รายงานการวิจัย

เรื่อง

ฤทธิ์ต่อการหดตัวของลำไส้เล็กส่วนปลายของหนูตะเภา ของส่วนสกัดจากเปลือกแห้งของต้นกันเกรา

(Effect of extracts from Gangrau dried wood on isolated guinea pig ileum)

โดย

เพียงเพ็ญ ธิโสดา
ปาจารีย์ ทองงอก

กลุ่มวิชาชีวเภสัชศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์
มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

ทุนอุดหนุนเพื่อการวิจัย สำนักงบประมาณ ประจำปี 2541

รหัสโครงการ 03008661 – 0002

ISBN 974 – 609 – 111 - 5

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้ทำการวิจัยใคร่ขอขอบคุณ อ. ภญ. สุดารัตน์ หอมหวน กลุ่มวิชาเภสัชเคมีและเทคโนโลยี ที่ได้ให้คำแนะนำด้านการตรวจสอบทางพฤกษเคมีเบื้องต้น คุณกรชนก บุญพอ นักวิทยาศาสตร์และคณะเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่ได้อำนวยความสะดวกและให้ความช่วยเหลือคณะผู้ทำการวิจัยตลอดระยะเวลาการวิจัย และขอขอบพระคุณทางคณะเภสัชศาสตร์ที่ได้เล็งเห็นความสำคัญของการวิจัยและได้อนุมัติให้ดำเนินทำการวิจัย ท้ายที่สุดคณะผู้ทำการวิจัยใคร่ขอขอบคุณสำนักงบประมาณ ที่ได้ให้การสนับสนุนเงินวิจัยหมวดอุดหนุนการวิจัย ประจำปีงบประมาณ 2541 ทำให้การดำเนินการวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

คณะผู้ทำการวิจัย

บทคัดย่อ

ฤทธิ์ต่อการหดตัวของลำไส้เล็กส่วนปลายของหนูตะเภาของส่วนสกัดจากเปลือกแห้งของต้นกันเกรา

เพียงเพ็ญ ธิโสดา* และ ปาจารีย์ ทองงอก *

กันเกรา (*Fagraea fragrans* Roxb.) เป็นต้นไม้ในวงศ์ Loganiaceae พบขึ้นมากในเขตจังหวัดอุบลราชธานี สรรพคุณใช้ต้มดื่มแก้ท้องเสีย การศึกษาครั้งนี้ได้ทำการเก็บเปลือกต้นกันเกรามาทำการสกัดด้วยน้ำโดยการต้มและหมักด้วย 85 % ethanol ได้ส่วนสกัดหยาบจากน้ำและเอทานอล แล้วนำมาศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็ก พบว่า ส่วนสกัดหยาบจากน้ำและเอทานอลที่ความเข้มข้นใน bathing solution เท่ากับ 170, 330, 670 และ 1330 μg/ml แสดงฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็กที่เกิดขึ้นเอง (0.36 gm, n = 24) ก่อนเติมส่วนสกัดลงไป อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.05$ โดยส่วนสกัดหยาบจากน้ำที่ความเข้มข้น 1330 μg/ml ใน bathing solution สามารถยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็กส่วน ileum ที่เกิดขึ้นเองได้มากที่สุด คือ 421.11 ± 206.07 % และเมื่อทำการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็กที่ถูกกระตุ้นด้วย ACh พบว่า ส่วนสกัดหยาบจากน้ำและเอทานอลที่ความเข้มข้น 400, 800, 1600 และ 3200 μg/ml ใน bathing solution แสดงฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็ก เท่ากับ 0.77 – 75.39 % อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ และผลที่ได้น้อยกว่า Atropine และ Papaverine ซึ่งเท่ากับ 97.88 – 124.62 % และ 61.15 – 83.08 % ตามลำดับ เมื่อตรวจสอบทางพฤกษเคมีเบื้องต้น พบว่า ส่วนสกัดหยาบจากเอทานอลของเปลือกต้นกันเกรา มีทั้ง condense tannin และ hydrolysable tannin และมีสารกลุ่มแอลคาลอยด์ แต่ไม่พบสารฟลาโวนอยด์

คำสำคัญ: กันเกรา, การหดตัว, ลำไส้เล็ก, หนูตะเภา

* กลุ่มวิชาชีวเภสัชศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

ABSTRACT

Effect of extracts from Gangrau dried wood on isolated guinea pig ileum

Piengpen Thisoda* and Pajaree Tongngok *

Gangrau (*Fagraea fragrans* Roxb.), which belong to the Family Loganiaceae, is commonly found in Ubon Ratchathaani province, Thailand. The bark of Gangrau was collected, because of its use as use an antidiarrhea in folk medicine, and the crude water and 85% ethanolic extracts were isolated. The crude water and 85% ethanolic extracts at the concentration of 170, 330, 670, and 1330 μg/ml of the bathing solution significantly inhibited the spontaneous contractility of the ileum (0.36 gm, n = 24) ($p < 0.05$). The maximum antispasmodic activity was 421.11 ± 206.07 %, which obtained from the crude water extracts at the concentration of 1330 μg/ml of the bathing solution. The crude water and ethanolic extracts, which the concentration in the bathing solution were 400, 800, 1600 and 3200 μg/ml, also exhibited the non-significant inhibitory effect on the ileum (0.77 –75.39 %). This antispasmodic activity was less than that inhibited by atropine and papaverine (97.88 – 124.62 % and 61.15 – 83.08 %, respectively). The phytochemical screening test revealed that the crude ethanolic extract had condense & hydrolysable tannin and alkaloid.

KEY WORDS: Gangrau, *Fagraea fragrans* Roxb., contraction, ileum, guinea pig

* Division of Biopharmacy, Faculty of Pharmaceutical Sciences,
Ubon Ratchathani University

สารบัญเรื่อง

(TABLE OF CONTENTS)

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	III
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	IV
สารบัญตาราง	V
สารบัญรูปภาพ	VI
บทนำ	1
ระเบียบวิธีวิจัย	3
ผลการวิจัย	17
วิจารณ์	25
สรุปและข้อเสนอแนะ	28
บรรณานุกรม	30
ภาคผนวก	32
ประวัตินักวิจัยและคณะ	41

สารบัญตาราง
(LIST OF TABLES)

หน้า

ตารางที่ 1 การแปลผลการทดสอบแทนนินและโพลีฟีนอล 13

ตารางที่ 2 ร้อยละการหดตัวของลำไส้เล็กส่วน ileum ต่อ 100 % DMSO ที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย ACh ความเข้มข้นต่างๆ 23

ตารางที่ 3 การตรวจสอบทางพฤกษเคมีเบื้องต้นของส่วนสกัดหยาบจากเอทานอลของเปลือกต้นกันเกรา 24

ตารางที่ 4 การยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็กส่วน ileum ที่เกิดขึ้นเองของส่วนสกัดหยาบจากน้ำความเข้มข้นต่างๆ 33

ตารางที่ 5 การยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็กส่วน ileum ที่เกิดขึ้นเองของส่วนสกัดหยาบจากเอทานอลความเข้มข้นต่างๆ 34

ตารางที่ 6 การหดตัวของลำไส้เล็กส่วน ileum ต่อ Acetylcholine ความเข้มข้นต่างๆ 35

ตารางที่ 7 การยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็กส่วน ileum ที่ถูกกระตุ้นด้วย Acetylcholine ที่ Submaximal dose ของส่วนสกัดหยาบจากน้ำความเข้มข้นต่างๆ 36

ตารางที่ 8 การยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็กส่วน ileum ที่ถูกกระตุ้นด้วย Acetylcholine ที่ Submaximal dose ของส่วนสกัดหยาบจากเอทานอลความเข้มข้นต่างๆ 37

ตารางที่ 9 การยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็กส่วน ileum ที่ถูกกระตุ้นด้วย Acetylcholine ที่ Submaximal dose ของ Atropine ความเข้มข้นต่างๆ 38

ตารางที่ 10 การยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็กส่วน ileum ที่ถูกกระตุ้นด้วย Acetylcholine ที่ Submaximal dose ของ Papaverine ความเข้มข้นต่างๆ 39

ตารางที่ 11 การหดตัวของลำไส้เล็กส่วน ileum ต่อ 100 % DMSO ที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย Acetylcholine ความเข้มข้นต่างๆ 40

สารบัญรูปภาพ
(LIST OF ILLUSTRATIONS)

หน้า

รูปที่ 1 ขั้นตอนวิธีการดำเนินการวิจัย 16

รูปที่ 2 ร้อยละการยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็กส่วน ileum ที่เกิดขึ้นเองของส่วนสกัดหยาบ จากน้ำและเอทานอลความเข้มข้นต่างๆ 18

รูปที่ 3 การหดตัวของลำไส้เล็กส่วน ileum ต่อ Acetylcholine ความเข้มข้นต่างๆ แบบ Log dose response curve 19

รูปที่ 4 ร้อยละการยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็กส่วน ileum ที่ถูกกระตุ้นด้วย ACh ที่ Submaximal dose ของส่วนสกัดหยาบจากน้ำและเอทานอลของเปลือกต้นกันเกราความเข้มข้นต่างๆ 21

รูปที่ 5 ร้อยละการยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็กส่วน ileum ที่ถูกกระตุ้นด้วย ACh ที่ Submaximal dose ของ Atropine และ Papaverine ความเข้มข้นต่างๆ 22

บทที่ 1
บทนำ
(INTRODUCTION)

กันเกรา (*Fagraea fragrans* Roxb.) วงศ์ Loganiaceae มีชื่อเรียกอื่นๆ ว่า ตำเสา ทำเสา เนียมฤาษี มันปลา หลุมปัง เป็นไม้ยืนต้นขนาดใหญ่ อาจสูงถึง 100 ฟุต ใบมีสีเขียวอ่อน รูปวงรี เรียงตรงข้าม ดอกมีสีครีมถึงเหลืองออกที่ปลายกิ่งและซอกใบตอนปลายกิ่ง ผลเป็นชนิดเบอร์รี่ ลักษณะกลม เริ่มแรกเป็นสีเหลือง แล้วจะเปลี่ยนเป็นสีแดงเลือดนกเมื่อแก่เต็มที่ รสขม เมล็ดในผลมีขนาดเล็กจำนวนมาก กันเกราเป็นไม้ที่ขึ้นอยู่ทั่วไปในป่าเบญจพรรณชื้น หรือบนพื้นที่ชื้นใกล้น้ำทางภาคเหนือ ตะวันออก ตะวันออกเฉียงเหนือ ตะวันออกเฉียงใต้ ภาคกลางและป่าดิบชื้นทางภาคใต้ไปจนถึงหมู่เกาะสุมาตรา เนื้อไม้แข็งแรง ทนทาน นิยมนำมาทำเสาเรือนและไม้กระดานปูพื้น (4, 12)

สรรพคุณในการใช้เป็นยารักษาโรค กล่าวว่า <u>แก่น</u> มีรสเฝื่อน ฝาด ขม แก้หืดไอ แก้ไข้จับสั่น (2) ท้องมาน ลงท้องเป็นมูกเลือด บำรุงม้าม เป็นยาอายุวัฒนะ <u>เปลือก</u> บำรุงโลหิต แก้ผิวหนังพุพอง (4) ส่วนในมาเลเซีย ใช้ใบและก้านต้มกินแก้บิด (dysentery) เปลือกต้มกินแก้ไข้มาเลเรีย (9)

