รายงานการวิจัย

เรื่อง

ผลของสารสกัดตำรับยาไฟห้ากอง และสารสกัดเจตมูลเพลิงแดงต่อการหดตัวของมดลูกในหนูแร็ท

Effects of Phai Ha Kong Formulation and *Plumbagio indica* Linn. Extracts on Uterus Contraction in Rats

นางสาวนงลักษณ์ กุลวรรัตต์

นางสาวอรพรรณ สกุลแก้ว

รศ.ดร.สนั่น ศุภธีรสกุล

รศ.ดร.ศิริพันธุ์ หิรัญญะชาติธาดา

คณะการแพทย์แผนไทย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

การวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากทุนอุดหนุนการวิจัยเงินรายได้คณะการแพทย์แผนไทย ประจำปีงบประมาณ 2551

และกองทุนวิจัย คณะการแพทย์แผนไทย ประจำปีงบประมาณ 2552

คำนำ

การวิจัยฤทธิ์ของสมุนไพรเดี่ยว และยาตำรับมีความสำคัญ เนื่องจากจะเป็นพื้นฐานในการศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของสมุนไพรเดี่ยว และยาตำรับต่อไป และส่งผลให้เกิดการพัฒนา และการนำยาสมุนไพรมาใช้อย่างกว้างขวางมากยิ่งขึ้น คณะการแพทย์แผนไทยได้เล็งเห็นถึงประโยชน์ของการวิจัยฤทธิ์ของสมุนไพรเดี่ยว และยาตำรับจึงมีนโยบายสนับสนุนให้แก่บุคลากรทำวิจัยทางด้านนี้

ด้วยเหตุนี้คณะผู้วิจัยจึงสนใจทำการศึกษาตำรับยาในยาสามัญประจำบ้านแผนโบราณซึ่งมีฤทธิ์ในการขับน้ำคาวปลาในเรือนไฟ และช่วยให้มดลูกเข้าอู่ โดยนำมาเปรียบเทียบฤทธิ์ในการบีบตัวของมดลูกกับสมุนไพรเดี่ยว เพื่อที่จะได้นำงานวิจัยนี้ไปเป็นข้อมูลในการพัฒนายาสมุนไพรไทยต่อไปในอนาคต

คณะผู้วิจัย

มิถุนายน 2553

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยนี้สำเร็จได้ด้วยทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินรายได้คณะการแพทย์แผนไทย ประเภททั่วไป ประจำปีงบประมาณ 2551 และจากกองทุนวิจัย คณะการแพทย์แผนไทย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สัญญาเลขที่ 001/52 ผู้วิจัยขอขอบคุณบุคลากรคณะการแพทย์แผนไทย รวมทั้งบุคลากรภาควิชาสรีรวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ที่ได้ให้ความช่วยเหลือในการดำเนินการวิจัย อีกทั้งบุคลากรประจำเรือนเลี้ยงสัตว์ทดลอง ภาคใต้ทุกคนที่มีส่วนช่วยสนับสนุนให้งานวิจัยในครั้งนี้สำเร็จลุล่วง และสุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณสัตว์ทดลองทุกตัวที่ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วง

คณะผู้วิจัย

มิถุนายน 2553

บทคัดย่อ

จากตำรายาแผนโบราณได้ระบุไว้ว่าตำรับยาไฟห้ากองมีสรรพคุณช่วยขับน้ำคาวปลาในเรือไฟ และทำให้มดลูกเข้าอู่ แต่ยังไม่มีการศึกษาผลต่อการหดตัวของมดลูก การวิจัยในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาผลของสารสกัดตำรับยาไฟห้ากอง และสารสกัดเจตมูลเพลิงแดงต่อการหดตัวของมดลูกในหนูแร็ท จากการตรวจสอบมาตรฐานพริกไทยล่อน และขิงที่จำหน่ายในร้านขายยาสมุนไพรในอำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา พบว่าพริกไทยล่อนที่จำหน่ายไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน เนื่องจากมีปริมาณสิ่งปนเปื้อนมากกว่าเกณฑ์มาตรฐาน และมีปริมาณสารแอลคาลอยด์ต่ำกว่าเกณฑมาตรฐาน การตรวจสอบมาตรฐานขิง พบว่าขิงที่จำหน่ายผ่านเกณฑ์มาตรฐาน จากการทดสอบผลของสารสกัดต่อการหดตัวของมดลูกหนูแร็ทที่แยกออกจากตัว พบว่าสารสกัดเจตมูลเพลิงแดงไม่มีผลเปลี่ยนแปลงความแรง และความถี่ในการหดตัวของมดลูก ส่วนสารสกัดตำรับยาไฟห้ากองไม่มีผลเปลี่ยนแปลงความแรงในการหดตัวของมดลูก แต่มีผลลดความถี่ในการหดตัวของมดลูก ที่ความเข้มข้น 0.1, 1 และ 10 μg/ml ซึ่งผลดังกล่าวอาจจะเป็นผลที่เกิดจากส่วนผสมบางตัวในสารสกัดตำรับยาไฟห้ากอง และอาจจะช่วยลดผลข้างเคียงที่เกิดจากเจตมูลเพลิงแดง เพราะยาตำรับโดยทั่วไปซึ่งเป็นการผสมระหว่างสมุนไพรหลายชนิดนั้นไม่เพียงแต่เพื่อจะเสริมฤทธิ์กันเท่านั้น แต่สมุนไพรในตำรับบางตัวอาจจะทำหน้าที่ลดผลข้างเคียงของสมุนไพรบางตัวในตำรับได้เช่นกัน ทั้งนี้กลไกการลดความถี่ในการหดตัวของมดลูกของสารสกัดตำรับยาไฟห้ากองนั้นควรต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป

Abstract

Ancient medical literature indicated that Phai Ha Kong formulation can induce lochia secretion and involution. Nevertheless, there is not the study for the effect of Phai Ha Kong formulation on the uterine contraction. This study aimed to observe the effects of Phai Ha Kong formulation and *Plumbago indica* Linn. extracts on uterine contraction in rats. The standardization results of *Piper nigrum L.* and *Zingiber officinale Roscoe*. from the traditional Thai drug store in Hat-Yai district, Songkhla province showed that *P. nigrum L*. was under the official standard. The percentage of contamination in *P. nigrum L.* was above the official standard value. The percentage of alkaloid contents were under the official standard value. However, the standardization results of *Z. officinale Roscoe.* were above the official standard. In isolated rat uterine contraction test, *Plumbago indica* Linn. extract did not change force and frequency of uterine contraction. In addition, Phai Ha Kong formulation extract also did not change force of uterine contraction. Although, Phai Ha Kong formulation extract at the doses of 0.1, 1 and 10 µg/ml were able to reduce frequency of uterine contraction. This effect may be the potential of some ingredient of this formulation and it may be reduce the side effect of *Plumbago indica* Linn. The medical formulations are composed of many herbals not only for synergetic effect but also for reduce the side effect of some herbal in the formulation. However, the mechanism of Phai Ha Kong formulation extract on reduce frequency of uterine contraction should be further study.

สารบัญ

	หน้า
คำนำ	ก
กิตติกรรมประกาศ	ข
บทคัดย่อ	ค
Abstract	ง
สารบัญ	จ
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ	ช
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	3
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	17
บทที่ 4 ผลการวิจัย	30
บทที่ 5 อภิปราย และสรุปผลการวิจัย	53
เอกสารอ้างอิง	56

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงค่าการทดสอบพริกไทยล่อนโดยใช้ Thin – Layer Chomatography ภายใต้การดูดกลืนแสง UV ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร	33
2	แสดงค่าการทดสอบพริกไทยล่อนหลังจากการ spray แผ่น TLC ด้วย acetic potassium iodobismuthate TS	34
3	แสดงค่าการทดสอบพริกไทยล่อนหลังจากการ spray แผ่น TLC ด้วย 50% v/v sulfuric acid in methanol	35
4	แสดงค่าการทดสอบพริกไทยล่อนหลังจากการ spray แผ่น TLC ด้วย 50% v/v sulfuric acid in methanol และให้ความร้อน	36
5	แสดงผลเถ้าพริกไทยล่อนทั้งหมด	37
6	แสดงผลเถ้าพริกไทยล่อนที่ไม่ละลายในกรด	38
7	แสดงปริมาณน้ำมันหอมระเหยในพริกไทยล่อน	39
8	แสดงผลปริมาณน้ำในพริกไทยล่อน	40
9	แสดงผลปริมาณสิ่งปนปลอมในพริกไทยล่อน	41
10	แสดงปริมาณการดูดกลืนแสงของ stardard piperine ที่ความเข้มข้นต่างๆ	42
11	แสดงปริมาณแอลคาลอยด์ในพริกไทยล่อน	43
12	แสดงน้ำหนักของขิงที่หายไปขณะทำแห้ง	46
13	แสดงปริมาณเถ้าขิงทั้งหมด	47
14	แสดงผลเถ้าขิงที่ไม่ละลายในกรด	47
15	แสดงปริมาณสารสกัดขิงด้วยแอลกอฮอล์	48
16	แสดงปริมาณสารสกัดขิงด้วยน้ำ	49
17	แสดงปริมาณสารสกัดขิงด้วย ether	50

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แสดงเซลล์ในระยะ proestrus	3
2	แสดงเซลล์ในระยะ estrus	3
3	แสดงเซลล์ในระยะ metestrus	4
4	แสดงเซลล์ในระยะ diestrus	4
5	แสดงกลไกการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ	6
6	แสดงเจตมูลเพลิงแดง	7
7	แสดงลักษะของขิง	9
8	แสดงพริกไทยล่อน และพริกไทยดำ	11
9	แสดง Stone Cell ที่พบมีผนังเซลล์ที่หนา และเป็นสีแดงเนื่องจากการย้อมสี 1% Phloroglucinal in 20% HCl มีปริมาณน้อย เพราะเป็นของเปลือกผล ที่ติดมา	30
10	แสดง Beaker cells / Horse shoes shapes เป็น Stone Cell ที่มีขอบผนังหนา และบางไม่สม่ำเสมอทั่วทั้งเซลล์ มีผนังหนา 3 ด้าน และเป็นสีแดงเนื่องจากการย้อมสี 1% Phloroglucinal in 20% HCl พบมากในผงสมุนไพร	30
11	แสดง Starch grains เป็นเม็ดแป้งขนาดเล็ก มีรูปร่างกลม และเหลี่ยมค่อนข้างเกาะกลุ่มกัน ขนาดประมาณ 4.76 μm	31
12	แสดง Starch จับตัวกันเป็นกลุ่มอยู่ ใน parenchyma กระจายอยู่ทั่วไป	31
13	แสดง Large oil cells รูปร่างค่อนข้างกลมผนังขรุขระ ภายในมีน้ำมันสีเหลือง ขนาดประมาณ 57.74 μm	31
14	แสดง Piperine มีลักษณะเป็นผลึกรูปเข็มขนาดเล็ก กระจายอยู่ทั่วไป	32
15	แสดง Brown pigment layer of testa เป็นเซลล์เปลือกเมล็ดที่มีสารสีน้ำตาล	32
16	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ piperine กับ ค่าการดูดกลืนแสง UV	42
17	แสดง fiber ที่พบเป็นเส้นสีน้ำตาลอ่อน มีผนังบาง และพบว่ามีกั้นภายในเส้น fiber (septate)	44
18	แสดง parenchymatous cell ที่พบมีผนังบางอยู่รวมกันเป็นก้อน บางเซลล์มี oleoresin แทรกอยู่ในเซลล์	44
19	แสดง Cork ที่พบมีลักษณะเป็นเซลล์เหลี่ยม โดยเซลล์ cork ที่พบค่อนข้างใส	45

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
20	แสดง Scalariformly vessels ที่พบมีลักษณะเป็นท่อมีลายผนังเซลล์ เป็นเส้นขีดขวางขนาดสม่ำเสมอ และท่อ vessels ที่พบมีหลายท่ออยู่ติดๆ กัน และเนื่องจากเป็นผงยาบดจึงพบเป็นส่วนของ vessel กระจายอยู่ทั่วในผงยา ไม่สังเกตพบ vessel ที่สมบูรณ์ (จะมีลักษณะเป็นท่อที่หัวปลายแหลม)	45
21	แสดง Starch ที่พบมีรูปร่างกลมรี โดยมีจงอย ที่ด้านปลาย ขนาดประมาณ 7 x 8 μm สังเกตพบลายขวางบนเม็ดแป้ง (lamelar)	45
22	แสดงผลของสารสกัดตำรับยาไฟห้ากอง และสารสกัดเจตมูลเพลิงแดง ต่อความแรงในการหดตัวของมดลูกหนูแร็ทที่แยกออกจากตัว ค่าที่แสดงคือค่า mean ± S.E.M. **p<0.01, ***p<0.001 (*t*-test) เมื่อเทียบกับกลุ่ม vehicle control, JM = เจตมูลเพลิงแดง, FK = ไฟห้ากอง (n = 6)	51
23	แสดงผลของสารสกัดตำรับยาไฟห้ากอง และสารสกัดเจตมูลเพลิงแดง ต่อความถี่ในการหดตัวของมดลูกหนูแร็ทที่แยกออกจากตัว ค่าที่แสดงคือค่า mean ± S.E.M. *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 (*t*-test) เมื่อเทียบกับกลุ่ม vehicle control, JM = เจตมูลเพลิงแดง, FK = ไฟห้ากอง (n = 6)	52

บทที่ 1
บทนำ

ความสำคัญที่มาการวิจัย

ตามตำราแพทย์แผนโบราณทั่วไป สาขาเภสัชกรรม ระบุว่าตำรับยาไฟห้ากอง มีสรรพคุณช่วยขับน้ำคาวปลาในเรือนไฟ และทำให้มดลูกเข้าอู่ นอกจากนี้ในตำราสมุนไพรไทยยังระบุว่าเจตมูลเพลิงแดง มีสรรพคุณเป็นยาขับประจำเดือน แก้ปวดข้อ ขับพยาธิ ทาแก้กลากเกลื้อน ระงับอาการ ปวดฟัน และแก้ท้องร่วง ได้มีการทดสอบผลของสารสกัดเจตมูลเพลิงแดงพบว่าสารสกัดจากเจตมูลเพลิงแดงมีผลทำให้ผนังมดลูกหลุดลอกได้ แต่ยังไม่มีการศึกษาถึงฤทธิ์ในการกระตุ้นการหดตัวของมดลูก และยังไม่มีการศึกษาเปรียบเทียบระหว่างสารสกัดเดี่ยวของเจตมูลเพลิงแดง และยาตำรับ ในการวิจัยครั้งนี้ได้ตั้งสมมุติฐานว่าตำรับยาไฟห้ากอง และสารสกัดจากเจตมูลเพลิงแดงน่าจะออกฤทธิ์กระตุ้นการหดตัวของมดลูกได้เช่นกัน

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อทดสอบผลของสารสกัดตำรับยาไฟห้ากองต่อความแรง และความถี่ในการหดตัวของมดลูกในหนูแร็ท
2. เพื่อทดสอบผลของสารสกัดเจตมูลเพลิงแดงต่อความแรง และความถี่ในการหดตัวของมดลูกในหนูแร็ท
3. เพื่อศึกษาเปรียบเทียบผลของสารสกัดตำรับยาไฟห้ากอง และสารสกัดเจตมูลเพลิงแดงต่อการหดตัวของมดลูกในหนูแร็ท

ขอบเขตการวิจัย

การทดลองทำในหนูขาวพันธุ์ Wistar น้ำหนักตัวระหว่าง 200-250 กรัม จากเรือนเลี้ยงสัตว์ทดลอง คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ หนูทั้งหมดถูกเลี้ยงในสภาพที่เหมือนกันโดยการให้อาหารเม็ดสำเร็จรูป (S.W.T., Thailand) และน้ำประปาที่กรองสะอาแล้วอย่างไม่จำกัดปริมาณ และอยู่ในห้องปรับอากาศอุณหภูมิ 25°C และควบคุมปริมาณแสงให้มีสัดส่วนของสว่าง : มืด เท่ากับ 12 : 12 ชั่วโมง การทดลองทั้งหมดได้ผ่านการพิจารณาของคณะกรรมการจรรยาบรรณสัตว์ทดลอง มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ตามหนังสือเลขที่ ศธ 0521.11/148

การทดลองเพื่อทำการวัดความแรง และความถี่ในการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของมดลูก โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มละ 6 ตัว ดังนี้

1. กลุ่ม vehicle control
2. กลุ่ม positive control ซึ่งให้สาร oxytocin
3. กลุ่มสารสกัดตำรับยาไฟห้ากอง
4. กลุ่มสารสกัดเจตมูลเพลิงแดง

ประโยชน์ของการวิจัย

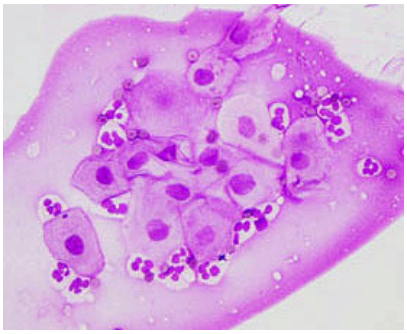
1. ได้ข้อมูลการออกฤทธิ์ของสารสกัดตำรับยาไฟห้ากองต่อการหดตัวของมดลูก
2. ข้อมูลการออกฤทธิ์ของสารสกัดจากเจตมูลเพลิงแดงต่อการหดตัวของมดลูก
3. ได้ข้อมูลพื้นฐานสำหรับหาแนวทางในการศึกษากลไกการออกฤทธิ์ระดับเซลล์ และโมเลกุลของสารสกัดตำรับยาไฟห้ากอง และสารสกัดจากเจตมูลเพลิงแดงต่อไป
4. ได้ข้อมูลพื้นฐานสำหรับหาแนวทางในการพัฒนาตำรับยา และพืชสมุนไพรไทยเพื่อให้เป็นที่ยอมรับในการนำไปใช้งานต่อไป

บทที่ 2
วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

วงสืบพันธุ์ (estrus cycle)

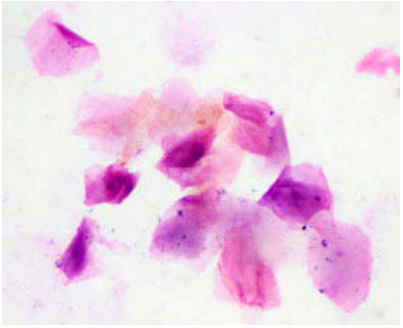
วงสืบพันธุ์ของหนูแบ่งเป็น 4 ระยะ คือ

1. Proestrus phase เป็นระยะที่มีการเจริญของ follicle ในรังไข่ และมีการหลั่ง estrogen ออกมามาก ซึ่ง estrogen มีผลกระตุ้นการเจริญของ vaginal epithelium จากการทำ vaginal smear จะพบเซลล์ที่มีลักษณะกลม มีนิวเคลียสขนาดใหญ่ (nucleated epithelial cell) ดังแสดงในภาพที่ 1 ซึ่งระยะนี้เทียบได้กับ follicular phase หรือ proliferative phase ในผู้หญิง



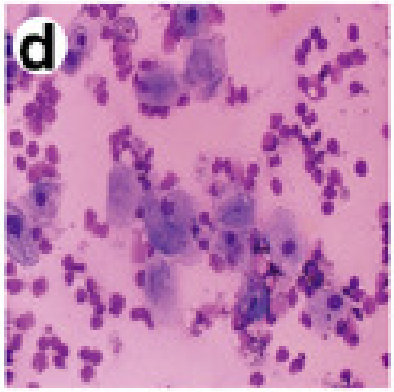
ภาพที่ 1 แสดงเซลล์ในระยะ proestrus (สืบค้นจาก: http://www.vet.uga.edu/vpp/clerk/Beimborn/index.php)

