

การตรวจหาสารคล้ายฮอร์โมนเพศในน้ำมะพร้าวอ่อน
และผลที่มีต่อการเจริญของมดลูกในหนูแรท



นางสาว บุษกร พันธุ์เมธาฤทธิ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาสหสาขาชีววิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2530


ISBN 974-567-832-5

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

013015

I10296852

DETERMINATION OF SEX HORMONE-LIKE SUBSTANCES IN YOUNG COCONUT JUICE
AND THEIR EFFECTS ON UTERINE GROWTH IN RATS



Miss Busakorn Punthmatharith

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science

Interdepartment of Physiology
Graduate School

Chulalongkorn University

1987

ISBN 974-567-832-5

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การตรวจหาสารคล้ายฮอร์โมนเพศในน้ำมะพร้าวอ่อน และผลที่มีต่อการเจริญของมดลูกในหนูแรท

โดย นางสาว บุษกร พันธุ์เมธาฤทธิ์

ภาควิชา สหสาขาสรีรวิทยา

อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร.ประคอง ตั้งประพจน์กุล

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ดร. สุกัญญา วีรวัฒน์กมลพะ



บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของ
การศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(ศาสตราจารย์ ดร.ถาวร วัชรภักย์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิง ทวินศรี วรรณธร)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ ดร.ประคอง ตั้งประพจน์กุล)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ดร. สุกัญญา วีรวัฒน์กมลพะ)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.วิทยา ยศยิ่งยวด)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิง มณฑิรา คัดต์เกียร)

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การตรวจหาสารคล้ายฮอร์โมนเพศในน้ำมะพร้าวอ่อน และผลที่มีต่อการเจริญของมดลูกในหนูแรท
ชื่อนิสิต	นางสาว บุษกร พันธุ์เมธาฤทธิ
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร.ประคอง ตั้งประพจน์กุล
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ดร. สุกัญญา วีร์วิณะกุมพะ
ภาควิชา	สหสาขาสรีรวิทยา
ปีการศึกษา	2529

บทคัดย่อ

เพื่อที่จะศึกษาถึงชนิดและปริมาณของสารในน้ำมะพร้าวอ่อน ซึ่งมีคุณสมบัติทางอิมมูโน-โลยีและทางเคมีที่คล้ายฮอร์โมนเพศ และผลของสารเหล่านั้นที่มีต่อการเจริญของมดลูก จึงได้ทำการทดลองโดยใช้น้ำมะพร้าวอ่อนซึ่งเป็นมะพร้าวน้ำหอมพันธุ์เตี้ย อายุผลมะพร้าวอ่อนประมาณ 6 เดือน มาสกัดด้วยไคเอทิล อีเธอร์ แล้วนำสารที่สกัดได้มาศึกษาคุณสมบัติทางอิมมูโนโลยีโดยวิธีเรดิโออิมมูโนเอสเสย์ ทางเคมีโดยวิธีอินเลเยอร์โครมาโตกราฟี และศึกษาผลต่อน้ำหนักมดลูกของหนูแรทที่ยังเจริญเติบโตไม่เต็มที่

ผลการทดลองทางเรดิโออิมมูโนเอสเสย์ พบว่าในสารสกัดจากน้ำมะพร้าวอ่อน มีสารซึ่งมีคุณสมบัติทางอิมมูโนโลยี สามารถจับกับแอนติบอดีฮิสโตรน-3 กลูคูโรไนด์ มากที่สุด มีค่าเท่ากับ 280.64 ± 15.16 พิโคกรัม/มิลลิลิตร รองลงมาเป็นสารซึ่งสามารถจับกับแอนติบอดี เพรก-เนนไดคอล-3 แอลฟา-กลูคูโรไนด์ มีค่าเท่ากับ 263.27 ± 30.30 พิโคกรัม/มิลลิลิตร, โปรเจสเทอโรน มีค่าเท่ากับ 27.17 ± 0.85 พิโคกรัม/มิลลิลิตร, อีสตราไดคอล-17 เบต้า มีค่าเท่ากับ 2.45 ± 0.27 พิโคกรัม/มิลลิลิตร, เทสโทสเทอโรนมีค่าเท่ากับ 1.58 ± 0.28 พิโคกรัม/มิลลิลิตร และน้อยที่สุดคือ ฮิสโตรน มีค่าเท่ากับ 0.75 ± 0.24 พิโคกรัม/มิลลิลิตร ของปริมาณน้ำมะพร้าวอ่อน

จากการแยกสารโดยวิธีอินเลเยอร์โครมาโตกราฟี เมื่อใช้ตัวทำละลายเป็น chloroform, chloroform : acetone (95:5), chloroform : dioxane (95:5) และ chloroform : diethyl ether (95:5) พบว่าสามารถแยกสารซึ่งมีคุณสมบัติคล้ายอิสโตรน, อิสตราไดคอล-17 เบต้า และ เบต้า-ซิสโตสเตอรอล โดยที่ไม่พบโปรเจสเตอโรน

เมื่อฉีกสารสกัดจากน้ำมะพร้าวอ่อนในปริมาณที่เทียบเท่ากับน้ำมะพร้าวอ่อน 7,500 มิลลิตร/กิโลกรัมน้ำหนักตัว/วัน ติดต่อกันเป็นเวลา 3 วัน พบว่าทำให้น้ำหนักมดลูกของหนูแรท อายุ 23 วัน เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Thesis Title Determination of Sex Hormone-like Substances in
Young Coconut Juice and Their Effects on Uterine
Growth in Rats.

