

อุปกรณ์และวิธีทำการวิจัย

๒.๑ อุปกรณ์

๒.๑.๑ เคมีภัณฑ์

- ๒.๑.๑.๑ Sodium Chloride
- ๒.๑.๑.๒ Calcium Chloride
- ๒.๑.๑.๓ Potassium Chloride
- ๒.๑.๑.๔ Sodium Bicarbonate
- ๒.๑.๑.๕ Glucose

๒.๑.๒ ยาที่ใช้ในการทดลอง

- ๒.๑.๒.๑ Oxytocin
- ๒.๑.๒.๒ Methylergonovine
(Methergin อภินันทนาการจากบริษัท Zandoz)
- ๒.๑.๒.๓ Propranolol
- ๒.๑.๒.๔ Acetylcholine
- ๒.๑.๒.๕ Isoproterenol
- ๒.๑.๒.๖ Anesthetic Ether
- ๒.๑.๒.๗ ยาขับระดูแผนโบราณ ล.
- ๒.๑.๒.๘ ยาขับระดูแผนโบราณ ค.
- ๒.๑.๒.๙ ยาขับระดูแผนโบราณ ง.

๒.๑.๓ เครื่องมือ

- ๒.๑.๓.๑ Isolated Organ-tissue Bath (Cat. No. 7053-400 Phipp and Bird, Inc.)



- ๒.๑.๓.๒ Harvard Apparatus isotonic transducer (Cat. No. 357
Harvard App. Ca. Inc. Millis, MASS)
- ๒.๑.๓.๓ Harvard Apparatus recorder (Harvard 12 speed chart
mover)
- ๒.๑.๓.๔ Clinical Flame Photometer (Coleman, model 51 and 51
Ca)
- ๒.๑.๓.๕ Filter paper. Whatman No. 1

๒.๒ วิธีการวิจัย

การวิจัยแบ่งเป็น ๒ วิธี คือ

- ๒.๒.๑ การศึกษาผลของยาขับระดูแผนโบราณต่อการบีบตัวของกล้ามเนื้อคลูกหนูขาวที่แยกออกจากตัว
- ๒.๒.๒ การศึกษาผลของยาขับระดูแผนโบราณต่อการป้องกันการตั้งครรภ์และการแท้ง

๒.๒.๑ เตรียมการทดลองโดย

๒.๒.๑.๑ การเตรียมยาขับระดูแผนโบราณที่ใช้ในการทดลอง

นำยาขับระดูแผนโบราณ ล. ซึ่งเป็นยาน้ำ เขย่าให้เข้ากัน ผสมกับ Physiological solution (De-Jalon solution จากตารางที่ ๑) ให้ได้ความเข้มข้น ๑:๒๐ ในกรณีทดลองกับ oxytocin, ๑:๑๐ ในกรณีทดลองกับ methylergonovine และใช้ความเข้มข้นโดยไม่เจือจางเมื่อทดลองกับ acetylcholine

นำยาขับระดูแผนโบราณ ค. ซึ่งเป็นยาน้ำ เขย่าให้เข้ากัน ผสมกับ Physiological solution (De-Jolon solution) ให้ได้ความเข้มข้น ๑:๑๐ ในกรณีทดลองกับ oxytocin, methylergonovine และใช้ความเข้มข้นโดยไม่เจือจางเมื่อทดลองกับ acetylcholine

เตรียมยาขับระดูแผนโบราณ ง. ซึ่งเป็นผง โดยการชั่งยา ๑ กรัมละลายกับ Physiological solution (De-Jalon solution) อุณหภูมิ ๖๐°C ประมาณ ๕๐ ml คนยาให้เข้ากัน ตั้งไว้นาน ๑๐ นาที แล้วกรองเอากากออก จะได้น้ำยาสีเหลืองใส



