

**ฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนและฤทธิ์คุมกำเนิดของกวาวเครือขาว
ที่เก็บไว้เป็นเวลา 25 ปี ในหนูขาว****
**Estrogenic and Antifertility Effects of *Pueraria mirifica* Collected
for 25 Years in Rats****

วสันต์ มະโนเรือง*

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงราย

Wasan Manoruang*

Faculty of science and technology, Chiangrai Rajabhat University

บทคัดย่อ

การวิจัยในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนและฤทธิ์คุมกำเนิดของผงป่นแห้งจากหัวกวาวเครือขาว (*Pueraria mirifica*) ที่เก็บไว้เป็นเวลา 25 ปี ในหนูขาวเพศเมีย โดยได้แบ่งออกเป็น 2 ตอน ได้แก่ ตอนที่ 1 การตรวจสอบฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนของกวาวเครือขาวที่ป้อนให้แก่หนูขาวที่ตัดรังไข่ ความเข้มข้น 3 ขนาด (25 50 และ 100 มก./ตัว/วัน) เป็นเวลา 4 วันติดต่อกัน ซึ่งได้แบ่งหนูทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มละ 7 ตัว แล้วพิจารณาจากน้ำหนักมดลูกสดแห้ง และของเหลวในมดลูกเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และตอนที่ 2 การตรวจสอบฤทธิ์คุมกำเนิดที่ป้อนให้แก่หนูขาวตัวเมีย ขนาด 100 มล./ตัว/วันทุกวัน และปล่อยให้อยู่รวมกับหนูตัวผู้ (ตัวผู้ : ตัวเมีย จำนวน 1 : 2 ตัว/กรง) เป็นเวลา 14 วัน แล้วแยกตัวเมียเลี้ยงต่อไปอีก 21 วัน สังเกตการตั้งท้องระหว่างการเลี้ยง พร้อมทั้งบันทึกจำนวนลูกหนูที่เกิด หากหนูไม่คลอดในระหว่างการเลี้ยง จะทำการผ่าตัดเพื่อตรวจการฝังตัวของตัวอ่อนในมดลูก พิจารณาผลการตั้งท้องและจำนวนลูกที่เกิด เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ผลการวิจัยพบว่ากวาวเครือขาวที่เก็บไว้เป็นเวลา 25 ปีนั้น ยังคงมีฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนอยู่ คิดเป็นร้อยละ 100 โดยพบว่าน้ำหนักของมดลูกสดแห้ง และปริมาณของเหลวในมดลูกหนูขาวที่ตัดรังไข่ของกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวมีค่ามากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01 ส่วนฤทธิ์คุมกำเนิดพบว่า กวาวเครือขาวที่เก็บไว้เป็นเวลา 25 ปียังคงสามารถแสดงฤทธิ์คุมกำเนิดหนูขาวได้ โดยพบว่าหนูขาวกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวนั้นยังคงมีการตั้งท้องอยู่ คิดเป็นร้อยละ 20

คำสำคัญ : กวาวเครือขาว ฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนและฤทธิ์คุมกำเนิด หนูขาว

* ผู้ประสานงานหลัก (Corresponding Author)
e-mail: wazan2009@gmail.com

Abstract

The objective of this study was to investigate the estrogenic and antifertility effects of *Pueraria mirifica* tuber powder which was collected for 25 years since 1987 in female rats. There were 2 experiments in this study. The first experiment was the investigation of *P. mirifica* estrogenic effects in ovariectomized mature rats by oral feeding with 3 different dosages of *P. mirifica* (25, 50 and 100 mg./rat/day) for 4 consecutive days comparing with control group (7 rats/group). Uterine wet and dried weight and liquid content were used as the indicators of the *P. mirifica* estrogenic potency. The second experiment was investigation on the antifertility effects of *P. mirifica* in mature female rats. Two female rats were caged with 1 male in each cage (10 cages/group). The highest dosage of *P. mirifica* in the first experiment was feed to only the female rats for 14 consecutive days comparing with the control group. After 14-day treatment of *P. mirifica* to the females, the male rats from both groups were separated and the female rats were left and stayed in each cage for another 21 days. During 21-day of observation, the number of pregnant and parturient rats and the number of live fetuses delivered were noted. In the 22th day, all of the female rats in each group were sacrificed and noted for the number of embryos IN UTERO of pregnant rats.

The results were found that *P. mirifica* collected for 25 years still pronounced the estrogenic activities (100 %) in bilaterally ovariectomized rats as indicated from the uterine wet and dried weight and liquid content were significantly higher than the control group ($p < 0.01$). The studies on the antifertility effects of 25th yr. *P. mirifica* in mature female rats revealed that 25th yr. *P. mirifica* was still effective in control female rats fertility. There were 20 % pregnant rats in the experimental group.

Keyword : *Pueraria mirifica*, Estrogenic and antifertility effects, Rat

บทนำ

กวาวเครือขาวเป็นพืชที่อยู่ในสกุล *Pueraria* อนุวงศ์ Papilionoideae วงศ์ Leguminosae ในปี พ.ศ. 2496 ได้มีการกำหนดชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Pueraria mirifica* Airy Shaw et. Suvatabandhu (Kashemsanta et al., 1952) ซึ่งเป็นชื่อวิทยาศาสตร์ที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย แม้ว่าต่อมาได้มีการศึกษาพบว่า กวาวเครือขาวมีลักษณะที่ใกล้เคียงกับเครือเขาปู่ (*Pueraria candollei* Graham ex Benth. var. *candollei*) และยังมีการกำหนดชื่อวิทยาศาสตร์ของกวาวเครือขาวใหม่เป็น *Pueraria candollei* Graham ex Benth. var. *mirifica* (Airy Shaw et. Suvatabandhu) Niyomdham แต่ก็ยังคงมีการใช้ชื่อเดิมอย่างแพร่หลาย จึงกล่าวได้ว่า *Pueraria mirifica* เป็นชื่อพ้อง (Synonym) ของ *Pueraria candollei* สายพันธุ์ *mirifica* (Maesen, 1994) กวาวเครือขาวเป็นพืชสมุนไพรที่มีสรรพคุณในการบำรุงร่างกายช่วยให้ผิวพรรณเต่งตึงโดยเชื่อว่ามีสรรพคุณเป็นยาอายุวัฒนะในปัจจุบันได้มีการนำเอาหัวกวาวเครือขาวมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เสริมความงามต่าง ๆ จำนวนมากและยังมีการนำเอาหัวกวาวเครือขาวมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อาหารสุกรขุนและไก่เนื้อ ช่วยทำให้โตเร็วมีน้ำหนักมากขึ้น ช่วยให้นัยระยะเวลาในการเลี้ยง ช่วยให้ไก่ไข่มีไข่ดก และไข่มีน้ำหนักเพิ่มขึ้น (Smitasiri, 2003)