2. Estrus phase ในช่วงแรกของระยะนี้ยังคงมี estrogen หลั่งออกมามาก แต่เมื่อมีการตกไข่การหลั่ง estrogen จะน้อยลง ในระยะนี้เหมาะสำหรับการผสมพันธุ์ จากการทำ vaginal smear จะพบ squamous epithelial cell ดังแสดงในภาพที่ 2 ซึ่งระยะนี้เทียบได้กับ ovulatory phase ในผู้หญิง



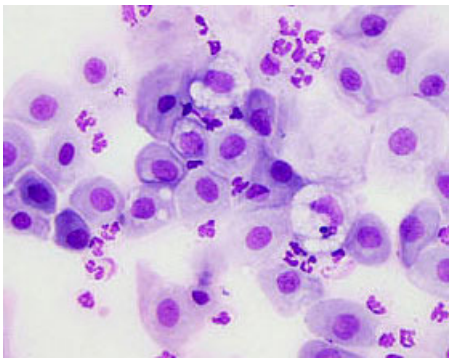
ภาพที่ 2 แสดงเซลล์ในระยะ estrus (สืบค้นจาก: http://www.vet.uga.edu/vpp/clerk/Beimborn/index.php)

3. Metestrus phase ระยะนี้ corpus luteum จะเจริญ และหลั่ง progesterone จากการทำ vaginal smear จะพบ leukocyte เนื่องจากมีการสลายเซลล์บางส่วน และอาจจะมี squamous epithelial cell ปะปนอยู่บ้าง ดังแสดงในภาพที่ 3 ซึ่งระยะนี้เทียบได้กับระยะต้นๆ ของ leuteal phase ในผู้หญิง



ภาพที่ 3 แสดงเซลล์ในระยะ metestrus (สืบค้นจาก: http://www.nature.com/onc/journal/v22/n52/fig_tab/1206888f3.html)

4. Diestrus phase เป็นระยะที่เริ่มมีการสลายของ corpus luteum จากการทำ vaginal smear จะพบ leukocyte จำนวนมาก และอาจพบ nucleated epithelial cell ในตอนท้ายของระยะนี้ ดังแสดงในภาพที่ 4 ซึ่งแสดงว่ามีการเจริญของ follicle ใหม่ และเป็นการเริ่มวงสืบพันธุ์รอบใหม่ ในระยะนี้เทียบได้กับตอนปลายของ leuteal phase และตรงกับช่วงที่ผู้หญิงมีประจำเดือน (สรีรวิทยา 2, 2545)



ภาพที่ 4 แสดงเซลล์ในระยะ diestrus (สืบค้นจาก: http://www.vet.uga.edu/vpp/clerk/Beimborn/index.php)

กล้ามเนื้อมดลูก

จากการศึกษาพบว่ามดลูกหดตัวได้เพราะมีกล้ามเนื้อเรียบ (smooth muscle) โดยการทำงานของกล้ามเนื้อเรียบจะอยู่นอกอำนาจจิตใจ กล้ามเนื้อเรียบมีขนาดเล็กกว่ากล้ามเนื้อลาย เซลล์มีลักษณะเป็นรูปกระสวย ยาวประมาณ 30-200 μm มีนิวเคลียสเดียวอยู่กลางเซลล์ และมี sarcolemma ที่บางมาก เซลล์กล้ามเนื้อเรียบมี filament อยู่ 3 ชนิด คือ 1) thick filament ซึ่งประกอบด้วย myosin 2) thin filament ซึ่งประกอบด้วย actin และ 3) tropomyosin และ intermediate filament (สรีรวิทยา 1, 2545)

มดลูกเป็นกล้ามเนื้อเรียบชนิด single-unit smooth muscle ซึ่งเซลล์ชนิดนี้มีการเรียงตัวติดต่อกันเป็นแผ่นใหญ่ เนื่องจากเยื่อหุ้มเซลล์อยู่ใกล้กันมาก มีการเชื่อมต่อกันโดย gap junction ซึ่งเป็นทางส่งผ่าน action potential ไปยังเซลล์ข้างเคียงได้อย่างรวดเร็ว ดังนั้นเมื่อเซลล์บริเวณใดบริเวณหนึ่งถูกกระตุ้น จะส่งผลให้เซลล์อื่นๆ ที่อยู่ข้างเคียงเกิดการหดตัวอย่างพร้อมเพรียงกัน นอกจากนี้กล้ามเนื้อชนิดนี้ยังสามารถหดตัวได้เอง ซึ่งการหดตัวเกิดขึ้นเป็นจังหวะติดต่อกัน เซลล์แต่ละเซลล์มีคุณสมบัติเป็น pacemaker คือ สามารถสร้าง action potential ได้เอง

ปัจจัยที่มีผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ

1. การกระตุ้นเส้นประสาทอัตโนมัติ ผลที่ได้จะเกิดการกระตุ้นหรือการยับยั้งการทำงานของกล้ามเนื้อขึ้นอยู่กับระบบประสาทที่ถูกกระตุ้น และชนิดของ receptor ของสารสื่อประสาทบนกล้ามเนื้อชนิดนั้น

2. ปัจจัยต่างๆ เช่น สารเคมีหรือฮอร์โมน ทำให้กล้ามเนื้อเรียบตอบสนองดังนี้

2.1 กล้ามเนื้อเรียบในระบบทางเดินหายใจตอบสนองต่อ histamine โดยการหดตัว และตอบสนองต่อ epinephrine โดยการคลายตัว

2.2 กล้ามเนื้อมดลูกอยู่ภายใต้อิทธิพลของฮอร์โมน ดังนี้

- Estrogen มีผลกระตุ้นทำให้กล้ามเนื้อมดลูกบีบตัวแรงขึ้น
- Progesterone มีผลทำให้กล้ามเนื้อมดลูกคลายตัว
- Oxytocin มีผลทำให้กล้ามเนื้อมดลูกบีบตัวแรง และเร็วขึ้น

2.3 กล้ามเนื้อเรียบในระบบหลอดเลือด

- ปัจจัยที่มีผลเพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อ ส่งผลให้ผนังหลอดเลือดตีบลง ได้แก่ vasopressin, angiotensin, ปริมาณ O_2 ที่ลดลง หรือปริมาณ CO_2 ที่เพิ่มขึ้น และการกระตุ้นระบบประสาท sympathetic

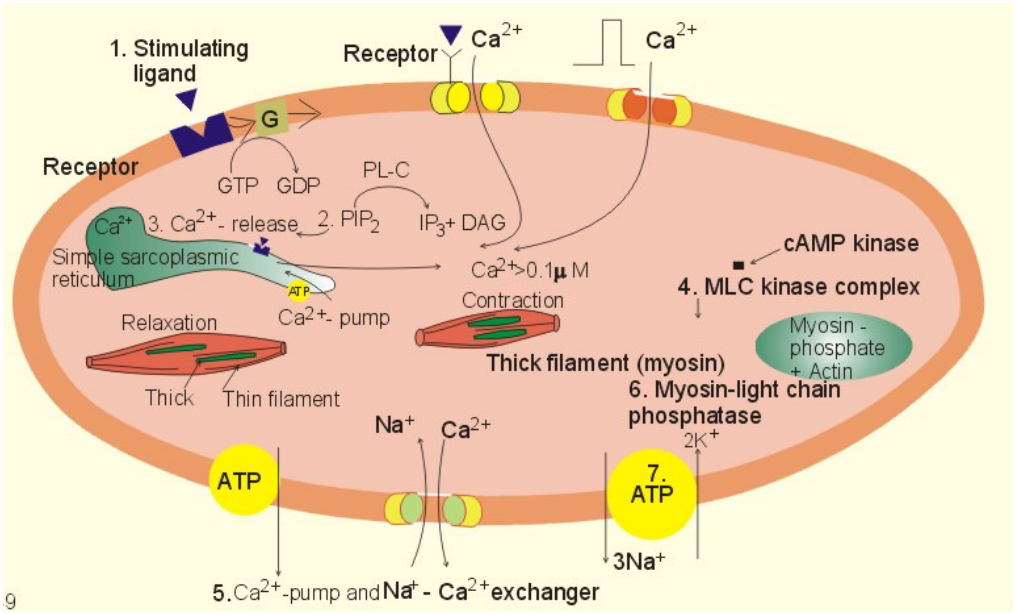
- ปัจจัยที่มีผลลดการหดตัวของกล้ามเนื้อ ทำให้ผนังหลอดเลือดขยาย ได้แก่ adenosine, nitric oxide, ปริมาณ O_2 ที่เพิ่มขึ้น หรือปริมาณ CO_2 ที่ลดลง และการลดกระตุ้นระบบประสาท sympathetic

3. อุณหภูมิที่ลดลงทำให้ลำไส้เล็กหดตัวมากขึ้น

4. การยืดกล้ามเนื้อ พบว่าเมื่อกล้ามเนื้อเรียบถูกยืดจะเกิดการหดตัว เนื่องจากการยืดทำให้เยื่อหุ้มเซลล์เกิด depolarization มากขึ้นหรือเปิด Ca^{2+} channel นานขึ้น

กลไกการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในมดลูก

กระบวนการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในมดลูกเริ่มจากเมื่อมีการเพิ่มขึ้นของปริมาณ Ca^{2+} ใน cytoplasm Ca^{2+} จะจับกับ calmodulin ซึ่งจะไปเร่งการทำงานของเอนไซม์ myosin light chain kinase (MLCK) จึงทำให้เกิด phosphorylation โดยจะเปลี่ยน myosin จากที่ทำงานไม่ได้ให้ทำงานได้ ทำให้จับกับ actin เกิด cross-bridge จึงเกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อ นอกจากนี้การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบยังเกิดได้จากสารพวก agonist เช่น oxytocin และ prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) ซึ่งจะไปจับกับ receptor จำเพาะที่อยู่บนผนังเซลล์ มีผลกระตุ้น phospholipase C ผ่านทาง G-protein เกิดการผลิต secondary messenger 2 ตัว คือ inositol triphosphate (IP_3) และ diacylglycerol (DG) โดย IP_3 จะจับกับ receptor บน sarcoplasmic reticulum (SR) มีผลกระตุ้นให้มีการหลั่ง Ca^{2+} ออกมาจาก SR ส่วน DG จะกระตุ้น protein kinase C (PKC) มีผลทำให้ receptor-operated Ca^{2+} channels เปิดออก ทำให้ Ca^{2+} จากภายนอกเซลล์ไหลเข้าภายในเซลล์ ปริมาณ Ca^{2+} ใน cytoplasm สูงขึ้น และเกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อ นอกจากนี้การหดตัวยังสามารถเกิดได้จากการเปลี่ยนแปลงศักย์ไฟฟ้าของผนังเซลล์ คือ เกิด depolarization มีผลทำให้ voltage-operated Ca^{2+} channels เปิดออก Ca^{2+} ภายในเซลล์สูงขึ้น เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อได้เช่นกัน (Marieb and Hoehn, 2007)



ภาพที่ 5 แสดงกลไกการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ (สืบค้นจาก: http://www.mfi.ku.dk/ppaulev/chapter2/kap%202.htm)

ตำรับยาไฟห้ากอง และเจตมูลเพลิงแดง

ตามตำราแพทย์แผนโบราณทั่วไป สาขาเภสัชกรรม ระบุว่าตำรับยาไฟห้ากองซึ่งประกอบด้วย รากเจตมูลเพลิงแดง ขิง พริกไทยล่อน สารส้ม ฝักส้มป่อย หนักสิ่งละ 1 ส่วน นำมาบดเป็นผง ละลายน้ำสุกหรือสุรา รับประทานวันละ 3 ครั้ง ครั้งละ 1 ช้อนชา ก่อนอาหาร มีสรรพคุณทำให้สามารถขับน้ำคาวปลาในเรือนไฟ และช่วยให้มดลูกเข้าอู่

เจตมูลเพลิงแดงมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Plumbago indica* Linn. หรือ *Plumbago rosea* Linn. เป็นพืชในวงศ์ Plumbaginaceae มีลักษณะเป็นไม้พุ่มขนาดเล็กสูงประมาณ 1-2 เมตร ลำต้นสีเขียวออกแดงเข้ม ใบเดี่ยว รูปรีแกมรูปไข่ ยาว 3-13 เซนติเมตร โคนใบมนหรือกลม ปลายใบแหลม ใบบาง สีเขียวอมแดง ก้านช่อดอกยาว 1-3 เซนติเมตร มีต่อมทั่วไป ดอกช่อสีแดง หรือม่วง ผลเป็นฝักกลม จะแตกออกเมื่อแก่ เจตมูลเพลิงแดงมีเขตการกระจายพันธุ์กว้างในเขตร้อน ในประเทศไทยพบกระจายห่างๆ เกือบทุกภาค พบตามป่าดงดิบ และป่าเบญจพรรณทั่วไป รากสีน้ำตาลดำ เป็นเส้นๆ (Smith, 1997 และ วิทย์, 2531)

ภาพที่ 6 แสดงเจตมูลเพลิงแดง (สืบค้นจาก: http://saiyathai.com/herb/240000.htm)

ในตำราสมุนไพรไทยระบุว่าเจตมูลเพลิงแดงมีสรรพคุณต่างๆ เช่น ใบมีรสร้อน ใช้แก้น้ำดีนอฝัก แก้ลมในกองเสมหะ ช่วยย่อยอาหาร ขับผายลม ดอกรสร้อน ใช้แก้น้ำดีในฝัก ต้นรสร้อน ใช้แก้โลหิตอันเกิดแต่กองกำเดา รากรสร้อน ใช้บำรุงธาตุ บำรุงโลหิต ขับลมในกระเพาะอาหาร และลำไส้ ขับโลหิตระดู แก้ริดสีดวงทวาร เกลื่อนฝี ให้ความอบอุ่นแก่ร่างกาย กระจายเลือดลม แก้ปวดท้อง แก้ท้องเสีย ช่วยขับน้ำคาวปลา มีฤทธิ์บีบมดลูก ทำให้แท้งได้ หรือทาแก้โรคผิวหนัง และกลากเกลื้อน (http://www.thaifitway.com/education/ndata/N1db/question.asp?QID=1)

สารสำคัญที่พบในส่วนรากของเจตมูลเพลิงแดงคือ plumbagin (5-hydroxy, 2-methyl, 1-4 naphthoquinone), sitosterol glycoside, fatty alcohol, tannins และอนุพันธ์ของสารในกลุ่ม naphthoquinone (Komaraiah *et al*., 2002) ซึ่ง plumbagin และอนุพันธ์ของสารในกลุ่ม naphthoquinone มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาหลายอย่าง เช่น มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา และเชื้อแบคทีเรีย (Didry

et al., 1994) ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งในหนูทดลองได้ (Parimala and Sachdanandam, 1993) โดยมีการสกัด plumbagin จากรากของเจตมูลเพลิงแดง และฉีดให้สัตว์ทดลองทางช่องท้องขนาด 5 mg/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม พบว่าทำให้ cell cycle ของสัตว์ทดลองเปลี่ยนแปลงไป (Devi *et al*., 1998)

สารสกัดเจตมูลเพลิงแดงด้วย methanol สามารถป้องกันการหนาตัว และการเสียสภาพของผนังหลอดเลือดแดง และยับยั้งการอักเสบในหนูทดลองได้ (Mary *et al*., 2003) เมื่อทำการทดสอบโดยให้สารสกัดจากรากเจตมูลเพลิงแดงแก่หนูทดลองขนาด 1000 mg/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม/วัน เป็นเวลา 12 วัน โดยเริ่มจากระยะ proestrus มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะโครงสร้างของเยื่อบุมดลูกชั้น epithelium โดยทำให้ microvilli ลดลง (Sarma and Mahanta, 2000) นอกจากนี้ Sheeja และคณะ (2009) ยังพบว่าสารสกัดจากใบเจตมูลเพลิงแดงด้วย ethanol และ acetone และสารสกัดจากลำต้นเจตมูลเพลิงแดงด้วย acetone (Sheeja *et al*., 2008) ส่งผลให้ estrus cycle ในหนูทดลองเปลี่ยนแปลงไป โดยทำให้ระยะ diestrus นานขึ้น ส่งผลให้ยับยั้งการตกไข่ในสัตว์ทดลอง (antiovulatory activity)

นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าสารสกัดจากรากเจตมูลเพลิงแดง สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียซึ่งเป็นสาเหตุของโรคพืชได้หลายชนิด (Leksomboon *et al*., 2002) โดยมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria brassicicola*, *Curvularia lunata*, *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Pestalotiopsis* sp. (ชลิดา และคณะ, 2545) นอกจากนี้ สิริวรรณ สมิทธิอาภรณ์ และคณะ (2546) ได้ทำการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ของสารสกัดด้วย ethanol จากส่วนของราก ใบ และลำต้นเจตมูลเพลิงแดง พบว่าสารสกัดจากรากแสดงผลการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราได้ 100 เปอร์เซ็นต์ แต่พบว่าสารสกัดจากรากเจตมูลเพลิงแดงไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *Escherichia coli* O157 : H 7 และ *Yersinia enterocolitica* ได้ (Stonsaovapak *et al*., 2000) นอกจากนี้ยังมีผลในการยับยั้งการลอกคราบของแมลงได้อีกด้วย (Kubo *et al*., 1983)

ขิง

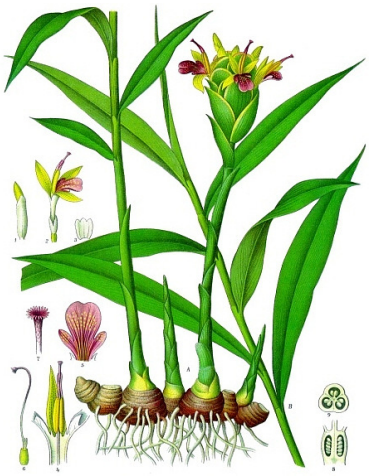
Kingdom	Plantae
Devision	Magnoliophyta
Class	Liliopsida
Order	Zingiberales
Family	Zingiberaceae
Genus	Zingiber
Species	officinale

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Zingiber officinal* Roscoe.

