

**ส่วนสกัดของเหง้ากระชายดำที่มีฤทธิ์ด้านความเหนียวกล้ามเนื้อ**  
**Adaptogenic Active Fraction' in Krachai-Dam (*Kaempferia parviflora* Wall ex Baker)**  
**Hexane Extract of Rhizomes**

เสริมสกุล พจนการุณ<sup>1/</sup>

Sermsakul Pojanagaroon<sup>1/</sup>

ไชยยง รุจจนเวท<sup>2/</sup>

Chaiyong Rujjanawate<sup>2/</sup>

ประสาธ กิตตะคุปต์<sup>3/</sup>

Prasart Kittakoop<sup>3/</sup>

---

**ABSTRACT**

The objectives of this research were to identify the adaptogenic active fraction in Krachai-dam (*Kaempferia paviiflora*) rhizomes to be used as fundamental data to create the chemical markers. The cultivars with high adaptogenic compounds had been selected to establish a standard for quality control (QC) of rhizomes and their products. The active extract was also tested for their toxicity by forced swimming mice. The experiment was performed to determine the active extract and fraction from the rhizomes. The adaptogenic active extract was also tested for acute anti-stress activity as well as its acute toxicity. The separation conducted by silica gel column chromatography could yield the adaptogenic active fraction from the same test, which was also tested its toxicity. It revealed that the rhizome's hexane extract could significantly prolong the swimming time period of mice. In addition, such an extract also possesses acute anti-stress activity. The extract was found safety as demonstrated by an oral LD<sub>50</sub> with its value higher than 2,000 mg/kg. Based on the process of separating and testing the fractions from hexane extract, the terpenoids-rich fraction was the adaptogenic active fraction that had no toxicity in mice's organs.

**Key words:** Krachai-dam, *Kaempferia paviiflora*, extract, active fraction, adaptogenic activity, acute anti-stress effect, toxicity

---

<sup>1/</sup> ศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัจจัยการผลิตเลย (ภูเรือ) อ.ภูเรือ จ.เลย 42160

Loei Plant and Plant Production Material Technical Service Centre (Phurua), Phurua district, Loei province 42160

<sup>2/</sup> สำนักวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง อ.เมือง จ.เชียงราย 57100

School of Health Science, Mae Fah Luang University, Mueang district, Chiang Rai province 57000

<sup>3/</sup> สถาบันวิจัยจุฬาภรณ์ ถ.วิภาวดีรังสิต หลักสี่ กทม. 10210

Chulabhorn Research Institute, Vibhavadee-Rangsit Highway, Laksi district, Bangkok 10210

## บทคัดย่อ

งานวิจัยส่วนสกัดของเหง้ากระชายดำ ที่มีฤทธิ์ด้านความเหนียวล้าภายใน สำหรับใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับกำหนดเกณฑ์การคัดเลือกกระชายดำพันธุ์ดี ที่มีกลุ่มสารออกฤทธิ์ด้านความเหนียวล้าภายในเหง้าสูง มีการกำหนดมาตรฐานควบคุมคุณภาพเหง้าและผลิตภัณฑ์จากกระชายดำ โดยเฉพาะฤทธิ์ด้านความเหนียวล้าและความเป็นพิษ ด้วยการหาสารสกัดและส่วนสกัด ที่มีฤทธิ์ด้านความเหนียวล้าด้วยวิธีบังคับให้หนูทดลองว่ายน้ำทดสอบ ฤทธิ์ด้านความเครียดแบบและความเป็นพิษแบบเฉียบพลันด้วย โดยทำการแยกส่วนสกัดจากสารสกัดที่มีฤทธิ์ด้านความเหนียวล้าด้วย column chromatography โดยใช้ silica gel เพื่อหาส่วนสกัดที่ออกฤทธิ์ด้านความเหนียวล้า และยืนยันความปลอดภัยของส่วนสกัด พบว่าการทดสอบฤทธิ์ด้าน ความเหนียวล้าของเหง้ากระชายดำโดยวิธีบังคับให้ หนูทดลองว่ายน้ำนั้น สารสกัดเฮกเซนกระชายดำสามารถออกฤทธิ์ส่งผลให้หนูใช้เวลาว่ายน้ำมากขึ้น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นเดียวกับผงรากโสมเกาหลี และยังมีฤทธิ์ด้านความเครียดแบบเฉียบพลัน สารสกัดดังกล่าวจัดได้ว่าปลอดภัยเมื่อได้รับโดยการบริโภคทางปาก และมีค่าที่ทำให้หนูถึงจากรตาย ( $LD_{50}$ ) มากกว่า 2,000 มก./กก. เมื่อแยกและทดสอบฤทธิ์ด้านความเหนียวล้าของส่วนสกัดจากสารสกัดเฮกเซนพบว่าส่วนสกัดในสารสกัดเฮกเซนที่มีสารกลุ่มเทอร์ปีนอยด์เป็นองค์ประกอบหลัก สามารถแสดงฤทธิ์ด้านทานความเหนียวล้าได้ ซึ่งไม่เกิดความเป็นพิษต่ออวัยวะของหนูถึงจากรแต่อย่างใด

**คำหลัก:** กระชายดำ สารสกัด ส่วนสกัด ฤทธิ์ด้านความเหนียวล้า ฤทธิ์ด้านความเครียดเฉียบพลัน ความเป็นพิษ

## คำนำ

กระชายดำ (*Kra chai-dam*, *Kaempferia parviflora* Wall ex Baker) เป็นพืชล้มลุกอยู่ในวงศ์ Zingiberaceae (นิรนาม, 2544) มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของเหง้ากระชายดำ ที่ได้จากการใช้สารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากสารสกัดของเหง้ากระชายดำ ได้แก่ ด้านการอักเสบ (anti-inflammatory) (Tuchinda *et al.*, 2002) ด้านการกลายพันธุ์ (anti-mutagenicity) (Trakoontivakorn *et al.*, 2001) ด้านมะเร็ง (anti-cancer) (Patanasethanont *et al.*, 2006) ด้านเชื้อไวรัส (anti-viral activity) ด้านเชื้อรา (anti-fungal activity) ด้านเชื้อวัณโรค (anti-tuberculosis) และด้านเชื้อมาลาเรีย (anti-malarial activity) (Yenjai *et al.*, 2004) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสกัดหยาบเอทานอล (ethanolic crude extract) จากเหง้ากระชายดำ พบว่ามีฤทธิ์ด้านลักษณะต่างๆ อาทิ การเกิดแผลในกระเพาะอาหาร (anti-gastric ulcer activity) (เสริมสกุลและไชยยง, 2547ก.; Rujjanwate *et al.*, 2004) ด้านการเกิดอนุมูลอิสระ (anti-oxidant activity) (เสริมสกุลและไชยยง, 2547ข.; Jenjai *et al.*, 2002) ด้านทานความเหนียวล้า (adaptogenic activity) (เสริมสกุลและไชยยง, 2549) คลายกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดดำ

อวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ของหนูขาวและสุนัข (vasolidation activity) (โสภิตและคณะ, 2549ก. ข. ค.) และเพิ่มปริมาณความหนาแน่นของอสุจิในหนูขาว (อาริยา, 2548; Sudwan and Saenphet, 2007) แต่สรรพคุณของเหง้ากระชายดำที่ทำให้กระชายดำได้รับความนิยมอย่างสูงจากผู้บริโภคในปัจจุบันมีเพียง 2 อย่าง คือ สรรพคุณบำรุงกำลังที่ได้รับการขนานนามว่าเป็นโสมไทย และฤทธิ์เพิ่มสมรรถภาพทางเพศของบรูซ (เสริมสกุลและเชวง, 2546) ทั้งนี้มีการยืนยันความปลอดภัยจากการบริโภคผงกระชายดำว่าไม่มีพิษเฉียบพลัน คือขนาดผงกระชายดำที่ทำให้หนูถีบจักรบริโภคแล้วตาย 50% ( $LD_{50}$ ) มีค่ามากกว่า 13.3 ก/กก. และไม่มีพิษเรื้อรัง คือไม่ก่อให้เกิดพยาธิสภาพ หรือความผิดปกติของอวัยวะต่างๆ ที่บ่งชี้ถึงความเป็นพิษในหนูแรทวิสตาที่บริโภคผงกระชายดำขนาด 2,000 มก./กก./วัน ทุกวันเป็นเวลา 6 เดือน (ทรงพลและคณะ, 2547) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงให้ความสำคัญการศึกษาต่อยอดจากงานวิจัยเดิมที่ทราบว่าสารสกัดเหยาบเอทานอลจากเหง้ากระชายดำสามารถแสดงฤทธิ์ต้านทานความเหนียวล้า หรือสรรพคุณบำรุงกำลังเช่นเดียวกับโสมเกาหลี (เสริมสกุลและไชยยง, 2549) ได้ โดยใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วแตกต่างกันในการสกัด เพื่อสามารถหาสารสกัดและส่วนสกัดที่แยกได้จากสารสกัด ที่แสดงฤทธิ์ต้านทานความเหนียวล้า สำหรับใช้เป็นมาตรฐานในการควบคุมคุณภาพผลผลิต และผลิตภัณฑ์กระชายดำด้านฤทธิ์ต้านความเหนียวล้าต่อไป

