# ผลของว่านชักมดลูก(*CURCUMA COMOSA* ROXB.)ที่มีต่อกระดูกในหนูขาวที่ถูกผ่าตัดรังไข่

นางสาววัลยา อมรรัตนายุทธ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเภสัชวิทยา (สหสาขาวิชา)
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2549

ISBN 974-14-2656-9

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I22962712

# EFFECTS OF *CURCUMA COMOSA* ROXB. ON BONE IN OVARIECTOMIZED RATS

MISS WALAYA AMORNRATANAYUT

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Pharmacology
(Interdisciplinary Program)
Graduate School
Chulalongkorn University
Academic Year 2006
ISBN 974-14-2656-9
Copyright of Chulalongkorn University

490262

| | |
|---|---|
| หัวข้อวิทยานิพนธ์ | ผลของว่านชักมดลูก (*CURCUMA COMOSA* ROXB.) ที่มีต่อกระดูกในหนูขาวที่ถูกผ่าตัดรังไข่ |
| โดย | นางสาว วัลยา อมรรัตนายุทธ์ |
| สาขาวิชา | เภสัชวิทยา |
| อาจารย์ที่ปรึกษา | รองศาสตราจารย์ ดร. สุพัตรา ศรีไชยรัตน์ |
| อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม | ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สัตวแพทย์หญิง สมลักษณ์ พวงชมภู |

---

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาในหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ม.ร.ว. กัลยา ติงศภัทิย์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุรีย์ เจียรณ์มงคล )

..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ ดร. สุพัตรา ศรีไชยรัตน์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สัตวแพทย์หญิง สมลักษณ์ พวงชมภู)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิง สุมนา ชมพูทวีป)

..... กรรมการ
(ศาสตราจารย์ ดร. ภาวิณี ปิยะจตุรวัฒน์)

วัลยา อมรรัตนายุทธ์ : ผลของว่านชักมดลูก (*Curcuma comosa* Roxb.) ที่มีต่อกระดูกในหนูขาวที่ถูกผ่าตัดรังไข่ออก (EFFECT OF *CURCUMA COMOSA* ROXB. ON BONE IN OVARIECTOMIZED RATS) อ.ที่ปรึกษา : รศ. ดร. สุพัตรา ศรีไชยรัตน์, อ.ที่ปรึกษาร่วม : ผศ. สพ.ญ. สมลักษณ์ พวง ชมภู, 73 หน้า. ISBN 974-14-2656-9

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ของว่านชักมดลูก (*Curcuma comosa* Roxb.) ต่อการปกป้องภาวะกระดูกพรุน การทดลองนี้ใช้หนูขาวสายพันธุ์ Sprague-Dawley น้ำหนัก 100 – 150 กรัม แบ่งออกเป็น 6 กลุ่มๆละ 10 ตัว กลุ่มที่ 1 – 5 เป็นหนูขาวที่ถูกตัดรังไข่ออกทั้ง 2 ข้าง และกลุ่มที่ 6 เป็นหนูขาวที่ไม่ได้ถูกตัดรังไข่ หลังจากตัดรังไข่นาน 3 สัปดาห์จึงให้สารทดสอบ โดยกลุ่มที่ 1 และ 6 ได้รับน้ำมันข้าวโพดฉีดเข้าทางใต้ผิวหนัง กลุ่มที่ 2 ได้รับเอสตราไดออลขนาด 300 มคก./กก./วัน ฉีดเข้าทางใต้ผิวหนัง กลุ่มที่ 3 -5 ได้รับสารสกัดว่านชักมดลูกด้วยเอธานอล ขนาด 100, 250 และ 500 มก./กก./วัน ตามลำดับ โดยการป้อนทางปาก ทุกกลุ่มได้รับสารทดสอบทุกวันนาน 28 วัน เก็บตัวอย่างเลือดจากหัวใจ เพื่อนำมาตรวจระดับ Alkaline Phosphatase (ALP), Nitric Oxideในเลือดเก็บกระดูกต้นขาขวาชั่งน้ำหนักกระดูกแห้งและน้ำหนักเถ้ากระดูกเปรียบเทียบกับน้ำหนักตัว วัดปริมาณแคลเซียมในกระดูกด้วยวิธี Atomic Absorption spectrophotometry ส่วนกระดูกต้นขาซ้ายนำไปย้อมสี H&E เพื่อดูจุลพยาธิวิทยาของกระดูก