ผงปนแห้งจากหัวกวาวเครือขาวสามารถออกฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนได้ (Smitasiri, 2004) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าสามารถออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ (Phansawan et al., 2003) ส่วนผลในสัตว์ทดลองนั้นพบว่ากวาวเครือขาวช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของสัตว์หลายชนิดได้แก่สุกรไก่แพะสุนัขและกบช่วยบำรุงเส้นขนสุนัขกระต่ายและแพะสามารถเพิ่มผลผลิตไข่ไก่ใช้ในการแปลงเพศกบช่วยเสริมขนาดเต้านมสุนัขแพะและสุกรช่วยเพิ่มจำนวนเต้านมสุกรเมื่อให้ตั้งแต่เป็นลูกสุกรและหยุดให้ก่อนเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์และยังช่วยลดความก้าวร้าวในปลากัดกระต่ายและสุนัขการศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์คุมกำเนิดของกวาวเครือขาวพบว่าหัวกวาวเครือขาวสามารถแสดงฤทธิ์คุมกำเนิดในสัตว์ทดลองหลาย ๆ ชนิดโดยสามารถคุมกำเนิดสัตว์และคุมกำเนิดหลังผสมในสุนัขหนูนักพิราบยุงรำคาญยุงก้นปล่องแมลงหวี่แมลงสาบและปลา (Smitasiri, 2004)

กวาวเครือขาวมีสารที่มีฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนอยู่หลายชนิด เช่น สารกลุ่ม Isoflavonoid ได้แก่ Daidzein, Genistein, Kwakhurin (Ingham et al., 1986) สารกลุ่ม Isoflavonoid glycoside ได้แก่ Daidzin, Genistin, Mirificin, Puerarin (Ingham et al., 1986; Ingham et al., 1989) สารกลุ่ม Chromenes ได้แก่ Miroestrol, Deoxymiroestrol, Isomiroestrol (Jones & Pope, 1961; Chansakaow et al., 2000) โดยมีรายงานว่า Miroestrol เป็นสารที่สามารถแสดงฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนได้แรงที่สุดของกวาวเครือขาว (Matsumura et al., 2005)

เมื่อเดือนมีนาคม พ.ศ. 2530 ได้มีการนำหัวกวาวเครือขาวจากแหล่งในจังหวัดเชียงใหม่ แล้วนำมาแปรรูปจนอยู่ในลักษณะผงปนแห้ง ซึ่งได้มีการวางแผนที่จะศึกษาว่า ผงปนแห้งจากหัวกวาวเครือขาวดังกล่าวนี้จะสามารถออกฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนและฤทธิ์คุมกำเนิดเป็นเวลากี่ปี โดยมีแผนการติดตามผลตั้งแต่ปีที่เก็บ (พ.ศ.2530) 1ปีหลังเก็บ (พ.ศ. 2531) 5 ปีหลังเก็บ (พ.ศ. 2535) ซึ่งผลจากการติดตามทั้ง 3 ครั้ง ผงปนแห้งจากหัวกวาวเครือขาวสามารถออกฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนและออกฤทธิ์คุมกำเนิดในหนูได้

อย่างมีประสิทธิภาพ (Smitasiri, 1987; Smitasiri, 1988; Monoruang & Smitasiri, 1992) ต่อมาเมื่อติดตามผลของผงปนแห้งจากหัวกวาวเครือขาวเป็นเวลา 10 ปี (พ.ศ. 2540) พบว่า ฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนของผงกวาวเครือขาวก็ยังคงอยู่ แต่ฤทธิ์คุมกำเนิดในหนูเริ่มลดลง (Smitasiri & Wongruen, 2002) ต่อมาเมื่อติดตามผลหลังเก็บไว้เป็นเวลา 15 ปี ในปี พ.ศ. 2545 (Smitasiri & Wongruen, 2002) และการติดตามผลหลังจากเก็บเป็นเวลา 20 ปี (พ.ศ. 2550) พบว่า ฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนของผงกวาวเครือขาวนั้นยังคงอยู่ แต่ฤทธิ์คุมกำเนิดในหนูลดลง (Smitasiri & Wongwiriya, 1997) โครงการดังที่กล่าวมานี้มุ่งที่จะตรวจสอบผงปนแห้งจากกวาวเครือขาวดังกล่าวทุก 5 ปี และได้ดำเนินการตรวจสอบมาอย่างต่อเนื่อง ดังนั้นในปี พ.ศ. 2555 จึงต้องทำการทดสอบตามโครงการดังกล่าว ซึ่งกวาวเครือขาวได้ถูกเก็บไว้เป็นเวลา 25 ปี แล้ว

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนและฤทธิ์คุมกำเนิดของผงปนแห้งจากหัวกวาวเครือขาว ที่เก็บไว้เป็นเวลา 25 ปี ในหนูขาว