## อุปกรณ์และวิธีการ

### 1. การศึกษาหาสารสกัดจากเหง้ากระชายดำที่แสดงฤทธิ์ต้านความเหนียวล้า

#### 1.1 การสกัดเหง้ากระชายดำด้วยเฮกเซน (KPHE) คลอโรฟอร์ม (KPCE) เมทานอล (KPME) และเอทานอล (KPEE)

การศึกษาออกเป็น 2 ชุดดังนี้ ชุดที่ 1 นำเหง้ากระชายดำสดพันธุ์เรือ-10 (ร่วมเกล้า) มาล้างด้วยน้ำสะอาดแล้วสับเป็นชิ้นขนาดเล็กโดยไม่ปอกเปลือก ผึ่งให้แห้งที่อุณหภูมิห้องและบดให้ละเอียด หมักกับเฮกเซนเป็นเวลา 3 วัน กรองแล้วนำกากมาหมักกับเฮกเซนอีก 2 ครั้ง ๆ ละ 3 วัน กรองแล้วนำกากมาหมักกับคลอโรฟอร์ม 3 ครั้ง ๆ ละ 3 วัน กรองแล้วนำกากมาหมักกับเมทานอล 3 ครั้ง ๆ ละ 3 วัน กรองครั้งสุดท้ายอีกครั้งแล้วทิ้งกาก ระเหยเฮกเซน คลอโรฟอร์ม และเมทานอล ที่อุณหภูมิไม่เกิน 50 °ซ ภายใต้ความดันต่ำ แล้วทำให้แห้งสนิทด้วยเครื่อง lyophilizer จะได้สารสกัดเฮกเซน คลอโรฟอร์ม และเมทานอลของกระชายดำ ละลายสารสกัดแห้งโดยใช้ tween 10% ก่อนนำไปทดสอบฤทธิ์ต้านความเหนียวล้า ขณะที่ชุดที่ 2 หมักเหง้ากระชายดำแห้งพันธุ์เรือ-10 (ร่วมเกล้า) เช่นเดียวกับชุดที่ 1 แต่เปลี่ยนตัวทำละลายที่ใช้หมักจากเมทานอลเป็นการหมักกับเอทานอล 3 ครั้ง แทน และกรองแล้วทิ้งกาก ระเหยเฮกเซน คลอโรฟอร์มและเอทานอล ที่อุณหภูมิไม่เกิน 50 °ซ ภายใต้ความดันต่ำ แล้วทำให้แห้งสนิทด้วยเครื่อง lyophilizer ได้สารสกัดเฮกเซน คลอโรฟอร์มและเอทานอลของกระชายดำ

ละลายสารสกัดแห้งโดยใช้ tween 10% ก่อนนำไปทดสอบฤทธิ์ด้านความเหนียวล้า แต่เพิ่มการเปรียบเทียบกับกลุ่ม adaptogenic positive control คือผงรากโสมเกาหลีหยาบ (crude powder of ginseng root, sigma cat no G 7250)

## 1.2 การทดสอบฤทธิ์ด้านทานความเหนียวล้าของสารสกัดเฮกเซน คลอโรฟอร์ม เมทานอลและเอทานอลของกระชายดำ

### ก. สัตว์ทดลอง

ใช้หนูถีบจักร (mice) สายพันธุ์ Swiss albino ตัวผู้ที่มีน้ำหนัก 25-30 ก. ที่สั่งซื้อมาจากศูนย์สัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล วิทยาเขตศาลายา จ.นครปฐม เลี้ยงสัตว์ทดลองในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ ( $22 \pm 3$  °ซ.) และมีวัฏจักรแสงช่วงสว่างและมีดอย่างละ 12 ชม. โดยให้สัตว์ทดลองปรับตัวในสภาพดังกล่าวอย่างน้อย 7 วัน ให้อาหารสัตว์ทดลองของบริษัท SWT Co., Ltd. จ.สมุทรปราการ สัตว์ทดลองทุกตัวได้รับการดูแลด้วยความเมตตาตามจรรยาบรรณการวิจัยในสัตว์ทดลอง ของสภาวิจัยแห่งชาติปี พ.ศ. 2542 และได้รับการอนุมัติจากคณะกรรมการจรรยาบรรณการใช้สัตว์ทดลอง คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ตามหมายเลขโครงการ 06/2547 ให้ดำเนินการได้ตั้งแต่วันที่ 7 กรกฎาคม พ.ศ. 2547

ข. วิธีการทดสอบฤทธิ์ด้านทานความเหนียวล้า

**ชุดที่ 1** ทดสอบฤทธิ์ด้านทานความเหนียวล้า โดยแบ่งหนูถีบจักรเป็น 4 กลุ่ม ๆ ละ 10 ตัว ในกลุ่มทดสอบป้อนสารสกัดเฮกเซน คลอโรฟอร์มและ

เมทานอลของกระชายดำ ละลายสารสกัดแห้งโดยใช้ tween 10% ขนาด 500 มก./น้ำหนักตัว 1 กก. ป้อนทางปากวันละครั้งเป็นเวลา 25 วัน ในกลุ่มควบคุมป้อน tween 10% ในปริมาณที่เท่ากันวันละครั้งเป็นเวลา 25 วันเช่นกัน นำหนูมาทดสอบฤทธิ์ด้านความเหนียวล้าโดยวิธีการบังคับหนูถีบจักรว่ายน้ำ (forced swimming test) (Porsolt., 1977) ใช้บีกเกอร์แก้วสูง 14 ซม. เส้นผ่าศูนย์กลาง 10 ซม. ใส่น้ำอุณหภูมิ 22-25 °ซ. ลงไปให้สูง 10 ซม. ปล่อยหนูถีบจักรลงในน้ำเป็นเวลา 6 นาที จับเวลาที่หนูเคลื่อนไหวใน 4 นาทีหลังรวมกัน เปรียบเทียบเวลาที่หนูไม่เคลื่อนไหว (immobility time) ของกลุ่มทดสอบและกลุ่มควบคุม ถ้าสารที่ป้อนให้หนูมีฤทธิ์ด้านความเหนียวล้า เวลาที่หนูไม่เคลื่อนไหวจะน้อยกว่าเวลาที่หนูไม่เคลื่อนไหวของกลุ่มควบคุม ทดสอบครั้งเดียวในวันที่ 25 ของการทดลอง นำข้อมูลมาเปรียบเทียบ เพื่อให้ทราบชนิดสารสกัดที่แสดงฤทธิ์ด้านความเหนียวล้าในเบื้องต้น

**ชุดที่ 2** ทดสอบฤทธิ์ด้านทานความเหนียวล้า โดยแบ่งหนูถีบจักรเป็น 5 กลุ่ม ๆ ละ 10 ตัว ในกลุ่มทดสอบป้อนสารสกัดเฮกเซน คลอโรฟอร์มและเอทานอลของกระชายดำ ละลายสารสกัดแห้งโดยใช้ tween 10% ขนาด 500 มก./น้ำหนักตัว 1 กก. ป้อนทางปากวันละครั้ง สำหรับกลุ่ม adaptogenic positive control ป้อนผงรากโสมเกาหลีหยาบ crude powder of ginseng root ขนาด 100 มก./น้ำหนักตัว 1 กก. และในกลุ่มควบคุมป้อน tween 10 % ในปริมาณที่เท่ากัน วันละครั้งเป็นเวลา 25 วัน นำหนูมาทดสอบฤทธิ์ด้านความเหนียวล้าในเวลาเดียวกันของวันทุกครั้ง โดยวิธีการบังคับหนู

ถึบจักรว้ยน้ำ (Porsott,1977) ในวันทึ่ 0 5 10 15 20 25 (เช่นเดียวกับซุทที่ 1) นำข้อมูลมาเปรียบเทียบเพือให้บ้งค้บหนุถึบจักรว้ยน้ำทราบชนิดสารสกัดกระชยดำที่แสดงฤทธิ์ด้านความเหนือยล้า และผงรากลโสมเกาหลึหยาบ