ชื่ออังกฤษ Ginger

ชื่อไทย ขิง

ชื่ออื่นๆ ขิงแกลง ขิงแดง (จันทรบุรี) ขิงเผือก (เชียงใหม่) สะเอ (แม่ฮ่องสอน) ขิงบ้าน ขิงแครง ขิงป่า ขิงเขา ขิงดอกเดียว



ภาพที่ 7 แสดงลักษะของขิง (สืบค้นจาก: http://www.nzenzeflowerspauwels.be/ZingOffi.JPG และ http://www.payer.de/ayurveda/pflanzen/zingiber_officinale.htm)

ขิงเป็นพืชล้มลุก ที่มีถิ่นกำเนิดในทวีปเอเชีย และหมู่เกาะแปซิฟิก มีเหง้าหรือแง่งอยู่ใต้ดินเป็นลำต้นแท้ เปลือกนอกเป็นเยื่อหุ้มสีน้ำนวลแกมเหลือง แทงหน่อเป็นกอ เป็นลำต้นเทียม (psuedostem) เกิดจากใบหุ้มซ้อนอัดกันแน่น ใบเป็นใบเดี่ยวออกเรียงสลับเป็นสองแถว ใบบางเป็นรูปหอกยาว ประมาณ 15-27 เซนติเมตร ออกดอก และติดผลน้อยมาก ดอกออกรวมกันเป็นช่อแทงขึ้นมาจากเหง้า มีกาบรองรับ โคนกลีบดอกม้วนห่อ ปลายกลีบผายกว้างออก ผลมีลักษณะกลมแข็ง เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1 เซนติเมตร

ส่วนที่นำมาใช้ประโยชน์หลักทั้งด้านอาหาร และด้านการแพทย์คือ เหง้าหรือแง่ง ซึ่งมีรสหวานเผ็ดร้อน มักใช้ทำเป็นเครื่องเทศ เครื่องดื่ม ใช้สำหรับแต่งกลิ่น ซึ่งทางยามีสรรพคุณช่วยขับลม บรรเทาอาการท้องอืด ท้องเฟ้อ คลื่นไส้อาเจียน ไอ หอบ ขับปัสสาวะ บำรุงธาตุ รักษาบิด ซึ่งอายุการเก็บเหง้าขิงมาใช้ขึ้นกับความต้องการในการใช้ประโยชน์ ขิงอ่อนจะนำมาใช้เมื่อมีอายุ 4-6 เดือนซึ่งเป็นระยะที่ขิงมีเนื้ออ่อนสีขาวเหลืองอ่อน เสี้ยนน้อย ในขณะที่ขิงแก่จะเก็บมาใช้เมื่อมีอายุประมาณ 8-12 เดือน ขิงแก่จะมีรสที่เผ็ดกว่า เนื่องจากมี gingerol shogaol และ zingerine ในปริมาณมาก นอกจากเหง้าส่วนอื่นของขิงก็มีการนำมาใช้ประโยชน์ ได้แก่ ใบ รสเผ็ดร้อน ใช้บำรุงกำเดา แก้ฟกช้ำ แก้นิ่ว แก้ขัดปัสสาวะ แก้โรคตา ฆ่าพยาธิ

ต้น รสเผ็ดร้อน ใช้ขับผายลม บรรเทาอาการจุกเสียดแน่นเฟ้อ แก้ท้องร่วง

ดอก รสเผ็ดร้อน ช่วยทำให้ชุ่มชื่น ช่วยย่อยอาหาร บำรุงไฟธาตุ รักษานิ่ว แก้ขัดปัสสาวะ

ผล รสหวานเผ็ด บำรุงน้ำนม แก้ไข้ แก้คอแห้ง เจ็บคอ แก้ตาฟาง แก้วิงเวียน

ราก รสหวานเผ็ดร้อนขม ช่วยขับลม ทำให้เจริญอาหาร ขับเสมหะ

เปลือกเหง้า ขับปัสสาวะ ขับลม แก้ท้องอืดแน่น รักษาโรคผิวหนัง กลากเกลื้อน แผลมีหนอง (สมพร, 2546 และ กมลวรรณ และคณะ, 2552)

สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบของขิงนอกจากแป้งซึ่งมีมากกว่า 50 % แล้วยังมีพวก oleo-resin ซึ่งทำให้ให้มีรสเผ็ด กลิ่นหอม และมีน้ำมันหอมระเหยประมาณ 1-3 % ซึ่งส่วนใหญ่เป็นกลุ่ม monoterpenoid ได้แก่ citral, terpineol, borneol, curcumene, geraniol, β-phellandrene, camhene และกลุ่ม sesquiterpenoids ได้แก่ α-zingiberene, β-sesquiphellandrene, β-bisabolene และ zingiberol เป็นต้น (Ali *et al*., 2008)

ในตำรายาแผนโบราณได้มีการนำขิงมาใช้เป็นส่วนประกอบได้แก่ ยาประสะกะเพรา ยาประสะกานพลู ยาวิสัมพยาใหญ่ ยาธาตุบรรจบ ยาธรณีสัณฑาต ยาหอมอินทจักร ยาหอมเนาวโกฐ ยาประสะไพล ยาไฟประลัยกัลป์ ยาไฟห้ากอง ยาแก้ปวดข้อ ปวดหลังปวดเอว ปวดเมื่อยตามตัว ยาแก้แพ้ท้อง ยาแก้ไข้มาราเรียหรือไข้จับสั่น และยาขับลมในลำไส้ (กมลวรรณ และคณะ, 2552) Nicoll และ Henein (2007) คาดว่าขิงน่าจะมีประสิทธิภาพในการรักษาโรคหลอดเลือดหัวใจได้เนื่องจากมีรายงานวิจัยที่แสดงประสิทธิภาพของขิงในการต้านการอักเสบ ต้านอนุมูลอิสระ ต้านการแข็งตัวของเกร็ดเลือด ลดระดับความดัน และลดปริมาณไขมันได้ ในปี 2008 Ali และคณะได้รวบรวมรายงานวิจัยฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาต่างๆ ของขิงได้แก่ ผลต่อปริมาณไขมัน และระดับกลูโคส ผลต่อการแข็งตัวของเลือด ผลต่อระดับความดันเลือด ฤทธิ์ต้านอาการอักเสบ และแก้ปวด ผลของขิงที่เกี่ยวข้องกับระบบทางเดินอาหาร ผลต่อเนื้อเยื่อ และผลการป้องกันสารรังสีของขิง ปฏิกิริยาระหว่างยากับขิง ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพของขิง และนอกจากนี้ยังมีงานวิจัยอีกมากมายที่ศึกษาเกี่ยวกับขิง ได้แก่

Thomson และคณะ (2002) ศึกษาการใช้สารสกัดขิงแบบ *ex vivo* กับหนูทดลอง (ได้รับทางปาก) พบว่าสารสกัดขิงด้วยน้ำ ในขนาด 50 mg/kg สามารถลดระดับ prostaglandin ในซีรั่ม ส่วนขนาด 500 mg/kg สามารถลดระดับ thomboxanane-B2 (ได้รับทางปาก) และ cholesterol ในซีรั่ม (ได้รับทางช่องท้อง) ซึ่งจากผลการทดลองสนับสนุนว่าขิงน่าจะสามารถใช้ลดระดับ cholesterol ได้

Penna และคณะ (2003) ศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดด้วยแอลกอฮอล์ของขิง ซึ่งศึกษาจากผลการลดอาการบวมของฝ่าเท้า และผิวหนังของหนูทดลอง ซึ่งคาดว่าฤทธิ์ต้านอาการบวมนี้มีความเกี่ยวข้องกับ serotonin receptor

Lantz และคณะ (2007) ศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดขิงโดยแสดงให้เห็นว่าสามารถยับยั้ง prostragradin E_2 และสารสกัดที่มี gingerol ปริมาณมากสามารถยับยั้งการแสดงของ COX-2 ได้

Bhandari และคณะ (2005) ศึกษาผลของสารสกัด ethanol ของขิงพบว่าสารสกัดสามารถป้องกันเนื้อเยื่อจากภาวะ lipid peroxidation ได้ โดยสารสกัดขิงสามารถลดระดับไขมันในหนูทดลองที่ถูกกระตุ้นภาวะเบาหวานโดย streptozotocin และจากการศึกษา ของ Goyal และ Kadnur (2006) พบว่าสารสกัดขิงด้วย methanol และ ethyl acetate ทำให้หนูทดลองที่ได้รับสารสกัดขนาด 250 mg/kg มีน้ำหนักตัว ระดับกลูโคส ระดับอินซูลิน และระดับไขมันลดลง ในกลุ่มหนูที่ถูกกระตุ้นให้เป็นเบาหวานโดย goldthiioglucose

Ajith และคณะ (2007, 2007 และ 2008) ได้ศึกษาถึงความสามารถของสารสกัดขิงในการลดภาวะไตล้มเหลวจากการได้รับยาต้านมะเร็ง cisplatin ภาวะความเป็นพิษต่อไตจากการกระตุ้นด้วยยาต้านมะเร็ง doxorubicin และภาวะความเป็นพิษต่อตับของยา acetaminophen ซึ่งความสามารถในการป้องกันภาวะเหล่านี้เป็นผลมาจากการที่สารสกัดขิงมีความสามารถในการลดระดับสารต้านอนุมูลอิสระของยาเหล่านี้

Stoilova และคณะ (2007) และ Ippoushi และคณะ (2007) ได้ศึกษาเกี่ยวฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดขิง ในการศึกษาระดับ *in vitro* และ *in vivo* ทำให้เห็นว่าสารสกัดขิงมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสสระได้ และน่าจะมีความสามารถในการป้องกันการเกิดมะเร็งได้ด้วย

Asami และคณะ (2010) ศึกษาเกี่ยวกับเภสัชจลนศาสตร์ของ [6]-shogaol ซึ่งเป็นสารที่ให้กลิ่นของขิง พบว่าร่างกายจะสามารถเมตาบอลิซึม [6]-shogaol และจะขับออกในรูปของสารเมตาบอไลท์ โดยอาศัยการขับออกทางอุจจาระเป็นหลักซึ่งมีความเกี่ยวของกับการขับออกโดยน้ำดี

Lin และคณะ (2010) ศึกษาเกี่ยวกับผลต่อพยาธิ *Angiostrongylus cantonensis* ซึ่งพบว่าสาร [6]-gingerol, [10]-gingerol, [6]-shogaol และ hexahydrocurcumin ที่แยกได้จากเหง้าขิงมีผลต่อระยะตัวอ่อน (larvae) ซึ่งสารเหล่านี้อาจนำมาใช้ในการฆ่าพยาธิ *Angiostrongylus cantonensis*

Lakshmi และ Sudhakar (2010) ศึกษาผลของสารสกัด ethanol ของขิงในลดภาวะความเครียดในหนูทดลอง พบว่าสารสกัดขิงสามารถเปลี่ยนแปลงสารชีวโมเลกุล และลักษณะทางกายภาพในหนูที่ได้การกระตุ้นโดยภาวะเครียดอย่างมีนัยสำคัญ

นอกจากคุณประโยชน์ของขิงในด้านต่างๆ แล้วก็ควรคำนึงถึงผลข้างเคียงเกี่ยวในการใช้สมุนไพรชนิดนี้ด้วยเช่นกัน เนื่องจากขิงเป็นสมุนไพรที่มีรสเผ็ดร้อน อาจทำให้ผู้ที่มีความไม่สมดุลในร่างกายอยู่แล้วมีอาการร้อนอุ้งมือ อุ้งเท้า เหงื่อออกมาก ปากคอแห้ง ชีพจรเต้นเร็วได้ สำหรับงานวิจัยเกี่ยวกับผลข้างเคียงของขิงนั้น มีรายงานในการทดลองกับหนูที่ตั้งท้องว่าส่งผลกระทบต่อตัวอ่อน และแม้ว่ายังไม่มีงานวิจัยสนับสนุนอย่างชัดเจนก็ควรพิจารณาหลีกเลี่ยงการนำขิงมาใช้ระงับอาการอาเจียนในหญิงตั้งครรภ์ และพบว่าขิงอาจมีฤทธิ์ทำให้เกิดอาการท้องเสียอ่อนๆ ได้ นอกจากนี้พบว่าการได้รับขิงในปริมาณที่มากอาจทำให้เกิดการระคายเคืองกระเพาะอาหาร และฝุ่นจากขิงอาจทำให้เกิดการระคายเคืองจากการกระตุ้น IgE ได้เมื่อผ่านทางการสูดดม (Ali *et al*., 2008)

พริกไทย

Kingdom	Plantae
Devision	Magnoliophyta
Class	Magnoliopsida
Order	Piperales
Family	Piperaceae
Genus	Piper
Species	nigrum

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Piper nigrum* Linn.

ชื่ออังกฤษ Pepper

ชื่อไทย พริกไทย

ชื่ออื่นๆ พริกน้อย (ภาคเหนือ) พริก (ภาคใต้) พริกขี้นก

ภาพที่ 8 แสดงพริกไทยล่อน และพริกไทยดำ (สืบค้นจาก: http://www.boonrarat.net/nongpai49/kebruksa.htm)

พริกไทยเป็นไม้เลื้อยอายุยืนประมาณ 15 ปี มีความสูงประมาณ 5 เมตร ลำต้นมีลักษณะเป็นข้อโป่ง มีระบบรากขนาดใหญ่อยู่ใต้ดิน และมีขนาดเล็กอยู่บริเวณข้อ ใบเป็นใบเดี่ยว โคนใบแหลม ปลายใบมน ขนาดประมาณ 6×10 เซนติเมตร (กว้าง×ยาว) ผิวใบมีลักษณะเป็นมัน ใบด้านบนสีเข้มกว่าด้านล่าง ดอกมีขนาดเล็กสีขาวแกมเขียว ดอกออกเป็นช่อ โดยช่อดอกมีความยาวประมาณ 7-14 เซนติเมตร ออกช่อดอกตามข้อเป็นดอกย่อย ดอกสมบูรณ์เพศ ผลมีลักษณะกลมขนาดประมาณ 3-6 มิลลิเมตร ติดกันเป็นพวง ผลอ่อนมีเขียว ผลแก่มีสีส้มหรือแดง พริกไทยที่นำมาใช้ประโยชน์มีอยู่ 2 ลักษณะ คือ พริกไทยล่อน และพริกไทยดำ ซึ่งได้มาจากพืชชนิดเดียวกัน แตกต่างกันที่ระยะเวลาการเก็บ และวิธีการเตรียม

พริกไทยดำ (black pepper) ได้จากการการเก็บผลพริกไทยที่มีสีเขียวโตเต็มที่ แต่ยังไม่สุก มาตากแดดให้แห้ง ดังนั้นพริกไทยดำจึงมีลักษณะผิวดำเหี่ยวย่นของเปลือกชั้นนอกผลหุ้มอยู่ ขณะที่พริกไทยล่อน (white pepper) ได้จากการเก็บผลพริกไทยที่แก่จัดซึ่งผลจะมีสีแดง จากนั้นนำไปแช่น้ำเพื่อให้เปลือกลอกออกเหลือแต่ในส่วนของเมล็ด นำไปตากแดดให้แห้งจะได้เมล็ดพริกไทยที่มีลักษณะสีขาว

ผล และเมล็ดพริกไทยถูกนำมาใช้ประโยชน์ได้หลายลักษณะทั้งในการประกอบอาหาร ยาสมุนไพร หรือแม้แต่การนำเอาน้ำมันสกัดพริกไทยมาเป็นส่วนประกอบในน้ำหอม สรรพคุณทางยานิใช้ผล และเมล็ดของพริกไทยซึ่งมีรสเผ็ดร้อน มีสรรพคุณในการขับลม แก้ท้องอืดท้องเฟ้อ ขับเสมหะ ขับเหงื่อ ขับปัสสาวะ ซึ่งพริกไทยดำ และพริกไทยล่อนมีองค์ประกอบสารเคมีที่คล้ายคลึงกัน สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบในพริกไทย ได้แก่ สารกลุ่มแอลคาลอยด์ เช่น Piperine, Piperidin, Chavicine และ Piperettine เป็นต้น สารกลุ่มเทอร์ปีน ฟลาโวนอยด์ สเตอรอลย์ และน้ำมันหอมระเหย เช่น *trans*-caryophyllene, β -pinene, β-3-carene, α- pinene, limonene, α- copaene และ α- elemene เป็นต้น โดยพบว่าพริกไทยดำมีปริมาณของน้ำมันหอมระเหยมากกว่าพริกไทยล่อน ซึ่งนอกจากผล และเมล็ดของพริกไทยแล้ว ส่วนอื่นๆ ของพริกไทยยังสามารถนำมาใช้ประโยชน์ทางยาพื้นบ้านได้โดยมีสรรพคุณดังนี้

ใบ รสเผ็ดร้อน แก้ลมจุกเสียด แก้ปวดมวนท้อง

ดอก รสร้อน แก้ตาแดง

เถา รสร้อน แก้อุระเสมหะ แก้อติสาร

ก้าน รสเผ็ด ล้างแผลอัณฑะ

ราก รสร้อน ขับลมในลำไส้ แก้ปวดท้อง แก้ลมวิงเวียน ช่วยย่อยอาหาร

ทั้งต้น รสเผ็ดร้อน แก้จุกเสียดแน่นท้อง แก้ปวดมวนท้อง บำรุงธาตุ แก้อาการนอนไม่หลับ ขับลม ช่วยย่อยอาหาร ขับลมในลำไส้ ขับเสมหะ แก้ไข้หวัด แก้ท้องเสีย แก้ลมบ้าหมู แก้หิด แก้ไอ ฟอกเลือดประจำเดือน (สมพร, 2546 และ ภัสสร และคณะ, 2552)

ในตำราแผนโบราณหลายตำรับได้มีการนำพริกไทยมาใช้เป็นส่วนประกอบ ได้แก่ยามันทธาตุ ยาไฟปรัยกัลป์ ยาไฟห้ากอง ยาประสะเจตพังคี ยาธรณีสันฑะฆาต ยาเนาวหอย ยาแก้สตรีโลหิตเป็นก้อนในท้อง ยาแก้สตรีเป็นมุตกิตระดูออกกลิ่นเหม็น ยาแก้สตรีเป็นไข้ทับระดู ยาแก้เส้นเอ็นเมื่อยขบ เจ็บเอวเจ็บหลัง ยาแก้อาการมือเท้าชา อ่อนกำลัง ยาแก้โรคกษัยเส้น ยาแก้โรคลมทำให้เสมหะดันออกจุกแน่นบริเวณยอดอก ยาแก้ลมจุกแน่นในท้อง และปวดมวนในท้องอย่างแรง ยอดยากินแก้โรคหอบหืด ยาแก้อาการเจ็บในลำคอ ยาแก้กระดูกงอกทับเส้นประสาท ซึ่งสรรพคุณของพริกไทยจะใช้ในการขับลม กระจายลม (ภัสสร และคณะ, 2552) และนอกจากนี้มีรายงานเกี่ยวกับฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัด และสารที่แยกได้จากพริกไทยมากมาย ได้แก่

Hamss และคณะ (2003) พบว่าสารสกัดพริกไทยด้วยน้ำมีฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ใน *Drosophila melanogaster* เมื่อทดสอบโดย wing somatic mutation และ recombination test (SMART) กระตุ้นการกลายพันธุ์ด้วย ethyl carbamate ซึ่งการได้รับสารสกัดก่อนการได้สารก่อกลายพันธ์จะเกี่ยวข้องกับกลไกการระงับกระบวนการ metabolite หรือส่งผลกับหมู่ active group ของสารก่อกลายพันธุ์

Ingkaninan และคณะ (2003) ได้ศึกษาเพื่อตรวจสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ acethylcholinesterase ในพืชสมุนไพรไทย ซึ่งเอนไซม์ acethylcholinesterase นั้นมีความเกี่ยวข้องกับภาวะโรคอัลไซเมอร์ โดยพบว่าสารสกัด methanol ของผลพริกไทยมีฤทธิ์ต้านเอนไซม์ acethylcholinesterase 58.02 ± 3.83%

Reddy และคณะ (2004) พบว่า 2E, 4E, 8Z-N-isobutyleicosatrienamide, pellitorine, trachyone, pergumidiene และ isopiperrolein ซึ่งแยกสกัดผลพริกไทยด้วย petroleum ether โดย Soxhlet apparatus เป็นเวลา 36 ชั่วโมง มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก (*Bacillus subtilis, Bacillus sphaericus* และ *Staphylococcus aureus*) และแบคทีเรียแกรมลบ (*Klebsiella aerogenes* และ *Chromobacterium violaceum*)