ตารางที่ ๑ ส่วนประกอบของน้ำยา De Jalon's

Chemicals	Weight (gm)
NaCl	๔.๐
KCl	๐.๔๒
NaHCO ₃	๐.๔
CaCl ₂	๐.๐๖
Glucose	๐.๔
H ₂ O (ml)	๑๐๐๐

ส่วนประกอบของยาขับระดูแผนโบราณทั้ง ๓ ชนิด รวมทั้งวงศ์และสรรพคุณของพืชสมุนไพรต่าง ๆ ที่ใช้ มีสรุปไว้ในตารางที่ ๒

การเตรียมยาที่ใช้ในการทดลองแต่ละครั้ง เป็นการเตรียมขึ้นใช้ในการทดลองครั้งเดียว

๒.๒.๑.๒ การตรวจหาปริมาณ electrolytes ของยาขับระดูแผนโบราณทั้ง ๓

ชนิด

นำยาขับระดูแผนโบราณ ล. และยาขับระดูแผนโบราณ ค. มาเขย่าแต่ละชนิดให้เข้ากัน แล้วกรองเอากากออก จะได้น้ำยาขับระดูแผนโบราณ ล. สีเทาใส และน้ำยาขับระดูแผนโบราณ ค. สีชมพูใส ส่วนยาขับระดูแผนโบราณ ง. เตรียมโดยชั่งยา ๑ กรัมผสมน้ำกลั่นอุ่น 30°C ประมาณ ๔๐ ml คนให้เข้ากัน ตั้งไว้นาน ๑๐ นาที กรองเอากากออกจะได้น้ำยาสีเหลืองใส นำน้ำยาของยาขับระดูแผนโบราณทั้ง ๓ ชนิดที่เตรียมได้ ไปหาปริมาณ electrolytes ที่สำคัญ ๆ คือ Na^{+} , K^{+} , Ca^{++} โดยใช้ Flame Photometer น้ำยาแต่ละชนิดวัดหาค่า ๒ ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ย จะได้ค่าดังตารางที่ ๓

การเตรียม simulated electrolytes solution ของยาขับระดูแผนโบราณทั้ง ๓ ชนิด ทำโดยการละลาย NaCl , KCl , CaCl_2 ซึ่งมี Na^{+} , K^{+} , Ca^{++} ตามปริมาณเฉลี่ยที่วัดได้จาก Flame Photometer ของน้ำยาขับระดูแผนโบราณแต่ละชนิดในน้ำกลั่น เพื่อนำไปทดลองคู่กับน้ำยาขับระดูแผนโบราณนั้น ๆ เปรียบเทียบผลต่อการบีบตัวของกล้ามเนื้อหลอดหูขาว

๒.๒.๑.๓ การเตรียมสัตว์ทดลอง

ใช้หนูขาวเพศเมีย (อายุประมาณ ๓ เดือน) น้ำหนัก ๑๒๐-๒๐๐ กรัม ทำ vaginal smear เพื่อเลือกระยะ Estrus ซึ่งเป็นระยะที่มีความไว (sensitivity) ต่อ oxytocin มากกว่าระยะอื่น ๆ (๑๗, ๒๖, ๒๗) ทำให้หนูหมดความรู้สึกโดยใช้ไม้คีบบริเวณรอยต่อของส่วนหัวกับคอ เปิดหน้าท้องหนูแยกเอา uterine horns ออกวางในชามที่มี De Jalon solution และออกซิเจนเอาไขมันที่ติดกับ uterine horns ออก ตัด uterus ยาวประมาณ ๑ ซม. มาแขวนในหลอดแก้ว (chamber) ขนาดจุ ๖๐ ml ซึ่งมี De Jalon solution ควบคุมอุณหภูมิของ isolated organ tissue bath ระหว่าง $32-34^{\circ}\text{C}$ ให้ออกซิเจน ๔๔% และคาร์บอนไดออกไซด์ ๕% ผ่านในหลอดแก้วตลอดเวลา บันทึกผลการบีบตัวของกล้ามเนื้อหลอดหูขาวด้วย isotonic transducer และ recorder

