsakul, 2003)

ความแตกต่างของการออกฤทธิ์ของกวาวเครือขาว, กวาวเครือแดงและกวาวเครือดำนั้นพบว่า สารสกัดจากพืชในกลุ่มกวาวเครือนั้นมีผลต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ MCF-7 ซึ่งถูกประเมินหลังจากเลี้ยงเซลล์ 4 วัน ผลลัพธ์นั้นแสดงให้เห็นว่ากวาวเครือขาวนั้นแสดงให้เห็นผลกระตุ้นเอสโตรเจนบนเซลล์ MCF-7 ที่เจริญเติบโตเต็มที่และยับยั้งเอสโตรเจน 2 ที่ความเข้มข้นสูง ส่วนกวาวเครือแดงและกวาวเครือดำนั้นยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ MCF-7 ซึ่งสัมพันธ์กับกลไกการยับยั้งเอสโตรเจนหรืออาจเกิดจากพิษต่อเซลล์ของตัวเอง (Cherdshewasart et al., 2004) นอกจากนี้ผลของกวาวเครือแดงในหนูเพศผู้พบว่าทำให้น้ำหนักตัวของหนูทุกตัวเพิ่มขึ้นและไม่มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายวิภาคและเนื้อเยื่อของหัวใจ, ไต และต่อมหมวกไตเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (Manasatean, 2001)

ฤทธิ์ของกวาวเครือแดง ที่มีต่อพฤติกรรมการสืบพันธุ์และการเจริญเติบโตในหนูเพศผู้นั้นแสดงให้เห็นว่าน้ำหนักของหนูในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากกวาวเครือแดง 0.25 มก. / มล. / ครั้ง / วัน นั้นลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ในขณะที่น้ำหนักและจำนวนอสุจิของกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากกวาวเครือแดง 0.5 และ 5 มก. / มล. / ครั้ง / วัน เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (Pinmongkongul, 2001) นอกจากนี้ผลระยะยาวของกวาวเครือแดงต่อความสัมพันธ์ระหว่างการเคลื่อนไหวและความเข้มข้นของอสุจิในหนูกับพยาธิสภาพของอวัยวะได้มีการทดลอง ซึ่งพบว่าความเข้มข้นของอสุจิเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญและช่วยยืดระยะเวลาการเคลื่อนที่ของอสุจิให้นานขึ้น โดยอสุจิไม่มีความผิดปกติและไม่เกิดพยาธิสภาพที่อวัยวะ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการใช้กวาวเครือแดงเป็นเวลานานนั้นสามารถเพิ่มจำนวนอสุจิและทำให้อสุจินั้นเคลื่อนที่เป็นเวลานานขึ้นในหลอดทดลองในขณะที่ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของตัวอสุจิ ดังนั้นการใช้สารสกัดแอลกอฮอล์ของกวาวเครือแดงอาจจะมีประโยชน์ในการช่วยการปฏิสนธิ (Tocharus et al., 2005)

นอกจากนี้การทดลองในการแยกสาร การหาโครงสร้างองค์ประกอบทางเคมีของรากสะสมอาหารของกวาวเครือแดงและการทดสอบความเป็นพิษ นั้นพบว่าสารเคมีที่พบคือ carpin, medicarpin และมีสารกลุ่ม isoflavone 4 ชนิด คือ formononetin, 7,4-dimethoxyisoflavone, prunetin และ 7-hydroxy,4-6-dimethoxyisoflavone ผลของสาร formononetin และ prunetin นั้นพบว่าเป็นพิษต่อเซลล์ KB ซึ่งมีค่า IC50 เท่ากับ 37.3 ± 2.5 และ 71.1 ± 0.8 ตามลำดับและมีพิษต่อเซลล์ BC ซึ่งมีค่า IC50 เท่ากับ 32.7 ± 1.5 และ 47.3 ± 0.3 ตามลำดับ (Ngamrojanavanich et al., 2007)

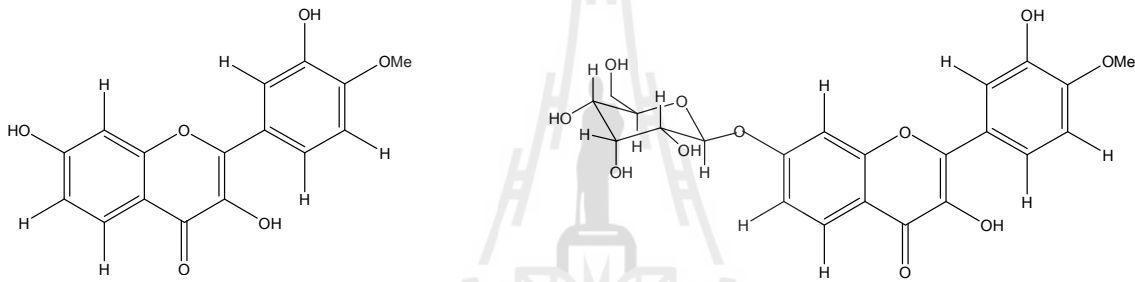
การเปรียบเทียบผลของกวาวเครือแดงกับ 17- α -methyltestosterone (MT) ในการกระตุ้นอารมณ์ทางเพศนั้นพบว่า *male sex ratio, survival rate (SR), feed conversion ratio (FCR) and gain in weight (GW)* ของการให้สาร MT นั้นสูงขึ้นกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนการใช้กวาวเครือแดงนั้น ไม่ได้มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับ MT (Mengumphan et al., 2006)

นอกจากนี้ผลของ กวาวเครือแดงในระบบสืบพันธุ์ของหนูได้มีการศึกษา ซึ่งพบว่าอัตราส่วนร้อยละ น้ำหนักสัณพีศของ seminal vesicle และต่อมลูกหมากนั้นไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมยกเว้นน้ำหนักอัมชะของกลุ่มสารสกัดหยาบที่ได้ขนาดของยาที่ 1,250 มก./กก. นั้นมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มอื่นๆ นอกจากนี้จำนวนอสุจิของกลุ่มที่ได้รับสารสกัดหยาบที่ 1,250 มก./กก. พบว่ามีปริมาณสูงกว่ากลุ่มควบคุม 16% (Manosroi et al., 2006) ในทำนองเดียวกับผลของผงสกัดจากรากของกวาวเครือแดงต่อเทสโทสเตอโรน, ฮอร์โมน ลูทีไนซิ่ง และความเป็นพิษในหนูเพศผู้ได้ถูกทดสอบ ซึ่งผลการทดลองนั้นพบว่าผงสกัดจากรากของกวาวเครือแดงนั้นมีฤทธิ์ลดฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนในเลือดแต่ไม่ได้มีการเปลี่ยนแปลงฮอร์โมน ลูทีไนซิ่งอย่างมีนัยสำคัญ (Cherdshewasart et al., 2008) เช่นเดียวกับผลของสารสกัดจาก กวาวเครือแดงเมื่อเทียบกับ ไวอาก้าสำหรับการรักษาโรคหย่อนสมรรถภาพทางเพศ ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่ากลุ่มที่ให้กวาวเครือแดง 27 คน (84%) นั้นตอบสนองในทางบวกเมื่อเทียบกับ 26 คน (81%) ในกลุ่มที่ให้ Viagra® (Jeff, et al., 2009) นอกจากนี้ กวาวเครือแดงนั้นยังเป็นที่รู้จักกันว่าเป็นสมุนไพรไทยที่ออกฤทธิ์ยับยั้ง เอสโตรเจน จากผลจากการศึกษาก่อนหน้านี้แสดงให้เห็นว่า การให้กวาวเครือแดงกับหนูในขนาดที่ 250 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน นั้นจะเพิ่มความหนาของมดลูกและจำนวนของต่อมในมดลูก (Malaivijitmond et al., 2009)

ผลของ กวาวเครือแดงในการยับยั้งเอนไซม์ phosphodiesterase นั้นพบว่าฤทธิ์ทางชีวภาพของ 3,7,3'-trihydroxy-4'-methoxyflavone และ 3,5'-dihydroxy-4'-methoxyflavone-7-O- β -D glucopyranoside ซึ่ง

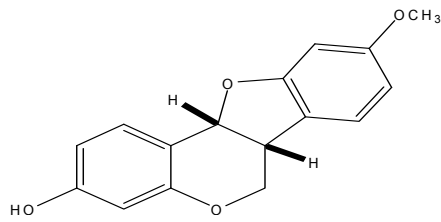
1.4 องค์ประกอบทางเคมี

Roengsumran, et al, (2000) รายงานการแยกควาวเครือแดงซึ่งพบ 3,7,3'-trihydroxy-4'-methoxyflavone และ 3,5'-glucopyranoside dihydroxy-4'-methoxyflavone-7-O- β -D จากรากพืชของ ควาวเครือแดง

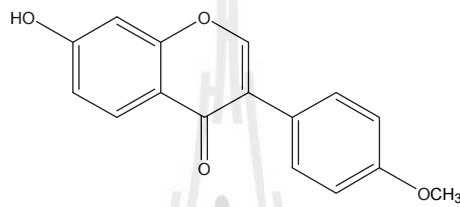


3,7,3'-Trihydroxy-4'-methoxyflavone 3,5'-Dihydroxy-4'-methoxyflavone-7-O- β -D glucopyranoside

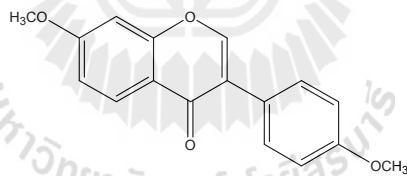
Ngamrojavanich, Loontaisong, Pengpreecha, Cherdshewasart, Pornpakakul, Pudhom, Roengsumran และ Petsom, (2007) รายงานการแยกสารสกัดคลอโรฟอรัมจากรากพืชของควาวเครือแดงพบ 3-hydroxy-9-methoxypterocarpan (medicarpin) และสารกลุ่ม isoflavone 4 ตัวคือ 7-4'-hydroxy-methoxy- isoflavone (formononetin) ; 7,4'-dimethoxyisoflavone ; 5,4'-dihydroxy-7-methoxy-isoflavone (prunetin) และ 7-hydroxy-6, 4'-dimethoxyisoflavone



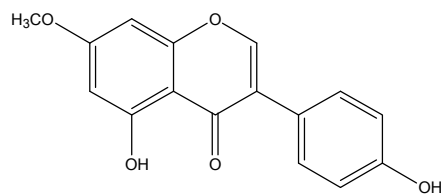
3-Hydroxy-9-methoxypterocarpan (medicarpin)



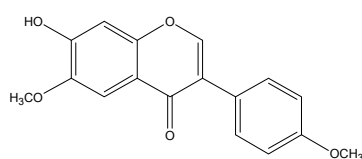
7-Hydroxy-4'-methoxyisoflavone (formononetin)



7,4'-Dimethoxyisoflavone



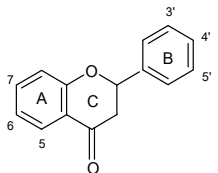
5,4'-Dihydroxy-7-methoxyisoflavone (prunetin)

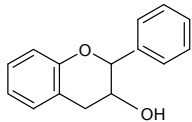
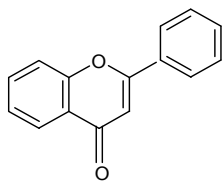
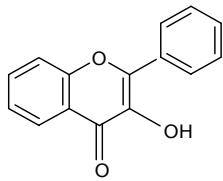


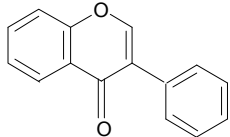
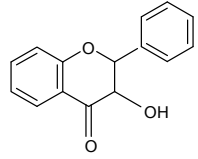
7-hydroxy-6,4'-dimethoxyisoflavone

ตั้งแต่พบว่าควาวเครือแดงนั้นสามารถช่วยเสริมสร้างสุขภาพของมนุษย์ ดังนั้นจึงเป็นสิ่งสำคัญในการศึกษาเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพซึ่งรวมไปถึงสารประกอบกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่อยู่ในควาวเครือแดง ฟลาโวนอยด์เป็นสารประกอบที่มีคาร์บอน 15 ตัว ($C_6-C_3-C_6$) โดยมี flavones นิเวศพืชเป็น benzene 2 วง (A และ B) โดยเชื่อมกันผ่านวงแหวน pyran หรือ pyrone ที่มีออกซิเจนเป็นส่วนประกอบ (C) ซึ่งโครงสร้างแบบนี้จะเรียกว่า 3-deoxyflavonoids (flavones, flavanones, isoflavone และ neoflavones) และ 3-hydroxyflavonoids (flavonols, anthocyanins, flavan-3,4-diols และ flavan-3-ols) ดังแสดงในตารางที่ 1.1 (Khnau, 1976) .

ตารางที่ 1.1 โครงสร้างทางเคมีของกลุ่ม Flavonoid

Structural formula	Representative flavonoids	Substitutions					
		5	6	7	3'	4'	5'
Flavanone							
	Eriodictyol	OH	H	OH	OH	OH	H
	Hesperitin	OH	H	OH	OH	OMe	H
	Naringenin	OH	H	OH	H	OH	H

Structural formula	Representative flavonoids	Substitutions					
		5	6	7	3'	4'	5'
Flavanol							
	Catechin	OH	H	OH	OH	OH	H
	Gallocatechin	OH	H	OH	OH	OH	OH
Flavone							
	Apigenin	OH	H	OH	H	OH	H
	Chrysin	OH	H	OH	H	H	H
	Luteolin	OH	H	OH	OH	OH	H
Flavonol							
	Kampherol	OH	H	OH	H	OH	H
	Myricetin	OH	H	OH	OH	OH	OH
	Quercetin	OH	H	OH	OH	OH	H
	Galangin	OH	H	OH	H	H	H

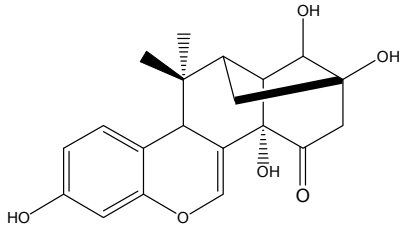
Structural formula	Representative	Substitutions					
		5	6	7	3'	4'	5'
	flavonoids						
Isoflavone	Daidzein	H	H	OH	H	OH	H
	Genistein	OH	H	OH	H	OH	H
	Glycitein	OH	OMe	OH	H	OH	H
	Formononetin	H	H	OH	H	OMe	H
<hr/>							
Flavanonol							
	Taxifolin	OH	H	OH	OH	OH	H

กลุ่มวิจัยของเรานั้นได้สนใจในกาวเครือแดงเนื่องจากการใช้อย่างมากในการใช้เป็นยาแผนโบราณเพราะมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่น่าสนใจและมีรายงานวิจัยเกี่ยวกับกาวเครือที่น้อยมาก ดังนั้นจึงมีความน่าสนใจที่จะตรวจสอบสารเคมีในพืชชนิดนี้อย่างละเอียด ซึ่งตารางที่ 1.2 จะเป็นการรวบรวมงานวิจัยเกี่ยวกับสารประกอบในพืชอื่นๆ ในวงศ์ Papilionaceae

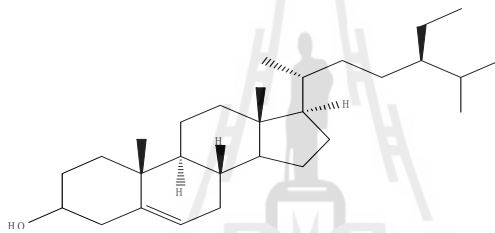
ตารางที่ 1.2 สารประกอบทางเคมีของพืชในวงศ์ Papilionaceae

Scientific name	Plant part	Organic compounds	References
<i>Pueraria mirifica</i>	Root	mioestrol (16) β -sitosterol (17) stimasterol (18)	Hayodom, 1971
<i>Pueraria mirifica</i>	Root	genistin(genistein-7-O-glucoside) puerarin-6"-monoacetate mirificoumestan mirificoumestan hydrate mirificoumestan glycol kwakhurin daidzein daidzin (daidzein-7-O-glucoside) puerarin genistein coumestrol	Ingham, Tahara, and Dziedzic, 1989 Ingham, Tahara, and Dziedzic, 1988 Tahara, Ingham, and Dziedzic, 1987 Ingham, Tahara, and Dziedzic, 1986
<i>Butea frondosa Roxb.</i>	Flowers	butrin (30) isobutrin (31)	Hildebert, Bettina, Manfred, Yoshinobu, and Hiroshi, 1986.

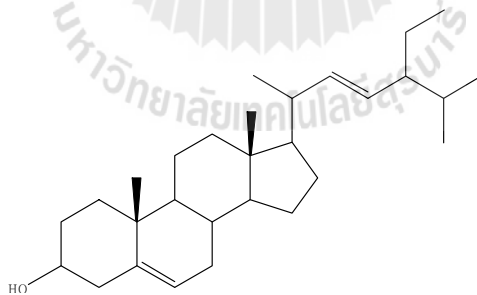
โครงสร้างและองค์ประกอบทางเคมีของพืชในวงศ์ *Papilionacea*:



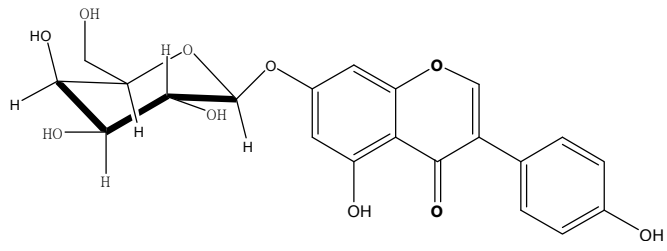
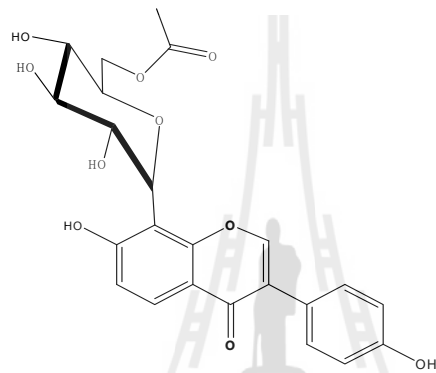
Mioestrol



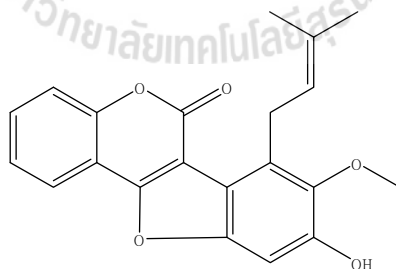
β -Sitosterol



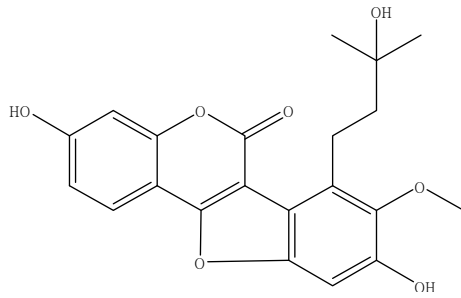
Stimasterol

Genistin (genistein-7-*O*-glucoside)

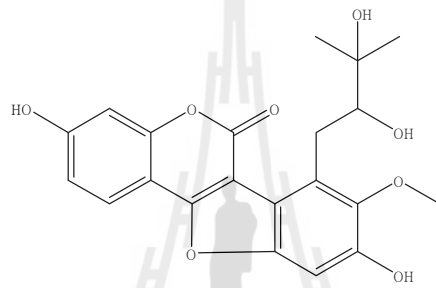
Puerain-6''- monoacetate



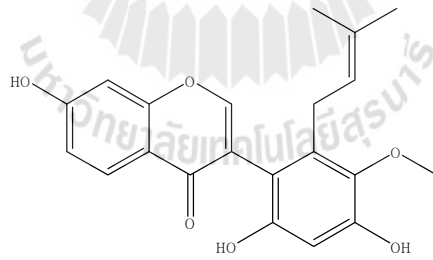
Mirificoumestan



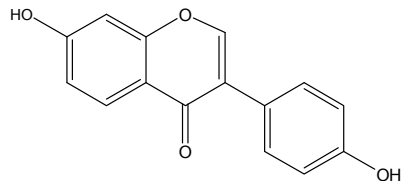
Mirificoumestan hydrate



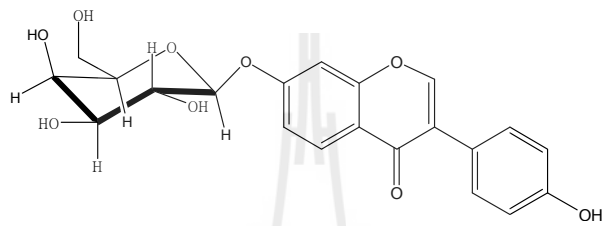
Mirificoumestan glycol



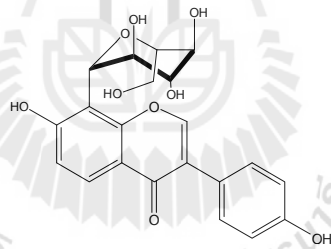
Kwakhurin



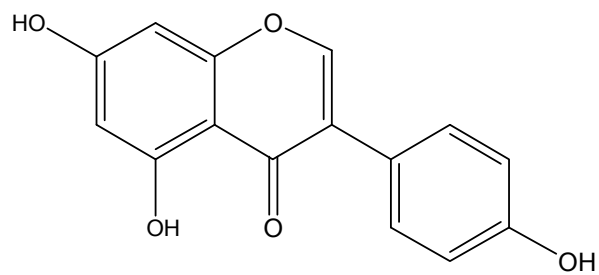
Daidzein



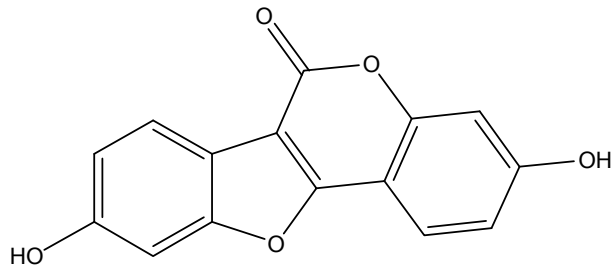
Daidzin (daidzein -7-O-glucoside)



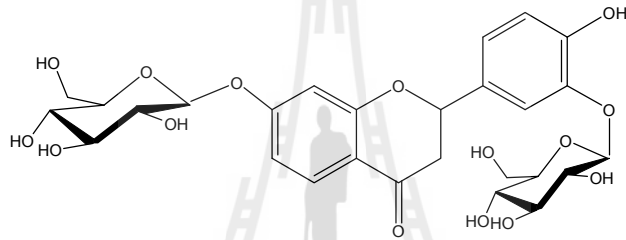
Puerarin



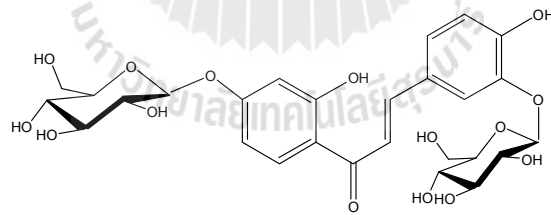
Genistein



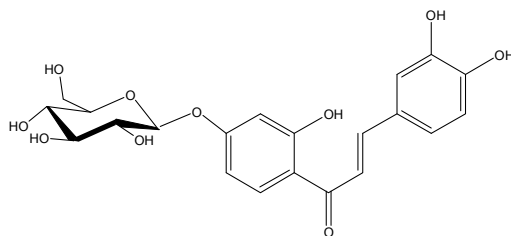
Coumestrol



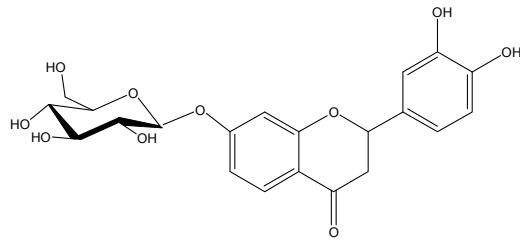
Butrin



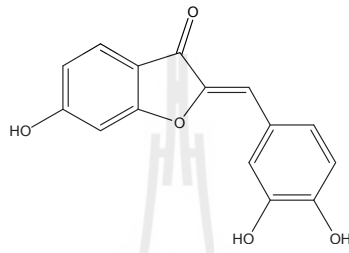
Isobutrin



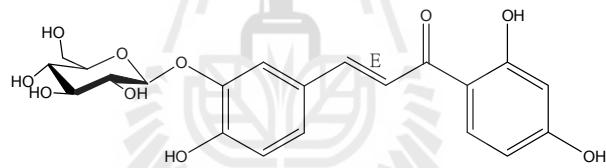
Coreopsin



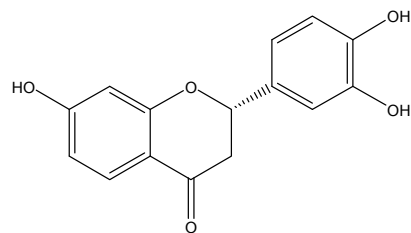
Isocoreopsin



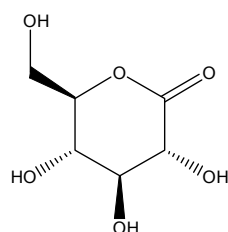
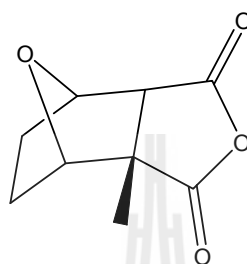
Sulfurein



Monospermoside



Butin

 δ -Lactone

Palasonin

1.5 การสกัดด้วย Soxhlet

วิธีนี้เป็นวิธีที่สะดวกและใช้กันอย่างแพร่หลายสำหรับการสกัดเพราะเป็นกระบวนการที่ต่อเนื่อง โดยตัวอย่างจะถูกใส่ลงใน Soxhlet ซึ่งภายในเครื่องจะสกัดตัวทำละลายในน้ำกลั่น ไหลย้อนกลับและควบแน่นไอน้ำภายใน Soxhlet โดยทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่างและตัวทำละลายสารสกัดจนในที่สุดก็ไหลกลับเข้ามาในตัวทำละลายต่อเนื่องไปจนกว่าจะเสร็จสิ้นการสกัด

1.6 เทคนิคโครมาโตกราฟี

การแยกส่วนประกอบของส่วนผสมโดยโครมาโตกราฟีนั้นเกิดขึ้นโดย mobile phase เคลื่อนที่ผ่าน stationary phase (โครมาโตกราฟีตัวทำละลาย) โดยเมื่อสารที่ผสมอยู่กับ mobile phase นั้นเคลื่อนที่ผ่าน stationary phase ส่วนประกอบต่างๆ นั้นจะถูกดูดซับในอัตราที่แตกต่างกัน ซึ่งความแตกต่างเหล่านี้ทำให้เราสามารถแยกสารได้อย่างจำเพาะ ตัวอย่างเช่น หากสารนั้นสามารถจับกับ stationary phase ได้ดี และจับกับ mobile phase ได้ไม่ดีนัก สารนั้นจะเคลื่อนที่อย่างช้าๆ แต่ถ้าสารนั้นจับกับ mobile phase ได้ดี และจับกับ stationary phase ได้ไม่ดี สารนั้นจะเคลื่อนที่ได้เร็วซึ่งความแตกต่างของสารเคมีในส่วนนี้จึงทำให้เราสามารถแยกสารออกมาได้ (Wade, 1987)

Thin-Layer Chromatography (TLC)

TLC เป็นวิธีที่ง่ายและมีขั้นตอนที่รวดเร็วและราคาไม่แพงซึ่งช่วยให้นักวิทยาศาสตร์ค้นพบสารที่มีองค์ประกอบหลายชนิดอย่างรวดเร็ว นอกจากนี้ยังใช้ในพิสูจน์สารในสารผสม ซึ่งใช้ตัวดูดซับอนุภาคของแข็ง (โดยปกติใช้ซิลิกาหรืออะลูมินา) เคลือบบนกระจกโลหะพลาสติก ซึ่งสารผสมที่จะวิเคราะห์จะเห็นเป็นจุดอยู่ด้านล่างของแผ่น แผ่น TLC 0 ถูกวางไว้แล้วในตัวทำละลายภายในภาชนะเครื่องแก้วที่มีฝาปิดโดยให้มีเพียงด้านล่างสุดของแผ่นที่อยู่ในของเหลว ของเหลวนี้อาจเป็นตัวพาที่เป็น mobile phase และจะค่อย ๆ เคลื่อนที่ขึ้นไปบนแผ่น TLC สำหรับการแสดงผลจะต้องดูแผ่น TLC ภายใต้แสงยูวี (254 นาโนเมตรและ 366 นาโนเมตร) และซึ่งสารประกอบจะปรากฏเป็นจุด

Preparative Thin Layer Chromatography (PTLC)

PTLC นั้นเป็นวิธีที่ใช้มาอย่างยาวนาน ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมทำในขั้นตอนการทำให้บริสุทธิ์ ซึ่งสามารถแยกได้อย่างรวดเร็วและสามารถแยกสารได้ตั้งแต่ 1 มิลลิกรัมถึง 1 กรัม ซึ่งความหนาของตัวดูดซับที่ใช้เตรียม PTLC คือ 0.5-4 มม. ในขณะที่สำหรับการวิเคราะห์จะใช้ความหนา 0.1-0.2 มม. ซึ่งโดยทั่วไปนั้นแผ่น TLC ที่มีขาย (ซิลิกาอะลูมินา, C18, เซลลูโลส) มักจะมีความหนา 0.5, 1.0, และ 2.0 มม.