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การเตรียมกวาวเครือขาว

นำผงกวาวเครือขาวที่เก็บไว้เป็นเวลา 25 ปี มาผสมกับน้ำกลั่น เพื่อใช้ป้อนหนูทดลองปริมาณ 1 มล./ตัว/วัน โดยจะเตรียมไว้ 3 ขนาด ได้แก่ 25 มก./ตัว/วัน (2.5 กรัม : 100 มล.) 50 มก./ตัว/วัน (5.0 กรัม : 100 มล.) และ 100 มก./ตัว/วัน (10.0 กรัม : 100 มล.) ซึ่งจะได้เป็นลักษณะสารแขวนตะกอน ก่อนป้อนจะต้องเขย่าทุกครั้งและเก็บในตู้เย็น

ตอนที่ 1 การตรวจสอบฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนของกวาวเครือขาว

1. นำหนูขาวเพศเมียสายพันธุ์ Wistar (Wistar rat ; *Rattus norvegicus*) อายุ 12 สัปดาห์ น้ำหนัก 90-100 กรัมจำนวน 28 ตัว มาตัดรังไข่ทั้ง 2 ข้าง ตามวิธีการของ Zarrow, et al. (1964) โดยให้อาหารและน้ำ เพื่อให้หนูสามารถกินได้ตลอดเวลา หลังจากตัดรังไข่ออกไปได้ 2 สัปดาห์ นำหนูที่ตัดรังไข่แล้วมาทำการทดลองต่อไป

2. แบ่งหนูที่ตัดรังไข่แล้ว ออกเป็น 4 กลุ่ม ๆ ละ 7 ตัว ได้แก่

กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุม จะป้อนน้ำกลั่น 1 มล./ตัว/วัน

กลุ่มที่ 2 ป้อนกวาวเครือขาว 25 มก./ตัว/วัน

กลุ่มที่ 3 ป้อนกวาวเครือขาว 50 มก./ตัว/วัน

กลุ่มที่ 4 ป้อนกวาวเครือขาว 100 มก./ตัว/วัน

ทำการป้อนทุกวันติดต่อกันเป็นเวลา 4 วัน โดยจะป้อนในช่วงเวลา 8.00-9.00 น.

3. หลังจากที่ยอดน้ำคร่ำ 4 วันแล้ว ในวันที่ 5 ของการทดลองจะทำการสลบนู ซึ่งนำหนักทุกตัว จากนั้นทำการผ่าตัด โดยตัดส่วนมดลูกไปซึ่งหาน้ำหนักมดลูกสด ด้วยเครื่องชั่งชนิดละเอียด 4 ตำแหน่งแล้ว นำมดลูกสดไปอบในตู้อบอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง มดลูกจะแห้งสนิทจึงนำมาชั่งเป็น น้ำหนักมดลูกแห้ง แล้วนำน้ำหนักมดลูกสดและแห้งไปคำนวณปริมาณของเหลวในมดลูกของหนูแต่ละตัว

4. นำผลทั้งหมดที่ได้ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยวิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance : One Way ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DUNCAN

ตอนที่ 2 การตรวจสอบฤทธิ์คุมกำเนิดของกวาวเครือขาว

1. แบ่งหนูขาวสายพันธุ์ Wistar (Wistar rat ; *Rattus norvegicus*) ที่โตเต็มที่แล้ว ประกอบด้วย หนูตัวเมีย 20 ตัว และตัวผู้ 10 ตัว แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 10 กรง (ใน 1 กรงจะปล่อยให้หนูตัวผู้ อยู่กับหนูตัวเมีย ในอัตราส่วนตัวผู้ : ตัวเมีย จำนวน 1: 2 ตัว/กรง) ดังนี้

กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุม จะป้อนน้ำกลั่น 1 มล./ตัว/วัน

กลุ่มที่ 2 ป้อนกวาวเครือขาว 100 มก./ตัว/วัน

ทำการป้อนเฉพาะหนูตัวเมีย ให้กินทุกวัน ติดต่อกันเป็นเวลา 14 วัน

2. หลังจากที่ยอดน้ำคร่ำของทั้งสองกลุ่มเป็นเวลา 14 วันแล้วจะแยกเอาหนูตัวผู้ออก แล้ว ปล่อยให้หนูตัวเมียแต่ละกรงอยู่โดยลำพังเป็นเวลา 21 วัน โดยในระหว่าง 21 วันนี้ สังเกตหนูตัวเมียในแต่ละ กรงของแต่ละกลุ่มทุกวัน เพื่อสังเกตว่ามีการตั้งท้องหรือไม่ ซึ่งหากพบว่ามีตัวใดตั้งท้อง จะแยกหนูที่ตั้งท้อง นั้นออกมาเลี้ยงเดี่ยว เพื่อรอคลอดต่อไป หากในช่วง 21 วันที่สังเกตนั้น มีแม่หนูตัวใดคลอด ก็จะมีบันทึกวันที่ คลอด และบันทึกลักษณะและจำนวนลูกหนูที่เกิด

3. เมื่อครบ 21 วันแล้ว หากมีหนูตัวใดที่ยังไม่คลอด วันรุ่งขึ้นจะทำการผ่าเปิดหน้าท้อง เพื่อสังเกต มดลูกของหนูนั้นว่ามีการตั้งท้องหรือไม่ หากพบว่ามี การตั้งท้อง จะทำการบันทึกสภาพ จำนวน หรือการฝ่อ ของตัวอ่อนที่ฝังตัวในมดลูกแต่ละข้าง

4. นำผลการสังเกตไปพิจารณาร้อยละของการตั้งท้องของหนูแต่ละกลุ่มและจำนวนลูกที่เกิด และ นำมาคิดจำนวนลูกเฉลี่ยต่อตัว โดยนำจำนวนลูกของแม่หนูแต่ละตัวมาหาค่าเฉลี่ยกับจำนวนแม่หนูที่ตั้งท้อง ของแต่ละกลุ่ม ซึ่งจะสามารถรายงานได้ในรูปของค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน แล้วจึงนำมาวิเคราะห์ ผลทางสถิติโดยเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Independent t-test