Rho และคณะ (2006) พบว่าสาร retrofractamide A, pipercide, piperchabamide, pellitorin และ dehydroretrofractamide ซึ่งแยกสกัดด้วย methanol ของผลพริกไทยมีฤทธิ์ยับยั้ง cholesterol acyltransferase 2 (ACAT2) ทั้งการศึกษาในไมโครโซมของตับหนูแร็ท (IC_{50} = 24.5, 3.7, 13.5, 40.5 และ 90 μM ตามลำดับ) และ HepG2 cell ซึ่ง ACAT เป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยา cholesterol esterification ปฏิกิริยานี้มีความเกี่ยวข้องกับระดับ cholesterol ในซีรั่ม และ lipoprotein ในพลาสมาของภาวะ hyperlipoproteinemia

Usia และคณะ (2006) ศึกษาสารสกัดสมุนไพรที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ CYP3A4 และ CYP2D6 ซึ่งเป็นเอนไซม์ cytochrome P450 (CYP) มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเร่งเมตาบอลิซึมของยา และ xenobiotic ซึ่งจากการศึกษาพบว่าสารสกัดด้วยน้ำของใบพริกไทยในส่วนสกัดที่ละลาย methanol และ ethyl acetate มีฤทธิ์ยับยั้ง CYP3A4 91.7% และ 85.8% ตามลำดับ สารสกัดด้วยน้ำผลพริกไทยในส่ว

สกัดที่ละลาย ethyl acetate มีฤทธิ์ยับยั้ง CYP3A4 84.0% ขณะที่ส่วนสกัดที่ละลาย ethyl acetate ผลและใบพริกไทยมีฤทธิ์ยับยั้ง CYP2D6 72.8% และ 69.1% ตามลำดับ Subehan และคณะ (2006) พบว่าสารสกัด methanol ของพริกไทยมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ CYP2D6 33.8% หลังจาก preincubation 20 นาที และพบว่าฤทธิ์ในการยับยั้งนี้แปรผันตามเวลา เมื่อทดสอบที่ความเข้มข้น 0.05 mg/ml

Selvendiran และคณะ (2006) พบว่า piperine มีฤทธิ์ในการกดการกระตุ้นให้เกิดมะเร็งปอดด้วย benzo (α) pyrene ในหนู Swiss albino ซึ่งการได้รับ piperine ขนาด 50 mg/kg สามารถลดปริมาณโปรตีน และโปรตีนซึ่งจับกับคาร์โบไฮเดรต ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับภาวะ tumorigenesis

Pathak และ Khandelwal (2006 และ 2007) ได้ศึกษาเพื่อยืนยันเกี่ยวกับสาร piperin ที่สกัดได้จากพริกไทย และพริกว่ามีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ต้านกระบวนการ apoptotic และการป้องกันเซลล์จากเคมี (chemo-protective) ในกระบวนการ blastogenesis การปล่อย cytokine การฟื้นขึ้นใหม่ของเซลล์ในสัตว์ทดลอง ซึ่งเกี่ยวข้องกับคุณสมบัติในการปรับสารภูมิคุ้มกัน (immunomodulation) และการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (phenotypic alteration)

Chatterjee และคณะ (2007) พบว่า 3,4-dihydroxyphenyl ethanol glucoside, 3,4-dihydroxy-6-(N-ethylamino) benzamide และ phenolic acid glycoside ซึ่งแยกสกัดได้จากผลพริกไทยสดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เมื่อทดสอบโดยวิธี DPPH และมีฤทธิ์ป้องกันอนุมูลอิสระที่มีฤทธิ์ทำลายเซลล์

Kumar และคณะ (2007) ศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบของ piper ว่าน่าจะเป็นผลมาจากการที่ piperine มีฤทธิ์ในลดการกระตุ้น TNF-α ซึ่งส่งผลต่อการยับยั้งกระบวนการ phosphorylation และกระบวนการ degradation ของ IκBα และการกระตุ้น cell adhesion molecule เช่น ICAM-1, VCAM-1 และ E-selectin

Lee และคณะ (2008) พบว่า piperrrolein, pellitorin และ dehydropipernonaline ซึ่งแยกได้จากส่วนสกัด ethanol ของผลพริกไทยมีฤทธิ์ในการยับยั้ง cell adhesion ระหว่าง lymphocyte function-association antigen-1 (LFA-1) กับ intercellular cell adhesion molecule-1 (ICAM-1) ซึ่งเกี่ยวข้องกับกระบวบการอักเสบ โดยศึกษาใน THP-1 cell ค่า IC_{50} เท่ากับ 13.4, 13.5 และ 6.0 μg/ml ตามลำดับ

Wattanathorn และคณะ (2008) ทำการศึกษาผลของ piperine ที่เกี่ยวข้องกับภาวะอารมณ์ และการรับรู้ที่ผิดปกติ พบว่า piperine อาจจะมีผลต่อการพัฒนาหน้าที่ของสมอง โดยขนาด piperine ที่ใช้ในการทดลองมีฤทธิ์ต้านอาการซึมเศร้าในสัตว์ทดลอง

Chonpathompikunlert และคณะ (2010) ศึกษาผลของ piperine เกี่ยวกับการป้องกันการเสื่อมของระบบประสาท และการรับรู้ที่ผิดปกติในหนูทดลอง ซึ่งพบว่าหนูทดลองที่ได้รับ piperine (5, 10 และ 20 mg/kg) มีการพัฒนาความเสียหายของความจำ และความเสื่อมของระบบประสาท hippocampus ซึ่งน่าเป็นผลมาจากกลไกการลดลงของ lipid peroxidation และ เอนไซม์ acethylcholinesterase

โดยโครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาผลของสารสกัดตำรับยาไฟห้ากอง และสารสกัดเจตมูลเพลิงแดงต่อการหดตัวของมดลูกในหนูแร็ท เพื่อให้ได้ข้อมูลพื้นฐานในการศึกษากลไกการออกฤทธิ์ และสำหรับหาแนวทางในการพัฒนาตำรับยา และพืชสมุนไพรไทยเพื่อให้เป็นที่ยอมรับในการนำไปใช้งานต่อไป

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

การควบคุมมาตรฐานสมุนไพร

เนื่องจากพริกไทยล่อน และขิงเป็นสมุนไพรในตำรับยาไฟห้ากองและมีข้อกำหนดมาตรฐานไว้ในตำรามาตรฐานสมุนไพร ดังนั้นเพื่อให้ให้ตำรับยาที่เตรียมขึ้นใช้ทดสอบในงานวิจัยนี้ได้มาตรฐาน ผู้วิจัยจึงจัดทำการควบคุมมาตรฐานตามที่ได้กำหนดไว้

1. การควบคุมมาตรฐานพริกไทยล่อนตามข้อกำหนดมาตรฐานสมุนไพรใน THAI HERBAL PHARMACOPIA VOL 1. แต่ได้ปรับวิธีการทดสอบให้เหมาะสมกับเครื่องมือ และอุปกรณ์ของห้องปฏิบัติการ

1.1 การตรวจสอบเซลล์พริกไทยล่อนภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ใช้กล้องจุลทรรศน์ยี่ห้อ ZEIZSS Primo Star รุ่น Serien-3116003091 MWIS สังเกตเซลล์ดังต่อไปนี้ 1) Stone Cell 2) Beaker cells / Horse shoes shapes 3) Starch Grains 4) Large oil cells 5) Piperine และ 6) Brown pigment of testa

1.2 การทดสอบกลุ่มสาร

1.2.1 การทดสอบที่ 1 (Liebermann-Burchard Test)

1. นำพริกไทยล่อน 1 กรัม มาสกัดด้วย chloroform ปริมาตร 20 มิลลิลิตร
2. กรองสารละลาย A
3. หยดสารละลาย A 4 หยด ในถาดหลุม
4. หยด acetic anhydride 2 หยด
5. หยด sulfuric acid 2 หยด
6. สังเกตการเปลี่ยนแปลง

1.2.2 การทดสอบที่ 2 (Sulfuric Acid Test)

1. นำสารละลาย A จากการทดลองที่ 1 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร มาระเหยจนแห้ง (สาร A-1)
2. หยด ethanol 2 หยด บนสาร A-1
3. หยด sulfuric acid 2 หยด
4. สังเกตการเปลี่ยนแปลง

1.2.3 การทดสอบที่ 3 (Dragendorff's Test)

1. นำสารละลาย A จากการทดลองที่ 1 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร มาระเหยแห้ง (สาร A-2)
2. หยด ethanol 2 หยด (สาร A-2)

3. หยด acetic potassium iodobismuthate TS 5 หยด

4. สังเกตการเปลี่ยนแปลง

1.2.4 การทดลองที่ 4 (Ninhydrin Test)

1. นำผงพริกไทยล่อน 0.5 กรัม มาสกัดด้วย ethanol ปริมาตร 5 มิลลิลิตร

2. กรอง และระเหยสารละลายจนได้ปริมาตร 1 มิลลิลิตร

3. หยด ninhydrin TS 2 หยด

4. นำสารละลายที่ได้ไปอุ่นบน water bath ประมาณ 3 นาที

5. สังเกตการเปลี่ยนแปลง

1.3 Thin – Layer Chomatography

1. หมักผงพริกไทยล่อน 500 มิลลิกรัม กับ chloroform 5 มิลลิลิตร 10 นาที เขย่าให้เข้ากันกรอง และระเหยแห้ง ได้สารA-3

2. ละลายสาร A-3 ด้วย chloroform ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ได้ solution A-4

3. นำสารมาตรฐาน piperine 1 มิลลิกรัม ละลายด้วย chloroform 1 มิลลิลิตร ได้ solution B

4. หยด solution A-4 และ solution B บนแผ่น TLC GF_{254} และนำไปใส่ในระบบปิดที่อิ่มตัวด้วยเฟสเคลื่อนที่ hexane : ethyl acetate อัตราส่วน 60 : 40

5. สังเกตรูปแบบการแยกสารบนแผ่น TLC GF_{254} ดังต่อไปนี้

5.1 สังเกตแผ่น TLC ภายใต้การดูดกลืนแสง UV ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร และเปรียบเทียบกับข้อกำหนดมาตรฐานพริกไทยล่อนใน THAI HERBAL PHARMACOPIA VOL 1.

5.2 สังเกตหลังจากการ spray แผ่น TLC ด้วย acetic potassium iodobismuthate TS และเปรียบเทียบกับข้อกำหนดมาตรฐานพริกไทยล่อนในTHAI HERBA PHARMACOPIA VOL 1.

5.3 ทำเช่นเดียวกับข้อ 5.2 แต่ spray ด้วย 50% v/v sulfuric acid in methanol

5.4 ทำเช่นเดียวกับข้อ 5.3 แล้วให้ความร้อน

1.4 การหาปริมาณเถ้าทั้งหมด (Total Ash)

1. นำผงพริกไทยล่อน ประมาณ 4 กรัม ที่ทราบน้ำหนักแน่นอน ใส่ใน Crucible ที่ทราบน้ำหนักแน่นอนแล้ว

2. นำไปเผาจนได้เถ้าที่ปราศจากคาร์บอน สังเกตจากลักษณะเถ้า (เป็นสีขาว)

3. นำไปเผาต่อที่อุณหภูมิ 450 องศาเซลเซียส จนได้น้ำหนักเถ้าที่คงที่

4. คำนวณเปอร์เซ็นต์ของปริมาณเถ้าทั้งหมด

สูตรการคำนวณ

$$\text{ปริมาณเถ้าทั้งหมด (\% w/w)} = \frac{\text{(น้ำหนักเถ้าและ Crucible) ที่แน่นอน – น้ำหนัก CRUCIBLE เปล่าที่แน่นอน}}{\text{น้ำหนักผงพริกไทยล่อนก่อนเผา}} \times 100$$

ตามข้อกำหนดมาตรฐานพริกไทยล่อนจะต้องมีค่าไม่เกิน 4.0 % w/w

1.5 ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด (Acid - Insoluble Ash)

1. นำเถ้าทั้งหมด (Total Ash) มาต้มกับ 10% HCl 25 มิลลิลิตร เป็นเวลา 5 นาที

2. กรองเอาส่วนที่ไม่ละลาย ด้วยกระดาษกรองปราศจากเถ้า (ashless filter paper)

3. นำส่วนที่ไม่ละลาย มาล้างด้วยน้ำร้อนจนกระทั่งมีคุณสมบัติเป็นกลาง

4. นำส่วนที่ไม่ละลาย พร้อมกระดาษกรองปราศจากเถ้า ไปเผาที่อุณหภูมิประมาณ 500 องศาเซลเซียส จนได้น้ำหนักคงที่

5. คำนวณเปอร์เซ็นต์ของปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด

สูตรการคำนวณ

$$\text{ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด (\% w/w)} = \frac{(\text{น้ำหนักเถ้าที่ไม่ละลายในกรดและCrucible ที่แน่นอน} - \text{น้ำหนัก Crucible ที่แน่นอน})}{\text{น้ำหนักผงพริกไทยล่อนก่อนเผา}} \times 100$$

ตามข้อกำหนดมาตรฐานพริกไทยล่อนจะต้องมีค่าไม่เกิน 0.5 % w/w

1.6 การหาปริมาณน้ำมันหอมระเหย (Determination of Volatile oil)

1. นำผงพริกไทยล่อน 50 กรัม ใส่ใน round bottle flask ขนาด 500 มิลลิลิตรที่มีน้ำบรรจุอยู่ 250 มิลลิลิตร และนำไปต่อกับ cleveneaur apparatus

2. ใส่น้ำในส่วน graduated tube ของ cleveneaur apparatus จนถึงระดับ standard line

3. ใส่ xylene ปริมาตรที่แน่นอน 2 มิลลิลิตร ใน graduated tube (xylene จะอยู่บนน้ำใน graduated tube)

4. กลั่นผงพริกไทย โดยปรับให้มีระดับความเร็วของการกลั่นประมาณ 2 – 3 หยดต่อนาที เป็นเวลา 5 ชั่วโมง

5. รอจนเย็น แล้วปรับให้ระดับของสารผสมระหว่าง xylene และน้ำมันหอมระเหยอยู่ที่ระดับ zero line

6. อ่านปริมาตรระดับของสารผสมระหว่าง xylene และน้ำมันหอมระเหย

7. นำปริมาตรที่อ่านได้มาหักลบด้วยปริมาตร xylene 2 มิลลิลิตร จะได้ปริมาณน้ำมันหอมระเหยในผงพริกไทยล่อน

8. นำปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่ได้ไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ปริมาณน้ำมันหอมระเหยในพริกไทยล่อน

สูตรการคำนวณ

$$\text{ปริมาณน้ำมันหอมระเหย (\% v/w)} = \frac{\text{ปริมาณน้ำมันหอมระเหย}}{\text{น้ำหนักผงพริกไทยล่อน}} \times 100$$

ตามข้อกำหนดมาตรฐานพริกไทยล่อนจะต้องมีค่าไม่น้อยกว่า 0.8 % v/w

1.7 การหาปริมาณน้ำในสมุนไพร (Water Content): Azetropic Distillation Method

1. นำ toluene 200 มิลลิลิตร และน้ำ 2 มิลลิลิตร ใส่ใน round bottle flask ขนาด 500 มิลลิลิตรที่แห้งสนิท นำไปต่อกับ Dean – stark apparatus

2. กลั่นเป็นเวลา 2 ชั่วโมงแล้วตั้งทิ้งไว้ให้เย็น อ่านระดับน้ำที่กลั่นได้ (n)

3. นำผงพริกไทยล่อนประมาณ 50 กรัมที่ทราบปริมาณที่แน่นอน ใส่ลงใน round bottle flask และใส่ porous material กลั่นต่อ

4. เมื่อ toluene เดือด ให้ปรับระดับความเร็วของการกลั่นเป็น 2 หยดต่อวินาที และค่อยปรับระดับความเร็วไปที่ 4 หยดต่อวินาที กลั่นจนกระทั่งระดับของน้ำใน graduated tube คงที่

5. ล้าง condenser ด้วย toluene ปริมาณเล็กน้อย และกลั่นต่ออีกประมาณ 5 นาที

6. ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น รอจนกระทั่งน้ำ และ toluene แยกออกจากกัน อ่านระดับของน้ำที่กลั่นได้ (n')

7. นำมาคำนวณเปอร์เซ็นต์ปริมาณน้ำในผงพริกไทยล่อน

สูตรการคำนวณ

$$\text{ปริมาณน้ำในพริกไทยล่อน (\% v/w)} = \frac{100\,(n' - n)}{p}$$

** p น้ำหนักของพริกไทยล่อน

n' ปริมาณน้ำรวมที่อ่านได้จากการกลั่นทั้งสองครั้ง

n ปริมาณน้ำที่อ่านได้จากการกลั่นครั้งแรก

ตามข้อกำหนดมาตรฐานพริกไทยล่อนจะต้องมีค่าไม่เกิน 14 % v/w

1.8 การหาปริมาณสิ่งปลอมปน (Determination of Foreign Matter)

1. นำพริกไทยล่อน 100 – 500 กรัม เกลี่ยเป็นแผ่นบางๆ

2. เอาสิ่งปลอมปนออก โดยดูด้วยตาเปล่าหรือแว่นขยายกำลังขยาย 6 เท่า

3. นำสิ่งปลอมปนมาชั่งน้ำหนัก แล้วคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ปริมาณสิ่งปลอมปนในพริกไทยล่อน

สูตรการคำนวณ

$$\text{ปริมาณสิ่งปลอมปน (\% w/w)} = \frac{\text{น้ำหนักสิ่ง}}{\text{น้ำหนักพริกไทยล่อนเริ่มต้น}} \times 100$$

ตามข้อกำหนดมาตรฐานพริกไทยล่อนจะต้องมีค่าไม่เกิน 2 % w/w

1.9 การหาปริมาณแอลคาลอยด์ (Alkaloid Content)

1.9.1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ piperine กับ ค่าการดูดกลืนแสง UV (standard piperine curve)

1. นำ standard piperine ปริมาณ 5 มิลลิกรัม ที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอนใส่ volumetric flask ขนาด 25 มิลลิลิตร ละลายและปรับปริมาตรด้วย chloroform

2. ปิเปต standard piperine solution ในข้อ 1 ปริมาตร 0.6, 0.8 และ1.0 มิลลิลิตร ใส่ใน volumetric flask ขนาด 25 มิลลิลิตร

3. ปรับปริมาตรในแต่ละ flask ด้วย chloroform จนได้ 1 มิลลิลิตร และเติม chromotropic acid TS 10 มิลลิลิตร ในแต่ละ flask นำไปวางบน water bath 30 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น ค่อยๆ เติม dilute sulfuric acid 10 มิลลิลิตร แล้วตั้งให้เย็น ปรับปริมาตรด้วย dilute sulfuric Acid และวัดการดูดกลืนแสง UV ของ piperine solutions ที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร จากนั้นนำค่าที่ได้ไปสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของ standard piperine กับค่าการดูดกลืนแสง UV ที่ 570 นาโนเมตร

1.9.2 การหาปริมาณ piperine ในพริกไทยล่อน

1. นำผงพริกไทยล่อน 500 มิลลิกรัมที่ทราบน้ำหนักแน่นอนใส่ flask ขนาด 25 มิลลิลิตร หลังจากนั้นเติม chloroform 10 มิลลิลิตร แล้วนำไปวางบน water bath เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

2. มากรองผงพริกไทยด้วยกระดาษกรอง ถ่าย filtrate ใส่ใน volumetric flask ขนาด 250 มิลลิลิตร