Column Chromatography

ในคอลัมน์ chromatography ตัวดูดซับของแข็งจะถูกบรรจุอยู่ในคอลัมน์แก้วในแนวตั้งและ mobile phase ของเหลวจะถูกเติมที่ด้านบนและไหลลงมาผ่านคอลัมน์ โดยทั่วไปจะใช้เป็นเทคนิคการทำให้บริสุทธิ์ และ แยกสารประกอบที่ต้องการจากสารผสม โดยจะใช้ตัวพาผ่านคอลัมน์ผ่านแรงโน้มถ่วงหรือโดยการประยุกต์ใช้แรงดันอากาศ ตัวถูกละลายจะถูกดูดซับบนตัวดูดซับไหลลงมาผ่านคอลัมน์ เนื่องจากองค์ประกอบที่แตกต่างในส่วนผสมนี้นั้นมีความแตกต่างกันดังนั้นสารที่ออกมาพร้อมกับ mobile phase จะแตกต่างกันและสามารถแยกสารได้ตามที่ต้องการ

1.7 การพิสูจน์หาโครงสร้างทางเคมี

Nuclear Magnetic Resonance (NMR) spectroscopy

NMR ได้กลายเป็นวิธีการที่สำคัญวิธีหนึ่งทางการพิสูจน์หรือค้นหาสารประกอบ ซึ่งสามารถใช้ได้กับสารเคมีเพื่อตรวจสอบโครงสร้างทางเคมีที่มีรายละเอียดของสารที่แยกได้จากแหล่งผลิตภัณฑ์ทางธรรมชาติ NMR มักถูกนำมาใช้โดยนักเคมีเพื่อศึกษาโครงสร้างทางเคมีของโมเลกุล โดยมีการใช้เทคนิคหนึ่งมิติ (1D NMR) ในโมเลกุลที่ไม่ซับซ้อน และเทคนิคสองมิติ (2D-NMR) ใช้ในคูโครงสร้างของโมเลกุลที่ซับซ้อนมากขึ้น (Breitmaier, 2002)

Ultraviolet–Visible (UV-Vis) spectroscopy

UV-Vis Spectroscopy เป็นเทคนิคการวิเคราะห์ที่ให้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์เกี่ยวกับคุณสมบัติการดูดกลืนแสงของโมเลกุล การดูดกลืนแสงนั้นจะเกิดขึ้นเมื่อสารต้องใช้พลังงานสำหรับการเปลี่ยนแปลงชั้นพลังงาน สารที่สามารถดูดซับแสงยูวีจะต้องมีกลุ่มสารที่รู้จักกันในชื่อ chromophores สารละลายที่ใช้โดยทั่วไปคือ เอทานอล 95% และสารละลายตัวอื่น ๆ ที่ใช้นั้นมีน้ำ, เมทานอล, เฮกเซนและปิโตรเลียมอีเทอร์

Fourier transform-infrared (FT-IR) spectroscopy

หลักของ FT-IR นั้นเป็นการวัดการสั่นของพันธะเคมีภายในโมเลกุลเมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงของพลังงาน โดยวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆ โดยการยิงลำแสงอินฟราเรดผ่านตัวอย่าง ซึ่งจากกระบวนการนี้นั้นจะทดสอบได้ว่าสารตัวอย่างนั้นมีตำแหน่งของโครงสร้างใดที่สามารถดูดกลืนลำแสงได้ที่ความถี่ต่างๆ

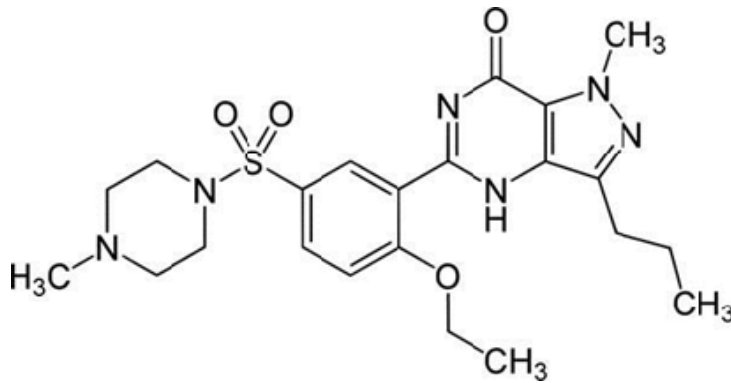
FT-IR จะใช้ในการทดสอบการสั่นสะเทือนพันธะในโมเลกุล ซึ่งเป็นวิธีการที่ง่ายในการทดสอบชนิดของหมู่โครงสร้างต่างๆ ที่อยู่ในโมเลกุล

Mass spectroscopy (MS)

Mass spectroscopy เป็นเทคนิคการวิเคราะห์ที่ใช้ในการวัดอัตราส่วนมวลต่อประจุของไอออน ซึ่งเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการระบุสารประกอบในสารที่ต้องการทดสอบ ซึ่งจะบอกถึงน้ำหนักโมเลกุลของสารประกอบและรูปแบบการกระจายตัวของสารประกอบ โดยใช้หลักการตรวจสอบไอออนจากสารประกอบและลักษณะเฉพาะของสารประกอบ

1.8 Sildenafil (Viagra[®])

โรคเสื่อมสมรรถภาพทางเพศ คือ โรคที่ผู้ป่วยไม่สามารถที่จะดำรงการแข็งตัวของอวัยวะเพศชายในการมีเพศสัมพันธ์ซึ่งมีสาเหตุมาจากทั้งทางร่างกายและจิตใจ และอาจเกิดผู้ที่ป่วยเป็นโรคทางหลอดเลือด, โรคเบาหวาน, ผู้ที่ได้ยารักษาโรคซึมเศร้าและผลจากการผ่าตัดต่อมลูกหมากโต ซึ่งจากการคิดค้นยาที่ออกฤทธิ์ยับยั้ง phosphodiesterase (PDE) ทำให้การรักษาโรคเสื่อมสมรรถภาพทางเพศนั้นง่ายและมีความปลอดภัย ในปัจจุบันจึงใช้ยาในกลุ่มนี้ในการบำบัดโรคเสื่อมสมรรถภาพทางเพศเป็นอันดับแรก ยาที่ออกฤทธิ์ยับยั้ง PDE-5 นั้นมีดังต่อไปนี้ คือ Sildenafil, vardenafil และ tadalafil ซึ่งได้รับการขึ้นทะเบียนสำหรับรักษาโรคเสื่อมสมรรถภาพทางเพศ (Harvey, 2012)



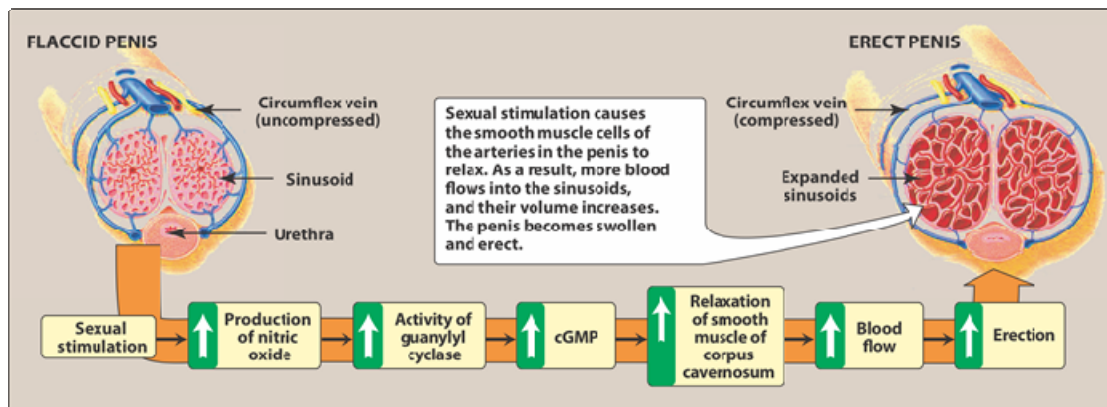
(a)



(b)

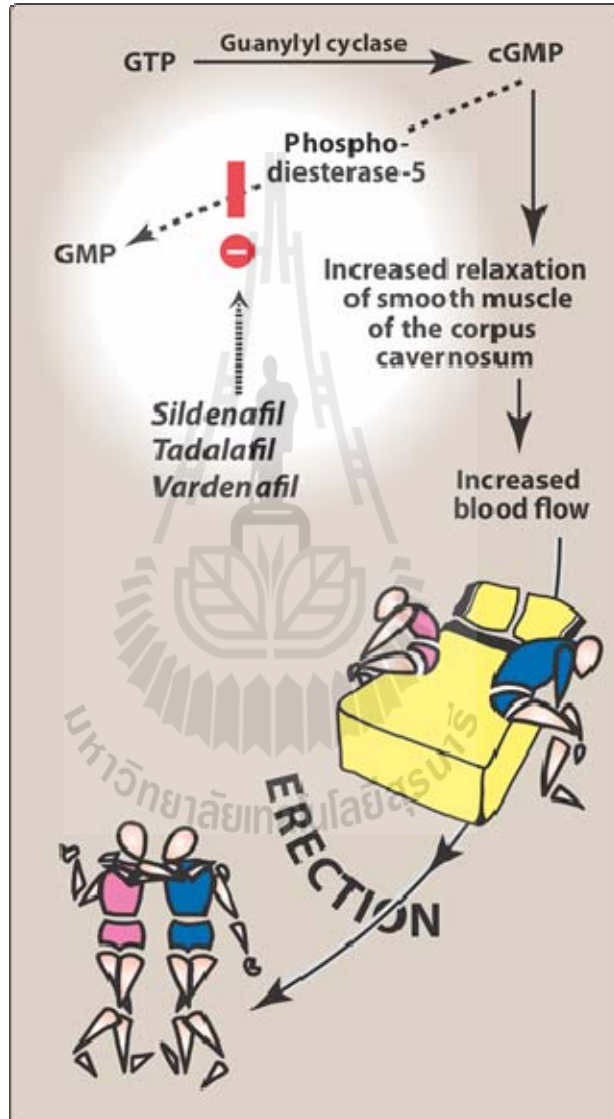
รูปที่ 1.2 โครงสร้างทางเคมีของ Sildenafil (a) และภาพผลิตภัณฑ์ยา Viagra[®] (b)

กลไกการแข็งตัวของอวัยวะเพศชายนั้นเป็นผลจากการกระตุ้นทางเพศซึ่งจะทำให้มีการคลายกล้ามเนื้อเรียบ corpus cavernosum โดยทำให้มีการคั่งของเลือด (รูปที่ 1.3) ซึ่งมีสารกระตุ้นกลไกนี้ก็คือไนตริกออกไซด์ (NO) ซึ่ง NO จะกระตุ้น guanylyl cyclase ซึ่งจะไปกระตุ้นให้เกิด cyclic guanosine monophosphate (cGMP) จาก guanosine triphosphate cGMP จะคลายกล้ามเนื้อเรียบโดยลดการผ่านของ Ca^{2+} เข้าเซลล์ ระยะเวลาการทำงานของ cyclic nucleotide นี้ขึ้นอยู่กับการทำงานของ PDE sildenafil นั้นออกฤทธิ์ยับยั้ง PDE-5 ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ cGMP ในกล้ามเนื้อ corpus cavernosum ดังนั้นการยับยั้ง PDE-5 จึงทำให้เกิดการเพิ่มการไหลเวียนของเลือดไปยัง corpus cavernosum เมื่อมีการกระตุ้นทางเพศ (รูปที่ 1.4) แต่ในปริมาณที่แนะนำของสารกลุ่มยับยั้ง PDE-5 นั้นจะเกิดผลในกรณีที่ไม่มีมีการกระตุ้นทางเพศ ซึ่งยากลุ่มยับยั้ง PDE-5 นี้จะใช้ในการรักษาผู้ป่วยโรคเสื่อมสมรรถภาพทางเพศที่เกิดจากทางร่างกายและจิตใจ (Harvey, 2012)



รูปที่ 1.3 กลไกการแข็งตัวของอวัยวะเพศชาย

เภสัชพลศาสตร์ : Viagra[®] นั้นควรจะต้องรับประทานก่อนมีเพศสัมพันธ์ประมาณ 1 ชั่วโมงและจะออกฤทธิ์ประมาณ 4 ชั่วโมงหลังจากรับประทานยา ดังนั้นการใช้ยาจะต้องใช้ภายในภายใน 1-4 ชั่วโมง การดูดซึมของยานั้นจะถูกรบกวนเมื่อรับประทานร่วมกับอาหาร โดยเฉพาะอาหารที่มีไขมันสูง Viagra[®] นั้นจะเมตาบอลิซึมผ่านเอนไซม์ cytochrome P450 3A4 (CYP3A4) และควรมีการปรับขนาดยาในผู้ป่วยที่มีความผิดปกติในการทำงานของตับ (Harvey, 2012)



รูปที่ 1.4 ผลของการยับยั้ง phosphodiesterase ต่อระดับ cGMP ในกล้ามเนื้อ corpus cavernosum

ผลข้างเคียง : ที่พบบ่อยที่สุดผลก็คือ ปวดหัว, หน้าแดง, ไม่สบายทางเดินอาหารและคัดจมูก ผลข้างเคียงเหล่านี้พบโดยทั่วไปแต่เป็นผลข้างเคียงที่ไม่รุนแรงนัก ผลข้างเคียงที่เกี่ยวกับการมองเห็นสี (การแยกสีฟ้า/เขียว) นั้นอาจเกิดขึ้นจากการยับยั้ง PDE-6 (ที่พบในจอประสาทตาซึ่งมีความสำคัญในการมองเห็นสี) อุบัติการณ์ของการเกิดผลข้างเคียงนั้นขึ้นอยู่กับปริมาณยา เนื่องจากยานี้มีผลต่อหัวใจ ดังนั้นการใช้ยาในกลุ่มนี้ควรจะใช้ด้วยความระมัดระวังในผู้ป่วยที่มีประวัติโรคหัวใจและหลอดเลือด นอกจากนี้การใช้ยาก็ไม่ควรใช้มากกว่าหนึ่งครั้งต่อวัน (Harvey, 2012) ผลข้างเคียงที่รุนแรงมากของ Viagra[®] ก็คือกล้ามเนื้อหัวใจตายเมื่อใช้เดี่ยวๆ หรือการใช้ยาร่วมกับยากลุ่มไนเตรท, หลอดเลือดแดงอุดตัน, หลอดเลือดตีบ และองคชาติแข็งค้าง (Flomenbaum, 2006)

อันตรกิริยาของยา : จากการที่ยานี้ออกฤทธิ์ยับยั้ง PDE ซึ่งมีผลต่อ NO ดังนั้นจึงห้ามใช้ในผู้ป่วยที่ใช้ยากลุ่ม NO อยู่เดิม และยาอาจจะมีผลลดความดันโลหิตมากขึ้นเมื่อใช้ร่วมกับยากลุ่มที่ยับยั้ง α -adrenergic (ซึ่งมักใช้ในผู้ป่วยโรคต่อมลูกหมากโต) (Harvey, 2012)

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากรากของกวาวเครือแดง
2. เพื่อสามารถระบุโครงสร้างทางเคมีของสารที่แยกได้
3. เพื่อศึกษาผลของสารประกอบทางเคมีที่แยกจากรากของกวาวเครือแดงต่อระบบสืบพันธุ์ของหนูไม่ซ์เพศผู้

สมมติฐานการวิจัย

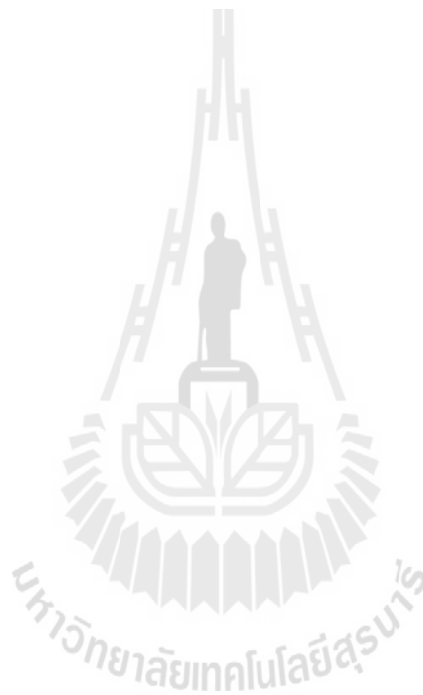
องค์ประกอบทางเคมีที่แยกออกมาจากรากกวาวเครือแดงนั้นสามารถแสดงฤทธิ์ในการเพิ่มการเคลื่อนไหวนៃของอสุจิ จำนวนอสุจิและฮอร์โมนเพศชายในอวัยวะสืบพันธุ์

ขอบเขตของการวิจัย

งานวิจัยนี้มุ่งเน้นไปที่การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพขององค์ประกอบทางเคมีที่แยกจากรากของกวาวเครือแดงในหนูไม่ซ์เพศผู้โดยเฉพาะสารบริสุทธิ์หรือแฟลกชันจากสารสกัดกวาวเครือแดง

ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย

1. ได้ทราบฤทธิ์ทางชีวภาพขององค์ประกอบทางเคมีที่แยกจากรากของกวาวเครือแดงในหนูเพศผู้
2. ได้ทราบผลของสารที่แยกองค์ประกอบทางเคมีรากของกวาวเครือแดงต่อจำนวนตัวอสุจิ, การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ, โลหิตวิทยาเคมีในเลือดและฮอร์โมนเพศชายในหนูเพศผู้
3. ผลที่ได้ อาจจะเป็นประโยชน์สำหรับการพัฒนาายาใหม่ในการรักษาโรคเสื่อมสมรรถภาพทางเพศในผู้ชาย



วิธีดำเนินการวิจัย

2.1 แหล่งที่มาของวัตถุดิบพืช

รากพืชสดของกวาวเครือแดงนั้นถูกเก็บรวบรวมจากจังหวัดเชียงรายในประเทศไทย ตัวอย่างของพืชชนิดนี้นั้นได้รับการรับรองความถูกต้องทางสายพันธุ์ด้วยตัวอย่างที่หอพรรณไม้กรุงเทพฯ รากพืชถูกล้างให้สะอาดและทำให้แห้งในเตอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นตัวอย่างแห้งที่ได้จะถูกบดเป็นผง

2.2 สารเคมี

2.2.1 ตัวทำละลาย

ตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัดและใช้เป็นตัวชะสำหรับ Thin-Layer Chromatography และ Column chromatography นั้นเป็นเกรดธรรมดาและนำมาใช้ก่อนการใช้งาน สารเคมีอื่น ๆ ที่ใช้เป็นเกรดสำหรับวิเคราะห์และเกรดสำหรับ HPLC ดังต่อไปนี้:

Ethyl acetate	Carlo Erba
Hexane	Carlo Erba
Methanol	Carlo Erba
Dichloromethane	Carlo Erba
Chloroform	Carlo Erba
Acetone	Carlo Erba
Acetone-d ₆	Aldrich
Chloroform-d ₁	Aldrich
Methanol-d ₄	Aldrich

2.2.2 ซิลิกาเจล

2.2.2.1 Merck silica gel 60 Art. 7734 (70-230 mesh ASTM) นั้นนำมาใช้เป็นตัวดูดซับสำหรับ column chromatography

2.2.2.2 Merck silica gel 60 G Art. 7731 and 60 GF₂₅₄ Art. 7730 ถูกนำไปใช้เป็นตัวดูดซับ สำหรับการเตรียม preparative TLC

2.2.2.3 Merck TLC aluminum sheet, silica gel 60 F₂₅₄ precoated 20 ซม. x 20 ซม. ในขนาด ที่มีความหนา 0.2 mm ถูกนำมาใช้เพื่อระบุสารเฟลกชั้นที่พบ

2.3 เครื่องมือ

Rotary evaporator	Buchi
Heating bath: Buchi heating bath B-490	
Rotavapor: Buchi rotavapor R-200	
Controller: Buchi vacuum controller V-800	
UV/VIS Spectrophotometer series CARY 1E	Varian
UV-Cabinet II	Camag
FT-IR Spectrophotometer Model	Nicolet
NMR Spectrometer INOVA 300	Varian

2.4 การสกัด

ผงรากพืชกวาวเครือแดง (2 กิโลกรัม) ถูกสกัดอย่างต่อเนื่องด้วยเอทานอลผ่าน Soxhlet 12 ชั่วโมง กวาวเครือแดงที่ถูกสกัดแล้วจะกรองผ่านกระดาษกรอง (Whatman ครั้งที่ 1) หลังจากนั้นนำสารไปผ่านการ ระเหยตัวทำละลายภายใต้ความดันจนได้สาร 30.56 กรัม มีลักษณะเป็นน้ำเชื่อมสีน้ำตาลเข้ม สารสกัดเอทานอล (25 กรัม) จะถูกแยกออกโดยซิลิกาเจลคอลัมน์ chromatography คอลัมน์นี้ถูกชะล้างตามลำดับด้วยเฮกเซน, คลอโรฟอร์มอะซิโตนและเมทานอล ซึ่งเฟลกชั้นที่ได้นั้นจะเป็นเฟลกชั้นที่ความเข้มข้น โดยจะได้สาร สกัดหยาบเฮกเซน (0.45 กรัม), สารสกัดคลอโรฟอร์ม (1.61 กรัม), สารสกัดอะซิโตน (7.38 กรัม) และสาร สกัดเมทานอล (8.65 กรัม)

2.5 การแยก

สารสกัดอะซิโตนจะถูกแยกโดยให้ซิลิกาเจลคอลัมน์ chromatography คอลัมน์นี้ถูกชะอย่างต่อเนื่อก ด้วยเฮกเซน-อะซิโตน (1:1), อะซิโตนคลอโรฟอร์มเมทานอล (1:1) และเมทานอล ทุกๆ 1,000 มิลลิลิตรของ เฟลกชั้น นั้นจะถูกเก็บและทำให้เข้มข้นซึ่งจะมีส่วนเฟลกชั้นที่สำคัญ 4 ส่วน (I 5.86 กรัม, II 7.13 กรัม, III

แฟลคชัน I (1.0011 กรัม) นั้นจะถูกใส่ลงบนซิลิกาเจล 60 คอลัมน์ คอลัมน์นี้ถูกชะอย่างต่อเนื่องด้วย เฮกเซน, 1:4 เฮกเซน-อะซีโตน, 2:3 เฮกเซน-อะซีโตน, 3:2 เฮกเซน-อะซีโตน, 4:1 เฮกเซน-อะซีโตน, และอะซีโตนตามลำดับ ทุกๆ 500 มิลลิลิตร ของแฟลคชันนั้นจะถูกเก็บรวบรวมและทำให้เข้มข้นปริมาณและแฟลคชันที่ได้ทั้งหมดจะถูแยกออกโดย TLC (2 ซม. x 5cm ในขนาดที่มีเฮกเซน: อะซีโตน, 1:1 เป็นตัวทำละลาย)

แฟลคชัน II (b) (0.0812 กรัม) ถูกทำให้บริสุทธิ์มากขึ้นโดยการใช้ Prep-TLC (เฮกเซน: อะซีโตน 2:1) จะได้สองแฟลคชัน (b1 0.0576 กรัม b2 0.0094 กรัม) แฟลคชัน b1 (0.0576 กรัม) ถูกทำให้บริสุทธิ์มากขึ้นด้วย Prep-TLC โดยใช้ทำละลายเดียวกันซึ่งจะให้สารที่ 1 (0.0211 กรัม) ซึ่งจะถูกทำให้เป็นผลึกด้วย คลอโรฟอร์มผสมเมทานอลเพื่อให้ได้สารบริสุทธิ์ 1 (0.0181 กรัม) ซึ่ง เป็นผงสีเหลืองอ่อน

แฟลคชัน III (e) (0.0532 กรัม) ถูกทำให้บริสุทธิ์มากขึ้นโดยการใช้ Prep-TLC (เฮกเซน: อะซีโตน 1:1) เพื่อให้ได้สาร 2 (0.0085 กรัม) ซึ่งเป็นผงสีขาว

แฟลคชัน IV (1.0004 กรัม) ทำถูกทำให้บริสุทธิ์โดยการใช้ Prep-TLC (คลอโรฟอร์ม:เมทานอล=09:01) โดยจะได้สี่แฟลคชัน (A 0.0365 กรัม, B 0.1351 กรัม, C 0.0989 กรัมและ D 0.0593 กรัม) แฟลคชัน E (0.0989 กรัม)ถูกทำให้บริสุทธิ์มากขึ้นโดยการใช้ Prep-TLC (คลอโรฟอร์ม:เมทานอล=4:1) เพื่อให้ได้สารที่ 3 (0.0127 กรัม) ซึ่งเป็นสารสีขาว

2.6 ลักษณะจำเพาะของสารที่แยกออกมา

2.6.1 สารประกอบ 1

UV-Vis (MeOH) λ_{\max} values 260 and 325 nm.

FT-IR spectrum (KBr) are 3100-3400, 1651, 1515, 1439, 1247, and 1183 cm^{-1} .

^1H NMR δ (ppm) in acetone- d_6 , are 12.99 (1H, *s*, 5-OH), 9.60 (1H, *s*, 7-OH), 8.15 (1H, *s*, 2-H), 7.53 (2H, *d*, $J = 8.40$ Hz, 2',6'-H), 6.98 (2H, *d*, $J = 8.40$ Hz, 3',5'-H), 6.40 (1H, *d*, $J = 2.10$ Hz, 8-H), 6.28 (1H, *d*, $J = 2.10$ Hz, 6-H), and 3.83 (3H, *s*, 4'-OCH₃).

^{13}C NMR δ (ppm) in acetone- d_6 , are 180.94 (4-C), 164.37 (7-C), 163.31 (5-C), 160.08 (4'-C), 158.42 (9-C), 153.82 (2-C), 130.46 (2',6'-C), 123.58 (1'-C), 123.20 (3-C), 113.91 (3',5'-C), 105.58 (10-C), 99.28 (6-C), 93.90 (8-C), and 54.97 (4'-OCH₃).

Mass spectrum EIMS, m/z (relative intensity) are 284 [M^+] (100), 283 [$\text{M}-1$]⁺ (16), 269 (14), 152 (12), and 132 (36).

2.6.2 สารประกอบ 2

UV (MeOH) λ_{max} values 254 and 369 nm.

FT-IR spectrum (KBr) are 3000-3500, 1659, 1576, 1500, 1369, and 1286 cm^{-1} .

^1H NMR δ (ppm) in CD₃OD+CDCl₃ are 7.92 (1H, *s*, 2-H), 7.35 (2H, *d*, $J = 8.70$ Hz, 2',6'-H), 6.89 (2H, *d*, $J = 8.70$ Hz, 3',5'-H), 6.37 (1H, *d*, $J = 2.10$ Hz, 8-H), and 6.28 (1H, *d*, $J = 2.10$ Hz, 6-H).

^{13}C NMR δ (ppm) values, in CD₃OD+CDCl₃, are 181.24 (4-C), 164.57 (7-C), 162.49 (5-C), 158.56 (4'-C), 157.47 (9-C), 153.23 (2-C), 130.37 (2',6'-C), 123.86 (1'-C), 123.18 (3-C), 115.57 (3',5'-C), 105.54 (10-C), 99.46 (6-C), and 94.19 (8-C).

Mass spectrum EIMS, m/z (relative intensity) are 270 [M^+] (100), 269 [$\text{M}-1$]⁺ (26), 153 (43), and 118 (14).

2.6.3 สารประกอบ 3

FT-IR spectrum ν_{max} (KBr) are 3500-3200, 2390, 1640, 1470, 1383, 1250, 1160, 1075, and 1019 cm^{-1} .

^1H NMR δ (ppm) in pyridine- d_5 , 0.95 (1H, *m*, 9-H), 2.00 (2H, *m*, 12-H), 5.07 (1H, *d*, $J = 7.7$ Hz, 1'-H), 4.08 (1H, *m*, 2'-H), 7.07 (1H, *d*, $J = 4.0$ Hz, 2'-OH), 6.40 (1H, *t*, $J = 6.2$ Hz, 6'-OH), 4.30

(1H, *m*, 3'-H), 1.60 (1H, *m*, 24-H), 4.00 (1H, *m*, 3-H), 0.95 (1H, *m*, 14-H), 0.77 (3H, *s*, 18-H), 0.95 (3H, *m*, 21-H), 1.45 (1H, *m*, 20-H), 1.40 (2H, *m*, 11-H), 1.40 (1H, *m*, 8-H), and 1.25 (2H, *m*, 15-H).

DEPT ^{13}C NMR δ (ppm) in pyridine-*d*₅, 141.4 (5-C), 122.4 (6-C), 139.3 (22-C), 130.0 (23-C), 122.4 (3-C), 37.4 (1-C), 57.3 (14-C), 30.0 (5-C), 40.5 (20-C), 40.5 (12-C), 56.8 (17-C), 13.0 (29-C), 103.1 (1'-C), 75.8 (2'-C), 79.1 (3'-C), 72.2 (4'-C), 78.9 (5'-C), and 63.4 (6'-C).

2.7 การหาปริมาณสารด้วย HPLC

วิธีการในการวิเคราะห์ isoflavonoid นั้นได้ประยุกต์มาจากคำอธิบายก่อนหน้านี้ โดยตั้งค่าระบบที่ 50 นาทีจาก 100:0 ถึง 55:45 ด้วย 1.5% acetic acid : acetonitrile โดยมีอัตราการไหล 1มล./นาที โดยใช้เวลา 45 นาทีและวิเคราะห์ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร isoflavonoids มาตรฐานที่นำมาเทียบ (Genistein และ Biochanin) เจือจาง 1:1-1:16 กับเมทานอลเพื่อลำดับความเข้มข้นเป็น 1/4, 1/8, 1/16, 1/32 และ 1/64 มก./มล. เพื่อสร้างเส้นโค้งมาตรฐาน ที่ครอบคลุมถึงช่วงของความเข้มข้น isoflavonoid ในสารตัวอย่าง โดยการวิเคราะห์นั้นจะทำทั้งหมดสามครั้งโดยฟลูออโรเมตริกซ์สารด้วยรีเทนชันไทม์และคำนวณปริมาณสารด้วยเส้นโค้งมาตรฐาน (Cherdshewasart et al., 2007)

2.8 การทดสอบฤทธิ์ของสาร

2.8.1 สัตว์ทดลอง

ทดสอบในของหนูไม่ซเพศผู้ทั้งหมดหกสิบตัวโดยมีอายุประมาณ 130 วัน, น้ำหนัก 30-40 กรัม, ซึ่งได้รับการดูแลโดยอาคารสัตว์ทดลอง, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี, นครราชสีมา, ประเทศไทย โดยวิธีการทดลองได้รับการอนุมัติตามแนวทางสำหรับการดูแลและการใช้สัตว์ทดลองโดยคณะกรรมการการดูแลและการใช้สัตว์ (ACUC), มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี โดยสัตว์อยู่ในห้องที่มีการควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิห้อง ($25 \pm 0.5^\circ\text{C}$) และมีวงจรกลางวัน-กลางคืน (กลางวัน6:00-18:00)

2.8.2 วิธีการทดลอง

หนูไม่ซจะถูกแบ่งออกเป็น 6 กลุ่มกลุ่มละ 10 ตัวโดยแต่ละกลุ่ม ก่อนการให้สาร (Pre-treatment) หนูทั้งหมดในกลุ่มจะถูกเจาะเลือดทางหาง และเก็บบอลลูนโดยผ่าตัดช่องท้องเพื่อนำไปเปรียบเทียบค่าหลังการให้สาร (Post-treatment) โดยหลังจากการให้สารจนครบเวลาทำการทดลองหนูจะถูกเจาะเลือดผ่านทางหัวใจ

2.8.3 การเคลื่อนที่ของอสุจิ จำนวนอสุจิและการวิเคราะห์ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

การเคลื่อนที่ของอสุจิได้ทำตามวิธีการของ Bavister และ Andrew (1988) โดยใช้สูตร

$$\text{การเคลื่อนที่ (\%)} = \frac{\text{จำนวนอสุจิที่เคลื่อนที่} \times 100}{\text{อสุจิทั้งหมด}}$$

ท่อเก็บอสุจิจะถูกตัดและชั่งน้ำหนัก เซลล์อสุจิจะถูกนำมาละลายใน จากน้ำเกลือ 0.85% 1 มล. เซลล์นั้นจะได้รับการเก็บรักษาไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สารละลายจะถูกกรองผ่านชั้นตาข่ายและจะนำไปนับตัวอสุจิใน Makler counting chamber (รูป 2.1) อสุจิจะถูกย้อมด้วยสี hematoxylin และ eosin sly' จากนั้นจะตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (CH-2, Olympus, Japan) ที่กำลังขยาย 100X อสุจิที่มีหัวและหางผิดปกติ (ไม่เกิน 200 เซลล์ ต่อสัตว์ 1 ตัว) จะถูกบันทึก



รูปที่ 2.1. Makler counting chamber

2.8.4 โลหิตวิทยาและสารเคมีในเลือด

ในตอนท้ายของการทดลองจะมีการเก็บตัวอย่างเลือดโดยเจาะผ่านหัวใจหลังจากการดมยาสลบ (อีเทอร์) เวลา 9.00-10.00 AM ซึ่งเลือดจะใช้ประเมินทางโลหิตวิทยา เลือดจะถูกปั่นเหวี่ยงที่ $1,000 \times g$ เป็นเวลา 30 นาทีและเก็บไว้ที่ -20 องศาเซลเซียสเพื่อใช้สำหรับตรวจสอบสารเคมีในเลือดและใช้ในการวิเคราะห์คอเลสเทอรอล (Cherdshewasart et al., 2008)

2.8.5 มิถุนวิทยาของอวัยวะและระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน

หลังจากวันที่ 14 หนูจะถูกฆ่าโดยนำสลบด้วย Sodium thiopental และ หัวใจ, ตับ, ม้าม, ไตและกระเพาะอาหารจะถูกนำออกมาและทำการชั่งน้ำหนัก น้ำหนักของร่างกายที่วัดในวันที่ฆ่าหนูจะถูกนำมาใช้ในการคำนวณความสัมพันธ์ของน้ำหนักอวัยวะต่อน้ำหนักตัว อวัยวะทั้งหมดจะถูกเก็บรักษาไว้ใน 10% 포르มาลดีไฮด์ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (w / v) หัวใจ, ตับ, ม้าม, ไตกระเพาะอาหารและอวัยวะสืบพันธุ์ (อวัยวะ, ต่อมสร้างน้ำเลี้ยงอสุจิและต่อมลูกหมาก) นั้นจะถูกฝังอยู่ในพาราฟินและจะถูกตัดด้วยเครื่องไมโครโทมที่ขนาด 5 ไมโครเมตรและสี hematoxylin และ eosin จะถูกนำมาใช้สำหรับการย้อมสี พยาธิสภาพของเนื้อเยื่อจะถูกตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ส่วนความเข้มข้นของฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนของหนูจะถูกวัดโดยใช้เทคนิค radioimmunoassay (Sharma et al., 2013)

2.8.6 น้ำหนักตัว

น้ำหนักของสัตว์จะถูกบันทึกไว้ทุกวันตลอดระยะเวลาการทดลอง

2.8.7 การวิเคราะห์ทางสถิติ

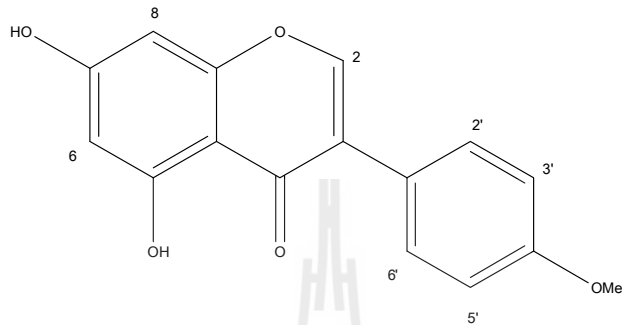
ข้อมูลทั้งหมดจะถูกนำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย±ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน ความแตกต่างระหว่างความสัมพันธ์ของน้ำหนักอวัยวะต่อน้ำหนักตัวของกลุ่มควบคุมและกลุ่มได้รับสาร จะวิเคราะห์โดยใช้ ANOVA ความแตกต่างของโลหิตวิทยา, สารเคมีในเลือด, อัตราการเจริญเติบโตและการวิเคราะห์อสุจิ ระหว่างก่อนและหลังการให้สารจะคำนวณโดยใช้ paired-student's T-Test ส่วนความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มนั้นจะใช้ ANCOVA โดยใช้การวิเคราะห์ Tukey HSD ในการทดสอบ post hoc โดยที่ $p < 0.05$ และ $p < 0.01$ นั้นจะนำมาพิจารณาว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



บทที่ 3

ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

3.1 คุณสมบัติและโครงสร้างของสาร 1



รูปที่ 3.1 โครงสร้างของสาร 1

สารประกอบที่ 1 นั้นเป็นของแข็งสีเหลืองแสง (0.0181 กรัม, อัตราผลผลิตที่ 0.0009% จากผงแห้ง) UV-Vis spectrum แสดงให้เห็นแถบการดูดกลืน (λ_{max}) ที่ 260 และ 325 นาโนเมตร สเปกตรัม UV-Vis spectrum ของสาร 1 แสดงให้เห็นถึงสารประกอบอนุพันธ์ flavonoid (Maria, Anna, Lorenzo, Giovanni, and Franco, 2007)

IR spectrum ของสารประกอบ 1 แสดงให้เห็นแถบการดูดซึม 1,651 ซม.⁻¹ แสดงถึง α , β -unsaturated carbonyl และแถบกว้างของสารกลุ่ม hydroxyl ที่ 3100-3400 ซม.⁻¹ การเปรียบเทียบแถบการดูดซึมของสาร 1 กับ biochanin (NIST, www, 2011) และแถบการดูดซึมอื่นๆ แสดงในตารางที่ 3.1

Table 3.1 IR Absorption Band Assignment of Compound 1.