ตารางที่ ๒ รายชื่อยาขับระดูแผนโบราณที่นำมาศึกษาวิจัย

อันดับ	ชื่อยา	ส่วนประกอบ ในยา	ชื่อวิทยาศาสตร์	วงศ์	ส่วนที่ใช้	ประโยชน์ ^(๒๐-๒๔)
คำรับที่ ๑	ยาขับระดูแผน โบราณ ล	แสมสาร	<i>Cassia garrettiana</i> Craib	Caesalpinaceae	แก่น, ใบ ดอก	เป็นยาระบาย, ฟอกเลือด สตรี
		แสมทะเล	<i>Avicennia officinalis</i> Linn	Verbenaceae	แก่น	ขับระดูสตรี
		ซีเหล็กเลือด	<i>Cassia timoriensis</i> , DC	Caesalpineae	แก่น, เปลือก	ขับระดูสตรี บำรุงโลหิต
		เถาคันแดง	<i>Cayrathia trifolia</i> (Linn) Domin	Vitaceae	เถา	ใช้ฟอกเลือดสตรี
		ใบมะกา	<i>Bridelia siamensis</i> Craib	Euphorbiaceae	ใบ	ขับระดูสตรี
คำรับที่ ๒	ยาขับระดูแผน โบราณ ค	โกฎหัวช้าง	<i>Archangelica</i> <i>officinalis</i> (<i>Angelica</i> <i>archangelica</i>)	Umbelliferae	หัว	แก้ริดสีดวง, แก้ลมในท้อง
		โกฎเชียง	<i>Angelica levislicum</i> Baill	Umbelliferae	ราก	แก้ไข้ แก้ไอ
		อบเชย	<i>Cinnamomum iners-</i> Blume	Lauraceae	เปลือก ต้น	ขับระดูสตรี บำรุงกำลัง

ตารางที่ ๒ รายชื่อยาขับระดูแผนโบราณที่นำมาศึกษาวิจัย

อันดับ	ชื่อยา	ส่วนประกอบ ในยา	ชื่อวิทยาศาสตร์	วงศ์	ส่วนที่ใช้	ประโยชน์ ^(๒๐-๒๔)
ตำรับที่ ๓	ยาขับระดูแผน แผนโบราณ ง	ข่า	<i>Alpinia galanga-</i> <i>Swartz</i>	Zingiberaceae	เหง้า	ขับลม, กระตุ้นกล้ามเนื้อเรียบ
		ขิง	<i>Zingiber officina-</i> <i>lis Roscoe</i>	Zingiberaceae	เหง้า	ขับลม, อาหารไม่ย่อย, ประจำเดือนมาไม่ปกติ
		ไพล	<i>Zingiber cassumu-</i> <i>nar Roxb</i>	Zingiberaceae	เหง้า	ขับระดูสตรี ปิษมคลูก
		มะกรูด	<i>Citrus hystrix DC</i>	Rutaceae	ใบ, ผล, ราก	ขับลม, ขับระดูสตรี ฟอกเลือด บำรุงโลหิต
		ตีปัส	<i>Piper longum Linn</i>	Piperaceae	ดอก, ใบ, ต้น, ราก	ฟอกเลือดสตรี บำรุงเลือด, ขับระดูสตรี

ตารางที่ ๓ ปริมาณของ Na^+ , K^+ , Ca^{++} ในยาขับระดูแผนโบราณทั้ง ๓ ชนิด จาก Clinical Flame Photometer