3. นำพริกไทยล่อนที่ติดอยู่บนกระดาษกรอง เขี่ยลงใน flask สกัดเดิม แล้วเติม chloroform ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำไปวางบน water bath 6 ชั่วโมง (ทำซ้ำข้อ 2 จนกว่า filtrate ที่ได้ไม่มีแอลคาลอยด์เหลืออยู่)

4. ปรับปริมาตร filtrate ที่ได้ทั้งหมดด้วย chloroform จนได้ปริมาตร 25 มิลลิลิตร

5. นำสารสกัดพริกไทยล่อนในข้อ 4. ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ถ่ายใส่ volumetric flask ขนาด 25 มิลลิลิตร และเติม chromotropic acid TS 10 มิลลิลิตร นำไปวางบน water bath เป็นเวลา 30 นาที

6. ตั้งให้เย็น แล้วค่อยๆ เติม dilute sulfuric acid 10 มิลลิลิตร แล้วตั้งทิ้งไว้ให้เย็น และปรับปริมาตรด้วย dilute sulfuric acid

7. นำสารละลายในข้อ 6. ไปวัดการดูดกลืนแสง UV ที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร และนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณค่าหาปริมาณ piperine ในผงพริกไทยล่อน

สูตรการคำนวณ

$$\text{ปริมาณแอลคาลอยด์(\% w/w)} = \frac{\text{ปริมาณ piperine}}{\text{น้ำหนักพริกไทยล่อน}} \times 100$$

ตามข้อกำหนดมาตรฐานพริกไทยล่อนจะต้องมีค่าไม่น้อยกว่า 5 % w/w

วิธีทดสอบแอลคาลอยด์

1. นำปลายด้านหนึ่งของกระดาษกรองทรงสี่เหลี่ยมผืนผ้า เอาจุ่มลงในสิ่งทดสอบ และระเหยแห้ง (ทำซ้ำ 2 ครั้ง)

2. หยดสารละลาย potassium iodobismuthate TS บนกระดาษกรองข้างต้น แล้วสังเกตการเปลี่ยนแปลงของสี

2.1 ถ้าความเข้มของสีระหว่างสิ่งที่ทดสอบกับกระดาษกรองอยู่ในระดับเดียวกัน แสดงว่าไม่มีแอลคาลอยด์เหลืออยู่

2.2 ถ้าความเข้มของสีแตกต่างกัน แสดงว่ามีแอลคาลอยด์เหลืออยู่ในตัวอย่าง ต้องทำการสกัดต่อไปอีก (หากสังเกตไม่ชัดเจนให้เอาน้ำหยดเล็กน้อย แล้วสังเกตการเปลี่ยนแปลง)

หมายเหตุ การหาปริมาณแอลคาลอยด์ (Alkaloid Content) ได้มีการปรับเปลี่ยนวิธีการทดลองที่กำหนดไว้ใน THAI HERBAL PHARMACOPIA VOL 1. เนื่องจากอุปกรณ์ที่ใช้สกัดแอลคาลอยด์ที่มีอยู่มีความไม่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการทดลองนี้

2. การควบคุมมาตรฐานขิงตามข้อกำหนดมาตรฐานสมุนไพรใน Specification of Thai Medicinal plants volume 1

2.1 การตรวจสอบเซลล์ขิงล่อนภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ใช้กล้องจุลทรรศน์ยี่ห้อ ZEIZSS Primo Star รุ่น Serien-3116003091 MWIS สังเกตเซลล์ดังต่อไปนี้ 1) Fiber 2) Parenchymatous cell 3) Cork 4) Oleoresin cell 5) Reticulately and Scalariformly thickened Vessels และ 6) Starch

2.2 การทดสอบกลุ่มสาร

2.2.1 การทดสอบที่ 1 (Liebermann-Burchard Test)

1. นำผงขิง 0.5 กรัม และ acetic anhydride 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง นำไปอุ่นบน water bath เป็นเวลา 2 นาที

2. กรองแยกสารสกัด

3. นำสารสกัดที่ได้มาเติม Sulfuric acid 1 มิลลิลิตร แล้วสังเกตการเปลี่ยนแปลงบริเวณรอยต่อของสารสกัด และ Sulfuric acid

2.2.2 การทดสอบที่ 2 (Ferric chloride Test)

1. นำผงขิง 0.5 กรัม และน้ำ 10 มิลลิลิตรใส่ใน Erlenmeyer flask นำไปอุ่นบน water bath เป็นเวลา 10 นาที

2. กรองแยกสารสกัด

3. หยดสารทดสอบ Ferric chloride Test 1 หยดในสารสกัด ปริมาตร 2 มิลลิลิตร สังเกตการเปลี่ยนแปลง

2.2.3 การทดสอบที่ 3 (Iodine solution Test)

1. นำผงขิง 0.5 กรัม มาเติม 6% Acetic acid 10 มิลลิลิตร แล้วนำไปอุ่นบน Water bath เป็นเวลา 3 นาที

2. กรองแยกสารสกัด

3. นำสารสกัดที่ได้มาหยดสารทดสอบ Iodine ประมาณ 3 หยดสังเกตการเปลี่ยนแปลง

2.2.4 การทดสอบที่ 4 (Fehling's Test)

1. นำผงขิง 0.5 กรัม และน้ำ 10 มิลลิลิตรใส่ใน Erlenmeyer flask นำไปอุ่นบน water bath เป็นเวลา 2 นาที

2. กรองแยกสารสกัด

3. นำสารสกัดที่ได้ 3 มิลลิลิตรมาเติม Fehling's TS 1 มิลลิลิตรนำไปอุ่นบน water bath สังเกตการเปลี่ยนแปลง

2.3 การหาน้ำหนักที่หายไปขณะทำแห้ง (Loss on drying)

การทดสอบทำโดยใช้เครื่อง Sartorios Moisture AnalyZor ซึ่งเป็นเครื่องวิเคราะห์น้ำหนักแห้งอัตโนมัติ

1. นำผงขิงน้ำหนักประมาณ 5 กรัม ใส่ในถาดชั่ง

2. ตั้งอุณหภูมิของการทำแห้งไว้ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส และเลือกโปรแกรมการทำงานเป็น moisture (%L)

3. กดปุ่มเริ่มการทำงาน

4. หลังจากสิ้นสุดการทำงาน หน้าจอแสดงผลของ %L และเวลาที่ใช้ในการทำแห้ง

$$\text{น้ำหนักที่หายไปขณะทำแห้ง (\% w/w)} = \frac{\text{น้ำหนักที่หายไป}}{\text{น้ำหนักผงขิง}} \times 100$$

2.4 ปริมาณเถ้าทั้งหมด (Total Ash)

1. นำผงขิง ประมาณ 4 กรัม ที่ทราบน้ำหนักแน่นอน ใส่ใน Crucible ที่ทราบน้ำหนักแน่นอนแล้ว

2. นำไปเผาจนได้เถ้าที่ปราศจากคาร์บอน สังเกตจากลักษณะเถ้า (เป็นสีขาว)

3. นำไปเผาต่อที่อุณหภูมิ 450 องศาเซลเซียส จนได้น้ำหนักเถ้าที่คงที่

4. คำนวณเปอร์เซ็นต์ของปริมาณเถ้าทั้งหมด

สูตรการคำนวณ

$$\text{ปริมาณเถ้าทั้งหมด (\% w/w)} = \frac{\text{(น้ำหนักเถ้าและ Crucible) ที่แน่นอน} - \text{น้ำหนัก Crucible เปล่าที่แน่นอน}}{\text{น้ำหนักผงขิงก่อนเผา}} \times 100$$

ตามข้อกำหนดมาตรฐานขิงจะต้องมีค่าไม่เกิน 14.0 % w/w

2.5 ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด (Acid - Insoluble Ash)

1. นำเถ้าทั้งหมด (Total Ash) มาต้มกับ 10% HCl 25 มิลลิลิตร เป็นเวลา 5 นาที

2. กรองเอาส่วนที่ไม่ละลาย ด้วยกระดาษกรองปราศจากเถ้า (ashless filter paper)

3. นำส่วนที่ไม่ละลาย มาล้างด้วยน้ำร้อนจนกระทั่งมีคุณสมบัติเป็นกลาง

4. นำส่วนที่ไม่ละลาย พร้อมกระดาษกรองปราศจากเถ้า ไปเผาที่อุณหภูมิประมาณ 500 องศาเซลเซียส จนได้น้ำหนักคงที่

5. คำนวณเปอร์เซ็นต์ของปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด

2.6 ค่าการสกัดด้วยแอลกอฮอล์ (Alcohol-soluble extractive values)

1. นำผงขิงจากการทำ loss on drying ประมาณ 2 กรัม ที่ทราบน้ำหนักแน่นอน มาสกัดด้วย 50% Ethanol ปริมาตร 70 มิลลิลิตร ใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร และนำไปเขย่าที่ความเร็ว 200 rpm เป็นเวลา 8 ชั่วโมง และตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 16 ชั่วโมง

2. กรองแยกน้ำสกัด และใช้ 50% Ethanol ปริมาตรเล็กน้อยไปกลั้ว Erlenmeyer flask สกัด

3. นำน้ำสกัดที่ได้ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วย 50% Ethanol

4. แบ่งสารละลายจาก volumetric flask มา 50 มิลลิลิตร และนำไประเหยแห้งบน water bath

5. นำสารสกัดที่ได้ไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง และนำไปชั่งน้ำหนักที่คงที่

6. คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ของปริมาณสารสกัดด้วยแอลกอฮอล์เทียบกับผงขิงเริ่มต้น

(ตามข้อกำหนดมาตรฐานขิงจะต้องมีปริมาณสารสกัดด้วยแอลกอฮอล์ไม่น้อยกว่า 16 % w/w)

สูตรการคำนวณ

$$\text{ปริมาณสารสกัดด้วยแอลกอฮอล์ (\% w/w)} = \frac{(\text{น้ำหนักสารสกัดด้วยแอลกอฮอล์แห้ง} \times 2)}{\text{น้ำหนักผงขิง}} \times 100$$

2.7 ค่าการสกัดด้วยน้ำ (Water-soluble extractive values)

1. นำผงขิงจากการทำ loss on drying 2 กรัม ที่ทราบน้ำหนักแน่นอน มาสกัดด้วยน้ำปริมาตร 70 มิลลิลิตร ใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร และนำไปเขย่าที่ความเร็ว 200 rpm เป็นเวลา 8 ชั่วโมง และตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 16 ชั่วโมง

2. กรองแยกน้ำสกัด และใช้น้ำปริมาตรเล็กน้อยไปกลั้ว Erlenmeyer flask สกัด

3. นำน้ำสกัดที่ได้ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำ

4. แบ่งสารละลายจาก volumetric flask มา 50 มิลลิลิตร และนำไประเหยแห้งบน water bath

5. นำสารสกัดที่ได้ไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง และนำไปชั่งน้ำหนักที่คงที่
6. คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ของปริมาณสารสกัดด้วยน้ำเทียบกับผงขิงเริ่มต้น
(ตามข้อกำหนดมาตรฐานขิงจะต้องมีปริมาณสารสกัดด้วยแอลกอฮอล์ไม่น้อยกว่า 14 % w/w)

สูตรการคำนวณ

$$\text{ปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ (\% w/w)} = \frac{(\text{น้ำหนักสารสกัดด้วยน้ำแห้ง} \times 2)}{\text{น้ำหนักผงขิง}} \times 100$$

2.8 ค่าการสกัดด้วย ether (Ether-soluble extractive values)
1. นำผงขิงประมาณ 2 กรัม ไปทำแห้งใน desiccator เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ชั่งเพื่อหาน้ำหนักแน่นอน
2. นำผงขิงที่ทราบน้ำหนักแน่นอน และ ether ปริมาตร 70 มิลลิลิตร ใส่ใน round bottle flask ขนาด 250 มิลลิลิตร และนำไป reflux เป็นเวลา 4 ชั่วโมง
3. เมื่อครบกำหนดตั้งให้เย็น และกรองแยกน้ำสกัด ใช้ ether ปริมาตรเล็กน้อยไปกลั้ว round bottle flask
4. นำน้ำสกัดที่ได้ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วย ether
5. แบ่งสารละลายจาก volumetric flask มา 50 มิลลิลิตร และนำไประเหยแห้งบน water bath
6. นำสารสกัดที่ได้ไปไว้ใน desiccator เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำไปชั่งน้ำหนักที่คงที่
7. คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ของปริมาณสารสกัดด้วย ether เทียบกับผงขิงเริ่มต้น
(ตามข้อกำหนดมาตรฐานขิงจะต้องมีปริมาณสารสกัดด้วย ether ไม่น้อยกว่า 3 % w/w)

สูตรการคำนวณ

$$\text{ปริมาณสารสกัดด้วย ether (\% w/w)} = \frac{(\text{น้ำหนักสารสกัดด้วย ether} \times 2)}{\text{น้ำหนักผงขิง}} \times 100$$

การสกัดสาร

1. การสกัดสารตำรับยาไฟห้ากอง

1. นำสมุนไพรที่ซื้อมาแยกสิ่งปนปลอม ล้างทำความสะอาด อบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส บดผง และผ่านแร่งเบอร์ 100 สำหรับสารส้มสะตุโดย บดเป็นผง และนำใส่หม้อดินให้ความร้อน สารส้มจะหลอม และค่อยแห้งฟู

2. นำผงสมุนไพรอย่างละ 300 กรัม ผสมรวมกัน (รวม 1,500 กรัม) แบ่งสกัดผงสมุนไพรผสมโดยเลียนแบบวิธีการต้มยาของหมอพื้นบ้านแบบต้ม 3 เอา 1 สัดส่วนการสกัดคือ ผงยา 100 กรัมต่อปริมาณน้ำ 1500 มิลลิลิตร ต้มนานประมาณ 1 ชั่วโมง และทำซ้ำอีก 2 ครั้ง (ปริมาตรน้ำสุทธิที่ใช้ในการสกัด 67,500 มิลลิลิตร)

3. ระเหยน้ำสกัดจนได้เหลือปริมาตรประมาณ 1000 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง และนำไปทำแห้งด้วยวิธี freeze dry

4. หาน้ำหนักสารสกัดแห้งและคำนวณ % yield

2. การสกัดเจตมูลเพลิงแดง

1. นำเจตมูลเพลิงแดงที่ได้จากการซื้อครั้งเดียวกับที่ใช้ในการเตรียมสารสกัดตำรับยาไฟห้ากอง มาแยกสิ่งปนปลอม ล้างทำความสะอาด อบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส บดผง และผ่านแร่งเบอร์ 100

2. นำผงเจตมูลเพลิงแดง 300 กรัม มาสกัดโดยใช้สัดส่วน และวิธีการสกัดเดียวกับการสกัดเดียวกับการจากสกัดสารจากตำรับไฟห้ากอง (ปริมาตรน้ำสุทธิที่ใช้ในการสกัด 13,500 มิลลิลิตร)

3. ระเหยน้ำสกัดจนได้เหลือปริมาตรประมาณ 1000 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง และนำไปทำแห้งด้วยวิธี freeze dry

4. หาน้ำหนักสารสกัดแห้งและคำนวณ % yield

การศึกษาผลของสารสกัดตำรับยาไฟห้ากอง และสารสกัดเจตมูลเพลิงแดงต่อการหดตัวปกติของมดลูกที่แยกออกจากตัว

การเตรียมสารละลาย Kreb's Ringer Solution

- NaCl	3.79	g
- KCl	0.67	g
- CaCl2	0.55	g
- $MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.49	g
- $NaHCO_3$	4.2	g
- KH_2PO_4	0.27	g
- Glucose	2.16	g

นำสารแต่ละชนิดมาละลายในน้ำกลั่นก่อนนำมาผสมกัน และเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรทั้งหม 2 ลิตร แล้วนำไปปรับค่า pH ด้วย pH meter ให้ได้ 7.4 โดยใช้ 1 M HCl หรือ 1 M NaOH

การเตรียมมดลูก

เลือกหนูที่อยู่ในระยะ estrus โดยการทำ pep smear นำหนูมาชั่งน้ำหนัก แล้วฉีดยาสล Sodium Pentobarbital (60 mg/kg body weight) เข้าทางช่องท้อง เมื่อหนูสลบดีแล้ว ทำการผ่าตัดเปิดช่องท้อง ตัดมดลูกทั้งหมดออกมาใส่ในบีกเกอร์ที่มีสารละลาย Kreb's Ringer ที่อุณหภูมิ 37°C (แล้วทำให้หนูเสียชีวิตด้วยการดึงคอ) ใช้กรรไกรตัดมดลูกออกเป็นชิ้น ยาวชิ้นละ 2 เซนติเมตร ใช้ตะขอที่ผูกติดกับลวดโลหะรูปตัวเอสใน organ bath เกี่ยวปลายมดลูกด้านหนึ่ง ใช้ตะขออีกอันที่มีด้ายผูกไว้เกี่ยวกับปลายมดลูกอีกด้านหนึ่ง และเอาด้ายไปผูกติดกับ force displacement transducer ซึ่งต่อกับเครื่อง Bridge Amplifier และ PowerLab ตามลำดับ โดยใน organ bath มีสารละลาย Kreb's Ringer อยู่ 20 มิลลิลิตร มีก๊าซคาร์โบเจน (O_2 95% และ CO_2 5%) ผ่านตลอดเวลา และควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ ที่ 37°C

วิธีดำเนินการวิจัย

ในการทดลองจะแบ่งหนูออกเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มละ 6 ตัว คือ

1. กลุ่ม vehicle control หลังจาก equilibrate มดลูก 30 นาที เมื่อมดลูกมีการหดตัวคงที่ และสม่ำเสมอแล้วทำการบันทึกการหดตัวปกติ (phasic contraction) เป็น control 15 นาที จากนั้นจึงใส่

vehicle (Kreb's Ringer Solution) ปริมาตร 5, 10, 15, 20 และ 25 µl แบบ cumulative บันทึกการหดตัวแต่ละครั้งที่ใส่ vehicle ครั้งละ 15 นาที

2. กลุ่ม positive control หลังจาก equilibrate มดลูก 30 นาที เมื่อมดลูกมีการหดตัวคงที่ และสม่ำเสมอแล้วทำการบันทึกการหดตัวปกติ (phasic contraction) เป็น control 15 นาที จากนั้นจึงใส่ oxytocin ความเข้มข้น 10 U/ml ปริมาตร 5, 10, 15, 20 และ 25 µl แบบ cumulative บันทึกการหดตัวแต่ละครั้งที่ใส่ oxytocin ครั้งละ 15 นาที

3. กลุ่มสารสกัดตำรับยาไฟห้ากอง หลังจาก equilibrate มดลูก 30 นาที เมื่อมดลูกมีการหดตัวคงที่ และสม่ำเสมอแล้วทำการบันทึกการหดตัวปกติ (phasic contraction) เป็น control 15 นาที จากนั้นจึงใส่สารสกัดตำรับยาไฟห้ากองทั้งหมด 5 ความเข้มข้น จากต่ำไปสูงโดยเริ่มจากความเข้ม 0.001, 0.01, 0.1, 1.0 และ 10 µg/ml ตามลำดับ บันทึกการหดตัวความเข้มข้นละ 15 นาที

4. กลุ่มสารสกัดเจตมูลเพลิงแดง หลังจาก equilibrate มดลูก 30 นาที เมื่อมดลูกมีการหดตัวคงที่ และสม่ำเสมอแล้วทำการบันทึกการหดตัวปกติ (phasic contraction) เป็น control 15 นาที จากนั้นจึงใส่สารสกัดเจตมูลเพลิงแดงทั้งหมด 5 ความเข้มข้น จากต่ำไปสูงโดยเริ่มจากความเข้ม 0.001, 0.01, 0.1, 1.0 และ 10 µg/ml ตามลำดับ บันทึกการหดตัวความเข้มข้นละ 15 นาที

