



รายงานการวิจัย

ฤทธิ์ของสารสกัดจากสมุนไพรในเขตพื้นที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีต่อการหด
ตัวของมดลูก
(Effects medicinal plant extracts in the area of Suranaree University
of Technology on uterine contraction)

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว



รายงานการวิจัย

ฤทธิ์ของสารสกัดจากสมุนไพรในเขตพื้นที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีต่อการหดตัวของมดลูก

(Effects medicinal plant extracts in the area of Suranaree University of Technology on uterine contraction)

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

รศ.สพ.ญ.ดร.ศจีรา คุปพิทยานันท์

สาขาวิชาชีววิทยา สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผู้ร่วมวิจัย

ผศ.น.สพ.ดร.ภคนิจ คุปพิทยานันท์

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2555

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

ตุลาคม 2555

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยเรื่อง “ฤทธิ์ของสารสกัดจากสมุนไพรในเขตพื้นที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ต่อการหดตัวของมดลูก” นี้ เป็นหนึ่งในโครงการเพื่อสนองพระราชดำริโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช ในพื้นที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.) มีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจและพิสูจน์เอกลักษณ์สมุนไพรในพื้นที่ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่มีสรรพคุณตามภูมิปัญญาแพทย์แผนไทยเกี่ยวกับการหดตัวของ มดลูก ตลอดจนมีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบฤทธิ์และศึกษากลไกการออกฤทธิ์ต่อการหดตัวของมดลูก ซึ่ง ข้อมูล ที่ได้ จาก การ วิจัย นี้ จะ เป็น หลักฐาน ทาง วิทยา ศาสตร์ อีก ชิ้น หนึ่ง ที่จะยืนยันถึงคุณสมบัติทางชีวภาพของสมุนไพรในเขตพื้นที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี เมื่อประกอบกับข้อมูลที่ได้จากการศึกษาด้านอื่นๆ จะทำให้สามารถใช้เป็นแนวทางในการที่จะผลิต สารสกัดจากสมุนไพรในรูปของผลิตภัณฑ์เสริมสุขภาพหรือยาแผนปัจจุบันได้ต่อไปในอนาคต ตลอดจนเป็นแนวทางในการวางแผนเพื่ออนุรักษ์พันธุกรรมพืช ในพื้นที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนอุดหนุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2555

รองศาสตราจารย์ สัตวแพทย์หญิง ดร.ศจีรา คุปพิทยานันท์

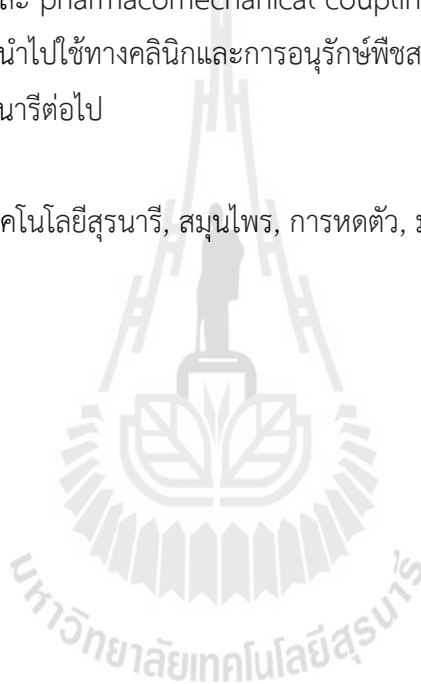
ตุลาคม 2555

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทคัดย่อภาษาไทย

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจและพิสูจน์เอกลักษณ์สมุนไพรมะเขือเทศในพื้นที่ยุทธศาสตร์เทคโนโลยีสุรนารี ที่มีสรรพคุณตามภูมิปัญญาแพทย์แผนไทยเกี่ยวกับการหดตัวของมดลูก โดยคัดเลือกสมุนไพรมะเขือเทศที่มียุทธศาสตร์การหดตัวของมดลูก 3 ชนิดจากจำนวน 13 ชนิด มาทำการสกัดสารด้วยเอทานอล ทดสอบฤทธิ์และศึกษากลไกการออกฤทธิ์ต่อการหดตัวของมดลูก จากการทดลองพบว่าสารสกัดพืชสมุนไพรมะเขือเทศทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ ผักเป็ดไทย ว่านสาบเหล็ก และหญ้างวงช้าง สามารถกระตุ้นให้มดลูกที่หดตัวโดยธรรมชาติ ตลอดจนสามารถเหนี่ยวนำให้มีการหดตัวโดยไม่พึ่งแคลเซียมภายนอกเซลล์ แสดงให้เห็นว่าสารสำคัญจากพืชทั้ง 3 ชนิดนี้มีผลต่อทั้งในระดับ excitation-contraction coupling และ pharmacomechanical coupling ของกล้ามเนื้อเรียบมดลูก ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการนำไปใช้ทางคลินิกและการอนุรักษ์พืชสมุนไพรไทยเหล่านี้ในพื้นที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีต่อไป

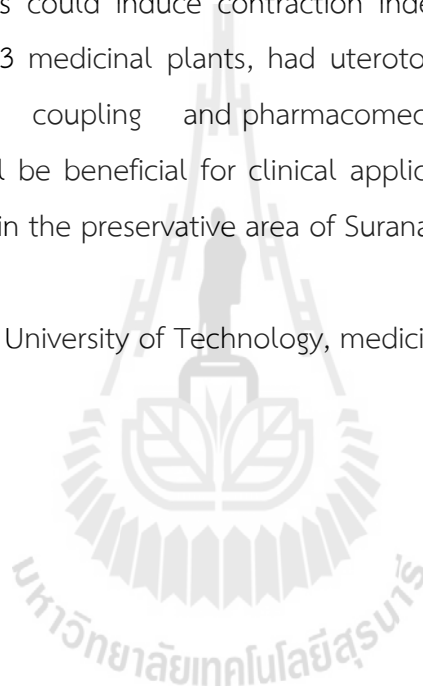
คำสำคัญ: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี, สมุนไพรมะเขือเทศ, การหดตัว, มดลูก



บทคัดย่อภาษาอังกฤษ

The aim of the research was to survey and to identify medicinal plants in the preservative area of Suranaree University of Technology based on their traditional uses in uterine contraction. To do so, 3 form 13 medicinal plants having uterotonic effects were selected and subjected to ethanolic extraction and their actions and mechanisms of actions investigated. The results showed that ethanolic extraction of 3 medicinal plants namely *Alternanthera sessilis* (L.) DC., *Curculigo orchioides* Gaertn., and *Heliotropium indicum* R.Br. could stimulate spontaneous uterine contraction as well as could induce contraction independently from extracellular calcium. Thus, these 3 medicinal plants, had uterotonic effects by acting on both excitation-contraction coupling and pharmacomechanical coupling in the myometrium. This will be beneficial for clinical application and the preservation of Thai medicinal plants in the preservative area of Suranaree University of Technology.

Key words: Suranaree University of Technology, medicinal plant, contraction, uterus

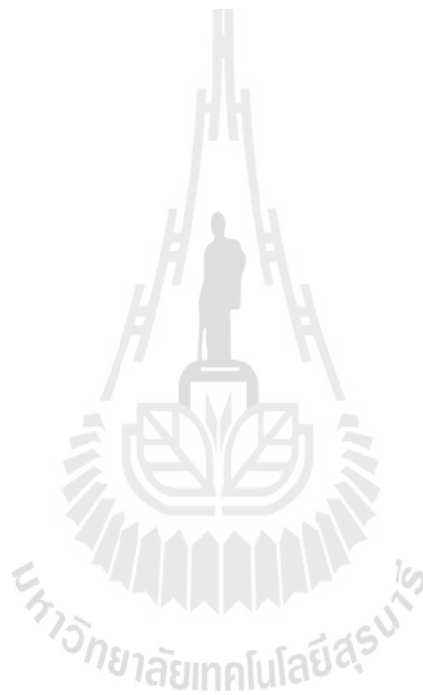


สารบัญเรื่อง

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญเรื่อง	ง
สารบัญรูป	ฉ
สารบัญตาราง	ช
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย	1
1.2 ผลงานวิจัยที่มีมาก่อน	1
1.3 ทฤษฎี สมมติฐาน และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย	3
1.4 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	4
1.5 ขอบเขตของการวิจัย	4
1.6 ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย	4
บทที่ 2 วิธีดำเนินการวิจัย	
2.1 การสำรวจและพิสูจน์เอกลักษณ์สมุนไพรในพื้นที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี	5
2.2 การสกัดสารจากพรรณไม้ในมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี	7
2.3 การศึกษาผลของสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิดในสัตว์ทดลองต่อการหดตัวของมดลูก	8
2.4 วิธีการเก็บรวบรวมข้อมูล	9
2.5 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	10
บทที่ 3 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล	
3.1 การสำรวจและพิสูจน์เอกลักษณ์สมุนไพรในพื้นที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี	11
3.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของพืชทั้ง 3 ชนิด	12
3.3 สารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิด	15
3.4 ผลของสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิดต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบมดลูกที่เกิดขึ้นโดยธรรมชาติ	17
3.5 ผลของสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิดต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบมดลูกในสภาวะที่ L-type Ca Channel ถูกยับยั้งการทำงาน	19
3.6 ผลของสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิดต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบมดลูกในสภาวะที่ estrogen receptors ถูกยับยั้งการทำงาน	22

บทที่ 4 วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

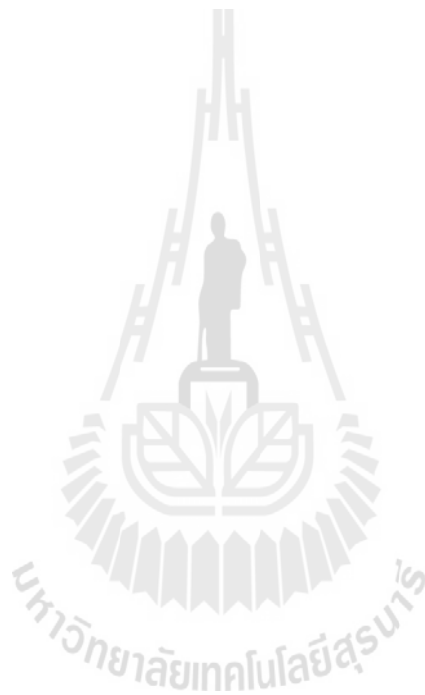
4.1 การสำรวจและพิสูจน์เอกลักษณ์สมุนไพรในพื้นที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี	27
4.2 สารสำคัญในพืชสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด	27
4.3 ผลของสารสกัดพืชสมุนไพรทั้ง 3 ชนิดต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบมดลูกหนูและกลไกการการออกฤทธิ์	28
4.4 สรุปผลการทดลอง	30
4.5 ข้อเสนอแนะ	32
บรรณานุกรม	33
ประวัติผู้วิจัย	37



สารบัญรูป

รูปที่	เรื่อง	หน้า
2.1	แสดงบริเวณที่สำรวจพืชสมุนไพร	5
2.2	สัณฐานวิทยาของพรรณไม้ ทั้ง 3 ชนิด	6
2.3	อุปกรณ์ที่ใช้ในการสกัดสารสกัดจากพืช	8
2.4	อุปกรณ์ในการทดลองผลของสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิดในสัตว์ทดลองต่อการหดตัวของมดลูก	10
3.1	แสดงบริเวณที่พบสมุนไพรที่มีฤทธิ์กระตุ้นการหดตัวของมดลูก	11
3.2	GC chromatogram ของสารสกัดจากผักเป็ดไทย (<i>Alternanthera sessilis</i> (L.) DC.)	16
3.3	GC chromatogram ของสารสกัดจากवानสากเหล็กและโครงสร้างเคมีของ orcinol	16
3.4	GC chromatogram ของสารสกัดจากหญ้างวงช้าง	16
3.5	ฤทธิ์ของสารสกัดจากผักเป็ดไทยต่อกล้ามเนื้อเรียบมดลูกที่เกิดขึ้นโดยธรรมชาติ	17
3.6	ฤทธิ์ของสารสกัดจากวานสากเหล็กต่อกล้ามเนื้อเรียบมดลูกที่เกิดขึ้นโดยธรรมชาติ	18
3.7	ฤทธิ์ของสารสกัดจากหญ้างวงช้างต่อกล้ามเนื้อเรียบมดลูกที่เกิดขึ้นโดยธรรมชาติ	18
3.8	ฤทธิ์ของสารสกัดจากผักเป็ดไทยต่อกล้ามเนื้อเรียบมดลูกในสภาวะที่ L-type Ca channels ถูกยับยั้งการทำงาน	19
3.9	ฤทธิ์ของสารสกัดจากวานสากเหล็กต่อกล้ามเนื้อเรียบมดลูกในสภาวะที่ L-type Ca channels ถูกยับยั้งการทำงาน	20
3.10	ฤทธิ์ของสารสกัดจากหญ้างวงช้างต่อกล้ามเนื้อเรียบมดลูกในสภาวะที่ L-type Ca channels ถูกยับยั้งการทำงาน	20
3.11	ฤทธิ์ของสารสกัดจากผักเป็ดไทยต่อกล้ามเนื้อเรียบมดลูกในสภาวะที่ L-type Ca channels ถูกยับยั้งการทำงานในภายหลัง	21
3.12	ฤทธิ์ของสารสกัดจากวานสากเหล็กต่อกล้ามเนื้อเรียบมดลูกในสภาวะที่ L-type Ca channels ถูกยับยั้งการทำงานในภายหลัง	21
3.13	ฤทธิ์ของสารสกัดจากหญ้างวงช้างต่อกล้ามเนื้อเรียบมดลูกในสภาวะที่ L-type Ca channels ถูกยับยั้งการทำงานในภายหลัง	22
3.14	ฤทธิ์ของสารสกัดจากผักเป็ดไทยต่อกล้ามเนื้อเรียบมดลูกในสภาวะที่ estrogen receptors ถูกยับยั้งการทำงาน	23
3.15	ฤทธิ์ของสารสกัดจากวานสากเหล็กต่อกล้ามเนื้อเรียบมดลูกในสภาวะที่ estrogen receptors ถูกยับยั้งการทำงาน	23

รูปที่	เรื่อง	หน้า
3.16	ฤทธิ์ของสารสกัดจากหญ้าวงช้างต่อกล้ามเนื้อเรียบมดลูกในสภาวะที่ estrogen receptors ถูกยับยั้งการทำงาน	24
4.1	สรุปกลไกการออกฤทธิ์ของสารสกัดต่อมดลูก	31



สารบัญตาราง

ตารางที่	เรื่อง	หน้า
1.1	สมุนไพรมีสรรพคุณเกี่ยวกับการหดตัวของมดลูกตามภูมิปัญญาแพทย์แผนไทย จำนวน 13 ชนิด	2
2.1	องค์ประกอบของ physiological saline solution	9



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ได้ร่วมสนองพระราชดำริในโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.) มาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2539 โดยคณาจารย์จากมหาวิทยาลัยได้ร่วมเป็นคณะปฏิบัติการในพื้นที่โครงการสร้างป่าตามแนวพระราชดำริ และป่าพันธุกรรมพืช พื้นที่อุทยานแห่งชาติทับลาน โดยดำเนินการสำรวจพรรณไม้ ภายใต้โครงการศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของพรรณไม้ ต่อมาในปี พ.ศ. 2545 ได้เพิ่มพื้นที่ในบริเวณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี เพื่อศึกษาความหลากหลายของพรรณไม้ เนื่องจากเป็นพื้นที่ที่ยังคงสภาพป่า และกำลังฟื้นสภาพจากการเคยเป็นป่าเสื่อมโทรม ที่ถูกบุกรุกทำลายมาก่อนที่มหาวิทยาลัยได้เข้ามาใช้ประโยชน์ ในพื้นที่นี้ มีพรรณไม้นานาชนิด ตลอดจนสมุนไพรหลายชนิดตามภูมิปัญญาแพทย์แผนไทยที่ระบุถึงสรรพคุณที่เกี่ยวกับการหดตัวของมดลูก (จำนวน 13 ชนิด จากพืชที่สำรวจพบ 197 ชนิด) แต่ยังคงขาดการศึกษาตามหลักการทางวิทยาศาสตร์ว่าสมุนไพรเหล่านั้นมีฤทธิ์ต่อการหดตัวของมดลูกจริงหรือไม่ และหากมีฤทธิ์จริง มีกลไกในการออกฤทธิ์อย่างไร ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะสำรวจสมุนไพรไทย ที่มีสรรพคุณตามภูมิปัญญาแพทย์แผนไทยที่ระบุถึงสรรพคุณที่เกี่ยวกับการหดตัวของมดลูก โดยเป็นสมุนไพรที่อยู่ในพื้นที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี เพื่อนำมาพิสูจน์เอกลักษณ์ทางพฤกษศาสตร์ และเก็บเป็นข้อมูลทางที่ถูกต้องทางวิทยาศาสตร์ รวมถึงการนำสมุนไพรดังกล่าวมาสกัด และทดสอบฤทธิ์ต่อการหดตัวของมดลูก และศึกษากลไกการออกฤทธิ์ดังกล่าว เพื่อเป็นข้อมูลเพิ่มเติมทางวิทยาศาสตร์ในการยืนยันถึงประสิทธิภาพในการใช้สมุนไพรในการรักษาโรคต่อไป

