

รายงานการวิจัย
(ฉบับสมบูรณ์)

ทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินรายได้มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
ประเภททั่วไป ประจำปีงบประมาณ 2547

เรื่อง

การศึกษาฤทธิ์แก้ปวด แก้อักเสบ และบีบมดลูกในสัตว์ทดลอง
ของสารสกัดว่านมหาเมฆ

(Study on antinociceptive, anti-inflammatory and uterine
contraction of *Curcuma aeruginosa* Roxb. extracts
in experimental animals)

คณะผู้ดำเนินการวิจัย

รศ. ดร. วันทนา เจริญมงคล

รศ. ดร. สนั่น สุภธีรสกุล

อ. พีรรัชต์ ไทยนะ (ห่านิวัติชัย)

รศ. มาลินี วงศ์นาวา (พงษ์มารุทัย)

บทคัดย่อ

Curcuma aeruginosa มีชื่อเรียกในภาษาไทยว่า ว่านมหาเมฆ มีการนำเหง้าของพืชนี้มาใช้เป็นยาในตำรับยาสมุนไพรไทยสำหรับลดอาการปวดประจำเดือน ในการศึกษานี้ได้ทำการทดสอบฤทธิ์ระงับปวด ลดไข้ และต้านการอักเสบของพืชนี้ในสัตว์ทดลอง และทดสอบผลของสารสกัดจากว่านมหาเมฆต่อการหดตัวของมดลูกของหนูขาวที่แยกออกจากร่างกาย ทำการสกัดเหง้าของว่านมหาเมฆด้วยคลอโรฟอร์ม เมทานอล และน้ำ ตามลำดับ นำสารสกัดที่ได้มาทดสอบฤทธิ์ระงับปวด ที่เหนี่ยวนำโดยกรดอะเซติก ความร้อน และฟอร์มัลลินในหนูถีบจักร รวมทั้งฤทธิ์ลดไข้ที่เหนี่ยวนำโดยยีสต์ในหนูขาว และผลลดการบวมที่อุ้งเท้าที่เหนี่ยวนำด้วยคาร์ราจินินในหนูขาว ขนาดของสารสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม และสารสกัดด้วยเมทานอล ที่ทำให้หนูถีบจักรตาย 50 % เมื่อป้อนทางปาก มีค่าเท่ากัน คือ 3.03 ก./กก. ไม่มีหนูถีบจักรตายเมื่อป้อนสารสกัดด้วยน้ำทางปากในขนาดสูง 10 ก./กก. การป้อนสารสกัดด้วยคลอโรฟอร์มและเมทานอลจากเหง้าของว่านมหาเมฆ (100-400 มก./กก.) ทางปากในหนูถีบจักร สามารถลดจำนวนของการบิดและยึดของลำตัวเมื่อถูกกระตุ้นโดยกรดอะเซติก เฉพาะสารสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม สามารถลดการเลียในช่วงเฟสหลังของการทดสอบด้วยฟอร์มัลลินในหนูถีบจักร ไม่มีสารสกัดใดจากเหง้าของว่านมหาเมฆ มีผลต่อความเจ็บปวดที่เกิดจากความร้อนในหนูถีบจักร อาการไข้ที่เหนี่ยวนำด้วยยีสต์ และการบวมของอุ้งเท้าที่เหนี่ยวนำด้วยคาร์ราจินินในหนูขาว

นำสารสกัดมาทดสอบฤทธิ์ต่อการบีบตัวของมดลูกทั้งในขณะที่อยู่ในระยะพักหรือระยะที่ไม่ถูกกระตุ้น และเมื่อถูกกระตุ้นให้บีบตัวด้วยสารกระตุ้นต่างๆ ผลการทดลองเป็นดังนี้ ในขณะที่มดลูกยังไม่ถูกกระตุ้น สารสกัดน้ำ (10-1760 มก./มล.) ทำให้มดลูกบีบตัวในลักษณะที่แปรผันตามขนาดสารสกัด โดยทำให้มดลูกบีบตัวด้วยความแรง และความถี่สูงสุดเท่ากับ 2.93 กรัม และ 3 ครั้ง/ 10 นาที แต่ความสามารถในการตอบสนองต่อสารสกัดของมดลูกจะลดลงอย่างรวดเร็ว ส่วน