### 1.3 การทดสอบฤทธิ์ด้านความเครียดแบบเฉียบพลัน (anti-acute stress activity)

ทดสอบฤทธิ์ด้านความเครียดแบบเฉียบพลันโดยประยุกต์วิธีของ Takagi และคณะ (1963) และ Rai และคณะ (2003) ดั่งนี้ ป้อนสารสกัดเฮกเซนกระชยดำที่มี tween 10% เป็นพาหะวันละครั้งเป็นเวลา 3 วัน ในกลุ่มควบคุมป้อน tween 10 % ในปริมาณที่เท่ากัน และในกลุ่ม adaptogenic positive control ป้อนผงรากลโสมเกาหลึหยาบ ขนาด 100 มก./น้ำหนักตัว 1 กก. ภายหลังจากการให้สารทดสอบครั้งสุดท้ายนาน 1 ชม. ทำการ จับหนูใส่ในกรงแล้วนำไปแช่น้ำที่อุณหภูมิ  $22 \pm 2$  °ซ. ในระดับ xyphoid เป็นเวลา 5 ชม. หลังจากนั้น และเก็บเลือดซ้งน้ำหนักม้าม (spleen) และต่อมไร้ท่อไทมัส (thymus) ตรวจวัดแผลในกระเพาะอาหารภายใต้โดย dissecting microscope และรายงานในรูปแบบความเป็นแผล (ulcer index,ui) ซึ้งเป็นผลรวมของความยาวของแผลในกระเพาะอาหาร ทำการแยกซีรัมเพือวัดระดับ glucose, serum glutamate oxaloacetate transminase (SGOT), glutamate pyruvate transaminase (SGPT) และ creatinine kinase (CK)

### 1.4 การศึกษาความเป็นพิษแบบเฉียบพลัน

อดอาหารหนูถึบจักรเป็นเวลา 1 คีน แล้วให้

สารสกัดเฮกเซนกระชยดำทางปากในขนาดที่สูงสุดที่เป็นไปได้ หลังจากนั้นสังเกตอาการต่างๆเปรียบเทียบกับหนูถึบจักรกลุ่มควบคุมที่ได้รับแต่พาหะในปริมาณที่เท่ากัน เลียงหนูถึบจักรทั้งหมดเป็นเวลา 14 วัน แล้วผ่าเพือดูความผิดปกติของอวัยวะภายในวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละกลุ่ม แบบความแปรปรวนแบบทางเดียว (one way ANOVA) และใช้การทดสอบ Duncan multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ SPSS for Windows version 11.5

## 2. การศึกษาหาส่วนสกัดจากสารสกัดเฮกเซนกระชยดำที่แสดงฤทธิ์ด้านความเหนือยล้า

### 2.1 แยกสารสกัดเฮกเซนของกระชยดำด้วย column chromatography

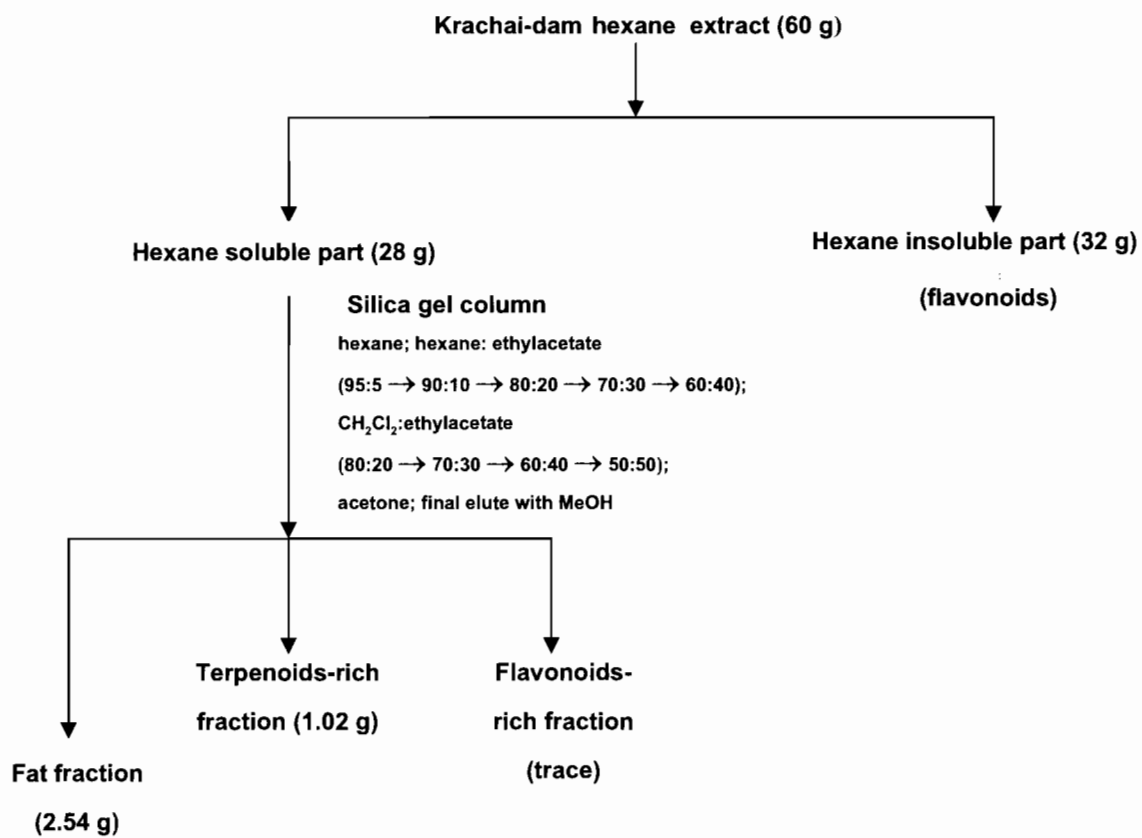
เพือให้ได้ส่วนสกัดที่มีขั้ว (polarity) แตกต่างกัน สำหรับใช้ในการทดสอบฤทธิ์ด้านความเหนือยล้า แยกสารสกัดเฮกเซนของกระชยดำด้วย column chromatography โดยการใช้ silica gel 60 (MERCK) เป็น stationary phase ส่วน mobile phase ใช้สารละลายผสมระหว่างเฮกเซน เอทิลอะซิเตทและเมทานอล ที่สัดส่วนแตกต่างกัน จะได้ส่วนสกัด 3 ส่วนสกัดได้แก่ ส่วนสกัดของสารกลุ่มไขมัน (KD 2HH1) ส่วนสกัดของสารกลุ่ม terpene (KD 2HH2) และส่วนสกัดของกลุ่ม flavonoid (KD 2HD) ทั้งนี้ส่วนสกัดชนิดที่แสดงฤทธิ์ด้านความเหนือยล้าได้เรียกว่า KPAF (*Kaempferia parviflora* active fraction)

**2.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านทานความ  
เหนียวล้าของส่วนสกัดจากสารสกัดเฮกเซน  
กระชายดำ**

**ชุดที่ 1** ทำการแยกสารสกัดเฮกเซนของ  
กระชายดำด้วย column chromatography  
โดยใช้ silica gel 60 เป็น stationary  
phase ส่วน mobile phase ใช้สารละลาย  
ผสมระหว่างเฮกเซน เอทิลอะซิเตท และ  
เมทานอลที่สัดส่วนแตกต่างกัน จะได้ส่วน  
สกัด 3 ส่วนสกัด (Figure 1) ได้แก่ ส่วนสกัด  
ของสารกลุ่มไขมัน กลุ่ม terpene และกลุ่ม  
flavonoid

ทดสอบฤทธิ์ต้านทานความเหนียวล้า โดย

แบ่งหนูถีบจักรเป็น 4 กลุ่ม ๆ ละ 10 ตัว ในกลุ่ม  
ทดสอบป้อนส่วนสกัด 3 ชนิด ได้แก่ ส่วนสกัด  
ของสารกลุ่มไขมัน กลุ่ม terpene และกลุ่ม  
flavonoid ขนาด 100 มก./น้ำหนักตัว 1 กก. วัน  
ละครั้ง และในกลุ่มควบคุมป้อน tween 10 %  
ในปริมาณที่เท่ากัน วันละครั้งเป็นเวลา 35 วัน  
นำหนูมาทดสอบฤทธิ์ต้านทานความเหนียวล้าในเวลา  
เดียวกันของวันทุกครั้ง โดยวิธีบังคับหนูถีบจักร  
ว่ายน้ำ (Porsolt.,1977) ในวันที่ 0 5 10 15 20  
25 30 35 (เช่นเดียวกับชุดที่ 1 ในข้อ 1.2) นำ  
ข้อมูลมาเปรียบเทียบเพื่อให้ทราบชนิดส่วนสกัด  
กระชายดำที่แสดงฤทธิ์ต้านทานความเหนียวล้าที่  
เรียกว่า KPAF