Wave number (cm ⁻¹)		Assignment
Compound 1	biochanin A	
3100-3400	3000-3400	O-H Stretching
1651	1653	C=O Stretching
1622, 1609	1623, 1610	C=C Stretching
1247, 1183	1292, 1196	C-H Bending

¹H-NMR Spectrum ของสาร 1 แสดงให้เห็นถึงอะโรเมติกโปรตอน ที่ δ 6.28 ppm (1H, D, J = 2.10 Hz), 6.40 ppm (1H, D, J = 2.10 Hz) สำหรับ H -6 และ H-8 ในวงแหวนตำแหน่ง A นั้นพบ δ 7.53 ppm (2H, D, J = 8.40 Hz) สำหรับ H-2 ' และ H-6 พบ δ 6.98 ppm (2H, D, J = 8.40 Hz) สำหรับ H-3 ' และ H-5' ในตำแหน่งวงแหวน B นั้นสามารถประเมินได้จากสมมาตรของสาร ส่วนของอะโรเมติกของสเปกตรัม ¹H-NMR ของสาร 1 มีลักษณะการสะท้อนของ H-2 จาก isoflavone ที่ δ 8.15 ppm (1H, s) ข้อสังเกตนี้ชี้ให้เห็นลักษณะของ unsubstituted benzene ring โดยพบที่ δ 12.99 ppm และ 9.60 ppm บอถึงกลุ่ม hydroxyl ที่ H-5 และ H-7 นั้นปรากฏกลุ่ม methoxy ที่พบ δ 3.83 ppm

¹³C-NMR Spectrum ของสาร 1 แสดงให้เห็นคาร์บอนสี่อะตอมสำหรับโครงสร้างลิบห้าอะตอมของคาร์บอน (ลักษณะ flavonoid) สารนี้มีกลุ่ม carbonyl ซึ่งพบ δ 180.94 ppm พบ methoxy ที่ δ 54.97 ppm เจ็ดคาร์บอน methine พบที่ δ 153.83 ppm (C-2), 130.46 ppm (C-2 ', C -6 ') 113.91 ppm (C-3', C-5), 99.18 (C-6) และ 93.90 (C-8) และคาร์บอนเจ็ดอะตอมที่ δ 164.37 ppm (C-7), 163.31 ppm (C-5), 160.08 ppm (C-4), 158.42 ppm (C-9), 123.58 ppm (C-1 ') 123.20 ppm (C-3) และ 105.58 ppm (C-10)

Mass Spectrum ของสาร 1 แสดงให้เห็นจุดสูงสุดของไอออนโมเลกุลที่ m / z 284 [M⁺] และสูตรโมเลกุลที่พบนั้นเป็น C₁₆H₁₂O₅ โดย EIMS

จากข้อมูล Spectrum ของเปรียบเทียบกับ ¹H-NMR และ ¹³C-NMR ของสาร 1 กับข้อมูลของ biochanin A ที่มีการตีพิมพ์ โครงสร้างของสาร 1 นั้นถูกระบุว่าเป็น 5,7-dihydroxy-4 'methoxyisoflavone หรือ biochanin A. เมื่อเปรียบเทียบ ¹H-NMR และ ¹³C-NMR ของสาร 1 กับ biochanin (Talukdar และ

Table 3.2 The ^1H -NMR Chemical Shifts of Compound 1[#] and Biochanin A^{*}.

Proton Position	Chemical Shifts in ppm (Coupling Constant in Hz)	
	Compound 1	Biochanin A
2	8.15 (<i>s</i>)	8.20 (<i>s</i>)
5-OH	12.99 (<i>s</i>)	13.12 (<i>s</i>)
6	6.28 (<i>d</i> , $J = 2.10$)	6.32 (<i>d</i> , $J = 2.5$)
7-OH	9.60 (<i>s</i>)	9.80 (<i>s</i>)
8	6.40 (<i>d</i> , $J = 2.10$)	6.44 (<i>d</i> , $J = 2.5$)
2'	7.53 (<i>d</i> , $J = 8.40$)	7.40 (<i>d</i> , $J = 8$)
3'	6.98 (<i>d</i> , $J = 8.40$)	6.84 (<i>d</i> , $J = 8$)
4'-OCH ₃	3.83 (<i>s</i>)	3.84 (<i>s</i>)
5'	6.98 (<i>d</i> , $J = 8.40$)	6.84 (<i>d</i> , $J = 8$)
6'	7.53 (<i>d</i> , $J = 8.40$)	7.40 (<i>d</i> , $J = 8$)

[#]300 MHz ^1H , acetone d_6 ^{*}500 MHz ^1H , acetone d_6

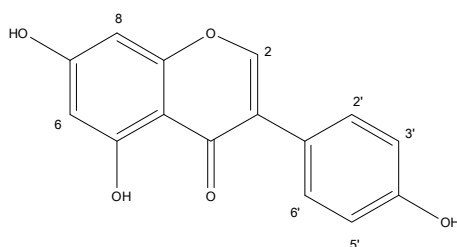
Table 3.3 The ^{13}C -NMR Chemical Shifts of Compound 1[#] and Biochanin A^{*}.

Carbon Position	Chemical Shifts in ppm	
	Compound 1	Biochanin A
2	153.82	154.2
3	123.20	121.9
4	180.94	180.1
5	163.31	162.0
6	99.28	99.0
7	164.37	164.4
8	93.90	93.7
9	158.42	157.6
10	105.58	104.4
1'	123.58	122.9
2'	130.46	130.1
3'	113.91	113.7
4'	160.08	159.1
5'	113.91	113.7
6'	130.46	130.1
4'-OCH ₃	54.97	55.1

[#]75 MHz ^1H , acetone d_6

^{*}125 MHz ^1H , acetone d_6

3.2 คุณสมบัติและโครงสร้างของสาร 2



รูปที่ 3.2 โครงสร้างของสารประกอบ 2

สารประกอบ 2 ที่ได้นั้นเป็นของแข็งสีขาว (0.0085 กรัมอัตราร้อยละผลผลิต 0.0004% จากผงแห้ง) UV-Vis spectrum แสดงให้เห็นแถบการดูดกลืน (λ_{max}) ที่ 254 และ 369 นาโนเมตร UV-Vis spectrum จากสารประกอบ 2 ซึ่งให้เห็นถึงความเป็นไปได้จะเป็นสารประกอบอนุพันธ์ flavonoid (Maria, Anna, Lorenzo, Giovanni, and Franco, 2007) IR spectrum แสดงให้เห็นแถบกว้างของกลุ่ม Hydroxy ที่ 3,000-3,500 cm^{-1} และแถบการดูดซึมที่ 1,659 cm^{-1} แสดงให้เห็นถึง α, β -unsaturated carbonyl carbon การเปรียบเทียบการดูดซึมแถบ IR จากสารประกอบ 2 กับ genistein (NIST, www, 2011) และแถบการดูดซึมอื่นๆ แสดงในตารางที่ 3.4

Table 3.4 IR Absorption Band Assignment of Compound 2.

Wave number (cm^{-1})		Assignment
Compound 2	genistein	
3000-3500	3000-3400	O-H Stretching
1659	1652	C=O Stretching
1622, 1576	1616, 1583	C=C Stretching
1286, 1255	1286, 1274	C-H Bending

$^1\text{H-NMR}$ spectrum จากสารประกอบ 2 แสดงให้เห็นถึงอะโรเมติกโปรตอน ที่ δ 6.28 ppm (1H, D, $J = 2.10$ Hz) และ 6.37 ppm (1H, D, $J = 2.10$ Hz) สำหรับ H-6 และ H-8 ในวงแหวนตำแหน่ง A นั้นพบ δ 7.53 ppm (2H, D, $J = 8.70$ Hz) สำหรับ H-2 และ H-6 พบ δ 6.89 ppm (2H, D, $J = 8.70$ Hz) สำหรับ H-3

$^{13}\text{C-NMR}$ Spectrum ของสาร 2 แสดงให้เห็นคาร์บอนสิบสามอะตอมสำหรับโครงสร้างลิบห้าอะตอมของคาร์บอน (ลักษณะ flavonoid) สารนี้มีกลุ่ม carbonyl ซึ่งพบ δ 181.24 ppm(C-4), เจ็ดคาร์บอน methine พบที่ δ 153.23 ppm (C-2), 130.37 ppm (C-2', C-6) 115.57 ppm (C-3', C-5), 99.46 (C-6) และ 94.18 (C-8) และคาร์บอนเจ็ดอะตอมที่ δ 164.57 ppm (C-7), 162.49 ppm (C-5) 158.56 ppm (C-4), 157.47 ppm (C-9), 123.86 ppm (C-1') 122.18 ppm (C-3) และ 105.54 ppm (C-10)

Mass Spectrum ของสาร 2 แสดงให้เห็นจุดสูงสุดของไอออนโมเลกุลที่ m/z 270 [M] และสูตรโมเลกุลที่พบนั้นเป็น $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_5$ โดย EIMS

จากโครงสร้างพื้นฐานเมื่อเปรียบเทียบกับข้อมูลที่มีการตีพิมพ์ สารประกอบ 2 นั้นคือสาร 5,7,4'-trihydroxyisoflavone หรือ genistein เมื่อเปรียบเทียบกับ $^1\text{H-NMR}$ และ $^{13}\text{C-NMR}$ ของสาร 2 กับรายงานที่มีก่อนหน้านี (Zhao, Zhang, Gao and Shao, 2009) ดังแสดงในตารางที่ 3.5 และ 3.6 ข้อมูลเหล่านี้แสดงให้เห็นว่าสาร 2 คือ genistein (รูปที่ 3.2)

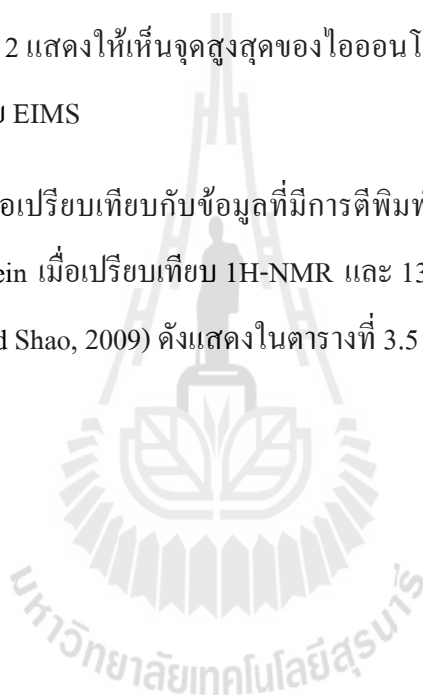


Table 3.5 The ^1H -NMR Chemical Shifts of Compound 2[#] and Genistein^{*}.

Proton Position	Chemical Shifts in ppm (Coupling Constant in Hz)	
	Compound 2	Genistein
2	7.92 (<i>s</i>)	8.10 (<i>s</i>)
5-OH	-	12.90 (<i>s</i>)
6	6.28 (<i>d</i> , $J = 2.10$)	6.23 (<i>d</i> , $J = 1.9$)
7-OH	-	10.86 (<i>s</i>)
8	6.37 (<i>d</i> , $J = 2.10$)	6.36 (<i>d</i> , $J = 1.9$)
2'	7.35 (<i>d</i> , $J = 8.70$)	7.37 (<i>d</i> , $J = 8.4$)
3'	6.89 (<i>d</i> , $J = 8.70$)	6.82 (<i>d</i> , $J = 8.4$)
4'-OH	-	9.57 (<i>s</i>)
5'	6.89 (<i>d</i> , $J = 8.70$)	6.82 (<i>d</i> , $J = 8.4$)
6'	7.35 (<i>d</i> , $J = 8.70$)	7.37 (<i>d</i> , $J = 8.4$)

[#]300 MHz ^1H , $\text{CD}_3\text{OD} + \text{CDCl}_3$

^{*}500 MHz ^1H , $\text{DMSO}-d_6$

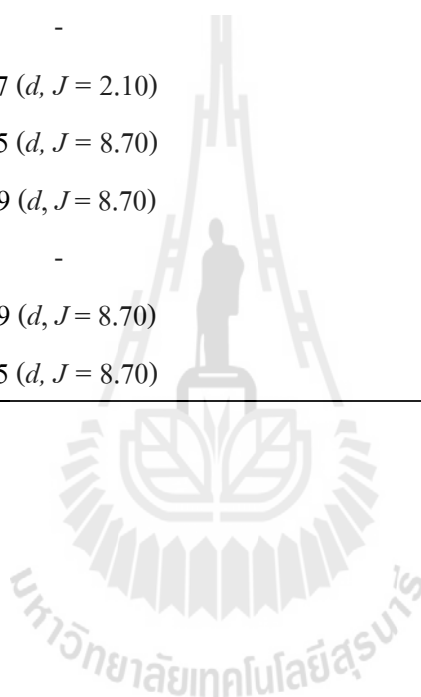


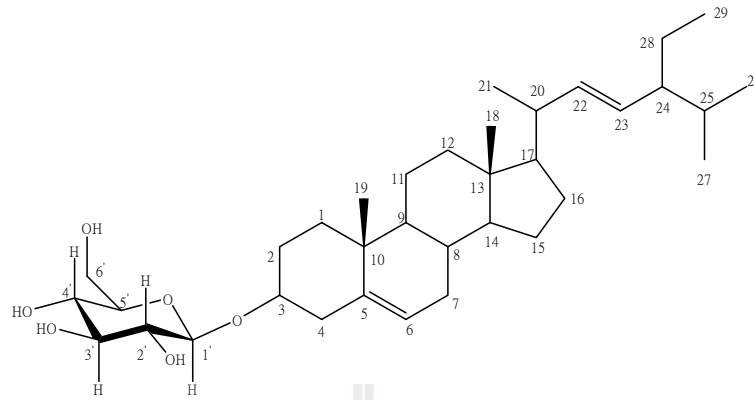
Table 3.6 The ^{13}C -NMR Chemical Shifts of Compound 2[#] and Genistein^{*}.

Carbon Position	Chemical Shifts in ppm (Coupling Constant in Hz)	
	Compound 2	Genistein
2	153.23	154.2
3	122.18	121.5
4	181.24	180.6
5	162.49	162.3
6	99.46	99.1
7	164.57	164.6
8	94.19	94.6
9	157.47	157.7
10	105.54	104.8
1'	123.86	122.6
2'	130.37	130.3
3'	115.57	113.4
4'	158.56	157.8
5'	115.57	115.4
6'	130.37	130.3
4'-OCH ₃	54.97	55.1

[#]75 MHz ^1H , CD₃OD+CDCl₃

^{*}125 MHz ^1H , DMSO-*d*₆

3.3 คุณสมบัติและโครงสร้างของสาร 3



รูปที่ 3.3 โครงสร้างของสาร 3

สารประกอบ 2 ที่ได้นั้นเป็นของแข็งสีขาว (0.0127 กรัมอัตราร้อยละผลผลิต 0.0006% จากผงแห้ง) IR Spectrum ของสารนี้แสดงให้เห็นแถบการดูดซึมที่กว้างของกลุ่ม Hydroxy ที่ $3,200-3,500 \text{ cm}^{-1}$ การเปรียบเทียบการดูดซึมแถบ IR จากสารประกอบ 3 กับ stigmasterol-3-O- β -D-glucopyranoside (NIST, www, 2011) และแถบการดูดซึมอื่นๆ แสดงในตารางที่ 3.7

Table 3.7 IR Absorption Band Assignment of Compound 3.

Compound 3	Wave number (cm ⁻¹) stigmasteryl-3-O-β-D-glucopyranoside	Assignment
3500-3200	3476-2944	O-H Stretching
1640	1646	C=C Stretching
1250	1214	C-O Stretching
1160	1168	C-O Stretching

¹H-NMR spectrum และ DEPT ¹³C-NMR Spectrum จากสาร 3 แสดงให้เห็นถึง olefinic โปรตอน 3 อะตอม ที่ δ 5.37 ppm (m, H-6), 5.10 ppm (dd, J = 15.20, 8.80, H-22) และ 5.08 ppm (dd, J = 15.20, 8.80, H-23) พบกลุ่ม methyl 6 กลุ่ม โดยจะส่งสัญญาณที่ δ 0.70 ppm (s, Me-18), δ 0.97 ppm (m, Me-19), δ 0.95 ppm (m, Me-21), 0.95 ppm (m, Me-26, Me -27) และ 0.90 ppm (m, Me-29) นอกจากนี้ยังพบสัญญาณของ β-anomeric โปรตอน ของกลุ่ม glucopyranosyl ที่ δ 4.08 (m, H-2 ') δ 4.30 (m, H-3') δ 4.30 (m, H-4 ') δ 4.00 (m, H-5' ppm) และพบคาร์บอนที่ 103.1δ (C-1) และ 4.43δ (m, H-6), 75.8 (C-2), 79.1 (C- ppm 3) 72.2 (C-4), 79.0 (C-5) และ 63.4 (C-6)

เมื่อเปรียบเทียบ ¹H-NMR และ ¹³C-NMR ของสาร 3 กับ stigmasteryl-3-O-β-D-glucopyranoside (Alam, Chopra, Ali, and Niwa, 1996) แสดงในตารางที่ 3.8 และ 3.9

Table 3.8 The $^1\text{H-NMR}$ Chemical Shifts of Compound 3[#] and Stigmasteryl-3-*O*- β -D-glucopyranoside*.

Proton Position	Chemical Shifts in ppm (Coupling Constant in Hz)	
	Compound 3	Stigmasteryl-3- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside
1 α	1.00 (<i>m</i>)	0.99
1 β	1.75 (<i>m</i>)	1.81
1'	5.07 (<i>d</i> , $J = 7.70$)	4.21
2 α	1.75 (<i>m</i>)	0.90
2 β	2.15 (<i>m</i>)	1.27
2'	4.08 (<i>m</i>)	3.46
2'-OH	7.07 (<i>br, d</i> , $J = 4.00$)	
3	4.00 (<i>m</i>)	3.47
3'	4.30 (<i>m</i>)	3.40
3'-OH	7.13 (<i>br</i>)	
4 α	2.50 (<i>m</i>)	1.14
4 β	2.75 (<i>m</i>)	1.78
4'	4.30 (<i>m</i>)	3.11
4'-OH	7.13 (<i>br</i>)	
5'	4.00 (<i>m</i>)	3.62
6	5.37 (<i>br, m</i>)	5.32
6 α	4.43 (<i>m</i>)	4.21
6 β	4.58 (<i>m</i>)	4.41
6'-OH	6.40 (<i>br, t</i> , $J = 6.20$)	
7 α	1.60 (<i>m</i>)	1.48
7 β	1.90 (<i>m</i>)	
8	1.40 (<i>m</i>)	1.49
9	0.95 (<i>m</i>)	0.91
11	1.40 (<i>m</i>)	1.18

Table 3.8 (Continued).

Proton Position	Chemical Shifts in ppm (Coupling Constant in Hz)	
	Compound 3	Stigmasteryl-3- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside
12 β	2.00 (<i>m</i>)	1.96
12 α	1.15 (<i>m</i>)	1.14
14	0.95 (<i>m</i>)	1.07
15	1.25 (<i>m</i>)	1.03
16 α	1.30 (<i>m</i>)	1.64
16 β	1.85 (<i>m</i>)	1.79
17	1.15 (<i>m</i>)	1.04
18	0.70 (<i>s</i>)	0.64
19	0.97 (<i>m</i>)	1.00
20	1.45(<i>m</i>)	1.31
21	0.95 (<i>m</i>)	0.98
22	5.10 (<i>dd</i> , <i>J</i> = 15.20, 8.80)	5.15
23	5.08 (<i>dd</i> , <i>J</i> = 15.30, 8.80)	5.01
24	1.60 (<i>m</i>)	0.92
25	1.75 (<i>m</i>)	1.44
26	0.95 (<i>m</i>)	0.89
27	0.95 (<i>m</i>)	0.81
28	1.30 (<i>m</i>)	1.05
29	0.90 (<i>m</i>)	0.82

[#]300 MHz ¹H, pyridine *d*₅; ^{*}600 MHz ¹H, DMSO *d*₆ with TMS

Table 3.9 The ^{13}C -NMR Chemical Shifts of Compound 3 and Stigmasteryl-3-*O*- β -D-glucopyranoside.

Carbon Position	Chemical Shifts in ppm	
	Compound 3	stigmasteryl-3- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside
1	37.4	38.3
1'	103.1	100.8
2	30.8	33.3
2'	75.8	70.1
3	78.6	76.9
3'	79.1	76.7
4	39.9	46.8
4'	72.2	73.4
5	141.4	140.4
5'	78.9	76.7
6	122.4	121.1
6'	63.4	61.0
7	32.7	31.3
8	32.6	31.4
9	50.9	49.6
10	37.4	36.2
11	21.8	22.6
12	40.5	39.6

Table 3.9 (Continued).

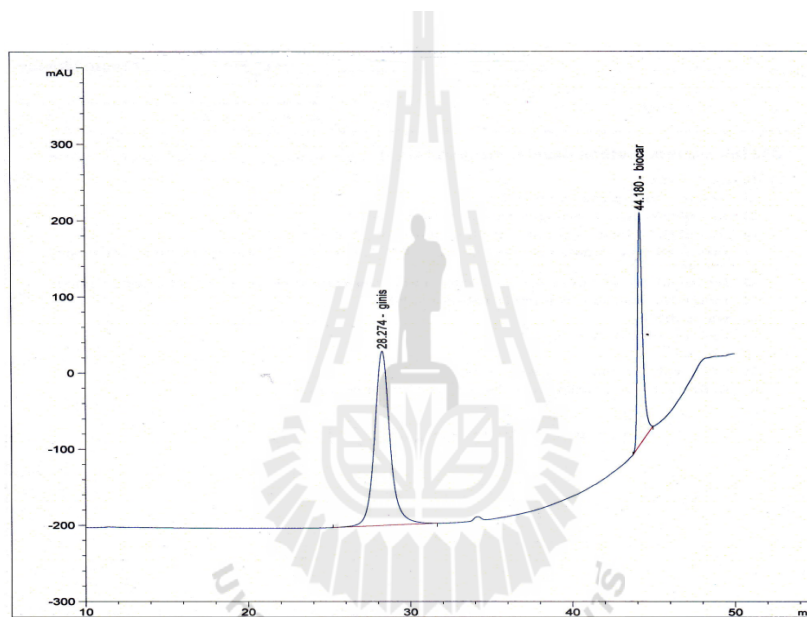
Carbon Position	Chemical Shifts in ppm	
	Compound 3	Stigmasteryl-3- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside
13	42.9	40.0
14	57.3	56.2
15	26.9	24.8
16	29.3	29.2
17	56.8	56.1
18	12.5	11.8
19	19.9	19.0
20	40.5	35.4
21	21.8	18.8
22	139.3	138.0
23	130.3	128.8
24	51.9	45.1
25	30.0	31.3
26	19.7	19.6
27	19.5	18.9
28	23.9	23.8
29	13.0	11.6

[#]75 MHz ¹H, pyridine-*d*₅; * 150 MHz ¹³C, DMSO-*d*₆ with TMS

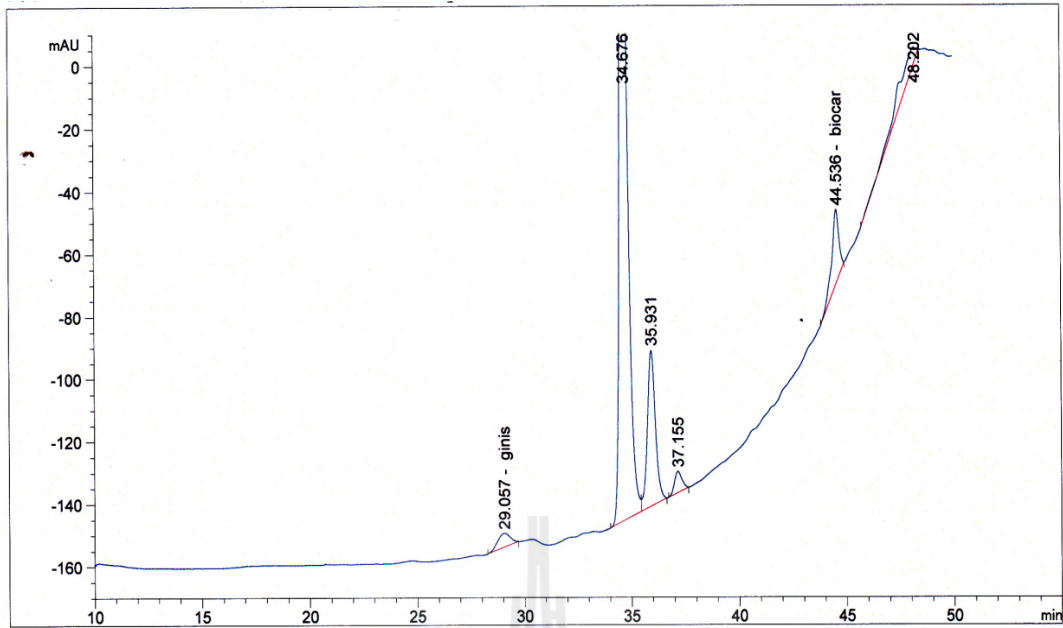
จากข้อมูลข้างต้นเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยก่อนๆ นั้นบ่งชี้ว่าสารประกอบ 3 คือ stigmasteryl-3-*O*- β -D-glucopyranoside (รูปที่ 3.3)

3.4 เส้นโค้งเปรียบเทียบของไอโซฟลาโวนอยด์มาตรฐาน

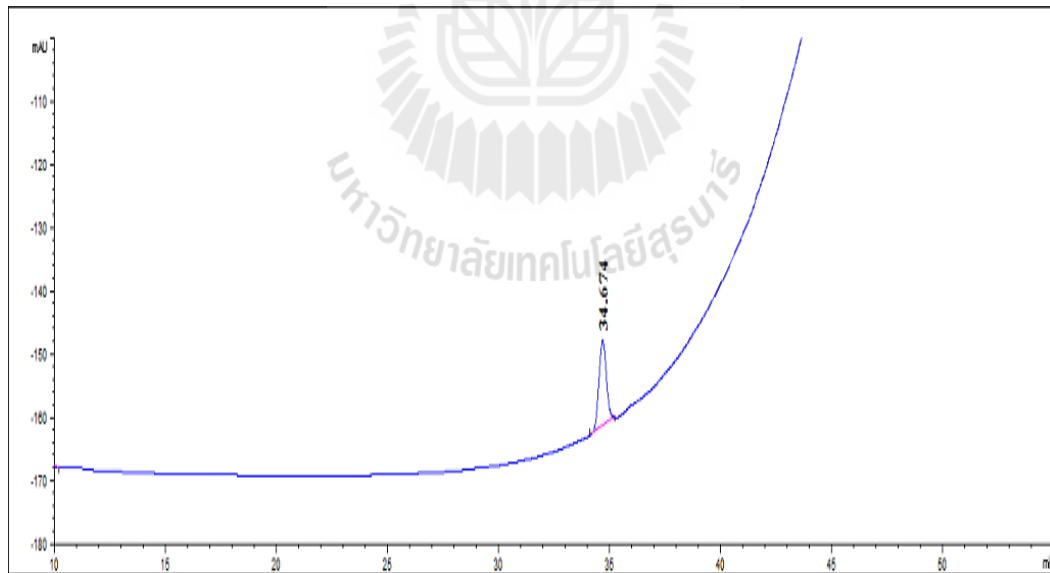
จากการวิเคราะห์สารไอโซฟลาโวนอยด์มาตรฐานด้วยวิธี HPLC นั้นพบว่าเส้นโค้งเปรียบเทียบของสารทั้งหมดนั้นมีความเป็นเส้นตรงที่สูง โดยมีค่า $R^2 = 0.995$ ซึ่งสามารถนำไปวิเคราะห์ไอโซฟลาโวนอยด์ในรากของ *Butea superba* ได้ จากการศึกษาที่จำกัดปริมาณสารที่ 0.5 มก./100 กรัมสามารถแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างของ ไอโซฟลาโวนอยด์ในรากของ *Butea superba* ได้ ซึ่งจะสามารถใช้ในการตรวจสอบรากของ *Butea superba* ว่ามีปริมาณไอโซฟลาโวนอยด์ที่สูงได้



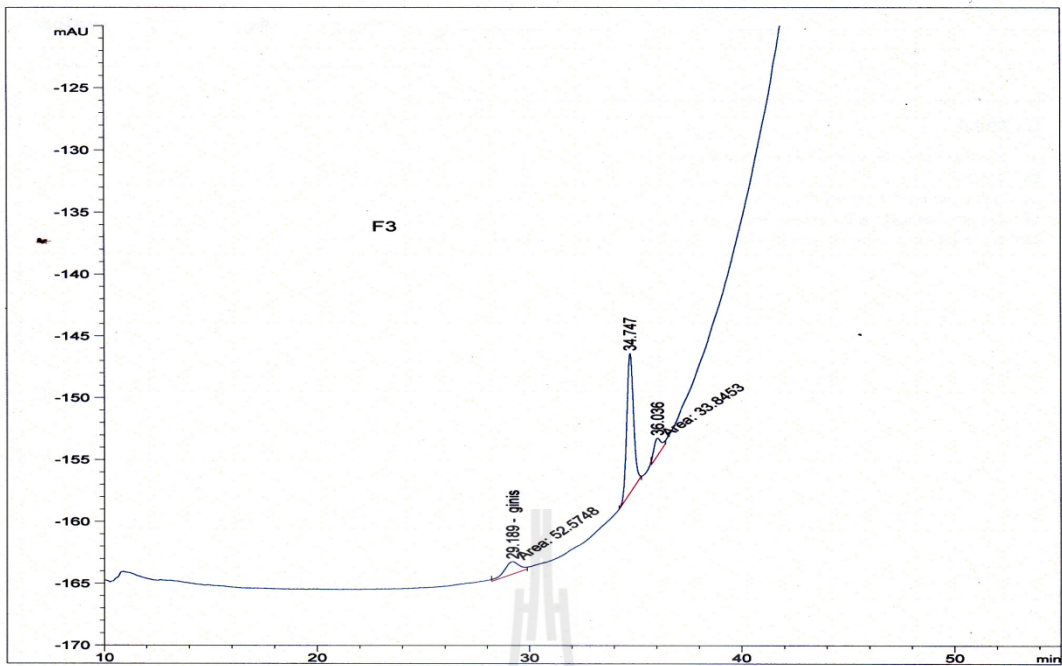
รูปที่ 3.4 แสดงผลจากการวิเคราะห์ ฟลาโวนอยด์ซึ่งแยกจากรากของ *Butea superba* แสดงกราฟมาตรฐานของ genistein และ biochanin โดยวิธี HPLC