1.2 ผลงานวิจัยที่มีมาก่อน

จากการทบทวนวรรณกรรมเรื่อง พรรณไม้ในมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี (อรธนนพ และคณะ 2545) พบว่ามีสมุนไพรที่มีสรรพคุณเกี่ยวกับการหดตัวของมดลูกตามภูมิปัญญาแพทย์แผนไทย (วุฒิ, 2540) จำนวน 13 ชนิด จากพรรณไม้ทั้งหมด 197 ชนิด (อรธนนพ และคณะ 2545) ดังสรุปในตารางที่ 1.1

นอกจากนี้ พบมีรายงานทางวิทยาศาสตร์ที่แสดงให้เห็นว่าสมุนไพรบางชนิดสามารถกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบมดลูกได้ เช่น หล่อกว้างข้าง (ซียโย, 2523) ว่านสากเหล็ก (Munawar et al., 2007) ชัดมอน (ศิริมา, 1980) เป็นต้น แต่ยังไม่มียางานกลไกที่พืชสมุนไพรดังกล่าวไปกระตุ้นการหดตัวของมดลูก นอกจากนี้ จากการสืบค้นฐานข้อมูล Pubmed เมื่อวันที่ 7 ตุลาคม 2554 โดยใช้คำสืบค้น คือ ชื่อวิทยาศาสตร์ของพืชสมุนไพร, contraction, uterus, myometrium, smooth muscle ยังไม่พบการตีพิมพ์เกี่ยวกับสมุนไพรที่เหลือ

ตารางที่ 1.1 สมุนไพรที่มีสรรพคุณเกี่ยวกับการหดตัวของมดลูกตามภูมิปัญญาแพทย์แผนไทย จำนวน 13 ชนิด

ชื่อย่อกลาง	ชื่อวิทยาศาสตร์	สรรพคุณ	ส่วน
1. กรดน้ำ	<i>Scoparia dulcis</i> Linn.	ขับระดูขาว	ใบ
2. ชัดมอน	<i>Sida rhombifolia</i> Linn.	แก้ปวดมดลูก แก้ปวดหน้าท้อง ขับเลือดและรกหลังคลอด	ราก
3. ชีตุ่น	<i>Helicteres angustifolia</i> L.	ทำให้แท้ง	ทั้งต้น
4. ผักกาดนกเขา	<i>Gynura pseudo-china</i> (L.) DC.	แก้มดลูกอักเสบ ขับประจำเดือน	เหง้า
5. ผักเป็ด	<i>Altemanthera sessilis</i> (L.) DC.	พอกโลหิตระดูที่พิการเป็นลิ่มก้อนดำเหม็น แก้ปวดบั้นเอว และท้องน้อย	ทั้งต้น
6. ผักเสี้ยน	<i>Cleome gynandra</i> Linn.	ขับโลหิตระดูที่เน่าเสีย	ต้น
7. พญามุติ	<i>Grangea maderaspatana</i> (Linn.) Poir	ขับระดู	ทั้งต้น
8. ยอป่า	<i>Morinda elliptica</i> Ridl.	ขับเลือดและน้ำคาวปลา ให้แท้ง ขับและพอกโลหิตระดู	แก่น
9. โลด	<i>Aporosa villosa</i> (Wall. Ex Lindl.) Baill.	ขับโลหิตระดู	เปลือกต้น
10. ว่านสากเหล็ก	<i>Molineria latifolia</i> Herb. Ex Kurt.	ช้กมดลูกให้เข้าอู่ แก้มดลูกอักเสบ	ราก
11. ส้มเสี้ยว	<i>Bauhinia malabarica</i> Roxb.	ขับและพอกโลหิตระดู	ใบ
12. หยั่งางวงช้าง	<i>Heliotropium indicum</i> Linn.	ขับระดู ทำให้แท้ง	ดอก ราก
13. ลูกใต้ใบ	<i>Phyllanthus amarus</i> Schum.&Thonm.	ขับระดูขาว	ทั้งต้น

1.3 ทฤษฎี สมมติฐาน และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

Wray (1993) ได้อธิบายสรีรวิทยาการหดตัวของมดลูกไว้ว่า โดยทั่วไปแล้วกล้ามเนื้อเรียบมดลูกจะมีความตึงตัวอยู่เสมอ สามารถทำงานหรือหดตัวได้เองเป็นจังหวะติดต่อกันตลอดเวลาเมื่ออยู่ในสภาวะที่เหมาะสม (เช่นใน organ bath system) แม้ว่าจะถูกตัดออกจากร่างกายแล้วก็ตาม ทั้งนี้เนื่องมาจากการที่เซลล์บางเซลล์ของกล้ามเนื้อเรียบ มี resting membrane potential ไม่คงที่ แต่จะมีการ depolarization สลับกับ repolarization เป็นจังหวะเรียกว่า slow wave potential ซึ่ง slow wave potential นี้เกิดขึ้นเองโดยไม่อาศัยสิ่งกระตุ้นจากภายนอก การเกิด slow wave ไม่สามารถถ่ายทอดผ่าน gap junction ให้เซลล์ข้างเคียงได้ และไม่สามารถทำให้กล้ามเนื้อหดตัวได้ แต่หากการ depolarization ถึงค่า threshold potential (ประมาณ -35 มิลลิโวลต์) จะเกิด action potential บนยอดคลื่นของ slow wave potential ทำให้แคลเซียมเข้าสู่เซลล์และจะมีการหดตัวตามมา action potential ที่เกิดขึ้นนี้จะถ่ายทอดให้กับเซลล์ข้างเคียง ผ่านทาง gap junction เซลล์ที่สร้าง slow wave potential นี้เรียกว่า pacemaker cell ด้วยเหตุนี้แม้จะขาดเส้นประสาทไปเลย อย่างเช่น การแยก strip ของกล้ามเนื้อเรียบมดลูกออกมานอกร่างกายก็ยังคงหดตัวเป็นจังหวะได้ในสภาวะที่เหมาะสมหรือใน organ bath system

เป็นที่ยอมรับกันว่าการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบมดลูก จะขึ้นอยู่กับ การเข้าสู่เซลล์ของแคลเซียมทางประตูแคลเซียม (L-type Ca channels) เป็นสำคัญ (Matthew et al., 2004) แคลเซียมที่เข้าสู่เซลล์นี้ จะรวมตัวกับโปรตีน calmodulin ภายในเซลล์ เป็นผลให้ myosin light chain kinase enzyme เคลื่อนย้ายฟอสเฟตจาก ATP ไปให้ light myosin ทำให้ไมโอซินอยู่ในสภาวะที่สามารถจับกับแอคตินได้ (Longbottom et al, 2000) ฮอร์โมน เช่น ออกซิโทซิน หรือ พรอสตาแกลนดิน สามารถกระตุ้นให้มดลูกหดตัวแรงขึ้นได้ ด้วยการเปิดประตูแคลเซียมเพิ่มขึ้น ทำให้แคลเซียมเข้าสู่เซลล์มากขึ้น นอกจากนี้ฮอร์โมนยังไปกระตุ้น sarcoplasmic reticulum ให้ปล่อยแคลเซียมออกมา เป็นผลให้มดลูกหดตัวได้แรงและถี่ขึ้น (Noble et al., 2009) นอกจากนี้แล้วออกซิโทซินยังอาจไปกระตุ้นให้เกิดสื่อสัญญาณภายในเซลล์ที่ก่อให้เกิดการหดตัวผ่านทาง Rho Kinase A หรือสัญญาณอื่นๆ เรียก pathway ที่ไม่อาศัยแคลเซียมในการหดตัวนี้ว่า non-Ca-calmodulin myosin light chain kinase pathway (Kupittayanant et al., 2007)

อาจกล่าวได้ว่า การหดตัวของมดลูกอย่างมีประสิทธิภาพนั้น ต้องอาศัยการทำงานร่วมกันของทั้งฮอร์โมน ion channels และ intracellular Ca store ดังนั้นปัจจัยใดก็ตามที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงระบบการทำงานดังกล่าว ย่อมมีผลต่อประสิทธิภาพการทำงานของมดลูก และเกี่ยวเนื่องไปยังกระบวนการคลอดได้ (Wray, 2007; Quenby et al., 2011)

1.4 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อสนองพระราชดำริโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.) ในพื้นที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
2. เพื่อสำรวจและพิสูจน์เอกลักษณ์สมุนไพรในพื้นที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีที่มีสรรพคุณตามภูมิปัญญาแพทย์แผนไทยเกี่ยวกับการหัตถ์ของมดลูก
3. เพื่อทดสอบฤทธิ์ต่อการหัตถ์ของมดลูกของสมุนไพรในพื้นที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
4. เพื่อศึกษากลไกการออกฤทธิ์ต่อการหัตถ์ของมดลูกจากสมุนไพร

1.5 ขอบเขตของการวิจัย

สำรวจและพิสูจน์เอกลักษณ์สมุนไพรในพื้นที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่มีสรรพคุณตามภูมิปัญญาแพทย์แผนไทยเกี่ยวกับการหัตถ์ของมดลูก และคัดเลือกสมุนไพรที่คาดว่าจะมีฤทธิ์กระตุ้นหรือยับยั้งการหัตถ์ของมดลูก 3 ชนิด (จาก 13 ชนิด) มาทำการสกัดสารและทดสอบฤทธิ์ต่อการหัตถ์ของมดลูก (in vitro study)

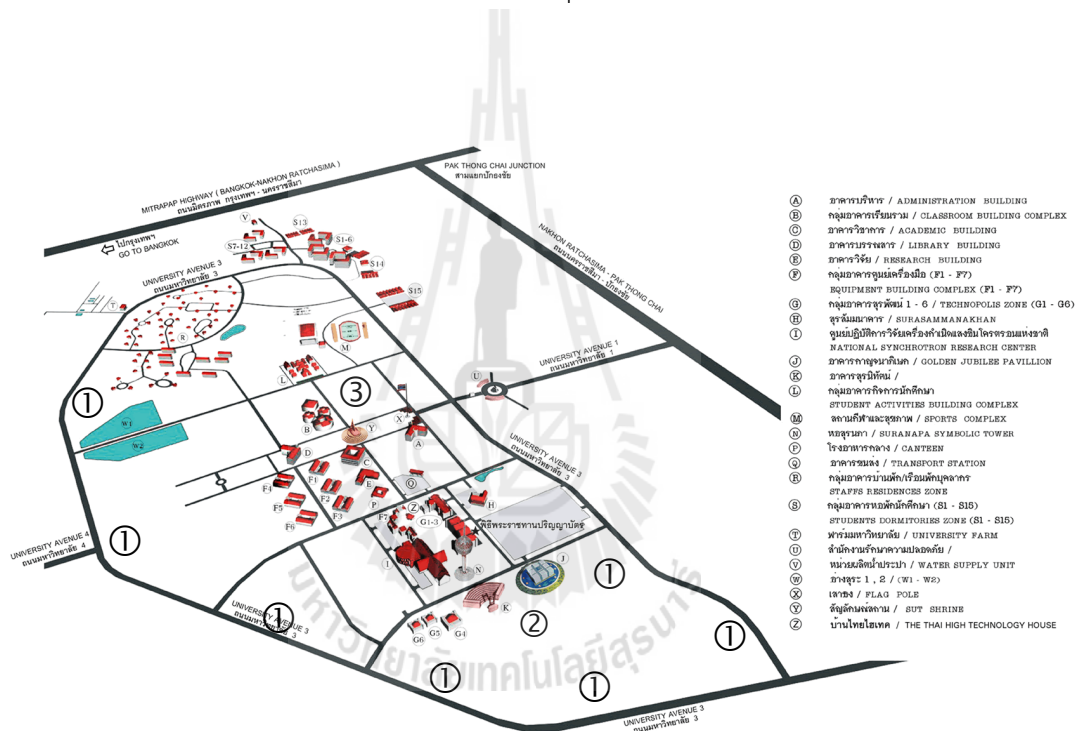
1.6 ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย

1. ได้ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์เพื่อยืนยันการใช้สมุนไพรที่มีฤทธิ์ในการกระตุ้นหรือยับยั้งการหัตถ์ของมดลูก เพื่อการตีพิมพ์เผยแพร่ในวารสารวิชาการ
2. เป็นแนวทางในการทำงานวิจัยต่อยอดเพื่อพัฒนายาจากสมุนไพร
3. เป็นการอนุรักษ์ภูมิปัญญาไทยและสมุนไพรไทย

บทที่ 2 วิธีดำเนินการวิจัย

2.1 การสำรวจและพิสูจน์เอกลักษณ์สมุนไพรรูปในพื้นที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

เริ่มด้วยการทบทวนวรรณกรรมเรื่อง พรรณไม้ในมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี (อรณพ และคณะ, 2545) คัดเลือกสมุนไพรรูปที่คาดว่าจะมีฤทธิ์ต่อมดลูก ซึ่งพบว่ามีทั้งหมดจำนวน 13 ชนิด จากนั้นลงพื้นที่เพื่อสำรวจสมุนไพรรูป หลักเกณฑ์ที่นำมาใช้ในการเลือกพื้นที่สำรวจนั้น อ้างอิงจากบริเวณที่เคยมีรายงานว่าได้พบสมุนไพรรูปดังกล่าวจากวรรณกรรมเรื่อง พรรณไม้ในมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี (อรณพและคณะ, 2545) สำหรับการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสมุนไพรรูปอ้างอิงจากวรรณกรรมเรื่อง พรรณไม้ในมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี (อรณพ และคณะ, 2545)



แผนผังบริเวณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
MAP OF SURANAREE UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

รูปที่ 2.1 แสดงบริเวณที่สำรวจพืชสมุนไพร

- ① ริมถนนสายรอบมหาวิทยาลัย
- ② ป่าอนุรักษ์ระหว่างอาคารเรียนรวม 1 และลานสัญลักษณ์สถาน
- ③ พื้นที่ป่าหลังอาคารกาญจนาภิเษก

จากการทบทวนวรรณกรรมเรื่อง พรรณไม้ในมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี (อรณนพ และคณะ 2545) ได้เลือกพรรณไม้มา 3 ชนิด ดังนี้

List	Family	Genus	Specific epithet	Author	Local name
1	Amaranthaceae	<i>Alternanthera</i>	<i>Sessilis</i>	(L.) DC.	ผักเบ็ดไทย
2	Hypoxidaceae	<i>Molineria</i>	<i>latifolia</i>	Dryand.	ว่านสากเหล็ก
3	Boraginaceae	<i>Heliotropium</i>	<i>Indicum</i>	R.Br.	หญ้างวงช้าง

(A)



(B)



(C)



รูปที่ 2.2 สัณฐานวิทยาของพรรณไม้ ทั้ง 3 ชนิด (A) ผักเบ็ดไทย (*Alternanthera sessilis* (L.) DC.); (B) ว่านสากเหล็ก (*Molineria latifolia* Herb. Ex Kurt.); (C) หญ้างวงช้าง (*Heliotropium indicum* R.Br.)