ผลการทดลอง

การตรวจสอบฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนที่ได้พิจารณาจากน้ำหนักมดลูกสดแห้ง และปริมาณของเหลวในมดลูกของหนูขาวที่ตัดรังไข่เทียบกับกลุ่มควบคุม พบว่าหนูขาวที่ได้รับกวาวเครือขาวทุกกลุ่มนั้น มีน้ำหนักมดลูกสดแห้ง และปริมาณของเหลวในมดลูก มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01 ดังตารางที่ 1

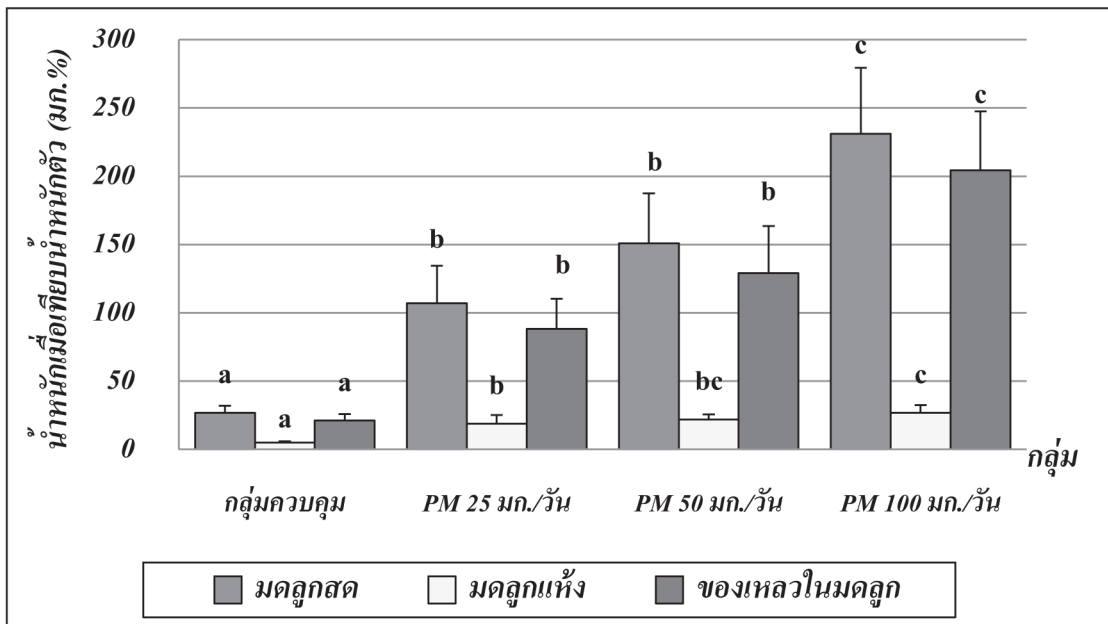
ตารางที่ 1 น้ำหนักมดลูกสดแห้ง และปริมาณของเหลวในมดลูกโดยเฉลี่ย ($\bar{X} \pm S.D.$) ของหนูขาวที่ตัดรังไข่

กลุ่ม (ป้อนสาร 4 วัน)	น้ำหนักมดลูก (มก.%) ในวันที่ 5		ปริมาณของเหลว ในมดลูก (มก.%)
	มดลูกสด	มดลูกแห้ง	
กลุ่มควบคุม	26.82 $\pm$ 5.22 a	4.93 $\pm$ 1.04 a	21.08 $\pm$ 4.76 a
กวาวเครือขาว 25 มก./วัน	107.12 $\pm$ 27.33 b	18.77 $\pm$ 6.29 b	88.35 $\pm$ 21.88 b
กวาวเครือขาว 50 มก./วัน	150.98 $\pm$ 36.54 b	21.94 $\pm$ 3.71 bc	129.04 $\pm$ 34.48 b
กวาวเครือขาว 100 มก./วัน	231.12 $\pm$ 48.26 c	26.75 $\pm$ 5.55 c	204.37 $\pm$ 43.06 c

อักษร a, b, c แทนกลุ่มของค่าเฉลี่ยที่กำหนดไว้เพื่อแสดงความแตกต่างกันทางสถิติ กลุ่มที่มีอักษรต่างกัน หมายถึง ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01

จากตารางที่ 1 พบว่า น้ำหนักมดลูก ทั้งน้ำหนักสดน้ำหนักแห้ง และปริมาณของเหลวในมดลูกหนูขาวที่ตัดรังไข่ กลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวทั้ง 3 กลุ่ม มีค่ามากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ .01 โดยพบว่าค่าน้ำหนักสดแห้ง และปริมาณของเหลวในมดลูกหนูขาวที่ตัดรังไข่มีค่ามากขึ้นตามขนาดของกวาวเครือขาวที่ให้ ซึ่งน้ำหนักมดลูกสดและปริมาณของเหลวในมดลูกนั้น กลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว 100 มก./วัน มีค่าสูงกว่ากลุ่มได้รับกวาวเครือขาว 25 และ 50 มก./วัน โดยที่ทั้งสองกลุ่มหลังนี้มีค่าเฉลี่ยเท่ากันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01 ส่วนน้ำหนักมดลูกแห้งนั้น พบว่า กลุ่มที่มีค่าสูงสุดได้แก่ กลุ่มกวาวเครือขาว 100 50 และ 25 มก./วัน ตามลำดับ ดังภาพที่ 1

ภาพที่ 1 น้ำหนักมดลูกสด แห้ง และปริมาณของเหลวในมดลูกของหนูขาวที่ตัดรังไข่กลุ่มต่าง ๆ



PM = กวาวเครือขาว

อักษร a, b, c แทน กลุ่มของค่าเฉลี่ยที่กำหนดไว้เพื่อแสดงความแตกต่างกันทางสถิติ กลุ่มที่มีอักษรต่างกัน หมายถึง ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01