ชื่อยา	Electrolyte	ค่าที่อ่านได้ จากFlame	ค่าเฉลี่ย	ปริมาณ Electrolyte (mEq/L)
ยาขับระดูแผน โบราณ ฉ	Na^+	๕๗, ๕๗.๕	๕๗.๒๕	๒๐๔๔.๖๔
	K^+	๔๓, ๔๓	๔๓	๑๓.๔๔
	Ca^{++}	๕.๕, ๕.๕	๕.๕	๔๔
ยาขับระดูแผน โบราณ ค	Na^+	๕๔, ๕๔	๕๔.๕๐	๒๗.๘๘
	K^+	๗๑, ๗๑.๒	๗๑.๑๐	๑๖.๔
	Ca^{++}	๖.๔๒, ๖.๔	๖.๔๑	๒.๖
ยาขับระดูแผน โบราณ ง	Na^+	๔๓, ๔๓	๔๓	๓.๔๘
	K^+	๔๔, ๔๔	๔๔	๔.๓๖
	Ca^{++}	๕.๔, ๖.๐	๕.๕๕	๐.๔๗๖



๒.๒.๑.๔ ศึกษาผลของยาขับระดูแผนโบราณต่อการบีบตัวของกล้ามเนื้อมดลูกหนูขาว

โดยตรง

ใช้น้ำยาขับระดูแผนโบราณแต่ละชนิดที่เตรียมจาก ๒.๒.๑.๑ ในปริมาณ ๐.๑, ๐.๒, ๐.๔, ๐.๘, ๑.๖, ๓.๒ ml ศึกษผลการบีบตัวของกล้ามเนื้อมดลูกหนูขาว

๒.๒.๑.๕ ศึกษาผลของยาขับระดูแผนโบราณต่อการออกฤทธิ์ของ oxytocin ในมดลูกหนูขาว

ก) ทา dose ที่เหมาะสมของ oxytocin โดยใช้ oxytocin ในปริมาณ ๐.๒, ๐.๓, ๐.๗, ๑.๓ milliunit/millilitre จาก oxytocin ที่มีความเข้มข้น ๐.๑ unit/millilitre ฉีดน้ำยา oxytocin ออกทุกครั้งหลังจากมีการบีบและคลายตัวของกล้ามเนื้อมดลูกหนูขาว แล้วเลือกปริมาณของ oxytocin ที่ทำให้มดลูกบีบตัวได้ ๒๕-๔๐% ของ maximal contraction มาเป็น standard dose เพื่อทดลองผลของยาขับระดูแผนโบราณทั้ง ๓ ชนิด และ simulated electrolytes solution ต่อการออกฤทธิ์ oxytocin ในการบีบตัวของกล้ามเนื้อมดลูกหนูขาว การทดลองแต่ละครั้ง ต้องหา standard dose ของ oxytocin ใหม่ทุกครั้ง และต้องแสดงให้เห็นว่าปริมาณของ oxytocin ที่เลือกไว้ทำให้มดลูกบีบตัวได้ใกล้เคียงกันอย่างน้อย ๒-๓ ครั้ง จึงนำมาศึกษาถึงผลของยาขับระดูแผนโบราณต่อการเสริมฤทธิ์ของ oxytocin

ข) ให้น้ำยาขับระดูแผนโบราณแต่ละชนิดที่เตรียมจาก ๒.๒.๑.๑ ในปริมาณ ๐.๒, ๐.๔, ๐.๘, ๑.๖, ๓.๒ ml ตามลำดับ โดยให้แต่ละความเข้มข้นสัมผัสกับมดลูกเป็นเวลา ๑ นาทีแล้วให้ standard-dose ของ oxytocin ในความเข้มข้นที่คัดเลือกจาก ๒.๒.๑.๕ (ก.) ตามบันทึกผลการบีบตัวและคลายตัวของมดลูกหนูขาว ฉีดน้ำยาขับระดูแผนโบราณ และ oxytocin ออกทุกครั้งหลังจากมีการบีบและคลายตัวของกล้ามเนื้อมดลูกหนูขาว