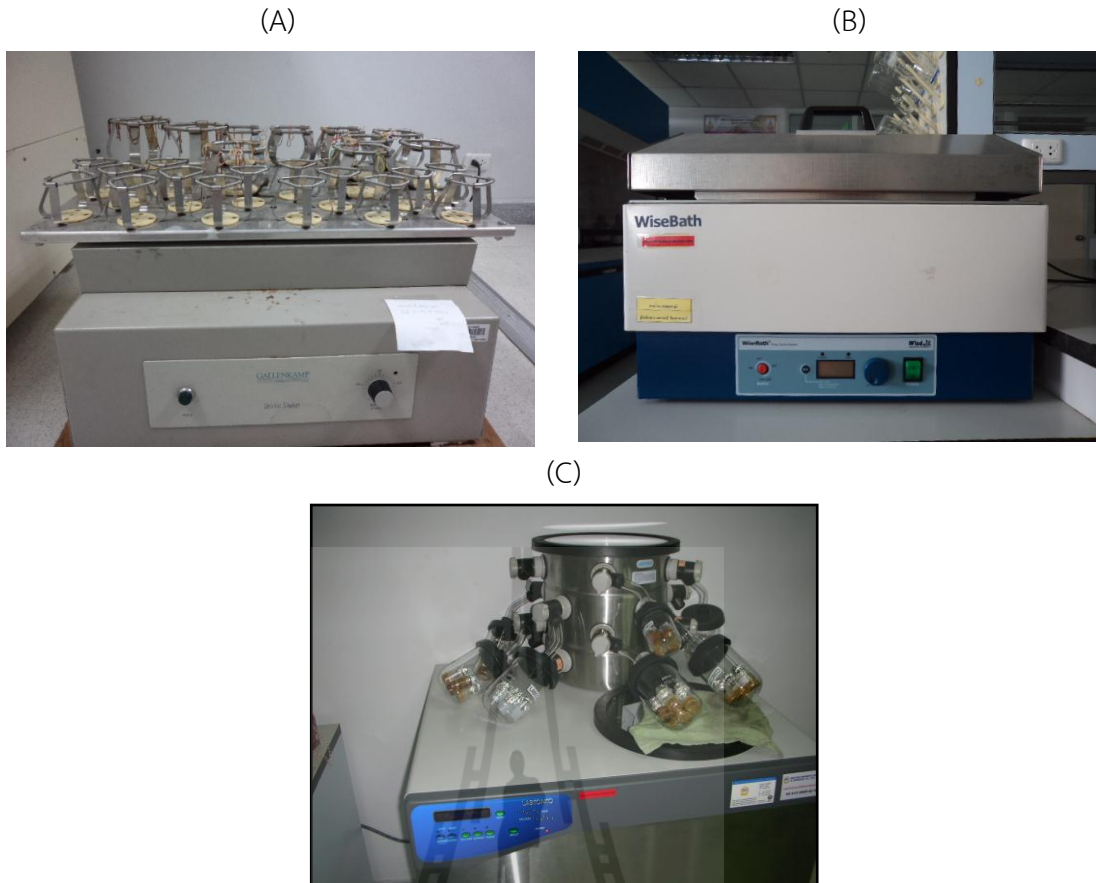
2.2 การสกัดสารจากพรรณไม้ในมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ขั้นตอนการสกัดสารจากพืชทำโดย ล้างทำความสะอาดเอาเศษดินออกให้หมด (ผักเป็ดไทย และหญ้าวงช้างใช้ทั้งต้น ส่วนว่านพร้าวใช้เฉพาะราก) หั่นให้เป็นชิ้นเล็กๆ แล้วนำไปอบให้แห้งเพื่อป้องกันการเกิดเชื้อรา เมื่อพืชแห้งสนิทแล้วจึงนำมาปั่นบดให้เป็นผง นำผงดังกล่าวไปหมัก (maceration) โดยใช้เอทานอล 70% เป็นตัวทำละลาย ตั้งเขย่าบนเครื่องเขย่าสาร (shaker) ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน จากนั้นนำไปกรองเอาเศษผงพืชออก นำสารละลายที่ได้ไประเหย เพื่อแยกตัวทำละลายที่ผสมอยู่ออกให้หมดด้วยการระเหยไอน้ำใน water bath อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส กระบวนการสุดท้ายคือการทำให้สารสกัดแห้งเพื่อที่จะสามารถเก็บรักษาสารสกัดให้นานยิ่งขึ้น และเป็นการเพิ่มความเข้มข้นให้สารสกัดด้วยเครื่อง Lyophilizer สามารถเก็บรักษาสารสกัดได้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ได้นานจนกว่าจะใช้เป็นเวลาอย่างน้อย 1 ปี

สูตรการคำนวณหาค่า % yield ของสารสกัดพืช (Phrompittayarat และคณะ, 2007) เป็นการเปรียบเทียบปริมาณสารสกัดที่ได้กับปริมาณสารตั้งต้น เพื่อให้เราทราบต้นทุนการผลิตในแต่ละครั้ง คำนวณจาก:

$$\% \text{ yield} = (\text{น้ำหนักของสารสกัดพืช} / \text{น้ำหนักแห้งของพืช}) \times 100$$

เมื่อได้สารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิดมาเรียบร้อยแล้ว ทำการตรวจวิเคราะห์หาสารสำคัญทางเคมีของพืชด้วยวิธีการ Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) (Agilent Technologies 6850 gas chromatograph, coupled with an Agilent Technologies 5973 (EI) mass spectrum detector) จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลของ National Institute of Standard and Technology (NIST) and Wiley libraries



รูปที่ 2.3 อุปกรณ์ที่ใช้ในการสกัดสารสกัดจากพืช (A) เครื่องเขย่าสาร (shaker) (B) water bath (C) เครื่อง Lyophilizer

2.3 การศึกษาผลของสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิดในสัตว์ทดลองต่อการหดตัวของมดลูก

การเตรียมสัตว์ทดลองและตัวอย่างเนื้อเยื่อ

หนูสีขาวสายพันธุ์ Wistar เพศเมียน้ำหนัก 200-300 กรัม เลี้ยงหนูในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 50 เปอร์เซ็นต์ แสงสว่าง 12 ชั่วโมง ให้กินอาหารและน้ำอย่างเพียงพอตามที่ต้องการ (ad libitum) และเลี้ยงในสภาพแวดล้อมที่เหมือนกันทั้งหมด วิธีการปฏิบัติต่อสัตว์ทดลองได้ผ่านความเห็นชอบจากคณะกรรมการกำกับดูแลการใช้สัตว์เพื่อการศึกษาวิจัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ทำการเมตตาฆาตด้วยคาร์บอนไดออกไซด์บริสุทธิ์ เก็บตัวอย่างมดลูกเพื่อนำไปทำการทดลองในห้องปฏิบัติการต่อไป

เมื่อถึงห้องปฏิบัติการทำการแยก Longitudinal strip (แถบกล้ามเนื้อเรียบที่ประกอบด้วยหลายๆ เซลล์ที่เรียงตัวกันคล้าย bundle ของกล้ามเนื้อลายตามแนวยาวของปีกมดลูก) ของกล้ามเนื้อเรียบมดลูกภายใต้กล้อง stereo microscope โดยตัด strip ให้มีขนาด 1 มม. × 5 มม. × 1 มม. ตัวอย่างมดลูก 1 ตัวอย่าง สามารถแยกได้หลาย strips ทำการผูก strip ด้วยไหมเย็บแผลเบอร์ 4 โดย

ทำห้วงที่ปลายด้านหนึ่ง ส่วนอีกด้านหนึ่งผูกเงื่อนตายที่ปลายไหมให้ยาว อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างมดลูก และการแยก longitudinal strips ของกล้ามเนื้อเรียบมดลูกได้

การวัดแรงในการหดตัว

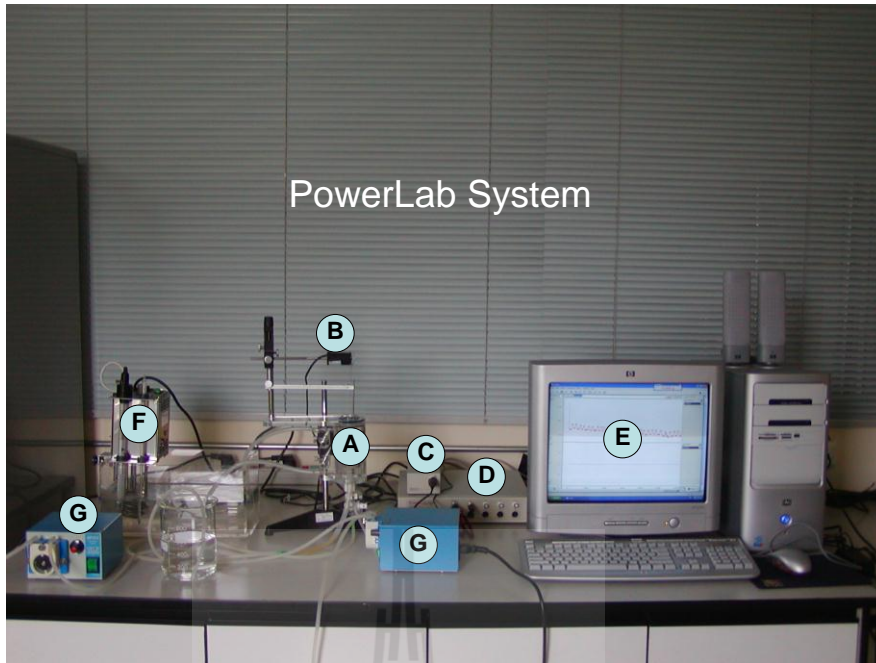
นำ strip ที่เตรียมไว้เกี่ยวบ่วงเข้ากับตะขอที่ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ (fixed hook) ส่วนปลายไหมอีกด้านหนึ่งผูกติดกับ transducer ในขั้นตอนนี้ strip จะแขวนอยู่ใน organ bath chamber ที่บรรจุด้วยสารละลาย physiological saline solution (องค์ประกอบของสารละลายแสดงในตารางที่ 2.1) ที่ถูกอุ่นให้มีอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส โดยให้มีออกซิเจน 100% ผ่านเข้าไปในสารละลายตลอดเวลา (สารละลายนี้จะมีองค์ประกอบคล้ายกับ extracellular fluid ที่ล้อมรอบเซลล์กล้ามเนื้อเรียบของมดลูก) หลังจากปล่อยให้ strip แห้งอยู่ในสารละลาย physiological solution จนกระทั่งเริ่มหดตัวได้เองโดยธรรมชาติแล้ว จึงทำการทดสอบผลของสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิดต่อการหดตัวของมดลูก โดยการ superfused สารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิดที่ความเข้มข้น 250 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร ซึ่งละลายอยู่ในสารละลาย physiological solution ผ่านเนื้อเยื่อมดลูกที่กำลังหดตัวอย่างต่อเนื่องเป็นเวลาประมาณ 60 นาที

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบของ physiological saline solution

สาร	ความเข้มข้น (mM)	หน่วย g/L
NaCl	154	9
KCl	5.6	0.42
Mg.SO ₄ .7H ₂ O	0.12	0.29
HEPES	10.9	2.6
Glucose	8	1.44
CaCl ₂	2	2

2.4 วิธีการเก็บรวบรวมข้อมูล

ในการบันทึกข้อมูลนั้น แรงดึงที่เปลี่ยนแปลงเนื่องจากการหดหรือคลายตัวของกล้ามเนื้อจะส่งผ่าน transducer ซึ่ง transducer จะส่งสัญญาณผ่านต่อไปยัง bridge amplifier และมีการแปลงสัญญาณต่อโดยเครื่อง PowerLab ให้เป็นความสัมพันธ์ระหว่างแรงดึงและเวลาซึ่งจะถูกอ่านและบันทึกโดยโปรแกรม Chart Recorder และแสดงให้เห็นบนจอคอมพิวเตอร์ สำหรับอุปกรณ์ในการทดลองแสดงไว้ในรูปที่ 2.4



รูปที่ 2.4 อุปกรณ์ในการทดลองผลของสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิดในสัตว์ทดลองต่อการหดตัวของมดลูก (A) Organ Bath, (B) Transducer, (C) Bridge Amp, (D) Power Lab, (E) CPU, (F) Thermostat, (G) Peristaltic Pumps

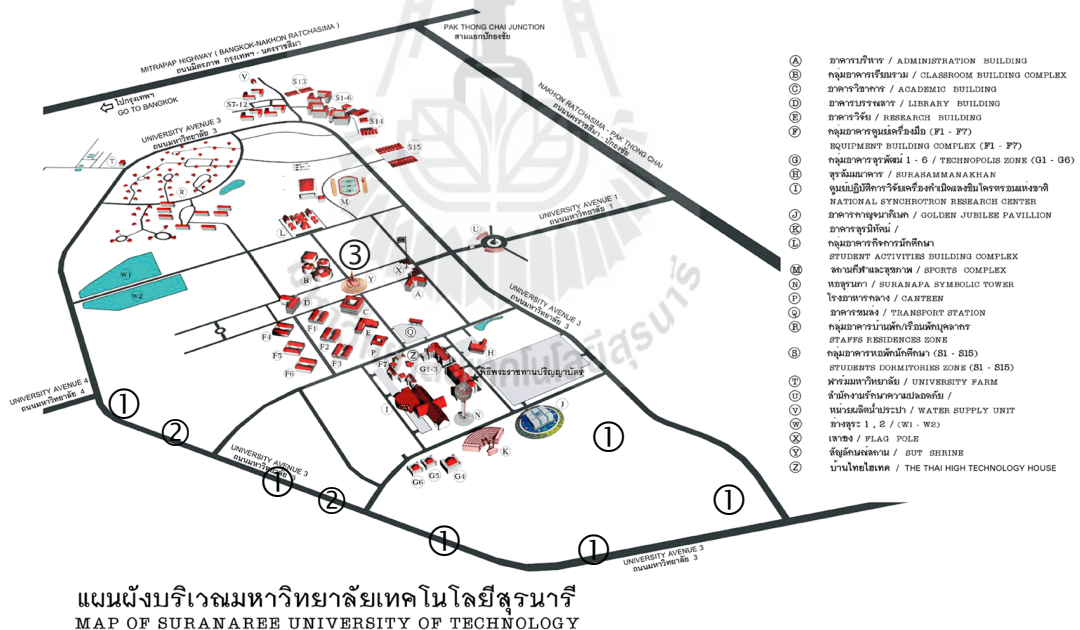
2.5 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ตัวแปรที่ศึกษา ได้แก่ ความแรง ความถี่ และพื้นที่ใต้กราฟการหดตัว จากนั้นแสดงผลในรูปของค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อน เทียบกับ ของกลุ่มควบคุม) ค่า n แสดงถึงจำนวนสัตว์ทดลอง (ไม่ใช่จำนวน strip) คำนัยสำคัญทางสถิติวิเคราะห์โดย t-tests กำหนดนัยสำคัญที่ $P < 0.05$

บทที่ 3 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

3.1 การสำรวจและพิสูจน์เอกลักษณ์สมุนไพรในพื้นที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

จากการลงสำรวจสมุนไพรในพื้นที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ครั้งแรกเดือนมิถุนายน และครั้งที่ 2 เดือนกันยายน พ.ศ. 2555 ในเขตพื้นที่ป่าอนุรักษ์ระหว่างอาคารเรียนรวม 1 และลานสัญลักษณ์สถาน พื้นที่ป่าหลังอาคารกาญจนาภิเษก ตลอดจนริมถนนสายรอบมหาวิทยาลัย พบพืชสมุนไพรที่อาจจะมีฤทธิ์ต่อการกระตุ้นหรือยับยั้งการหดตัวของมดลูกดังนี้คือ ว่านพร้าว (*Curculigo orchoides* Gaertn.) โดยพบมากในพื้นที่ป่าอนุรักษ์ระหว่างอาคารเรียนรวม 1 และลานสัญลักษณ์สถาน ในขณะที่หญ้างวงช้าง (*Heliotropium indicum* R.Br.) และผักเป็ดไทย (*Alternanthera sessilis* (L.) DC.) นั้น สามารถพบได้ริมถนนสายรอบมหาวิทยาลัย ดังแสดงในรูปที่ 3.1 สำหรับการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสมุนไพรอ้างอิงจากรพรรณเรื่อง พรรณไม้ในมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี (อรรณพ และคณะ, 2545)



รูปที่ 3.1 แสดงบริเวณที่พบสมุนไพรที่มีฤทธิ์กระตุ้นการหดตัวของมดลูก

- ① ผักเป็ดไทย (*Alternanthera sessilis* (L.) DC.)
- ② หญ้างวงช้าง (*Heliotropium indicum* R.Br.)
- ③ ว่านสากเหล็ก (*Molineria latifolia* Herb. Ex Kurt.)

3.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของพืชทั้ง 3 ชนิด

3.2.1 ผักเป็ดไทย (*Alternanthera sessilis* (L.) DC.)