จากการตรวจสอบทางพฤษเคมี สารเคมีที่พบ คือ Alkaloid ชื่อ Gentianine และ bitter glycoside ชื่อ Swertiamarin (9, 16) แยกได้จากใบและทำการพิสูจน์เอกลักษณ์โดยอาศัย NMR spectrum การทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาเพื่อยืนยันสรรพคุณในการรักษาโรค พบว่า ในปี 1974 Natarajan PN และคณะ (16) รายงานผลของ Gentanine ที่แยกจากใบกันเกราว่า ไม่มีฤทธิ์ต่อต้านเชื้อมาเลเรีย ชื่อ *Plasmodium berghei* และเชื้อก่อโรคบิด ชื่อ *Entamoeba invadens* แต่อย่างไรก็ตาม ได้มีการเสนอแนะว่า Swertiamarin ในใบกันเกราซึ่งมีสูตรโครงสร้างคล้ายกับ Gentiopieroside – Gentiopierin ซึ่งพบมากใน Gentian root (*Gentian lutea*, Gentianaceae) สารนี้ใช้เป็นส่วนผสมทำทิงเจอร์ ใช้ในยาพวก bitter tonic ดังนั้นอาจใช้ใบกันเกราแทนการนำเข้าจากต่างประเทศได้ (9) Hong LT และ Abdul RM (10) พบว่า methanolic extracts ของเนื้อไม้กันเกรา สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Pycnoporus sangnineus* และ *Schizophyllum commune* และเมื่อฉีดสารสกัดเมธานอล – น้ำ จากใบเข้าช่องท้องของหนูถีบจักร ขนาดมากกว่า 1 ก/กก พบว่า ทำให้สัตว์ทดลองตายครึ่งหนึ่ง (15) ส่วน lethal dose ของ Gentianine คือ 400 มก/กก (16)

กันเกราพบขึ้นมากในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เขตจังหวัดสุรินทร์และอุบลราชธานี (12) ประกอบกับกันเกราเป็นต้นไม้ที่พบมากในเขตมหาวิทยาลัยอุบลราชธานีและ

เป็นต้นไม้ประจำมหาวิทยาลัย และชาวบ้านในแถบนี้ได้มีการนำเปลือกและใบของต้นกันเกรามาต้มดื่มแก้อาการท้องเสีย (12) เนื้อไม้ต้มดื่มแทนน้ำแก้หอบหืด (17) มานานแล้ว และเนื่องจากได้มีการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในด้านการยับยั้งการเคลื่อนไหวของลำไส้ในหนูขาว (6) เพียงการศึกษาเดียว ซึ่งมีข้อจำกัดในด้านจำนวนและชนิดของสัตว์ทดลองที่ใช้ ทางคณะผู้ดำเนินการวิจัยจึงต้องการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อยืนยันฤทธิ์ดังกล่าว

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาฤทธิ์ของส่วนสกัดหยาบจากน้ำและเอทานอลของเปลือกต้นกันเกราต่อการหดตัวของลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภา
2. เพื่อตรวจสอบทางพฤกษเคมีเบื้องต้น ในการหาสารสำคัญ

บทที่ 2
ระเบียบวิธีวิจัย
(MATERIALS & METHODS)

1. สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1.1 สารเคมีในการเตรียมส่วนสกัดหยาบจากน้ำและเอทิลแอลกอฮอล์จากเปลือกต้นกันเกรา

1. 85% Ethanol
2. น้ำกลั่น (Purified water)

1.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดสอบ Spasmolytic activity assays

1. Acetylcholine chloride (Sigma)
2. Atropine (Sigma)
3. Papaverine hydrochloride (Sigma)
4. Tyrode's solution 100 ml ประกอบด้วย

NaCL	0.80	g
KCl	0.02	g
$CaCl_2$	0.02	g
Mg Cl_2	0.01	g
$NaHCO_3$	0.10	g
NaH_2PO_4	0.005	g
Glucose	0.10	g

เตรียม 1 วันก่อนการทดลองและเก็บไว้ที่ 4 ^{o}C จนกว่าจะเริ่มทำการทดลอง

5. 100 % DMSO
6. น้ำกลั่น (Purified water)

1.3 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง Phytochemical screening test

1. น้ำกลั่น (Purified water)
2. 10% NaCl
3. Gelatin solution
4. Gelatin salt solution

5. $FeCl_3$ T.S.
6. Bromine water
7. 5% HCl
8. Lime water
9. Concentrate NH_4OH
10. Chloroform
11. Dragendroff 's spray reagent
12. Mg-Ribbon
13. Octhyl alcohol
14. Absolute ethanol
15. 30% H_2SO_4
16. Methanol

2. อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

2.1 การสกัดส่วนสกัดหยาบจากน้ำและเอทานอลจากเปลือกต้นกันเกรา

1. ฆ้อนทุบ
2. หม้อขนาดใหญ่
3. ผ้าขาวบาง
4. เครื่องระเหยโดยการลดความดัน (Rotary evaporator)

2.2 การทดลอง Spasmolytic activity assays

1. ผ้าพลาสติกรองพื้น
2. กรรไกรและมีดผ่าตัด
3. ที่ตรึงหนูขาว
4. Petri - dish
5. โคมไฟสำหรับการผ่าตัดหนู
6. Oxygen
7. ชุด organ baht
8. Circulatory water bath
9. Force transducer (Biopac)
10. ชุดโปรแกรม Biopac Student Lab Pro และเครื่องไมโครคอมพิวเตอร์

2.3 การทดสอบ Phytochemical screening test

1. ถ้วยตวง (Beaker)
2. กระบอกตวง (Cylender)
3. หลอดทดลอง (Testube)
4. แท่งแก้วคน (Sterring rod)
5. กระดาษกรอง (Filter paper)
6. หลอดหยด (Dropper)
7. กระจกนาฬิกา (Water bath)
8. กระดาษทดสอบกรด-ด่าง (pH paper)
9. ขวดสกัดสาร (Separatory funnel)
10. กระจกนาฬิกา (Watch glass)
11. ชุด Spray

3 การเก็บเปลือกต้นกันเกรา

เลือกเก็บเปลือกจากต้นกันเกราที่โตเต็มที่ และมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่า 30 เซนติเมตร ภายในบริเวณรั้วของมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี โดยเริ่มเก็บในช่วงฤดูฝน ตั้งแต่เดือนมิถุนายนจนถึงเดือนกรกฎาคม เนื่องจากเปลือกจะอุ้มน้ำได้ดี และลอกเปลือกออกจากลำต้นได้ง่าย เปลือกที่ได้มีลักษณะแข็ง สีส้ม รสฝาดถึงขม นำมาตัดเอาส่วนที่ผุหรือเซลล์ตายแล้วออกไป หลังจากนั้นจึงล้างทำความสะอาด แล้วนำมาตากแดด จนแห้ง 4-5วัน เมื่อแห้งดีแล้ว นำมาเก็บใส่ถุงพลาสติกปิดปากถุงให้สนิทเพื่อป้องกันเชื้อราเกิดขึ้น

4 การสกัดส่วนสกัดหยาบจากเปลือกต้นกันเกรา

นำเปลือกต้นกันเกราที่แห้ง มาผึ่งแดดอีกครั้ง หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ขนาดประมาณ 0.5-1.0 นิ้ว ยาว 1-2 นิ้ว ชั่งน้ำหนัก แล้วจึงนำมาสกัด ดังนี้

4.1 การสกัดส่วนสกัดหยาบจากน้ำ

1. ชั่งเปลือกต้นกันเกราแห้งมา 1 กิโลกรัม ใส่ลงในหม้อต้ม เติมน้ำลงไปประมาณ 12,000 มล. พอท่วม
2. ต้มด้วยความร้อนอ่อนๆ 60 - 80 องศาเซลเซียส นานประมาณ 4 ชั่วโมง จนน้ำต้มเหลือประมาณ 1/2 ของปริมาตรเดิม จึงหยุดแล้วปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น
3. เทส่วนสกัดหยาบจากน้ำที่ได้ลงในบีกเกอร์ แล้วนำไประเหยแห้งด้วยวิธี Rotary evaporator จะได้ส่วนสกัดหยาบจากน้ำของเปลือกต้นกันเกราเป็นผงละเอียด แห้ง สีน้ำตาลเข้ม มีรสฝาดและขม ละลายน้ำได้ดีมาก
4. เก็บส่วนสกัดที่ได้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

4.2 การสกัดส่วนสกัดหยาบจากเอทานอล

1. นำเปลือกต้นกันเกราแห้ง 1 กิโลกรัม มาทุบพอแตก
2. แช่ลงใน 85% Ethanol ปริมาตร 12 ลิตร หมักไว้เป็นเวลา 1 สัปดาห์
3. กรองเอาส่วนที่เป็นของเหลวโดยใช้ผ้าขาวบาง
4. นำไประเหยแห้งด้วยวิธี Rotary evaporator จะได้ส่วนสกัดหยาบจากเอทานอล
5. เก็บส่วนสกัดที่ได้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

5 สัตว์ทดลอง

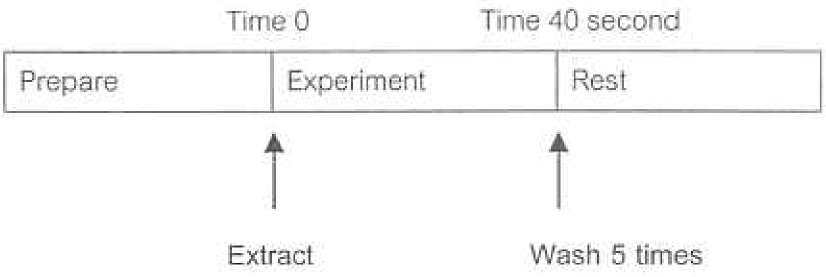
หนูตะเภา เพศผู้ น้ำหนัก 350 – 500 กรัม จากสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล โดยนำมาเลี้ยงในห้องทดลองที่อุณหภูมิ 22-24 องศาเซลเซียส ให้น้ำและอาหารอย่างเพียงพอ เป็นเวลา 1 สัปดาห์ก่อนการทดลอง เพื่อให้หนูปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมใหม่ได้

6 การเตรียมลำไส้เล็กส่วน ileum จากหนูตะเภา (1, 5, 7, 19, 21)

1. อดอาหารหนูอย่างน้อย 18 ชั่วโมง ก่อนการทดลอง แต่ให้ดื่มน้ำได้
2. ฆ่าหนูแล้วเปิดหน้าท้อง หาลำไส้ใหญ่ส่วนต้น (caecum)
3. ตัดลำไส้เล็กส่วน ileum ที่ติดกับลำไส้ใหญ่ส่วน caecum ขึ้นมา ยาวประมาณ 7 ซม.
4. นำมาใส่ในบีกเกอร์ หรือ petri-dish ที่มี Tyrode's solution ควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส พร้อม oxygen
5. ตัดลำไส้เล็กส่วน ileum นี้ออกเป็นชิ้น ยาวชิ้นละ 1 ซม. ผูกปลายทั้งสองข้างด้วยด้าย โดยด้านหนึ่งผูกไว้ภายใน organ bath ที่มี Tyrode's solution 30 มล. ควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส และให้ oxygen ตลอดการทดลอง ส่วนปลายอีกด้านหนึ่งผูกเข้ากับ Force transducer ซึ่งบันทึกข้อมูลโดยใช้โปรแกรม Biopac Lab Pro
6. เมื่อติดตั้งอุปกรณ์และลำไส้เล็กส่วน ileum เสร็จเรียบร้อยแล้ว ปล่อยให้ลำไส้เคลื่อนไหวโดยอิสระ จนกว่าลำไส้จะหดตัวสม่ำเสมอหรือใช้เวลาประมาณ 15 นาที จึงเริ่มทำการทดลอง โดยในระหว่างนี้ให้ทำการเปลี่ยน Tyrode's solution ทุกๆ 5 นาที

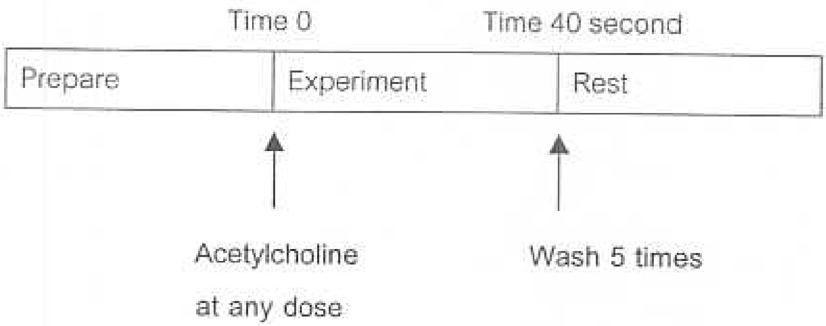
6. วิธีการทดลอง

6.1 การทดสอบผลยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็กส่วน ileum แบบ spontaneous contraction ส่วนสกัดหยาบจากน้ำและเอทานอลของเปลือกต้นกันเกรา