**Figure 1.** Fractions of Krachai-dam hexane extract separated by column chromatography (CC).

**ชุดที่ 2** ทดสอบฤทธิ์ด้านความเหนียวล้า โดยแบ่งหนูกีบจักรเป็น 3 กลุ่ม ๆ ละ 10 ตัว ในกลุ่มทดสอบบ่อนส่วนสกัดกระชายดำที่แสดงฤทธิ์ด้านความเหนียวล้าที่เรียกว่า KPAF ขนาด 100 มก./น้ำหนักตัว 1 กก.วันละครั้ง และในกลุ่มควบคุมบ่อน tween 10% ในปริมาณที่เท่ากันวันละครั้ง เปรียบเทียบกับผงรากโสมเกาหลี ขนาด 100 มก./น้ำหนักตัว 1 กก. นำหนูกีบจักรมาทดสอบฤทธิ์ด้านความเหนียวล้าในเวลาเดียวกันของวันทุกครั้ง โดยวิธีการบังคับหนูกีบจักรว่ายน้ำ (Porsolt.,1977) ในวันที่ 0 5 10 15 20 25 30 (เช่นเดียวกับชุดที่ 1 ในข้อ 1.2) วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละกลุ่ม  $\pm$  SEM (standard error of the mean) ความแปรปรวนทางเดียว และใช้การทดสอบ Duncan multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ทุกการทดลองดำเนินการที่ห้องปฏิบัติการผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ สถาบันวิจัยจุฬาภรณ์ ศูนย์วิจัยของมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ.เมือง จ.เชียงใหม่

## **ผลการทดลองและวิจารณ์**

### **1. การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสกัดเฮกเซนจากเหง้ากระชายดำ**

#### **1.1 การสกัดเหง้ากระชายดำด้วยเฮกเซน คลอโรฟอร์ม เมทานอลและเอทานอล**

เหง้ากระชายดำสดพันธุ์ภูเรือ-10 (รวมเกล้า) 10.0 ก. เมื่อผึ่งให้แห้งที่อุณหภูมิห้องได้เหง้ากระชายดำแห้ง 3.55 ก.

**ชุดที่ 1** การสกัดกระชายดำแห้งด้วยตัวทำละลายต่างๆ ได้ปริมาณสารสกัดเฮกเซน คลอโรฟอร์ม และเมทานอลของกระชายดำ 227 104 และ 189 ก. หรือ 6.41, 2.94 และ 4.33 % โดยน้ำหนัก ตามลำดับ

**ชุดที่ 2** การสกัดเหง้ากระชายดำแห้งด้วยตัวทำละลายต่างๆ ได้ปริมาณสารสกัดเฮกเซน คลอโรฟอร์มและเอทานอลของกระชายดำ 227 104 และ 189 ก. หรือ 6.40, 2.90 และ 5.30 % โดยน้ำหนักตามลำดับ

การตรวจคัดกรองกลุ่มสารสำคัญโดยการหดยาสารสกัดกระชายดำลงบน TLC plate (silica gel 60 F) และทำ chromatography โดยใช้ toluene: ethylacetate:methanol (50:50:5) เป็น mobile phase หลังจากนั้นตรวจคัดกรองกลุ่มสารสำคัญ โดยใช้วิธีการทดสอบมาตรฐาน (Harborne, 1973; Trease and Evans, 1989) ดังนี้ alkaloids (dragendorff reagnt), saponins (Froth test), anthraquinones (modified Borntrger reaction), flavonoids (aluminium (III) flavonoids complex), tannins (ferric chloride test) พบว่าสารสกัดหยาบด้วยเอทานอล สารสกัดเฮกเซน คลอโรฟอร์มและเอทานอลของกระชายดำ ให้ผลบวกต่อการทดสอบ alkaloids และ flavonoids และให้ผลลบต่อการทดสอบ saponins, anthraquinones และ tannins

#### **1.2 ทดสอบฤทธิ์ด้านความเหนียวล้าของสารสกัดเหง้ากระชายดำด้วยเฮกเซน คลอโรฟอร์ม เมทานอล และเอทานอล**

**ชุดที่ 1** นำสารสกัดเหล่านี้มาทดสอบฤทธิ์ด้านความเหนียวล้าในหนูกีบจักร พบว่าหนูกีบจักร

ทดสอบที่ได้รับสารสกัดคลอโรฟอร์มและเมทานอลของกระชายดำอัตรา 500 มก./กก. เป็นเวลา 25 วัน ไม่สามารถต้านความเหนื่อยล้าได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ในขณะที่หนูทดสอบที่ได้รับสารสกัดเฮกเซนอัตรา 500 มก./กก. เป็นเวลา 25 วันเช่นกัน สามารถต้านทานความเหนื่อยล้าได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีเวลาที่ไม่เคลื่อนไหวในน้ำต่ำกว่ากรรมวิธีอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% นั่นเอง (Table 1)

**ชุดที่ 2** นำสารสกัดเฮกเซน คลอโรฟอร์ม และเอทานอลมาทดสอบฤทธิ์ต้านทานความเหนื่อยล้าทุก 5 วันของการป้อนสารสกัดให้แก่สัตว์ทดลอง โดยใช้ผงโสมเกาหลีหายาบ (sigma cat no G7253) เป็น adaptogenic positive control ในการทดสอบฤทธิ์ต้านทานความเหนื่อยล้าด้วยวิธีบังคับหนูถีบจักรว่ายน้ำ พบว่าหนูในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดด้วยเฮกเซนมีเวลาที่ไม่เคลื่อนไหวในน้ำน้อยลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ในการทดสอบเมื่อวันที่ 20 25 30 และ 35 ในขณะที่หนูในกลุ่มที่ได้รับผงโสมเกาหลีหายาบ มีเวลาที่ไม่เคลื่อนไหวในน้ำน้อยลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในการทดสอบเมื่อวันที่ 20 และ 25 แต่กลับมีเวลาที่ไม่เคลื่อนไหวในน้ำไม่ต่างจากกลุ่มควบคุมในวันที่ 30 และ 35 และหนูในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดด้วยคลอโรฟอร์มและเอทานอลมีเวลาที่ไม่เคลื่อนไหวในน้ำไม่แตกต่างจากหนูในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 2)

**Table 1.** Adaptogenic activity of *K. parviflora* hexane (KPCE), chloroform (KPME) and methanol (KPME) extracts at concentration of 500 mg/kg in the period of 25 days on mice by forced swimming test.

Treatment	Immobility time (second)
Control	83 ± 11 a
KPHE (500 mg/kg)	43 ± 8 b
KPCE (500 mg/kg)	60 ± 7 a
KPME (500 mg/kg)	77 ± 9 a

Means ± SEM (standard error of the mean) followed by a common letter are not significantly different at the 5% by DMRT.

### 1.3 การทดสอบฤทธิ์ด้านความเครียดแบบเฉียบพลัน

ศึกษาฤทธิ์ด้านความเครียดในสัตว์ทดลองที่ถูกชักนำให้เครียดโดยการแช่น้ำ แล้วตรวจดูแผลในกระเพาะอาหาร น้ำหนักของต่อมไทรอยด์และม้าม วัดปริมาณ glucose และ activity ของ serum alanine amino transferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) และ creatinine kinase (CK)

ผลการทดสอบฤทธิ์ด้านความเครียดแบบเฉียบพลันจากการตรึงและแช่ในน้ำเย็น พบว่าหนูในกลุ่มควบคุม (มีความเครียด) มีแผลในกระเพาะอาหารเกิดขึ้นเฉลี่ย 9.9 มม. ในขณะที่หนูปกติ (ไม่เครียด) ไม่มีแผลในกระเพาะอาหาร



**Table 2.** Adaptogenic activity of *K. parviflora* hexane (KPHE), chloroform (KPCE), ethanol extracts (KPME) at concentration of 500 mg/kg and Ginseng root crude powder (GP) at concentration of 100 mg/kg on mice by forced swimming test at the day of 0, 5, 10, 15, 20,25, 30 and 35

Treatment (mg/kg)	Immobility time (second) at the day							
	0	5	10	15	20	25	30	35
Control	74.20±5.55 a	90.02±5.27 a	105.77±4.58 a	124.91±4.40 a	133.19±8.95 b	146.61±7.06 b	143.75±8.04 b	137.31±7.99 b
KPHE (500)	68.64±6.11 a	79.17±5.37 a	102.14±4.56 a	118.02±4.78 a	89.76±8.49 a	74.01±7.61 a	57.05±7.56 a	73.76±7.47 a
KPCE (500)	67.40±6.37 a	86.07±6.87 a	107.12±4.60 a	122.40±4.12 a	136.74±7.63 b	137.06±6.78 b	147.05±3.68 b	146.19±9.79 b
KPEE (500)	71.49±4.24 a	93.27±6.43 a	106.52±5.27 a	125.05±4.65 a	127.96±8.37 b	135.55±4.95 b	130.66±8.68 b	164.85±5.47 b
GP (100)	70.07±4.64 a	88.41±5.64 a	99.93±4.98 a	112.74±5.22 a	88.78±7.82 a	86.08±8.37 a	121.43±6.81 b	129.01±8.83 b

Means ± SEM (standard error of the mean) followed by a common letter are not significantly different at the 1% by DMRT.