จากภาพที่ 1 พบว่า น้ำหนักมดลูกสด แห้ง และปริมาณของเหลวในมดลูกของหนูขาวที่ตัดรังไข่กลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวทั้งสามกลุ่ม มีค่ามากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ .01 โดยพบว่ากลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว 100 มก./วันมีค่าสูงที่สุด รองลงมาได้แก่กลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว 25 และ 50 มก./วัน ซึ่งมีค่าเท่ากันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01

ส่วนการตรวจสอบฤทธิ์คุมกำเนิดหนูขาวของกวาวเครือขาวที่เก็บไว้เป็นเวลา 25 ปีพบว่ากวาวเครือขาว ในปริมาณที่ป้อนวันละ 100 มก.นั้น สามารถยับยั้งการตั้งครรภ์ของหนูขาวได้คิดเป็นร้อยละ 80 ในขณะที่กลุ่มควบคุมมีการตั้งครรภ์ร้อยละ 70 ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลการตรวจสอบฤทธิ์คุมกำเนิดหนูขาวของกวาวเครือขาวที่เก็บไว้เป็นเวลา 25 ปี

กลุ่ม	ร้อยละของจำนวนแม่หนูที่		จำนวนลูกหนู (ตัว)	
	ท้อง	ไม่ท้อง	รวมทั้งหมด	เฉลี่ยต่อตัว
กลุ่มควบคุม	70	30	58	8.29 ± 1.25
กลุ่มป้อนกวาวเครือขาว	20	80	5	2.50 ± 2.12 **

** หมายถึง ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01

จากตารางที่ 2 พบว่าหนูขาวกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว ตั้งท้องเพียง 2 ตัว ไม่ตั้งท้อง 8 ตัว ตัวที่ตั้งท้องนั้นมีลูกรวมทั้งสิ้น 5 ตัว เมื่อนำมาคิดจำนวนลูกเฉลี่ยต่อตัวแล้วเท่ากับ 2.50 ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 2.12 ส่วนกลุ่มควบคุมตั้งท้อง 7 ตัว ไม่ตั้งท้อง 3 ตัว ตัวที่ตั้งท้องมีลูกรวมทั้งสิ้น 58 ตัว เมื่อคิดจำนวนลูกเฉลี่ยต่อตัวเท่ากับ 8.29 ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 1.25 ซึ่งเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับจำนวนลูกโดยเฉลี่ยต่อตัวแล้วพบว่า ลูกหนูขาวกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวมีจำนวนลูกน้อยกว่ากลุ่มควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01

วิจารณ์ผลการทดลอง

ผลจากการตรวจสอบฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนของกวาวเครือขาวนั้นพบว่า กวาวเครือขาวที่เก็บไว้เป็นเวลา 25 ปี ยังคงมีฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนอยู่กวาวเครือขาวที่เก็บไว้เป็นเวลา 25 ปี สามารถชักนำให้หนูขาวที่ตัดรังไข่มีน้ำหนักมดลูกทั้งสดและแห้ง รวมทั้งปริมาณของเหลวในมดลูกมากขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมและมีความมากขึ้นตามขนาดของกวาวเครือขาวที่ให้ ซึ่งเป็นไปเช่นเดียวกับผลการตรวจสอบฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนของกวาวเครือขาวที่ได้เก็บไว้เป็นเวลา 20 ปีโดย Manoruang & Smitasiri (2007) ที่ได้ตรวจสอบโดยป้อนกวาวเครือขาวขนาด 5 10 และ 20 มก./วัน ให้แก่หนูถีบจักรที่ตัดรังไข่ พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวมีน้ำหนักของมดลูกสดและแห้ง รวมทั้งปริมาณของเหลวในมดลูก มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ ยังมีค่ามากขึ้นตามขนาดของกวาวเครือขาวที่ให้เช่นเดียวกับผลการวิจัยครั้งนี้ ฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนของกวาวเครือขาวนั้นเกิดจากการที่มีสารที่ออกฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนในหัวกวาวเครือขาวอยู่หลายชนิด ได้แก่ Miroestrol, Deoxymiroestrol, Isomiroestrol, Daidzin, Daidzein, Genistin, Genistein, Kwakhurin, Mirificin, Puerarin (Ingham et al., 1986; Ingham et al., 1989; Jones & Pope, 1961; Chansakaow et al., 2000) ที่ยังคงสามารถแสดงฤทธิ์ได้ แม้ว่าจะเก็บกวาวเครือขาวในรูปผงปนแห้งเป็นเวลา 25 ปี โดยที่ฤทธิ์เอสโตรเจนมีผลทำให้มีเลือดไปหล่อเลี้ยงมดลูกมากขึ้น ที่เรียกว่า Hyperemia ส่งผลทำให้มดลูกมีปริมาณน้ำเพิ่มขึ้น เกิดการขยายตัวของมดลูก ซึ่งได้พบว่าเอนไซม์มีการทำงานเพิ่มมากขึ้นและเกิด Oxidative metabolism ทำให้เซลล์ในชั้น Endometrium และ

Myometrium ในมดลูกมีการแบ่งเซลล์แบบ Mitosis และเซลล์มีการขยายขนาดขึ้น (Malaivijitnond et al., 2006; Zarrow et al., 1964) ซึ่งส่งผลทำให้น้ำหนัคมดลูกทั้งสดและแห้ง รวมทั้งปริมาณของเหลวในมดลูกเพิ่มขึ้น