ต้น	เป็นพรรณไม้ล้มลุกลำต้นตั้งตรง หรืออาจจะเลื้อยแล้วแต่สภาพแวดล้อม ตามข้อของต้นจะมีรากขึ้น ลำต้นสูงประมาณ 0.5-3 ฟุต มีทั้งสีแดง สีขาวอมเขียว
ใบ	ออกเป็นใบเดี่ยวจะออกตามข้อของต้น ซึ่งลักษณะของใบและขนาดของใบนั้น จะไม่เหมือนกันและ ไม่เท่ากัน ขึ้นอยู่กับสภาพดิน จะมีทั้งแบบใบแคบยาวเรียวแหลม ปลายแหลม ปลายมน และไขกกลับ ถ้าดินที่ปลูกแห้งแล้งใบจะเล็ก ถ้าแฉะใบจะใหญ่สมบูรณ์ ใบมีสีเขียว ก้านใบสั้นมาก ประมาณ 1-5 มม.
ดอก	ออกเป็นช่อกลมๆ อยู่ตามง่ามใบ ช่อดอกยาว 0.5-1 ซม. ไม่มีก้านดอกแต่เมื่อดอกร่วงโรยไปจะดูเหมือนกับมีก้านดอก ดอกสีขาวหรือม่วงแดงมี 5 กลีบ ในแต่ละดอกมีใบประดับเป็นเยื่อบางๆ สีขาว 2 อัน
ผล	ผลมีรูปร่างคล้ายรูปไต แต่มีขนาดเล็กมากกว่า 2 มม. ยาว 3 มม. ซึ่งผลนี้จะร่วงโรยพร้อมกับกลีบดอก

อ้างอิง: วรณกรมเรือง พรรณไม้ในมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี (อรณพ และคณะ, 2545)

3.2.2 หญ้าวงช้าง (*Heliotropium indicum* R.Br.)

ต้น	เป็นพืชล้มลุกเกิดตอนฤดูฝน ถึงหน้าแล้งตาย สูง 15-50 เซนติเมตร มีขนหยาบๆ ปกคลุมทั้งต้น
ใบ	ออกสลับกัน ลักษณะทรงกลมรีหรือป้อมๆ ปลายใบแหลมสั้น กลางใบกว้างออก ฐานใบเรียวต่อลงมาถึงก้านใบ ตัวใบยาว 3-8 เซนติเมตร มีขน ผิวใบมีรอยย่นขรุขระ ขอบใบมีรอยหยักเป็นคลื่น ช่อดอกเกิดที่ยอดหรือซอกใบ ยาว 3-10 เซนติเมตร
ดอก	เกิดอยู่ทางด้านบนด้านเดียว บานจากโคนไปปลายช่อดอก ปลายช่อโค้งงอคล้ายวงช้างชูขึ้น กลีบเลี้ยงสีเขียว มี 5 กลีบ กลีบดอกสีฟ้าใกล้ขาวติดกันเป็นหลอด ที่ขอบมีรอยแยกตื้นๆ แบ่งเป็น 5 กลีบบานออกกลีบดอก ประมาณ 5 มิลลิเมตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 3-3.5 มิลลิเมตร มีเกสรตัวผู้ 5 อันติดอยู่ ด้านในมีก้านเกสรตัวเมีย 1 อัน รังไข่เป็นรูปจานแบนๆ
ผล	ยาว 4-5 มิลลิเมตร เกิดจากการที่รังไข่ 2 อันรวมตัวติดกัน

อ้างอิง: วรณกรมเรือง พรรณไม้ในมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี (อรณพ และคณะ, 2545)

3.2.3 ว่านพริ้ว (*Curculigo orchoides* Gaertn.)

ต้น	ไม้ล้มลุก ลักษณะคล้ายพืชพวกปาล์ม
ใบ	เรียงสลับติดกันที่โคนต้น แผ่นใบรูปขอบขนานแกมรูปหอก พับเป็นร่อง ๆ ตามยาว คล้ายใบปาล์ม กว้างประมาณ 4 – 6 เซนติเมตร ยาวประมาณ 30 – 40 เซนติเมตร ปลายใบเรียวแหลมโคนใบสอบแคบ ก้านใบยาว 25 – 30 เซนติเมตร โคนแผ่กว้างหุ้มลำต้น
ดอก	มี 6 กลีบ สีเหลือง โคนเชื่อมติดกัน เส้นผ่าศูนย์กลาง 2 – 2.5 เซนติเมตร ดอกออกรวมกันแน่นเป็นช่อรูปทรงกระบอกปลายแหลม ยาว 5 – 7 เซนติเมตร กว้างประมาณ 4 – 5 เซนติเมตร
ผล	ผลแก่สีขาวถึงแดง ขนาดยาวประมาณ 4 – 5 เซนติเมตร ส่วนที่ด้านข้างป้อง ออกเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1 เซนติเมตร และค่อย ๆ เรียวไปทางปลายผล

อ้างอิง: วารณกรรมเรื่อง พรรณไม้ในมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี (อรณพ และคณะ, 2545)

3.3 สารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิด

3.3.1 ค่า % Yield ที่ได้จากการสกัดสาร

ค่า % yield ของสารสกัดจากผักเป็ดไทย (ทั้งต้น) ว่านสากเหล็ก (ราก) และ หนุ่ยวางช้าง (ทั้งต้น) มีค่าเท่ากับ 3.694%, 3.904% และ 2.989% ตามลำดับ

3.3.2 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบเคมีในพืชทั้ง 3 ชนิด

3.3.2.1 ผักเป็ดไทย

การวิเคราะห์องค์ประกอบเคมีในสารสกัดผักเป็ดไทย (*Alternanthera sessilis* (L.) DC.) ด้วยเทคนิค GC-MS พบว่า ในสารสกัดประกอบด้วยสารประกอบทั้งหมด 9 ชนิด สารประกอบหลักที่พบมากที่สุด (47%) ซึ่งยังไม่สามารถบอกได้ว่าเป็นสารอะไร (unknown) สารสำคัญในลำดับรองลงมาได้แก่ methanone (10%) และ phytol (10%) ที่เหลือเป็นกลุ่ม fatty acids (รูปที่ 3.2)

3.3.2.2 ว่านสากเหล็ก

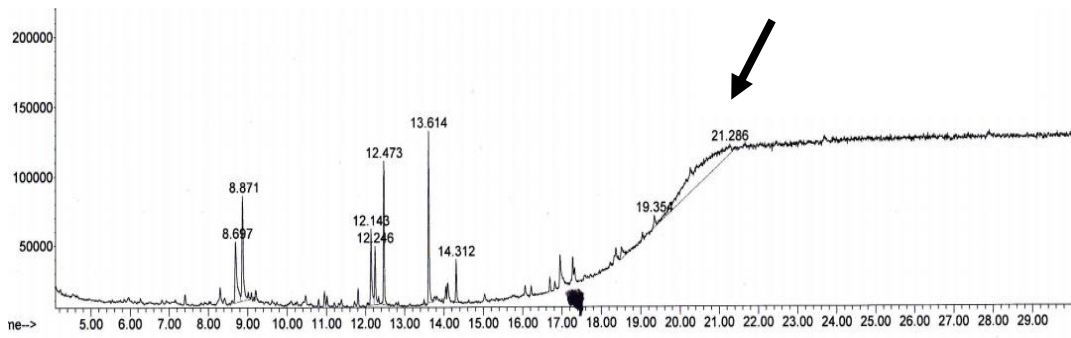
การวิเคราะห์องค์ประกอบเคมีในสารสกัดว่านสากเหล็ก (*Molineria latifolia* Herb. Ex Kurt.) ด้วยเทคนิค GC-MS พบว่า ในสารสกัดประกอบด้วยสารประกอบทั้งหมด 21 ชนิด (รูปที่ 3.3) สารประกอบหลักที่พบมากที่สุดมี 3 ชนิด โดย 2 ใน 3 ชนิดเป็นสารที่ยังไม่ทราบชื่อ (unknown; 20% และ 14%) ในขณะที่สารที่เหลือคือ orcinol (15%) นอกนั้นเป็นกลุ่ม fatty acids

3.3.2.3 หนุ่ยวางช้าง

การวิเคราะห์องค์ประกอบเคมีในสารสกัดหนุ่ยวางช้าง (*Heliotropium indicum* R.Br.) ด้วยเทคนิค GC-MS พบว่า ในสารสกัดประกอบด้วยสารประกอบทั้งหมด 21 ชนิด (รูปที่ 3.4) สารประกอบหลักที่พบมากที่สุดเป็นสารที่ยังไม่ทราบชื่อ (unknown; 21%) ในขณะที่สารที่เหลือเป็นกลุ่ม fatty acids

Unknown (47%)

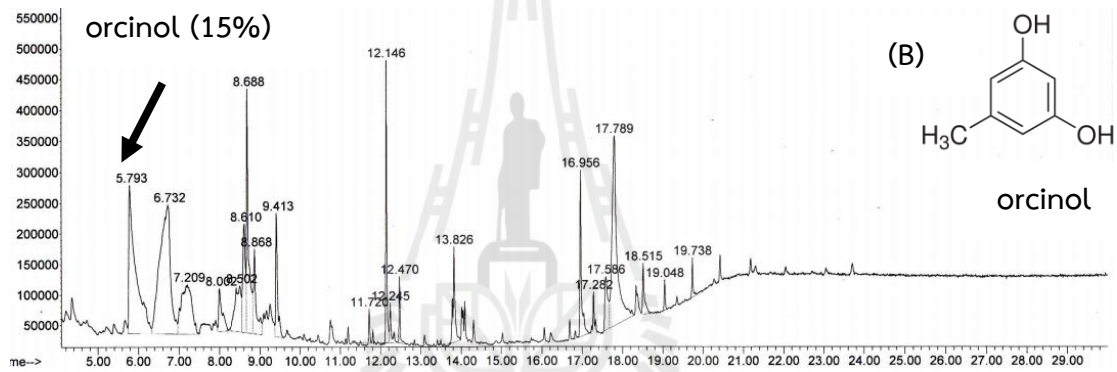
Abundance



Retention Time

รูปที่ 3.2 GC chromatogram ของสารสกัดจากผักเป็ดไทย (*Alternanthera sessilis* (L.) DC.)

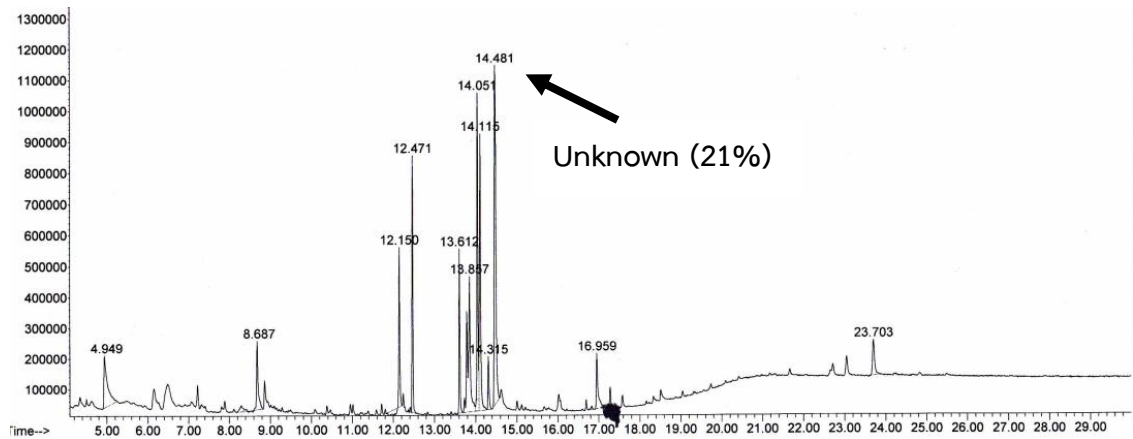
(A) Abundance



Retention Time

รูปที่ 3.3 (A) GC chromatogram ของสารสกัดจากว่านสามเกล็ด (B) โครงสร้างเคมีของ orcinol

Abundance



Retention Time

รูปที่ 3.4 GC chromatogram ของสารสกัดจากหญ้าวงช้าง

3.4 ผลของสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิดต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบมดลูกที่เกิดขึ้นโดยธรรมชาติ

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบว่าสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิดนี้มีผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบมดลูกที่เกิดขึ้นโดยธรรมชาติอย่างไร ทำการทดลองโดยให้สารสกัดในขณะที่กล้ามเนื้อเรียบมดลูกกำลังหดตัวโดยธรรมชาติเป็นเวลา 60 นาที จากนั้นวัดค่าความแรง ความถี่ และพื้นที่ใต้กราฟของการหดตัว เปรียบเทียบกับช่วงที่ยังไม่ได้ให้สารสกัด ผลการทดลองเป็นดังนี้

3.4.1 สารสกัดจากผักเป็ดไทย

พบว่าที่ความเข้มข้น 250 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ($n = 5$) สารสกัดผักเป็ดไทยมีฤทธิ์ไปลดความแรง เพิ่มความถี่ เพิ่มพื้นที่ใต้กราฟของการหดตัว คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ได้ดังนี้ $64.94 \pm 8.07\%$, $207.94 \pm 27.16\%$ และ $173.96 \pm 22.94\%$ ตามลำดับ (รูปที่ 3.5)

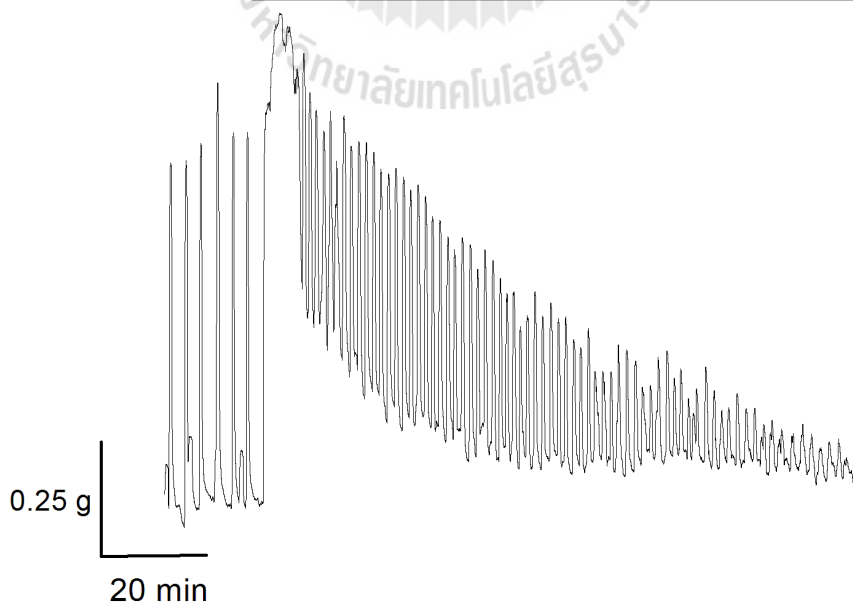
3.4.2 สารสกัดจากว่านสากเหล็ก

พบว่าที่ความเข้มข้น 250 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ($n = 5$) สารสกัดจากว่านสากเหล็ก มีฤทธิ์ไปลดความแรง เพิ่มความถี่ และเพิ่มพื้นที่ใต้กราฟของการหดตัว คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ได้ดังนี้ $64.17 \pm 9.42\%$, $152.31 \pm 32.71\%$ และ $59.98 \pm 1.16\%$ ตามลำดับ (รูปที่ 3.6)

3.4.3 สารสกัดจากหญ้าวงช้าง

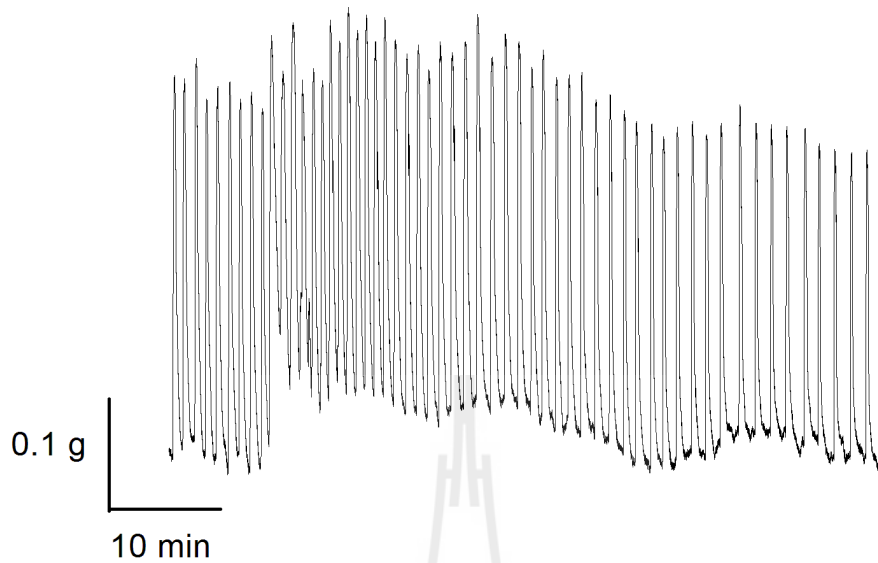
พบว่าที่ความเข้มข้น 250 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ($n = 5$) สารสกัดจากหญ้าวงช้างมีฤทธิ์ไปเพิ่มความแรง ความถี่ และพื้นที่ใต้กราฟของการหดตัว คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ได้ดังนี้ $114.19 \pm 22.62\%$, $130.95 \pm 7.65\%$ และ $144.44 \pm 15.22\%$ ตามลำดับ (รูปที่ 3.7)

Alternanthera sessilis (L.) DC.)