ค) ให้น้ำยา simulated electrolytes solution ของน้ำยาขับระดูแผนโบราณแต่ละชนิดที่เตรียมจาก ๒.๒.๑.๒ ในปริมาณ ๐.๒, ๐.๔, ๐.๘, ๑.๖ ๓.๒ ml ตามลำดับเช่นเดียวกับการให้น้ำยาขับระดูแผนโบราณ ให้ simulated electrolytes solution ของน้ำยาขับระดูแผนโบราณแต่ละชนิดสัมผัสกับมดลูกเป็นเวลา ๑ นาทีแล้วตามด้วย standard-dose ของ oxytocin บันทึกผลการบีบตัวของกล้ามเนื้อมดลูกหนูขาว ฉีด simulated electrolytes solution และ oxytocin ออกทุกครั้งหลังจากมีการบีบและคลายตัวของกล้ามเนื้อมดลูกหนูขาว

๒.๒.๑.๖ ศึกษาผลของยาขับระดูแผนโบราณต่อการออกฤทธิ์ของ methylergonovine

004184

ก) เตรียม Physiological solution (Locke's solution จากตารางที่ ๔) ความคุมอุณหภูมิของ isolated organ-tissue bath ระหว่าง $36-37^{\circ}\text{C}$ เปลี่ยน Physiological solution ใหม่ เพราะ methylergonovine ไม่แสดงผลต่อการบีบตัวของมดลูกหนูขาวใน De-Jalon solution

ข) หา dose ที่เหมาะสมของ methylergonovine โดยใช้ methylergonovine ในปริมาณ ๐.๓, ๐.๖, ๑.๓ milliunit/millilitre จากความเข้มข้น ๐.๑ unit/millilitre เลือกปริมาณของ methylergonovine ที่ให้ maximal of contraction มาเป็น standard-dose

ค) เตรียมยาขับระดูแผนโบราณ ล. ในความเข้มข้น ๑:๑๐ ยาขับระดูแผนโบราณ ค. ในความเข้มข้น ๑:๑๐, ยาขับระดูแผนโบราณ ง. ๑ กรัม ผสมใน Locke's solution ๕๐ ml ให้ปริมาณยาขับระดูแผนโบราณแต่ละชนิด ๐.๒, ๐.๔, ๐.๘, ๑.๖ ml สัมผัสกับกล้ามเนื้อมดลูกเป็นเวลา ๒ นาที ตามด้วย standard-dose ของ methylergonovine บันทึกการบีบตัวและคลายตัวของมดลูกหนูขาว ล้างยาขับระดูแผนโบราณในแต่ละความเข้มข้น และ standard-dose ของ methylergonovine ออกทุกครั้งหลังจากมดลูกสัมผัสกับยาทั้ง ๒ เป็นเวลา ๗-๑๐ นาที

๒.๒.๑.๗ ศึกษาผลของยาขับระดูแผนโบราณต่อ β -receptor ของมดลูกหนูขาว โดยใช้ acetylcholine, propranolol, isoproterenol

ก) เตรียม Physiological solution (De-Jalon solution) เช่นเดียวกับ ๒.๒.๑.๓ ความคุมอุณหภูมิ isolated organ-tissue Bath ระหว่าง $36-37^{\circ}\text{C}$

ข) หา dose ที่เหมาะสมของ acetylcholine โดยใช้ acetylcholine ในความเข้มข้น 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3}M ตามลำดับ เลือกปริมาณของ acetylcholine ที่ทำให้มดลูกหนูขาวบีบตัวได้ ๕๐-๕๕% มาเป็น standard-dose ได้แก่ acetylcholine ปริมาณ 10^{-4}M

ค) ให้ isoproterenol ในความเข้มข้น 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5}M ตามลำดับ สัมผัสกับมดลูกในหลอดแก้วเป็นเวลา ๑ นาที ตามด้วย standard-dose ของ acetylcholine บันทึกผลการบีบตัวและคลายตัวของมดลูกหนูขาว ล้างยาออกทุกครั้งหลังจากมีการคลายตัวของมดลูก

ตารางที่ ๔ ส่วนประกอบของน้ำยา Ringer-Locke

Chemicals	Weight (gm)
NaCl	๔.๐
KCl	๐.๔๒
NaHCO ₃	๐.๕
CaCl ₂	๐.๒๕
Glucose	๑.๐
H ₂ O (ml)	๑๐๐๐