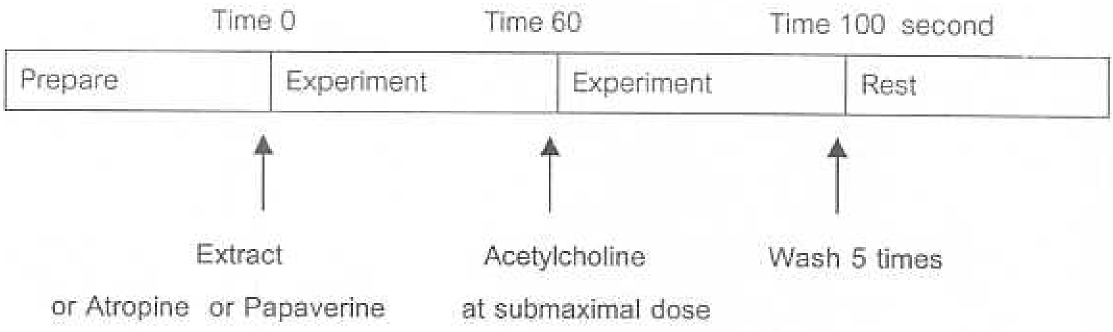
1. เติมสารละลายของส่วนสกัดหยาบจากน้ำที่ความเข้มข้น 200 mg/ml ปริมาตร 25 μl ลงใน organ bath
2. บันทึกการหดตัวของลำไส้เล็กเป็นเวลา 40 วินาที
3. ล้างลำไส้โดยการเปลี่ยนถ่าย Tyrode's solution ใน organ bath 5 ครั้ง
4. ปล่อยให้ลำไส้เล็กพักประมาณ 10 นาที หรือ จนกว่าการหดตัวกลับมาเป็นปกติ แล้วจึงทำการทดลองต่อ โดยเติมสารละลายของส่วนสกัดหยาบจากน้ำ ปริมาตร 50, 100 และ 200 μl ตามลำดับ บันทึกผลการทดลอง
5. ละลายส่วนสกัดหยาบจากเอทานอล โดยใช้ 100 % DMSO เป็นตัวทำละลายทำการทดลองเช่นเดียวกันนี้กับส่วนสกัดหยาบจากน้ำ
6. วิเคราะห์ผลการทดลอง

6.2 การทดสอบหา Dose response curve ของการหดตัวลำไส้เล็กต่อ Acetylcholine



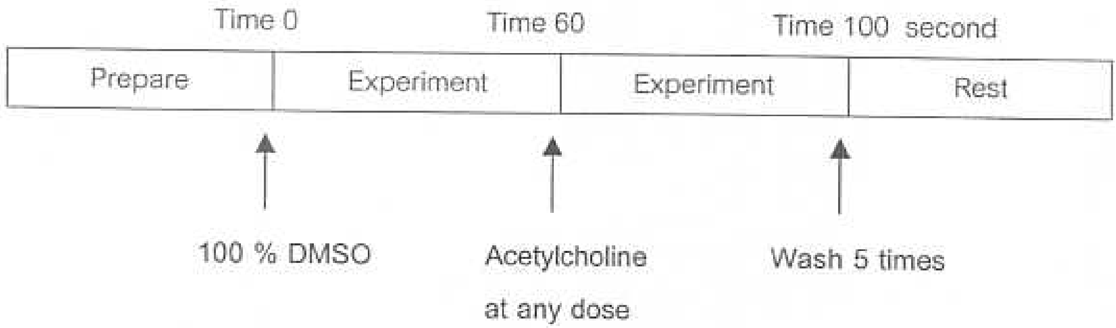
1. เติม Acetylcholine ที่ความเข้มข้น 0.26 μg/ml ปริมาตร 20 μl ลงใน organ bath
2. บันทึกการหดตัวของลำไส้เล็กเป็นเวลา 40 วินาที
3. ล้างลำไส้โดยการเปลี่ยนถ่าย Tyrode's solution ใน organ bath 5 ครั้ง
4. ปล่อยให้ลำไส้เล็กพักประมาณ 10 นาที หรือ จนกว่าการหดตัวกลับมาเป็นปกติ แล้วจึงทำการทดลองต่อ โดยเติม Acetylcholine ที่ความเข้มข้น 0.39, 0.59, 0.88, 1.32, 1.98, 2.96, 4.44, 6.67 และ 10.00 μg/ml ปริมาตร 20 μl ลงใน organ bath ตามลำดับ
5. ทำการทดลองเช่นเดียวกันนี้กับส่วนสกัดหยาบจากเอทานอล
6. วิเคราะห์ผลการทดลองที่ได้และเลือกขนาดความเข้มข้นของ Acetylcholine ที่เป็น Submaximal dose กำหนดให้การหดตัวของลำไส้เล็กที่ความเข้มข้นนี้เท่ากับ 100% response

6.3 การทดสอบผลการยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็กจากการกระตุ้นด้วย Acetylcholine ที่ Submaximal dose ส่วนสกัดหยาบจากน้ำและเอทานอลของเปลือกต้นกันเกราเปรียบเทียบกับ Atropine และ Papaverine



1. เติมสารต่อไปนี้ลงใน organ bath บันทึกการหดตัวของลำไส้เล็กเป็นเวลา 60 วินาที
   1.1 ส่วนสกัดหยาบจากน้ำที่ความเข้มข้น 200 mg/ml ปริมาตร 30, 60, 120, 240 หรือ 400 µl หรือ
   1.2 ส่วนสกัดหยาบจากเอทานอลที่ความเข้มข้น 200 mg/ml ปริมาตร 60, 120, 240 หรือ 400 µl หรือ
   1.3 Atropine ที่ความเข้มข้น 1.56, 3.13, 6.25, 12.50 หรือ 25.00 µg/ml ปริมาตร 200 µl หรือ
   1.4 Papaverine ที่ความเข้มข้น 1.56, 3.13, 6.25, 12.50 หรือ 25.00 µg/ml ปริมาตร 200 µl หรือ
2. เติม Acetylcholine ที่ Submaximal dose 20 µl ลงใน organ bath บันทึกการหดตัวของลำไส้เล็กเป็นเวลา 40 วินาที
3. ทำการล้างลำไส้โดยการเปลี่ยนถ่าย Tyrode's solution ใน organ bath 5 ครั้ง
4. ปล่อยให้ลำไส้เล็กพักประมาณ 10 นาที หรือ จนกว่าการหดตัวกลับมาเป็นปกติ แล้วจึงทำการทดลองต่อ
5. วิเคราะห์ผลการทดลองที่ได้ เปรียบเทียบการหดตัวของลำไส้เล็กกับ 100% response ที่ Submaximal dose ของ Acetylcholine

6.4 การทดสอบผลต่อการหดตัวของลำไส้เล็กของตัวทำละลาย 100% DMSO



1. เติม 100 % DMSO 20 µl ลงใน organ bath บันทึกการหดตัวของลำไส้เล็กเป็นเวลา 60 วินาที
2. เติม Acetylcholine ที่ความเข้มข้น 0.39, 0.88, 1.98, 4.44 หรือ 10 µg/ml ปริมาตร 20 µl ลงใน organ bath บันทึกการหดตัวของลำไส้เล็กเป็นเวลา 40 วินาที
3. ทำการล้างลำไส้โดยการเปลี่ยนถ่าย Tyrode's solution ใน organ bath 5 ครั้ง
4. ปล่อยให้ลำไส้เล็กพักประมาณ 10 นาที หรือ จนกว่าการหดตัวกลับมาเป็นปกติ แล้วจึงทำการทดลองต่อ
5. วิเคราะห์ผลการทดลอง

6.5 Phytochemical screening test (10)

ตรวจสอบหาสารกลุ่มแทนนิน, แอลคาลอยด์ และฟลาโวนอยด์ ดังนี้

1. <u>การตรวจสอบแทนนินและโพลีฟีนอล</u>

1) ใช้ส่วนสกัดจากต้นกันเกรา ในความเข้มข้น 1 g/ml ปริมาตร 7 ml

2) นำมาเติมน้ำกลั่นเท่าตัว และเติม 10% NaCl 3-4 หยด เพื่อตกตะกอน non-tannin

3) กรองสารละลาย

4) นำ Filtrate ที่ได้มาทดสอบโดยแบ่ง Filtrate ใส่หลอดทดลอง 6 หลอด หลอดละ 2 ml เพื่อทดสอบและแปลผลการทดสอบดังตาราง

หลอดที่ 1 Gelatin solution	โดยหยด Gelatin solution 2-3 หยด
	ผลบวก ได้ตะกอนขุ่นสีขาว
หลอดที่ 2 Gelatin salt solution	โดยหยด Gelatin salt solution 2-3 หยด
	ผลบวก ได้ตะกอนขุ่นขาว
หลอดที่ 3 $FeCl_3$ test	โดยหยด $FeCl_3$ T.S. 2-3 หยด
	ผลบวก ได้ตะกอนสีน้ำเงินหรือเขียว
หลอดที่ 4 Bromine water test	โดยหยด Bromine water 5-6 หยด
	ผลบวก ได้ตะกอนเบาสีอ่อน
หลอดที่ 5 Lime-water	โดยหยด Lime water 5 ml
	ผลบวก ได้ตะกอนสีเหลืองน้ำเงินเทา
หลอดที่ 6 Control	

ตารางที่ 1 การแปลผลการทดสอบแทนนินและโพลีฟีนอล

ผลทดสอบ	Gelatin solution	Gelatin salt solution	1% $FeCl_3$ solution	Bromine-water	Lime water
ไม่มีแทนนิน, ไม่มี Polyphenol	-	-	-		
Condensed tannin	+	+	สีเขียว	+	-
Hydrolysable tannin	+	+	สีน้ำเงินดำ	-	+
มีแทนนินทั้งสองประเภท	+	+	สีน้ำเงินอมเขียว	+	+
ไม่มีแทนนิน, มีPolyphenol	-	-	สีน้ำเงินหรือเขียวหรือผสมของทั้งสอง		

2. การตรวจสอบแอลคาลอยด์

1) นำส่วนสกัดหยาบจากเปลือกต้นกันเกรา 25 กรัม เติม 5%HCl ปริมาตร 10 ml
2) ทำสารละลายให้เป็นด่างด้วย conc.NH_4OH โดยทดสอบด้วย pH paper
3) นำมาสกัดด้วย 10 ml Chloroform 2 ครั้ง
4) ชั้นน้ำทิ้งไป นำส่วนที่เป็นชั้น Chloroform มาระเหยแห้งบน water bath แล้วหยด Chloroform ลงไปด้วย 4-5 หยด
5) หยดสารละลายลงบนกระดาษกรอง แล้วพ่นด้วย Dragendroff's spray reagent
6) สังเกตและแปลผลการทดลอง : ผลบวกได้สีส้ม

3. การตรวจสอบ Flavonoids โดยวิธี **Shinoda test**

1) ใช้ส่วนสกัดจากเปลือกต้นกันเกราความเข้มข้น 1g/1ml ปริมาตร 1 ml
2) ใส่ Mg-Ribbon 3-4 อัน และเติม HCl ปริมาตร 1 ml / ผลบวกได้สีส้มแดง
3) ทำสารละลายให้เย็นลง แล้วเจือจางด้วยน้ำปริมาตรเท่าตัว
4) เติม Octhyl alcohol ปริมาตร 1 ml
5) เขย่าสารละลาย ตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น สังเกตสีของสารละลายในแต่ละชั้น
6) แปลผลการทดลอง

สีแดงอยู่ในชั้น Octhyl alcohol ⟶ flavonoid อยู่ในรูป aglycone

สีแดงอยู่ในชั้นน้ำ ⟶ flavonoid อยู่ในรูป glycone

เลขหมู่..........
เลขทะเบียน..........
วัน/เดือน/ปี..........