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

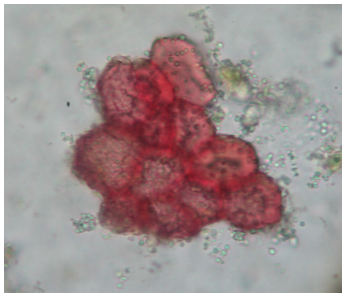
ค่าที่ได้จากการทดลองเสนอเป็นค่าเฉลี่ย และค่าผิดพลาดมาตรฐาน (mean $\pm$ S.E.M.) และนำมาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยใช้ *t*-test ซึ่งจะยอมรับค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ P value น้อยกว่า 0.05

บทที่ 4
ผลการวิจัย

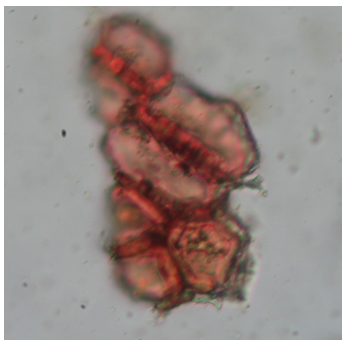
การควบคุมมาตรฐานสมุนไพร

1. การควบคุมมาตรฐานพริกไทยล่อนตามข้อกำหนดมาตรฐานสมุนไพรใน THAI HERBAL PHARMACOPIA VOL 1. โดยปรับวิธีการทดสอบให้เหมาะสมกับเครื่องมือ และอุปกรณ์การของห้องปฏิบัติการ

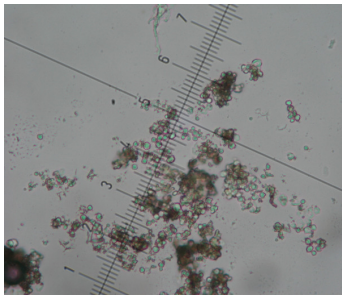
1.1 การตรวจสอบเซลล์พริกไทยล่อนภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ใช้กล้องจุลทรรศน์ยี่ห้อ ZEIZSS Primo Star รุ่น Serien-3116003091 MWIS สังเกตเซลล์ดังต่อไปนี้



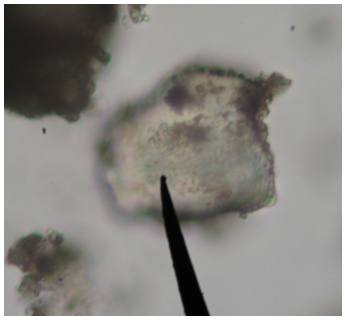
ภาพที่ 9 แสดง Stone Cell ที่พบมีผนังเซลล์ที่หนา และเป็นสีแดงเนื่องจากการย้อมสี 1% Phloroglucinal in 20% HCl มีปริมาณน้อย เพราะเป็นของเปลือกผลที่ติดมา



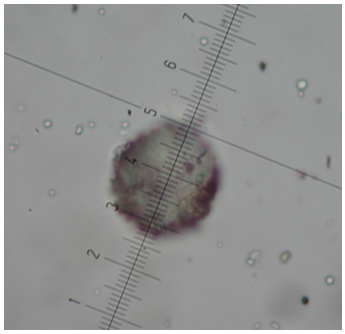
ภาพที่ 10 แสดง Beaker cells / Horse shoes shapes เป็น Stone Cell ที่มีขอบผนังหนา และบางไม่สม่ำเสมอทั่วทั้งเซลล์ มีผนังหนา 3 ด้าน และเป็นสีแดงเนื่องจากการย้อมสี 1% Phloroglucinal in 20% HCl พบมากในผงสมุนไพร



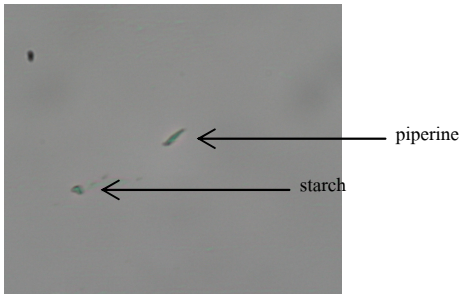
ภาพที่ 11 แสดง Starch grains เป็นเม็ดแป้งขนาดเล็ก มีรูปร่างกลม และเหลี่ยม ค่อนข้างเกาะกลุ่มกัน ขนาดประมาณ 4.76 µm



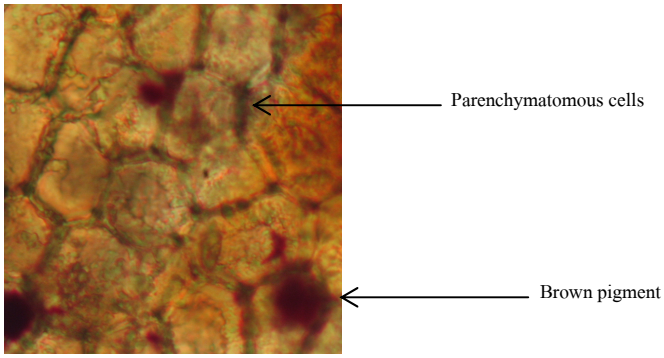
ภาพที่ 12 แสดง Starch จับตัวกันเป็นกลุ่มอยู่ ใน parenchyma กระจายอยู่ทั่วไป



ภาพที่ 13 แสดง Large oil cells รูปร่างค่อนข้างกลมผนังขรุขระ ภายในมีน้ำมันสีเหลือง ขนาดประมาณ 57.74 µm



ภาพที่ 14 แสดง Piperine มีลักษณะเป็นผลึกรูปเข็มขนาดเล็ก กระจายอยู่ทั่วไป



ภาพที่ 15 แสดง Brown pigment layer of testa เป็นเซลล์เปลือกเมล็ดที่มีสารสีน้ำตาล

1.2 การทดสอบกลุ่มสาร

1.2.1 การทดสอบที่ 1 (Liebermann-Burchard Test)

สารละลายที่ถูกทดสอบเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแดง

1.2.2 การทดสอบที่ 2 (Sulfuric Acid Test)

สารละลายที่ถูกทดสอบเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแดง

1.2.3 การทดสอบที่ 3 (Dragendorff's Test)

มีตะกอนสีแดงอิฐเกิดขึ้น

1.2.4 การทดลองที่ 4 (Ninhydrin Test)

สารละลายที่ถูกทดสอบเปลี่ยนเป็นสีม่วงแดง

1.3 Thin – Layer Chomatography

1.3.5.1 สังเกตแผ่น TLC ภายใต้การดูดกลืนแสง UV ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร

ตารางที่ 1 แสดงค่าการทดสอบพริกไทยล่อนโดยใช้ Thin – Layer Chomatography ภายใต้การดูดกลืนแสง UV ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร

Spot	hR_f Value	ค่า hR_f ของการดูดกลืนแสง UV ที่ความยาวคลื่น 254 nm		
		ข้อกำหนดมาตรฐาน	Standard Piperine (hR_f std)	สารสกัดพริกไทยล่อน (hR_f)
1	1-7	quenching	quenching (65.8)	-
2	8-12	quenching		quenching (11.7)
3	10-15	quenching		-
4	15-19	quenching		quenching (18.3)
5	21-23	-		-
6	25-28	-		quenching (26.7)
7	28-38	quenching		quenching (32.5)
8	39-44	quenching		quenching (40)
9	45-50	quenching		-
10	49-51	-		-
11	53-57	quenching		-
12	59-63	quenching		-
13	64-71	quenching		quenching (65)
14	72-76	quenching		quenching (72.5)
15	77-80	quenching		quenching (77.5)
16	81-87	quenching		quenching (81.7)
17	88-99	-		quenching (90.8)

1.3.5.2 สังเกตหลังจากการ spray แผ่น TLC ด้วย acetic potassium iodobismuthate TS **ตารางที่ 2** แสดงค่าการทดสอบพริกไทยล่อนหลังจากการ spray แผ่น TLC ด้วย acetic potassium iodobismuthate TS

Spot	hR_f Value	ค่า hR_f ของการดูดกลืนแสง UV ที่ความยาวคลื่น 254 nm		
		ข้อกำหนดมาตรฐาน	Standard Piperine (hR_fstd)	สารสกัดพริกไทยล่อน (hR_f)
1	1-7	light orange	-	-
2	8-12	orange	-	-
3	10-15	orange	-	-
4	15-19	orange	-	-
5	21-23	-	-	-
6	25-28	-	-	-
7	28-38	deep orange	-	-
8	39-44	orange	-	-
9	45-50	orange	deep orange(45)	deep orange(45)
10	49-51	-	-	-
11	53-57	-	-	-
12	59-63	-	-	-
13	64-71	light orange	-	-
14	72-76	-	-	-
15	77-80	-	-	-
16	81-87	-	-	-
17	88-99	-	-	-

1.3.5.3 สังเกตหลังจากการ spray แผ่น TLC ด้วย 50% v/v sulfuric acid in methanol

ตารางที่ 3 แสดงค่าการทดสอบพริกไทยล่อนหลังจากการ spray แผ่น TLC ด้วย 50% v/v sulfuric acid in methanol

Spot	hR_f Value	ค่า hR_f ของการดูดกลืนแสง UV ที่ความยาวคลื่น 254 nm		
		ข้อกำหนดมาตรฐาน	Standard Piperine (hR_fstd)	สารสกัดพริกไทยล่อน (hR_f)
1	1-7	yellow	-	-
2	8-12	yellow	-	-
3	10-15	-	-	-
4	15-19	yellow	-	-
5	21-23	-	-	-
6	25-28	-	-	-
7	28-38	yellow	-	-
8	39-44	-	-	-
9	45-50	yellow	Yellow (47.5)	Yellow (47.5)
10	49-51	-	-	-
11	53-57	-	-	light yellow (54.2)
12	59-63	-	-	-
13	64-71	-	-	-
14	72-76	-	-	-
15	77-80	-	-	-
16	81-87	light violet	-	-
17	88-99	-	-	-

1.3.5.4 สังเกตหลังจากการ spray แผ่น TLC ด้วย 50% v/v sulfuric acid in methanol และให้ความร้อน

ตารางที่ 4 แสดงค่าการทดสอบพริกไทยล่อนหลังจากการ spray แผ่น TLC ด้วย 50% v/v sulfuric acid in methanol และให้ความร้อน

Spot	hR_f Value	ค่า hR_f ของการดูดกลืนแสง UV ที่ความยาวคลื่น 254 nm		
		ข้อกำหนดมาตรฐาน	Standard Piperine (hR_f std)	สารสกัดพริกไทยล่อน (hR_f)
1	1-7	-	-	-
2	8-12	yellow, centre brown	-	-
3	10-15	light purple	-	-
4	15-19	light purple	-	-
5	21-23	blue	-	-
6	25-28	blue	-	-
7	28-38	yellow, centre brown	-	-
8	39-44	yellow, centre brown	-	-
9	45-50	yellow, centre brown	-	-
10	49-51	blue	-	-
11	53-57	bluish violet	-	blue (51.7)
12	58-63	bluish violet	yellow, centre brown (62.5)	yellow, centre brown (62.5)
13	64-71	bluish violet	-	yellow, centre brown (70.8)
14	72-76	light violet	-	bluish violet (75.8)
15	77-80	light violet	-	bluish violet (79.2)
16	81-87	-	-	bluish violet (81.2)
17	88-99	light purple	-	-

1.4 การหาปริมาณเถ้าทั้งหมด (Total Ash)

ตามข้อกำหนดมาตรฐานพริกไทยล่อนจะต้องมีค่าไม่เกิน 4.0 % w/w

ตารางที่ 5 แสดงผลเถ้าพริกไทยล่อนทั้งหมด

น้ำหนักพริกไทยล่อ (g)	น้ำหนัก crucible (g)	น้ำหนักเถ้าพริกไทยและ crucible คงที่ (g)	เถ้าทั้งหมด (%w/w)
4.0007	47.3495	47.3971	1.1898
4.0003	55.4080	55.4819	1.8474
4.0008	60.4727	60.5403	1.6896
		mean	1.5755
		S.D.	0.3433

1.5 ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด (Acid - Insoluble Ash)

ตามข้อกำหนดมาตรฐานพริกไทยล่อนจะต้องมีค่าไม่เกิน 0.5 % w/w

ตารางที่ 6 แสดงผลเถ้าพริกไทยล่อนที่ไม่ละลายในกรด

น้ำหนักพริกไทยล่อน (g)	น้ำหนัก crucible (g)	น้ำหนักเถ้าพริกไทยไม่ละลายในกรดและ crucible คงที่ (g)	เถ้าทั้งหมด (%w/w)
4.0007	47.3495	47.3610	0.2874
4.0003	55.4080	55.4108	0.0699
4.0008	60.4727	60.4808	0.2024
		mean	0.1864
		S.D.	0.1094

1.6 การหาปริมาณน้ำมันหอมระเหย (Determination of volatile oil)

ตามข้อกำหนดมาตรฐานพริกไทยล่อนจะต้องมีค่าไม่น้อยกว่า 0.8 % v/w

ตารางที่ 7 แสดงปริมาณน้ำมันหอมระเหยในพริกไทยล่อน

น้ำหนักพริกไทยล่อน (g)	ปริมาณน้ำมันหอมระเหย (ml)	น้ำมันหอมระเหย (%v/w)
50.0012	0.56	1.1200
50.0001	0.80	1.5999
50.0008	0.80	1.5999
	mean	1.4443
	S.D.	0.2771

1.7 การหาปริมาณน้ำในสมุนไพร (Water Content): Azetropic Distillation Method

ตามข้อกำหนดมาตรฐานพริกไทยล่อนจะต้องมีค่าไม่เกิน 14 % v/w

ตารางที่ 8 แสดงผลปริมาณน้ำในพริกไทยล่อน

น้ำหนักพริกไทยล่อน (g) **P**	ปริมาณน้ำจากการกลั่นครั้งแรก (ml) **n**	ปริมาณน้ำรวมจากการกลั่น 2 ครั้ง (ml) **n'**	ปริมาณในพริกไทย (%v/w)
50.0026	2	6.26	8.5196
50.0003	2	6.90	9.7999
50.0033	2	7.10	10.1993
		mean	9.5062
		S.D.	0.8110

1.8 การหาปริมาณสิ่งปลอมปน (Determination of Foreign Matter)

ตามข้อกำหนดมาตรฐานพริกไทยล่อนจะต้องมีค่าไม่เกิน 2 % w/w สิ่งปนปลอมที่พบในพริกไทยล่อน ได้แก่ พริกไทยดำ ก้อนกรวด และเศษใบไม้

ตารางที่ 9 แสดงผลปริมาณสิ่งปนปลอมในพริกไทยล่อน

น้ำหนักพริกไทยล่อน (g)	น้ำหนักสิ่งปลอมปน (g)	ปริมาณสิ่งปนปลอม (%v/w)
100.0072	5.9337	5.9332
100.0086	4.9860	4.9800
100.0070	6.8956	6.8900
	mean	5.9380
	S.D.	0.9548

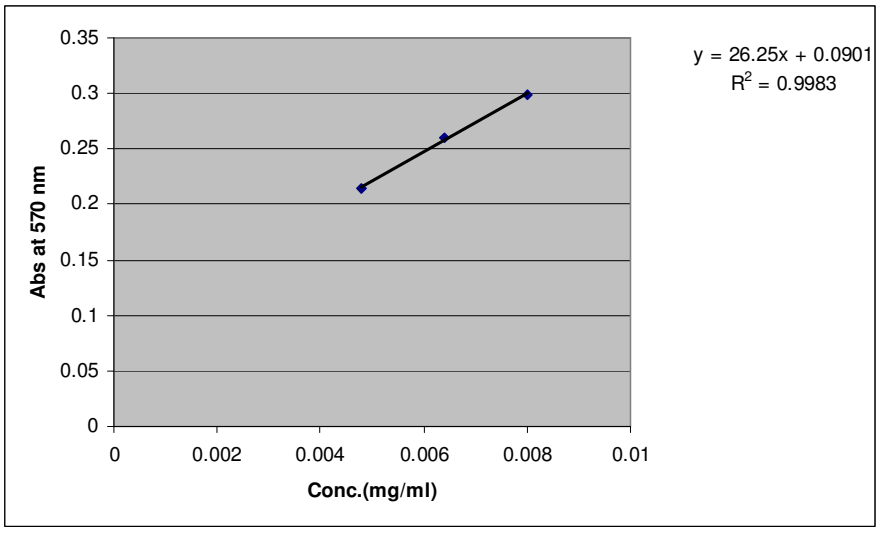
1.9 การหาปริมาณแอลคาลอยด์ (Alkaloid Content)

ตามข้อกำหนดมาตรฐานพริกไทยล่อนจะต้องมีค่าไม่น้อยกว่า 5 % w/w

ตารางที่ 10 แสดงปริมาณการดูดกลืนแสงของ stardard piperine ที่ความเข้มข้นต่างๆ

Conc. (mg/ml)	Sample 1	Sample 2	Sample 3	mean	S.D.
0.0048	0.2280	0.2217	0.1957	0.2151	0.1139
0.0064	0.2503	0.2636	0.2666	0.2601	0.0812
0.0080	0.2903	0.2977	0.3093	0.2991	0.0825

ภาพที่ 16 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ piperine กับ ค่าการดูดกลืนแสง UV



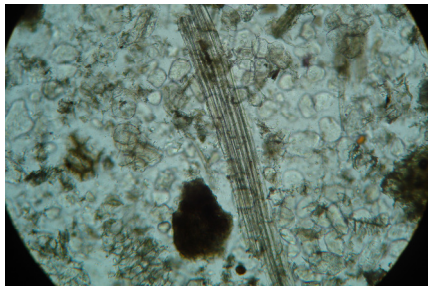
จากสมการ y = 26.25x +0.0901

ตารางที่ 11 แสดงปริมาณแอลคาลอยด์ในพริกไทยล่อน

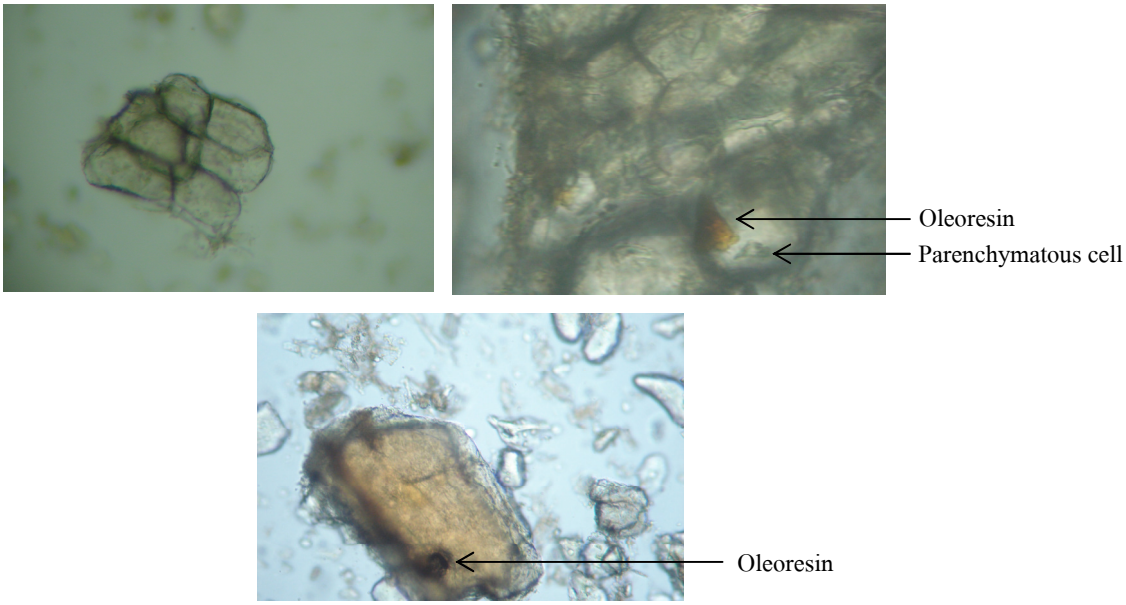
ความเข้มข้นของพริกไทยล่อน (mg/ml) **x**	การดูดกลืนแสง **y**	ปริมาณ piperine (mg)	น้ำหนักพริกไทย	ปริมาณแอลคาลอย์ (%w/w)
0.0024	0.1527	14.9048	500.1	2.9804
0.0019	0.1397	11.8095	500.5	2.3596
0.0024	0.1530	14.9762	500.3	2.9934
			mean	2.7778
			S.D.	0.3623