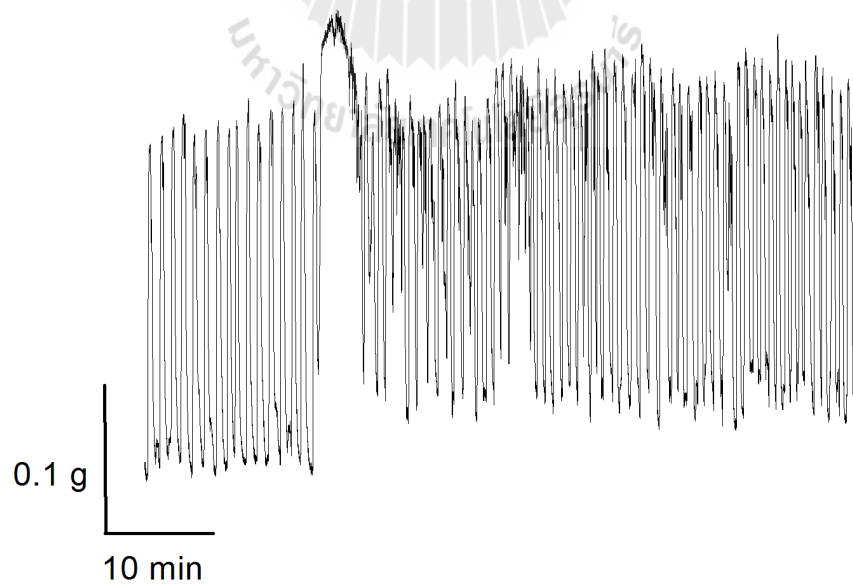
รูปที่ 3.5 ฤทธิ์ของสารสกัดจากผักเป็ดไทยต่อกล้ามเนื้อเรียบมดลูกที่เกิดขึ้นโดยธรรมชาติ

Curculigo orchidoides Gaertn



ภาพที่ 3.6 ฤทธิ์ของสารสกัดจากवानสากเหล็กต่อกล้ามเนื้อเรียบมดลูกที่เกิดขึ้นโดยธรรมชาติ

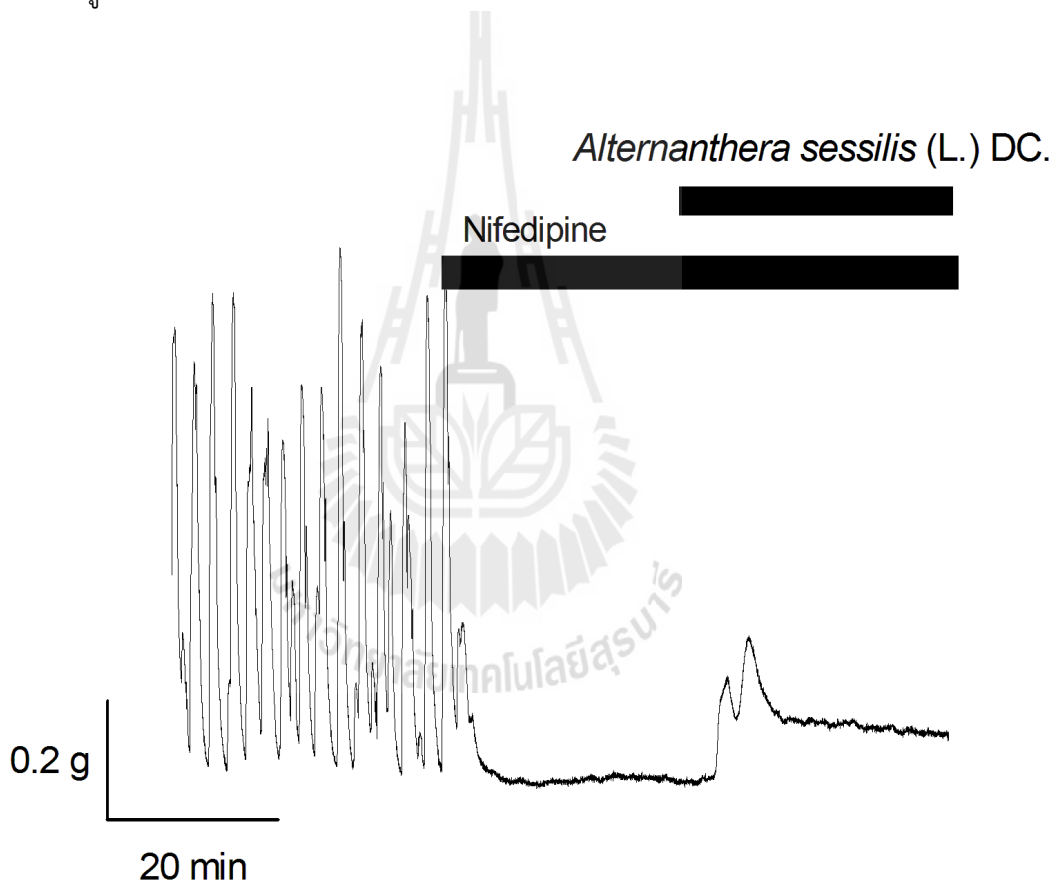
Heliotropium indicum R.Br.



ภาพที่ 3.7 ฤทธิ์ของสารสกัดจากหญ้าวงช้างต่อกล้ามเนื้อเรียบมดลูกที่เกิดขึ้นโดยธรรมชาติ

3.5 ผลของสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิดต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบมดลูกในสถานะที่ L-type Ca Channel ถูกยับยั้งการทำงาน

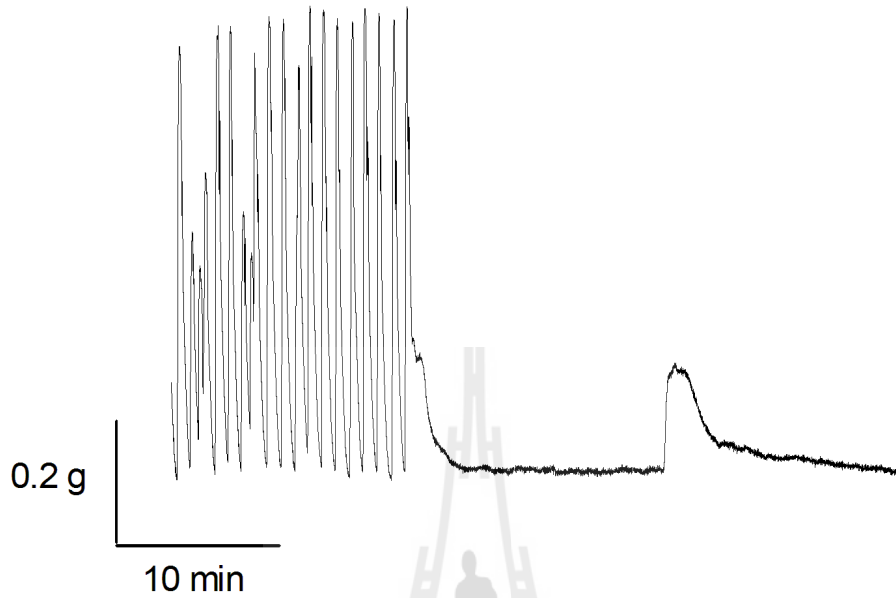
การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิดที่สามารถกระตุ้นให้เกิดการหดตัวในสถานะที่ L-type Ca channels ถูกยับยั้งการทำงานได้หรือไม่ วิธีการคือ ภายหลังจากปล่อยให้มดลูกเกิดการหดตัวโดยธรรมชาติ เติมสารละลาย nifedipine ($10 \mu\text{M}$) เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเติมสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิด (250 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร) ในขณะที่ยังมี nifedipine อยู่ด้วย จากรูปที่ 3.8-3.10 จะเห็นว่าเมื่อ L-type Ca channels ถูกยับยั้งการทำงาน มดลูกจะไม่สามารถหดตัวได้อีก แต่พอเติมสารสกัด (ในขณะที่ L-type Ca channels ถูกยับยั้งการทำงานด้วย nifedipine) สารสกัดทั้ง 3 ชนิดยังสามารถกระตุ้นให้มดลูกหดตัวได้ ($n = 5$) ดังแสดงในรูปที่ 3.8-3.10



รูปที่ 3.8 ฤทธิ์ของสารสกัดจากผักเป็ดไทยต่อกล้ามเนื้อเรียบมดลูกในสถานะที่ L-type Ca channels ถูกยับยั้งการทำงาน

Curculigo orchoides Gaertn.

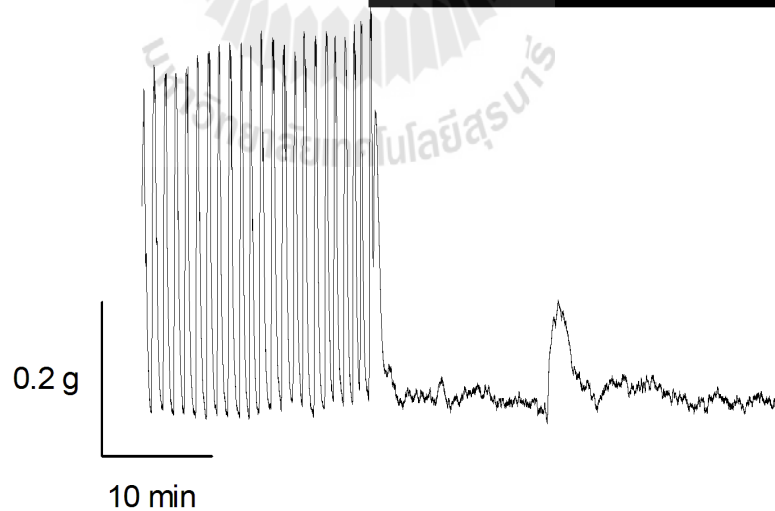
Nifedipine



รูปที่ 3.9 ภาพของสารสกัดจากवानสาสากเหล็กต่อกล้ามเนื้อเรียบมดลูกในสถานะที่ L-type Ca channels ถูกยับยั้งการทำงาน

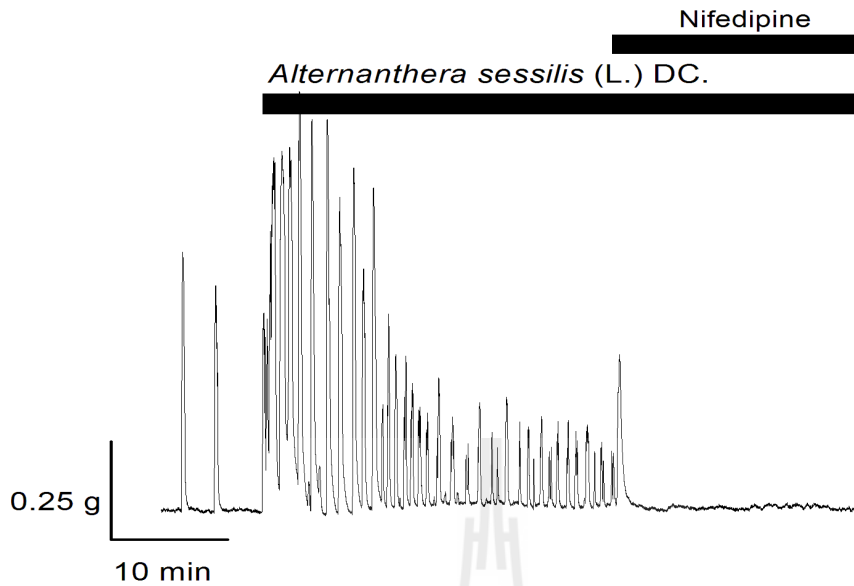
Heliotropium indicum R.Br.

Nifedipine

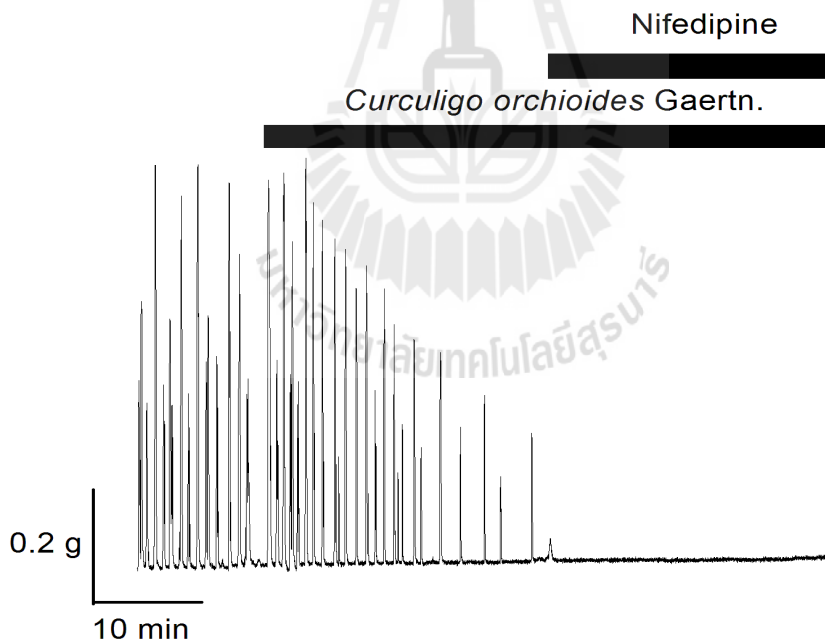


รูปที่ 3.10 ภาพของสารสกัดจากหญ้าวงช้างต่อกล้ามเนื้อเรียบมดลูกในสถานะที่ L-type Ca channels ถูกยับยั้งการทำงาน

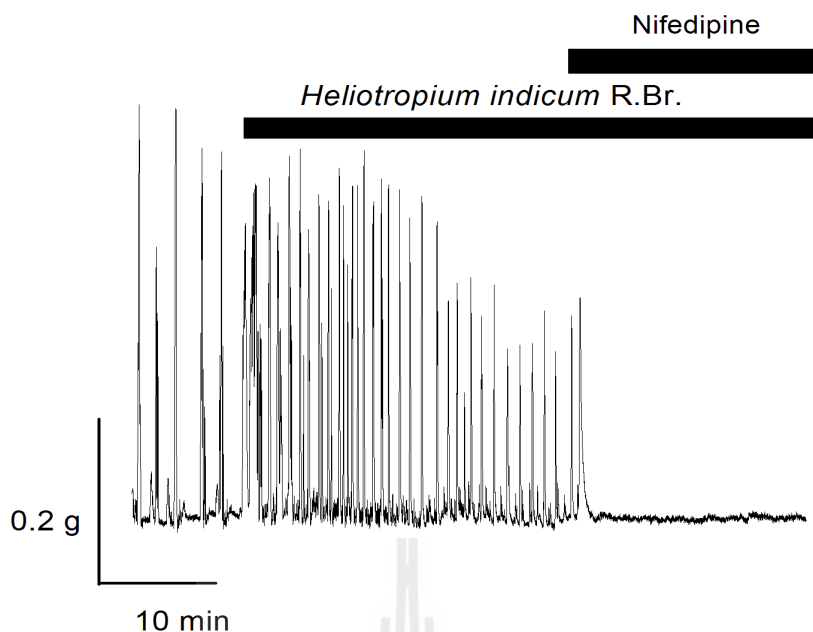
ในทางตรงกันข้าม หากให้สารสกัดก่อนแล้วตามด้วยการยับยั้ง L-type Ca channels (ในขณะที่มีสารสกัดอยู่) พบว่าการหดตัวจะหยุดลงในสารสกัดทั้ง 3 ชนิด ดังแสดงในรูปที่ 3.11-3.13



รูปที่ 3.11ฤทธิ์ของสารสกัดจากผักเป็ดไทยต่อกล้ามเนื้อเรียบมดลูกในสภาวะที่ L-type Ca channels ถูกยับยั้งการทำงานในภายหลัง