7. การวิเคราะห์ข้อมูล

ผลการหดตัวของลำไส้เล็กแสดงค่าเป็นร้อยละของการตอบสนอง

$$= \frac{(\text{control} - \text{response}) \times 100}{\text{control}}$$

Control = การตอบสนองต่อ submaximal response

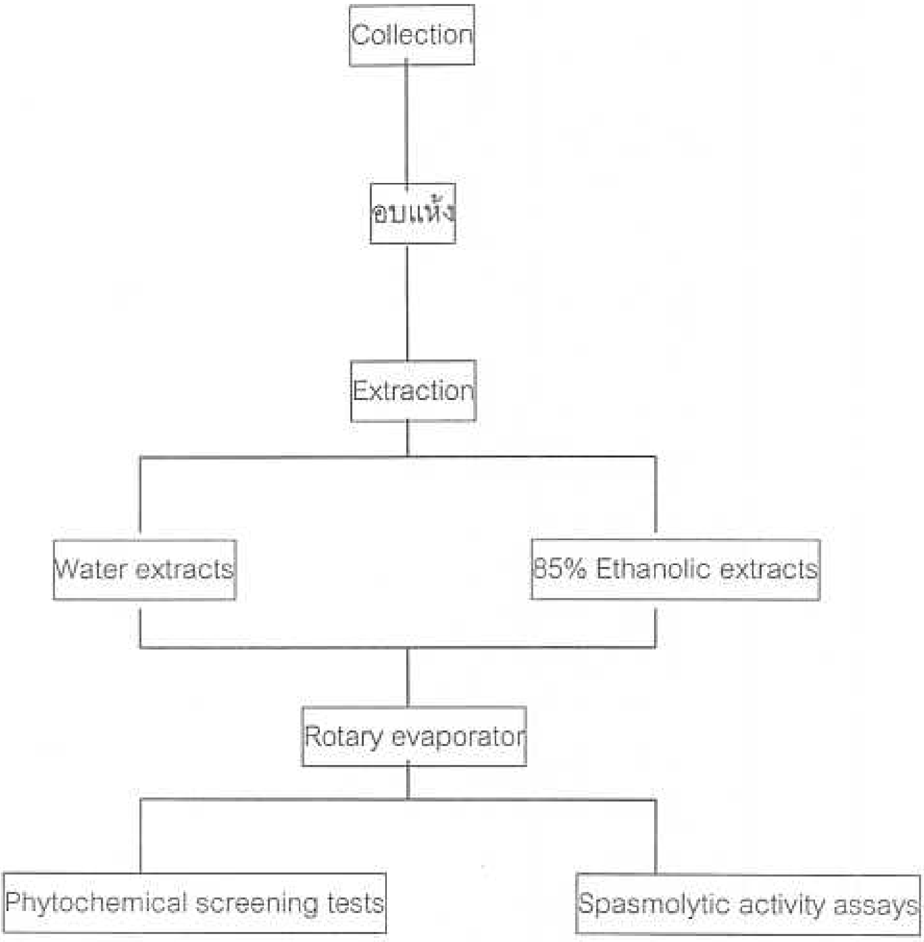
แสดงผลในรูป mean ± SEM ทำการทดสอบการกระจายของข้อมูลโดยใช้สถิติ Kolmogorov – Smirnov test ว่ามีการกระจายแบบปกติหรือไม่ (Normal distribution) จากนั้นจึงเปรียบเทียบผลการทดลองที่ได้ในแต่ละกลุ่ม โดย

ข้อมูลท้องถิ่น

1. ข้อมูลกระจายแบบปกติ
   1.1 ข้อมูล 2 กลุ่ม ใช้ Unpaired t - test
   1.2 ข้อมูลมากกว่า 2 กลุ่ม ใช้ Single – factor analysis of variance (ANOVA)
2. ข้อมูลไม่กระจายแบบปกติ
   2.1 ข้อมูล 2 กลุ่ม ใช้ Mann – Whitney two – tailed test
   2.2 ข้อมูลมากกว่า 2 กลุ่ม ใช้ Kruskal – Wallis test

โดยกำหนดระดับความเชื่อมั่น เท่ากับ 95% หรือ $p < 0.05$

ใช้เฉพาะใน
ศูนย์ข้อมูลท้องถิ่นเท่านั้น



รูปที่ 1 ขั้นตอนวิธีการดำเนินการวิจัย

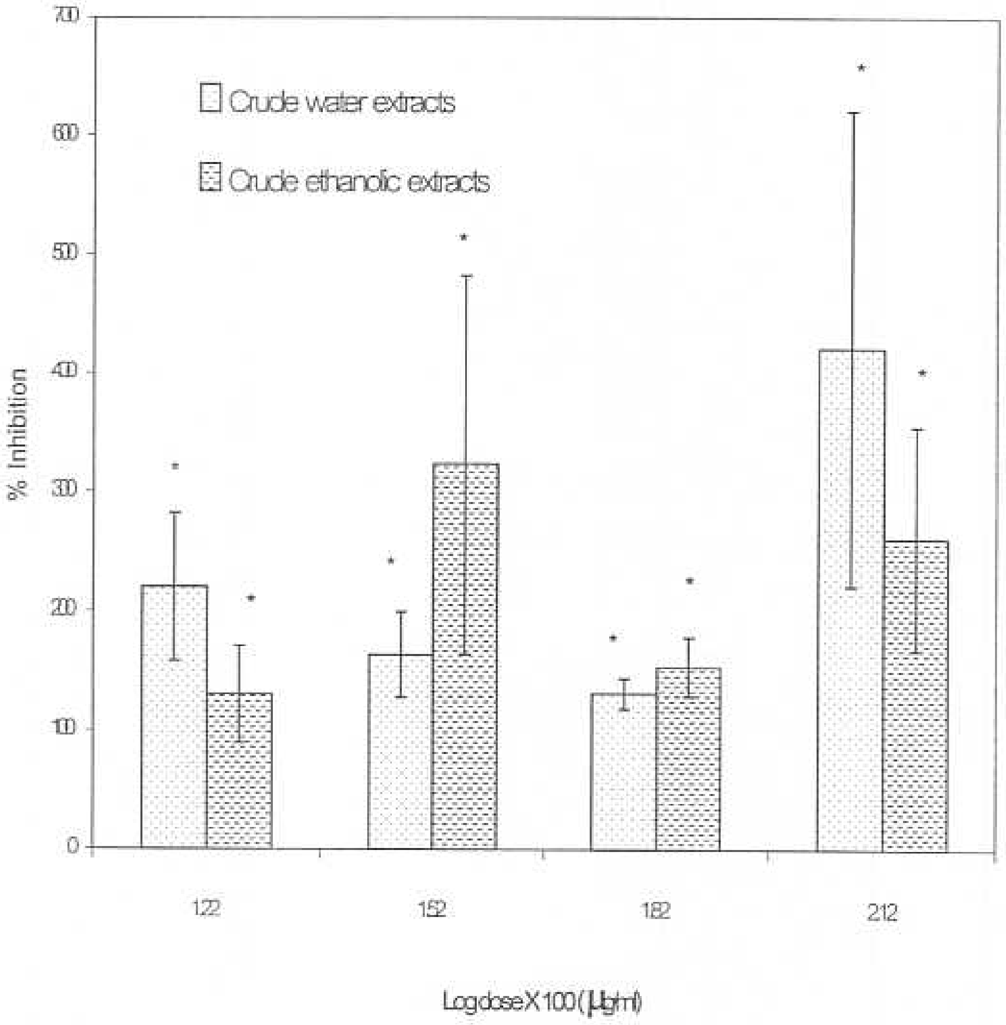
บทที่ 3
ผลการวิจัย
(RESULTS)

1. **การทดสอบผลยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็กส่วน** ileum **แบบ** spontaneous contraction **ส่วนสกัดหยาบจากน้ำและเอทานอลของเปลือกต้นกันเกรา**

จากการทดลองโดยเติมส่วนสกัดหยาบจากน้ำและเอทานอลของเปลือกต้นกันเกราที่ความเข้มข้นใน bathing solution เท่ากับ 170, 330, 670 และ 1330 μg/ml หรือค่า Log dose X 100 เท่ากับ 1.22, 1.52, 1.82 และ 2.12 μg/ml ตามลำดับ ลงใน organ bath ที่มีลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภาที่แยกออกมานอกลำตัว จากนั้นสังเกตผลการหดตัวที่เกิดขึ้นเอง (Spontaneous contraction) ของลำไส้ก่อนและหลังการทดลอง พบว่า ทั้งส่วนสกัดหยาบจากน้ำของเปลือกต้นกันเกราทั้ง 4 ความเข้มข้น แสดงฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็กที่เกิดขึ้นเอง (0.36 gm, n = 24) ก่อนเติมส่วนสกัดลงไป อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.05$ โดยส่วนสกัดหยาบจากน้ำที่ความเข้มข้น 1330 μg/ml ใน bathing solution สามารถยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็กส่วน ileum ที่เกิดขึ้นเองได้มากที่สุด คือ 421.11 ± 206.07 % และความสามารถในการยับยั้งการหดตัวเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของส่วนสกัดที่เพิ่มขึ้น (Dose response) อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ดังรูปที่ 2

ส่วนสกัดหยาบจากเอทานอลแสดงฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็กที่เกิดขึ้นเองเช่นเดียวกับที่พบในส่วนสกัดหยาบจากน้ำ โดยสามารถยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็กส่วน ileum เท่ากับ 130.00 ± 40.97, 323.33 ± 159.28, 153.00 ± 24.83 และ 261.00 ± 93.89 % ที่ความเข้มข้น 170, 330, 670 และ 1330 μg/ml ใน bathing solution ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับแรงหดตัวของลำไส้ (0.20 gm, n = 22) ก่อนเติมส่วนสกัดหยาบจากเอทานอล อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.05$ และความสามารถในการยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็กแต่ละความเข้มข้นไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็กที่เกิดขึ้นเองระหว่างส่วนสกัดหยาบทั้งสอง พบว่า ส่วนสกัดหยาบจากน้ำสามารถยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็กส่วน ileum ที่เกิดขึ้นเองได้มากกว่าส่วนสกัดหยาบจากเอทานอลที่ความเข้มข้นเท่ากัน คือ 170 และ 1330 μg/ml ใน bathing solution แต่อย่างไรก็ตามที่ความเข้มข้น 330 และ 670 μg/ml ใน bathing solution ส่วนสกัดหยาบจากเอทานอลสามารถยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็กส่วน ileum ที่เกิดขึ้นเองได้มากกว่าส่วนสกัดหยาบจากน้ำ แต่ความแตกต่างนี้ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

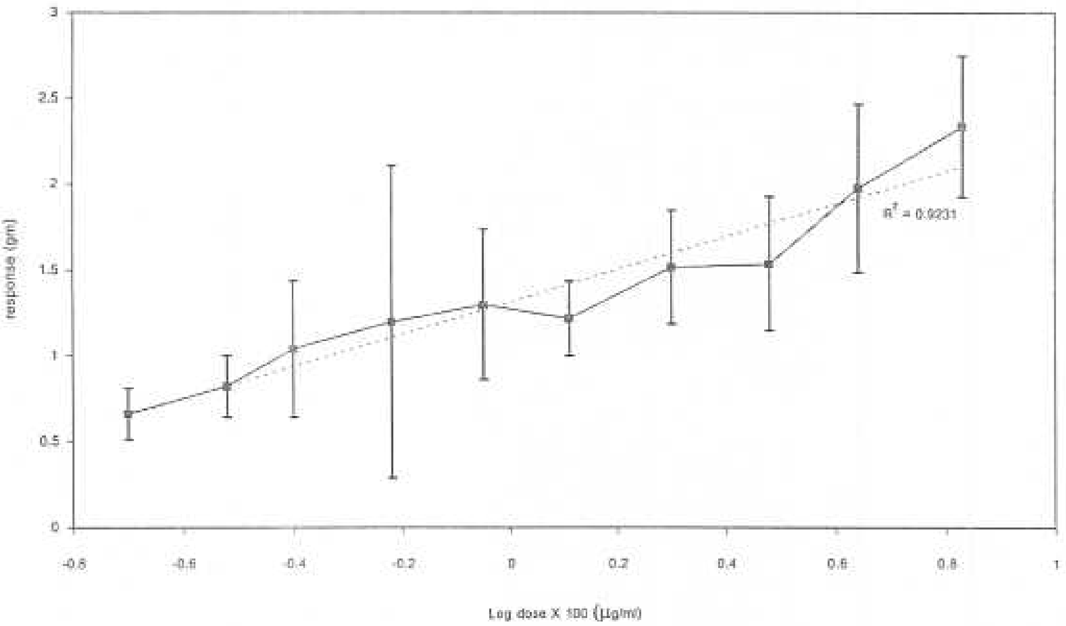


รูปที่ 2 ร้อยละการยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็กส่วน ileum ที่เกิดขึ้นเองของส่วนสกัดหยาบจากน้ำและเอทานอลความเข้มข้นต่างๆ