จากผลการทดลองพบว่า สารสกัดว่านชักมดลูกด้วยเอธานอลขนาด 100, 250 มก./กก./น.น.ตัว สามารถเพิ่มน้ำหนักกระดูก, น้ำหนักเถ้ากระดูก, ปริมาณแคลเซียมในกระดูกต้นขา, ระดับ ALP ในเลือด และระดับ NO ในเลือดได้เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ถูกตัดรังไข่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ผลที่ได้ไม่เป็นไปตามขนาดว่านชักมดลูกที่เพิ่มขึ้น พบว่าสารสกัดว่านชักมดลูกด้วยเอธานอล ขนาด 500 มก./กก./น.น.ตัว มีผลเพิ่มน้ำหนักกระดูก, น้ำหนักเถ้ากระดูก และปริมาณแคลเซียมในกระดูกต้นขา รวมทั้งระดับ NO ในเลือดต่ำกว่ากลุ่มที่ได้รับในขนาด 100, 250 มก./กก./น.น.ตัว สรุปได้ว่าสารสกัดว่านชักมดลูกด้วยเอธานอลในขนาดที่เหมาะสม มีฤทธิ์ที่เป็นประโยชน์ต่อการรักษาความหนาแน่นของกระดูก และควรทำการศึกษาต่อไปถึงการนำมาใช้ป้องกันการสูญเสียมวลกระดูกที่เกิดจากภาวะหมดประจำเดือน

สาขาวิชา.....เภสัชวิทยา..... ลายมือชื่อนิสิต.....

ปีการศึกษา.....2549..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

##4789133320 : MAJOR : PHARMACOLOGY
KEYWORDS : *CURCUMA COMOSA* ROXB./ BONE/ OVARIECTOMIZED RATS/ OSTEOPOROSIS

WALAYA AMORNRATANAYUT : EFFECT OF *CURCUMA COMOSA* ROXB.ON BONE IN OVARIECTOMIZED RATS. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. SUPATRA SRICHAIRAT, Ph.D., THESIS COADVISOR : ASST. PROF. SOMLAK POUNGCHOMPOO, D.V.M., 73 pp. ISBN 974-14-2656-9.

The purpose of this study was to investigate the effect of *Curcuma comosa* Roxb. on bone loss in ovariectomized rats. Sixty Sprague-Dawley rats weighing 100 – 150 g were randomly assigned to 6 groups. Each group comprised of 10 rats : Group 1 – 5 were underwent bilateral ovariectomy and the sixth group had a sham operation. Group 1 and 6 were administered subcutaneously vehicle. Group 2 was administered subcutaneously estradiol valerate (300 μg/kg/day). Group 3 - 5 was administered orally ethanolic extract of *C. comosa* at the dosage of 100, 250 and 500 mg/kg/day respectively. All of them were treated for 28 consecutive days. At the end of experiment, blood plasma samples were collected by heart puncture for determine alkaline phosphatase and nitric oxide concentrations. The right femoral bone of all rats were collected and assayed for their dry weights, ash weights and calcium contents. The left femoral bones were prepared for histological examination.

The result from this study showed that the ethanolic extract of *C. comosa* at the dose of 100 and 250 mg/kg/day significantly increased dry weight, ash weight as well as calcium content of the right femoral bone ($p<0.05$). Plasma level of alkaline phosphatase and nitric oxide concentration were significantly increased comparing with those in the ovariectomized control group. The increasing of these parameters were not dose dependent since the rat treated with *C. comosa* at these dosage of 500 mg/kg/day showed their pharmacological responses less than the lower dose treated groups. Results of this study suggested that the appropriate dose of the ethanolic extract of *C. comosa* possessed beneficial effect on maintenance of bone density and should be further researched for the prevention of menopausal bone loss.

Field of Study : Pharmacology
Academic Year : 2006

Student's Signature : Walaya Amornratanayut
Advisor's Signature : .....
Co-advisor's Signature: .....

# กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ด.ร. สุพัตรา ศรีไชยรัตน์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์และผู้ช่วยศาสตราจารย์. สพ.ญ. สมลักษณ์ พวงชมภู ที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำตลอดจนความช่วยเหลือในด้านต่าง ๆ ที่ทำให้วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์. ดร. สุรีย์ เจียรณ์มงคล รองศาสตราจารย์. พญ. สุมนา ชมพูทวีป และ ศาสตราจารย์. ดร. ภาวิณี ปียะจตุรวัฒน์ ที่กรุณามาเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

ขอขอบคุณ นายปียะ ทานประเสริฐ ที่คอยให้คำปรึกษาและให้กำลังใจเสมอมา เพื่อนนักศึกษาปริญญาโทภาควิชาเภสัชวิทยา และเจ้าหน้าที่คณะสัตวแพทย์ ที่คอยช่วยเหลือและเป็นกำลังใจเสมอมาในการทำวิทยานิพนธ์

ขอขอบคุณ นางสาว ฉัตราภรณ์ ซื้มฉันท์ และนางสาว มณีรัตน์ พัฒนชัย ที่ร่วมกันทำงานวิจัยและคอยช่วยเหลือในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา ครอบครัวแก้วกล่ำ ที่ได้ให้กำลังใจและทุนอุดหนุนเสมอมา และขอขอบคุณบุคคลอื่น ๆ ที่มีส่วนช่วยเหลือในการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้จนเสร็จสมบูรณ์

# สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภาษาไทย.....ง
บทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภาษาอังกฤษ.....จ
กิตติกรรมประกาศ.....ฉ
สารบัญ.....ช
สารบัญตาราง.....ฌ
สารบัญภาพ.....ญ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ.....ฏ