สารสกัดคลอโรฟอร์มและเมทานอลไม่แสดงผลใด ๆ ในทางตรงกันข้ามสารสกัดทั้งสามชนิดมีผลยับยั้งการบีบตัวของมดลูกที่เกิดจากการกระตุ้นโดยสารต่างๆ ได้ สารสกัดน้ำมีความสามารถในการยับยั้งต่ำที่สุด โดยสามารถลดได้เฉพาะความถี่ในการบีบตัว (ประมาณ 25 %) ที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย oxytocin (0.1 มิลลิยูนิต/มล.) แต่ไม่มีผลอย่างมีนัยสำคัญเมื่อมดลูกถูกกระตุ้นด้วย oxytocin ขนาดสูงขึ้น (1 มิลลิยูนิต/มล.) ส่วนสารสกัดคลอโรฟอร์ม และสารสกัดเมทานอล (10-400 มก./มล.) สามารถยับยั้งการบีบตัวของมดลูกที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย oxytocin (1 มิลลิยูนิต/มล.), $\text{PGF}_{2\alpha}$ (0.5 มก./มล.), ACh (3×10^{-5} โมลาร์) และ KCl (40 มิลลิโมลาร์) ได้อย่างสมบูรณ์ หรือ ยับยั้งได้บางส่วนโดยมีค่า IC_{50} (ในการลดความแรงในการบีบตัว) เท่ากับ 31.4, 58.59, 56.21, 29.28 มก./มล. และ 57.79, 69.3, 223.8, 69.19 มก./มล. ตามลำดับ ยามาตรฐาน verapamil ซึ่งเป็นยาที่มีฤทธิ์ปิดกั้นช่องทางแคลเซียมชนิดแอล สามารถยับยั้งการบีบตัวดังกล่าวได้เช่นเดียวกับสารสกัด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.03, 0.25, 0.35, 0.04 มก./มล. ตามลำดับ ส่วน IC_{50} ของ diclofenac ในการยับยั้งการบีบตัวที่เกิดจาก $\text{PGF}_{2\alpha}$ มีค่าเท่ากับ 31.36 มก./มล. เป็นที่ทราบกันดีว่าการบีบตัวที่เกิดจากตัวกระตุ้นต่างๆ ข้างต้นและ KCl เป็นผลมาจากการที่ตัวกระตุ้นเหล่านี้ทำให้มีการเปิดของช่องทางแคลเซียมชนิดแอล โดยทางตรงหรือโดยทางอ้อม นอกจากนี้สารสกัดคลอโรฟอร์ม และสารสกัดเมทานอล และ verapamil ยังยับยั้งการบีบตัวของมดลูกที่เกิดจากการกระตุ้นด้วยแคลเซียม คลอไรด์ โดยทำให้เส้นกราฟของแคลเซียม คลอไรด์เคลื่อนไปทางขวาอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นจึงอาจเป็นไปได้ว่าฤทธิ์ในการยับยั้งการบีบตัวดังกล่าวของสารสกัดทั้งสองชนิด เป็นผลมาจากการขัดขวางการนำแคลเซียมเข้าสู่เซลล์ที่ผ่านช่องทางแคลเซียมชนิดแอล เช่นเดียวกับ verapamil การทดลองในครั้งนี้นี้ยังแสดงให้เห็นว่าสารสกัดเมทานอลยังยับยั้งการบีบตัวของมดลูกที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย oxytocin ในสารละลายที่ปราศจากแคลเซียมและมี EDTA อยู่ด้วยได้ แสดงว่าส่วนหนึ่งในการออกฤทธิ์ของสารสกัดน่าจะเกิดขึ้นในเซลล์ของกล้ามเนื้อมดลูก

III

ลำดับความแรงในการออกฤทธิ์ยับยั้งการบีบตัวของมดลูกคือ verapamil > สารสกัด
คลอโรฟอร์ม > สารสกัดเมทานอล ฤทธิ์ในการทำให้มดลูกคลายตัวเนื่องจากสาร
สกัดทั้งสองชนิด ไม่ได้เกิดจากการกระตุ้นที่ β_2 -adrenoceptors เนื่องจากไม่ถูก
ต้านฤทธิ์โดย propranolol ซึ่งเป็น β -adrenoceptor antagonist

จากผลการทดลองนี้เสนอว่า สารสกัดด้วยคลอโรฟอร์มจากเหง้าของว่าน
มหาเมฆ มีฤทธิ์ระงับปวด โดยมีกลไกการออกฤทธิ์ที่แตกต่างจากแอสไพริน และ
สารสกัดคลอโรฟอร์มและเมทานอล มีฤทธิ์ยับยั้งการบีบตัวของมดลูกที่เกิดจากการ
กระตุ้นด้วย oxytocin และ $\text{PGF}_{2\alpha}$ ส่วนสารสกัดน้ำมีฤทธิ์ในการกระตุ้นให้มดลูก
บีบตัว