* แตกต่างจากแรงหดตัวที่เกิดขึ้นเองก่อนการทดลอง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.05$

2. การทดสอบหา Dose response curve **ของการหดตัวลำไส้เล็กต่อ** Acetylcholine

การหดตัวของลำไส้เล็กเมื่อได้รับการกระตุ้นด้วยสารกระตุ้น คือ Acetylcholine ที่ความเข้มข้น 0.002, 0.003, 0.004, 0.006, 0.009, 0.013, 0.020, 0.030, 0.044 และ 0.067 μg/ml ใน bathing solution หรือค่า Log dose X 100 เท่ากับ -0.80, -0.60, -0.40, -0.20, 0.00, 0.20, 0.40, 0.60 และ 0.80 μg/ml ตามลำดับ เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ Ach ที่เพิ่มขึ้น แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$ ดังแสดงในรูปที่ 3 โดยแรงหดตัวต่ำสุดคือ 0.66 ± 0.15 gm เกิดจากการกระตุ้นด้วย Acetylcholine ความเข้มข้น 0.002 μg/ml ใน bathing solution และแรงหดตัวสูงสุดตอบสนองต่อ Acetylcholine ที่ความเข้มข้น 0.067 μg/ml ใน bathing solution ให้แรงหดตัวเท่ากับ 2.34 ± 0.41 gm จากนั้นได้กำหนดให้แรงหดตัวที่เท่ากับ 1.04 ± 0.40 gm คือ 100 % response หรือ Control ซึ่งตอบสนองต่อ Acetylcholine ที่ Submaximal dose เท่ากับ 0.004 μg/ml ใน bathing solution เพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไป



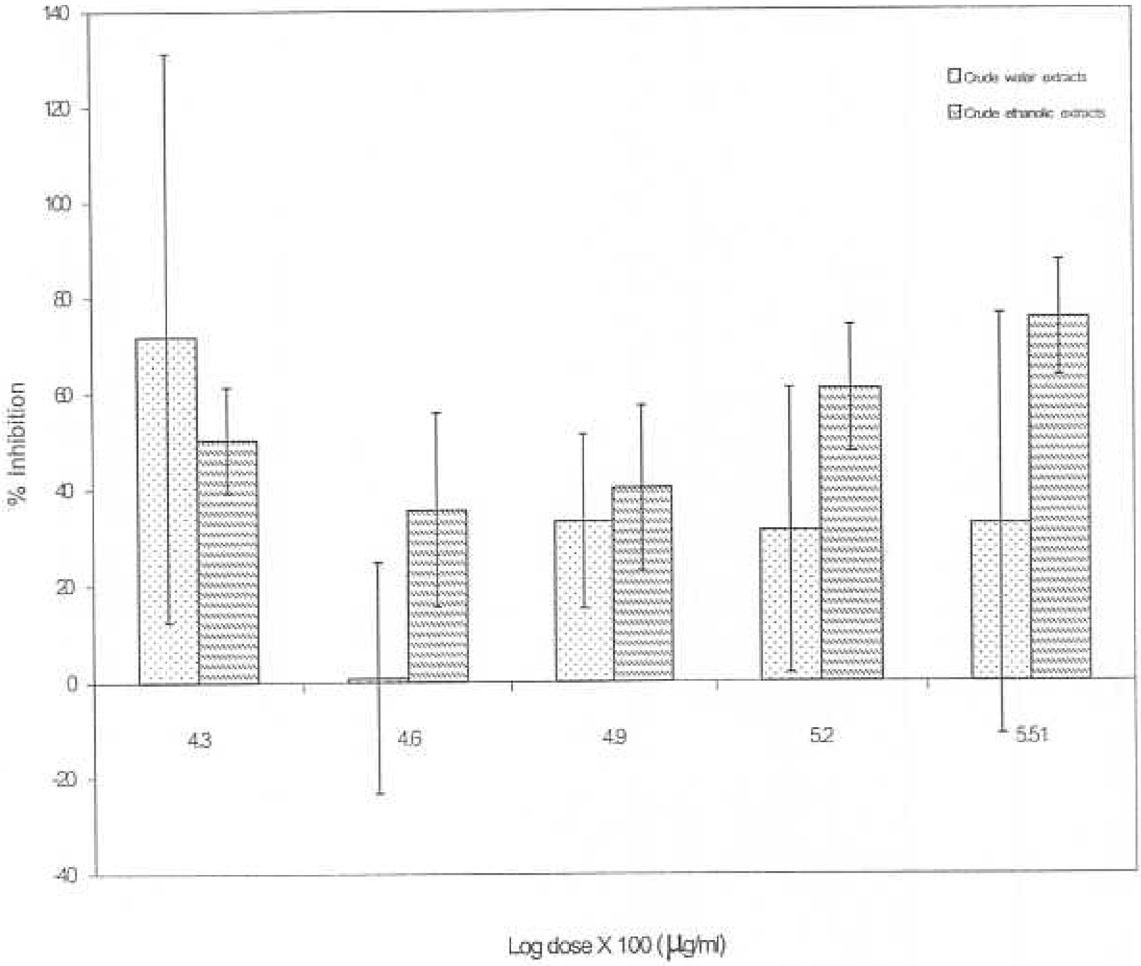
รูปที่ 3 การหดตัวของลำไส้เล็กส่วน ileum ต่อ Acetylcholine ความเข้มข้นต่างๆ แบบ Log dose response curve

3. **การทดสอบผลการยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็กจากการกระตุ้นด้วย Acetylcholine ที่ Submaximal dose ส่วนสกัดหยาบจากน้ำและเอทานอลของเปลือกต้นกันเกราเปรียบเทียบกับ Atropine และ Papaverine**

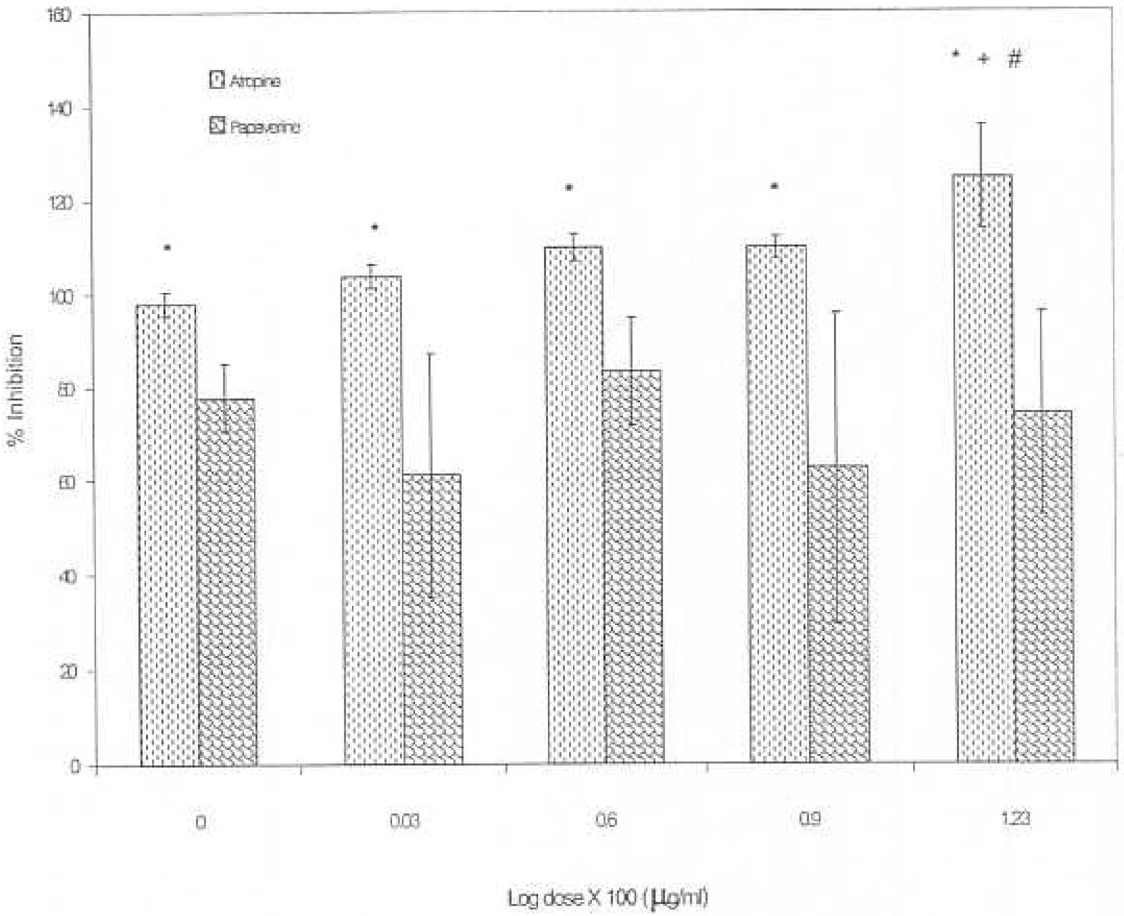
จากการทดลองเติมส่วนสกัดหยาบจากน้ำหรือจากเอทานอล หรือ Standard antispasmogen คือ Atropine และ Papaverine ความเข้มข้นต่างๆ ลงใน organ bath ที่มีลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภา เป็นเวลา 60 วินาที แล้วจึงกระตุ้นการหดตัวของลำไส้ด้วย ACh ที่ Submaximal dose ซึ่งเท่ากับ 0.004 µg/ml ใน bathing solution เป็นเวลา 40 วินาที บันทึกผลการยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็กเปรียบเทียบกับการตอบสนองต่อ ACh ที่ Submaximal dose ซึ่งเท่ากับ 1.04 gm เป็น **100 % response** พบว่า

ส่วนสกัดหยาบจากน้ำและเอทานอลแสดงฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็กที่ถูกกระตุ้นด้วย ACh อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับแรงหดตัวที่เกิดขึ้นเองก่อนการทดลอง โดยที่ความเข้มข้น 400, 800, 1600 และ 3200 µg/ml ใน bathing solution หรือค่า Log dose X 100 เท่ากับ 4.60, 4.90, 5.20 และ 5.51 µg/ml ตามลำดับ ส่วนสกัดหยาบจากน้ำยับยั้งการหดตัว เท่ากับ 0.77 ± 24.02, 33.27 ± 18.07, 31.34 ± 29.65 และ 32.69 ± 43.70 % ตามลำดับ และส่วนสกัดหยาบจากเอทานอล เท่ากับ 35.69 ± 20.16, 40.19 ± 17.16, 60.77 ± 13.29 และ 75.39 ± 11.89 % และที่ความเข้มข้น 200 µg/ml ใน bathing solution ส่วนสกัดหยาบจากน้ำแสดงฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็กที่ถูกกระตุ้นด้วย ACh ดีกว่าส่วนสกัดหยาบอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ คือ เท่ากับ 71.92 ± 59.36 % และ 50.38 ± 11.01 % ตามลำดับ ดังรูปที่ 4

ฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็กที่ถูกกระตุ้นด้วย ACh ของ Atropine ที่ความเข้มข้น 0.01, 0.02, 0.04, 0.08 และ 0.17 µg/ml ใน bathing solution หรือค่า Log dose X 100 เท่ากับ 0.00, 0.03, 0.60, 0.90 และ 1.23 µg/ml ตามลำดับ มีลักษณะเป็น dose response โดยมีค่าตั้งแต่ 97.88 – 124.62 % และแตกต่างจากแรงหดตัวที่เกิดขึ้นเองก่อนการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังรูปที่ 5 นอกจากนี้ Atropine ที่ความเข้มข้น 0.17 µg/ml ใน bathing solution แสดงฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็กมากกว่าที่ความเข้มข้น 0.01 และ 0.02 µg/ml ใน bathing solution อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในขณะที่ฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็กของ Papaverine ที่ความเข้มข้นเดียวกันนี้ ไม่มีลักษณะของ dose response และไม่แตกต่างจากแรงหดตัวที่เกิดขึ้นเองก่อนการทดลอง โดยมีค่าเท่ากับ 77.69 ± 7.34, 61.15 ± 25.95, 83.08 ± 11.58, 62.69 ± 32.92 และ 74.23 ± 21.63 % ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบกับฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็กของสารทั้งสอง พบว่า Atropine มีฤทธิ์มากกว่า Papaverine อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ



รูปที่ 4 ร้อยละการยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็กส่วน ileum ที่ถูกกระตุ้นด้วย ACh ที่ Submaximal dose ของส่วนสกัดหยาบจากน้ำและเอทานอลของเปลือกต้นกันเกรา ความเข้มข้นต่างๆ



รูปที่ 5 ร้อยละการยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็กส่วน ileum ที่ถูกกระตุ้นด้วย ACh ที่ Submaximal dose ของ Atropine และ Papaverine ความเข้มข้นต่างๆ

* แตกต่างจากแรงหดตัวที่เกิดขึ้นเองก่อนการทดลอง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.05$

\+ แตกต่างจากค่าที่ความเข้มข้นใน bathing solution เท่ากับ 0.01 μg/ml (Log dose X 100 = 0.00) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.05$

\# แตกต่างจากค่าที่ความเข้มข้นใน bathing solution เท่ากับ 0.02 μg/ml (Log dose X 100 = 0.03) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.05$

4. การทดสอบผลต่อการหดตัวของลำไส้เล็กของตัวทำละลาย 100% DMSO

ทดสอบผลของตัวทำละลายของส่วนสกัดหยาบจากเอทานอล คือ 100 % DMSO ต่อการหดตัวของลำไส้เล็กส่วน ileum โดยเติม 20 µl ของ 100 % DMSO ลงใน organ bath เป็นเวลา 60 วินาที แล้วจึงเติม Acetylcholine ที่ความเข้มข้น 0.39, 0.88, 1.98, 4.44 หรือ 10 µg/ml ปริมาตร 20 µl บันทึกการหดตัวของลำไส้เล็กเป็นเวลา 40 วินาที เปรียบเทียบผลการหดตัวที่ได้กับการหดตัว (100%) ที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย ACh ที่แต่ละความเข้มข้น พบว่า 100 % DMSO มีฤทธิ์เพิ่มการหดตัวของลำไส้เล็กต่อการกระตุ้นของ ACh เท่ากับ 9.17 – 55.19 % อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ร้อยละการหดตัวของลำไส้เล็กส่วน ileum ต่อ 100 % DMSO ที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย ACh ความเข้มข้นต่างๆ

Initial dose of Ach (µg/ml)	Volume (µl)	Dose in bathing solution (µg/ml)	Dose X 100	Log dose X 100 (µg/ml)	% Contraction mean±SEM
0.39	200	0.003	0.30	-0.52	116.59 ± 24.11
0.88	200	0.006	0.60	-0.22	109.17 ± 16.88
1.98	200	0.013	1.30	0.11	143.28 ± 33.91
4.44	200	0.030	3.00	0.48	155.19 ± 24.77
10.00	200	0.670	6.70	0.83	103.08 ± 11.41

5. **การตรวจสอบทางพฤกษเคมีเบื้องต้น** (Phytochemical screening test)

เนื่องจากส่วนสกัดหยาบเอทานอลของเปลือกต้นกันเกราแสดงฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็กส่วน ileum ได้ดีกว่าส่วนสกัดหยาบจากน้ำอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ จึงได้ทำการตรวจสอบทางพฤกษเคมีเบื้องต้นของส่วนสกัดดังกล่าว พบว่าส่วนสกัดหยาบจากเอทานอลของเปลือกต้นกันเกรา มีทั้ง condense tannin และ hydrolysable tannin โดยสามารถให้ผลบวกกับ Gelatin solution, Gelatin salt solution, $FeCl_3$ test, Bromine water test และ Lime water test และมีสารกลุ่มแอลคาลอยด์ เนื่องจากสามารถให้ผลบวกกับ Dragendroff's spray reagent ได้สีส้ม แต่ไม่พบสารฟลาโวนอยด์ ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 การตรวจสอบทางพฤกษเคมีเบื้องต้นของส่วนสกัดหยาบจากเอทานอลของเปลือกต้นกันเกรา

การทดสอบ	ผลการทดสอบ	แปลผลการทดสอบ
1. การทดสอบแทนนิน		
1.1 Gelatin solution	เกิดตะกอนขุ่นขาว	มีทั้ง condense tannin และ hydrolysable tannin
1.2 Gelatin salt solution	เกิดตะกอนขุ่นขาว	
1.3 $FeCl_3$ test	สารละลายเป็นสีดำ	
1.4 Bromine water test	ตะกอนเบาสีน้ำตาลอ่อน	
1.5 Lime-water	ตะกอนสีเหลืองอมเทา	
1.6 Control	สารละลายใสสีเหลืองอ่อน	
2. การทดสอบแอลคาลอยด์		
- Dragendroff's spray reagent	สีส้ม	มี alkaloid
3. การทดสอบฟลาโวนอยด์		
- Shinoda test	สีเหลืองอ่อน	ไม่พบ flavonoid

บทที่ 4
วิจารณ์
(DISCUSSION)

จากการศึกษาฤทธิ์ของส่วนสกัดหยาบจากน้ำและเอทานอลของเปลือกต้นกันเกราต่อการหดตัวของลำไส้ส่วน ileum ของหนูตะเภาที่แยกออกมานอกลำตัว พบว่าทั้งส่วนสกัดหยาบจากน้ำและเอทานอล แสดงฤทธิ์ยับยั้งต่อการหดตัวของลำไส้ส่วน ileum ที่เกิดขึ้นเองของหนูตะเภาที่แยกออกมานอกลำตัว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.05$ คือเท่ากับ 130.00 – 421.11 % แต่ยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็กที่ถูกกระตุ้นด้วย ACh ที่ Submaximal dose เท่ากับ 0.77 – 75.39 % อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ และฤทธิ์นี้น้อยกว่าผลยับยั้งที่ได้จาก Atropine และ Papaverine ที่ความเข้มข้น 0.01, 0.02, 0.04, 0.08 และ 0.17 μg/ml ซึ่งน้อยกว่าความเข้มข้นของส่วนสกัดหยาบทั้งสอง ผลที่ได้เท่ากับ 97.88 – 124.62 % และ 61.15 – 83.08 % ตามลำดับ ซึ่งสามารถอธิบายได้ดังนี้

1. ผลยับยั้งการหดตัวของลำไส้คล้ายกับผลที่ได้จากการศึกษาของโพยม เสนอินทร์ และคณะ (6) ที่ศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของส่วนสกัดจากเปลือกต้นกันเกรา (*Fragrea fragran*) ในชั้นน้ำต่อการบีบตัวของกล้ามเนื้อลำไส้เล็กส่วนปลาย (ileum) ของหนูขาวที่แยกออกมานอกลำตัว พบว่า ส่วนสกัดที่ขนาด 1.87 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ทำให้ maximum contractions ของกล้ามเนื้อลำไส้ส่วนปลายของหนูขาวที่ถูกกระตุ้นด้วย acetylcholine (15.62 mg/ml), histamine (6.2 mg/ml), serotonin (0.12 mg/ml) และ barium chloride (3126.7 mg/ml) ลดลง แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ แต่อย่างไรก็ตามชนิดและจำนวนของสัตว์ทดลอง วิธีการสกัดส่วนสกัดหยาบและความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบแตกต่างกัน
2. ในสภาวะปกติระบบการควบคุมการหดตัวของลำไส้ที่เกิดขึ้นเอง (spontaneous contractility) เป็นผลรวมจากการผสมผสาน หรือ intergration จากปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ สาร neurocrine จากระบบประสาท endocrine ในกระแสเลือดและ paracrine จากผนังทางเดินอาหารเอง แต่ในการทำการทดลองได้ทำการแยกลำไส้เล็กส่วน ileum ซึ่งเป็นส่วนที่มีบทบาทต่อการเกิดอาการท้องเสียออกมาศึกษานอกลำตัว ทำให้ระบบการควบคุมจากระบบประสาท Extrinsic nerve ได้แก่ Sympathetic และ Parasympathetic nervous system ถูกตัดออกไปเหลือเพียงส่วน Intrinsic nerve คือ Enteric nervous system ซึ่งมีเซลล์ประสาทมากมายกระจายอยู่ในผนังทางเดินอาหารถึง 80 – 100 ล้านเซลล์ และใช้สารสื่อประสาทมากมาย ได้แก่

Acetylcholine, norepinephine, serotonine, dopamine, nitric oxide, GABA, enkephalines และเปปไทด์ต่าง ๆ เช่น VIP, substance P, calcitonin gene-related polypeptide (CGRP) เป็นต้น (3, 8) ดังนั้นการที่ส่วนสกัดหยาบจากน้ำและเอทานอลที่สามารถยับยั้งการหดตัวของลำไส้ได้นั้น อาจเกิดจากการไป block ที่ receptor ของสารสื่อประสาทตัวใดตัวหนึ่งหรืออาจจะหลายตัวร่วมกันที่มีอยู่ในผนังทางเดินอาหาร คือมี non-specific spasmolytic activity เนื่องจากส่วนสกัดหยาบที่ได้ยังไม่ได้ทำการแยกสารตัวใดตัวหนึ่งออกมา ผลยับยั้งการหดตัวจึงเป็นผลรวมที่ได้จากสารสำคัญหลายตัวร่วมกัน

3. ภายหลังการกระตุ้นการหดตัวของลำไส้ด้วย spasmogen คือ Acetylcholine พบว่า ฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็กของส่วนสกัดหยาบทั้งสองลดลงจากฤทธิ์ที่ได้เมื่อลำไส้เกิดการหดตัวเอง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ไม่ได้ออกฤทธิ์เฉพาะที่ muscarinic receptor ซึ่งเป็น receptor ของ ACh เท่านั้น แต่ออกฤทธิ์ผ่านกลไกอื่นด้วย เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์กับ Atropine ซึ่งมีฤทธิ์เป็น antimuscarinic receptor ชนิด non-selective muscarinic receptor antagonist โดยจะเห็นว่าจากการทดลอง Atropine แสดงฤทธิ์ต้านการกระตุ้นของ Acetylcholine ได้เป็นอย่างดีและมีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจาก Atropine เป็นสารปิดกั้น muscarinic receptors เป็นสารประกอบซึ่งมีฤทธิ์หักล้างผลการกระตุ้น muscarinic receptors ของ acetylcholine โดย atropine จะออกฤทธิ์โดยแย่งจับกับ muscarinic receptors ทำให้ Acetylcholine และ muscarinic agonist อื่น ๆ ไม่สามารถจับกับ receptor ได้ มีผลให้ลดทั้ง tone และ motility ของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้ (3, 8, 13, 18, 22)
4. เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์กับ Papaverine ซึ่งเป็น alkaloid กลุ่ม benzylisoquinolines มีฤทธิ์ยับยั้ง phosphodiesterase ทำให้กล้ามเนื้อเรียบคลายตัว โดยเฉพาะในหลอดเลือด (13, 18, 22) จากผลการทดลองจะเห็นว่า ฤทธิ์ยับยั้งการเคลื่อนไหวของลำไส้จะน้อยกว่าของ Atropine ที่ความเข้มข้นเท่ากัน แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งนี้เนื่องจากกลไกการออกฤทธิ์ต่างกัน
5. 100 % DMSO มีผลกระตุ้นการหดตัวของลำไส้เล็ก อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ผลที่ได้จากการศึกษาของ กัลยา อนุลักขณาปกรณ์และคณะ (10) ไม่พบฤทธิ์กระตุ้นการหดตัวของลำไส้เล็กเช่นกัน แต่อย่างไรก็ตาม ผลของ 100 % DMSO ที่ได้จากการวิจัยครั้งนี้ อาจไปรบกวนฤทธิ์ในการยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็กของส่วนสกัด