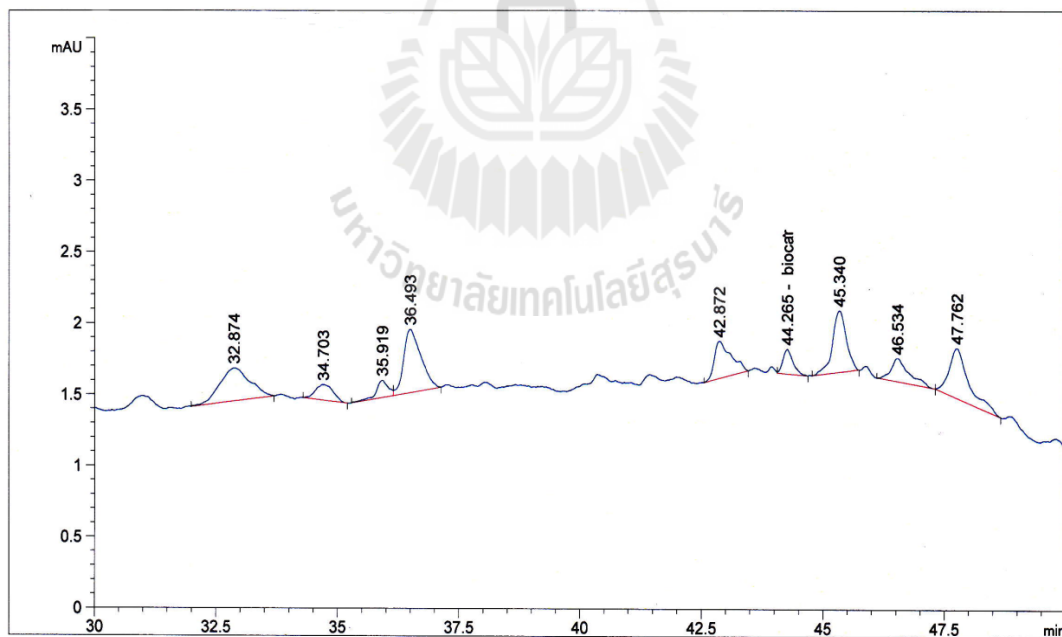
รูปที่ 3.5 แสดงผลจากการวิเคราะห์ในสารสกัดหยาบ ซึ่งแยกฟลาโวนอยด์จากรากของ *Butea superba* โดยวิธี HPLC



รูปที่ 3.6 แสดงผลจากการวิเคราะห์ในแฟลกซ์ B ซึ่งแยกฟลาโวนอยด์จากรากของ *Butea superba* โดยวิธี HPLC



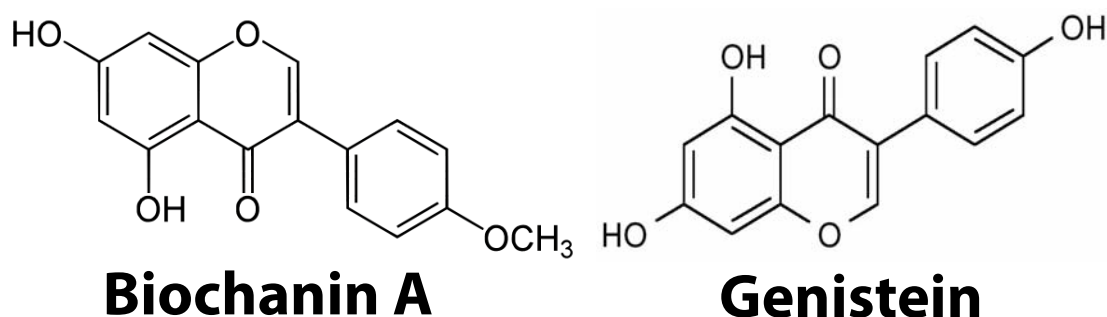
รูปที่ 3.7 แสดงผลจากการวิเคราะห์ในเฟลคชัน C ซึ่งแยกฟลาโวนอยด์จากรากของ *Butea superba* โดยวิธี HPLC



รูปที่ 3.8 แสดงผลจากการวิเคราะห์ในเฟลคชัน E ซึ่งแยกฟลาโวนอยด์จากรากของ *Butea superba* โดยวิธี HPLC

3.4.1 คุณภาพและปริมาณของสารสกัดหยาบและแฟลกซันจาก *Butea superba*

สารสกัดหยาบและแฟลกซันที่ป้อนให้กับหนูนั้นได้ถูกนำมาวิเคราะห์ คุณภาพและปริมาณนั้น มีดังต่อไปนี้; สารสกัดหยาบปริมาณ 375 กรัม ซึ่งแยกได้จากผงแห้งของราก *Butea superba* ปริมาณ 25 กก. ซึ่งคิดเป็นอัตราผลผลิตที่ร้อยละ 1.5% (w/w) ซึ่งคำนวณจากผงแห้งที่ได้ สารสกัดหยาบที่ถูกละลายในน้ำกลั่นนั้นจะถูกป้อนให้กับหนูในปริมาณ 1,250 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน ซึ่งในสารสกัดหยาบที่ให้ไปจะมีปริมาณของ Genistein 53.57 ไมโครกรัม, Biochanin A 312.95 ไมโครกรัมและสารที่ไม่รู้สารที่ 1 (Un1) 396.59 ไมโครกรัม, แฟลกซัน B นั้นแยกจากสารสกัดหยาบ 375 กรัมโดยการชะล้าง ซึ่งได้อัตราผลผลิตที่ร้อยละ 0.022% (w/w) จากผงแห้ง แฟลกซัน B (FRB) นั้นได้ถูกป้อนให้กับหนูในปริมาณ 40 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน ซึ่งในสารที่ให้ไปนั้นจะประกอบไปด้วยสารที่ไม่รู้สารที่ 1 (Un1) 1,260.00 ไมโครกรัม, แฟลกซัน C นั้นแยกจากสารสกัดหยาบ 375 กรัมโดยการชะล้าง ซึ่งได้อัตราผลผลิตที่ร้อยละ 0.030% (w/w) จากผงแห้ง แฟลกซัน C (FRC) นั้นได้ถูกป้อนให้กับหนูในปริมาณ 50 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน ซึ่งในสารที่ให้ไปนั้นจะประกอบไปด้วยสาร Genistein 6.78 ไมโครกรัมและสารที่ไม่รู้สารที่ 1 (Un1) 31.59 ไมโครกรัม, นอกจากนี้ แฟลกซัน E ก็ได้ถูกแยกออกสารสกัดหยาบในปริมาณที่เท่ากันโดยวิธีการชะล้าง ซึ่งได้อัตราผลผลิตที่ร้อยละ 0.054% (w/w) จากผงแห้ง แฟลกซัน E (FRE) ที่ป้อนให้หนูในขนาด 150 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน นั้นประกอบด้วย Biochanin A 66.92 ไมโครกรัมซึ่งเป็นสารประกอบหลักและมีสารประกอบที่ไม่รู้สารอีก 9 สาร โครงสร้างของสารประกอบที่แยกได้จากรากของ *Butea superba* นั้นจะแสดงในรูปที่ 3.8 สารประกอบที่ไม่รู้สาร 1 ที่มีอยู่ในแฟลกซัน B นั้นจะมีค่ารีเทนชันไทม์เท่ากับ 34.674 นาที (รูปที่ 3.6) ซึ่งจะมีการวิเคราะห์หาชนิดของสารด้วยวิธี GC-MS ในภายหลัง

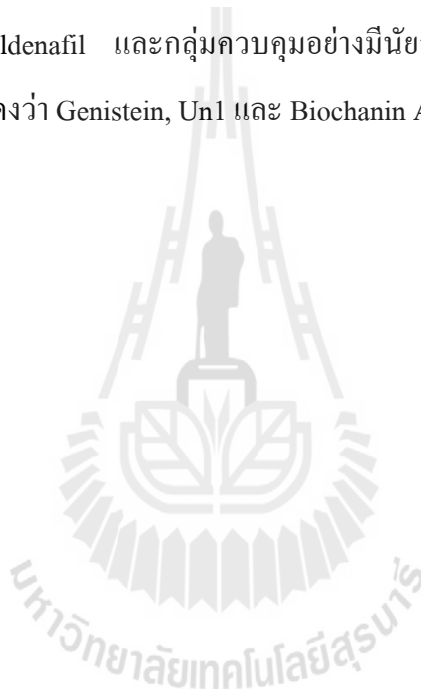


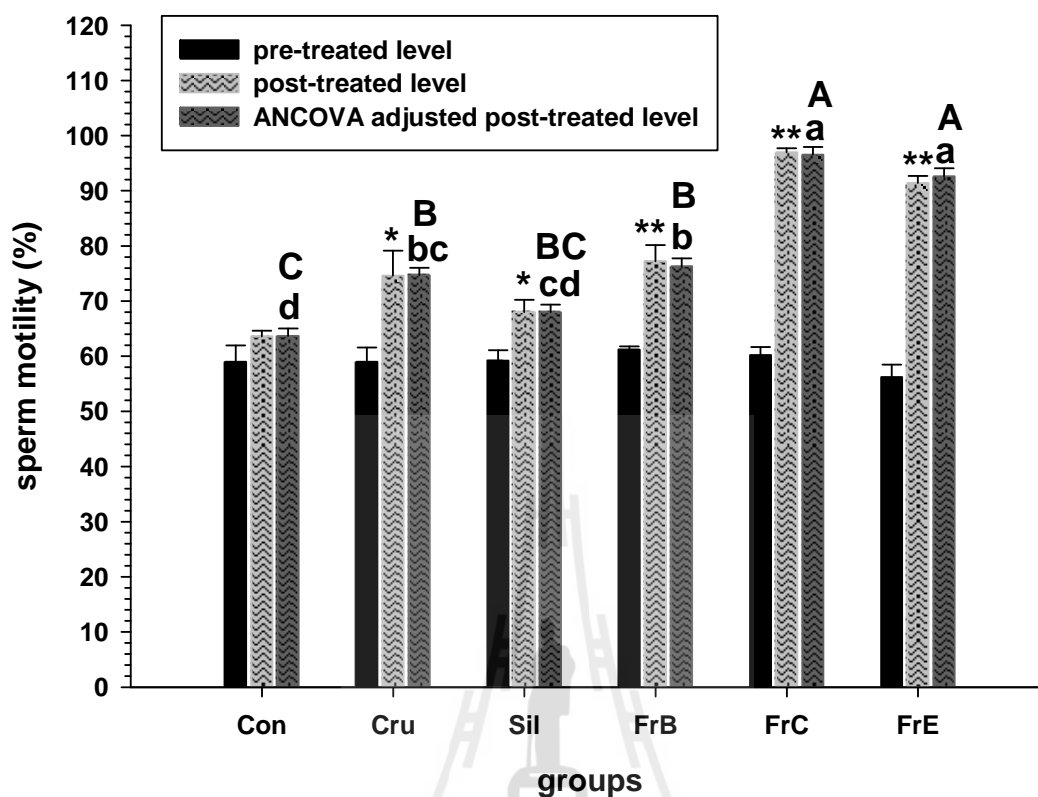
รูปที่ 3.9 โครงสร้างสารประกอบที่แยกได้จากรากของ *Butea superba*

3.5 การวิเคราะห์หาการเคลื่อนที่ของอสุจิและปริมาณของอสุจิ

3.5.1 การเคลื่อนที่ของอสุจิ

ผลร้อยละการเคลื่อนที่ของอสุจิของสารสกัดจากรากของ *Butea superba* และ Sildenafil ของหนูนั้น ถูกแสดงไว้ในรูปที่ 3.10 ผลนั้นแสดงให้เห็นว่าการเคลื่อนที่ของอสุจิหลังจากการให้สารเปรียบเทียบกับก่อนการให้สารในทุกกลุ่มการทดลองยกเว้นกลุ่มควบคุม นั้นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) นอกจากนี้การเคลื่อนที่ของอสุจิที่มากที่สุดนั้นจะพบในกลุ่มที่ได้รับแฟลกซัน C และ E เมื่อเทียบกับกลุ่มอื่นซึ่งรวมไปถึงกลุ่มที่ได้รับ Sildenafil ($p < 0.01$) นอกจากนี้การเคลื่อนที่ของกลุ่มที่ได้รับแฟลกซัน B นั้นก็มีการเคลื่อนที่ของอสุจิที่มากกว่ากลุ่มที่ได้รับ Sildenafil และกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) อีกด้วยจากผลการศึกษานี้ นั้นเป็นหลักฐานที่แสดงว่า Genistein, Un1 และ Biochanin A อาจจะมีบทบาทสำคัญในการเพิ่มการเคลื่อนที่ของอสุจิได้

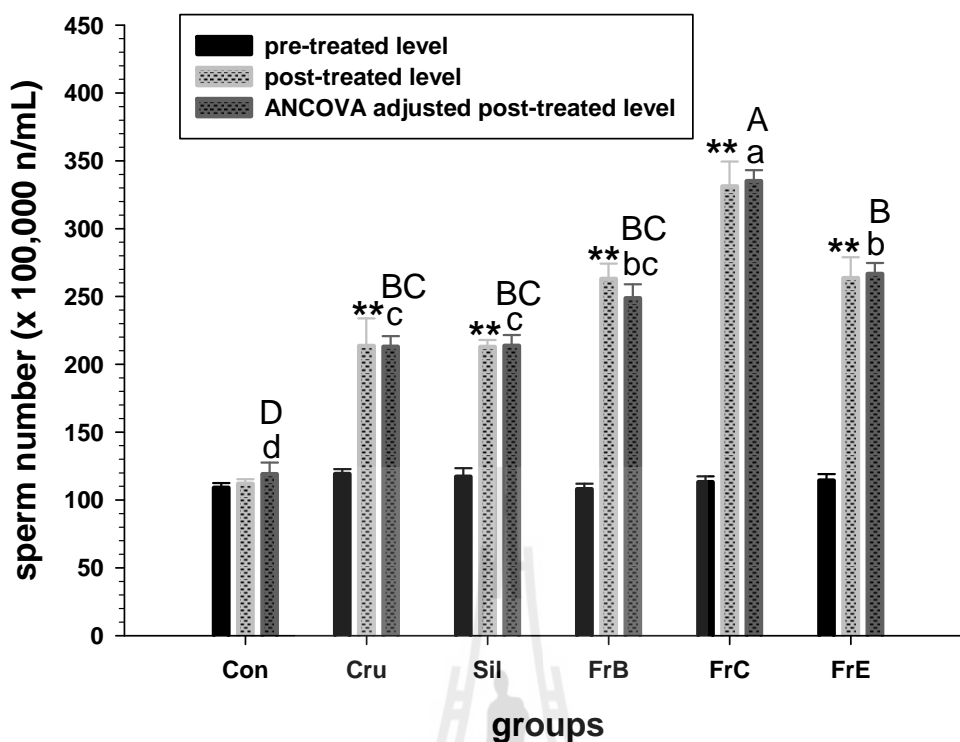




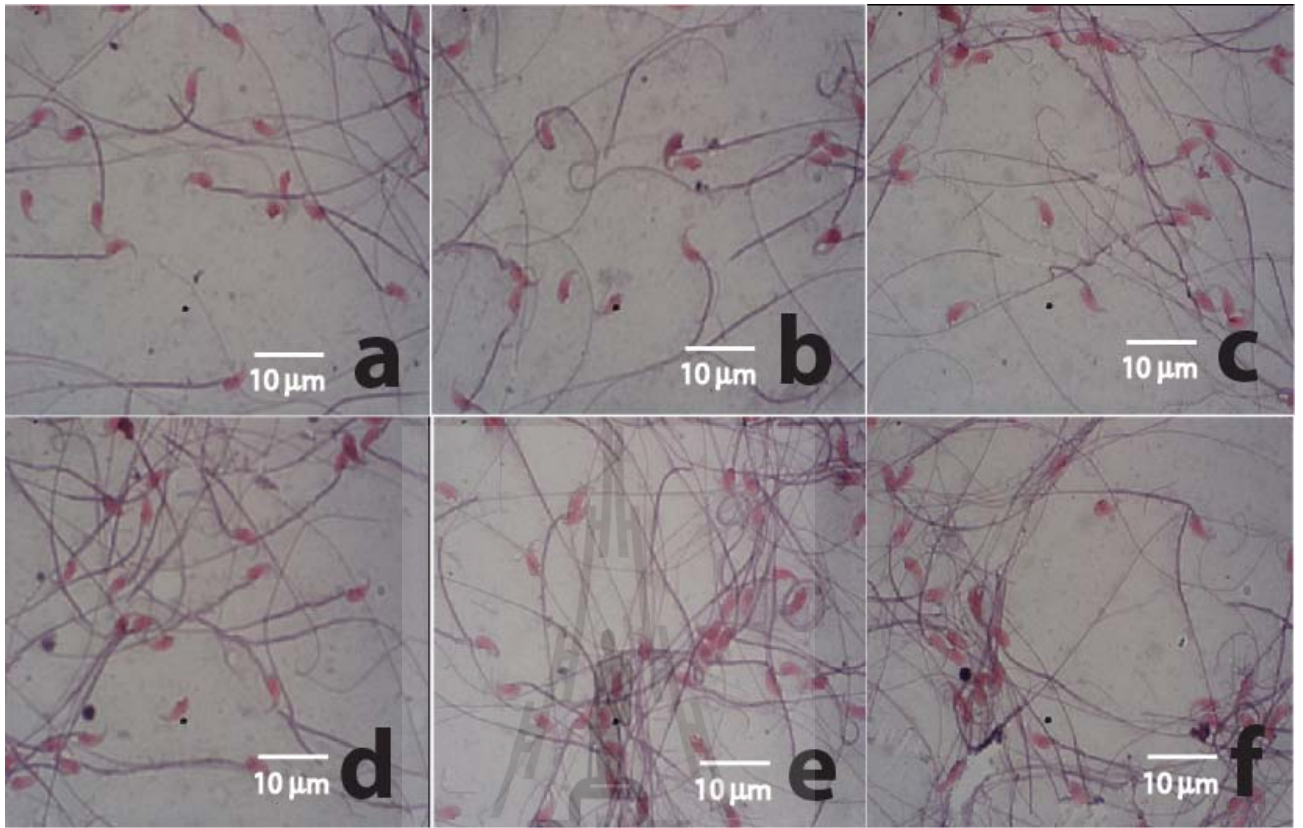
รูปที่ 3.10 ผลของสารสกัดจากรากของ *Butea superba* และ Sildenafil ต่อร้อยละการเคลื่อนที่ของอสุจิของหนูทดลอง Con = กลุ่มควบคุม ใ้รับน้ำกลั่น 0.5 มล./กก. น้ำหนักตัว/วัน, Cru = สารสกัดหยาบ 1,250 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน, Sil = Sildenafil 10 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน, FrB = แพลกชัน B 40 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน (Un1 1,260 ไมโครกรัม), FrC = แพลกชัน C 50 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน (6.78 Genistein ไมโครกรัม, Un1 31.59 ไมโครกรัม), FrE = แพลกชัน E 150 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน (Biochanin A 66.92 ไมโครกรัม, 9 สารประกอบที่ไม่ทราบชนิด) ทุกกลุ่มได้รับสารเป็นเวลา 14 วัน ใช้สถิติ Paired student T-test ในการทดสอบระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างก่อนและหลังการทดสอบโดย * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$ ความแตกต่างระหว่างกลุ่มการวิเคราะห์นั้นจะใช้การปรับระดับค่าเฉลี่ยเพื่อลดความแปรปรวนหลังจากการทดลองด้วย ANCOVA และใช้ Tukey HSD ในการทดสอบระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในแต่ละกลุ่มโดย ^a = $p < 0.05$, ^A = $p < 0.01$

3.5.2 จำนวนอสุจิ และลักษณะทางสัณฐานวิทยา

จากรูปที่ 3.11 จะแสดงให้เห็นถึงผลของสารสกัดจากรากของ *Butea superba* และ Sildenafil ต่อจำนวนอสุจิ ($\times 100,000$ m/ml) ของหนู ผลลัพธ์นั้นแสดงให้เห็นว่าจำนวนอสุจิในทุกกลุ่มยกเว้นกลุ่มควบคุมนั้นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญหลังจากการได้รับสาร ($p < 0.01$) นอกจากนี้ กลุ่มที่ได้รับแฟลกชัน C มีจำนวนอสุจิที่สูงที่สุดเมื่อเทียบกับกลุ่มอื่นๆ และจำนวนอสุจิของกลุ่มที่ได้รับสารสกัดหยาบ, Sildenafil, แฟลกชัน B และแฟลกชัน E นั้นสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของอสุจิในกลุ่มทดลองทุกกลุ่มนั้นแสดงให้เห็นถึงลักษณะที่ปกติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (รูปที่ 20) ซึ่งผลการทดลองนี้นั้นจะสอดคล้องกับงานวิจัยของ Manosroi et al. (2006) ที่พบว่าปริมาณอสุจิในหนูเพศผู้ที่ได้รับสารสกัดหยาบจากรากของ *Butea superba* 1,250 มก./กก. นั้นจะมีปริมาณอสุจิที่สูงกว่ากลุ่มควบคุม 16% ในความเป็นจริงจากการทดลองนั้นพบว่าผลปริมาณอสุจินั้นสอดคล้องกับผลการเคลื่อนที่ของอสุจิ ซึ่งผลการทดลองนี้นั้นสามารถแสดงให้เห็นได้ว่าแฟลกชัน C และ E นั้นสามารถเพิ่มจำนวนและการเคลื่อนที่ของอสุจิได้



รูปที่ 3.11 ผลของสารสกัดจากรากของ *Butea superba* และ Sildenafil ต่อจำนวนอสุจิ (x100,000 n / ml) ของหนูทดลอง Con = กลุ่มควบคุม ได้รับน้ำกลั่น 0.5 มล./กก. น้ำหนักตัว/วัน, Cru = สารสกัดหยาบ 1,250 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน, Sil = Sildenafil 10 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน, FrB = แพลกชั้น B 40 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน (Un1 1,260 ไมโครกรัม), FrC = แพลกชั้น C 50 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน (6.78 Genistein ไมโครกรัม, Un1 31.59 ไมโครกรัม), FrE = แพลกชั้น E 150 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน (Biochanin A 66.92 ไมโครกรัม, 9 สารประกอบที่ไม่ทราบชนิด) ทุกกลุ่มได้รับสารเป็นเวลา 14 วัน ใช้สถิติ Paired student T-test ในการทดสอบระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างก่อนและหลังการทดสอบโดย * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$ ความแตกต่างระหว่างกลุ่มการวิเคราะห์นั้นจะใช้การปรับระดับค่าเฉลี่ยเพื่อลดความแปรปรวน หลังจากการทดลองด้วย ANCOVA และใช้ Tukey HSD ในการทดสอบระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในแต่ละกลุ่ม โดย ^a = $p < 0.05$, ^A = $p < 0.01$



รูปที่ 3.12 ภาพถ่ายโครงสร้างในระดับจุลภาคลักษณะทางสัณฐานวิทยาตัวอสุจิของหนู; a = กลุ่มควบคุมได้รับน้ำกลั่น 0.5 มล./กก.น้ำหนักตัว/วัน, b = สารสกัดหยาบ 1,250 มก./กก.น้ำหนักตัว/วัน, c = Sildenafil 10 มก./กก.น้ำหนักตัว/วัน, d = แพลทชีน B 40 มก./กก.น้ำหนักตัว/วัน(Un1 1,260 ไมโครกรัม), e = แพลทชีน C 50 มก./กก.น้ำหนักตัว/วัน(6.78 Genistein ไมโครกรัม,Un1 31.59 ไมโครกรัม), f = แพลทชีน E 150 มก./กก.น้ำหนักตัว/วัน(Biochanin A 66.92 ไมโครกรัม,9 สารประกอบที่ไม่ทราบชนิด) ทุกกลุ่มได้รับสารเป็นเวลา 14 วันภาพถ่ายโครงสร้างในระดับจุลภาคทุกภาพนั้นใช้กำลังขยาย 100 เท่า, แถบที่แสดง = 10 ไมโครเมตร

3.6 โลหิตวิทยาและสารเคมีในเลือด

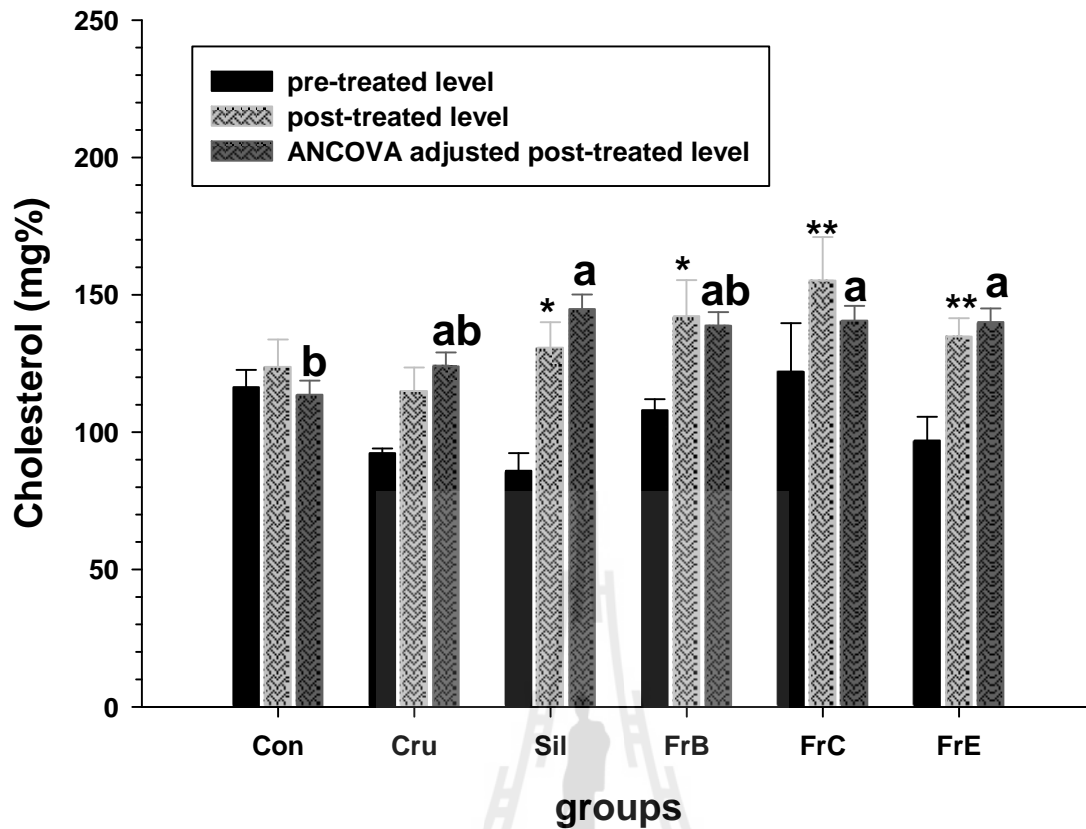
ผลลัพธ์ทางโลหิตวิทยาและสารเคมีในเลือดนั้นแสดงในตารางที่ 3.10 และรูปที่ 3.13-3.16 ระดับคอเลสเตอรอลหลังจากที่ได้รับสารในกลุ่มสารสกัดหยาบ, แพลกชัน B, C, และ E นั้นสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับก่อนได้รับสารที่ $p < 0.05$, < 0.05 , < 0.01 และ < 0.01 ตามลำดับ ระดับคอเลสเตอรอลหลังจากได้รับสารแพลกชัน C, E และ Sildenafil นั้นสูงขึ้นกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ในขณะที่ระดับฮีโมโกลบินของกลุ่มที่ได้รับ Sildenafil และกลุ่มที่ได้รับสารสกัดหยาบนั้นต่ำลงจากก่อนการได้รับสารอย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.01$ และ 0.05 ตามลำดับ ถึงแม้ว่าระดับฮีโมโกลบินกลุ่มที่ได้รับแพลกชัน E นั้นจะสูงกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับสารสกัดหยาบอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) จากผลการทดลองนั้นพบว่ามีเพียงกลุ่มที่ได้รับ Sildenafil ที่มีระดับฮีมาโตคริตต่ำลงกว่าตอนก่อนได้รับสารอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$) ถึงแม้ว่าระดับฮีมาโตคริตของกลุ่มที่ได้รับสารทุกกลุ่มและกลุ่มควบคุมนั้นไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$) นอกจากนี้ระดับ PMN ของกลุ่มที่ได้รับแพลกชัน B และ C นั้นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับก่อนการให้สารที่ $p < 0.05$ และ 0.01 ตามลำดับ อย่างไรก็ตามระดับของ PMN ที่เพิ่มขึ้นนั้นไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$) ในทำนองเดียวกันกับระดับ MCHC ของกลุ่มที่ได้รับแพลกชัน C นั้นจะสูงขึ้นเมื่อเทียบกับก่อนได้รับสารอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แต่ก็ไม่ได้ต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ นอกเหนือจากนี้ระดับ MPV ในกลุ่มที่ได้รับแพลกชัน E, Sildenafil และกลุ่มควบคุมนั้นมีระดับที่สูงขึ้นเมื่อเทียบกับก่อนได้รับสารอย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$ ในขณะที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดหยาบ นอกจากนี้ระดับ MPV ของกลุ่มที่ได้รับสารสกัดหยาบและ Sildenafil นั้นต่ำกว่ากลุ่มอื่นๆซึ่งรวมไปถึงกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) อีกด้วยผลการทดลองนี้ไม่น่าสอดคล้องกับงานวิจัยของ Cherdshewasart et al, (2008) ที่ได้ผลว่าการให้ผง *Butea superba* ในหนูเพศผู้ที่ขนาด 200 มก./กก. น้ำหนักตัว/วันนั้น ไม่ได้เปลี่ยนระดับคอเลสเตอรอลเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งจากผลการทดลองนี้นั้นแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจาก *Butea superba* และ Sildenafil ในขนาดทดลองนี้นั้นสามารถเพิ่มระดับคอเลสเตอรอลและเพิ่มปริมาณฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนในกลุ่มที่ได้รับแพลกชัน C และ E ซึ่งอาจจะเกิดจากเหตุผลที่ว่าร่างกายนั้นเตรียมคอเลสเตอรอลสำหรับเป็นสารตั้งต้นในการสร้างฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน (Maqdasy, et al, 2013. Midzak et al. 2009)

ตารางที่ 3.10 ผลทางโลหิตวิทยาและสารเคมีในเลือดของหนู จากสารสกัดจากรากของ *Butea superba* และ Sildenafil Con = กลุ่มควบคุม ได้รับน้ำกลั่น 0.5 มล./กก. น้ำหนักตัว/วัน, Cru = สารสกัดหยาบ 1,250 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน, Sil = Sildenafil 10 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน, FrB = แพลกชัน B 40 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน (Un1 1,260 ไมโครกรัม), FrC = แพลกชัน C 50 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน (6.78 Genistein ไมโครกรัม, Un1 31.59 ไมโครกรัม), FrE = แพลกชัน E 150 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน (Biochanin A 66.92 ไมโครกรัม, 9 สารประกอบที่ไม่ทราบชนิด) ทุกกลุ่มได้รับสารเป็นเวลา 14 วัน ใช้สถิติ Paired student T-test ในการทดสอบระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างก่อนและหลังการทดสอบโดย * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$ ความแตกต่างระหว่างกลุ่มการวิเคราะห์นั้นจะใช้การปรับระดับค่าเฉลี่ยเพื่อลดความแปรปรวนหลังจากการทดลองด้วย ANCOVA และใช้ Tukey HSD ในการทดสอบระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในแต่ละกลุ่มโดย ^a = $p < 0.05$, ^A = $p < 0.01$

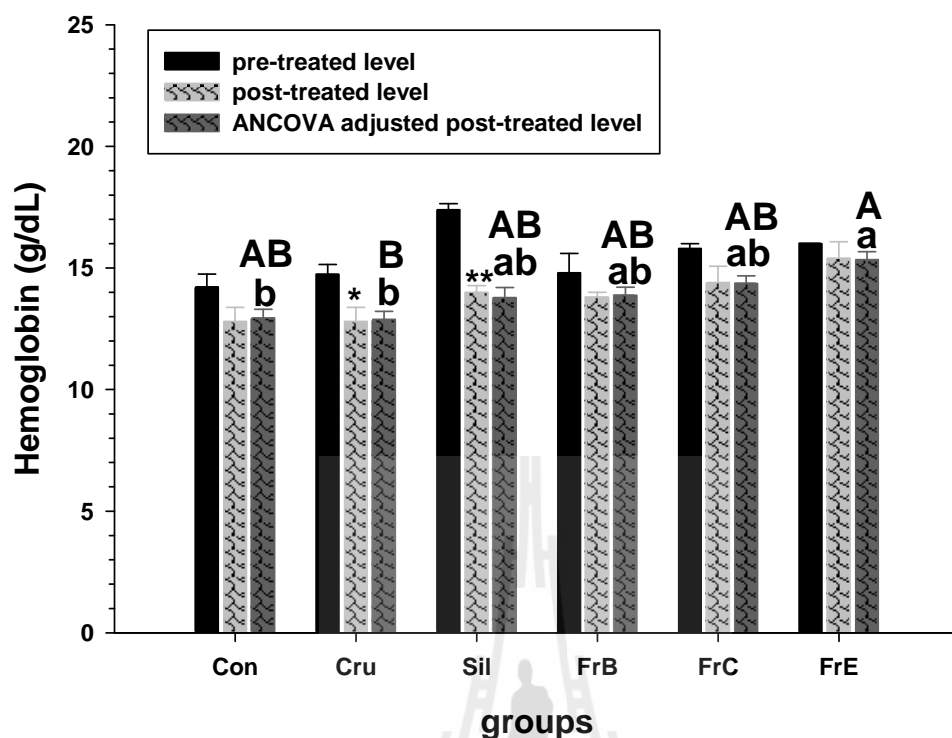
Parameter	Con		Cru		Sil		FrB		FrC		FrE	
	Pre-test	Pos-test	Pre-test	Pos-test	Pre-test	Pos-test	Pre-test	Pos-test	Pre-test	Pos-test	Pre-test	Pos-test
Cholesterol (mg%)	116.4±6.2	123.8±9.9 ^b	88.4±3.42	134±15.6 ^{ab}	86.0±6.4	130.8±9.2 ^{*a}	108±4.04	142.2±13.1 ^{*ab}	112±17.64	155.2±15.82 ^{**a}	97.0±8.60	134.8±6.68 ^{**a}
RBC (x10 ⁶ /μL)	8.3±0.2	7.5±0.3	8.1±1.9	8.1±1.02	9.0±0.3	7.7±0.2	9.23±0.34	8.14±0.10	9.50±0.11	8.71±0.54	9.66±0.10	9.03±0.37
Hemoglobin (g/dL)	14.2±0.5	12.8±0.5 ^{b,AB}	14.7±0.4	12.8±0.5 ^{*b,B}	17.4±0.2	14.1±0.2 ^{**ab,AB}	14.8±0.80	13.8±0.20 ^{ab,AB}	15.8±0.20	14.4±0.67 ^{ab,AB}	16.0±0.00	15.4±0.67 ^{a,A}
Hematocrit (%)	42.0±14	37.8±1.5	44.2±1.0	37.8±2.3	49.8±0.5	42.0±0.8 ^{**}	45.6±2.15	39.8±0.58	50.2±1.20	44.0±3.86	50.0±0.70	47.2±2.70
WBC (x10 ³ /μL)	9.3±1.3	7.8±1.3	7.3±0.9	6.9±0.5	8.7±1.3	6.8±1.7	7.34±1.85	6.08±0.78	10.1±0.46	8.80±0.71	12.9±1.56	12.3±2.08
PMN (%)	15.2±4.0	17.6±3.7 ^{abc,ABC}	11.4±1.7	9.6±1.4 ^{c,C}	13.8±1.9	15.0±1.4 ^{ab,AB}	5.40±1.60	13.40±2.42 ^{*b,ABC}	4.80±0.86	9.40±1.43 ^{**abc,ABC}	4.00±1.09	9.40±2.11 ^{abc,ABC}
Lymphocyte (%)	84.6±4.0	84.8±4.3	88.6±1.7	94.2±1.8	85.4±1.9	82.8±4.3	90.2±2.87	84.0±2.70	95.2±0.86	91.2±2.13	95.8±0.96	92.6±3.23