นอกจากนี้ น้ำหนักของม้าม และต่อมไร้ท่อไทมัส ในหนูกลุ่มควบคุมก็ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะที่ระดับของ glucose, SGOT, SGPT และ CK เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับหนูปกติ หนูในกลุ่มที่เครียดและได้รับสารสกัดเฮกเซนของกระชายดำและผงโสมเกาหลีหยาบมีผลในกระเพาะอาหารเกิดขึ้นน้อยกว่าหนูในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และยังมีน้ำหนักของม้ามและต่อมไร้ท่อไทมัสมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะที่ระดับของ glucose, SGPT และ CK น้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามระดับ SGOT ในหนูที่ได้รับสารสกัดเฮกเซนของกระชายดำและผงโสมไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติแต่อย่างใด (Table 3)

โดยทั่วไปแล้ววิธีการบังคับหนูถึงจักรวายน้ำ ที่ใช้ในการวิจัยนี้เป็นการทดสอบฤทธิ์

antidepressant (Porsolt, 1977) ซึ่งสารที่มีฤทธิ์ดังกล่าวเมื่อให้แก่หนูทดลอง ทำให้หนูนั้นสามารถเคลื่อนไหวในน้ำได้นานขึ้น หรือมีเวลาที่ไม่เคลื่อนไหวในน้ำน้อยลงนั่นเอง ได้มีการใช้วิธีการนี้ในการทดสอบฤทธิ์ต้านทานความเหนื่อยล้า (adaptogenic effect) ในสารสกัดจากพืชสมุนไพรสกุลโสมเกาหลี (*Panax ginseng* L.) (Coleman *et al.*, 2003); สวาด (*Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb.) (Kannur *et al.*, 2006), Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* (L.) Roxb.) (Saggu *et al.*, 2007) ใบต่อก้าน (*Evolvulus alsinoides* (L.) L.) (Siripurapu *et al.*, 2005), *Trichopus zeylanicus* Gaertn (Singh *et al.*, 2005), พรหมมี (*Bacopa monniera* (L.) Pennell) (Rai *et al.*, 2003) และ *Withania somnifera* (L.) Dunal (Bhattacharya and Muruganandam 2003) ซึ่งในงานวิจัยนี้พบว่า การทดสอบ การบังคับหนู

**Table 3.** Acute anti-stress activity of *K. parviflora* hexane (KPHE), chloroform (KPCE), ethanol extracts (KPME) at concentration of 500 mg/kg and Ginseng root crude powder (GP) at concentration of 100 mg/kg on mice's organs

Treatment (mg/kg)	Ulcer index (mm)	Spleen (g)	Thymus (g)	Glucose (mg/dl)	SGOT (ui)	SGPT (ui)	CK (ui)
Control	9.9 ± 1.8 a	0.467 ± 0.007 b	0.572 ± 0.011 b	140 ± 6 a	198 ± 8	59 ± 3 a	7649 ± 324 a
KPHE (500)	0.0 ± 0.0 b	0.684 ± 0.025 a	0.710 ± 0.018 a	98 ± 6 b	108 ± 5	39 ± 3 b	541 ± 50 c
KPCE (500)	4.9 ± 0.8 b	0.610 ± 0.020 a	0.822 ± 0.035 a	106 ± 3 b	179 ± 9	45 ± 4 b	4168 ± 499 b
KPEE (500)	5.0 ± 0.4 b	0.584 ± 0.031 a	0.749 ± 0.050 a	118 ± 3 b	188 ± 5	44 ± 2 b	4581 ± 347 b
GP (100)	3.7 ± 0.8 b	0.623 ± 0.017 a	0.751 ± 0.045 a	112 ± 5 b	181 ± 5	47 ± 2 b	3392 ± 218 b

SGPT = serum glutamate oxaloacetate transaminase, SGOT = glutamate pyruvate transaminase and CK = creatinine kinase

ถึบจักรว้ยน้ำแต่ละครั้ง หนูในทุกกลุ่มมีเวลาที่ไม่เคลื่อนไหวในน้ำเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ แสดงถึงการเรียนรู้และการปรับตัวของสัตว์ทดลอง เป็นที่น่าสังเกตว่า หนูในกลุ่มที่ได้รับผงโสมเกาหลีหยาบนั้น มีเวลาที่ไม่เคลื่อนไหวในน้ำน้อยลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในการทดสอบเมื่อวันที่ 20 และ 25 แต่ในการทดสอบวันที่ 30 และ 35 กลับไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ส่วนหนูที่ได้รับสารสกัดเฮกเซนของกระชายดำ แสดงฤทธิ์ด้านความเหนียวล้าได้ตั้งแต่วันที่ 20 ตลอดจนถึงสิ้นสุดการทดลองในวันที่ 35 สำหรับสารสกัดด้วยคลอโรฟอร์มและเอทานอล ของกระชายดำไม่แสดงฤทธิ์ด้านความเหนียวล้า

เพื่อรับรองด้านความเหนียวล้าของสารสกัดเฮกเซน ได้ทำการทดสอบฤทธิ์ด้านความเครียดแบบเฉียบพลันโดยการตรึงและแช่หนูในน้ำเย็น (22±2 °ซ.) วิธีการนี้มักใช้ในการทดสอบฤทธิ์ป้องกันการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร (Takagi

*et al.*,1963) เป็นที่ทราบกันดีว่า ความเครียดเกิดได้จากสาเหตุต่างๆทั้งด้านสังคม สิ่งแวดล้อม และพยาธิสภาพของร่างกาย ความเครียดเกี่ยวข้องกับ hypothalamus-pituitary adrenal axis ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในระบบประสาท ระบบต่อมไร้ท่อ และระบบภูมิคุ้มกัน (Ushijima *et al.*, 1997) ทำให้เกิดแผลในกระเพาะอาหาร ระดับของ glucose และเอนไซม์ SGOT, SGPT และ CK ในเลือดสูงขึ้น ในขณะเดียวกัน น้ำหนักของม้าม และต่อมไร้ท่อไทมัสกลับน้อยลง ในงานวิจัยนี้สารสกัดเฮกเซนของกระชายดำและผงโสมเกาหลีหยาบเมื่อให้แก่หนูทางปากติดต่อกัน 3 วัน แสดงฤทธิ์ด้านความเครียดแบบเฉียบพลันได้ ฤทธิ์ของสารสกัดเฮกเซนที่ลดปริมาณแผลในกระเพาะอาหารของหนูที่ถูกแช่น้ำนี้ สอดคล้องกับรายงานวิจัยของคณะผู้วิจัยที่ทำการศึกษโดยใช้สารสกัดหยาบด้วยเอทานอลของกระชายดำ (Rujjanawate *et al.*, 2004)

เป็นที่น่าสังเกตว่าสารสกัดเฮกเซนของกระชายดำในขนาด 100 และ 500 มก./กก. แสดงฤทธิ์ได้ไม่ต่างกัน

#### 1.4 การศึกษาความเป็นพิษแบบเฉียบพลัน

การทดสอบความเป็นพิษแบบเฉียบพลันพบว่าหนูถีบจักรที่ได้รับสารสกัดด้วยเฮกเซนขนาด 2,000 มก./กก. สังเกตเห็นเพียงการเคลื่อนไหวน้อยลงเมื่อเทียบกับหนูที่ไม่ได้รับสารทดสอบ นอกจากนี้ไม่มีอาการผิดปกติอื่นใด เมื่อทำการทดสอบจนครบ 5 ตัว พบว่าไม่มีตัวใดตัวหนึ่งตายภายใน 48 ชม. ภายใต้ระบบการจำแนกสารอันเป็นสากล (globally harmonized system of classification: GHS และเมื่อไม่มีข้อบ่งชี้ของ OECD ถึงความจำเป็นอื่นใด ก็ไม่จำเป็นต้องทำการทดสอบต่อ (Anon,1980) และอนุมานได้ว่าขนาดของสารสกัดด้วยเฮกเซนที่ทำให้หนูตาย 50% ( $LD_{50}$ ) มากกว่า 2,000 มก./กก.