IV

Abstract

Curcuma aeruginosa (*C. aeruginosa*) Roxb. (Zingiberaceae) is known in Thai as Waan-Ma-Haa-Mek. The rhizomes of this plant have been used as a component of Thai herbal medicinal recipes used for decreasing dysmenorrhea. In the present study, the analgesic, antipyretic and anti-inflammatory actions of this plant were investigated in experimental animals. The effects of *C. aeruginosa* extracts were also investigated on the uterine contraction using isolated rat uterus. The rhizomes of *C. aeruginosa* were extracted with chloroform, methanol and water to give chloroform, methanol and aqueous extracts, respectively. The effects of the three extracts on nociceptive response using writhing, hot plate and formalin tests in mice were performed. The antipyretic activity in yeast-induced fever and the anti-inflammatory activity in carrageenin-induced edema in rats, were examined. The LD₅₀ value of orally administered the chloroform extract and methanol extract in mice was 3.03 g/kg. No dead mice were observed after oral administration of aqueous extract at the dose of 10 g/kg. Oral administration of the chloroform extract and the methanol extract of *C. aeruginosa* rhizomes (100-400 mg/kg) significantly decreased the number of writhings and stretchings induced by acetic acid. Only the chloroform extract suppressed the licking activity of the late phase in the formalin test in mice. All extracts of *C. aeruginosa* rhizomes had no effects on heat-induced pain in mice, yeast-induced fever and carrageenin-induced edema in rats.

The effects of the three extracts on the basal tone or nonstimulated uterus as well as the stimulated uterus by various agonists or KCl were performed. In the nonstimulated uterus, the water extract (10-1760 µg/ml) produced a concentration-dependent contraction of the uterus with the maximum increase in

force and frequency = 2.93 g and 3 contractions/10 min, respectively, but the effect was susceptible to quick desensitization, whereas the chloroform and methanol extracts (10-400 $\mu\text{g/ml}$) showed no any significant effect. In contrast, in the agonist or KCl- stimulated uterus, the three extracts exhibited inhibitory effects. The water extracts had a weak inhibitory effect and only decreased the frequency (by about 25 %) of the contraction-induced by 0.1 mU/ml oxytocin and showed no significant effect when that produced by a higher concentration (1 mU/ml) of oxytocin. The chloroform and methanol extracts (10-400 $\mu\text{g/ml}$) exerted concentration-dependently and completely or partially inhibited the contraction induced by oxytocin (1 mU/ml), $\text{PGF}_{2\alpha}$ (0.5 $\mu\text{g/ml}$), ACh (3×10^{-6} M) and KCl (40 mM) with the IC_{50} (in inhibition of force) of 31.4, 58.59, 56.21, 29.28 $\mu\text{g/ml}$; and 57.79, 69.3, 223.8, 69.19 $\mu\text{g/ml}$, respectively. The reference L-type calcium channel blocker, verapamil exhibited similar pattern of inhibition with the IC_{50} of 0.03, 0.25, 0.35 and 0.04 $\mu\text{g/ml}$, respectively. IC_{50} of diclofenac against $\text{PGF}_{2\alpha}$ -induced contraction was 31.36 $\mu\text{g/ml}$. It is known that the contraction-induced by agonists and KCl are mainly due to calcium influx through the voltage-gated L-type calcium channels which opened indirectly or directly by agonist-receptor activation and KCl, respectively. Thus, it is speculated that the two plant extracts might inhibit uterine contraction by interrupting the influx of Ca^{2+} probably through voltage-gated L-type calcium channels. This possibility was further substantiated by the ability of the extracts to shift the CaCl_2 -contraction curves to the right. As the methanol extract also reduced the contraction of oxytocin in Ca^{2+} free-EDTA solution, thus, it is suggested that part of its action involved in intracellular mechanism. The order of potency of uterine relaxant action is verapamil > chloroform extract >

VI

methanol extract. The effect of the two extracts did not involve the activation of β_2 -adrenoceptors, as these extracts could not be antagonized by the β -adrenoceptor antagonist, propranolol.

These results suggest that the chloroform extract of *C. aeruginosa* rhizome possesses analgesic effect via a different mechanism from that of the aspirin. The chloroform and methanol extracts exerted inhibitory effect on the oxytocin and $\text{PGF}_{2\alpha}$ -induced contraction. The water extract had the contractile effect in nonstimulated uterus.