ตารางที่ 3.10 (ต่อ)

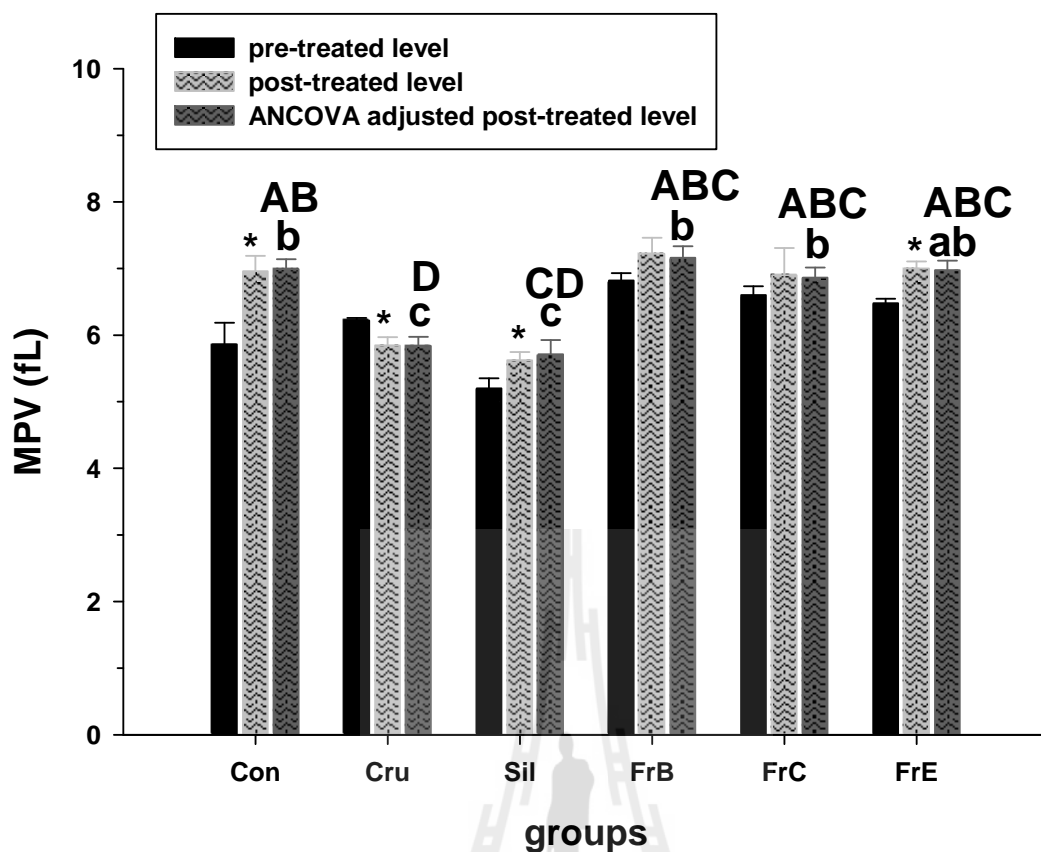
Parameter	Con		Cru		Sil		FrB		FrC		FrE	
	Pre-test	Pos-test	Pre-test	Pos-test	Pre-test	Pos-test	Pre-test	Pos-test	Pre-test	Pos-test	Pre-test	Pos-test
Platelet ($\times 10^3$ / μL)	821.4 \pm 21.7	793 \pm 32.5	821.5 \pm 21.7	792 \pm 32.5	820.4 \pm 21.7	792 \pm 32.5	636 \pm 19	826.6 \pm 50.08	912.2 \pm 22.71	859.8 \pm 17.04	880.6 \pm 44.69	806.4 \pm 91.1
MCV (fL)	50.0 \pm 0.6	50.2 \pm 0.3	54.1 \pm 0.2	51.2 \pm 0.3	52.5 \pm 0.6	51.2 \pm 0.7	49.1 \pm 0.53	48.96 \pm 0.65	51.7 \pm 0.85	50.5 \pm 1.24	50.8 \pm 1.02	51.5 \pm 0.72
MCH (pg/cell)	17.0 \pm 0.05	17.5 \pm 0.2	16.6 \pm 1.3	17.8 \pm 0.3	18.3 \pm 0.1	18 \pm 0.3	16.2 \pm 0.27	16.6 \pm 0.18	16.5 \pm 0.20	16.88 \pm 0.21	16.3 \pm 0.30	16.6 \pm 0.27
MCHC (g/dL)	34.1 \pm 0.09	34.0 \pm 0.18 ^{ab}	31.1 \pm 0.6	34.7 \pm 0.6 ^a	34.8 \pm 0.2	35.1 \pm 0.3 ^{ab}	33.0 \pm 0.37	34.0 \pm 0.52 ^{ab}	31.9 \pm 0.35	33.6 \pm 0.51 ^{*ab}	32.0 \pm 0.90	32.3 \pm 0.89 ^b
RDW (%)	23.8 \pm 3.0	21.9 \pm 2.3	14.6 \pm 0.2	18.0 \pm 1.3	16.0 \pm 0.8	16.8 \pm 1.0	21.8 \pm 2.48	18.5 \pm 0.64	16.6 \pm 0.60	17.5 \pm 0.79	17.4 \pm 0.65	17.1 \pm 0.33
MPV (fL)	5.86 \pm 0.3	6.96 \pm 0.2 ^{*b,AB}	6.2 \pm 0.03	5.8 \pm 0.1 ^{*c,D}	5.2 \pm 0.1	5.6 \pm 0.1 ^{*c,CD}	6.82 \pm 0.11	7.22 \pm 0.24 ^{b,ABC}	6.60 \pm 0.13	6.9 \pm 0.40 ^{b,ABC}	6.48 \pm 0.06	7.00 \pm 0.10 ^{*ab,ABC}



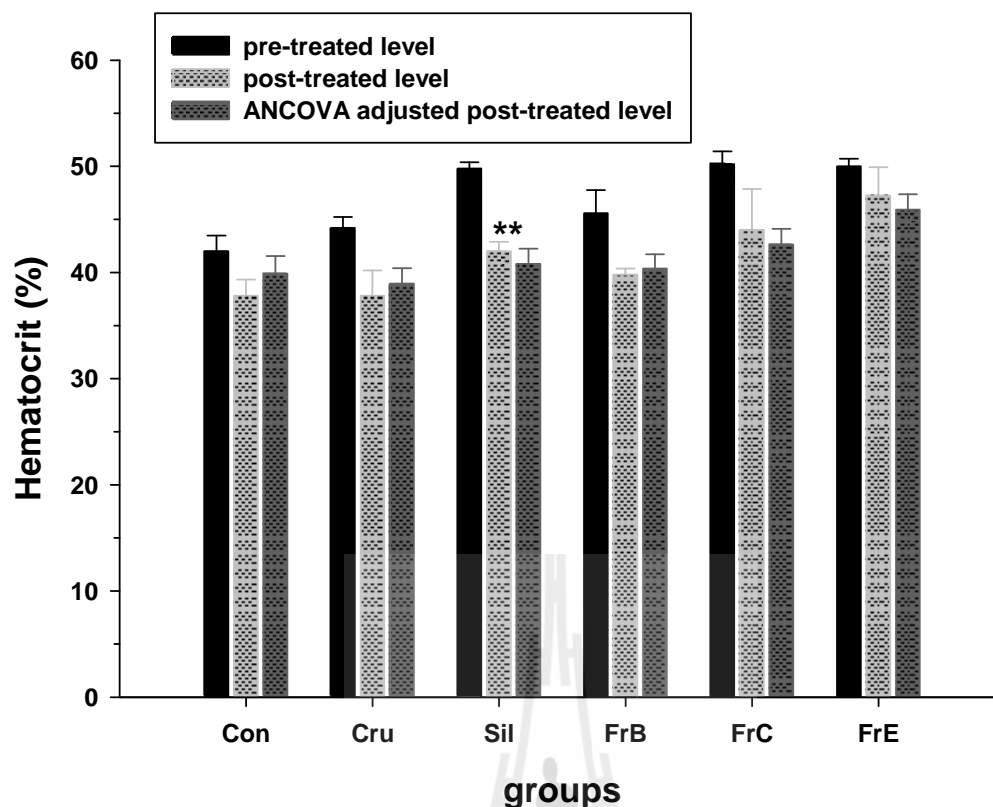
รูปที่ 3.13 ผลของสารสกัดจากรากของ *Butea superba* และ Sildenafil ต่อคอเลสเตอรอลในหนูทดลอง Con = กลุ่มควบคุม ได้รับน้ำกลั่น 0.5 มล./กก. น้ำหนักตัว/วัน, Cru = สารสกัดหยาบ 1,250 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน, Sil = Sildenafil 10 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน, FrB = แพลกชั้น B 40 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน (Unl 1260 ไมโครกรัม), FrC = แพลกชั้น C 50 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน (6.78 Genistein ไมโครกรัม, Unl 31.59 ไมโครกรัม), FrE = แพลกชั้น E 150 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน (Biochanin A 66.92 ไมโครกรัม, 9 สารประกอบที่ไม่ทราบชนิด) ทุกกลุ่มได้รับสารเป็นเวลา 14 วัน ใช้สถิติ Paired student T-test ในการทดสอบระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างก่อนและหลังการทดสอบโดย * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$ ความแตกต่างระหว่างกลุ่มการวิเคราะห์นั้นจะใช้การปรับระดับค่าเฉลี่ยเพื่อลดความแปรปรวนหลังจากการทดลองด้วย ANCOVA และใช้ Tukey HSD ในการทดสอบระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในแต่ละกลุ่มโดย ^a = $p < 0.05$, ^A = $p < 0.01$



รูปที่ 3.14 ผลของสารสกัดจากรากของ *Butea superba* และ Sildenafil ต่อฮีโมโกลบินในหนูทดลอง Con = กลุ่มควบคุม ได้รับน้ำกลั่น 0.5 มล./กก. น้ำหนักตัว/วัน, Cru = สารสกัดหยาบ 1,250 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน, Sil = Sildenafil 10 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน, FrB = แพลกชัน B 40 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน (Un1 1,260 ไมโครกรัม), FrC = แพลกชัน C 50 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน (6.78 Genistein ไมโครกรัม, Un1 31.59 ไมโครกรัม), FrE = แพลกชัน E 150 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน (Biochanin A 66.92 ไมโครกรัม, 9 สารประกอบที่ไม่ทราบชนิด) ทุกกลุ่มได้รับสารเป็นเวลา 14 วัน ใช้สถิติ Paired student T-test ในการทดสอบระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างก่อนและหลังการทดสอบโดย * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$ ความแตกต่างระหว่างกลุ่มการวิเคราะห์นั้นจะใช้การปรับระดับค่าเฉลี่ยเพื่อลดความแปรปรวนหลังจากการทดลองด้วย ANCOVA และใช้ Tukey HSD ในการทดสอบระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในแต่ละกลุ่มโดย ^a = $p < 0.05$, ^A = $p < 0.01$



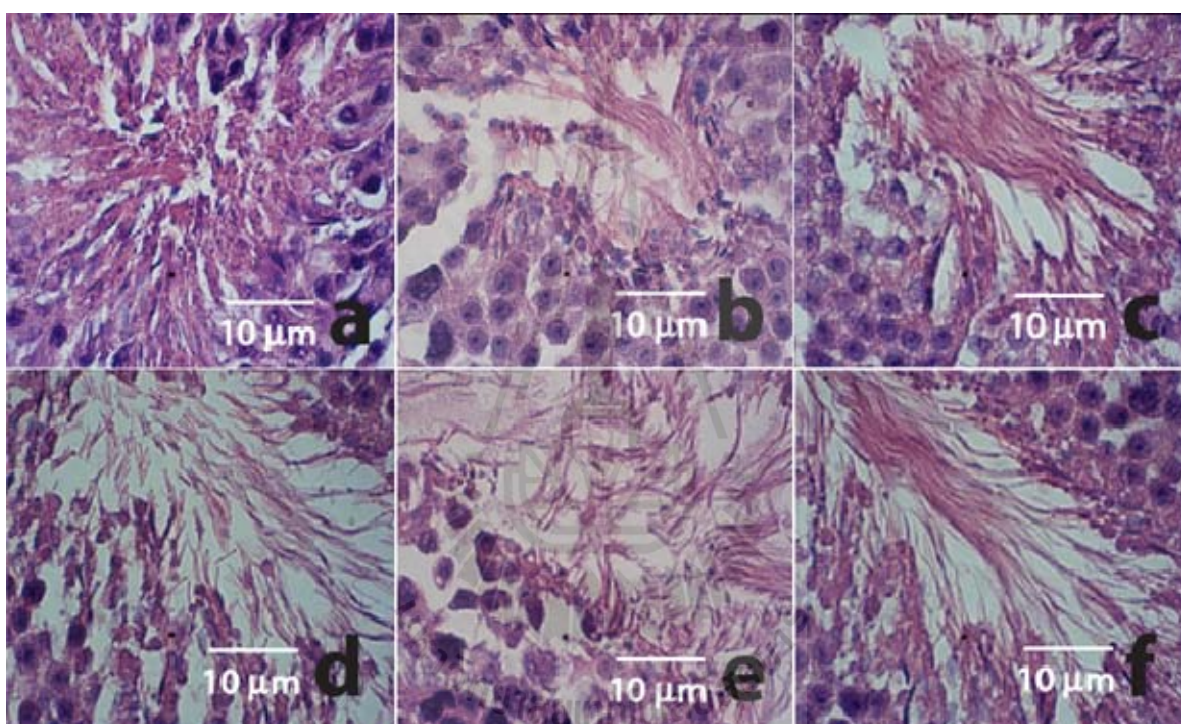
รูปที่ 3.15 ผลของสารสกัดจากรากของ *Butea superba* และ Sildenafil ต่อปริมาณเกล็ดเลือด(MPV)ในหนูทดลอง Con = กลุ่มควบคุม ได้รับน้ำกลั่น 0.5 มล./กก. น้ำหนักตัว/วัน, Cru = สารสกัดหยาบ 1,250 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน, Sil = Sildenafil 10 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน, FrB = แพลกชั้น B 40 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน (Un1 1,260 ไมโครกรัม), FrC = แพลกชั้น C 50 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน (6.78 Genistein ไมโครกรัม, Un1 31.59 ไมโครกรัม), FrE = แพลกชั้น E 150 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน (Biochanin A 66.92 ไมโครกรัม, 9 สารประกอบที่ไม่ทราบชนิด) ทุกกลุ่มได้รับสารเป็นเวลา 14 วัน ใช้สถิติ Paired student T-test ในการทดสอบระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างก่อนและหลังการทดสอบโดย * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$ ความแตกต่างระหว่างกลุ่มการวิเคราะห์นั้นจะใช้การปรับระดับค่าเฉลี่ยเพื่อลดความแปรปรวนหลังจากการทดลองด้วย ANCOVA และใช้ Tukey HSD ในการทดสอบระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในแต่ละกลุ่มโดย ^a = $p < 0.05$, ^A = $p < 0.01$



รูปที่ 3.16 ผลของสารสกัดจากรากของ *Butea superba* และ Sildenafil ต่อฮีมาโตคริตในหนูทดลอง Con = กลุ่มควบคุม ได้รับน้ำกลั่น 0.5 มล./กก. น้ำหนักตัว/วัน, Cru = สารสกัดหยาบ 1,250 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน, Sil = Sildenafil 10 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน, FrB = แพลกชัน B 40 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน (Un1 1,260 ไมโครกรัม), FrC = แพลกชัน C 50 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน (6.78 Genistein ไมโครกรัม, Un1 31.59 ไมโครกรัม), FrE = แพลกชัน E 150 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน (Biochanin A 66.92 ไมโครกรัม, 9 สารประกอบที่ไม่ทราบชนิด) ทุกกลุ่มได้รับสารเป็นเวลา 14 วัน ใช้สถิติ Paired student T-test ในการทดสอบระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างก่อนและหลังการทดสอบโดย * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$ ความแตกต่างระหว่างกลุ่มการวิเคราะห์นั้นจะใช้การปรับระดับค่าเฉลี่ยเพื่อลดความแปรปรวนหลังจากการทดลองด้วย ANCOVA และใช้ Tukey HSD ในการทดสอบระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในแต่ละกลุ่มโดย ^a = $p < 0.05$, ^A = $p < 0.01$

3.7 จุดกายวิภาคศาสตร์ของอวัยวะ

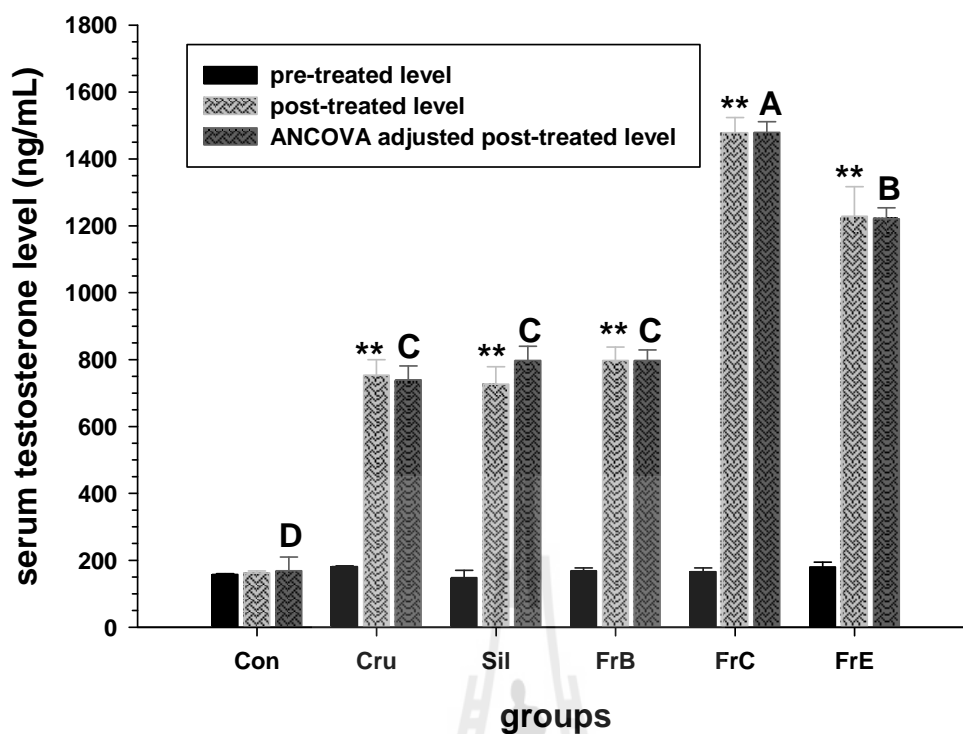
จากรูปที่ 3.17 นั้นแสดงให้เห็นถึงกระบวนการสร้างอสุจิของกลุ่มที่ได้รับสารทั้งหมดทุกกลุ่มนั้น มีกระบวนการการเจริญเติบโตอย่างสมบูรณ์ของอสุจิมากกว่ากลุ่มควบคุม โดยกระบวนการสร้างอสุจินั้นมีปริมาณที่สูงทั้งในระดับการสร้างอสุจิและปริมาณของอสุจิที่สมบูรณ์ ผลการทดลองนี้นั้นสอดคล้องกับผลที่สารสกัดจากรากของ *Butea superba* นั้นสามารถเพิ่มปริมาณของอสุจิและการเคลื่อนไหวของอสุจิได้



รูปที่ 3.17 ภาพถ่ายโครงสร้างในระดับจุลภาคของหลอดอวัยวะของหนู; a = กลุ่มควบคุม ได้รับน้ำกลั่น 0.5 มล./กก. น้ำหนักตัว/วัน, b = สารสกัดหยาบ 1,250 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน, c = Sildenafil 10 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน, d = แพลกชัน B 40 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน (Un1 1260 ไมโครกรัม), e = แพลกชัน C 50 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน (6.78 Genistein ไมโครกรัม, Un1 31.59 ไมโครกรัม), f = แพลกชัน E 150 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน (Biochanin A 66.92 ไมโครกรัม, 9 สารประกอบที่ไม่ทราบชนิด) ทุกกลุ่มได้รับสารเป็นเวลา 14 วัน ภาพถ่ายโครงสร้างในระดับจุลภาคทุกภาพนั้นใช้กำลังขยาย 100 เท่า, แถบที่แสดง = 10 ไมโครเมตร

3.8 ระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน

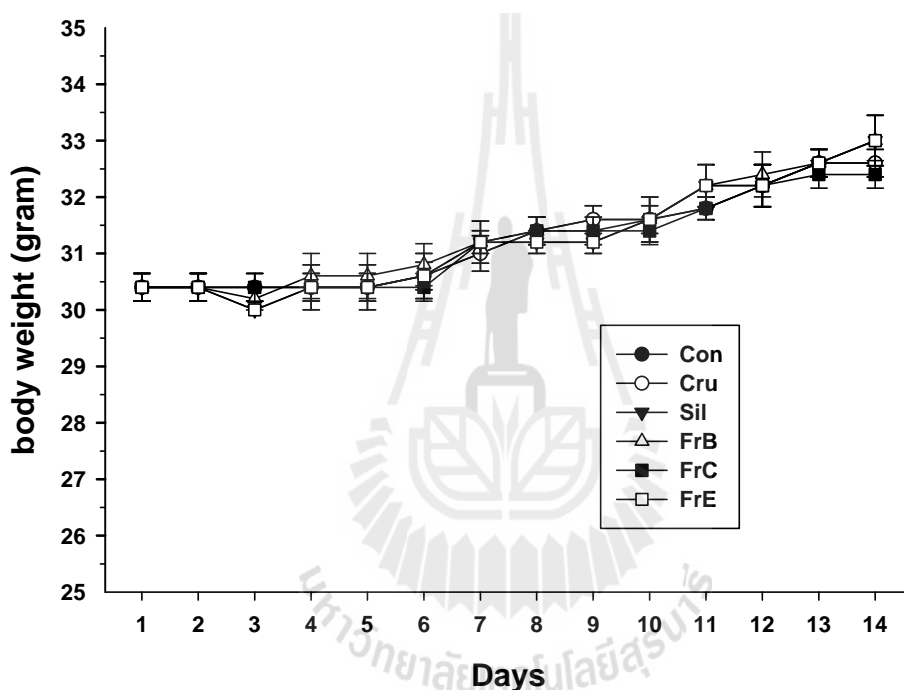
ผลของสารสกัดจากรากของ *Butea superba* และ Sildenafil ต่อระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนของหนูนั้นจะแสดงในรูปที่ 3.18 ผลการทดลองนั้นแสดงให้เห็นว่ามีการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$) ของระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนในทุกกลุ่มการทดลองยกเว้นกลุ่มควบคุมหลังได้รับสารเมื่อเทียบกับก่อนได้รับสาร นอกจากนี้ระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนของกลุ่มที่ได้รับสารแฟลกซัน C นั้นจะเพิ่มขึ้นสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มอื่นๆ นอกจากนี้ระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนกลุ่มที่ได้รับแฟลกซัน C และ E นั้นจะสูงกว่ากลุ่มอื่นๆที่เหลือ อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$) ด้วยเช่นกันในทำนองเดียวกัน กลุ่มที่ได้รับสารสกัดหยาบ, แฟลกซัน B และ Sildenafil นั้นก็มีระดับเทสโทสเตอโรนที่สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$) ผลการทดลองนี้นั้นสอดคล้องกับการทดลองของ Saraiya et al, (2009) ที่ว่าหนูที่ได้รับ Sildenafil นั้นพบว่าระดับของฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมและเซลล์เลย์ดิกนั้นได้มีการเปลี่ยนแปลงที่ชัดเจนในโครงสร้าง เช่น ถุงเอ็นโคพลาสติก เรติคูลัมแบบเรียบ, แวกคิวโอลขนาดใหญ่, หยดการขยายคริสติโนไมโทคอนเดรียและถุงรอบๆ เยื่อหุ้ม ซึ่งเป็นลักษณะปกติที่แสดงให้เห็นว่าเซลล์ได้ถูกกระตุ้นให้สร้างสเตียรอยด์ แต่อย่างไรก็ตามหนูที่ได้รับ *Butea superba* ที่ขนาด 150 และ 200 มก./กก.น้ำหนักตัว/วัน นั้นจะทำให้ปริมาณของระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนนั้นลดลงตามขนาดยาที่เพิ่มขึ้น (Cherdshewasart et al. 2008) ส่วนในงานวิจัยก่อนๆ นั้นค้นพบว่าเซลล์เลย์ดิกนั้นถูกกระตุ้นโดย Sildenafil ได้โดยมีทฤษฎีที่แสดงว่าเซลล์เลย์ดิกสามารถกระตุ้นการผลิตฮอร์โมนเพศชาย เช่น ฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน ซึ่งฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนนั้นจะไปกระตุ้นให้เกิดการสร้างเซลล์อสุจิส่งเสริมการเจริญเติบโตทางกายภาพและการทำงานของอสุจิ คูแรรักยาววัยวะของระบบสืบพันธุ์เพศชาย ฯลฯ (Martini, 2006) ฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนสังเคราะห์จากสารตั้งต้นก็คือคอเลสเตอรอล (Maqdasy, et al, 2013; Midzak, et al, 2009) ในความเป็นจริงจากผลการทดลองนี้นั้นก็แสดงหลักฐานว่าคอเลสเตอรอลนั้นเพิ่มขึ้นในกลุ่มที่ได้รับสาร เป็นผลให้ฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนนั้นเพิ่มขึ้นด้วย ซึ่งผลการทดลองเหล่านี้สามารถอธิบายได้ว่าการเพิ่มขึ้นของฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนจะส่งผลให้จำนวนอสุจิสูงขึ้นและการเคลื่อนที่ของอสุจิมากขึ้นโดยเป็นผลมาจากการสร้างเซลล์อสุจิและอสุจิที่สร้างนั้นมีความสมบูรณ์ซึ่งกระบวนการนี้ถูกกระตุ้นโดยฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน (Martini, 2006) ในความเป็นจริงแล้วนั้น จากการศึกษาล่าสุดมีรายงานว่าระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนในเลือดในผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์นั้นจะมีขนาดที่ต่ำ (Hogervorst, et al, 2001; Moffat, et al, 2004) ด้วยเหตุนี้ สารสกัดจากรากของ *Butea superba* นั้นอาจจะมียุทธศาสตร์ในการเพิ่มระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนในผู้ป่วยอัลไซเมอร์ได้



รูปที่ 3.18 ผลของสารสกัดจากรากของ *Butea superba* และ Sildenafil ต่อระดับเทสโทสเตอโรนในหนูทดลอง Con = กลุ่มควบคุม ได้รับน้ำกลั่น 0.5 มล./กก. น้ำหนักตัว/วัน, Cru = สารสกัดหยาบ 1,250 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน, Sil = Sildenafil 10 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน, FrB = แพลกชัน B 40 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน (Un1 1260 ไมโครกรัม), FrC = แพลกชัน C 50 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน (6.78 Genistein ไมโครกรัม, Un1 31.59 ไมโครกรัม), FrE = แพลกชัน E 150 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน (Biochanin A 66.92 ไมโครกรัม, 9 สารประกอบที่ไม่ทราบชนิด) ทุกกลุ่มได้รับสารเป็นเวลา 14 วัน ใช้สถิติ Paired student T-test ในการทดสอบระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างก่อนและหลังการทดสอบโดย * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$ ความแตกต่างระหว่างกลุ่มการวิเคราะห์นั้นจะใช้การปรับระดับค่าเฉลี่ยเพื่อลดความแปรปรวนหลังจากการทดลองด้วย ANCOVA และใช้ Tukey HSD ในการทดสอบระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในแต่ละกลุ่มโดย ^a = $p < 0.05$, ^A = $p < 0.01$

3.9 น้ำหนักตัว

น้ำหนักตัวนั้นไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในอัตราการเจริญเติบโตที่สัมพันธ์ โดยวัดจากน้ำหนักของตัวของหนูที่ได้รับสารสกัดจากรากของ *Butea superba* และกลุ่ม Sildenafil เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ($p < 0.01$) (รูปที่ 3.19) ผลเหล่านี้สนับสนุนสอดคล้องกับงานวิจัยของ (Cherdshewasart et al. 2008) ว่าหนูที่รับผง *Butea superba* ขนาด 150 และ 200 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน นั้นไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในการวัดอัตราการเจริญเติบโตโดยน้ำหนักของร่างกายเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม



รูปที่ 3.19 ผลของสารสกัดจากรากของ *Butea superba* และ Sildenafil ต่อน้ำหนักหนูทดลอง(กรัม) Con = กลุ่มควบคุม ได้รับน้ำกลั่น 0.5 มล./กก. น้ำหนักตัว/วัน, Cru = สารสกัดหยาบ 1,250 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน, Sil = Sildenafil 10 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน, FrB = แพลกชัน B 40 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน (Un1 1260 ไมโครกรัม), FrC = แพลกชัน C 50 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน (6.78 Genistein ไมโครกรัม, Un1 31.59 ไมโครกรัม), FrE = แพลกชัน E 150 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน (Biochanin A 66.92 ไมโครกรัม, 9 สารประกอบที่ไม่ทราบชนิด) ทุกกลุ่มได้รับสารเป็นเวลา 14 วัน ใช้สถิติ Paired student T-test ในการทดสอบระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างก่อนและหลังการทดสอบโดย * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$ ความแตกต่างระหว่างกลุ่มการวิเคราะห์นั้นจะทำการปรับระดับค่าเฉลี่ยเพื่อลดความแปรปรวนหลังจากการทดลองด้วย

3.10 อวัยวะสืบพันธุ์และอวัยวะที่สำคัญ

ผลของสารสกัดจากรากของ *Butea superba* และ Sildenafil ต่อน้ำหนักอวัยวะสืบพันธุ์ (ต่อน้ำหนักตัว 100 กรัม) ของหนูถูกแสดงไว้ในตารางที่ 3.11 และรูปที่ 3.20-3.23 น้ำหนักอวัยวะกลุ่มที่ได้รับสารสกัดหยาบและ Sildenafil นั้นจะหนักกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับแฟลกซัน B อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$) (รูปที่ 3.20) นอกจากนี้ น้ำหนักหลอดเก็บอสุจิของกลุ่มที่ได้รับแฟลกซัน E และ C นั้นหนักกว่ากลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่กลุ่มที่ได้รับสารสกัดหยาบ, แฟลกซัน B และ Sildenafil นั้นเบากว่ากลุ่มควบคุม อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$) (รูป 3.21) นอกจากนี้ น้ำหนักต่อมสร้างน้ำเลี้ยงอสุจิของกลุ่มที่ได้รับแฟลกซัน B, C และ E นั้นหนักกว่ากลุ่มอื่นๆ ที่เหลืออย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$) (รูป 3.22) เช่นเดียวกับต่อมลูกหมากในกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับสารสกัดหยาบ จะมีน้ำหนักมากกว่ากลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$) (รูป 3.23)