ส่วนฤทธิ์คุมกำเนิดของกวาวเครือขาวที่เก็บไว้เป็นเวลา 25 ปี พบว่า กวาวเครือขาวยังคงมีฤทธิ์คุมกำเนิดอยู่ แต่มีฤทธิ์อ่อนลง ซึ่งพิจารณาจากร้อยละของแม่หนูที่ตั้งท้องแล้ว อาจกล่าวได้ว่ากวาวเครือขาวยังคงมีฤทธิ์คุมกำเนิดอยู่ แม้ว่าหนูขาวที่ได้รับกวาวเครือขาวจะมีการตั้งท้องอยู่บ้าง (2 ใน 10 ตัว) แต่พบว่า หนูตัวที่ตั้งท้องมีลูกรวมทั้งสิ้น 5 ตัว ในขณะที่กลุ่มควบคุมที่มีหนูตั้งท้อง 7 ตัว มีลูกรวมทั้งสิ้น 58 ตัว ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบจำนวนลูกโดยเฉลี่ยต่อตัวแล้วพบว่า ลูกหนูขาวกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวมีจำนวนลูกน้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01 นับว่ากวาวเครือขาวยังคงมีฤทธิ์คุมกำเนิดอยู่แต่ฤทธิ์นั้นอ่อนลงจากเดิม ซึ่งจากผลการตรวจสอบฤทธิ์คุมกำเนิดของกวาวเครือขาวในปีที่เก็บ ที่เก็บไว้ 5 ปี 10 ปี 15 ปี 20 ปี และ 25 ปี พบว่าฤทธิ์คุมกำเนิดเริ่มลดลง หลังจากเก็บไว้ 10 ปี แสดงฤทธิ์คุมกำเนิดร้อยละ 95 ที่เก็บไว้ 15 ปี แสดงฤทธิ์คุมกำเนิดร้อยละ 95 ที่เก็บไว้ 20 ปี แสดงฤทธิ์คุมกำเนิดร้อยละ 90 และที่เก็บไว้ 25 ปี แสดงฤทธิ์คุมกำเนิดร้อยละ 80 จากที่เคยยับยั้งการตั้งท้องหนูขาวได้ถึงร้อยละ 100 จะเห็นว่าฤทธิ์คุมกำเนิดนั้นลดลง การที่กวาวเครือขาวสามารถแสดงฤทธิ์คุมกำเนิดได้เนื่องมาจากสารที่ออกฤทธิ์คล้าย เอสโตรเจนในหัวกวาวเครือขาวดังที่ได้กล่าวมาแล้ว ซึ่งยังคงสามารถแสดงฤทธิ์ได้ แม้จะเก็บกวาวเครือขาวไว้เป็นเวลา 25 ปีแล้ว เอสโตรเจนเป็นฮอร์โมนเพศหญิงที่สร้างขึ้นจากรังไข่ สามารถส่งผลควบคุมย้อนกลับ (Feedback) ต่อ Gonadotropin Releasing Hormone (GnRH) ที่สร้างจากสมองส่วน Hypothalamus ซึ่งทำหน้าที่ควบคุมการสร้าง Gonadotropin จากต่อมใต้สมองหรืออาจไปมีผลย้อนกลับต่อฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองโดยตรง อันได้แก่ ฮอร์โมน FSH ที่ทำหน้าที่ควบคุมการเจริญของ Follicle ที่รังไข่ และฮอร์โมน LH ที่มีบทบาทในการกระตุ้นให้เกิดการตกไข่ ซึ่งจะส่งผลให้ Follicle ไม่เจริญ หรือไม่มีการตกไข่ (Malaivijitnond et al., 2004) และนอกจากนี้ยังมีรายงานว่ากวาวเครือขาวมีผลเร่งการเดินทางของตัวอ่อนในท่อนำไข่ หรือไปรบกวนการฝังตัวของตัวอ่อน (Smitasiri et al., 1986) ส่งผลทำให้หนูไม่สามารถตั้งท้องได้ ซึ่งในการวิจัยครั้งนี้พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวมีการตั้งท้องเพียง 2 ตัว และพบว่ามีลูก 4 และ 1 ตัว ตามลำดับ ในขณะที่กลุ่มควบคุมมีจำนวนลูก 7-10 ตัว จึงกล่าวได้ว่า ถึงแม้ว่าหนูที่ได้รับกวาวเครือขาวจะยังคงตั้งท้องได้แต่จำนวนลูกก็น้อยมากเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

จะเห็นว่ากวาวเครือขาวที่เก็บไว้เป็นเวลา 25 ปียังคงมีฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนอยู่แต่ฤทธิ์คุมกำเนิดนั้นอ่อนลง ซึ่งสอดคล้องกับผลการตรวจสอบฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนและฤทธิ์คุมกำเนิดของผงปนแห้งกวาวเครือขาว ที่เก็บไว้เป็นเวลา 20 ปี โดย Manoruang & Smitasiri (2007) ที่ได้พบว่ากวาวเครือขาวยังคงมีฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนอยู่ แต่ฤทธิ์คุมกำเนิดอ่อนลง เช่นเดียวกับผลการวิจัยครั้งนี้ ซึ่งการที่ฤทธิ์คุมกำเนิดของกวาวเครือขาวอ่อนลงนั้น จึงอาจกล่าวได้ว่าฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนของกวาวเครือขาวก็มีแนวโน้มอ่อนลงเช่นเดียวกัน อันเนื่องมาจากความสามารถในการคุมกำเนิดได้ของกวาวเครือขาว ส่วนหนึ่งนั้นมาจากฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนที่ไปมีผลควบคุมย้อนกลับที่สมองส่วน Hypothalamus หรือที่ต่อมใต้สมอง ดังที่ได้กล่าวมาแล้ว

ดังนั้นหากต้องการนำกวาวเครือขาวที่เก็บไว้เป็นเวลา 25 ปี ไปใช้ประโยชน์ให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุด ควรเพิ่มขนาดของกวาวเครือขาวให้สูงขึ้น เนื่องจากกวาวเครือขาวมีแนวโน้มว่าจะมีฤทธิ์ที่อ่อนลงแล้ว จากที่พบว่ากวาวเครือขาวที่เก็บไว้เป็นเวลา 25 ปีนั้นยังคงสามารถแสดงฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนได้ดี (100 %) ส่วนฤทธิ์คุมกำเนิดเริ่มลดลงหลังจากที่เก็บไว้เป็นเวลา 10 ปี ดังนั้นในการควบคุมคุณภาพสมุนไพรจะแนะนำให้ใช้กวาวเครือขาวที่เก็บไว้ไม่เกิน 10 ปี