บทที่

1. บทนำ..... 1
2. ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง
   - คำจำกัดความ.....3
   - สรีรวิทยาของกระดูก.....4
   - อาการและอาการแสดงของภาวะกระดูกพรุน.....9
   - การตรวจค่าชีวเคมีของเลือดที่เกี่ยวข้องกับการสร้างกระดูกและการสลายกระดูก..... 10
   - บทบาทของ NO กับอัตราการหมุนเวียนกระดูก..... 10
   - การป้องกันและรักษาภาวะกระดูกพรุนในสตรีวัยหมดประจำเดือน..... 12
   - Estrogen receptor (ER).....13
   - ผลของฮอร์โมนเอสโตรเจนต่อกระดูก..... 13
   - Phytoestrogen กับการรักษาโรคกระดูกพรุน..... 15
   - การศึกษาผลปกป้องกระดูกของ Phytoestrogens.....16
   - ว่านชักมดลูก..... 17
   - การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา..... 19
3. วิธีดำเนินการทดลอง
   1. วัสดุและอุปกรณ์.....21
   2. วิธีดำเนินการทดลอง.....23
   3. การวิเคราะห์ทางสถิติ..... 26

4. ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

ผล Vaginal smear ด้วยวิธีการย้อมสี Giemsa เพื่อดูการตกไข่ของหนูขาว หลังการตัดรังไข่ 3 สัปดาห์....27

ผลของน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นของหนูขาวทั้ง 6 กลุ่มในแต่ละสัปดาห์....28

ผลของว่านชักมดลูกที่มีต่อน้ำหนักกระดูก และน้ำหนักเถ้ากระดูก ของกระดูกต้นขาในหนูขาว....31

ผลของว่านชักมดลูกต่อปริมาณแคลเซียมในกระดูกต้นขาของหนูขาวทุกกลุ่ม....33

การศึกษาจุลพยาธิสภาพกระดูกต้นขาของหนูขาวในทุกกลุ่ม....35

ผลของว่านชักมดลูกต่อ Bone turnover rate โดยวัดจาก ระดับ Alkaline Phosphatase (ALP) ในเลือด....37

ผลของว่านชักมดลูกต่อระดับ Nitric oxide (NO) ในเลือด....39

5. อภิปรายผลและสรุปผลการทดลอง

อภิปรายผลการทดลอง....41

สรุปผลการทดลอง....45

รายการอ้างอิง....47

ภาคผนวก....54

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์....73

# สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1. ตารางแสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัว (กรัม) ของหนูขาว
ทั้ง 6 กลุ่มในแต่ละสัปดาห์ เป็นเวลา 7 สัปดาห์.....29
2. ตารางแสดงค่าเฉลี่ยของของน้ำหนักกระดูกและน้ำหนักเถ้ากระดูก
ของกระดูกต้นขาในหนูขาวทุกกลุ่ม.....31
3. ตารางแสดงค่าเฉลี่ยของปริมาณแคลเซียมในกระดูกต้นขาของหนูขาวทุกกลุ่ม.....33
4. ตารางแสดงค่าเฉลี่ยของระดับ Alkaline Phosphatase (ALP)
ในเลือดของหนูขาวในทุกกลุ่ม.....37
5. ตารางแสดงค่าเฉลี่ยของระดับ Nitrite
ในเลือดของหนูขาวในทุกกลุ่ม.....39

## คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

| | | |
|---|---|---|
| $\alpha$ | = | Alpha |
| $\beta$ | = | Beta |
| μM | = | Micromolar |
| μl | = | Microlitre |
| ALP | = | Alkaline phosphatase |
| AAS | = | Atomic absorption spectrophotometer |
| BAP | = | Bone alkaline phosphatase |
| BMD | = | Bone mass density |
| DXA | = | Dual energy X – ray absorptionmetry |
| ER | = | Estrogen receptor |
| HRT | = | Hormone replacement therapy |
| IL | = | interleukin |
| LDL | = | Low density lipoprotein |
| NNED | = | N-(1-naphtyl)ethylenediamine dihydrochloride |
| NO | = | Nitric oxide |
| NOS | = | Nitric oxide synthase |
| eNOS | = | epithelial Nitric oxide synthase |
| iNOS | = | inducible Nitric oxide synthase |
| nNOS | = | neuronal Nitric oxide synthase |
| PTH | = | Parathyroid hormone |
| SD | = | standard deviation |
| SERMs | = | Selective estrogen receptor modulator |
| Sr | = | Strontium ranelate |
| TGF | = | transforming growth factor |
| TNF | = | tumor necrosis factor |
| < | = | น้อยกว่า |
| ก. | = | กรัม |
| กก. | = | กิโลกรัม |
| น.น | = | น้ำหนัก |
| มก. | = | มิลลิกรัม |

มคก. = ไมโครกรัม

มล. = มิลลิลิตร