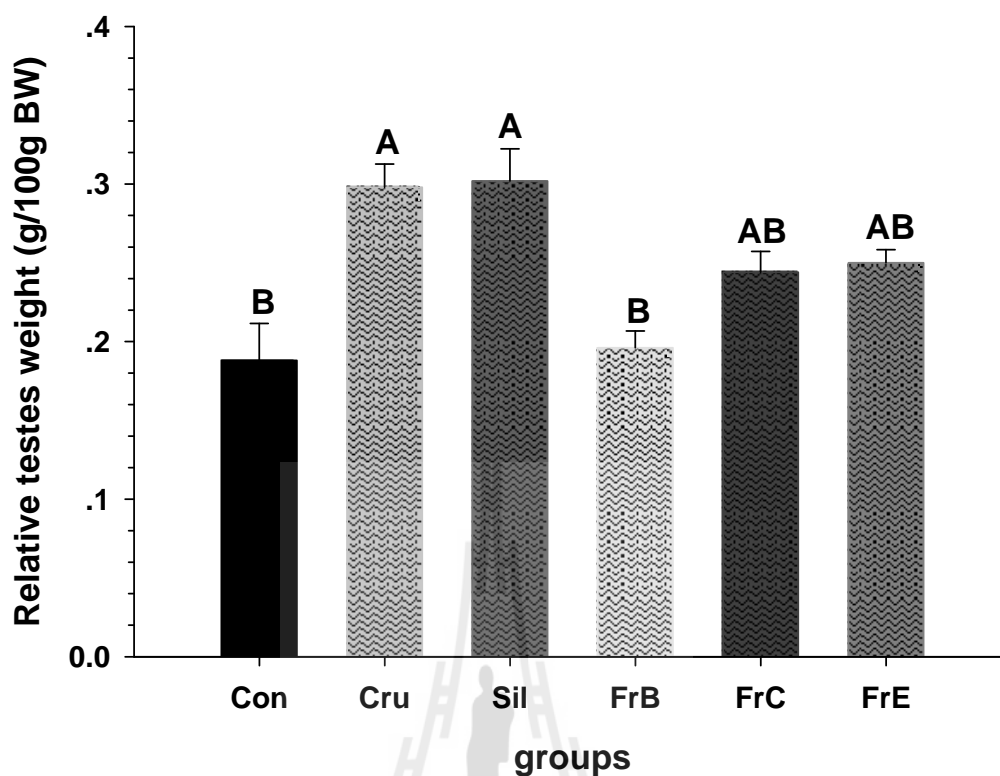
อย่างไรก็ตาม น้ำหนักม้ามของกลุ่มที่ได้รับแฟลกซัน B, C และ E นั้นจะมีน้ำหนักมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$) ในทางตรงกันข้าม กระเพาะอาหารของกลุ่มที่ได้รับแฟลกซัน E นั้นจะมีน้ำหนักเบาว่ากลุ่มที่ได้รับสารสกัดหยาบ, Sildenafil และกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$) (ตารางที่ 4.3) ผลเหล่านี้ สอดคล้องกับ Manosroi et al, (2006) ว่ากลุ่มที่ได้รับสารสกัดหยาบ *Butea superba* ที่ขนาด 1,250 มก. / กก. นั้นมีร้อยละน้ำหนักของอวัยวะต่อน้ำหนักตัวมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

พยาธิสภาพของหัวใจ, ตับ, ม้าม, ไต, และกระเพาะอาหารของทุกกลุ่มที่ได้รับสารนั้นพบลักษณะปกติเมื่อเทียบกับอวัยวะของกลุ่มควบคุม (รูป 3.24-3.33)

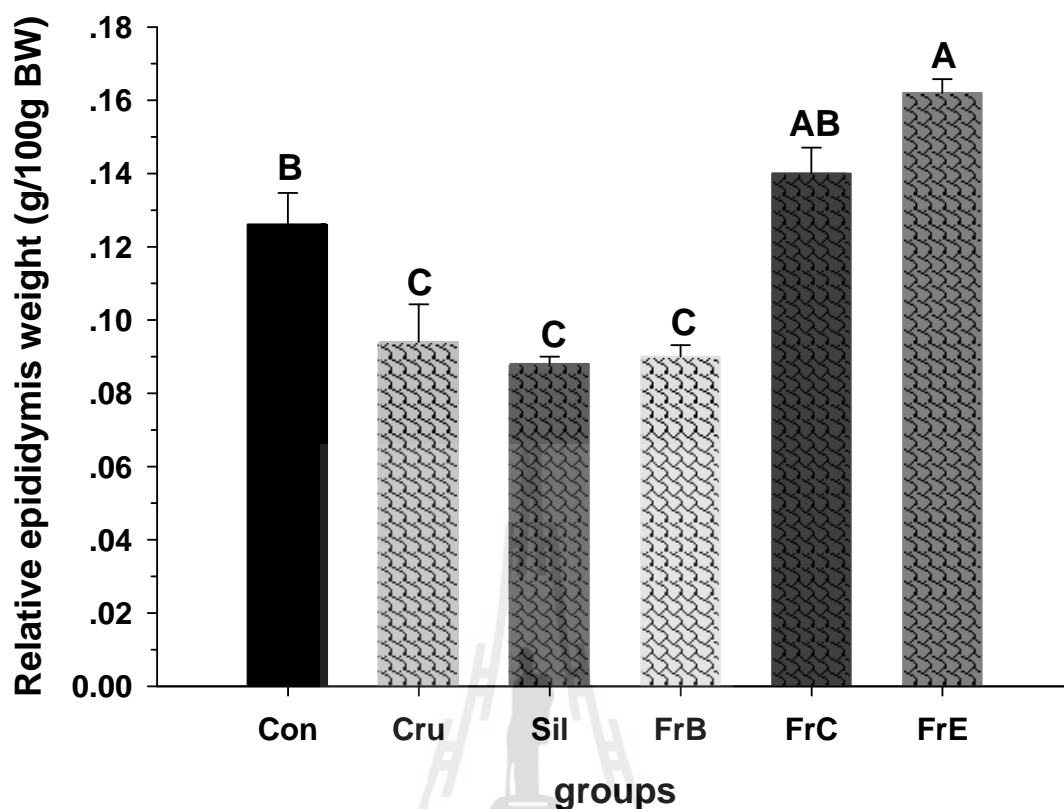
จากการทดสอบนี้แสดงหลักฐานให้เห็นว่าสารสกัดจาก *Butea superba* สามารถเพิ่มระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน, จำนวนอสุจิและการเคลื่อนที่ของอสุจิของหนูเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ถึงแม้ว่าสารสกัดนี้จะมีผลทำให้น้ำหนักของกระเพาะอาหารลดลงและมีผลทำให้น้ำหนักของม้าม, อัณฑะ, ต่อมสร้างน้ำเลี้ยงอสุจิ, หลอดเก็บอสุจิและระดับคอเลสเตอรอลในกลุ่มที่ได้รับ แฟลกซัน E นั้นสูงขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่ม

ตารางที่ 3.11 ผลของสารสกัดจากรากของ *Butea superba* และ Sildenafil ต่อน้ำหนักของอวัยวะต่างๆของระบบสืบพันธุ์(ต่อน้ำหนักตัว 100 กรัม)ในหนูทดลอง Con = กลุ่มควบคุม ใ้รับน้ำกลั่น 0.5 มล./กก. น้ำหนักตัว/วัน, Cru = สารสกัดหยาบ 1,250 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน, Sil = Sildenafil 10 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน, FrB = แพลกชั้น B 40 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน (Un1 1260 ไมโครกรัม), FrC = แพลกชั้น C 50 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน (6.78 Genistein ไมโครกรัม, Un1 31.59 ไมโครกรัม), FrE = แพลกชั้น E 150 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน (Biochanin A 66.92 ไมโครกรัม, 9 สารประกอบที่ไม่ทราบชนิด) ทุกกลุ่มได้รับสารเป็นเวลา 14 วัน ใช้สถิติ Paired student T-test ในการทดสอบระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างก่อนและหลังการทดสอบโดย * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$ ความแตกต่างระหว่างกลุ่มการวิเคราะห์นั้นจะใช้การปรับระดับค่าเฉลี่ยเพื่อลดความแปรปรวนหลังจากการทดลองด้วย ANCOVA และใช้ Tukey HSD ในการทดสอบระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในแต่ละกลุ่มโดย ^a = $p < 0.05$, ^A = $p < 0.01$

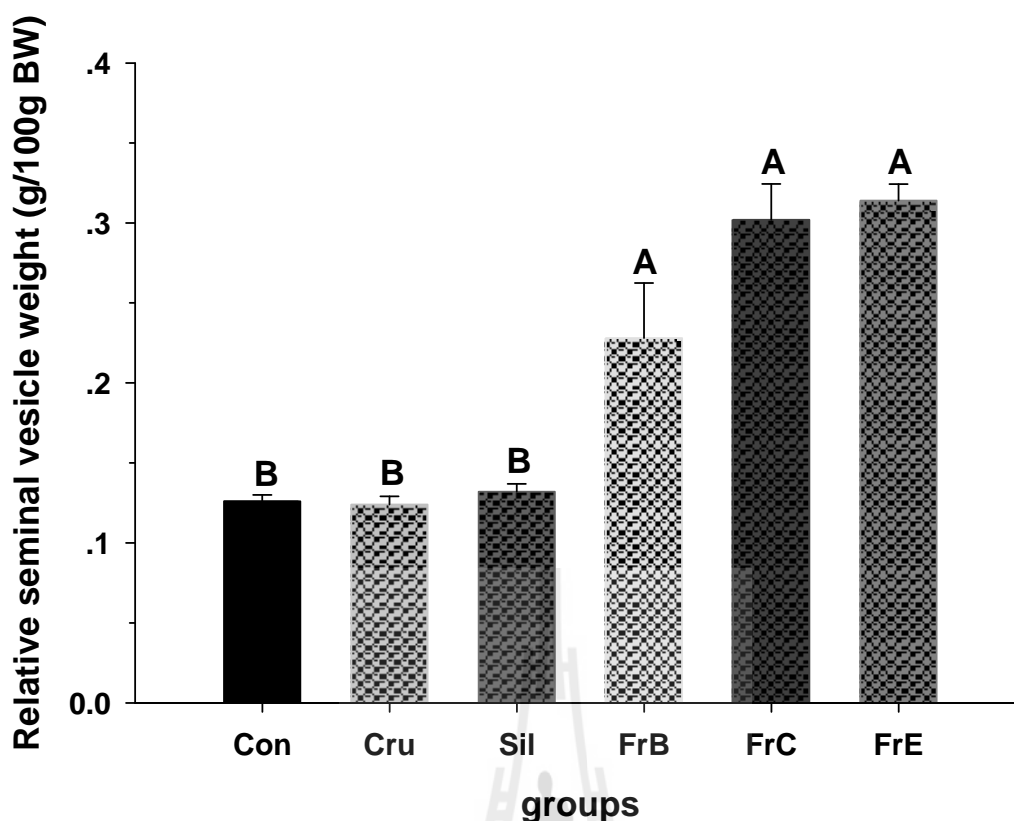
Reproductive Organ (g/100gBW)	Con	Cru	Sil	FrB	FrC	FrE
Testes	0.18±0.023 ^B	0.29±0.014 ^A	0.30±0.045 ^A	0.19±0.010 ^B	0.24±0.013 ^{AB}	0.25±0.008 ^{AB}
Epididymis	0.08±0.002 ^B	0.09±0.01 ^C	0.08±0.01 ^C	0.09±0.003 ^C	0.14±0.007 ^{AB}	0.16±0.003 ^A
Vas deferens	0.03±0.004	0.03±0.003	0.02±0.003	0.03±0.003	0.02±0.004	0.03±0.004
Seminal vesicle	0.12±0.004 ^B	0.12±0.005 ^B	0.13±0.004 ^B	0.22±0.034 ^A	0.30±0.022 ^A	0.31±0.001 ^A
Prostate	0.06±0.005 ^A	0.06±0.003 ^A	0.04±0.005 ^B	0.03±0.002 ^B	0.02±0.002 ^B	0.02±0.002 ^B



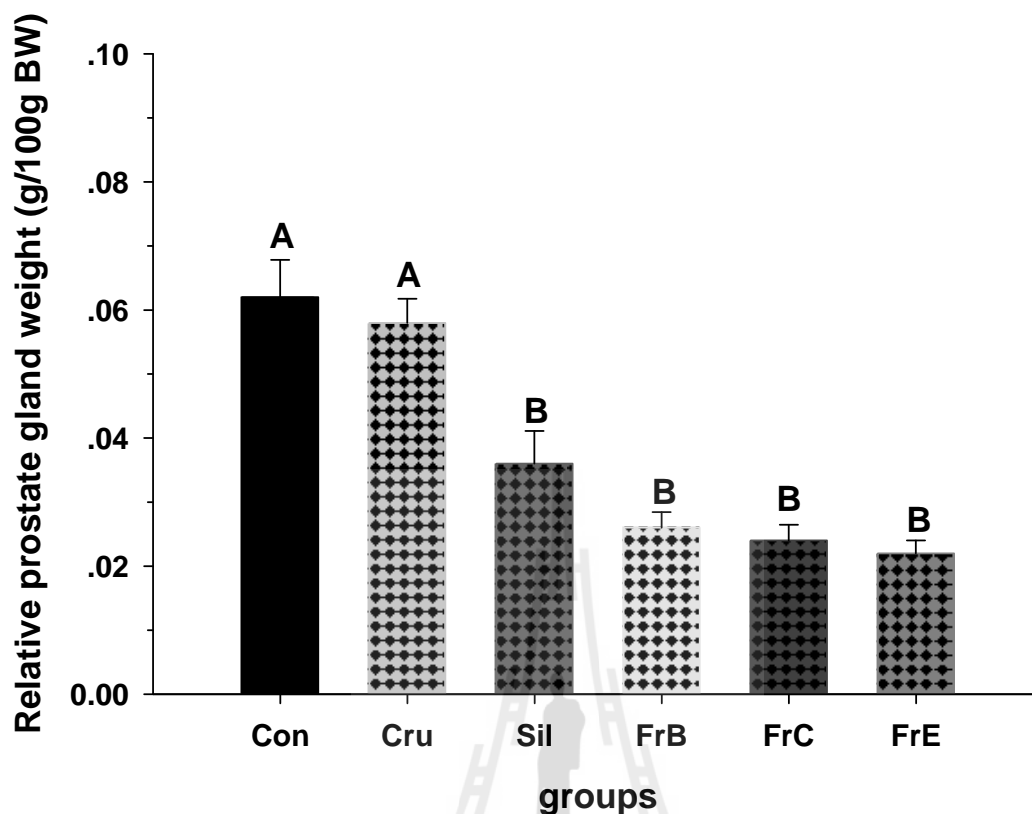
รูปที่ 3.20 ผลของสารสกัดจากรากของ *Butea superba* และ Sildenafil ต่อน้ำหนักของอัณฑะ (ต่อน้ำหนักตัว 100 กรัม) ของหนูทดลอง Con = กลุ่มควบคุม ได้รับน้ำกลั่น 0.5 มล./กก. น้ำหนักตัว/วัน, Cru = สารสกัดหยาบ 1,250 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน, Sil = Sildenafil 10 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน, FrB = แพลกชัน B 40 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน (Un1 1260 ไมโครกรัม), FrC = แพลกชัน C 50 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน (6.78 Genistein ไมโครกรัม, Un1 31.59 ไมโครกรัม), FrE = แพลกชัน E 150 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน (Biochanin A 66.92 ไมโครกรัม, 9 สารประกอบที่ไม่ทราบชนิด) ทุกกลุ่มได้รับสารเป็นเวลา 14 วัน ใช้สถิติ Paired student T-test ในการทดสอบระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างก่อนและหลังการทดสอบ โดย * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$ ความแตกต่างระหว่างกลุ่มการวิเคราะห์นั้นจะทำการปรับระดับค่าเฉลี่ยเพื่อลดความแปรปรวนหลังจากการทดลองด้วย ANCOVA และใช้ Tukey HSD ในการทดสอบระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในแต่ละกลุ่มโดย ^a = $p < 0.05$, ^A = $p < 0.01$



รูปที่ 3.21 ผลของสารสกัดจากรากของ *Butea superba* และ Sildenafil ต่อน้ำหนักของหลอดเก็บอสุจิ (ต่อน้ำหนักตัว 100 กรัม) ของหนูทดลอง Con = กลุ่มควบคุม ได้รับน้ำกลั่น 0.5 มล./กก.น้ำหนักตัว/วัน, Cru = สารสกัดหยาบ 1,250 มก./กก.น้ำหนักตัว/วัน, Sil = Sildenafil 10 มก./กก.น้ำหนักตัว/วัน, FrB = แพลกชัน B 40 มก./กก.น้ำหนักตัว/วัน(Un1 1260 ไมโครกรัม), FrC = แพลกชัน C 50 มก./กก.น้ำหนักตัว/วัน(6.78 Genistein ไมโครกรัม, Un1 31.59 ไมโครกรัม), FrE = แพลกชัน E 150 มก./กก.น้ำหนักตัว/วัน(Biochanin A 66.92 ไมโครกรัม, 9 สารประกอบที่ไม่ทราบชนิด) ทุกกลุ่มได้รับสารเป็นเวลา 14 วัน ใช้สถิติ Paired student T-test ในการทดสอบระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างก่อนและหลังการทดสอบโดย * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$ ความแตกต่างระหว่างกลุ่มการวิเคราะห์นั้นจะใช้การปรับระดับค่าเฉลี่ยเพื่อลดความแปรปรวนหลังจากการทดลองด้วย ANCOVA และใช้ Tukey HSD ในการทดสอบระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในแต่ละกลุ่มโดย ^a = $p < 0.05$, ^A = $p < 0.01$



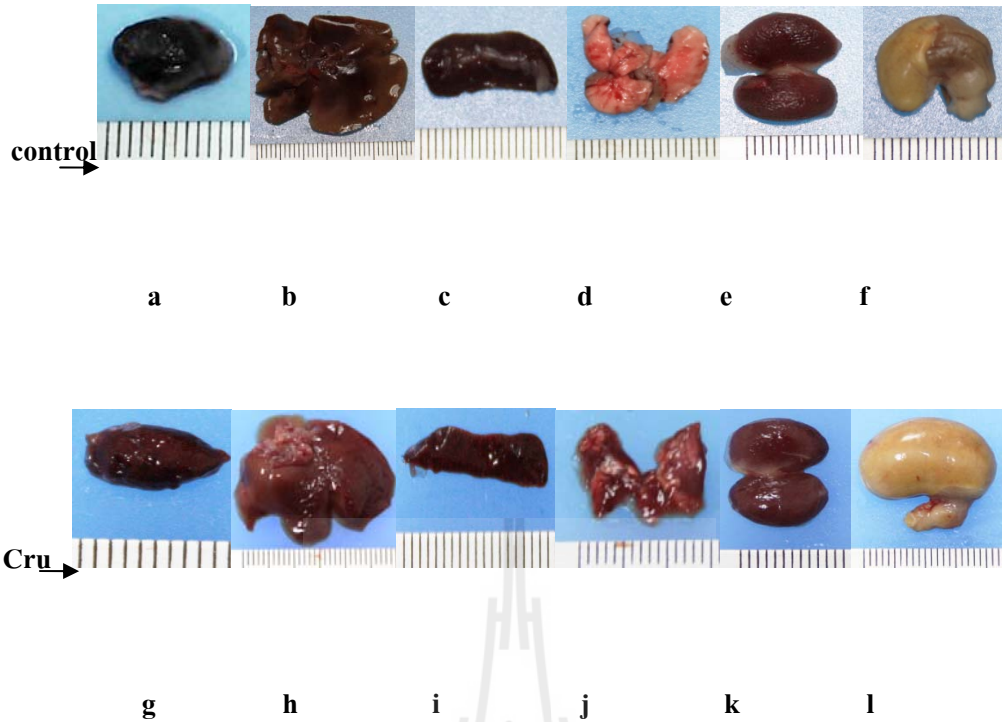
รูปที่ 3.22 ผลของสารสกัดจากรากของ *Butea superba* และ Sildenafil ต่อน้ำหนักของต่อมสร้างน้ำเลี้ยงอสุจิ (ต่อน้ำหนักตัว 100 กรัม) ของหนูทดลอง Con = กลุ่มควบคุม ได้รับน้ำกลั่น 0.5 มล./กก. น้ำหนักตัว/วัน, Cru = สารสกัดหยาบ 1,250 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน, Sil = Sildenafil 10 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน, FrB = แพลกชัน B 40 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน (Un1 1260 ไมโครกรัม), FrC = แพลกชัน C 50 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน (6.78 Genistein ไมโครกรัม, Un1 31.59 ไมโครกรัม), FrE = แพลกชัน E 150 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน (Biochanin A 66.92 ไมโครกรัม, 9 สารประกอบที่ไม่ทราบชนิด) ทุกกลุ่มได้รับสารเป็นเวลา 14 วัน ใช้สถิติ Paired student T-test ในการทดสอบระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างก่อนและหลังการทดสอบโดย * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$ ความแตกต่างระหว่างกลุ่มการวิเคราะห์นั้นจะใช้การปรับระดับค่าเฉลี่ยเพื่อลดความแปรปรวนหลังจากการทดลองด้วย ANCOVA และใช้ Tukey HSD ในการทดสอบระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในแต่ละกลุ่มโดย ^a = $p < 0.05$, ^A = $p < 0.01$



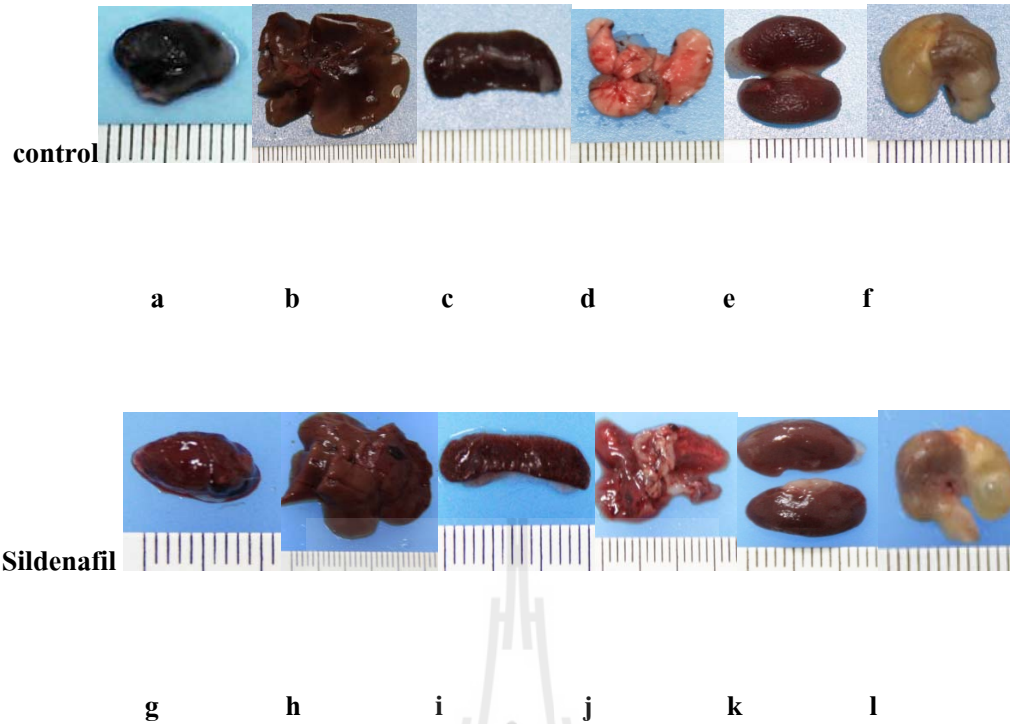
รูปที่ 3.23 ผลของสารสกัดจากรากของ *Butea superba* และ Sildenafil ต่อน้ำหนักของต่อมลูกหมาก (ต่อน้ำหนักตัว 100 กรัม) ของหนูทดลอง Con = กลุ่มควบคุม ได้รับน้ำกลั่น 0.5 มล./กก.น้ำหนักตัว/วัน, Cru = สารสกัดหยาบ 1,250 มก./กก.น้ำหนักตัว/วัน, Sil = Sildenafil 10 มก./กก.น้ำหนักตัว/วัน, FrB = แพลกชัน B 40 มก./กก.น้ำหนักตัว/วัน(Un1 1,260 ไมโครกรัม), FrC = แพลกชัน C 50 มก./กก.น้ำหนักตัว/วัน(6.78 Genistein ไมโครกรัม, Un1 31.59 ไมโครกรัม), FrE = แพลกชัน E 150 มก./กก.น้ำหนักตัว/วัน(Biochanin A 66.92 ไมโครกรัม, 9 สารประกอบที่ไม่ทราบชนิด) ทุกกลุ่มได้รับสารเป็นเวลา 14 วัน ใช้สถิติ Paired student T-test ในการทดสอบระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างก่อนและหลังการทดสอบโดย * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$ ความแตกต่างระหว่างกลุ่มการวิเคราะห์นั้นจะใช้การปรับระดับค่าเฉลี่ยเพื่อลดความแปรปรวนหลังจากการทดลองด้วย ANCOVA และใช้ Tukey HSD ในการทดสอบระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในแต่ละกลุ่มโดย ^a = $p < 0.05$, ^A = $p < 0.01$

ตารางที่ 3.12 ผลของสารสกัดจากรากของ *Butea superba* และ Sildenafil ต่อน้ำหนักของอวัยวะที่สำคัญ(ต่อน้ำหนักตัว 100 กรัม) ของหนูทดลอง Con = กลุ่มควบคุม ได้รับน้ำกลั่น 0.5 มล./กก.น้ำหนักตัว/วัน, Cru = สารสกัดหยาบ 1,250 มก./กก.น้ำหนักตัว/วัน, Sil = Sildenafil 10 มก./กก.น้ำหนักตัว/วัน, FrB = แพลกชั้น B 40 มก./กก.น้ำหนักตัว/วัน(Un1 1,260 ไมโครกรัม), FrC = แพลกชั้น C 50 มก./กก.น้ำหนักตัว/วัน(6.78 Genistein ไมโครกรัม,Un1 31.59 ไมโครกรัม), FrE = แพลกชั้น E 150 มก./กก.น้ำหนักตัว/วัน(Biochanin A 66.92 ไมโครกรัม,9 สารประกอบที่ไม่ทราบชนิด) ทุกกลุ่มได้รับสารเป็นเวลา 14 วัน ใช้สถิติ Paired student T-test ในการทดสอบระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างก่อนและหลังการทดสอบ โดย * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$ ความแตกต่างระหว่างกลุ่มการวิเคราะห์นั้นจะใช้การปรับระดับค่าเฉลี่ยเพื่อลดความแปรปรวนหลังจากการทดลองด้วย ANCOVA และใช้ Tukey HSD ในการทดสอบระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในแต่ละกลุ่มโดย ^a = $p < 0.05$, ^A = $p < 0.01$

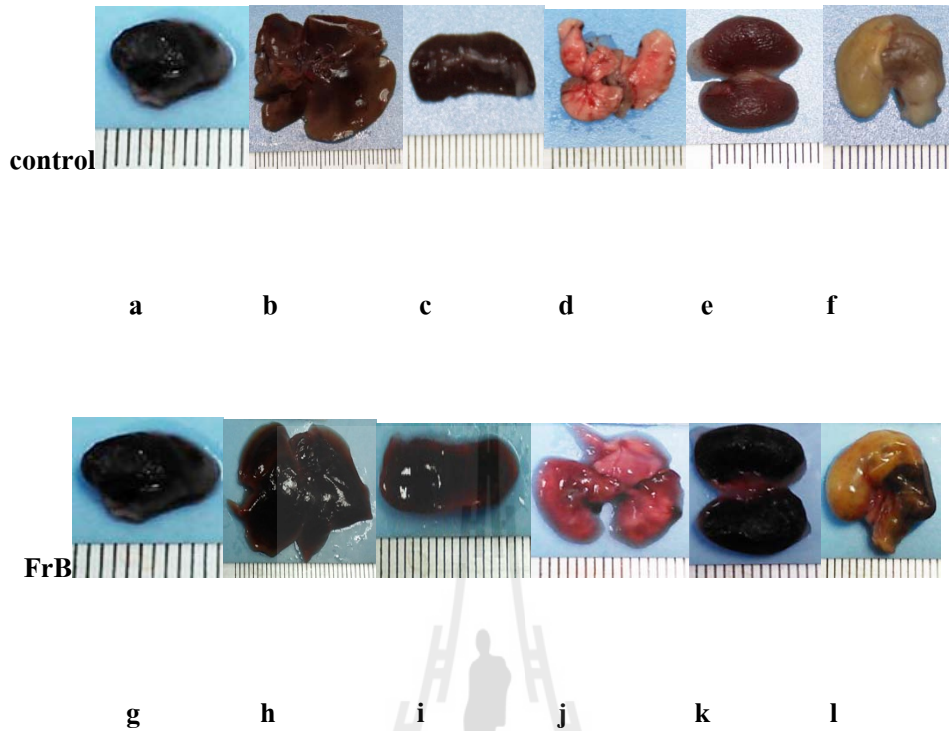
Vital organ (g/100gBW)	Con	Cru	Sil	FrB	FrC	FrE
Heart	0.14±0.002	0.13±0.003	0.14±0.003	0.13±0.010	0.15±0.011	0.13±0.005
Liver	1.74±0.005	1.71±0.022	1.76±0.005	1.70±0.05	1.73±0.017	1.64±0.042
Spleen	0.05±0.005 ^{cC}	0.04±0.003 ^{cC}	0.07±0.007 ^{bc,BC}	0.11±0.025 ^{ab,AB}	0.12±0.007 ^{a,AB}	0.15±0.005 ^{a,A}
Lung	0.19±0.01 ^{AB}	0.17±0.02 ^{AB}	0.21±0.004 ^A	0.16±0.012 ^{AB}	0.16±0.011 ^{AB}	0.14±0.004 ^B
Kidney	0.8±0.06	0.6±0.01	0.73±0.003	0.59±0.048	0.63±0.026	0.61±0.032
Stomach	1.04±0.06 ^{AB}	1.19±0.008 ^A	1.09±0.06 ^{AB}	0.70±0.109 ^{BC}	0.72±0.089 ^{BC}	0.49±0.038 ^C



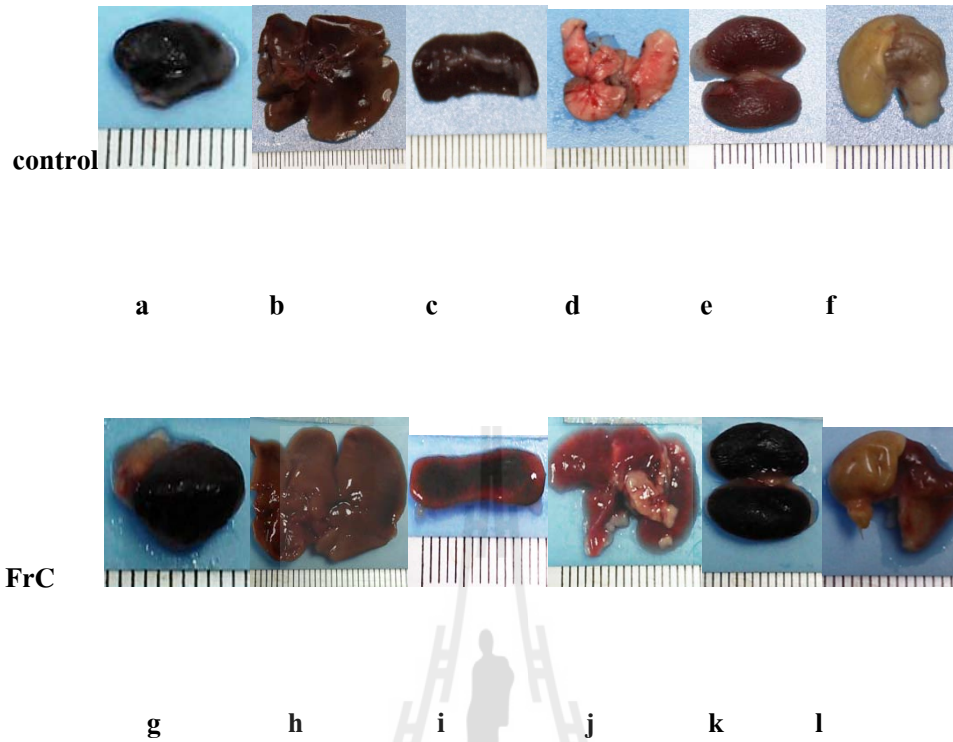
รูปที่ 3.24 สันฐานวิทยาของอวัยวะหลักในร่างกายของหนูกที่ได้รับสารสกัดหยาบ (Cru) ของ *Butea superba* ที่ขนาด 1,250 มก./กก. น้ำหนักตัว/วันเป็นเวลา 14 วันติดต่อกันเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเชิงลบ, กลุ่มควบคุม; a = หัวใจ b = ตับ c = ม้าม d = ปอด e = ไขมัน f = กระจะเพาะอาหาร, กลุ่มทดลอง; g = หัวใจ h = ตับ i = ม้าม j = ปอด k = ไขมัน l = กระจะเพาะอาหาร, ขนาด 1 ช่องวัด = 1 มม.