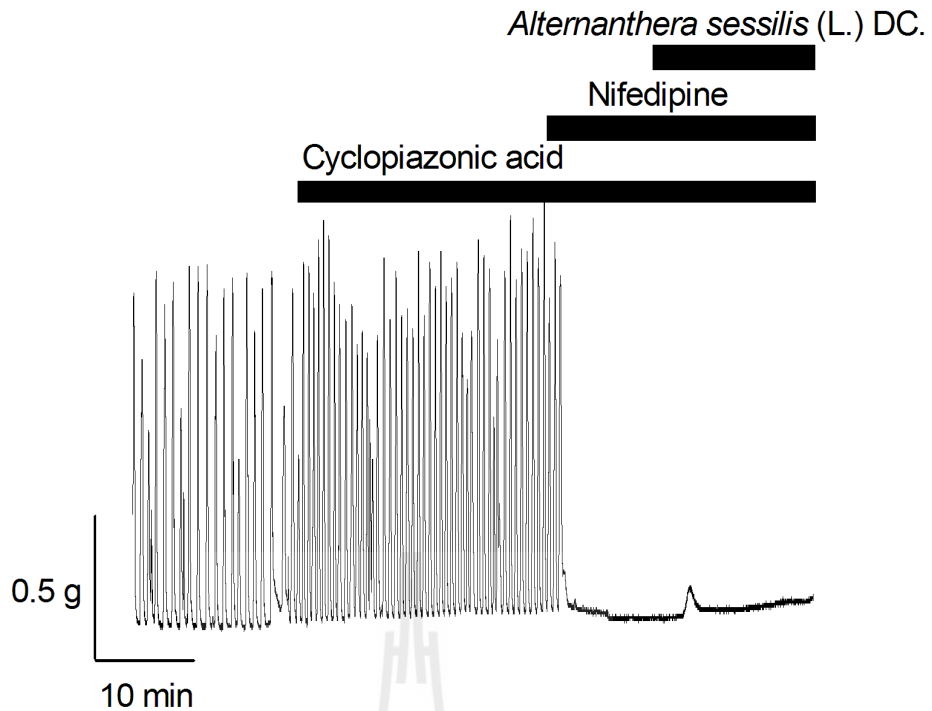
รูปที่ 3.12ฤทธิ์ของสารสกัดจากว่านสาวเหล็กต่อกล้ามเนื้อเรียบมดลูกในสภาวะที่ L-type Ca channels ถูกยับยั้งการทำงานในภายหลัง



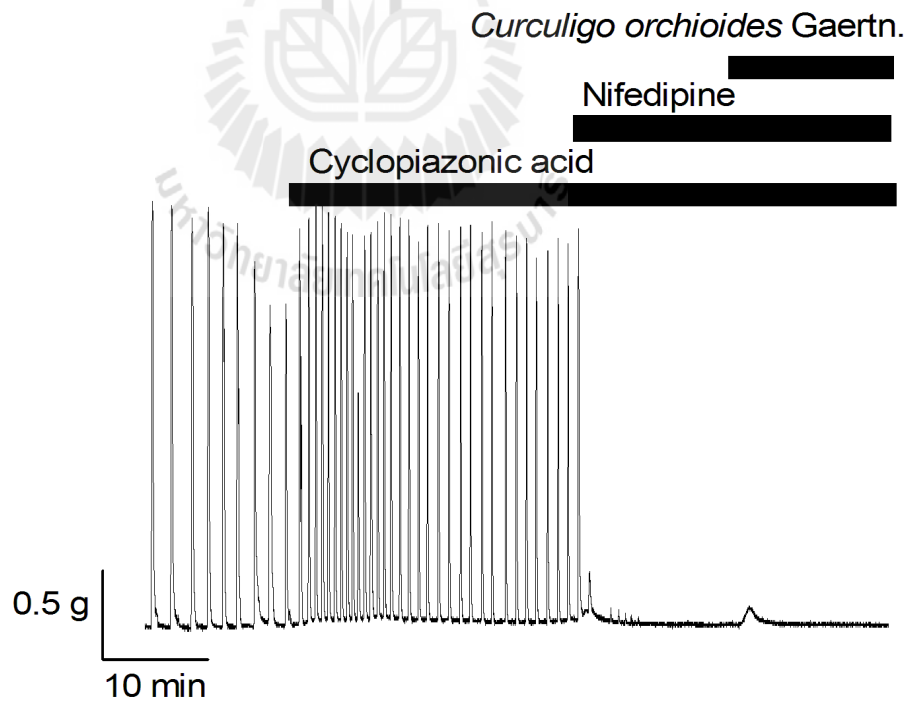
รูปที่ 3.13 ฤทธิ์ของสารสกัดจากหญ้าวงช้างต่อกล้ามเนื้อเรียบมดลูกในสถานะที่ L-type Ca channels ถูกยับยั้งการทำงานในภายหลัง

3.6 ผลของสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิดต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบมดลูกในสถานะที่ SR Ca Channels ถูกยับยั้งการทำงาน

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิดว่าสามารถกระตุ้นให้เกิดการหดตัวในสถานะที่ SR Ca channels ถูกยับยั้งการทำงานได้หรือไม่ วิธีการคือภายหลังจากปล่อยให้มดลูกเกิดการหดตัวโดยธรรมชาติ เติมสารละลาย cyclopiazonic acid ($20 \mu\text{M}$) เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเติมสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิด (250 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร) ในขณะที่ยังมี cyclopiazonic acid อยู่ด้วย จากรูปที่ 3.14-3.16 จะเห็นว่าเมื่อ SR Ca channels ถูกยับยั้งการทำงาน มดลูกจะไม่สามารถหดตัวได้อีก และเมื่อเติมสารสกัด (ในขณะที่ SR Ca channels ถูกยับยั้งการทำงานด้วย cyclopiazonic acid และ L-type channel ถูกยับยั้งการทำงาน) สารสกัดทั้ง 3 ชนิดไม่สามารถกระตุ้นให้มดลูกหดตัวได้ ($n = 5$) ดังแสดงในรูปที่ 3.14-3.16



ภาพที่ 3.14 ฤทธิ์ของสารสกัดจากผักเป็ดไทยต่อกล้ามเนื้อเรียบมดลูกในสถานะที่ SR Ca channels ถูกยับยั้งการทำงาน

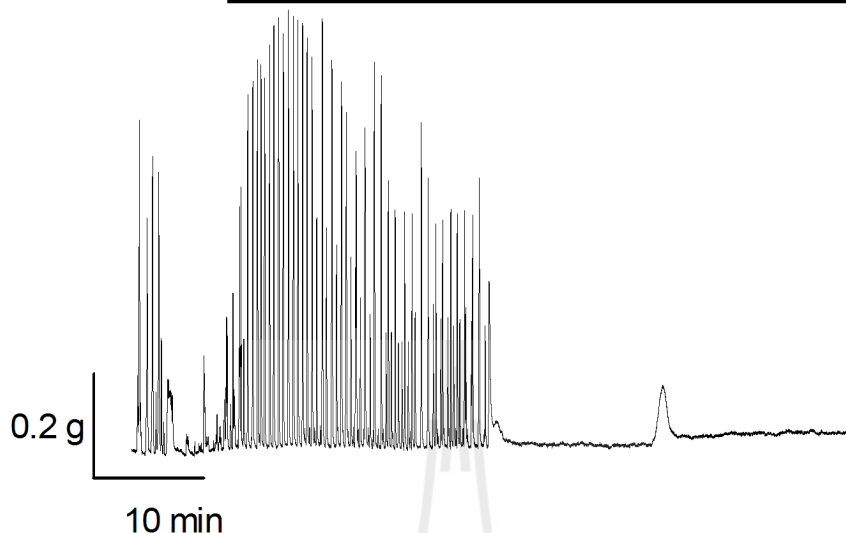


ภาพที่ 3.15 ฤทธิ์ของสารสกัดจากवानสาเหล็กต่อกล้ามเนื้อเรียบมดลูกในสถานะที่ SR Ca channels ถูกยับยั้งการทำงาน

Heliotropium indicum R.Br.

Nifedipine

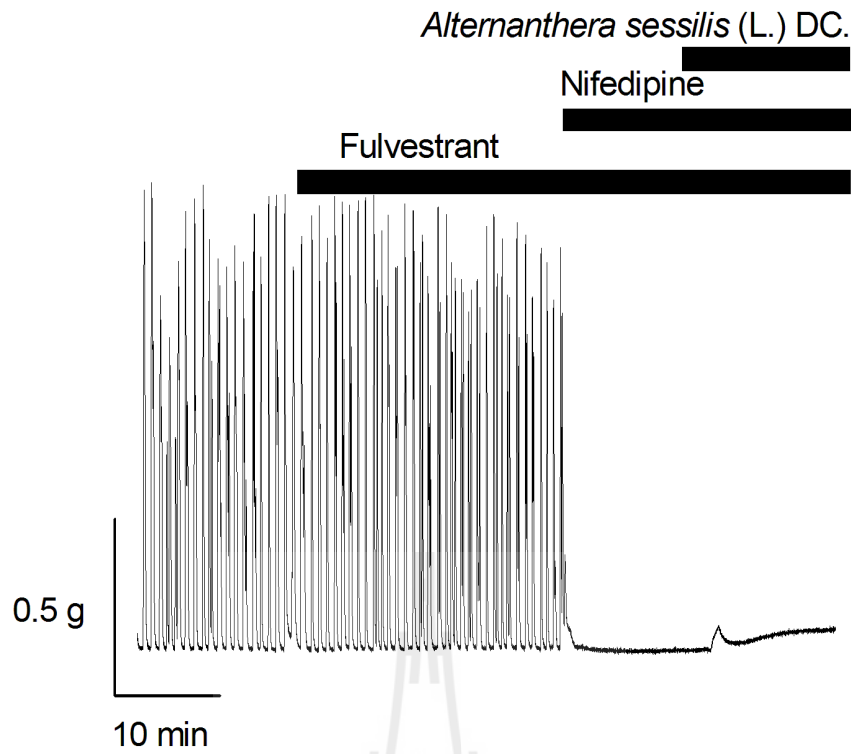
Cyclopiazonic acid



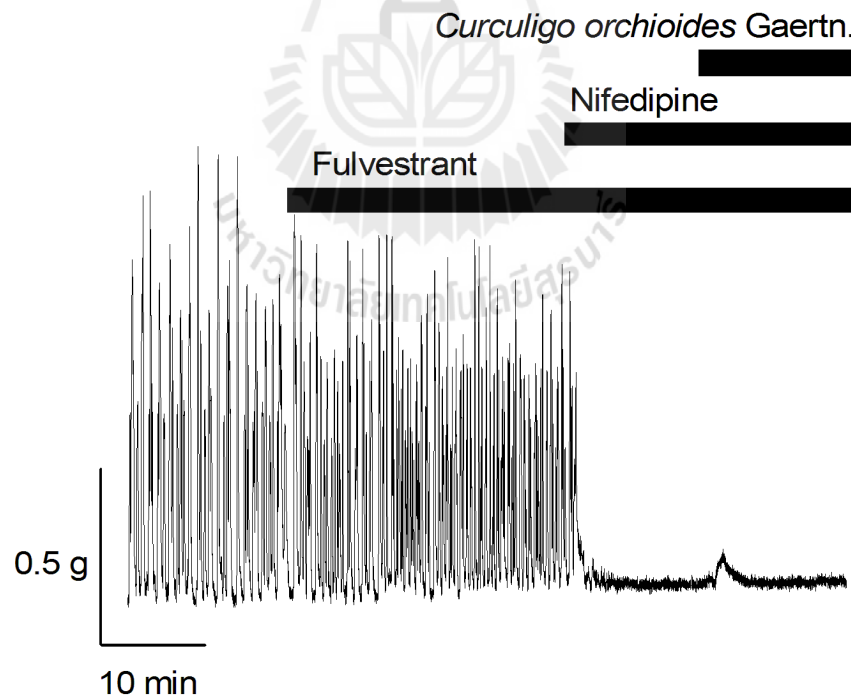
ภาพที่ 3.16 ฤทธิ์ของสารสกัดจากหญ้างวงช้างต่อกล้ามเนื้อเรียบมดลูกในสถานะที่ SR Ca channels ถูกยับยั้งการทำงาน

3.6 ผลของสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิดต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบมดลูกในสถานะที่ estrogen receptors ถูกยับยั้งการทำงาน

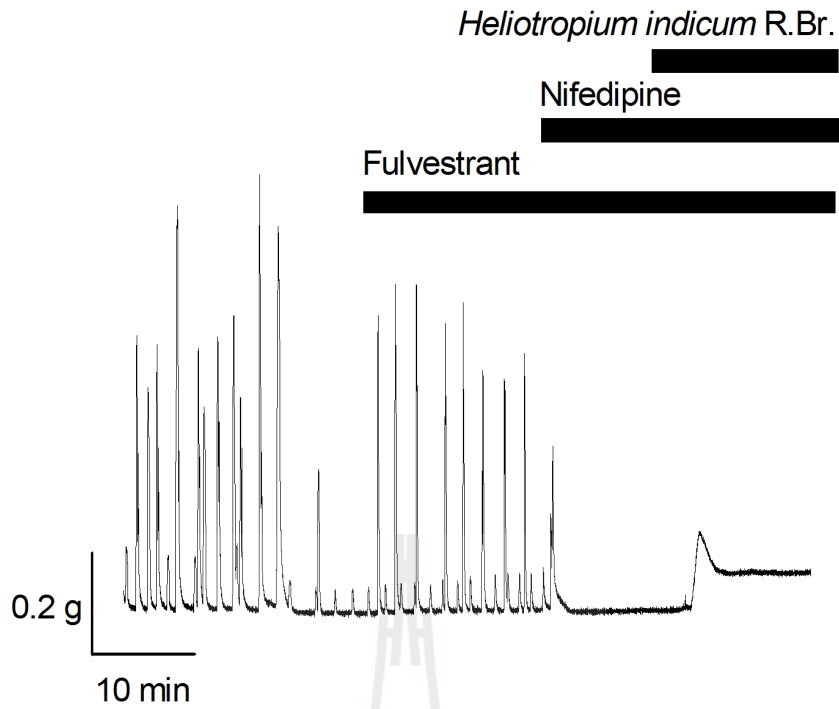
การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิดว่าสามารถกระตุ้นให้เกิดการหดตัวในสถานะที่ estrogen receptors ถูกยับยั้งการทำงานได้หรือไม่ วิธีการคือ ภายหลังจากปล่อยให้มดลูกเกิดการหดตัวโดยธรรมชาติ เติมสารละลาย fulvestrant (10 μ M) เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเติมสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิด (250 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร) ในขณะที่ยังมี fulvestrant อยู่ด้วย จากรูปที่ 3.17-3.19 จะเห็นว่าเมื่อ estrogen receptor ถูกยับยั้งการทำงาน มดลูกจะยังสามารถหดตัวได้ และเมื่อเติมสารสกัด (ในขณะที่ estrogen receptor ถูกยับยั้งการทำงานด้วย fulvestrant และ L-type channel ถูกยับยั้งการทำงาน) สารสกัดทั้ง 3 ชนิดยังสามารถกระตุ้นให้มดลูกหดตัวได้ (n = 5) ดังแสดงในรูปที่ 3.17-3.19



รูปที่ 3.17 ฤทธิ์ของสารสกัดจากผักเบ็ดไทยต่อกล้ามเนื้อเรียบมดลูกในสถานะที่ estrogen receptors ถูกยับยั้งการทำงาน



รูปที่ 3.18 ฤทธิ์ของสารสกัดจากว่านสาวเหล็กต่อกล้ามเนื้อเรียบมดลูกในสถานะที่ estrogen receptors ถูกยับยั้งการทำงาน



รูปที่ 3.19 ภาพของสารสกัดจากเหง้าของพืชต่อกล้ามเนื้อเรียบมดลูกในสถานะที่ estrogen receptors ถูกยับยั้งการทำงาน

บทที่ 4

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจและพิสูจน์เอกลักษณ์สมุนไพรในพื้นที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่มีสรรพคุณตามภูมิปัญญาแพทย์แผนไทยเกี่ยวกับการหดตัวของมดลูก โดยคัดเลือกสมุนไพรที่มีฤทธิ์กระตุ้นการหดตัวของมดลูก 3 ชนิด (จากจำนวน 13 ชนิด) มาทำการสกัดสารด้วยเอทานอล ทดสอบฤทธิ์ต่อการหดตัวของมดลูก (in vitro study) และศึกษากลไกการออกฤทธิ์ ผลสรุปจากการวิจัยมีรายละเอียดเป็นดังนี้