ถึงแม้ว่ากวาวเครือขาวที่เก็บไว้เป็นเวลา 25 ปีจะมีฤทธิ์คุมกำเนิดที่อ่อนลงแล้ว แต่ฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนยังคงมีอยู่ ซึ่งจากการศึกษาพบว่าผงปนแห้งจากกวาวเครือขาวสามารถแสดงฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนได้ค่อนข้างแรงในปีที่เก็บ (Smitasiri, 1987) จึงควรมีการศึกษาต่อไปว่าจะสามารถเก็บกวาวเครือขาวได้นานเท่าใดจึงจะหมดฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนและฤทธิ์คุมกำเนิด

สรุปผลการทดลอง

กวาวเครือขาวที่เก็บไว้เป็นเวลา 25 ปี ยังคงมีฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนอยู่ โดยพบว่าน้ำหนักมดลูกสดแห้ง และปริมาณของเหลวในมดลูกหนูขาวที่ตัดรังไข่ของกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวมีค่ามากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01 ส่วนฤทธิ์คุมกำเนิดนั้นพบว่า กวาวเครือขาวที่เก็บไว้เป็นเวลา 25 ปี ยังคงมีประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์คุมกำเนิดหนูขาวได้ โดยได้พบว่าหนูขาวที่ได้รับกวาวเครือขาวยังคงมีการตั้งท้องอยู่ คิดเป็นร้อยละ 20

ข้อเสนอแนะ

1. ข้อเสนอแนะการนำผลการวิจัยไปใช้

1.1 ในการนำกวาวเครือขาวมาใช้ประโยชน์โดยอาศัยฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจน ควรพิจารณาถึงอายุในการเก็บรักษาอาจมีการปรับปริมาณของกวาวเครือขาวให้มากขึ้นตามอายุของการเก็บรักษาเพื่อให้ฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนที่อาจเสื่อมลงไปบ้างนั้น ยังคงสามารถแสดงฤทธิ์ได้ เนื่องจากผลการทดลองได้พบว่ากวาวเครือขาวสามารถแสดงฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนในหนูขาวได้มากขึ้นตามขนาดของกวาวเครือขาวที่ให้

1.2 การวิจัยครั้งนี้ ได้ศึกษาฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนและฤทธิ์คุมกำเนิดในหนูขาว ซึ่งอาจแสดงผลที่แตกต่างกันไปในสัตว์ทดลองอื่น ๆ ในการนำกวาวเครือขาวไปใช้เพื่อให้มีประสิทธิภาพสูงสุดนั้น จึงควรพิจารณาที่การแสดงฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนและฤทธิ์คุมกำเนิดในสัตว์ทดลองนั้น ๆ ซึ่งอายุในการเก็บรักษากวาวเครือขาวอาจแสดงผลที่แตกต่างกันในสัตว์ทดลองอื่น ๆ

1.3 กวาวเครือขาวที่ถูกลำเลียงมาจากต่างแหล่ง สามารถแสดงฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนในระดับที่แตกต่างกัน และถึงแม้ว่าจะเป็นแหล่งเดียวกันหากเก็บต่างฤดูกาล อาจแสดงฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนได้แตกต่างกัน ซึ่งเป็นข้อที่ควรคำนึงถึงเป็นอย่างยิ่งในการนำกวาวเครือขาวไปใช้ ไม่เพียงแต่อายุการเก็บรักษาเท่านั้นที่มีผลต่อระดับของการแสดงฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนและฤทธิ์คุมกำเนิด

2. ข้อเสนอแนะการวิจัยครั้งต่อไป

2.1 ควรมีการตรวจสอบฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนและฤทธิ์คุมกำเนิดของกวาวเครือขาว ที่มีต่อสัตว์ทดลองอื่น ๆ เพื่อทราบอายุในการเก็บรักษาที่กวาวเครือขาวจะยังคงฤทธิ์ต่อสัตว์ทดลองนั้น ซึ่งอาจแสดงผลแตกต่างไปจากผลในหนูขาวของการวิจัยครั้งนี้ไปบ้าง เพื่อประโยชน์ในการนำไปใช้ในสัตว์นั้น ๆ หรือการนำไปประยุกต์ใช้กับสัตว์อื่นที่มีขนาดใกล้เคียงกัน

2.2 สารสกัดจากกวาวเครือขาวที่สามารถแสดงฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนและฤทธิ์คุมกำเนิดในสัตว์ทดลองได้ ควรจะมีการศึกษาถึงอายุในการเก็บรักษา โดยอาจเปรียบเทียบวิธีการเก็บรักษา เช่น เก็บในอุณหภูมิต่าง ๆ หรือเก็บในภาชนะต่าง ๆ เป็นต้น

2.3 ควรเปรียบเทียบฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนและฤทธิ์คุมกำเนิดของกวาวเครือขาว ที่ได้เก็บมาจากแหล่งต่าง ๆ หรือเปรียบเทียบกวาวเครือขาวที่ได้จากแหล่งเดียวกันที่เก็บในฤดูกาลต่างกัน ว่าจะสามารถเก็บรักษากวาวเครือขาวได้นานเพียงใดที่จะยังคงฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนและฤทธิ์คุมกำเนิดในสัตว์ทดลอง

2.4 ควรศึกษาเกี่ยวกับสารสำคัญที่เป็น Chemical marker ในหัวกวาวเครือขาว ที่สามารถแสดงฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนได้ในช่วงระยะเวลาในการเก็บที่ต่างกัน ที่อาจแตกต่างกันไปตามชนิดของสาร ในสัตว์ทดลองต่าง ๆ และเพื่อทราบถึงการคงอยู่ของฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนของสารนั้น ๆ