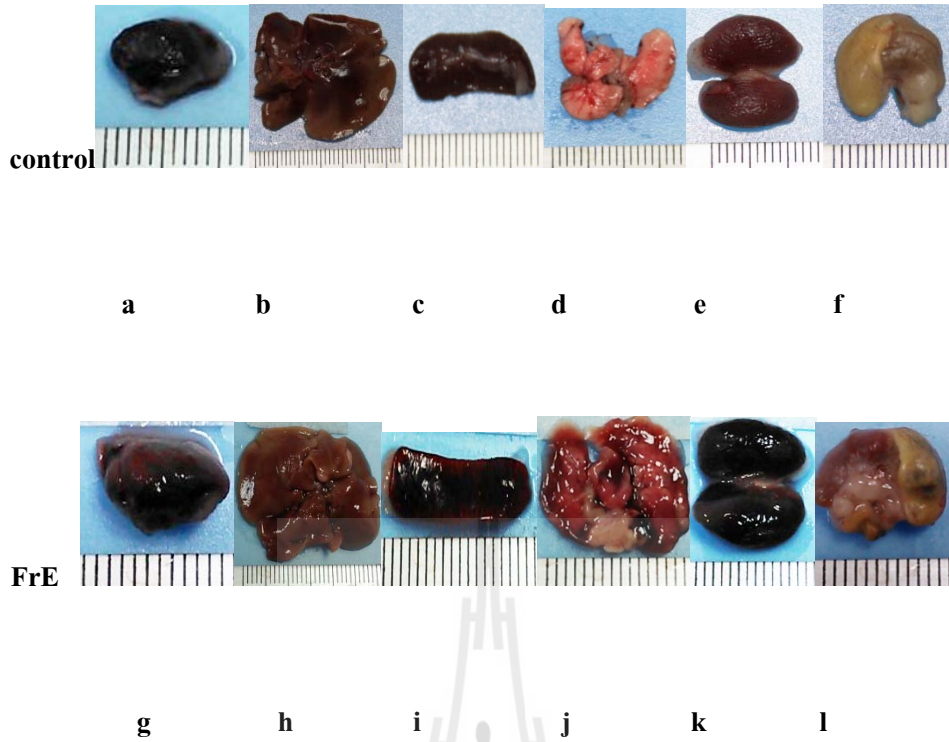
รูปที่ 3.25 สันฐานวิทยาของอวัยวะหลักในร่างกายของหนูที่ได้รับ Sildenafil ที่ขนาด 10 มก./กก. น้ำหนักตัว/วันเป็นเวลา 14 วันติดต่อกันเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเชิงลบ, กลุ่มควบคุม; a = หัวใจ b = ตับ c = ม้าม d = ปอด e = ไต f = กระเพาะอาหาร, กลุ่มทดลอง; g = หัวใจ h = ตับ i = ม้าม j = ปอด k = ไต l = กระเพาะอาหาร, ขนาด 1 ช่องวัด = 1 มม.



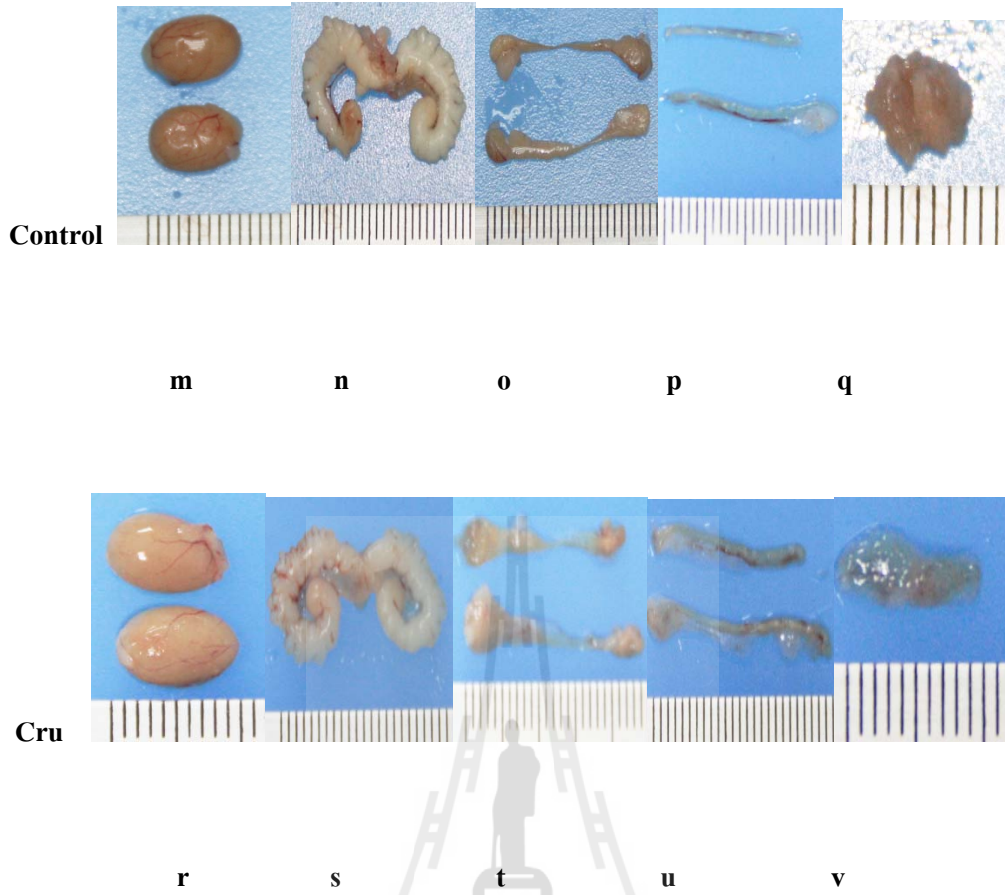
รูปที่ 3.26 สันฐานวิทยาของอวัยวะหลักในร่างกายของหนูที่ได้รับสารฟลักซัน B (FrB) ที่ขนาด 40 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน (Un1 1,260 ไมโครกรัม) เป็นเวลา 14 วันติดต่อกันเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเชิงลบ, กลุ่มควบคุม; a = หัวใจ b = ตับ c = ม้าม d = ปอด e = ไต f = กระเพาะอาหาร, กลุ่มทดลอง; g = หัวใจ h = ตับ i = ม้าม j = ปอด k = ไต l = กระเพาะอาหาร, ขนาด 1 ช่องวัด = 1 มม.



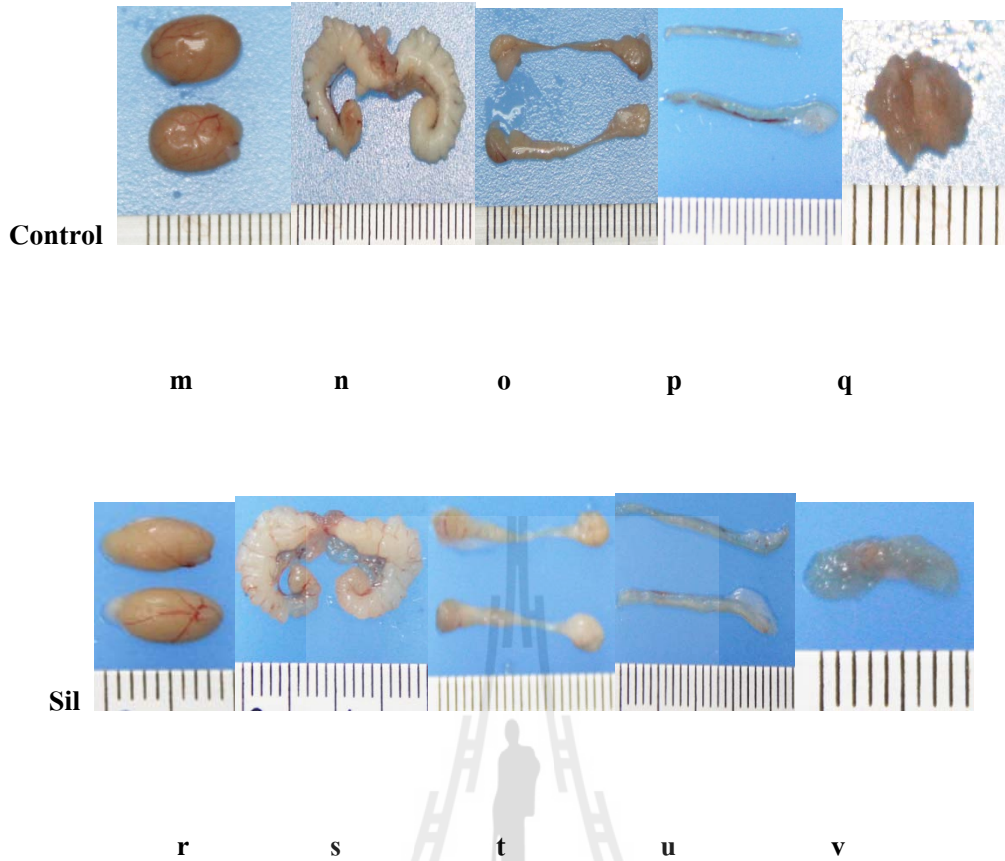
รูปที่ 3.27 สันฐานวิทยาของอวัยวะหลักในร่างกายของหนูที่ได้รับสารฟเลกชัน C (FrC) ที่ขนาด 50 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน (Genistein 6.78 ไมโครกรัม และ Un1 31.59 ไมโครกรัม) เป็นเวลา 14 วันติดต่อกัน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเชิงลบ, กลุ่มควบคุม; a = หัวใจ b = ตับ c = ม้าม d = ปอด e = ไต f = กระเพาะอาหาร, กลุ่มทดลอง; g = หัวใจ h = ตับ i = ม้าม j = ปอด k = ไต l = กระเพาะอาหาร, ขนาด 1 ช่องวัด = 1 มม.



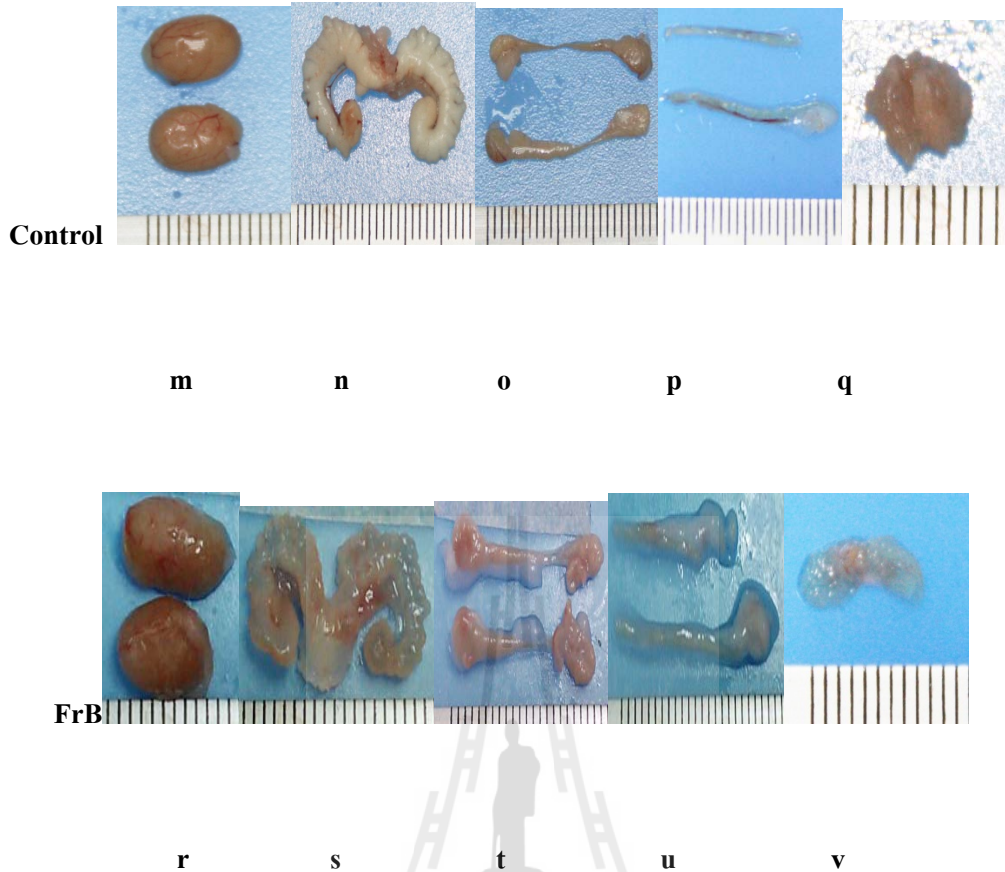
รูปที่ 3.28 สันฐานวิทยาของอวัยวะหลักในร่างกายของหนูที่ได้รับสารฟเลกซัน E (FrE) ที่ขนาด 150 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน (Biochanin A 66.92 ไมโครกรัม และ สารที่ไม่ทราบชนิด 9 ตัว) เป็นเวลา 14 วันติดต่อกัน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเชิงลบ, กลุ่มควบคุม; a = หัวใจ b = ตับ c = ม้าม d = ปอด e = ไต f = กระเพาะอาหาร, กลุ่มทดลอง; g = หัวใจ h = ตับ i = ม้าม j = ปอด k = ไต l = กระเพาะอาหาร, ขนาด 1 ช่องวัด = 1 มม.



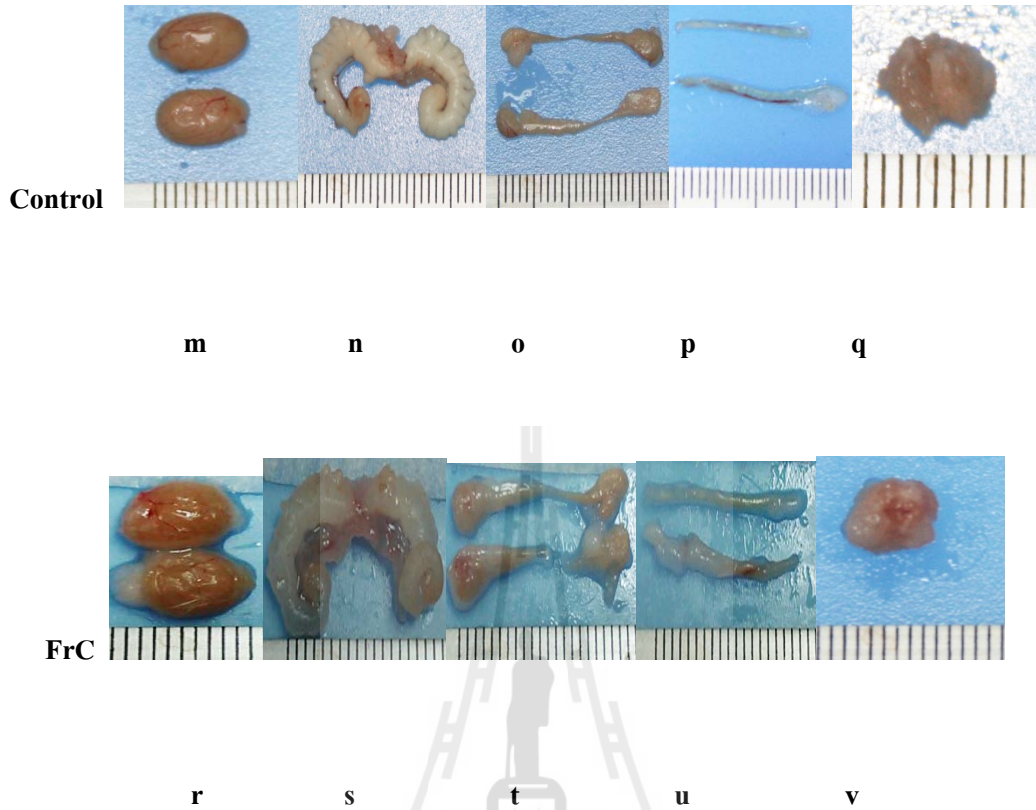
รูปที่ 3.29 สัณฐานวิทยาของอวัยวะสืบพันธุ์หลักของหนอนที่ได้รับสารสกัดหยาบ (Cru) ของ *Butea superba* ที่ขนาด 1,250 มก./กก. น้ำหนักตัว/วันเป็นเวลา 14 วันติดต่อกันเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเชิงลบ, กลุ่มควบคุม; m = อวัยวะ n = ต่อมสร้างน้ำเลี้ยงอสุจิ o = หลอดเก็บอสุจิ p = หลอดนำอสุจิ q = ต่อมลูกหมาก, กลุ่มทดลอง; r = อวัยวะ s = ต่อมสร้างน้ำเลี้ยงอสุจิ t = หลอดเก็บอสุจิ u = หลอดนำอสุจิ v = ต่อมลูกหมาก, ขนาด 1 ช่องวัด = 1 มม.



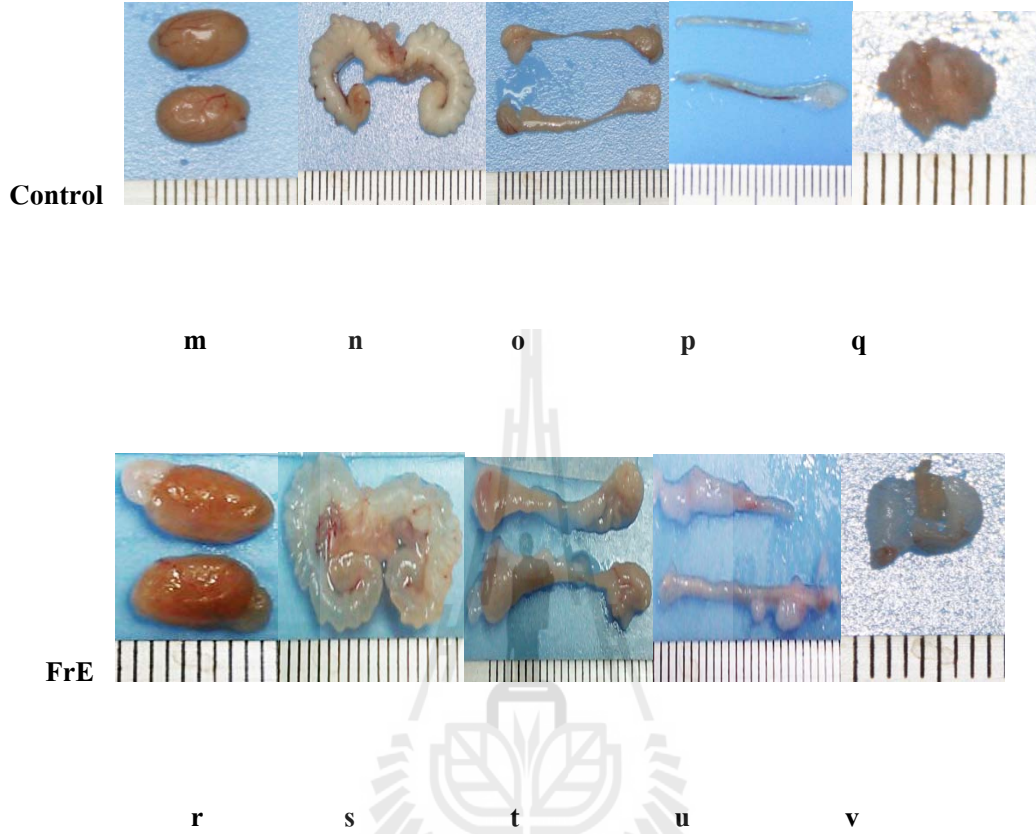
รูปที่ 3.30 สัณฐานวิทยาของอวัยวะสืบพันธุ์หลักของหนูที่ได้รับ Sildenafil ที่ขนาด 10 มก./กก. น้ำหนักตัว/วันเป็นเวลา 14 วันติดต่อกันเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเชิงลบ, กลุ่มควบคุม; m = อัณฑะ n = ต่อมสร้างน้ำเลี้ยงอสุจิ o = หลอดเก็บอสุจิ p = หลอดนำอสุจิ q = ต่อมลูกหมาก, กลุ่มทดลอง; r = อัณฑะ s = ต่อมสร้างน้ำเลี้ยงอสุจิ t = หลอดเก็บอสุจิ u = หลอดนำอสุจิ v = ต่อมลูกหมาก, ขนาด 1 ช่องวัด = 1 มม.



รูปที่ 3.31 สัณฐานวิทยาของอวัยวะสืบพันธุ์หลักของหนูที่ได้รับสารเฟลทรีน B (FrB) ที่ขนาด 40 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน (Un1 1,260 ไมโครกรัม) เป็นเวลา 14 วันติดต่อกันเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเชิงลบ, กลุ่มควบคุม; m = อัณฑะ n = ต่อมสร้างน้ำเลี้ยงอสุจิ o = หลอดเก็บอสุจิ p = หลอดนำอสุจิ q = ต่อมลูกหมาก, กลุ่มทดลอง; r = อัณฑะ s = ต่อมสร้างน้ำเลี้ยงอสุจิ t = หลอดเก็บอสุจิ u = หลอดนำอสุจิ v = ต่อมลูกหมาก, ขนาด 1 ช่องวัด = 1 มม.



รูปที่ 3.32 สันฐานวิทยาของอวัยวะสืบพันธุ์หลักของหนูที่ได้รับสารแฟลกซัน C (FrC) ที่ขนาด 50 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน (Genistein 6.78 ไมโครกรัม และ Unl 31.59 ไมโครกรัม) เป็นเวลา 14 วันติดต่อกัน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเชิงลบ, กลุ่มควบคุม; m = อัณฑะ n = ต่อมสร้างน้ำเลี้ยงอสุจิ o = หลอดเก็บอสุจิ p = หลอดนำอสุจิ q = ต่อมลูกหมาก, กลุ่มทดลอง; r = อัณฑะ s = ต่อมสร้างน้ำเลี้ยงอสุจิ t = หลอดเก็บอสุจิ u = หลอดนำอสุจิ v = ต่อมลูกหมาก, ขนาด 1 ช่องวัด = 1 มม.



รูปที่ 3.33 สันฐานวิทยาของอวัยวะสืบพันธุ์หลักของหนูที่ได้รับสารแฟลกซัน E (FrE) ที่ขนาด 150 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน (Biochanin A 66.92 ไมโครกรัม และ สารที่ไม่ทราบชนิด 9 ตัว) เป็นเวลา 14 วันติดต่อกัน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเชิงลบ, กลุ่มควบคุม; m = อัณฑะ n = ต่อมสร้างน้ำเลี้ยงอสุจิ o = หลอดเก็บอสุจิ p = หลอดนำอสุจิ q = ต่อมลูกหมาก, กลุ่มทดลอง; r = อัณฑะ s = ต่อมสร้างน้ำเลี้ยงอสุจิ t = หลอดเก็บอสุจิ u = หลอดนำอสุจิ v = ต่อมลูกหมาก, ขนาด 1 ช่องวัด = 1 มม.

บทที่ 4

สรุปผลการศึกษา

รากของ *Butea superba* นั้นได้รับความนิยมในการนำมาใช้ฟื้นฟูสมรรถภาพของชายไทยเพราะมีไฟโตแอนโดรเจนที่มีโครงสร้างและหน้าที่คล้ายกับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนซึ่งรากของ *Butea superba* นั้นได้รับการกล่าวอ้างว่าสามารถเพิ่มประสิทธิภาพทางเพศและป้องกันการเกิดมะเร็งต่อมลูกหมากได้ โรคเสื่อมสมรรถภาพทางเพศ (Erectile Dysfunction; ED) คือ โรคที่เพศชายไม่สามารถดำรงการแข็งตัวของอวัยวะเพศเพื่อให้อวัยวะสืบพันธุ์ได้ซึ่งมีสาเหตุจากทางร่างกายและจิตใจ ซึ่งรวมไปถึงการเป็นโรคเกี่ยวกับระบบหลอดเลือด, โรคเบาหวาน, การใช้ยาบางชนิด, โรคซึมเศร้าและการผ่าตัดต่อมลูกหมาก การใช้ยาที่ออกฤทธิ์ยับยั้ง phosphodiesterase (PDE) นั้นจะนำมาใช้รักษาเป็นทางเลือกแรกในผู้ป่วยโรคเสื่อมสมรรถภาพทางเพศ ยา Sildenafil ซึ่งเป็นยาที่ออกฤทธิ์ยับยั้ง PDE-5 นั้น เป็นยาที่ได้รับการอนุมัติสำหรับการรักษาเสื่อมสมรรถภาพทางเพศแต่อย่างไรก็ตามอาการข้างเคียงที่พบจากการใช้ sildenafil ที่พบบ่อยที่สุดก็คือ อาการปวดหัว, หน้าแดงร้อนวูบวาบ, ไม่สบายท้องและคัดจมูก ผลกระทบเหล่านี้เป็นผลข้างเคียงที่ไม่ร้ายแรงมากนักซึ่งมีผู้ป่วยโรคเสื่อมสมรรถภาพทางเพศไม่มากที่จะหยุดใช้ยาจากอาการข้างเคียงนี้ นอกจากนี้ยังอาจเกิดการมองเห็นสีที่ผิดปกติ (ในการแยกสีฟ้า/เขียว) จาก Sildenafil ได้อีกด้วยดังนั้นวัตถุประสงค์ของการศึกษานี้ก็เพื่อศึกษาผลต่อระบบสืบพันธุ์ในหนูเพศผู้ ของสารสกัดจากรากสะสมอาหารของ *Butea superba* เทียบกับ Sildenafil ซึ่งสารสกัดผงแห้ง จะทำโดยนำรากของ *Butea superba* มาสกัดด้วยเอทานอล แล้วจึงนำสารสกัดเอทานอลมาแยกออกโดยใช้ซิลิกาเจลคอลัมน์โดยชะล้างตามลำดับลำดับด้วยเฮกเซน, คลอโรฟอร์ม, อะซิโตนและเมทานอล สารสกัดอะซิโตนจะถูกแยกออกโดยคอลัมน์โครมาโทกราฟีเพื่อให้ได้กลุ่มสารประกอบที่ต้องการ โครงสร้างทางเคมีของสารที่แยกออกมาจะตรวจสอบเอกลักษณ์โดยวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC), UV-Vis, FT-IR, MS, ¹H-NMR และ ¹³C-NMR โดยเทียบกับสารมาตรฐาน โดยโครงสร้างของทั้งสามสารสรุปได้ดังนี้

- สารที่ 1 ถูกระบุว่าเป็น 5,7-dihydroxy-4'-methoxyisoflavone หรือ biochanin A
- สารที่ 2 ถูกระบุว่าเป็น 5,7,4'-trihydroxyisoflavone หรือ genistein
- สารที่ 3 ถูกระบุว่าเป็น stigmasteryl-3-O-β-D-glucopyranoside

genistein นั้นมีการรายงานก่อนหน้านี้ว่ามีอยู่ในกวางเครือขาวซึ่งอยู่ในวงศ์ Papilionaceae แต่รายงานนี้เป็นการรายงานครั้งแรกที่สามารถพบ genistein ได้ในกวางเครือแดงด้วยเช่นกัน นอกจากนี้ยังเป็นการรายงานครั้งแรกที่สามารถพบ biochanin A และ stigmasteryl-3-O-D-glucopyranoside ทั้งในกวางเครือแดงและพืชในวงศ์ Papilionaceae อีกด้วย

สารแฟลกซันแต่ละสารนั้นจะถูกนำมาทดสอบฤทธิ์โดยนำมาป้อนให้กับหนูไม่ซัพเพสผู้ สารสกัดหยาบที่มีอัตราผลผลิตที่ร้อยละ 1.5% (w/w) นั้นจะถูกป้อนให้กับหนูที่ขนาด 1,250มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน ซึ่งประกอบด้วย Genistein 53.57 ไมโครกรัม, Biochanin A 312.95 ไมโครกรัมและสารที่ไม่ทราบชนิด 1 (Un1) 396.59 ไมโครกรัม แฟลกซัน B (FrB) (ร้อยละผลผลิต = 0.022%) นั้นจะถูกป้อนให้กับหนูที่ขนาด 40 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน ซึ่งประกอบด้วย สารที่ไม่ทราบชนิด 1 (Un1) 1,260.00 ไมโครกรัม แฟลกซัน C (FrC) (ร้อยละผลผลิต = 0.030%) นั้นจะถูกป้อนให้กับหนูที่ขนาด 50มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน ซึ่งประกอบด้วย Genistein 6.78 ไมโครกรัมและสารประกอบที่ไม่ทราบชนิด 1 (Un1) 31.59 ไมโครกรัม นอกจากนั้นแฟลกซัน E (FrE) (ร้อยละผลผลิต = 0.054%) นั้นจะถูกป้อนให้กับหนูที่ขนาด 150มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน ซึ่งประกอบด้วย Biochanin A 66.92 ไมโครกรัมที่เป็นสารประกอบหลักและมีอีก 9 สารประกอบที่ไม่ทราบชนิด ทุกกลุ่มได้รับสารเป็นเวลา 14 วันติดต่อกัน โดยจะมีการเจาะเลือดเลือดและเก็บอสุจิทั้งก่อนการทดลองและหลังการทดลองในทุกกลุ่ม นอกจากนี้ในตอนสุดท้ายของการทดลองจะมีการเก็บอวัยวะสืบพันธุ์และอวัยวะที่สำคัญสำหรับเพื่อวิเคราะห์เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลง นอกจากนั้นก็มี การวิเคราะห์ถึงน้ำหนักตัวที่เปลี่ยนแปลงไป

จากผลการศึกษาพบว่าน้ำหนักตัวในกลุ่มที่ได้รับสารทั้งหมดนั้นไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ จากกลุ่มควบคุม ในขณะที่น้ำหนักตัวของกลุ่มที่ได้รับแฟลกซัน B, C และ E นั้นหนักกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$) ในทางตรงกันข้ามน้ำหนักกระเพาะอาหารของกลุ่มที่ได้รับแฟลกซัน E นั้นจะเบาว่ากลุ่มที่ได้รับ sildenafil, สารสกัดหยาบและกลุ่มควบคุม ($p < 0.01$) แต่น้ำหนักอวัยวะของกลุ่มที่ได้รับสารสกัดหยาบและ Sildenafil จะหนักกว่ากลุ่มที่ได้รับ แฟลกซัน B และกลุ่มควบคุม ($p < 0.01$) นอกจากนี้ น้ำหนักหลอดเก็บอสุจิของกลุ่มที่ได้รับแฟลกซัน E และ C นั้นจะหนักกว่ากลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$) นอกจากนั้นน้ำหนักของต่อมสร้างน้ำเลี้ยงอสุจิของกลุ่มที่ได้รับแฟลกซัน B, C และ E จะหนักกว่ากลุ่มอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$) ส่วนต่อมลูกหมากของกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับสารสกัดหยาบนั้น จะหนักกว่ากลุ่มอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$) นอกจากนี้ผลระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนนั้นแสดงให้เห็น



ในขณะที่ระดับฮิโมโกลของกลุ่มที่ได้รับ Sildenafil และสารสกัดหยาบนั้นมีค่าต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับก่อนการให้สารที่ $p < 0.01$ และ < 0.05 ตามลำดับ ถึงแม้ว่าระดับฮิโมโกลของกลุ่มที่ได้รับแฟลกซัน E นั้นจะสูงกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับสารสกัดหยาบอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ก็ตาม

การค้นพบนี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัด *Butea superba* ในแฟลกซัน C และ E นั้น สามารถเพิ่มระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน, จำนวนอสุจิและการเคลื่อนที่ของอสุจิหนูเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ Sildenafil และกลุ่มควบคุม ซึ่งจากผลการทดลองนั้นอาจเป็นไปได้ว่า Genistein, สารประกอบที่ไม่ทราบชนิด 1 และ Biochanin A อาจมีบทบาทสำคัญที่ทำให้ได้ผลลัพธ์เหล่านั้น ดังนั้นการค้นพบนี้สามารถเป็นหลักฐานที่แสดงว่าสารสกัดจากรากของ *Butea superba* สามารถพัฒนาเพื่อนำไปใช้ในการเพิ่มระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน, จำนวนอสุจิ, การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ และนำไปใช้รักษาภาวะมีบุตรยากหรือรักษาโรคอัลไซเมอร์ในผู้ชาย ซึ่งจะต้องมีการทดลองหาระดับยาที่เหมาะสมและปลอดภัยต่อไป



บรรณานุกรม

- ชวลิต นิยมธรรม. (2538). กวาวเครือ. อนุกรมวิธานพืชอักษร ราชบัณฑิตยสถาน. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์เพื่อนพิมพ์. หน้า 495.
- เต็ม สมิตินันท์. (2544). ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย. ส่วนพฤกษศาสตร์ป่าไม้ สำนักวิชาการ ป่าไม้. กรมป่าไม้. หน้า 379.
- นิสากร ปานประสงค์. (2542). กวาวเครือ ความหวังสมุนไพรไทย. วารสาร UPDATE กันยายน-ตุลาคม. หน้า 40-45.
- มหัศจรรย์แห่งสมุนไพรไทย. (2547). [ออนไลน์]. <http://www.thai.net>.
- สิทธิศักดิ์ ปิ่นมงคลกุล. (2545). การศึกษาเปรียบเทียบผลของกวาวเครือแดง (*Butea superba* Roxb.) ที่พบในพื้นที่ที่แตกต่างกันสองพื้นที่ ต่อ อวัยวะสืบพันธุ์ พฤติกรรมการสืบพันธุ์ และ การแข็งตัวของอวัยวะเพศในหนูขาวเพศผู้ (*Rattus norvegicus*). วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต. สาขาวิชาชีววิทยา สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- อธิพงษ์ มานะเสถียร. (2545). การศึกษาเปรียบเทียบผลของกวาวเครือแดง (*Butea superba* Roxb.) ที่พบในพื้นที่ที่แตกต่างกันสองพื้นที่ต่อ หัวใจ ตับ ไต ต่อมหมวกไต และ องค์ประกอบของเลือดในหนูขาวเพศผู้ (*Rattus norvegicus*). วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต. สาขาวิชาชีววิทยา สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- เสงี่ยม พงษ์บุรุษอด. (2538). ไม้เทศเมืองไทย. กรุงเทพฯ. สำนักพิมพ์เกษมบรรณกิจ.
- Cherdshewasart, W., and Nimsakul, N. (2003). Clinical trial of *Butea superba* Roxb. an alternative herbal treatment for erectile dysfunction. **Asian Journal of Andrology**. 5: 243-246.
- Cherdshewasart, W., Bhuntaku, P., Panriansaen, R., Dahlan, W., and Malaivijitnond, S. (2008). Androgen disruption and toxicity tests of *Butea superba* Roxb., a traditional herb used for treatment of erectile dysfunction, in male rats. **Maturitas**. (2) 60: 131-137.