2. การควบคุมมาตรฐานขิงตามข้อกำหนดมาตรฐานสมุนไพรใน Specification of Thai Medicinal plants volume 1

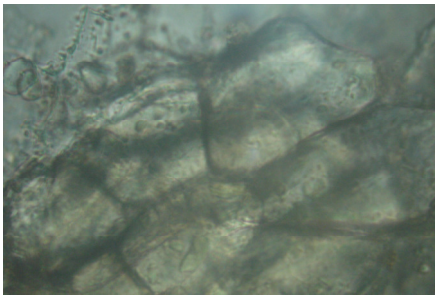
2.1 การตรวจสอบเซลล์ขิงล่อนภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ใช้กล้องจุลทรรศน์ยี่ห้อ ZEIZSS Primo Star รุ่น Serien-3116003091 MWIS สังเกตเซลล์ดังต่อไปนี้



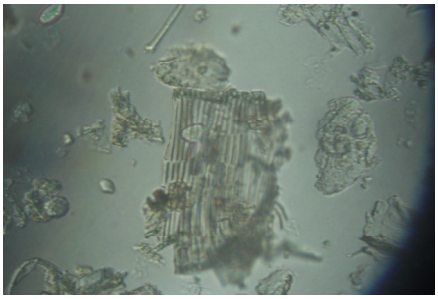
ภาพที่ 17 แสดง fiber ที่พบเป็นเส้นสีน้ำตาลอ่อน มีผนังบางและพบว่ามีกั้นภายในเส้น fiber (septate)



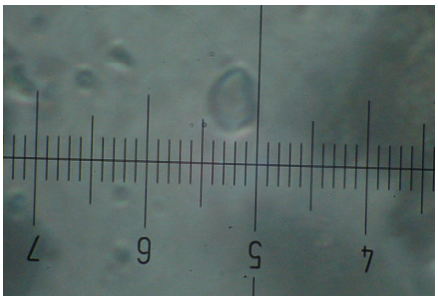
ภาพที่ 18 แสดง parenchymatous cell ที่พบมีผนังบางอยู่รวมกันเป็นก้อน บางเซลล์มี oleoresin แทรกอยู่ในเซลล์



ภาพที่ 19 แสดง Cork ที่พบมีลักษณะเป็นเซลล์เหลี่ยม โดยเซลล์ cork ที่พบค่อนข้างใส



ภาพที่ 20 แสดง Scalariformly vessels ที่พบมีลักษณะเป็นท่อมีลายผนังเซลล์เป็นเส้นขีดขวางขนาดสม่ำเสมอ แล ท่อ vessels ที่พบมีหลายท่ออยู่ติดๆ กัน และเนื่องจากเป็นผงยาบดจึงพบเป็นส่วนของ vessel กระจายอยู่ทั่วในผงยา ไม่สังเกตพบ vessel ที่สมบูรณ์ (จะมีลักษณะเป็นท่อที่หัวปลายแหลม)



ภาพที่ 21 แสดง Starch ที่พบมีรูปร่างกลมรี โดยมีจงอย ที่ด้านปลาย ขนาดประมาณ 7 x 8 µm สังเกตพบลายขวาง บนเม็ดแป้ง (lamelar)

2.2 การทดสอบกลุ่มสาร

2.2.1 การทดสอบที่ 1 (Liebermann-Burchard Test)

สังเกตพบสีน้ำตาลบริเวณผิวสัมผัสระหว่างสารละลาย 2 ชั้น

2.2.2 การทดสอบที่ 2 (Ferric chloride Test)

พบตะกอนสีน้ำตาลแดงเกิดขึ้น

2.2.3 การทดสอบที่ 3 (Iodine solution Test)

พบตะกอนสีน้ำเงินเกิดขึ้น

2.2.4 การทดสอบที่ 4 (Fehling's Test)

พบตะกอนสีแดงอิฐ

2.3 การหาน้ำหนักที่หายไปขณะทำแห้ง (Loss on drying)

ตามข้อกำหนดมาตรฐานขิงจะต้องมีค่าไม่เกิน 14.0 % w/w

ตารางที่ 12 แสดงน้ำหนักของขิงที่หายไปขณะทำแห้ง

น้ำหนักผงขิง (g)	เวลา (min)	น้ำหนักที่หายไปขณะทำแห้ง (%w/w)
4.9910	15.8	9.6
4.9780	17.0	9.15
4.9880	16.2	9.47
	mean	9.41
	S.D.	0.17

2.4 ปริมาณเถ้าทั้งหมด (Total Ash)

ตามข้อกำหนดมาตรฐานขิงจะต้องมีค่าไม่เกิน 14.0 % w/w

ตารางที่ 13 แสดงปริมาณเถ้าขิงทั้งหมด

น้ำหนักผงขิง (g)	น้ำหนัก crucible (g)	น้ำหนักเถ้าผงขิงและ crucible คงที่ (g)	เถ้าทั้งหมด (%w/w)
4.0000	32.3163	32.5426	5.6575
4.0001	35.3475	35.5644	5.422364
4.0000	38.388	38.6094	5.535
		mean	5.538288
		S.D.	0.117602

2.5 ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด (Acid - Insoluble Ash)

ตารางที่ 14 แสดงผลเถ้าขิงที่ไม่ละลายในกรด

น้ำหนักผงขิง (g)	น้ำหนัก crucible (g)	น้ำหนักเถ้าผงขิงที่ไม่ละลายในกรดและ crucible คงที่ (g)	เถ้าไม่ละลายในกรด (%w/w)
4.0000	32.3163	32.3259	0.49000
4.0001	35.3475	35.3782	0.924977
4.0000	38.388	38.4195	0.885
		mean	0.76666
		S.D.	0.240426

2.6 ค่าการสกัดด้วยแอลกอฮอล์ (Alcohol-soluble extractive values)

ตามข้อกำหนดมาตรฐานขิงจะต้องมีปริมาณสารสกัดด้วยแอลกอฮอล์ไม่น้อยกว่า 16 % w/w

ตารางที่ 15 แสดงปริมาณสารสกัดขิงด้วยแอลกอฮอล์

น้ำหนักพริกไทย (g)	น้ำหนักสารสกัดแห้ง (g)	ปริมาณสารสกัดด้วยแอลกอฮอล์ (g)	สารสกัดด้วยแอลกอฮอล์ (%w/w)
2.0005	0.3228	0.6456	32.27193
2.0001	0.3202	0.6404	32.0184
2.0002	0.3244	0.6488	32.43676
		mean	32.24236
		S.D.	0.21074

2.7 ค่าการสกัดด้วยน้ำ (Water-soluble extractive values)

ตามข้อกำหนดมาตรฐานขิงจะต้องมีปริมาณสารสกัดด้วยน้ำไม่น้อยกว่า 14 % w/w

ตารางที่ 16 แสดงปริมาณสารสกัดขิงด้วยน้ำ

น้ำหนักพริกไทย (g)	น้ำหนักสารสกัดแห้ง (g)	ปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ (g)	สารสกัดด้วยน้ำ (%w/w)
2.0002	0.3399	0.6798	33.9866
2.0004	0.3064	0.6128	30.6339
2.0000	0.3229	0.6458	32.2900
		mean	32.3035
		S.D.	1.6764

2.8 ค่าการสกัดด้วย ether (Ether-soluble extractive values)

ตามข้อกำหนดมาตรฐานขิงจะต้องมีปริมาณสารสกัดด้วย ether ไม่น้อยกว่า 3 % w/w

ตารางที่ 17 แสดงปริมาณสารสกัดขิงด้วย ether

น้ำหนักพริกไทย (g)	น้ำหนักสารสกัดแห้ง (g)	ปริมาณสารสกัดด้วย ether (g)	สารสกัดด้วย ether (%w/w)
2.0000	0.068	0.1360	6.8000
2.0003	0.0622	0.1244	6.2191
2.0001	0.0688	0.1376	6.8797
		mean	6.6329
		S.D.	0.3606

3. การสกัดสาร

3.1 การสกัดสารตำรับยาไฟห้ากอง

ได้สารสกัดมีน้ำหนักรวม 381.66 กรัม คิดเป็น 25.44 % yield

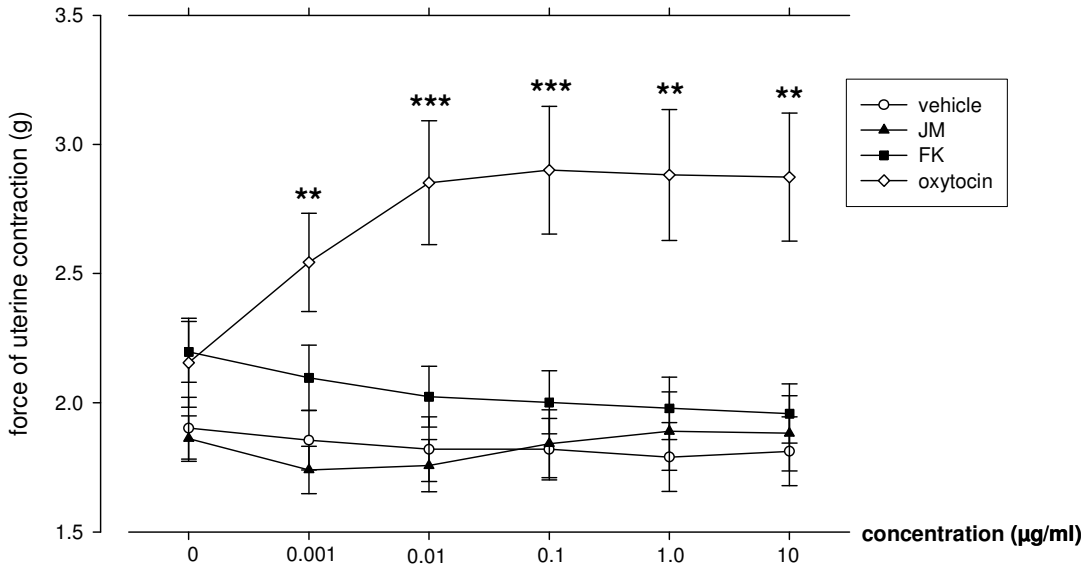
3.2 การสกัดเจตมูลเพลิงแดง

ได้สารสกัดมีน้ำหนักรวม 132.36 กรัม คิดเป็น 44.12 % yield

ผลของสารสกัดตำรับยาไฟห้ากอง และสารสกัดเจตมูลเพลิงแดงต่อการหดตัวปกติของมดลูกที่แยกออกจากตัว

1. ผลของสารสกัดตำรับยาไฟห้ากอง และสารสกัดเจตมูลเพลิงแดงต่อความแรงในการหดตัวของมดลูก

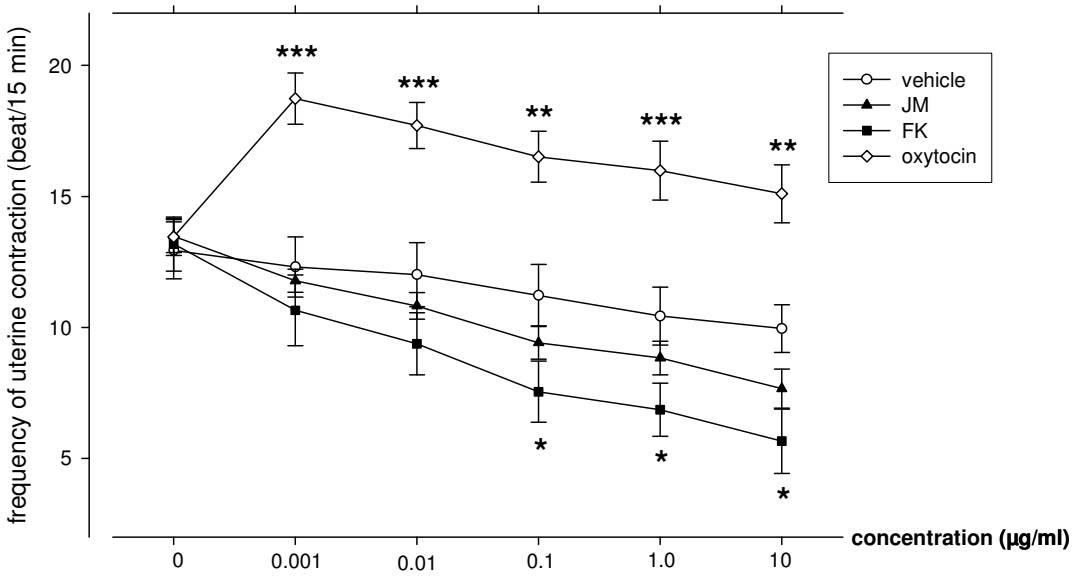
จากผลการวิจัยพบว่าสารสกัดตำรับยาไฟห้ากอง และสารสกัดเจตมูลเพลิงแดงทุกความเข้มข้น (0.001, 0.01, 0.1, 1 และ 10 μg/ml) ไม่มีผลต่อความแรงในการหดตัวของมดลูกเมื่อเทียบกับกลุ่ม vehicle control ดังแสดงในรูปที่ 22 และพบว่ากลุ่ม positive control ที่หยดสาร oxytocin มีผลเพิ่มความแรงในการหดตัวของมดลูกทุกความเข้มข้น



ภาพที่ 22 แสดงผลของสารสกัดตำรับยาไฟห้ากอง และสารสกัดเจตมูลเพลิงแดงต่อความแรงในการหดตัวของมดลูกหนูแร็ทที่แยกออกจากตัว ค่าที่แสดงคือค่า mean ± S.E.M. **p<0.01, ***p<0.001 (*t*-test) เมื่อเทียบกับกลุ่ม vehicle control, JM = เจตมูลเพลิงแดง, FK = ไฟห้ากอง (n = 6)

2. ผลของสารสกัดตำรับยาไฟห้ากอง และสารสกัดเจตมูลเพลิงแดงต่อความถี่ในการหดตัวของมดลูก

จากรูปที่ 23 พบว่าสารสกัดตำรับยาไฟห้ากอง ที่ความเข้มข้น 0.1, 1 และ 10 μg/ml มีผลลดความถี่ในการหดตัวมดลูกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับกลุ่ม vehicle control ($p<0.05$) แต่สารสกัดเจตมูลเพลิงแดงทุกความเข้มข้น ไม่มีผลต่อความถี่ในการหดตัวของมดลูกเมื่อเทียบกับกลุ่ม vehicle control



ภาพที่ 23 แสดงผลของสารสกัดตำรับยาไฟห้ากอง และสารสกัดเจตมูลเพลิงแดงต่อความถี่ในการหดตัวของมดลูกหนูแร็ทที่แยกออกจากตัว ค่าที่แสดงคือค่า mean ± S.E.M. *$p<0.05$, **$p<0.01$, ***$p<0.001$ (*t*-test) เมื่อเทียบกับกลุ่ม vehicle control, JM = เจตมูลเพลิงแดง, FK = ไฟห้ากอง (n = 6)

บทที่ 5
อภิปราย และสรุปผลการวิจัย

จากการตรวจสอบมาตรฐานพริกไทยล่อน และขิงที่ได้จากร้านขายยาแห่งหนึ่งในอำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา เพื่อนำมาเตรียมตำรับยาไฟห้ากองในการศึกษาครั้งนี้พบว่า พริกไทยล่อนที่ได้จากร้านดังกล่าวไม่ผ่านตามเกณฑ์ข้อกำหนดมาตรฐานสมุนไพรที่กำหนดไว้ใน Thai Herbal Pharmacopeia Volume 1 เนื่องจากมีปริมาณของสิ่งปลอมปน ประเภทพริกไทยดำ ก้อนกรวด และเศษใบไม้ ติดมามากเกินกว่าปริมาณตามข้อกำหนด แต่ทั้งนี้ก่อนที่จะนำพริกไทยล่อนมาใช้สกัด ผู้ทำการวิจัยได้คัดเอาสิ่งปนเปื้อนเหล่านี้ออก ทำความสะอาด และอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ก่อนนำมาบดเป็นผง และสกัดเป็นส่วนประกอบของตำรับยาที่ใช้ในการทดลอง นอกจากนี้พบว่าปริมาณสารอัลคาลอยด์ในพริกไทยล่อนดังกล่าวมีค่าน้อยกว่าเกณฑ์ที่กำหนดไว้ แต่ตามสภาพความเป็นจริงนั้นหมอพื้นบ้านส่วนใหญ่ได้ซื้อสมุนไพรจากร้านขายสมุนไพร ในการศึกษานี้จึงพิจารณาเลียนแบบสภาพสมุนไพรที่ได้มีการใช้กันจริงในท้องถิ่นของจังหวัดสงขลา การทดลองนี้จึงนำพริกไทยล่อนที่ได้ซื้อมาจากร้านขายยาดังกล่าวมาใช้สกัดเป็นส่วนผสมของตำรับยาไฟห้ากอง ซึ่งจากการตรวจเอกลักษณ์ของพริกไทยล่อน พบว่าให้ผลตรงกับข้อกำหนด แม้ว่าผลการตรวจสอบโดยรงคเลขผิวบาง (thin- layer chromatrography) แสดงผลที่ได้คล้ายคลึงกับที่ระบุไว้ในข้อกำหนด แม้ว่าจะไม่ตรงทุกตำแหน่งค่า hR_f แต่เมื่อเทียบกับตำแหน่งของสารมาตรฐาน (standard piperine) ที่เป็นองค์ประกอบสำคัญในพริกไทยล่อน พบว่าตำแหน่งค่า hR_f ปรากฏตรงกัน ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากหลายสาเหตุ ได้แก่ ปริมาณสารที่มีอยู่ในพริกไทย วิธีการสกัดสาร (ได้มีปรับให้เหมาะสมกับอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ) ปริมาณสารที่หยดลงบนแผ่นรงคเลขผิวบาง ตลอดจนระบบที่ใช้สำหรับการเคลื่อนที่ของสาร

นอกจากพริกไทยล่อนแล้วส่วนผสมของตำรับยาไฟห้ากองซึ่งประกอบด้วยส่วนผสมของสมุนไพรชนิดอื่นๆ อีก 4 ชนิด คือ ขิง เจตมูลเพลิงแดง สารส้ม และฝักส้มป่อย โดยตัวยาดังกล่าวจะมีฤทธิ์เสริมกันเพื่อประโยชน์ตามสรรพคุณการรักษาในการขับน้ำคาวปลาในเรือนไฟ ช่วยให้มดลูกเข้าอู่ ซึ่งนอกจากพริกไทยล่อนแล้วทางผู้วิจัยได้ตรวจสอบคุณภาพของขิงที่ใช้ในการสกัดตำรับยาในครั้งนี้ด้วย โดยพบว่าคุณภาพของขิงที่ใช้มีคุณภาพตามเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดไว้ตาม Specification of Thai Medicinal Plants Volume 1 พบว่าปริมาณสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ

มีปริมาณสูงกว่าที่กำหนดไว้มาก ซึ่งคาดว่าขิงที่ใช้ในการทดลองนี้มีคุณภาพดี ทั้งนี้การที่จะได้สมุนไพรที่ดีมีคุณภาพเหมาะสมสำหรับการนำมาเตรียมควรคำนึงตั้งแต่เรื่องการเพาะปลูก การเลือกสายพันธุ์ของพืชสมุนไพร การเก็บเกี่ยวผลผลิต ตลอดจนการเก็บรักษาสมุนไพรที่เก็บเกี่ยวแล้วอย่างถูกวิธีเพื่อคงคุณภาพของวัตถุดิบ การตรวจสอบมาตรฐานสมุนไพรก่อนการนำมาผลิตเป็นสมุนไพรเพื่อการรักษานั้นถือว่าเป็นเรื่องที่สำคัญมาก ทั้งนี้เพื่อทำให้เกิดความแน่ใจว่ายาสมุนไพรที่ผลิตออกมาจะมีมาตรฐานในระดับเดียวกันของการผลิต เพราะคุณภาพของวัตถุดิบนั้นจะส่งผลต่อคุณภาพของยาที่ผลิตออกมา ซึ่งจะส่งผลโดยตรงต่อประสิทธิภาพของการรักษาผู้ป่วยในอนาคต

ในขั้นตอนการสกัดเป็นการสกัดสารจากผงสมุนไพร การกวนผงยาอย่างสม่ำเสมอจะช่วยไม่ให้เกิดการนอนก้นของผงยา และทำให้สามารถสกัดสารจากผงยาได้อย่างทั่วถึง นอกจากนี้อุณหภูมิในการสกัดก็มีผลถึงคุณภาพของสารสกัดที่ได้ ทางผู้วิจัยได้เลือกใช้อุณหภูมิประมาณ 70 องศาเซลเซียส ในการสกัดสารในครั้งนี้ และเนื่องจากในการสกัดได้ใช้น้ำสกัดเป็นปริมาณมากจึงต้องใช้การระเหยแห้งด้วยความร้อนอุณหภูมิประมาณ 70 องศาเซลเซียส เพื่อลดปริมาณของน้ำสกัดตำรับยาไฟห้ากอง และน้ำสกัดเจตมูลเพลิงแดง ให้เหลือปริมาณน้อยก่อนที่จะทำการระเหยแห้งด้วยวิธี freeze dry ต่อไป

จากการทดสอบผลของสารสกัดตำรับยาไฟห้ากอง และสารสกัดเจตมูลเพลิงแดงต่อความแรงในการหดตัวของมดลูกที่แยกออกจากตัวหนูแร็ท พบว่าสารสกัดทั้งสองชนิดไม่มีผลเปลี่ยนแปลงความแรงในการหดตัวของมดลูกเมื่อเทียบกับกลุ่ม vehicle control นอกจากนี้ความแรงในการหดตัวของมดลูกไม่มีความแตกต่างกันในกลุ่มสารสกัดทั้งสองกลุ่ม

เมื่อทดสอบผลของสารสกัดตำรับยาไฟห้ากอง และสารสกัดเจตมูลเพลิงแดงต่อความถี่ในการหดตัวของมดลูกที่แยกออกจากตัวหนูแร็ท พบว่าสารสกัดตำรับยาไฟห้ากอง ที่ความเข้มข้น 0.1, 1 และ 10 μg/ml ทำให้ความถี่ในการหดตัวของมดลูกลดลง เมื่อเทียบกับกลุ่ม vehicle control แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงเมื่อเทียบกับกลุ่มสารสกัดเจตมูลเพลิงแดง ทั้งนี้การลดลงของความถี่ในการหดตัวของมดลูกอาจจะเป็นผลที่เกิดจากสมุนไพรบางตัวในสารสกัดตำรับยาไฟห้ากองที่นอกเหนือจากเจตมูลเพลิงแดง ซึ่งฤทธิ์ในการลดความถี่การหดตัวของมดลูกนี้อาจจะเป็นผลดีในการช่วยขับน้ำคาวปลาในเรือนไฟ และช่วยให้มดลูกเข้าอู่ได้เร็วขึ้น

โดยจากการวิจัยของ Sarma และ Mahanta (2000) รวมทั้ง Sheeja และคณะ (2008 และ 2009) พบว่าสารสกัดจากเจตมูลเพลิงแดงมีผลทำให้เยื่อบุมดลูกนั้นหลุดลอกได้ดีขึ้น ซึ่งจากกลไกดังกล่าวอาจจะมีผลช่วยในการขับน้ำคาวปลา และช่วยให้มดลูกเข้าอู่ได้เร็วขึ้น ส่วนฤทธิ์ในการลดการหดตั

ของมดลูกของสารสกัดตำรับยาไฟห้ากองนั้นอาจจะช่วยลดผลข้างเคียงที่เกิดจากเจตมูลเพลิงแดง เพราะยาตำรับโดยทั่วไปซึ่งเป็นการผสมระหว่างสมุนไพรหลายชนิดนั้นไม่เพียงแต่เพื่อจะเสริมฤทธิ์กันเท่านั้น แต่สมุนไพรในตำรับบางตัวนั้นก็อาจจะทำหน้าที่ลดผลข้างเคียงของสมุนไพรบางตัวในตำรับได้เช่นกัน ทั้งนี้กลไกการลดความถี่ในการหดตัวของมดลูกของสารสกัดตำรับยาไฟห้ากองนั้นควรต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป

เอกสารอ้างอิง

กมลวรรณ สุกแดง, เฉลิมขวัญ ฤทธิ์ทอง, บัวขวัญ อุ่นเสียม และพัชรา เจริญวิลาสพงษ์. 2552. **การตรวจสอบมาตรฐานขิงที่มีจำหน่ายในร้านสมุนไพรในอำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา.** สงขลา.

กองการประกอบโรคศิลปะ. ม.ป.ป. **ตำราแพทย์แผนโบราณทั่วไป สาขาเภสัชกรรม.** สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณะสุข. 277 หน้า.

คณาจารย์ภาควิชาสรีรวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 2545. **สรีรวิทยา 1.**

คณาจารย์ภาควิชาสรีรวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 2545. **สรีรวิทยา 2.**

เจตมูลเพลิงแดง และเจตมูลเพลิงขาว เข้าเมื่อวันที่ 2 พฤษภาคม 2551 สืบค้นจาก http://www.thaifitway.com/education/ndata/N1db/question.asp?QID=1

ชลิดา เล็กสมบูรณ์ อุดม ฟ้ารุ่งสาง และนวลวรรณ ฟ้ารุ่งสาง. 2545. **รายงานความก้าวหน้าโครงการวิจัยทุนอุดหนุนวิจัย ผลของสารสกัดเจตมูลเพลิงแดงต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช.** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประจำปีงบประมาณ 2545. 10 หน้า

ภัสสร ศิริมหาชัย, ภิมลมาส รัตนบุรี, สันติ แซ่เต็ง และเสาวณีย์ เจ๊ะเหยง. (2552). การตรวจสอบมาตรฐานพริกไทยล่อนที่มีจำหน่ายในร้านสมุนไพรในอำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา. สงขลา

วิทย์ เที่ยงบูรณธรรม. (2531). **พจนานุกรมสมุนไพรไทย**. โอ. เอส. พริ้นติ้ง เฮาส์ กรุงเทพฯ หน้า 230-233.

สมพร รูติยานันต์. 2546. **ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับการแพทย์แผนไทย.** โรงพิมพ์ตุลย์การพิมพ์. เชียงใหม่.

สิริวรรณ สมิทธิอาภรณ์ ชลิดา เล็กสมบูรณ์ สมศิริ แสงโชติ อุดม ฟ้ารุ่งสาง กวิศร์ วานิชกุล และนพพร สายัมพล.2546. **ผลของสารสกัดจากเจตมูลเพลิงแดงต่อการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง.** 133-137 หน้า. *ใน* รายงานการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่41 (สาขาพืช). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Ajith, T.A., Aswathy, M.S. and Hema, U. 2008. **Protective effect of *Zingiber officinale* roscoe against anticancer drug doxorubicin-induced acute nephrotoxicity**. *Food and Chemical Toxicology*. 46: 3178–3181.

Ajith, T.A., Hema, U. and Aswathy, M.S. 2007. ***Zingiber officinale*** **Roscoe prevents acetaminophen-induced acute hepatotoxicity by enhancing hepatic antioxidant status**. *Food and Chemical Toxicology*. 45: 2267–2272.

Ajith, T.A., Nivitha, V. and Usha, S. 2007. ***Zingiber officinale*** **Roscoe alone and in combination with α-tocopherol protect the kidney against cisplatin-induced acute renal failure**. *Food and Chemical Toxicology*. 45: 921–927.

Ali, B.H., Blunden, G., Tanira, M.O. and Nemmar, A. 2008. **Some phytochemical, pharmacological and toxicological properties of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe): A review of recent research**. *Food and Chemical Toxicology*. 46: 409–420.

Asami, A., Shimada, T., Mizuhara, Y., Asano, T., Takeda, S., Aburada, T., Miyamoto, K., Aburada, M. 2010. **Pharmacokinetics of [6]-shogaol, a pungent ingredient of *Zingiber officinale* Roscoe (Part I)**. *Journal of Natural Medicine*. Publish online 19 march 2010.

Bhandari, U., Kanojia, R., and Pillai, K.K. 2005. **Effect of ethanolic extract of *Zingiber officinale* on dyslipidaemia in diabetic rats**. *Journal of Ethnopharmacology*. 97: 227-230.

Chatterjee, S., Niaz, Z., Gautam, S., Adhikari, S., Variyar, P.S. and Sharma, A. 2007. **Antioxidant activity of some phenolic constituents from green pepper (*Piper nigrum* L.) and fresh nutmeg mace (*Myristica fragrans*)**. *Food Chemistry*, 101:515–523.

Chonpathompikunlert, P., Wattanathorn, J. and Muchimapura, S. 2010. **Piperine, the main alkaloid of Thai black pepper, protects against neurodegeneration and cognitive impairment in animal model of cognitive deficit like condition of Alzheimer's disease**. *Food and Chemical Toxicology*. 48: 798–802.

Devi, P.U., Rao, B.S. and Solomon, F.E. 1998. **Effect of plumbagin on the radiation induced cytogenetic and cell cycle changes in mouse Ehrlich ascites carcinoma in *vivo***. *Indian J Exp Biol*. 36: 891-895.

Didry, N., Dubrevil, L. and Pinkas, M. 1994. **Activity of anthoquinonic and naphthoquinonic compounds on oral bacteria.** *Pharmazie*. 49: 681-683.

El Hamssa, R., Idaomara, M., Alonso-Moragab, A. and Mun˜ oz Serranob, A. 2003. **Antimutagenic properties of bell and black peppers**. *Food and Chemical Toxicology*. 41: 41–47.

Goyal, R.K. and Kadnur S.V. 2006. **Beneficial effects of *Zingiber officinale* on goldthioglucose induced obesity**. *Fitoterapia*, 77: 160–163.

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

Ippoushi, K., Takeuchi, A., Ito, H., Horie, H., and Azuma K. 2007. **Antioxidative effects of daikon sprout (*Raphanus sativus L.*) and ginger (*Zingiber officinale Roscoe*) in rats**. *Food Chemistry*. 102: 237–242.

Komaraiah, P., Naga Amrutha, R., Kavi Kishor, P.B. and Ramakrishna, S.V. 2002. **Elicitor enhanced production of plumbagin in suspension cultures of *Plumbago rosea* L.** *Enzyme Microb. Technol*. 31: 634-639.

Kubo, I., Chida, M. U. and Klocke, J.A. 1983. **An insect ecdysis inhibitor from the African medicinal plant, *Plumbago capsensis* (Plumbaginaceae).** *Agri. Biol. Chem*. 47: 911-913.

Kumar, S., Singhal, V., Roshan, R., Sharma, A., Rembhotkar, G.W. and Ghosh, B. 2007. **Piperine inhibits TNF-α induced adhesion of neutrophils to endothelial monolayer through suppression of NF-ĸB and IĸB kinase activation**. *European Journal of Pharmacology*, 575:177–186.

Lakshmi, B.V.S. and Sudhakar, M. 2010. **Attenuation of acute and chronic restraint stress-induced perturbations in experimental animals by *Zingiber officinale Roscoe***. *Food and Chemical Toxicology*. 48 : 530–535.

Lantz, R.C., Chen, G.J., Sarihan, M., So lyom, A.M., Jolad, S.D. and Timmermann, B.N. 2007. **The effect of extracts from ginger rhizome on inflammatory mediator production**. *Phytomedicine*. 14: 123–128.

Lee, S.W., Kook Kim,Y.K., Kim, K., Lee, H.S., Choi, J.H., Lee, W.S., Jun, C.D., Park, J.H., Lee, J.M. and Rho, M.C. 2008. **Alkamides from the fruits of Piper longum and Piper nigrum displaying potent cell adhesion inhibition**. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 18: 4544–4546.

Leksomboon, Farungsang, C., N. and Farungsang, U. 2002. **Effect of *Plumbago indica* Linn. Extract on growth of phytopathologenic bacteria.** pp. 162. *In* The first International Conference on Tropical and Subtropical Plant Diseases November 5-9, 2002. The Imperial Mae Ping Hotel, Chiang Mai, Thailand.

Lin, R.J., Chenc, C.Y., Chunga, L.Y., and Yena, C.M. 2010. **Larvicidal activities of ginger (*Zingiber officinale*) against *Angiostrongylus cantonensis***. Acta Tropica.

Marieb, E.N. and Hoehn, K., editors. 2007. 7th ed. **Human anatomy & physiology.** San Francisco, CA: Pearson Benjamin Cumming; p.311-316.

Mary, N.K., Babu, B.H. and Padikkala, J. 2003. **Antiatherogenic effect of *Caps HT2*, a herbal Ayurvedic medicine formulation.** *Phytomedicine*. 10: 474-482.

Nicoll, R. and Henein, M.Y. 2007. **Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe): A hot remedy for cardiovascular disease?.** Letters to the Editor.

Parimala, R. and Sachdanandam P. 1993. **Effect of plumbagin on some glucose metabolizing enzymes studied in rats in experimental hepatoma.** *Mol. Cell Biochem*. 125: 59-63.

Pathak, N. and Khandelwal, S. 2006**. Modulation of cadmium induced alterations in murine thymocytes by piperine: Oxidative stress, apoptosis, phenotyping and blastogenesis**. *Biochemical Pharmacology*, 72: 486 – 497.

Pathak, N. and Khandelwal, S. 2007. **Cytoprotective and immunomodulating properties of piperine on murine splenocytes: An in vitro study**. *European Journal of Pharmacology*, 576:160–170.

Penna, S.C. and Medeiros, M.V. 2003. **Anti-inflammatory effect of the hydralcoholic extract of *Zingiber officinale* rhizomes on rat paw and skin edema**. *Phytomedicine*. 10: 381–385.

Reddya, S.V., Srinivasa, P.V. Praveenb, B., Kishoreb, H.K., Rajua, C.B., Murthyb, S.U. and Raoa J. M. 2004. **Antibacterial constituents from the berries of *Piper nigrum***. *Phytomedicine*, 11:697–700.

Rho, M.C., Lee, S.W., Park, H.R., Choi, J.H., Kang, J.Y., Kim, K., Lee, H.S. and Kim, Y.K. 2007. **ACAT inhibition of alkamides identified in the fruits of *Piper nigrum***. *Phytochemistry*, 68: 899-903.

Richard, V. M. and Sushil, G. R. **Characterization of the abnormal pancreatic development, reduced growth and infertility in *Cdk4* mutant mice.** เข้าเมื่อวันที่ 26 พฤษภาคม 2553 สืบค้นจาก http://www.nature.com/onc/journal/v22/n52/fig_tab/1206888f3.html

Sarma, H.N. and Mahanta, H.C. 2000. **Modulation of morphological changes of endometrial surface epithelium by administration of composite root extract in albino rat.** *Contraception*. 62: 51-54.

Selvendiran, K., Singh, J.P.V. and Sakthisekaran, D. 2006**. In vivo effect of piperine on serum and tissue glycoprotein levels in benzo(α)pyrene induced lung carcinogenesis in Swiss albino mice**. *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics*, 19: 107–111.

Sheeja, E., Joshi, S. B. and Jain, D. C. 2008. **Antifertility Activity of Stems of *Plumbago rosea* in Female**. *Pharmaceutical Biology*. 46: 920 – 927.

Sheeja, E., Joshi, S.B. and Jain, D.C. 2009. **Antiovulatory and estrogenic activity of *Plumbago rosea* leaves in female albino rats.** *Indian J Pharmacol*. 41: 273-277.

Siriporn, S., Pornthip, C. and Malai, B. 2000. **Inhibitory Effects of Selected Thai Spices and Medicinal Plants on *Escherichia coli* O157 : H 7 and *Yersinia enterocolitica***. *Kasetsart J. (Nat. Sci.)* 34: 510 – 517.

Smith, A. W. (1997). **A Gardener's Handbook of Plant Names Their Meaning and Origin**. Dover Publication, Inc. Mineola, New York: 276.

Specification of Thai Medicinal Plants: Guide to the Identification and Authentication of Some Thai Medicinal Plants. Volume 1. Bangkok: Aksornsampan Press; p.112-116.

Stoilova, I., Krastanov, A., Stoyanova, A., Denev, P. and Gargova, S. 2007. **Antioxidant activity of a ginger extract (*Zingiber officinale*)**. *Food Chemistry*. 102: 764–770.

Subehan, T.U., Iwata, H., Kadota, S. and Tezuka Y. 2006. **Mechanism-based inhibition of CYP3A4 and CYP2D6 by Indonesian medicinal plants**. *Journal of Ethnopharmacology*, 105:449–455.

Thai Herbal Pharmacopoeia. Volume 1. 2 nd ed. Bangkok: Prachachon Co. Ltd; p.64.

Thomson, M., Al-Qattan, K.K., Al-Sawan, S.M., Alnaqeeb, M.A., Khan, I. and Ali, M. 2002. **The use of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) as a potential anti-inflammatory and antithrombotic agent.** *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential FattyAcids*. 67(6): 475-478.

Usia, T., Iwata, H., Hiratsuka, A., Watabe, T., Kadota,S. and Tezuka, Y. 2006. **CYP3A4 and CYP2D6 inhibitory activities of Indonesian medicinal plants**. *Phytomedicine*, 13:67–73.

Valerie, R. B., Heather, L. T., Perry, J. B. and Kenneth, S. L. **Veterinary Clinical Pathology Clerkship Program.** เข้าเมื่อวันที่ 26 พฤษภาคม 2553 สืบค้นจาก http://www.vet.uga.edu/vpp/clerk/Beimborn/index.php

Wattanathorn, J., Chonpathompikunlert, P., Muchimapura, S., Priprem, A. and Tankamnerdthai, O. 2008. **Piperine, the potential functional food for mood and cognitive disorders**. *Food and Chemical Toxicology*. 46: 3106–3110.