หยาบจากเอทานอล ทำให้ฤทธิ์ในการยับยั้งมีค่าน้อยกว่าที่ควรจะเป็น โดย 100 % DMSO อาจทำปฏิกิริยากับ paracrine ตัวอื่นๆ ส่งผลให้การหดตัวเพิ่มขึ้น

6. เนื่องจากส่วนสกัดหยาบเอทานอลของเปลือกต้นกันเกราแสดงฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็กส่วน ileum ได้ดีกว่าส่วนสกัดหยาบจากน้ำอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ จึงได้ทำการตรวจสอบทางพฤกษเคมีเบื้องต้นของส่วนสกัดดังกล่าว พบว่าส่วนสกัดหยาบจากเอทานอลของเปลือกต้นกันเกรา

6.1 มีทั้ง condense tannin และ hydrolysable tannin คล้ายกับที่พบโดย โพยม เสนอินทร์ และคณะ (6) ซึ่งสารกลุ่ม tannin มีฤทธิ์ฝาดสมาน เคลือบลำไส้และลดการระคายเคืองต่อลำไส้ จึงลดการบีบตัวลำไส้ได้ จึงได้มีการใช้สารกลุ่มนี้ในการรักษาโรคท้องร่วง ดังนั้น จากผลการทดลองที่ได้ถึงฤทธิ์ในการยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็ก อาจเกิดจากผลของสารกลุ่ม tannins ที่มีในส่วนสกัดหยาบทั้งสองก็ได้

6.2 มีสารกลุ่มแอลคาลอยด์ เหมือนกับรายงานที่มีก่อนหน้านี้ คือ พบสาร alkaloid ชื่อ Gentianine ในใบของต้นกันเกรา ดังนั้น สาร alkaloid ที่พบในงานวิจัยครั้งนี้อาจจะเป็น Gentianine เช่นกัน ส่วนฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารกลุ่ม alkaloid พบว่ามีผลยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็ก ตัวอย่าง คือ hyoscyamine (atropine) พบใน *Duboisia myoporoides* R.Br. มีฤทธิ์เป็น antimuscarinic cholinergic หรือ muscarinic cholinergic blocking agents (21) และ Papaverine ซึ่งเป็น Phosphodiesterase inhibitor (18) เป็นต้น ดังนั้นในการศึกษาถึงกลไกการออกฤทธิ์ของสาร alkaloid ที่พบในเปลือกต้นกันเกราที่ได้จึงควรมีการแยกให้ได้สารบริสุทธิ์แล้วจึงทำการศึกษาต่อไป

บทที่ 5
สรุปและข้อเสนอแนะ
(CONCLUSIONS and RECOMMENDATIONS)

จากการศึกษาฤทธิ์ของส่วนสกัดหยาบจากน้ำและเอทานอลของเปลือกต้นกันเกราต่อการหดตัวของลำไส้ส่วน ileum ของหนูตะเภาที่แยกออกมานอกลำตัว พบว่า

1. ส่วนสกัดหยาบจากน้ำและเอทานอลที่ความเข้มข้นใน bathing solution เท่ากับ 170, 330, 670 และ 1330 μg/ml แสดงฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็กที่เกิดขึ้นเอง (0.36 gm, n = 24) ก่อนเติมส่วนสกัดลงไป อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.05$ โดยส่วนสกัดหยาบจากน้ำที่ความเข้มข้น 1330 μg/ml ใน bathing solution สามารถยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็กส่วน ileum ที่เกิดขึ้นเองได้มากที่สุด คือ 421.11 ± 206.07 %
2. ส่วนสกัดหยาบจากน้ำและเอทานอลที่ความเข้มข้น 400, 800, 1600 และ 3200 μg/ml ใน bathing solution แสดงฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็กที่ถูกกระตุ้นด้วย ACh เท่ากับ 0.77 – 75.39 % อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ และผลที่ได้น้อยกว่า Atropine และ Papaverine ซึ่งเท่ากับ 97.88 – 124.62 % และ 61.15 – 83.08 % ตามลำดับ
3. 100 % DMSO ซึ่งเป็นตัวทำละลายของส่วนสกัดหยาบจากเอทานอลมีฤทธิ์เพิ่มการหดตัวของลำไส้เล็กต่อการกระตุ้นของ ACh เท่ากับ 9.17 – 55.19 % อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ
4. ส่วนสกัดหยาบจากเอทานอลของเปลือกต้นกันเกรา มีทั้ง condense tannin และ hydrolysable tannin และมีสารกลุ่มแอลคาลอยด์ แต่ไม่พบสารฟลาโวนอยด์

จากผลการทดลองที่ได้ยืนยันสรรพคุณในการใช้รักษาอาการท้องเสีย แต่อย่างไรก็ตามผลที่ได้น้อยกว่ายาแผนปัจจุบัน และกลไกในการยับยั้งการหดตัวของลำไส้ควรมีการศึกษาต่อไป โดยทำการแยกสกัดให้ได้สารบริสุทธิ์แล้วจึงทำการทดสอบกับ Standard spasmogens และ Antispasmogens ตัวอื่นๆ หรือทำการทดสอบด้วยวิธีอื่นๆ เช่น Ligan binding assay เป็นต้น และจากการวิจัยมีข้อควรคำนึงถึงหลายประการ ดังนี้

1. สภาพแวดล้อม อาหารและน้ำดื่ม ความแตกต่างของสัตว์ทดลองแต่ละตัว อาจมีผลต่อผลที่ได้ ดังนั้นควรมีการควบคุมให้เหมือนกันมากที่สุด
2. ความตึงของด้ายมีผลต่อแรงของการบีบตัวของลำไส้ เพราะถ้าด้ายมีความตึงมาก อาจทำให้ลำไส้ถูกดึงยืดมากเกินไปและถ้าด้ายมีความตึงน้อย แม้ลำไส้เกิดการหดตัว ก็อาจไม่เห็นการเปลี่ยนแปลงได้
3. ความสดใหม่ (fresh) ของลำไส้ ถ้าลำไส้ไม่สดใหม่พอ การหดตัวก็อาจจะน้อยได้ หรือไม่ตอบสนองต่อสารกระตุ้นได้
4. ระยะเวลาก่อนเริ่มทำการทดลอง ถ้ารีบเริ่มทำการทดลอง โดยไม่รอให้ลำไส้พักตัวสู่ภาวะปกติ (baseline ไม่คงที่) อาจทำให้เกิด contraction มากกว่าปกติได้ เนื่องจากมีสารต่าง ๆ ที่ออกฤทธิ์ต่อลำไส้อยู่ก่อนแล้ว

บรรณานุกรม
(BIBLIOGRAPHY)

1. กัลยา อนุลักขณาปกรณ์, อุไรวรรณ เพิ่มพิพัฒน์. ฤทธิ์ของฟ้าทะลายโจรในการลดการบีบตัวของลำไส้เล็กและป้องกันการเกิดอาการท้องเสียในสัตว์ทดลอง. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 2540;39(1):23 - 33.
2. ก้าจร มนูญปิจุ. ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับผลงานวิจัยสมุนไพรที่ต่อต้านเชื้อมาลาเรีย. การสัมมนาเรื่อง สมุนไพรต้านมาลาเรีย. องค์การเภสัชกรรม, 2532.
3. ชัยวัฒน์ ต่อสกุลแก้ว. สรีรวิทยาทางเดินอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: บริษัท เท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่น จำกัด, 2542.
4. นันทวัน บุณยะประภัศร, อรนุช โชคชัยเจริญพร. สมุนไพร ไม้พื้นบ้าน เล่ม 1. กรุงเทพมหานคร:บริษัทประชาชน จำกัด, 2541.
5. เพชรรัตน์ พงษ์จรรยากุล. ฤทธิ์ของฟ้าทะลายโจรต่อกล้ามเนื้อเรียบของลำไส้. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาสรีรวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
6. โพยม เสนอินทร์, อธิพงศ์ วิชัยโย, อนุวัฒน์ รุ่งเรืองวุฒิกุล. การศึกษาฤทธิ์ของส่วนสกัดจากเปลือกต้นกันเกราในการยับยั้งการหดตัวของลำไส้หนูขาว. สารนิพนธ์หลักสูตรเภสัชศาสตร์บัณฑิต คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, 2541.
7. วนิดา แสงอลังการ, ประสาน ธรรมอุปกรณ์, อุมา กิติยานี, ชัยโย ชัยชาญทิพยุทธ. ผลของ Andrographolide, Neoandrographolide และ 14 – deoxy – 11, 12 – didehydroandrographolide ต่อการหดเกร็งของกล้ามเนื้อกระเพาะอาหารหนูขาวนอกร่างกาย. ไทยเภสัชสาร 1990;15(1):5 – 17.
8. สุรพล สุรางค์ศรีรัฐ, เกศรา อัศดามงคล, สมชาย ลีลากุศลวงศ์. แกสโตรอินเทสทินอล โมทิลิตี้. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: บริษัท ควิกช็อพ จำกัด, 2543.
9. อัมพร คุณเอนก, จุไรรัตน์ รักวาทิน. กลูโคไซด์ – ชนิดขม จากใบกันเกรา. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 2519;18(1):1 - 11.
10. อ้อมบุญ ล้วนรัตน์. การสกัด และตรวจสอบสารสำคัญจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, 2536.
11. Evan WC. Trease and Evans' Pharmacognosy. 14th ed. London: WB Saunders Company Ltd, 1996.
12. Griffin O, Parnell J. LOGANIACEAE. Flora of Thailand. 1997;6(3):197 – 225.

13. Hardman JG, Limbird LE. Goodman & Gilman's : The pharmacological basis of therapeutics. 9th ed. New York: McGraw-Hill, 1996.

14. Hong LT, Abdul RM. Antifungal properties of methanol extractives from some tropical hardwoods. Malay For 1983;46(1):138 – 9.

15. Nakanishi K, Sasaki Si, Kiang AK, et al. Phytochemical survey of Malaysian plants. Preliminary chemical and pharmacological screening. Chem Pharm Bull 1965;13 (7):882 – 90.

16. Natarajan PN, Wan ASC, Zaman V. Antimalarial, antiamoebic and toxicity test on gentianine. Planta Med 1974;25:258 – 60.

17. Pathong A, Kanjanapothi D, Taylor WC. Ethnobotanical review of medicinal plants from thai traditional books, Part I: Plants with anti - inflammatory, anti - asthmatic and antihypertensive properties. J Ethnopharmacol 1986;18:213 – 228.

18. Reynolds JEF.MARTINDALE: The extra pharmacopia. 29th ed. London: The Pharmaceutical Press, 1989.

19. Ruangsomboon O, Soonthornchareonnon N. Effects of *Azadirachta indica* A. Juss var. *siamensis* Valeton and *Melia azedarach* Linn. On contraction of isolated guinea pig ileum. Th J Phytopharmacy 1998;5(1):1 – 9.

20. Samuelsson G. Drugs of natural origin: A textbook of pharmacognosy. Stockholm: Swedish Pharmaceutical Press, 1992.

21. Sookvanichsilp N, Luanratana O. The parasympatholytic activity on the isolated guinea – pig ileum of the derivertives of a *Duboisia* alkaloid derive from tissue culture. Mahidol Univ J Pharm Sci 1999;26(1-4):27 – 32.

21. Young LY, Koda-Kimble MA. Applied therapeutics: The clinical use of drugs. 6th ed. Vancouver: Applied Therapeutics, Inc., 1995.