References

- Chansakaow, S., Ishikawa, T., Seki, H., Sekine, K., Okada, M., & Chaichantipyuth, C. (2000). Identification of Deoxymiroestrol as the Actual Rejuvenating Principle of “Kwao Keur”, *Pueraria mirifica*. The Known Miroestrol May be an Artifact, *J. Nat. Prod.* 63, 173-175.
- Ingham, J.L., Tahara, S., & Dziedzic, S.Z. (1986). A Chemical Investigation of *Pueraria mirifica*. *Z. Natureforsch.* 41c, 403-408.
- Ingham, J.L., Tahara, S., & Dziedzic, S.Z. (1989). Minor Isoflavones from the Root of *Pueraria mirifica*. *Z. Natureforsch.* 44c, 724-726.
- Jones, H.E.H., & Pope, G.S. (1961). A method for the Isolation of Miroestrol from *Pueraria mirifica*. *J. Endocr.* 22, 303-312.
- Kashemsanta, L., Suvatabanhu, K., & Airy Shaw., A.K. (1952). A New Species of *Pueraria* (Leguminosae) from Thailand, Yielding an Oestrogenic Principle. *Kew Bull.* 7, 263-266.

- Maesen, L.J.G. van der. (1994). *Pueraria*, the Kudzu and Its Relatives. An Update of the Taxonomy. In Sorensen, M. (Ed.), *Proceedings of the First International Symposium on Tuberous Legumes*, (pp.328). Guadeloupe : Jordbrugsforlaget, Copenhagen, Denmark. .
- Malaivijitnond, S., Chansri, K., Kijkuokul, P., Urasopon, N., & Cherdshewasart, W. (2006). Using Vaginal Cytology to Assess the Estrogenic Activity of Phytoestrogen-rich Herb. *J. Ethnopharmacol*, 107, 354-360.
- Malaivijitnond, S., Kiatthaipipat, K., Cherdshewasart, W., Watanabe, G., & Taya, K. (2004). Different Effects of *Pueraria mirifica*, a Herb Containing Phytoestrogens, on LH and FSH Secretion in Gonadectomized Female and Male Rats. *J. Pharm. Sci*, 96, 428-435.
- Manoruang, W., & Smitasiri, Y. (1992). Test of Estrogenic and Antifertility Effects of *Pueraria mirifica* Collected for 5 Years in Albino Rats. In *The 10th Conference on Methodological Technique in Biological Science*. (pp.160). Nakhon Pathom: Central Laboratory and Greenhouse Complex, KURDI, Kamphaengsaen Campus, Kasetsart University. (in Thai)
- Manoruang, W., & Smitasiri, Y. (2007). Estrogenic and Antifertility Effects of *Pueraria mirifica* Collected for 20 Years in Mice. In *The 3rd Global Summit on Medicinal and Aromatic Plants*. (pp.224). Chiang Mai : Chiang Mai University, International Academic Services Center Chiang Mai,& Century Foundation Bangalore India.
- Matsumura, A., Ghosh, A., Pope, G.S., & Darbre, P.D. (2005). Comparative Study of Oestrogenic Properties of Eight Phytoestrogens in MCF7 Human Breast Cancer Cells. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol*, 94, 431-443.
- Phansawan, B., Sang-Arun, J., Smitasiri, Y., Puangbangpho. S., & Suttajit, M. (2003). Antioxidative Activity of Kwao Keur. *3rd World Congress on Medicinal and Aromatic Plants for Human*. (pp.398). Chiang Mai : Lotus Hotel Pang Suan Kaew Hotel.
- Smitasiri, Y. (1987). *Test on Estrogenic and Antifertility Effects of Pueraria mirifica Collected at This Year in Rats*. Final Report, Kwao Keur Research Unit, Faculty of Science, Chiang Mai University, Chiang Mai. (in Thai)

- Smitasiri, Y. (1988). *Test on Estrogenic and Antifertility Effects of Pueraria mirifica Collected for 1 Year in Rats*. Final Report, Kwao Keur Research Unit, Faculty of Science, Chiang Mai University, Chiang Mai. (in Thai)
- Smitasiri, Y. (2003). *Technology Transfer of Pueraria mirifica to Chiang Rai Community*. Chiang Rai: School of Science, Mae Fah Luang University. (in Thai)
- Smitasiri, Y. (2004). Conclusion of Kwaw Keur. In Kemmukd, Y. (Ed.), *Kwao Keur Drug Pamphlet of Luang Anusarnsunthorn*. (pp.62). Chiang Mai: Tharathong Karnpim. (in Thai)
- Smitasiri, Y. & Wongruen, S. (2002). *Test on Estrogenic and Antifertility Effects of Pueraria mirifica Collected for 15 Years in Rats*. Final report, Kwao Keur Research Unit, Mae Fah Luang University, Chiang Rai. (in Thai)
- Smitasiri, Y. & Wongwiriya, W. (1997) *Test on Estrogenic and Antifertility Effects of Pueraria mirifica Collected for 10 Years in Rats*. Final Report, Kwao Keur Research Unit, Institute of Science, Suranaree University of Technology, Nakhon Ratchasima. (in Thai)
- Smitasiri, Y., Junyatum, U., Songjitsawad, A., Sripromma, P., Trisrisilp, S., & Anuntalabhochai, S. (1986). Postcoital Antifertility Effects of Pueraria mirifica in Rats. *Journal of the Science Faculty of Chiang Mai University*, 13, 19-28.
- Zarrow, M.X., Yochim, J.M., McCarthy, J.L., & Sanborn, R.C. (1964). *Experimental Endocrinology : A Sourcebook of Basic Techniques*. New York: Academic Press.

ผู้เขียน

ดร.วสันต์ มะโนเรือง

อาจารย์คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงราย

เลขที่ 80 หมู่ที่ 9 ถนนพหลโยธิน อำเภอเมือง จังหวัดเชียงราย 57100 โทร 0-5377-6000

e-mail: wazan2009@gmail.com