4.1 การสำรวจและพิสูจน์เอกลักษณ์สมุนไพรในพื้นที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

จากการลงสำรวจสมุนไพรในพื้นที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี 2 ครั้ง เดือนมิถุนายน พ.ศ. 2555 และเดือนกันยายน พ.ศ. 2555 ในเขตพื้นที่ป่าอนุรักษ์ระหว่างอาคารเรียนรวม 1 และลานสัญลักษณ์สถาน พื้นที่ป่าหลังอาคารกาญจนาภิเษก ตลอดจนริมถนนสายรอบมหาวิทยาลัย พบพืชสมุนไพรที่อาจจะมีฤทธิ์ต่อการกระตุ้นหรือยับยั้งการหดตัวของมดลูกหลายชนิด พืชดังกล่าวนี้เป็นพืชที่ได้มีการรายงานงานไว้ในวรรณกรรมเรื่อง พรรณไม้ในมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี (อรธมพและคณะ, 2545) เมื่อ พ.ศ. 2545 หรือเมื่อ 10 ปี ที่แล้ว การพบสมุนไพรดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าพื้นที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีมีความสมบูรณ์และได้รับการดูแลอนุรักษ์เป็นอย่างดีทำให้สามารถพบพืชดังกล่าวได้แม้เวลาจะผ่านไปเป็น 10 กว่าปีก็ตาม

ผู้วิจัยได้คัดเลือกสมุนไพรที่มีฤทธิ์กระตุ้นการหดตัวของมดลูก 3 ชนิด (จากจำนวน 13 ชนิด) คือ ผักเป็ดไทย (*Alternanthera sessilis* (L.) DC.) ว่านสากเหล็ก (*Molineria latifolia* Herb. Ex Kurt.) และ หล้าวงช้าง (*Heliotropium indicum* R.Br.) มาทำการสกัดสารด้วยเอทานอล ทดสอบฤทธิ์ต่อการหดตัวของมดลูก (in vitro study) และศึกษากลไกการออกฤทธิ์

4.2 สารสำคัญในพืชสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด

จากผลการสกัดพืชสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด ด้วยเอทานอลและวิเคราะห์หาสารสำคัญด้วยเทคนิค GC-MS ทำให้ทราบว่าสารสกัดจากผักเป็ดไทยประกอบด้วยสารประกอบทั้งหมด 9 ชนิด สารประกอบหลักที่พบมากที่สุด (47%) ซึ่งยังไม่สามารถบอกได้ว่าเป็นสารอะไร (unknown) ทั้งนี้ยังไม่ได้พิสูจน์ว่าเป็นสาร เช่น alpha และ beta-spinasterol (Rastogi, 1993), lupeal (Gupta, 2004), beta-sitosterol และ stigmasterol (Sinha et al., 1984) ซึ่งได้เคยมีผู้รายงานไว้หรือไม่ สารสำคัญในลำดับรองลงมาได้แก่ methanone (10%) และ phytol (10%) ที่เหลือเป็นกลุ่ม fatty acids

ส่วนสารสกัดจากว่านสากเหล็กนั้น ประกอบด้วยสารประกอบทั้งหมด 21 ชนิด สารประกอบหลักที่พบมากที่สุดมี 3 ชนิด โดย 2 ใน 3 ชนิดเป็นสารที่ยังไม่ทราบชื่อ (unknown; 20% และ 14%) ในขณะที่สารที่เหลือคือ orcinol (15%) นอกนั้นเป็นกลุ่ม fatty acids จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่าเคยมีการค้นพบสารสำคัญอย่าง orcinol ด้วยเช่นกัน (Liu, 2001; State Pharmacopeia Commission of P.R. China, 2000; Shri et al., 1989) ส่วนสารอีกหลายชนิดที่สามารถพบได้ในว่านสากเหล็ก ได้แก่ curculigoside (Li et al., 2003), curculigoside B (Fu et al., 2004), curculigoside C (Xu et al., 1992), 2,6-dimethoxyl benzoic acid (Chen et al., 1999), and syringic acid (Triguna et al., 1990) สำหรับ orcinol นั้น จัดเป็น glycoside ซึ่งอาจมีฤทธิ์ต่อกล้ามเนื้อเรียบ (Sunano, 1980)

ในขณะที่สารสกัดจากหญ้าวงช้างประกอบด้วยสารประกอบทั้งหมด 12 ชนิด สารประกอบหลักที่พบมากที่สุดเป็นสารที่ยังไม่ทราบชื่อ (unknown; 21%) จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่าสารสกัดจากหญ้าวงช้างจะประกอบด้วย heliotrine, helindicine, lycospamine, indicine, indicine-N-oxide, acetyl-indicine, heleurine, supinine, supinidine, lindelofidine, trachelanthamide, retronecine, putrescine, spermidine, spermine, rapanone และ C16-C18 fatty acid esters of 1-cyano-2-hydroxymethylprop-1-en-3-ol นอกจากนี้มีรายงานว่าพบ phytol, 1-dodecanol และ 3% β -linalool (Souza et al., 2005; Machan, 2005) ทั้งนี้ยังไม่ได้พิสูจน์ว่าเป็นสารที่ไม่ทราบชื่อจะเป็นสารในกลุ่มนี้หรือไม่ ในขณะที่สารที่เหลือเป็นกลุ่ม fatty acids

4.3 ผลของสารสกัดพืชสมุนไพรทั้ง 3 ชนิดต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบมดลูกหนูและกลไกการการออกฤทธิ์

จากการทดลองพบว่าสารสกัดพืชสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด สามารถกระตุ้นให้มดลูกที่หดตัวโดยธรรมชาติหดตัวเพิ่มขึ้นโดยเพิ่มทั้งความถี่และความแรงในการหดตัว ตลอดจนเหนี่ยวนำให้มีการหดตัวโดยไม่พึ่งแคลเซียมภายนอกเซลล์ แสดงให้เห็นว่าสารสำคัญจากพืชทั้ง 3 ชนิดนี้มีผลต่อทั้งในระดับ excitation-contraction coupling และ pharmacomechanical coupling ของกล้ามเนื้อเรียบมดลูก กลไกในการกระตุ้นการหดตัวสรุปได้ดังนี้

4.3.1 Excitation-contraction coupling

เป็นที่ยอมรับกันว่าการหดตัวที่เกิดขึ้นโดยธรรมชาติของกล้ามเนื้อเรียบมดลูก จะขึ้นอยู่กับ excitation-contraction coupling โดยเริ่มจาก depolarization ของผนังเซลล์กล้ามเนื้อเรียบมดลูกทำให้เกิดการเข้าสู่เซลล์ของแคลเซียมทางประตูแคลเซียม (L-type Ca channels) เป็นสำคัญ (Matthew et al., 2004) แคลเซียมที่เข้าสู่เซลล์นี้ จะรวมตัวกับโปรตีน calmodulin ภายในเซลล์ เป็นผลให้ myosin light chain kinase enzyme เคลื่อนย้ายฟอสเฟตจาก ATP ไปให้ light

myosin ทำให้ไมโอซินอยู่ในสภาวะที่สามารถจับกับแอกตินได้ (Longbottom et al, 2000) ส่งผลให้เกิดการหดตัวตามมา

จากผลการทดลองพบว่า สารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิดในขนาดที่เท่ากัน (250 mg/100 mL) มีผลกระตุ้นการหดตัวที่เกิดขึ้นโดยธรรมชาติของกล้ามเนื้อหลอดลมต่างกัน หากเรียงลำดับตามความแรงของการออกฤทธิ์จะพบว่า สารสกัดจากหญ้างวงช้างจะออกฤทธิ์แรงที่สุด เนื่องจากไปมีผลเพิ่มทั้งความแรงและความถี่ของการหดตัว ถัดไปจะเป็นสารสกัดจากผักเป็ดและสารสกัดจากว่านสากเหล็กตามลำดับ ซึ่งจะมีฤทธิ์ไปเพิ่มความถี่เพียงอย่างเดียว

เมื่อศึกษากลไกการออกฤทธิ์พบว่า การหดตัวที่เพิ่มขึ้นจากสารสกัดทั้ง 3 ชนิดสามารถยับยั้งได้ด้วย inhibitor (nifedipine) ของ L-type Ca channels ดังนั้น จึงสามารถสรุปได้ว่าสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิดอาจจะมีผลไปเปิด L-type Ca channels ของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลม ทำให้แคลเซียมภายนอกเซลล์สามารถเคลื่อนเข้าสู่เซลล์ได้มากขึ้น ส่งผลให้เกิดการหดตัวของหลอดลมเพิ่มขึ้นตามมา

สำหรับสารออกฤทธิ์ในผักเป็ดคาดว่าจะเป็นสารกลุ่ม alpha- และ beta-spinasterol (Rastogi, 1993), lupeal (Gupta, 2004), beta-sitosterol และ stigmasterol (Sinha et al., 1984) ซึ่งเคยมีผู้รายงานไว้ว่าสารกลุ่มนี้สามารถออกฤทธิ์กระตุ้นกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมที่แยกได้จากหนูขาว (Promprom et al., 2010; Lijuan et al., 2011)

สำหรับสารออกฤทธิ์ในว่านสากเหล็ก คาดว่าจะเป็นสาร orcinol นั้น จัดเป็น glycoside ซึ่งเคยมีผู้รายงานไว้ว่าสารกลุ่มนี้สามารถออกฤทธิ์กระตุ้นกล้ามเนื้อเรียบโดยผ่านกลไกอย่างน้อย 2 ประการ ได้แก่ (1) ยับยั้ง Na-K ATPase และ (2) กระตุ้นการเข้าสู่เซลล์ของแคลเซียม (Sunano, 1980) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าสารในกลุ่ม glycoside ซึ่งแยกได้จากพืชหลายชนิดสามารถกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมโดยการ activate L-type Ca channels (Uchendu and Leek, 1999; Yu et al., 2010; Uchendu, 1999) ในทางตรงกันข้ามก็มีรายงานเช่นกันว่า glycoside สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมได้ (Ponce-Monter et al., 1999)

สำหรับสารออกฤทธิ์ในหญ้างวงช้างคาดว่าจะเป็นสารกลุ่มอัลคาลอยด์ เช่น heliotrine, helindicine, lycospamine, indicine, indicine-N-oxide, acetyl-indicine, heleurine, supinine, supinidine, lindelofidine, trachelanthamidine, retronecine, putrescine, spermidine, spermine หรือ rapanone (Souza et al., 2005; Machan, 2005) ซึ่งเคยมีผู้รายงานไว้ว่าสารกลุ่มนี้สามารถออกฤทธิ์กระตุ้นกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วนปลายที่แยกได้จากหนูตะเภา (Pomeroy and Raper, 1971)

จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่ามีการใช้พืชทั้ง 3 ชนิดเพื่อรักษาความผิดปกติที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์จึงเป็นที่น่าสนใจว่าอาจจะมีสารออกฤทธิ์ในกลุ่ม Phytoestrogens เช่นที่พบในหญ้างวงช้างและผักเป็ดไทย จึงได้ทำการทดลองเพื่อพิสูจน์ว่าฤทธิ์ในการกระตุ้นการหดตัวของสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิดว่าเกิดจากการออกฤทธิ์ผ่าน estrogen receptors หรือไม่ ซึ่งทำได้โดยการให้สารต้าน estrogen receptors (fulvestrant) ไปพร้อมๆ กับการให้สารสกัด ผลพบว่าฤทธิ์ในการกระตุ้นการ

หดตัวของสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิดไม่ได้เกิดจากการออกฤทธิ์ผ่าน estrogen receptors เนื่องจาก fulvestrant ไม่สามารถยับยั้งการหดตัวที่กระตุ้นโดยสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิด

4.3.2 Pharmacomechanical coupling

เป็นการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบมดลูกที่ไม่พึ่งการ depolarization ของเยื่อหุ้มเซลล์ แต่เกิดจากการที่สารหรือฮอร์โมนบางชนิดสามารถที่จะจับกับตัวรับสัญญาณบนผนังเซลล์กล้ามเนื้อเรียบมดลูกด้านนอก แล้วก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางปฏิกิริยาของเอนไซม์บนผนังเซลล์ เพื่อผลิตสื่อสัญญาณที่ 2 ขึ้นภายในเซลล์ คือ อินอซิทอลทริสฟอสเฟต เพื่อไปกระตุ้นตัวรับที่ ซาร์โค-พลาสมิก เรติคูลัม (IP₃ receptors) ให้ปล่อยแคลเซียมซึ่งเป็นสื่อสัญญาณที่ 3 ออกมา หลังจากนั้นแคลเซียมจะไปจับกับ calmodulin เป็นผลให้ myosin light chain kinase enzyme เคลื่อนย้ายฟอสเฟตจาก ATP ไปให้ light myosin ทำให้ไมโอซินอยู่ในสภาวะที่สามารถจับกับแอกตินได้ ส่งผลให้เกิดการหดตัวตามมา (Somlyo et al., 1999)

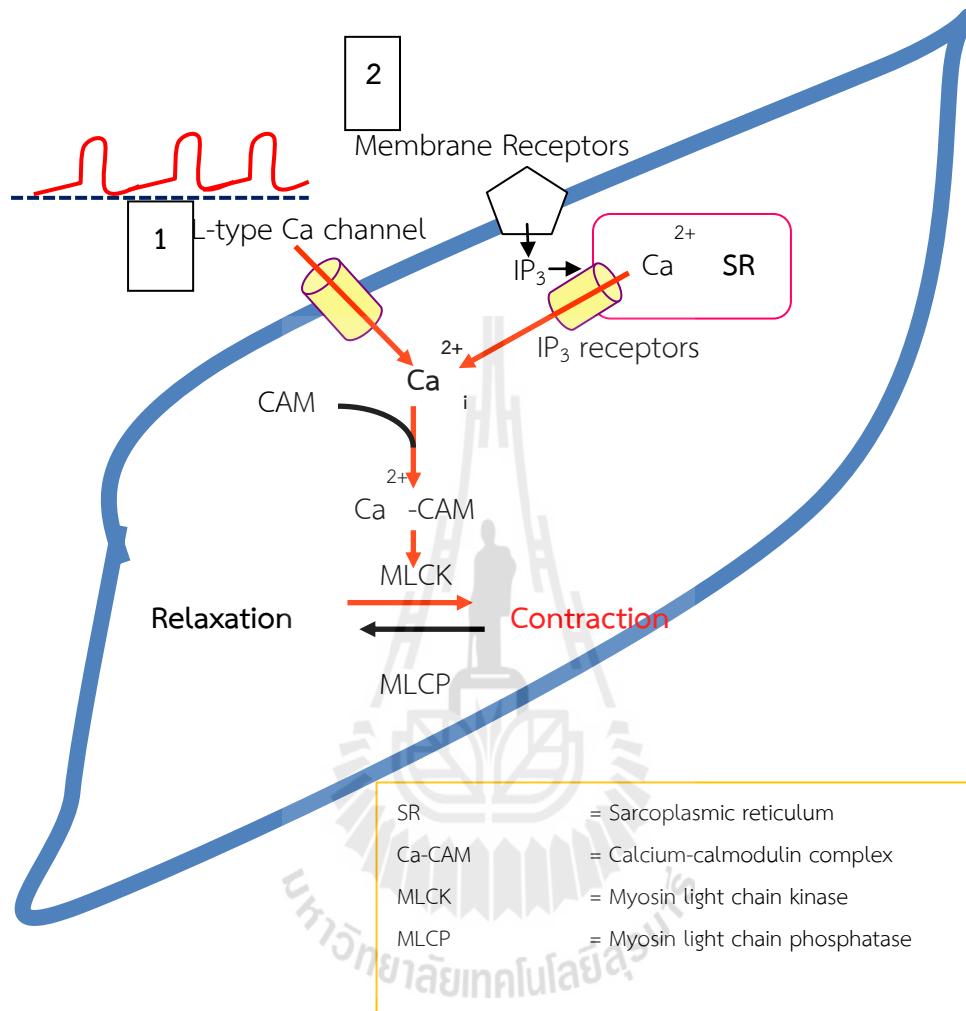
จากผลการทดลองพบว่า สารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิดในขนาดที่เท่ากัน (250 mg/100 mL) มีผลก่อให้เกิดการหดตัวในรูปแบบที่ไม่พึ่งการ depolarization ของเยื่อหุ้มเซลล์ได้ ดังจะเห็นได้จากการทดลองที่ให้ inhibitor (nifedipine) ของ L-type Ca channels เพื่อยับยั้งการหดตัวของมดลูกในขณะเดียวกันก็ให้สารสกัดเพื่อกระตุ้นการหดตัว ซึ่งพบว่า สารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิดในขนาดที่เท่ากัน (250 mg/100 mL) สามารถก่อให้เกิดการหดตัวในรูปแบบที่ไม่พึ่งการ depolarization ของเยื่อหุ้มเซลล์ได้

จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่ามีการใช้พืชทั้ง 3 ชนิดเพื่อรักษาความผิดปกติที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์จึงเป็นที่น่าสนใจว่าอาจจะมีสารออกฤทธิ์ในกลุ่ม phytoestrogens เช่นที่พบในหญ้างวงช้างและผักเป็ดไทย จึงได้ทำการทดลองเพื่อพิสูจน์ว่าฤทธิ์ในการกระตุ้นการหดตัวของสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิดว่าจะเกิดจากการออกฤทธิ์ผ่าน estrogen receptors หรือไม่ ซึ่งทำได้โดยการให้สารต้าน estrogen receptors (fulvestrant) ไปพร้อมๆ กับการให้ การให้สารสกัด ผลพบว่าฤทธิ์ในการกระตุ้นการหดตัวของสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิดไม่ได้เกิดจากการออกฤทธิ์ผ่าน estrogen receptors เนื่องจาก fulvestrant ไม่สามารถยับยั้งการหดตัวที่กระตุ้นโดยสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิด

4.4 สรุปผลการทดลอง

การออกฤทธิ์ของสารสกัด 70% แอลกอฮอล์ของสารสกัดทั้ง 3 ชนิด ยังไม่ทราบแน่ชัดว่าเกิดจากสารชนิดใด แต่รูปแบบการการออกฤทธิ์น่าจะคล้ายคลึงกันคือเป็นการออกฤทธิ์แบบไม่ผ่านยีน (non-genomic pathway) เนื่องจากซึ่งเป็นการออกฤทธิ์ที่สามารถส่งผลให้มดลูกตอบสนองสารดังกล่าวโดยทันทีหรือในเวลาอันสั้น สำหรับกลไกการออกฤทธิ์ของสารสกัดทั้ง 3 ชนิดมีดังนี้ (1) สารสกัดสามารถกระตุ้นการทำงานของ L-type Ca channel ทำให้ปริมาณของแคลเซียมเข้าสู่

เซลล์มากขึ้น และ (2) สารสกัดสามารถกระตุ้นการหลั่งของแคลเซียมจากแหล่งเก็บภายในเซลล์หรือซาร์โคพลาสมิก เรติคูลัม (Sarcoplasmic reticulum) โดยผ่าน IP_3 receptors ทำให้ปริมาณของแคลเซียมในเซลล์เพิ่มสูงขึ้น (ภาพที่ 4.1) นอกจากนี้ยังสามารถพิสูจน์ได้ว่าสารสกัดทั้ง 3 ชนิดไม่ได้ออกฤทธิ์ผ่าน estrogen receptors



ภาพที่ 4.1 สรุปลไกการออกฤทธิ์ของสารสกัดต่อมดลูก

(1) กระตุ้นการทำงานของ L-type Ca channel ทำให้เกิดการเข้าสู่เซลล์ของแคลเซียมทางประตูแคลเซียม (L-type Ca channels) มากขึ้น แคลเซียมที่เข้าสู่เซลล์นี้ จะรวมตัวกับโปรตีน calmodulin ภายในเซลล์ เป็นผลให้ myosin light chain kinase enzyme เคลื่อนย้ายฟอสเฟตจาก ATP ไปให้ light myosin ทำให้ไมโอซินอยู่ในสภาวะที่สามารถจับกับแอกตินได้ ส่งผลให้เกิดการหดตัวตามมา และ (2) กระตุ้นการหลั่งของแคลเซียมจากแหล่งเก็บภายในเซลล์หรือซาร์โคพลาสมิก เรติคูลัม (Sarcoplasmic reticulum) โดยจับกับตัวรับสัญญาณบนผนังเซลล์กล้ามเนื้อเรียบมดลูกด้านนอก แล้วก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางปฏิกิริยาของเอนไซม์บนผนังเซลล์ เพื่อผลิตสื่อสัญญาณที่ 2 ขึ้นภายในเซลล์ คือ อินอซิทอลทริสฟอสเฟต เพื่อไปกระตุ้น ซาร์โค-พลาสมิก เรติคูลัม ปล่อยให้แคลเซียมซึ่งเป็นสื่อสัญญาณที่ 3 ออกมา หลังจากนั้นแคลเซียมจะไปจับกับ calmodulin เป็นผลให้ myosin light chain kinase enzyme เคลื่อนย้ายฟอสเฟตจาก ATP ไปให้ light myosin ทำให้ไมโอซินอยู่ในสภาวะที่สามารถจับกับแอกตินได้ ส่งผลให้เกิดการหดตัวตามมา

4.5 ข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้ถือเป็นครั้งแรกที่ได้มีการสำรวจและพิสูจน์เอกลักษณ์สมุนไพรในพื้นที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่มีสรรพคุณตามภูมิปัญญาแพทย์แผนไทยเกี่ยวกับการหัตถ์ของมดลูก โดยคัดเลือกสมุนไพรที่มีฤทธิ์กระตุ้นการหัตถ์ของมดลูก 3 ชนิด (จากจำนวน 13 ชนิด) คือ ผักเป็ดไทย (*Alternanthera sessilis* (L.) DC.) ว่านสากเหล็ก (*Molineria latifolia* Herb. Ex Kurt.) และ หลู่่างวงช้าง (*Heliotropium indicum* R.Br.) มาทำการสกัดสารด้วยเอทานอล ทดสอบฤทธิ์ต่อการหัตถ์ของมดลูก (in vitro study) และศึกษากลไกการออกฤทธิ์ ซึ่งพบว่ามีสรรพคุณตามภูมิปัญญาแพทย์แผนไทยที่ได้กล่าวไว้ แม้จะยังไม่สามารถชี้เฉพาะสารที่ออกฤทธิ์ได้ก็ตาม ดังนั้นการวิจัยในขั้นต่อไปจึงควรเป็นการศึกษาสารออกฤทธิ์ที่จำเพาะซึ่งจะมีประโยชน์ในทางการนำไปสกัดเป็นตัวยา

จากการพบพืชทั้ง 3 ชนิดในเขตพื้นที่ป่าอนุรักษ์ระหว่างอาคารเรียนรวม 1 และลานสัญลักษณ์สถาน ตลอดจนริมถนนสายรอบมหาวิทยาลัย แม้เวลาจะผ่านไปเป็น 10 กว่าปีก็ตามชี้ให้เห็นว่าพื้นที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีมีความสมบูรณ์และได้รับการดูแล/อนุรักษ์เป็นอย่างดี จึงทำให้สามารถพบพืชดังกล่าวได้ อย่างไรก็ตาม เพื่อให้เกิดการอนุรักษ์ที่เป็นรูปธรรมยิ่งขึ้นมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีควรจัดทำอุทยานสมุนไพรและแผนดำเนินการอนุรักษ์ขึ้นเป็นการเฉพาะ เพื่อป้องกันการสูญพันธุ์ของพืชเหล่านี้ในอนาคตข้างหน้า



บรรณานุกรม

Anonymous ผักเบ็ดไทย 04/22/2009

<http://pineapple-eyes.snru.ac.th/animal/nonghan/index.php?q=node/164>

ชัยโย ชัยชาญทิพยุทธ. (2523). หน้อย่างวงช้าง: สมุนไพรน่ารู้. นิตยสารหมอชาวบ้าน. เล่ม: 12.เดือน-ปี: 04/2523.

วุฒิ วุฒิธรรมเวช. (2540). สารานุกรมสมุนไพรไทย: รวมหลักเภสัชกรรมไทย. สำนักพิมพ์โอเดียน สโตร์. 618 หน้า.

สุนทรี สิงหบุตรา “สรรพคุณสมุนไพร 200 ชนิด” กองเภสัชกรรม สำนักอนามัย กรุงเทพมหานคร
http://www.rspg.or.th/plants_data/herbs/herbs_200.htm

ศศิมา ศรัทธาวงศ์สกุล. วิทยานิพนธ์ ปริญญาเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ภาควิชาสรีรวิทยา 1980

(<http://www.pharmacy.mahidol.ac.th/medplantdatabase/pdf/1980/19800041.pdf>)

อรรณพ วราอศวาปติ สมพงษ์ ธรรมถาวร และพอล เจ โกรติ. (2545). พรรณไม้ในมหาวิทยาลัย
เทคโนโลยีสุรนารี. รายงานวิจัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. ถ่ายสำเนา. 57 หน้า.

Chen C. X., Ni W., Mei W. L., *Acta Bot. Yunnan.*, **21**, 521—524 (1999).

Fu D. X., Lei G. Q., Chen X. W., Chen J. K., Zhou T. S., *Acta Botanica Sinica*, **46**, 621—
624 (2004).

Gupta AK, *Indian medicinal plants*, ICMR, New Delhi, 2004, 151-7.

Kupittayanant S, Burdyga T, Wray S. (2001). The effects of inhibiting Rho-associated
kinase with Y-27632 on force and intracellular calcium in human myometrium.
Pflugers Arch. 443(1):112-4.

Li N., Zhao Y. X., Jia A. Q., Liu Y. Q., Zhou J., *Nat. Prod. Res. Dev.*, **15**, 208—211 (2003).

Lijuan W, Kupittayanant P, Chudapongse N, Wray S, Kupittayanant S. The effects of wild ginger (*Costus speciosus* (Koen) Smith) rhizome extract and diosgenin on rat uterine contractions. *Reprod Sci.* 2011 Jun;18(6):516-24.

Liu G. W., "Chinese Herbal Medicine," HuaXia Publishing House, Beijing, 2001, p. 99.

Longbottom ER, Luckas MJ, Kupittayanant S, Badrick E, Shmigol T, Wray S (2000) The effects of inhibiting myosin light chain kinase on contraction and calcium signalling in human and rat myometrium. *Pflugers Arch* 440(2):315-21.

Machan, T. Composition and antituberculosis activity of the volatile oil of *Heliotropium indicum* Linn. growing in Phitsanulok, Thailand. *Flavour and Fragrance Journal.* 2005; 21: 265-7

Munavvar Abdul Sattar, Nor Azizan Abdullah, Md. Abdul Hye Khan, Aidiahmad Dewa and D. Samshia, 2007. Uterotrophic, Fetotoxic and Abortifacient Effect of a Malaysian Variety of *Plumbago rosea* L. on Isolated Rat Uterus and Pregnant Mice. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 10: 763-767.

Noble K, Matthew A, Burdyga T, Wray S (2009) A review of recent insights into the role of the sarcoplasmic reticulum and Ca entry in uterine smooth muscle. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 144 Suppl 1:S11-9.

Phrompittayarat, W., Putalun, W., Tanaka, H., Jetiyanon, K., Wittaya-areekul, S. and Ingkaninan, K. (2007). Comparison of various extraction methods of *Bacupa monnieri*. *Naresuan University Journal.* 15(1): 29-34.

Ponce-Monter H, Campos MG, Aguilar J, Delgado G. Effect of xanthorrhizol, xanthorrhizol glycoside and trachylobanoic acid isolated from Cachani complex plants upon the contractile activity of uterine smooth muscle. *Phytother Res.* 1999 May;13(3):202-5.

- Pomeroy AR, Raper C. Pyrrolizidine alkaloids: actions on muscarinic receptors in the guinea-pig ileum. Br J Pharmacol. 1971 Apr;41(4):683-90.
- Promprom W, Kupittayanant P, Indrapichate K, Wray S, Kupittayanant S. The effects of pomegranate seed extract and beta-sitosterol on rat uterine contractions. Reprod Sci. 2010 Mar;17(3):288-96.
- Quenby S, Matthew A, Zhang J, Dawood F, Wray S (2011) In vitro myometrial contractility reflects indication for caesarean section. BJOG 118(12):1499-506.
- Rastogi RP, Compendium of Indian medicinal plant, 2nd edn, CDRI, Lucknow, 1993, 1970-9.
- Shri N. G., Laxmi N. M., Shantosh K. A., *Phytochemistry*, **28**, 1771—1772 (1989).
- Sinha P, Arora VK, Wahi SP, Chemical investigation on *Alternanthera sessilis*, Indian Drug, 1, 1984, 139-40.
- Somlyo AP, Wu X, Walker LA, Somlyo AV. Pharmacomechanical coupling: the role of calcium, G-proteins, kinases and phosphatases. Rev Physiol Biochem Pharmacol. 1999;134:201-34.
- Souza, J. S.N. Pyrrolizidine Alkaloids from *Heliotropium indicum*. J. Braz. Chem. Soc.. 2005; 16(6B): 1410-4
- State Pharmacopeia Commission of P.R. China, “Pharmacopoeia of the P.R. China,” Vol. I, People’s Health Publishing House & Chemical Industry Publishing House, Beijing, 2000, pp. 75—76.
- Sunano S. Smooth muscle and cardiac glycosides. Nihon Heikatsukin Gakkai Zasshi. 1980 Jun;16(2):57-70.

Triguna N. M., Ram S. S., Deonath M. T., Shekhar C. S., *Phytochemistry*, **29**, 929—931 (1990).

Wray S (1993) Uterine contraction and physiological mechanisms of modulation. *Am J Physiol* 264(1 Pt 1):C1-18.

Wray S (2007) Insights into the uterus. *Exp Physiol*. 92(4):621-31.

Wray S, Shmygol A (2007) Role of the calcium store in uterine contractility. *Semin Cell Dev Biol* 18(3):315-20.

Uchendu CN. Role of Ca²⁺ on uterine force stimulated by a glycoside from the root of *Dalbergia saxatilis*. *Indian J Physiol Pharmacol*. 1999 Apr;43(2):171-8.

Uchendu CN, Leek BF. Adrenergic influence of uterine muscle contractions stimulated by a glycoside from the root of *Dalbergia saxatilis*. *Indian J Exp Biol*. 1999 Apr;37(4):350-4.

Xu J. P., Xu R. S., *Acta Pharm. Sin.*, **27**, 353—357 (1992).

Yu ZY, Guo L, Wang B, Kang LP, Zhao ZH, Shan YJ, Xiao H, Chen JP, Ma BP, Cong YW.

Structural requirement of spirostanol glycosides for rat uterine contractility and mode of their synergism. *J Pharm Pharmacol*. 2010 Apr;62(4):521-9.

ประวัติผู้วิจัย

นางศจีรา คุปพิทยานันท์ ตำแหน่งอาจารย์ เกิดวันเสาร์ที่ 7 มีนาคม พุทธศักราช 2513 ที่อำเภอบัวใหญ่ จังหวัดนครราชสีมา สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีสัตวแพทยศาสตรบัณฑิต เกียรตินิยม จากมหาวิทยาลัยขอนแก่นในปีพุทธศักราช 2537 จากนั้นได้รับทุนจากบริติสเคาน์ซิล และรัฐบาลไทยให้ไปศึกษาต่อระดับมหาบัณฑิตและดุษฎีบัณฑิตในสาขาสรีรวิทยา ที่มหาวิทยาลัยลิเวอร์พูล ประเทศอังกฤษ สำเร็จการศึกษาในปีพุทธศักราช 2546 ขณะกำลังศึกษา ณ สถานศึกษาดังกล่าวได้รับทุนนักสรีรวิทยารุ่นเยาว์ (Young Physiologist) จากมหาวิทยาลัยฯ เพื่อนำเสนอผลงานวิจัย ปีละ 1,000 ปอนด์ตลอดระยะเวลาการศึกษา ปัจจุบันปฏิบัติงานที่ สาขาวิชาชีววิทยา สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี 111 ถนนมหาวิทยาลัย ตำบลสุรนารี อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา รหัสไปรษณีย์ 30000 มีประสบการณ์ในการวิจัยและผลงานทางวิชาการทางด้านสรีรวิทยาระบบสืบพันธุ์ที่ได้รับการตีพิมพ์ในช่วงปี 2543-2554 ผลงานฉบับเต็มในวารสารนานาชาติจำนวน 16 เรื่อง วารสารไทยจำนวน 3 เรื่อง และบทความย่อในวารสารระดับชาติ 5 เรื่องและวารสารระดับนานาชาติจำนวน 14 เรื่อง