- Cherdshewasart, W., Cheewasopit, W., and Picha, P. (2004). The differential anti-proliferation effect of white (*Pueraria mirifica*), red (*Butea superba*), and black (*Mucuna collettii*) Kwao Krua plants on the growth of MCF-7 cells. **Journal of Ethnopharmacology**. 93: 255-260.
- Hodgson, J.M., Puddey, I.B., Burke, V., Bellin, L.J., and Jordan, N. (1999). Effect on blood pressure of drinking green and black tea. **Journal of Hypertension**. 17: 457-463.
- Jeff, R., Cortés-González, Jorge A., Arratia-Maqueo, Lauro S., and Anders Holmberg, R. (2009). The use of *Butea superba* (Roxb.) compared to sildenafil for treating erectile dysfunction. **Journal of Compilation B J U International**. 105: 225-228.
- Malaivijitnond, S., Ketsuwan, A., Watanabe, G., Taya, K., and Cherdshewasart, W. (2009). Androgenic activity of the Thai traditional male potency herb, *Butea superba* Roxb. in female rats. **Journal of Ethnopharmacology**. 121: 123-129.
- Manosroi, A., Sanphet, K., Saowakon, S., Aritajat, S., and Manosroi, J. (2006). Effects of *Butea superba* on reproductive systems of rats. **Fitoterapia**. 77: 435-438.
- Mengumphan, K., Samitasiri, Y., and Carandang R (2006). The Potential of Red Kwao Kreua (*Butea superba*) in inducing sex reversal on three Strains (Red, Ghana, Chitralada) of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) and the effect of 17- α -methyltestosterone. **Asian Fisheries Science**. 19: 271-279.
- Ngamrojanavanich, N., Loontaisong, A., Pengpreecha, S., Cherdshewasart, W., Pornpakakul, S., Pudhom, K., Roengsumran, S., and Petsom, A. (2007). Cytotoxic constituents from *Butea superba* Roxb. **Journal of Ethnopharmacology**. 109: 354-358.
- Ralston, L., Subramanian, S., Matsuno, M., and Yu, O. (2005). Partial reconstruction of flavonoid and isoflavonoid biosynthesis in yeast using soybean type I and type II chalcone isomerase. **Journal of Plant Physiology**. 137: 1375-1388.
- Roengsumran, S., Petsom, A., Ngamrojanavanich, N., Rugslip, T., Sittiwicheanwong., Khorphueng, P., Cherdshewasart, W., and Chaichantipyuth C. (2000). Flavonoid and flavonoidglycoside from *Butea superba* Roxb. and their cAMP phosphodiesterase inhibitory activity. **Journal of Scientific Research Chulalongkorn University**. 251: 69-176.

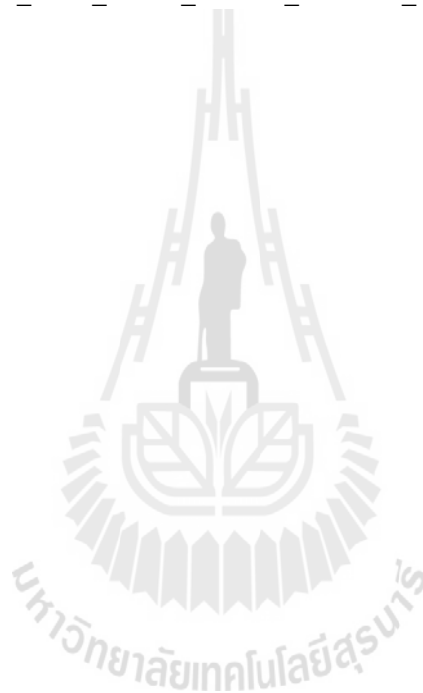
Tocharus, C., Jeenapongsaa, R., Teakthonga, T., and Smitasirib, Y. (2005). Effects of long-term treatment of *Butea superba* on sperm motility and concentration. **Naresuan University Journal**. 13: 11-17.

Winkel, B. (2001). It takes a garden. How work on diverse plant species has contributed to an understanding of flavonoid metabolism. **Journal of Plant Physiology**. 127: 1399-1404.

<http://www.magnoliathailand.com/webboard/index.php?action=dlattach;topic=6220.0;attach=71443;imagehttp://www.bloggang.com>

<http://www.bloggang.com/data/banpeenuy/picture/1263550934.jpg>

http://www.kadnad.com/upload/ads_9/ads_97/ads_970/ads_9700/ads_97009/img_97009_2.jpg



ภาคผนวก



Output ที่ได้จากโครงการ

Conference Proceedings:

Naknarong, W., Eumkeb, G., 2012. The effects of Red Kwao Kru (Butea superba Roxb.) extract on reproductive system of male mice, in: Manosroi, A., Manosroi, J. (Ed.), NATPRO 4, Natural Products for Health and Beauty, The Fourth International Conference on Natural Products for Health and Beauty. Sangreeya Publishing Co, Chiang Mai, Thailand, pp. 193-197.

Tanphonkrang, S., Sakdarat, S., 2012. Isolation and characterization of the chemical constituents from tuber roots of Butea superba Roxb. , in: Siripitayananon, J. (Ed.), PACCON 2012 - Pure and Applied Chemistry International Conference (PACCON2012). Chiangmai University, The Empress Hotel Chiang Mai in Chiangmai, Chiangmai, Thailand, pp. 1700-1703.

Griangsak Eumkeb, Wanatkamon Naknarong, Kittipot Sirichaiwetchakoon, 2013. The effects of Red Kwao Kru (Butea superba Roxb.) extract on reproductive system of male mice. In: Soothisri R, ed. Proceedings of the 100 Years of Pharmaceutical Science; New century for research, 2013. Pharmaceutical Science Faculty, Chulalongkorn University: Chula Publisher, (is accepted).

ประวัติผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการวิจัย

1. **Name and Rank:** *Assistant Professor Dr. Griangsak Eumkeb*
2. **Department / School:** *School of Biology, Institute of Science*
3. **University:** *Suranaree University of Technology*
4. **Degree:**

Degree	Field	Date Awarded	Institute / Country
Ph.D.	Pharmacology	1999	The Robert Gordon University, United Kingdom
B.Sc.	Pharmacy	1989	Chulalongkorn University, Thailand

5. Experiences:

5.1 Administration Experience:

Period	Position	Institution / Firm
2004-present	Assistant Professor	Institute of Science, Suranaree University of Technology (SUT)
2002-2005	Assistant Center for Scientific and Suranaree University of Technology	Director of Center for Scientific and Technology equipment, Technology equipment
1999-2002	Lecturer	School of Pharmacology, Inst. of Science, SUT.
1989-1994	Pharmacist	MaharatNakhonRatchasima Hospital, Thailand

6. Current Professional Field Registration:

Pharmacology and toxicology, Medicinal plant, Clinical Pharmacy

7. Members:

1. *Thai society of toxicology*
2. *Thai society of pharmacist*
3. *Thai pharmacy council*
4. *The alumni association of Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University.*

8. Research Grants Awarded:

2011- The Royal Golden Jubilee Ph.D. Program Advisorships (1 Grant): The Thailand Research Fund, Thailand

2006-2008: Research Career Development Grant (Metheevijai): The Thailand Research Fund, Thailand

2003-2004: Research Grant for New Scholar : The Thailand Research Fund-Commission on Higher Education

2004-2011: Research Grants (9 Grants): National Research Council of Thailand/Institute of Research and Development, Suranaree University of Technology, Thailand

2011: The Royal Golden Jubilee Ph.D. Program Advisorships (1 Grants): The Thailand Research Fund, Thailand

9. Award :

2013 : Outstanding alumnus, Nonkipittakom school, Burirum, Thailand

2011 : Renowned deed in athletics leader, Suranaree University of Technology

2010 : Renowned deed in athletics manager, Suranaree University of Technology

2008 : Outstanding alumnus, Nonkipittakom school, Burirum, Thailand

1994-1999: The Royal Thai Government Scholarship, MUA, to study Ph.D. in U.K. for 4 years.

1985-1988: Boonrod - Brewery Scholarship for 4 years, Chulalongkorn University,

1983-1984: Bangkok-Bank Scholarship for 2 years, Mahidol University

10. Scientific Publications :

Referred articles:

Richards, R.M.E., **Eumkeb, G.** and Marshall, D. (1997). *Is the ultrastructural damage caused by subinhibitory concentrations of trimethoprim and sulphadiazine part of their normal mechanism of action? Microbios, 92, 183 - 197.*

Eumkeb, G. and Richards, R.M.E. (2005). *Reversing beta-lactam antibiotic resistance with flavonoids in Gram positive Bacteria. Acta Horticulturae. Vol 4: 678: 171-178.*

Jirawan Oonmetta-aree, Tomoko Suzuki, Piyawan Gasaluck and **Griangsak Eumkeb.** (2006). *Antimicrobial Properties and Action of Galangal (Alpinia galanga Linn.) on Staphylococcus aureus. LWT Food Science and Technology. 39: 1214-1220.*

(IF 2012 = 2.546)

Punopas, K., **Eumkeb, G.**, Chitsomboon, B. and Nakkiew, P. (2004). *The study of antibacterial activity of some medicinal plant in Lamiaceae family. Suranaree J. Sci. Technol. 11:52-59.*

Eumkeb, G. and Richards R.M.E. (2004). *Reversing β -Lactam Antibiotic Resistance in Gram-positive bacteria by Some Flavonoids. Suranaree J. Sci. Technol. 11:143-150.*

Eumkeb, G., Sakdarat, S and Siriwong, S. (2010). *"Reversing [beta]-lactam antibiotic resistance of Staphylococcus aureus with galangin from Alpinia officinarum Hance and synergism with ceftazidime." Phytomedicine 18(1): 40-45.*

(Impact Factor 2012 =2.972)

Eumkeb, G. and Duangkham A. (2011). *"Subacute Toxicity Test of Galangin and ceftazidime in Mice." Thai Journal of Toxicology 26(1): 5-13.*

Eumkeb, G., Siriwong, S., Phitaktim, S., Rojtinnakorn, N., Sakdarat, S. (2012). "Synergistic activity and mode of action of flavonoids isolated from smaller galangal and amoxicillin combinations against amoxicillin-resistant *Escherichia coli*." *J. Appl. Microbiol.* 112, 55-64.

(Impact Factor 2012 = 2.196)

Munglue, P., Eumkep, G., Wray, S., Kupittayanant, S. (2013). *The Effects of Watermelon (Citrullus lanatus) Extracts and L-Citrulline on Rat Uterine Contractility. Reproductive Sciences. is accepted.*

(Impact Factor 2012 = 2.064)

Eumkeb, G., Siriwong, S., Thumanu, K., 2012. Synergistic activity of luteolin and amoxicillin combination against amoxicillin-resistant *Escherichia coli* and mode of action. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology.* 117, 247-253.

(Impact Factor 2012 = 3.11)

Eumkeb, G. and Chukrathok, S. (2013) Synergistic activity and mechanism of action of ceftazidime and apigenin combination against ceftazidime-resistant *Enterobacter cloacae*. *Phytomedicine* 20:262-269.

(Impact Factor 2012 = 2.972).

Patent

The combination of flavonoids and drugs against Staphylococcus aureus and Enterobacter cloacae : patent asking no: 0601001839 , 2006

Conference Proceedings:

Griangsak Eumkeb, Nichayanan Chaisena, Nitaya Rojtinnakorn, Supatcharee Siriwong, Aphai Duangkham. (2008). P14 Reversing β -Lactam Antibiotic Resistant Bacteria with Flavonoids. In : *Proceeding of 30th Pharmacological and Therapeutic Society of Thailand Meeting.* 27-28 March 2008. *Thai Journal of Pharmacology.* Vol 29: No I: 117-126. Bangkok: Ruen Kaew Press.

Siriwong S, Thumanu K, **Eumkeb G.** (2010). *Using FT-IR microspectroscopy to investigate biochemical change of drugs-resistance Escherichia coli treated with amoxicillin and apigenin. In: Proceeding of the 36th Congress on Science and Technology of Thailand (STT36). Abstract Book (Oral presentation, B2_0051/pp70.) 26-28 October 2010, Bangkok, Thailand: Bangkok International Trade & Exhibition Centre (BITEC), Thailand.*

Munghue, P., **Eumkep, G.**, Wray, S., Kupittayanant, S., (2012). *Uterine Relaxant Effects of Watermelon (Citrullus lanatus) Extracts. , in: The Physiology Society, (Ed.), Physiology 2012. The Physiology Society, Edinburgh International Conference Center, Edinburgh, EH3 8EE, United Kingdom., 27, pp. PC364.*

Siriwong, S., **Eumkeb, G.**, 2012. *Synergistic effect of penicillin with apigenin and kaempferol against Penicillin-resistant Staphylococcus epidermidis, in: Manosroi, A., Manosroi, J. (Ed.), NATPRO 4, Natural Products for Health and Beauty, The Fourth International Conference on Natural Products for Health and Beauty. Sangreeya Publishing Co., Chiang Mai, Thailand, pp. 368-372.*

Naknarong, W., **Eumkeb, G.**, 2012. *The effects of Red Kwao Kru (Butea superba Roxb.) extract on reproductive system of male mice, in: Manosroi, A., Manosroi, J. (Ed.), NATPRO 4, Natural Products for Health and Beauty, The Fourth International Conference on Natural Products for Health and Beauty. Sangreeya Publishing Co, Chiang Mai, Thailand, pp. 193-197.*

Research reports:

Eumkeb,G. and Jinakoon, N. (2003). *The study of medicinal plants and supplement food for health of community in NakhonRatchasima province*

Conference Abstracts:

Eumkeb, G. and Richards, R.M.E. (2003). *Reversing beta-lactam antibiotic resistance with flavonoids in Gram positive Bacteria. In The 3rd World Congress on Medicinal and Aromatic Plant for Human Welfare (WOCMAP III) From Biodiversity through Science and Technology,*

Trade and Industry to Sustainable Use, Abstracts Book (Poster presentation, PP04 -59, pp. 450).
3-7 February 2003, Chiangmai, Thailand : Chiangmai University

Eumkeb, G. and Richards, R.M.E. (2004). *Reversing beta-lactam antibiotic resistance in Gram positive Bacteria with some flavonoids.* In :*The 20th FAPA Congress 2004 : Emerging Science and Profession in Pharmacy* , **Abstracts Book (Oral presentation, PP-O-01, pp. 160).** 30 Nov – 3 Dec 2004, Bangkok, Thailand : *The Pharmaceutical Association of Thailand under Royal Patronage, Bangkok.*

Eumkeb, G. (2005). *Investigation of the effect of Some Flavonoids on some β - lactam antibiotics resistant bacteria.* In :*The Thai research Fund meeting : Senior Thai research Fund researchers meet Junior Thai research Fund researchers, Abstracts Book (Poster presentation, MRG168/p225, pp. 214).* 14-16 January 2005, Kanchanaburee, Thailand : *The Thai Research Fund and The higher education commission, Bangkok.*

Eumkeb, G. (2005). *Investigation of the effect of Some Flavonoids on some beta - lactam antibiotics resistant bacteria.* In :*The Thai research Fund meeting : Senior Thai research Fund researchers meet Junior Thai research Fund researchers, Abstract Book (Oral presentation, 13-R1-S1-MRG4680168/p227, pp. 1).* 13-15 October 2005, Petchaburi, Thailand : *The Thai Research Fund and The higher education commission, Bangkok.*

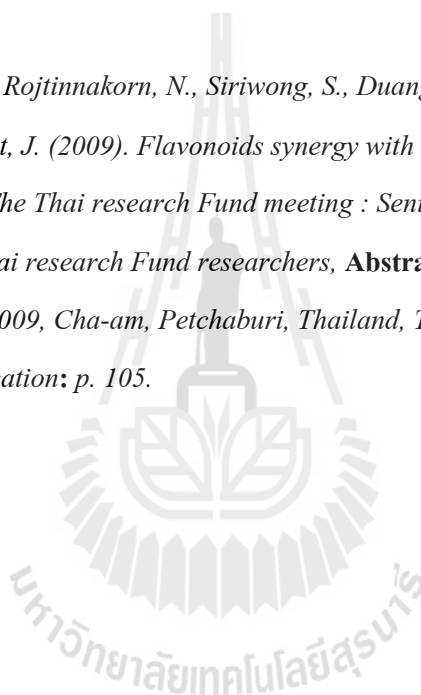
Eumkeb, G. Chukratok. S., Suttajit. M. and Ruangrunsi. N. (2005). *Investigation of the effect of Some Flavonoids on some beta-lactam antibiotics resistant bacteria.* In :*The 1st International Conference on Natural products for Health and Beauty; From local wisdom to global marketplace. Abstract Book (Oral presentation, O4-1/p232, pp. 124).* 17-21 October 2005, Mahasarakham, Thailand : *Mahasarakham University, and the higher education commission, Thailand.*

Eumkeb, G., Wongkamsound, K (2007). *Flavonoids synergy with beta-lactam antibiotics against beta-lactam-resistant bacteria.* In :*The Thai research Fund meeting : Senior Thai research Fund researchers meet Junior Thai research Fund researchers 7th, Abstract Book (Poster presentation,*

P-PHY-B06-RSA4980004 /p26 , pp. 26). 11-13 October 2007, Pattaya, Chonburee,Thailand : The Thai Research Fund and The higher education commission, Bangkok

Eumkeb, G., Wongkamsound, K. (2008). *Flavonoids synergy with β -lactam antibiotics against β -lactam-resistant bacteria. The Thai research Fund meeting : Senior Thai research Fund researchers meet Junior Thai research Fund researchers, Abstract Book (Poster presentation, PS-BIO-E20). 16-18 October 2008, Cha-am, Petchaburi, Thailand, Thailand research fund and Commission on higher education: p. 144.*

Eumkeb, G., Phitaktim, S., Rojtinnakorn, N., Siriwong, S., Duangkham, A., Naknarong, W., Wisansawat, J. (2009). *Flavonoids synergy with β -lactam antibiotics against β -lactam-resistant bacteria. The Thai research Fund meeting : Senior Thai research Fund researchers meet Junior Thai research Fund researchers, Abstract Book (Poster presentation, PS-BIO-B24). 15-17 October 2009, Cha-am, Petchaburi, Thailand, Thailand research fund and Commission on higher education: p. 105.*



ผลงานตีพิมพ์ทางหนังสือพิมพ์และสื่ออินเทอร์เน็ต (บางส่วน)

เกรียงศักดิ์ เอื้อมเก็บ พัฒนาสารสกัด"ข่า"สู่ยาปฏิชีวนะสูตรใหม่ ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดหนอง
สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย วันที่ 14 มกราคม 2548

เกรียงศักดิ์ เอื้อมเก็บ วิจัยพบ"ข่า"ยาปฏิชีวนะสูตรใหม่ ผู้จัดการออนไลน์ วันที่ 15 มกราคม 2548 เวลา
12:39 น. <http://www.manager.co.th/>

เกรียงศักดิ์ เอื้อมเก็บ เร่งวิจัย"ข่า"เป็นยาปฏิชีวนะสูตรใหม่ ต้านเชื้อหนองคื้อยาหนังสือพิมพ์บ้านเมือง
ประจำวันจันทร์ที่ 17 มกราคม 2548

เกรียงศักดิ์ เอื้อมเก็บ "ข่า"สยบเชื้อคื้อยา เติ่งวิจัยสูตรใหม่ ผสมสารสมุนไพร หนังสือพิมพ์กรุงเทพ
ธุรกิจ ประจำวันอังคารที่ 18 มกราคม 2548

เกรียงศักดิ์ เอื้อมเก็บ วิจัย"ข่า"ทำยาปราบเชื้อแบคทีเรียจอมคื้อ หนังสือพิมพ์ผู้จัดการรายวัน
ประจำวันศุกร์ที่ 21 มกราคม 2548 หน้า 43.

เกรียงศักดิ์ เอื้อมเก็บ พัฒนาสารสกัดจาก"ข่า"แทนยาปฏิชีวนะสมัยใหม่ ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้
เกิดหนอง หนังสือพิมพ์สยามรัฐ ประจำวันศุกร์ที่ 28 มกราคม 2548

เกรียงศักดิ์ เอื้อมเก็บ สารสกัด"ข่า"ส่วนผสมยาปฏิชีวนะสูตรใหม่ ต้านเชื้อหนองคื้อยา หนังสือพิมพ์
โพสต์ทูเดย์ ประจำวันอาทิตย์ที่ 13 กุมภาพันธ์ 2548 หน้า B5.

ประวัตินักวิจัย

ผู้ร่วมวิจัย

1. ชื่อ – นามสกุล ภาษาไทย นายสันติ สักดาร์ตัน
 ภาษาอังกฤษ Mr. Santi Sakdarat
2. เลขหมายบัตรประจำตัวบัตรประชาชน 3 110101782504
3. ตำแหน่งปัจจุบัน (อาจารย์) รองศาสตราจารย์ ดร.
4. หน่วยงานที่อยู่ติดต่อได้พร้อมโทรศัพท์ โทรสาร และ E. mail :
 สาขาวิชาเคมี สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
 111 ถนนมหาวิทยาลัย ต.สุรนารี อ.เมือง จ.นครราชสีมา 30000
 โทรศัพท์ 044 – 224302 (ที่ทำงาน) 044-225554 (ที่หอพัก)
 โทรสาร 044 – 224185
 ที่อยู่ (ที่บ้าน) 44/55 ถนนพหลโยธิน ซอย 52 แขวงคลองขนม เขตสายไหม
 กรุงเทพฯ 10220
 โทรศัพท์ 02-9738699
 E-mail Address: santi@ccs.sut.ac.th
5. ประวัติการศึกษา
 - 5.1 ปริญญาตรี B.Sc. Honors (Chemistry)
 สถาบัน Prince of Songkla University ประเทศ ไทย ปีที่จบ พ.ศ. 2517
 - 5.2 ปริญญาโท M.Sc. (Organic Chemistry)
 สถาบัน มหาวิทยาลัยมหิดล ประเทศ ไทย ปีที่จบ พ.ศ. 2519
 - 5.3 ปริญญาเอก Ph.D. (Organic Synthesis)
 สถาบัน University of Glasgow ประเทศ อังกฤษ ปีที่จบ พ.ศ. 2522
6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญการที่มีความชำนาญพิเศษ
 - 6.1 Searching New Drugs from Thai Traditional Medicinal Plants and Natural Products by
 Extraction, Isolations, Structure. Elucidation and Biological Evaluation
 - 6.2 Applications of LC-MS for analysis determination of natural products, drugs
 residues in environment food and toxicology

7. ประสิทธิภาพที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ :
 ระบุสถานภาพในการทำการวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย
 หรือผู้ร่วมวิจัย ในแต่ละข้อเสนอโครงการวิจัย

7.1 ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย : ชื่อแผนงานวิจัย -

7.2 หัวหน้าโครงการวิจัย : ชื่อโครงการวิจัย

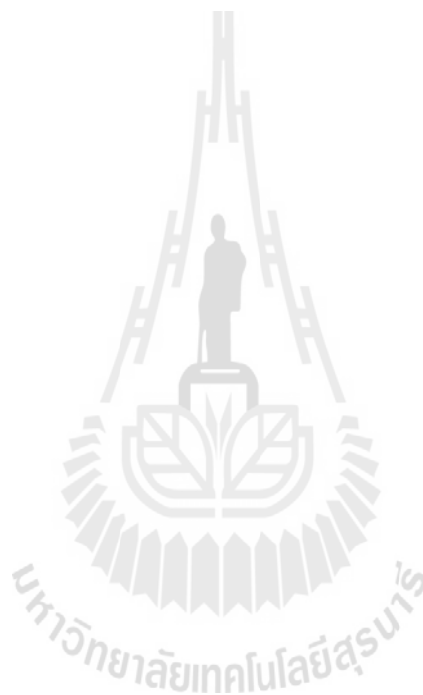
7.2.1 การทดสอบหาวิธีการสกัดสาร Galangin จากข่า [*Alpinia galanga* (L) Willd or
Alpinia officinarum Hance.] และการพิสูจน์เอกลักษณ์

7.3 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว : ชื่อแผนงานวิจัย และ/หรือ โครงการวิจัย ปีที่พิมพ์ การเผยแพร่ และ
 สถานภาพในการทำวิจัย ได้แก่ผลงานวิชาการดังต่อไปนี้

1. **Sakdarat, S.** and Robins, D.J. 1979. "Synthesis of the Pyrrolizidine Base, (+)-Supinidine" J.Chem. Soc., Perkin Trans. 1, 1734.
2. **Sakdarat, S.** and Robins, D.J. 1979. "Synthesis of the 8 β -Pyrrolizidine Base, (+)-Isoretronecanol, (+) – Supinidine, and (+)-Laburnine" J.chem. Soc., Chem. Commun., 1181.
3. **Sakdarat, S.** and Robins, D.J.1980. "Synthesis of 13, 13-Dimethyl-1, 2-dihydrocrotalanine", J. Chem. Soc., Chem. Commun., 282
4. **Sakdarat, S.** and Robins, D.J. 1981. "Synthesis of Optically Active Pyrrolizidine Bases". J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1., 909.
5. **Sakdarat, S.** Robins, D.J.and Devlin, J.A. 1982 .“Pyrrolizidine Alkaloid Analogues. Synthesis of Eleven-membered Macrocyclic Diester of Retronecine”. J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1., 1117.
6. **Sakdarat, S.** and Williams, D.R. 1983. "Opportunities for Selective Removal of Methoxyethoxymethyl (MEM) Ethers". Tetrahedron Lett. 24, 3965.
7. **Sakdarat, S.** and Kowalski, C.J. "Ester Homologation via Ynolate Anions" J. Organic Synthesis, submitted.
8. **Sakdarat, S.** and Kowalski, C.J. "Silyl Ynol Ethers for Alkoxyethylene Introduction, Including the Synthesis of d, 1-Oudemansin". Journal of the American Chemical Society, submitted.

9. **Sakdarat, S.** and Kowalski, C.J. 1990. "Reaction of Silyl Ynol Ethers with Aldehyde and Acetals: An Alternative to the Horner-Wadsworth-Emmons Condensation". *Journal of Organic Chem.* 55, 1977-1979.
10. **Sakdarat, S.**, Barrett, A.G.M., Cheng, M.C., Spilling, C.D. and Taylor, S.J. 1989. "Stereocontrolled Total Synthesis of the Penicillanate ester (2S, 5R)-benzyl 3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo [3.2.0] heptane-2-carboxylate". *Tetrahedron Lett.* 30, 2349.
11. **Sakdarat, S.** and Barrett, A.G.M. 1990. "Total Synthesis of Penicillanic Acid S, S-Dioxide and 6-Aminopenicillanic Acid Using (Benzyloxy) nitromethane". *Journal of Organic Chem*, 55, 5110-5117.
12. Smitasiri, Y., and **Sakdarat, S** 1995. "The Means of Application of *Pueraria mirifica* for Pigeon (*Columba sp.*) Birth control". *Suranaree J. Sci. Technol.* 2, 89-96.
13. **Sakdarat, S.** and Robins, D.J. 1999. Chemical constituents from Bitter Cucumber, *Momordica charantia* Linn. Abstract of the 25th Congress on Science and Technology of Thailand, at Pissanulog, A-158, 404-5
14. Dechatiwongse Na Ayudhya T, **Sakdarat S**, Shuyprom A, Pattamadilok D, Bansiddhi J, Waterman PG and Karagianis G. 2001. Chemical Constituents from the Leaves of *Clinacanthus nutans* Lindau. 2001. Abstract of the 27th Congress on Science and Technology of Thailand, at Songkhla, 16-03p-05, 156
15. Dechatiwongse Na Ayudhya T, **Sakdarat S**, Shuyprom A, Pattamadilok D, Bansiddhi J, Waterman PG and Karagianis G. 2001. Chemical Constituents of the Leaves of *Clinacanthus nutans* Lindau. *Thai Journal of Phytopharmacy.* 8(1) , 1 – 8.
16. **Sakdarat S SA**, Pientong C, Ekalaksananan T, Thongchai S. 2009. Bioactive constituents from the leaves of *Clinacanthus nutans* Lindau. *Bioorg Med Chem* 17:1857-1860.
17. Chuankhayan P, Hua Y, Svasti J, **Sakdarat S**, Sullivan PA, Ketudat Cairns JR. 2005. Purification of an isoflavonoid 7-O-beta-apiosyl-glucoside beta-glycosidase and its substrates from *Dalbergia nigrescens* Kurz. *Phytochemistry* 66:1880-1889.
18. Eumkeb, G., **Sakdarat, S.**, Siriwong, S. (2010). "Reversing beta-lactam antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* with galangin from *Alpinia officinarum* Hance and synergism with ceftazidime." *Phytomedicine* 18(1): 40-45.

19 Eumkeb, G., Siriwong, S., Phitaktim, S., Rojtinakorn, N., Sakdarat, S. (2012). "Synergistic activity and mode of action of flavonoids isolated from smaller galangal and amoxicillin combinations against amoxicillin-resistant *Escherichia coli*." *J. Appl. Microbiol.* 112, 55-64.
(Impact Factor 2012 = 2.196)



ผู้ร่วมวิจัย

1. ชื่อ (ภาษาไทย) นางสาว วณัทกมล นามสกุล นาคณรงค์

(ภาษาอังกฤษ) Miss. Wanatkamon Naknarong

เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 2 3099 00005 221

ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยนักวิจัย และมหาบัณฑิต สาขาชีววิทยาสังแวดล้อม

หน่วยงานที่อยู่ ที่ติดต่อได้พร้อมเบอร์โทรศัพท์และโทรสาร

สาขาวิชาเภสัชวิทยา สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

111 ถ.มหาวิทยาลัย ต.สุรนารี

อ.เมือง จ.นครราชสีมา 30000

โทรศัพท์ 0-4422-4260 โทรสาร 044-224650

E-mail : enterae1112@hotmail.com; M5110384@g.sut.ac.th

ประวัติการศึกษา

2550 : กุศุศาสตรบัณฑิต (สาขาชีววิทยา) เทคโนโลยีและนวัตกรรมทางการศึกษา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา

2556: วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาชีววิทยาสังแวดล้อม มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Naknarong, W., Eumkeb, G., 2012. The effects of Red Kwao Kru (Butea superba Roxb.) extract on reproductive system of male mice, in: Manosroi, A., Manosroi, J. (Ed.), NATPRO 4, Natural Products for Health and Beauty, The Fourth International Conference on Natural Products for Health and Beauty. Sangreeya Publishing Co, Chiang Mai, Thailand, pp. 193-197.

Eumkeb, G., Phitaktim, S., Rojtinakorn, N., Siriwong, S., Duangkham, A.,

Naknarong, W., Wisansawat, J. (2009). Flavonoids synergy with β -lactam antibiotics against β -lactam-resistant bacteria. The Thai research Fund meeting : Senior Thai research Fund researchers meet Junior Thai research Fund researchers, Abstract Book (Poster presentation, PS-BIO-B24). 15-17 October 2009, Cha-am, Petchaburi, Thailand, Thailand research fund and Commission on higher education: p. 105.