Name Miss Busakorn Punthmatharith

Thesis Advisor Associate Professor Prakong Tangpraprutgul, Ph.D.

Thesis Co-Advisor Sukanya Werawatgoompa, Ph.D.

Interdepartment Physiology

Academic Year 1986



ABSTRACT

To determine substances in young coconut juice that possess sex hormone-like immunological and chemical properties and their biological effects, coconut juice from six-month old coconuts was extracted with diethyl ether and the extract was used. In this study, the immunological and chemical properties were determined by radioimmunoassay technique and thin-layer chromatography while biological property was determined by its effects on immature rat uterine wet weight.

Using radioimmunoassay technique, it has been found that 1 ml of coconut juice contained substances bound to various antibodies as follow: estrone-3-glucuronide = 280.64 ± 15.16 pg, pregnanediol-3 α -glucuronide = 263.27 ± 30.30 pg, progesterone = 27.17 ± 0.85 pg, estradiol-17 β = 2.45 ± 0.27 pg, testosterone = 1.58 ± 0.28 pg and estrone = 0.75 ± 0.24 pg.

Results from thin-layer chromatography, using chloroform, chloroform: acetone (95:5), chloroform: dioxane (95:5) and chloroform: diethyl ether (95:5) as solvent systems showed that young coconut juice contained substances similar to estrone, estradiol-17 β and β -sitosterol but no progesterone.

Subcutaneous administration of the extract at the dose equivalent to 7,500 ml of young coconut juice/kg.BW./day for 3 consecutive days significantly increase uterine wet weight of immature rat (P < 0.05)



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ประคอง ตั้งประพจน์กุล และ
 ดร. สุกัญญา วีรวัชณะกุ่มพะ เป็นอย่างยิ่ง ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำ และให้ความช่วยเหลือในทุก ๆ
 ด้าน ทำให้วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จได้ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิง ทวินศรี วรวรรณ ที่ได้กรุณา
 เป็นประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์, รองศาสตราจารย์ ดร.วิทยา ยศยิ่งยวด และ
 รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิง มณฑิรา ตันท์เกษร ที่ได้กรุณาเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์
 รองศาสตราจารย์ ดร.สุคนธ์อง ผาติनावิน และ รองศาสตราจารย์ ดร.วิทยา ยศยิ่งยวด
 ที่ได้กรุณาให้ความช่วยเหลือในด้านการถ่ายรูปจากกล้องจุลทรรศน์ คณิตศาสตร์ คณบดีคณะพยาบาลศาสตร์
 หัวหน้าภาควิชาฯ และคณาจารย์ภาควิชาการพยาบาลกุมารเวชศาสตร์ คณะพยาบาลศาสตร์
 มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ได้อนุญาตให้ลาศึกษาต่อ

และขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย และภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์-
 มหาวิทยาลัย ที่ได้ให้ทุนอุดหนุนการวิจัยในครั้งนี้ รวมทั้งสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์,
 ศูนย์พัฒนาและบริการทางเครื่องมือวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์, ภาควิชาสัตวศาสตร์นารีเวช
 วิทยา คณะแพทยศาสตร์ และห้องปฏิบัติการ Primatology ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ให้ความช่วยเหลือและความสะดวกต่าง ๆ ในงานวิจัย

ท้ายนี้ ผู้วิจัยใคร่ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา เป็นอย่างสูง และผู้เกี่ยวข้องทุก
 ท่านที่ได้ให้การสนับสนุน และกำลังใจด้วยดีเสมอมาจนสำเร็จการศึกษา

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ฉ
กิตติกรรมประกาศ	ช
สารบัญตาราง	ฎ
สารบัญรูป	ฏ
บทที่	
1. บทนำ	1
2. วัสดุ อุปกรณ์ และการทดลอง	8
1. วัสดุ	8
1.1 สัตว์ทดลอง	8
1.2 สอร์โวมินและแอนติบอดี	8
1.3 สารเคมี	9
2. อุปกรณ์	10
3. การทดลอง	11
3.1 การเตรียมน้ำมะพร้าวอ่อน	11
3.2 การทดสอบทางอิมมูโนโลยีของน้ำมะพร้าวอ่อน	11
3.3 การทดสอบการแยกชนิดของสารที่มีอยู่ในน้ำมะพร้าวอ่อน โดยวิธีอินเลเยอร์โครมาโตกราฟี	19
3.4 การทดสอบทางไบโอเอสเสย์ของน้ำมะพร้าวอ่อน	21
3.5 การวิเคราะห์และแปลผลทางสถิติ	22
3. ผลการทดลอง	23
1. ผลการประเมินความเชื่อใจได้ของเรดิโออิมมูโนเอสเสย์	23
2. ชนิดและปริมาณของสารในน้ำมะพร้าวอ่อนที่มีคุณสมบัติทางอิมมูโน- โลยีคล้ายสอร์โวมินเพศชนิดต่าง ๆ	26