ง) ให้ propranolol ในแต่ละความเข้มข้น 10^5 , 10^4 M สัมผัสกับมดลูกหนูขาวในหลอดแก้วเป็นเวลา ๒ นาที แล้วให้ isoproterenol 10^8 , 10^7 , 10^6 , 10^5 M ตามลำดับ สัมผัสกับมดลูกของหนูขาวเป็นเวลา ๑ นาที จึงให้ standard-dose ของ acetylcholine ตามบันทึกผลการบีบตัวและคลายตัวของมดลูกหนูขาว ล้างยาออกทุกครั้งหลังจากมดลูกคลายตัว

จ) เตรียมยาขับระดูแผนโบราณแต่ละชนิด โดยใช้ยาขับระดูแผนโบราณ ล. ในความเข้มข้นโดยไม่เจือจาง ยาขับระดูแผนโบราณ ค. ในความเข้มข้นโดยไม่เจือจาง และยาขับระดูแผนโบราณ ง. ๑ กรัม ผสม De-Jalon solution ๒๕ ml เปลี่ยนความเข้มข้นของยาขับระดูแผนโบราณทั้ง ๓ ตำรับใหม่ เพราะความเข้มข้นเดิมที่ใช้กับ oxytocin และ methylergonovine ไม่มีผลต่อฤทธิ์ของ acetylcholine ให้ยาขับระดูแผนโบราณแต่ละชนิดในปริมาณ ๐.๒, ๐.๔, ๐.๘, ๑.๖, ๓.๒ ml สัมผัสกับมดลูกในหลอดแก้วเป็นเวลา ๑ นาที แล้วให้ standard-dose ของ acetylcholine ที่เลือกจาก ๒.๒.๑.๗ (ข) บันทึกผลการบีบตัวของมดลูกหนูขาว ล้างยาออกทุกครั้งหลังจากมดลูกคลายตัว

ฉ) ให้ propranolol ในแต่ละความเข้มข้น 10^5 , 10^4 M สัมผัสกับมดลูกในหลอดแก้วเป็นเวลา ๒ นาที แล้วให้ยาขับระดูแผนโบราณแต่ละชนิดตามสัมผัสกับมดลูกต่อไปอีกเป็นเวลา ๑ นาที จึงให้ standard-dose ของ acetylcholine ที่เลือกจาก ๒.๒.๑.๗ (ข) ตามบันทึกผลการบีบตัวของมดลูกหนูขาว ล้างยาออกทุกครั้งหลังจากมดลูกคลายตัว

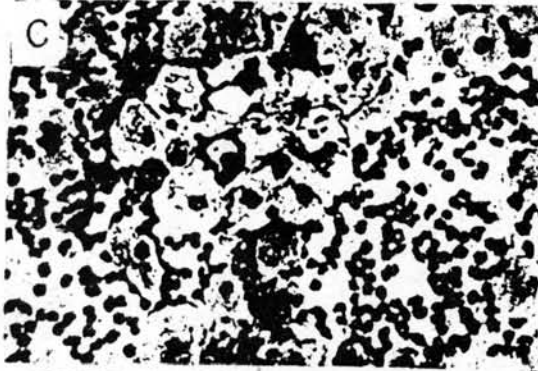
๒.๒.๒ ศึกษาผลของยาขับระดูแผนโบราณต่อการป้องกันการตั้งครรภ์และการแท้ง

เลือกยาขับระดูแผนโบราณ ล. มาทดลอง เพราะในส่วนของประกอบของยาขับระดูแผนโบราณ ล. มีสมุนไพรมันที่ให้ผลเกี่ยวกับเป็นยาขับระดูสตรี และชันน้ำคาวปลาทั้งหมด แบ่งการทดลองออกเป็น ๔ กลุ่ม