### 2. การศึกษาฤทธิ์ด้านความเหนียวลำของส่วนสกัดจากสารสกัดเฮกเซนของกระชายดำ

#### 2.1 แยกสารสกัดเฮกเซนของกระชายดำด้วย column chromatography

ได้ส่วนสกัด 3 ส่วนสกัดได้แก่ ส่วนสกัดของสารกลุ่มไขมัน กลุ่ม terpene และกลุ่ม flavonoid จากการแยกสารสกัดเฮกเซนของกระชายดำด้วย column chromatography โดยการใช้ silica gel 60 เป็น stationary phase ส่วน mobile phase ใช้สารละลายผสมระหว่างเฮกเซน เอทิลอะซิเตทและเมทานอลที่สัดส่วนแตกต่างกัน (Figure 1)

### 2.2 การทดสอบฤทธิ์ด้านทานความเหนียวลำของส่วนสกัดจากสารสกัดเฮกเซนของกระชายดำ

ผลการทดสอบฤทธิ์ด้านทานความเหนียวลำของส่วนสกัดทั้งสาม ที่แยกได้จากสารสกัดเฮกเซนของกระชายดำ พบว่าตลอดเวลา 30 วันของการศึกษา น้ำหนักตัวโดยเฉลี่ยของหนูที่ได้รับสารทดสอบทั้งสามกลุ่ม ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากของกลุ่มควบคุม โดยพบว่าหนูถีบจักรในกลุ่มที่ได้รับส่วนสกัดของสารกลุ่ม terpene (ส่วนสกัดที่มีสารกลุ่มเทอร์ปีนอยด์เป็นหลัก) ใช้เวลาแสดงอาการไม่เคลื่อนไหวในน้ำน้อยกว่าของหนูในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในการทดสอบเมื่อวันที่ 25 และ 30 ของการป้อนสารทดสอบ จึงนับว่าเป็นส่วนสกัดชนิดที่ฤทธิ์ด้านทานเหนียวลำ (Table 4) สำหรับหนูถีบจักรที่ได้รับส่วนสกัดของกลุ่ม flavonoid และ ส่วนสกัดของสารกลุ่มไขมัน ใช้เวลาแสดงอาการไม่เคลื่อนไหวในน้ำไม่ต่างจากของหนูในกลุ่มควบคุมในการทดสอบทุกครั้ง การผ่าซากหนูทดลองเมื่อสิ้นสุดการวิจัยพบว่าน้ำหนักเฉลี่ยของหัวใจ ตับและต่อมหมวกไตของหนูที่ได้รับสารทดสอบทั้งสามกลุ่ม ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากของกลุ่มควบคุม ส่วนน้ำหนักเฉลี่ยของไตนั้นพบว่าหนูในกลุ่มที่ได้รับส่วนสกัดของสารกลุ่มไขมันมากกว่าของหนูในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่ของอีกสองกลุ่มไม่แตกต่างจากของกลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตามไม่พบความผิดปกติที่มองเห็นได้ของอวัยวะภายในเหล่านี้ ผล

การศึกษาดังกล่าวแสดงว่า เฉพาะส่วนสกัดของ สารกลุ่ม terpene ของกระชายดำเท่านั้นที่มีฤทธิ์ ด้านต้านทานความเหนียวลำ โดยไม่ก่อให้เกิดความ แสดงผิดปกติที่มองเห็นได้ต่ออวัยวะภายในอัน ได้แก่ หัวใจ ตับ ไตและต่อมหมวกไต

### 2.3 การศึกษาฤทธิ์ต้านทานความเหนียวลำ ของส่วนสกัดจากสารสกัดเฮกเซนกระชายดำ

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านทานความเหนียวลำ ของส่วนสกัดของสารกลุ่ม terpene เป็นหลัก ซึ่ง นับว่าเป็นส่วนสกัดชนิดที่มีฤทธิ์ต้านทานความเหนียวลำ พบว่าหนูถีบจักรในกลุ่มที่ได้รับส่วนสกัดของสาร กลุ่ม terpene และกลุ่มที่ได้รับผงโสมเกาหลี หยาบ ใช้เวลาแสดงอาการไม่เคลื่อนไหวในน้ำ น้อยกว่าของหนูในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติในการทดสอบเมื่อวันที่ 25 ของการป้อน สารทดสอบ (Table 5)

นอกจากนี้ตลอดเวลา 30 วันของการ ศึกษา น้ำหนักตัวโดยเฉลี่ยของหนูที่ได้รับส่วน สกัดชนิดที่มีฤทธิ์ต้านทานความเหนียวลำ และ หนูที่ได้รับผงโสมเกาหลีหยาบไม่มีความแตกต่าง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากของกลุ่มควบคุม ทั้งนี้ผลการผ่าซากของหนูเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ไม่พบความผิดปกติที่มองเห็นได้ของอวัยวะ ภายใน กล่าวคือน้ำหนักเฉลี่ยของหัวใจ ตับ ไต และต่อมหมวกไตของหนูทั้งสามกลุ่มที่ทดสอบ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นข้อมูลเหล่านี้จึงเป็นดัชนีบ่งชี้ว่า การได้รับ ส่วนสกัดชนิดที่มีฤทธิ์ต้านทานความเหนียวลำ อัตรา 100 มก./กก. วันละครั้ง ด้วยการบริโภค ทางปากเป็นเวลา 30 วัน ไม่ก่อให้เกิดอาการเป็น

พิษที่สังเกตได้แต่อย่างใด (เช่นเดียวกับการ บริโภคสารสกัดเฮกเซนทางปาก)

หากพิจารณารายงานผลการวิจัยด้าน การแพทย์พื้นบ้านทั้งของไทยและต่างประเทศ ได้กล่าวถึงพืชสมุนไพรหลายชนิดที่มีสรรพคุณ บำรุงร่างกายและเสริมสรรรถภาพทางเพศ แต่ ทางวิทยาศาสตร์ยังไม่สามารถพิสูจน์ฤทธิ์ที่กล่าว อ้างนี้ได้โดยตรง แต่ใช้การทดสอบฤทธิ์ต้านทาน ความเหนียวลำในสัตว์ทดลอง เช่นวิธีบังคับหนู ถีบจักรว่ายน้ำที่ใช้ในการวิจัยนี้ จนถึงปัจจุบัน พืชที่ได้มีรายงานจากการวิจัยว่า มีฤทธิ์ต้านทาน ความเหนียวลำ นอกจากพืชในสกุลโสมเกาหลี แล้ว ยังพบในพืชสมุนไพรอีกหลายชนิด ได้แก่ สวาด (Kannur *et al.*, 2006) Sea buckthorn (Suggu *et al.*, 2007) ใบต้อก้าน (Siripurapu *et al.*, 2005), *Trichopus zeylanicus* (Singh *et al.*, 2005) พรหมมี (Rai *et al.*, 2003), *Withania somnifera* (Bhattacharya and Muruganandam, 2003)

การออกฤทธิ์ของสารต้านทานความ เหนียวลำที่สำคัญคือ เพิ่มความต้านทานต่อการ คุกคามที่จะก่อให้เกิดการเสียดุลยภาพของ ร่างกาย และเพิ่มความอดทนต่อการทำงานแม้ ในภาวะที่ยากลำบาก สารเหล่านี้มักออกฤทธิ์ แบบป้องกัน (preventive) มากกว่าแบบรักษา (curative) และมักแสดงฤทธิ์ได้ดีในยามที่ความ ต้านทานของร่างกายลดลง หรืออ่อนแอลง เช่น ในภาวะเจ็บป่วยเรื้อรัง ภาวะที่มีความเครียดเป็น เวลานาน และภาวะสูงอายุ (Bhattacharya *et al.*, 2000) ฤทธิ์ดังกล่าวนำไปสู่การกล่าวอ้างว่าสาร

**Table 4.** Adaptogenic activity of the 3 fractions separated from *K. parviflora* hexane extracts (KPHE) at concentration of 100 mg/kg on mice by forced swimming test at the day of 0, 5, 10, 15, 20,25 and 30.

Treatment (100 mg/kg)	Immobility time (second) at the day					
	5	10	15	20	25	30
Control	110.64 ± 9.83 a	119.88 ± 13.38 a	151.51 ± 12.37 a	158.95 ± 12.49 a	155.46 ± 15.79 a	166.38 ± 14.95 a
KD 2HH.1	116.37 ± 12.40 a	111.26 ± 15.05 a	135.28 ± 14.04 a	141.88 ± 13.24 a	158.06 ± 8.17 a	150.75 ± 10.28 a
KD 2HH.2	123.31 ± 10.58 a	119.50 ± 12.99 a	135.38 ± 12.03 a	129.28 ± 11.48 a	122.13 ± 11.01 b	126.38 ± 12.94 b
KD 2HD	145.30 ± 9.99 a	146.44 ± 11.97 a	166.23 ± 14.03 a	160.39 ± 4.60 a	157.92 ± 6.75 a	167.41 ± 12.99 a

Means ± SEM (standard error of the mean) of followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

KD 2HH.2 = terpenoids-rich fraction and KD 2HD = flavonoids-rich fraction, n = 8 - 10

**Table 5.** Adaptogenic activity of *K. parviflora* active fraction (KPAF) and Ginseng root crude powder (GP) at concentration of 100 mg/kg on mice by forced swimming test at the day of 0, 5, 10, 15, 20,25 and 30.