ภาคผนวก

(APPENDIX)

ตารางที่ 4 การยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็กส่วน ileum ที่เกิดขึ้นเองของส่วนสกัดหยาบจากน้ำความเข้มข้นต่างๆ

Initial dose	Volume	Dose in bathing solution	Dose X 100	Log dose X 100	Response (gm)							% Inhibition						
(mg/ml)	(μl)	(μg/ml)	(μg/ml)	(μg/ml)	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6	Mean	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6	Mean ± SEM
200	25	170	16.67	1.22	-1.44	-0.13	-0.15	-0.67	0.02	-0.22	-0.47*	500.00	136.11	141.67	286.11	94.44	161.11	219.91 ± 61.96*
200	50	330	33.33	1.52	-0.53	-0.01	-0.02	-0.02	-0.06	-0.73	-0.23*	247.22	102.78	105.56	105.56	116.67	302.78	163.43 ± 36.06*
200	100	670	66.67	1.82	-0.31	-0.05	-0.06	-0.19	-0.01	-0.04	-0.11*	186.11	113.89	116.67	152.78	102.78	111.11	130.56 ± 13.17*
200	200	1330	133.33	2.12	-0.07	-0.11	-0.23	-3.95	-1.42	-	-1.16*	119.44	130.56	163.89	1197.22	494.44	-	421.11 ± 206.07*

* แตกต่างจากแรงหดตัวที่เกิดขึ้นเองก่อนการทดลอง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.05$

ตารางที่ 5 การยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็กส่วน ileum ที่เกิดขึ้นเองของส่วนสกัดหยาบจากเอทานอลความเข้มข้นต่างๆ

Initial dose	Volume	Dose in bathing solution	Dose X 100	Log dose X 100	Response (gm)							% Inhibition						
(mg/ml)	(μl)	(μg/ml)	(μg/ml)	(μg/ml)	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6	Mean	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6	Mean ± SEM
200	25	170	16.67	1.22	-0.05	-0.45	0.03	0.11	0.05	-0.05	-0.06*	125.00	325.00	85.00	45.00	75.00	125.00	130.00 ± 40.97*
200	50	330	33.33	1.52	-0.37	-0.12	-0.06	-0.06	-2.02	-0.05	-0.45*	285.00	160.00	130.00	130.00	1110.00	125.00	323.33 ± 159.28*
200	100	670	66.67	1.82	-0.16	-0.25	0.05	-0.1	-0.07	-	-0.11*	180.00	225.00	75.00	150.00	135.00	-	153.00 ± 24.83*
200	200	1330	133.33	2.12	-0.02	-0.38	-0.12	-0.06	-1.03	-	-0.32*	110.00	290.00	160.00	130.00	615.00	-	261.00 ± 93.89*

* แตกต่างจากแรงหดตัวที่เกิดขึ้นเองก่อนการทดลอง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.05$

ตารางที่ 6 การหดตัวของลำไส้เล็กส่วน ileum ต่อ Acetylcholine ความเข้มข้นต่างๆ

Initial dose	Dose in bathing solution	Dose X 100	Log dose X 100	Response (gm)					
(µg/ml)	(µg/ml)	(µg/ml)	(µg/ml)	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	Mean ± SEM
0.26	0.002	0.20	-0.70	1.00	0.60	0.40	1.00	0.30	0.66 ± 0.15
0.39	0.003	0.30	-0.52	0.80	0.50	0.40	1.00	1.40	0.82 ± 0.18
0.59	0.004	0.40	-0.40	0.80	0.50	0.20	1.20	2.50	1.04 ± 0.40
0.88	0.006	0.60	-0.22	1.00	0.60	0.40	1.30	2.70	1.20 ± 0.91
1.32	0.009	0.90	-0.05	0.90	0.60	0.80	1.20	3.00	1.30 ± 0.44
1.98	0.013	1.30	0.11	0.80	0.90	0.90	1.90	1.60	1.22 ± 0.22
2.96	0.020	2.00	0.30	1.60	0.50	1.20	1.80	2.50	1.52 ± 0.33
4.44	0.030	3.00	0.48	1.30	0.50	1.10	2.10	2.70	1.54 ± 0.39
6.67	0.044	4.40	0.64	1.20	0.60	2.00	3.10	3.00	1.98 ± 0.49
10.00	0.067	6.70	0.83	1.10	2.00	2.10	3.30	3.20	2.34 ± 0.41

ตารางที่ 7 การยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็กส่วน ileum ที่ถูกกระตุ้นด้วย Acetylcholine ที่ Submaximal dose ของส่วนสกัดหยาบจากน้ำความเข้มข้นต่างๆ

Initial dose	Volume	Dose in bathing solution	Log dose X 100	Response (gm)						% Inhibition					
(mg/ml)	(μl)	(μg/ml)	(μg/ml)	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	Mean	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	Mean ± SEM
200	30	200	4.30	-2.13	1.26	0.90	0.50	0.93	0.29	304.81	-21.15	13.46	51.92	10.58	71.92 ± 59.36
200	60	400	4.60	1.45	0.31	0.61	1.16	1.63	1.03	-39.42	70.19	41.35	-11.54	-56.73	0.77 ± 24.02
200	120	800	4.90	1.31	0.31	0.75	0.81	0.29	0.69	-25.96	70.19	27.88	22.12	72.12	33.27 ± 18.07
200	240	1600	5.20	1.51	-0.09	0.30	0.50	1.35	0.71	-45.19	108.65	71.15	51.92	-29.81	31.34 ± 29.65
200	480	3200	5.51	1.20	0.20	-0.19	0.04	2.25	0.70	-15.38	80.77	118.27	96.15	-116.35	32.69 ± 43.70

ตารางที่ 8 การยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็กส่วน ileum ที่ถูกกระตุ้นด้วย Acetylcholine ที่ Submaximal dose ของส่วนสกัดหยาบจากเอทานอลความเข้มข้นต่างๆ

Initial dose	Volume	Dose in bathing solution	Log dose X 100	Response (gm)						% Inhibition					
(mg/ml)	(μl)	(μg/ml)	(μg/ml)	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	Mean	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	Mean ± SEM
200	30	200	4.30	0.64	0.60	0.47	0.77	0.10	0.52	38.46	42.31	54.81	25.96	90.38	50.38 ± 11.01
200	60	400	4.60	1.17	0.38	0.88	0.91	0.00	0.67	-12.50	63.46	15.38	12.50	99.62	35.69 ± 20.16
200	120	800	4.90	1.16	0.14	0.77	0.71	0.33	0.62	-11.54	86.54	25.96	31.73	68.27	40.19 ± 17.16
200	240	1600	5.20	0.70	0.01	0.67	0.50	0.16	0.41	32.69	99.04	35.58	51.92	84.62	60.77 ± 13.29
200	480	3200	5.51	0.43	-0.17	0.54	0.32	0.16	0.26	58.65	116.35	48.08	69.23	84.62	75.39 ± 11.89

ตารางที่ 9 การยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็กส่วน ileum ที่ถูกกระตุ้นด้วย Acetylcholine ที่ Submaximal dose ของ Atropine ความเข้มข้นต่างๆ

Initial dose	Volume	Dose in bathing solution	Log dose X 100	Response (gm)						% Inhibition					
(mg/ml)	(μl)	(μg/ml)	(μg/ml)	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	Mean	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	Mean ± SEM
1.56	200	0.01	0.00	-0.01	0.07	0.10	-0.04	-0.01	0.02*	100.96	93.27	90.38	103.85	100.96	97.88 ± 2.57*
3.13	200	0.02	0.03	-0.12	-0.07	-0.02	-0.02	0.04	-0.04*	111.54	106.73	101.92	101.92	96.15	103.65 ± 2.59*
6.25	200	0.04	0.60	-0.04	-0.12	-0.20	-0.09	-0.05	-0.10*	103.85	111.54	119.23	108.65	104.81	109.62 ± 2.77*
12.5	200	0.08	0.90	-0.13	-0.16	-0.12	-0.03	-0.06	-0.10*	112.50	115.38	111.54	102.88	105.77	109.62 ± 2.30*
25.00	200	0.17	1.23	-0.17	-0.11	-0.67	-0.01	-0.32	-0.26*	116.35	110.58	164.42	100.96	130.77	124.62 ± 11.06 * + #

* แตกต่างจากแรงหดตัวที่เกิดขึ้นเองก่อนการทดลอง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.05$

\+ แตกต่างจากแรงหดตัวที่ความเข้มข้นใน bathing solution เท่ากับ 0.01 μg/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.05$

แตกต่างจากค่าที่ความเข้มข้นใน bathing solution เท่ากับ 0.02 μg/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.05$

ตารางที่ 10 การยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็กส่วน ileum ที่ถูกกระตุ้นด้วย Acetylcholine ที่ Submaximal dose ของ Papaverine ความเข้มข้นต่างๆ

Initial dose	Volume	Dose in bathing solution	Log dose X 100	Response (gm)						% Inhibition					
(mg/ml)	(μl)	(μg/ml)	(μg/ml)	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	Mean	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	Mean ± SEM
1.56	200	0.01	0.00	0.45	-0.02	0.20	0.30	-0.23	0.14	56.73	101.92	80.77	71.15	77.88	77.69 ± 7.34
3.13	200	0.02	0.03	-0.01	0.02	0.36	0.20	1.45	0.40	100.96	98.08	65.38	80.77	-39.42	61.15 ± 25.95
6.25	200	0.04	0.60	-0.11	0.34	0.55	-0.02	0.12	0.18	110.58	67.31	47.12	101.92	88.46	83.08 ± 11.58
12.5	200	0.08	0.90	-0.08	-0.04	0.09	0.23	1.74	0.39	107.69	103.85	91.35	77.88	-67.31	62.69 ± 32.92
25.00	200	0.17	1.23	0.15	-0.03	0.01	0.05	1.16	0.27	85.58	102.88	99.04	95.19	-11.54	74.23 ± 21.63

ตารางที่ 11 การหดตัวของลำไส้เล็กส่วน ileum ต่อ 100 % DMSO ที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย Acetylcholine ความเข้มข้นต่างๆ

Initial Dose Of ACh	Volume	Dose in bathing solution	Log dose X 100	Response (gm)						% Inhibition					
(mg/ml)	(μl)	(μg/ml)	(μg/ml)	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	Mean	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	Mean ± SEM
0.39	200	0.003	-0.52	0.74	1.46	0.59	0.58	1.41	0.96	90.24	178.05	71.95	70.73	171.95	116.59 ± 24.11
0.88	200	0.006	-0.22	1.10	1.15	1.00	1.19	2.11	1.31	91.67	95.83	83.33	99.17	175.83	109.17 ± 16.88
1.98	200	0.013	0.11	1.63	1.40	0.59	2.00	3.12	1.75	133.61	114.75	48.36	163.93	255.74	143.28 ± 33.91
4.44	200	0.030	0.48	2.11	1.26	2.93	2.16	3.49	2.39	137.01	81.82	190.26	140.26	226.62	155.19 ± 24.77
10.00	200	0.670	0.83	2.32	2.31	3.06	2.85	1.52	2.41	99.15	98.72	130.77	121.79	64.96	103.08 ± 11.41

ประวัตินักวิจัย และคณะ

หัวหน้าโครงการ

ชื่อ	นางสาวเพียงเพ็ญ ธิโสดา (Miss Piengpen Thisoda)
คุณวุฒิ	วท.ม. (เภสัชวิทยา)
ตำแหน่ง	อาจารย์ระดับ 6
สังกัด	กลุ่มวิชาชีวเภสัชศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

ประสบการณ์งานวิจัย

1. การศึกษาฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกันของสมุนไพรตำรับหนึ่ง ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านม
2. การศึกษาประสิทธิภาพของน้ำยาฆ่าเชื้อไฮโปคลอไรด์ที่ผลิตขึ้นใช้ในห้องปฏิบัติการ

สัดส่วนการทำวิจัย 55 %

ผู้วิจัยร่วม

ชื่อ	นางปาจารีย์ ทองงอก (Mrs. Pajaree Tongngok)
คุณวุฒิ	วท.ม. (สรีรวิทยา)
ตำแหน่ง	อาจารย์ระดับ 6
สังกัด	กลุ่มวิชาชีวเภสัชศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

ประสบการณ์งานวิจัย

1. การศึกษาประสิทธิภาพของสมุนไพรไทยในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ อี. โคไล ในลูกสุกร

สัดส่วนการทำวิจัย 45 %