บทที่	หน้า
3. การแยกสารในน้ำมะพร้าวอ่อน โดยวิธีอินเลเยอร์โครมาโตกราฟี	26
4. ผลของน้ำมะพร้าวอ่อนต่อมดลูกของหนูแรทที่ยังเจริญเติบโตไม่เต็มที่	27
4. วิจัยารณ์และสรุปผล	50
เอกสารอ้างอิง	58
ภาคผนวก	66
ประวัติผู้เขียน	71



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงการเตรียมความเข้มข้นของฮอร์โมนมาตรฐาน E_1 , E_1 -3G, E_2 -17 β , P, Pd-3 α -G และ T	14
2	แสดงการเพิ่มสารละลายลงในหลอดทดลองต่าง ๆ เพื่อทดสอบคุณสมบัติทางอิมมูโนโลยีของน้ำมะพร้าวอ่อนที่มีต่อแอนติบอดี E_1	15
3	แสดงความจำเพาะของแอนติบอดีอิสโตรนที่ทำปฏิกิริยากับสารต่าง ๆ จำนวนที่ 50% bound	23
4	แสดงความจำเพาะของแอนติบอดีอิสโตรน-3 กลูคูโรไนต์ ที่ทำปฏิกิริยากับสารต่าง ๆ จำนวนที่ 50% bound	24
5	แสดงความจำเพาะของแอนติบอดีเพรกเนนไดออกอล-3 แอลฟา-กลูคูโรไนต์ ที่ทำปฏิกิริยากับสารต่าง ๆ จำนวนที่ 50% bound	24
6	แสดงความแม่นยำและความไวของการวัดฮอร์โมน E_1 , E_1 -3G, E_2 -17 β , P, Pd-3 α -G และ T	25
7	แสดงความถูกต้องในการวัดปริมาณฮอร์โมน E_1 , E_1 -3G, E_2 -17 β , P, Pd-3 α -G และ T	26
8	แสดงผลการแยกชนิดของสารในน้ำมะพร้าวอ่อนที่มีคุณสมบัติคล้ายฮอร์โมนเพศ โดยวิธีอินเลเยอร์โครมาโตกราฟี	38

ศูนย์วิจัยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	แสดงสูตรโครงสร้างของ Coumestans	1
2	แสดงสูตรโครงสร้างที่พบบ่อยของ Isoflavonoids	2
3	แสดงชนิดและปริมาณของสารในน้ำมะพร้าวอ่อนที่มีคุณสมบัติทางอิมมูโนโลยีคล้าย ฮอร์โมนเพศชนิดต่าง ๆ	29
4	แสดงอินเลเยอร์โครมาโตแกรมของสารสกัดจากน้ำมะพร้าวอ่อน เปรียบเทียบ กับฮอร์โมนมาตรฐาน โดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ ดังนี้	30
	A. petroleum ether : diethyl ether (95:5)	31
	B. benzene : ethanol (9:1)	32
	C. chloroform : methanol (95:5)	33
	D. chloroform	34
	E. chloroform : acetone (95:5)	35
	F. chloroform : dioxane (95:5)	36
	G. chloroform : diethyl ether (95:5)	37
5	แสดงผลของสารสกัดจากน้ำมะพร้าวอ่อนที่มีต่อน้ำหนักมดลูกของหนูแรท	40
6	กราฟมาตรฐานแสดงผลของ E ₂ -17 β ที่มีต่อน้ำหนักมดลูกของหนูแรท	41
7	แสดงภาพภาคตัดขวางของมดลูกหนูแรทที่ยังเจริญเติบโตเต็มที่ กลุ่มควบคุม	42
8	แสดงภาพภาคตัดขวางของมดลูกหนูแรทที่ยังเจริญเติบโตเต็มที่ กลุ่มที่ได้รับ สารสกัดจากน้ำมะพร้าวอ่อน	44
9	แสดงภาพภาคตัดขวางของมดลูกหนูแรทที่ยังเจริญเติบโตเต็มที่ กลุ่มที่ได้รับ E ₂ -17β	48
10	แสดงสูตรโครงสร้างของอีสตราไดออล-17 เบต้า และ เบต้า-ซิสโตสเตอรอล	55
11	แสดงสูตรโครงสร้างของอีสโตรน, อีสโตรน-3 กลูคูโรไนด์, อีสตราไดออล- 17 เบต้า, โพรเจสเตอโรน, เพรกเนนไดออล- 3 แอลฟา-กลูคูโรไนด์ และ เทสโทสเตอโรน	68