Treatments (100 mg/kg)	Immobility time (second) at the day						
	0	5	10	15	20	25	30
Control	90.72 ± 3.68 a	115.20 ± 5.15 a	132.57 ± 4.46 a	154.00 ± 5.48 a	165.38 ± 6.39 a	175.91 ± 4.90 a	90.72 ± 3.68 a
KPAF	92.35 ± 3.96 a	107.29 ± 4.01 a	132.70 ± 3.58 a	141.48 ± 4.07 a	150.20 ± 4.16 a	156.52 ± 4.84 b	92.35 ± 3.96 a
GP	89.47 ± 4.12 a	117.32 ± 5.58 a	136.84 ± 3.12 a	142.74 ± 3.34 a	158.78 ± 4.42 a	145.82 ± 3.68 b	89.47 ± 4.12 a

Means ± SEM (standard error of the mean) in the same column followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

KPAF = *K. parviflora* active fraction, GP Ginseng root crude powder; n = 8 - 10

เหล่านี้ สามารถเพิ่มพลังกำลัง บำรุงกำลัง ระวัง  
 ความเสื่อมของร่างกายและจิตใจ ตลอดจนเสริม  
 สมรรถภาพทางเพศ พืชที่มีฤทธิ์ต้านทานความ  
 เหนื่อยล้าที่รู้จักกันดีนับแต่อดีตกาล ได้แก่พืชใน  
 สกุลโสมเกาหลี ซึ่งเป็นธุรกิจพันล้านในปัจจุบัน

แต่โสมเกาหลีเป็นพืชที่เพาะปลูกได้ยาก เจริญ  
 เติบโตช้า ยิ่งไปกว่านั้น โสมเกาหลีที่ถือว่ามี  
 คุณภาพดี ต้องเป็นโสมเกาหลีที่ขึ้นเองตาม  
 ธรรมชาติ ซึ่งนับวันยิ่งหายาก กระจายดำซึ่งเป็น  
 พืชที่สามารถเพาะปลูกได้โดยง่าย และได้รับการ

กล่าวอ้างสรรพคุณสืบทอดกันมาว่ามีสรรพคุณ บำรุงร่างกายและสามารถเพิ่มสมรรถภาพทาง เพศได้จึงได้รับความสนใจทั้งจากมุมมองทาง สุขภาพและมุมมองทางธุรกิจ

คณะผู้วิจัยขอเสนอแนวทางการวิจัยโดย เฉพาะด้านเภสัชวิทยาของสมุนไพรร และ ผลิตภัณฑ์แปรรูปจากสมุนไพรรชษายดำที่ควร ดำเนินการต่อไป โดยมีข้อคิดเห็น 5 ประการ ดังนี้

1. การใช้สมุนไพรรชษายดำเพื่อ ต้องการฤทธิ์ต้านทานความเหนียวล้า ต้องไม่ใช้ วิธีการสกัดที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย ดังนั้นการ ทำเป็นผงบรรจุในถุง (sachet) สำหรับชงน้ำร้อน ดื่มจึงไม่ควรทำอย่างยั้ง (การแพทย์พื้นบ้านของ ชาวเขาเผ่าม้งได้แนะนำให้ใช้วิธีการดองสุรา)

2. เนื่องจากสารที่ออกฤทธิ์ต้านทาน ความเหนียวล้าเป็นสารในกลุ่ม terpene ซึ่ง สลายตัวได้ง่าย โดยเฉพาะอย่างยิ่ง สารที่มี โมเลกุลขนาดเล็ก (sesquiterpenes) ยังอาจ ระเหยไปได้อีกด้วย ดังนั้นในการเตรียมสารสกัด ต้องไม่ใช้ความร้อนสูงเกินไป

3. การเตรียมสารสกัดมาตรฐาน (standardized extract) สำหรับเป็นผลิตภัณฑ์ เชิงพาณิชย์สามารถทำได้โดยการเตรียมสารสกัด หยาบด้วยตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว (non-polar solvent) และระบุถึงปริมาณรวมของ สารประกอบ terpene ที่มีอยู่ต่อหน่วยน้ำหนัก ของสารสกัดหยาบนั้น

4. ในกรณีที่เกิดเป็นผลิตภัณฑ์เชิง

พาณิชย์ ควรมีการทดสอบความเป็นพิษแบบ เรื้อรัง (chronic toxicity test) หรืออย่างน้อยก็ ต้องทดสอบความเป็นพิษแบบกึ่งเฉียบพลัน (sub-acute toxicity test) และควรศึกษา เปรียบเทียบกับสมุนไพรร หรือผลิตภัณฑ์จากสมุน ไพรรชนิดอื่นที่กล่าวอ้างว่ามีฤทธิ์ต้านทานความ เหนียวล้าเช่นเดียวกัน ซึ่งมีอยู่หลายชนิดในท้อง ตลาด ทั้งในแง่ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา และความ คุ่มค่าทางเศรษฐศาสตร์

5. ควรมีการขยายผลการวิจัยนี้ โดย ทำการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาต่างๆทั้งทาง กว้างและทางลึกของส่วนสกัดที่ได้แยกมาแล้ว จากการศึกษาครั้งนี้ เพื่อค้นหาศักยภาพที่ดีที่สุด ของกระชษายดำในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เชิง พาณิชย โดยเน้นสรรพคุณของเหง้ากระชษายดำที่ ทำให้กระชษายดำได้รับความนิยมอย่างสูงจากผู้ บริโภคในปัจจุบันทั้งสองสรรพคุณ คือสรรพคุณ บำรุงกำลังที่ได้รับการขนานนามว่าเป็นโสมไทย (ฤทธิ์ต้านทานความเหนียวล้าและต้านความเครียด) และฤทธิ์เพิ่มสมรรถภาพทางเพศของบรุษที่ได้รับ การขนานนามว่าเป็นสมุนไพรรไทยสู่วิโอะเกร้า

### สรุปผลการทดลอง

1. การทดสอบฤทธิ์ต้านความเหนียวล้า ของเหง้ากระชษายดำ โดยวิธีการบังคับหนุทดลอง ถีบจักรว่ายนน้ำ สารสกัดเฮกเซนกระชษายดำ สามารถออกฤทธิ์ทำให้หนุใช้เวลาว่ายนน้ำมากขึ้น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เช่นเดียวกับผงรากโสม เกาหลี และมีฤทธิ์ต้านความเครียดแบบ

เฉียบพลัน สารสกัดดังกล่าวจัดได้ว่าปลอดภัย เมื่อได้รับโดยการบริโภคทางปาก และมีค่าที่ทำให้หนูถีบจักรตาย 50% ( $LD_{50}$ ) มากกว่า 2,000 มก./กก.

2. เมื่อแยกและทดสอบฤทธิ์ด้านความเหนียวล้าของส่วนสกัดจากสารสกัดเฮกเซน พบว่าส่วนสกัดในสารสกัดเฮกเซนที่มีสารกลุ่มเทอร์พินอยด์เป็นองค์ประกอบหลักสามารถแสดงฤทธิ์ต้านทานความเหนียวล้าได้ ซึ่งไม่เกิดความเป็นพิษต่ออวัยวะของหนูถีบจักรแต่อย่างใด

### คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ รศ. ดร. ดวงตา กาญจนโพธิ์ หัวหน้าห้องปฏิบัติการผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ สถาบันวิจัยจุฬาภรณ์ ศูนย์วิจัยของมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่กรุณาให้ความอนุเคราะห์ในการใช้เครื่องมือ อุปกรณ์และสถานที่ในการทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยากับสัตว์ทดลอง และขอขอบคุณสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ที่กรุณาให้การสนับสนุนทุนวิจัยในครั้งนี้ ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของโครงการวิจัยศึกษาสารออกฤทธิ์ด้านความเหนียวล้าของเหง้ากระชายดำ เพื่อการคัดเลือกพันธุ์เชิงพาณิชย์ งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงได้ดี

### เอกสารอ้างอิง

ทรงพล ชีวะพัฒน์ ญัตตรา จันทรสุวานิชย์  
ปราณี ขวลิตธำรง เอมมนัส อัตตวิชัย  
ทรงพล ผดุงพัฒน์ สมเกียรติ ปัญญามัง

และกัมมาล กุมาร ปาวา. 2547. การศึกษาความเป็นเฉียบพลันและพิษเรื้อรังของผงกระชายดำ. *ว.การแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก* 2 (2): 3-16 .

นิรนาม. 2544. *ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย*. เต็ม สมิตินันท์ ส่วนพฤกษศาสตร์ป่าไม้ สำนักวิชาการป่าไม้ พิมพ์ครั้งที่ 2 บริษัทประชาชน จำกัด กรุงเทพฯ. 810 หน้า.