ก) กลุ่มที่ไม่ได้ให้ยา (control group) ใช้หนูขาวเพศเมีย ๑๐ ตัว ผสมกับหนูเพศผู้ที่เป็นพ่อพันธุ์ เมื่อหนูขาวตั้งครรภ์ได้ ๑๐-๑๒ วัน นับจากวันตรวจพบ sperm จาก vaginal smear นำหนูขาวมาทำให้สลบด้วย ether ผ่าท้องนับจำนวนตัวอ่อน (fetus) เย็บหน้าท้องปิด รอจนกระทั่งหนูขาวตั้งครรภ์ครบกำหนด นับจำนวนลูกหนูที่คลอดออกมา

ข) กลุ่มทดลองที่ ๑ ใช้หนูขาวเพศเมีย ๓๐ ตัวแบ่งเป็น ๓ กลุ่ม ๆ ละ ๑๐ ตัว ให้ยาในกลุ่มละ ๒๕๐ mg/kg, ๑๒๕๐ mg/kg และ ๒๕๐๐ mg/kg body weight ตามลำดับ ให้ยา ๑๐ วัน

(๒ estrus cycles) ก่อนผสมกับหนูเพศผู้ เมื่อหนูขาวตั้งครรภ์ได้ ๑๐-๑๒ วัน นำหนูขาวมาทำให้สลบ



A. = Proestrus

B. = Estrus

C. = Metestrus

D. = Diestrus

E. = sperm from vagina smear

รูป • Estrous cycle และ sperm จาก vagina smears ของหนูขาว

ด้วย ether ผ่านท้องนับจำนวนตัวอ่อน (fetus) เย็บหน้าท้องปิด รอจนกระทั่งหนูขาวตั้งครรรภ์ครบกำหนด นับจำนวนลูกหนูที่คลอดออกมา

ค) กลุ่มทดลองที่ ๒ ใช้หนูขาวเพศเมีย ๓๐ ตัวแบ่งเป็น ๓ กลุ่ม ๆ ละ ๑๐ ตัว ให้อาหารกลุ่มละ ๒๕๐ mg/kg, ๑๒๕๐ mg/kg และ ๒๕๐๐ mg/kg body weight ตามลำดับ ให้อาหารเป็นเวลา ๑๐ วันหลังจากหนูขาวได้รับการผสมแล้ว เมื่อหนูขาวตั้งครรรภ์ได้ ๑๐-๑๒ วัน นำหนูขาวมาทำให้สลบด้วย ether ผ่านท้องนับจำนวนตัวอ่อน (fetus) เย็บหน้าท้องปิด รอจนกระทั่งหนูขาวตั้งครรรภ์ครบกำหนด นับจำนวนลูกหนูที่คลอดออกมา

ง) กลุ่มทดลองที่ ๓ ใช้หนูขาวเพศเมีย ๓๐ ตัวแบ่งเป็น ๓ กลุ่ม ๆ ละ ๑๐ ตัว ให้อาหารกลุ่มละ ๒๕๐ mg/kg, ๑๒๕๐ mg/kg และ ๒๕๐๐ mg/kg body weight ตามลำดับ โดยให้อาหารเป็นเวลา ๑๐ วันก่อนผสมกับหนูเพศผู้ และให้อาหารต่ออีก ๕ วัน หลังจากได้รับการผสมแล้ว เมื่อหนูขาวตั้งครรรภ์ได้ ๑๐-๑๒ วัน นำหนูขาวมาทำให้สลบด้วย ether ผ่านท้องนับจำนวนตัวอ่อน (fetus) เย็บหน้าท้องปิดรอจนกระทั่งหนูขาวตั้งครรรภ์ครบกำหนด นับจำนวนลูกหนูที่คลอดออกมา

๒.๓ การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูลที่ต้องอ้างค่าสถิติประกอบ ใช้ Student's t-test ส่วนข้อมูลที่แสดงกราฟ contraction เป็น expanded scale