เสริมสกุล พจนการุณ และเชวง แก้ววัรกิจ. 2546. ทศนคติ พฤติกรรมการบริโภคและปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเลือกซื้อผลิตภัณฑ์สมุนไพรกระชายดำของผู้บริโภค: กรณีศึกษา อ.ภูเรือ จ.เลย. หน้า 653-669. ใน: *การสัมมนาวิชาการเกษตรประจำปี 2546* มหาวิทยาลัยขอนแก่น วันที่ 27-28 มกราคม 2546 จ.ขอนแก่น.

เสริมสกุล พจนการุณ และไชยยง รุจจนเวท. 2547ก. ความสัมพันธ์ระหว่างสีของเนื้อเหง้ากระชายดำกับฤทธิ์ต้านการเกิดอนุมูลอิสระ. *ว.วิทยาศาสตร์ มข.* 32 (4) : 270-277.

เสริมสกุล พจนการุณ และไชยยง รุจจนเวท. 2547ข. ผลของเหง้ากระชายดำที่มีสีเนื้อในเหง้าแตกต่างกันต่อฤทธิ์ต้านการสร้างแผลในกระเพาะอาหาร. หน้า 136-144. ใน : *การสัมมนาวิชาการเกษตรแห่งชาติประจำปี 2547* ภาคโปสเตอร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น วันที่ 26-27 มกราคม 2547 จ.ขอนแก่น.

เสริมสกุล พจนการุณ และไชยยง รุจจนเวท.

2549. ผลของเหง้ากระชายดำที่มีสีเนื้อในเหง้าแตกต่างกันต่อฤทธิ์ด้านความเหนียวล้า. *ว.แก่นเกษตร* 34 (4): 286-296.
- โสภิต ธรรมอารี สุกัทรพร เทพมงคล และวีระเทพสุเมธานนท์. 2549ก. *ฤทธิ์ของสารสกัดกราวเครือแดง กระชายและกระชายดำต่อการไหลเวียนเลือดในอวัยวะเพศผู้สุนัข*. โครงการถ่ายทอดเทคโนโลยีหรือผลการวิจัยสู่กลุ่มเป้าหมาย เรื่องการศึกษาระยะก่อนคลินิกด้านประสิทธิภาพและความปลอดภัยของสมุนไพรกราวเครือแดง กระชายและกระชายดำ เพื่อพัฒนาเป็นยาขยายหลอดเลือดใช้รักษาอวัยวะเพศชายไม่ทำงาน ณ ห้องประชุม M10/1-3 อาคาร อ.ป.ร. คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 26 หน้า.
- โสภิต ธรรมอารี กมลศรี สายพันธ์ วัชรพร ริกากรณ์ และกรรณก อิงคินันท์. 2549ข. *ฤทธิ์ของสารสกัดกระชายดำต่อกล้ามเนื้อเรียบอวัยวะเพศผู้ที่แยกจากกายหนูขาว*. โครงการถ่ายทอดเทคโนโลยีหรือผลการวิจัยสู่กลุ่มเป้าหมาย เรื่องการศึกษาระยะก่อนคลินิกด้านประสิทธิภาพและความปลอดภัยของสมุนไพรกราวเครือแดง กระชายและกระชายดำ เพื่อพัฒนาเป็นยาขยายหลอดเลือดใช้รักษาอวัยวะเพศชายไม่ทำงาน ณ ห้องประชุม M10/1-3 อาคาร อ.ป.ร. คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- 23 หน้า.
- โสภิต ธรรมอารี อรรวรรณ ไคว้ และกรรณก อิงคินันท์. 2549ค. *ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสกัดกราวเครือแดง กระชายและกระชายดำต่อ phosphodiesterase activity ของพิษงู*. โครงการถ่ายทอดเทคโนโลยีหรือผลการวิจัยสู่กลุ่มเป้าหมาย เรื่องการศึกษาระยะก่อนคลินิกด้านประสิทธิภาพและความปลอดภัยของสมุนไพรกราวเครือแดง กระชาย และกระชายดำ เพื่อพัฒนาเป็นยาขยายหลอดเลือดใช้รักษาอวัยวะเพศชายไม่ทำงาน ณ ห้องประชุม M10/1-3 อาคาร อ.ป.ร. คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 25 หน้า.
- โสภิต ทุมลา. 2545. *ไวน์สมุนไพร...อาชีพเสริมทำเงิน พ่อพิมพ์-แม่พิมพ์เมืองสองแคว. เทคโนโลยีชาวบ้าน* 14(293): 40-41.
- อารียา กาแก้ว. 2548. *ผลของชากระชายดำ (Kaempferia parviflora Wall. ex Baker) ต่ออวัยวะสืบพันธุ์และความหนาแน่นของอสุจิของหนูขาว*. ปัญหาพิเศษ วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่. 39 หน้า.
- Anon. 1998. *OECD Series on Principles of Good Laboratory Practice and Compliance Monitoring Number 1: OECD Principles on Good Laboratory Practice ENV/MC/*



- CHEM(98)17. Available: [http://www.oecd.org/document/63/0,3343,en\\_2649\\_34381\\_2346175\\_\\_1\\_\\_1\\_\\_1\\_\\_1,00.html](http://www.oecd.org/document/63/0,3343,en_2649_34381_2346175__1__1__1__1,00.html), 6/9/2009.
- Bhattacharya, S., K. Bhattacharya, A. Bhattacharya and A. Chakraborty, 2000. Adaptogenic activity of siotone, a poly herbal formulation of ayurvedic rasayans. *Indian J. of Experimental Biol.* 38: 119.
- Bhattacharya, S.K., and A.V. Muruganandam. 2003. Adaptogenic activity of *Withania somnifera*: an experimental study using a rat model of chronic stress. *Pharmacology Biochem. and Behaviour* 75( 3): 547-555.
- Coleman C.I., J.H. Hebert and P. P. Reddy 2003. The effects of *Panax ginseng* on quality of life. *J. of Clinical Pharmacy & Therapeutics* 28 (1): 5-15.
- Harborne, J. B. 1973. Phenolic compounds. Pages 33–88. In: *Phytochemical Methods* J. B. Harborne (ed.), Chapman and Hall, London.
- Kannur, D.M., V.I. Hukkeri and K.S. Akki. 2006. Adaptogenic activity of *Caesalpinia bonduc* seed extracts in rats. *J. of Ethnopharmacology* 108 ( 3): 327-331.
- Patanasethanont, D., J. Nagai, R. Yumoto, T. Murakami, K. Sutthanut, B. Sripanidkulchai, C. Yenjai and M. Takano. 2006. Effects of *Kaempferia parviflora* extracts on their flavone constituents on P-glycoprotein function. *J. of Pharmaceutical Sci.* 96 (1): 223-233.
- Porsolt, R.D. 1977. Depression: a new model sensitive to antidepressant treatment. *Nature* 266: 327–336.
- Rai, D., G. Bhatia, G. Palit, R. Pal, S. Singh. and H.M. Singh. 2003. Adaptogenic effect of *Bacopa monniera* (Brahmi). *Pharmacology Biochemistry and Behaviour* 75 (4): 823-830.
- Rujjanawate, C., D. Kanjanapothi, D. Amomlerdpison, and S. Pojanagaroon. 2004. Antigastric Ulcer Effect of *Kaempferia parviflora*. *J. of Ethnopharmacology* 102 : 120-122.
- Saggu, S., H.M. Divekar, R.C. Sawhney, V. Gupta, P.K. Banerjee, and R. Kumar, 2007. Adaptogenic and toxicity evaluation of Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) leaf extract: a dose dependent

- study. *Food Chem. Toxicology* 45 (4): 609-617.
- Singh, B., B.K. Chandan, N. Sharma, S. Singh, A. Khajuria and D.K. Gupta, 2005. Adaptogenic activity of glyco-peptido-lipid fraction from the alcoholic extract of *Trichopus zeylanicus* Gaerten (part II). *Phytomedicine* 12 (6-7): 468-481.
- Siripurapu, K.B., P. Gupta, G. Bhatia, R. Maurya, C. Nath and G. Palit 2005. Adaptogenic and anti-amnesic properties of *Evolvulus alsinoides* in rodents. *Pharmacology Biochem. and Behaviour* 81 (3): 424-432.
- Sudwan. P and K. Saenphet. 2007. Effect of *Kaempferia parviflora* Wall. ex Baker on reproductive organs, seminiferous tubules and testosterone level in male rats Page 29. In: *International Workshops on Medicinal and Aromatic Plants*, 15-18 January 2007, Lotus Pang Suan Kaew Hotel. Chiang Mai, Thailand.
- Takagi, T., Y. Kasuya and K. Watanabe. 1963. Studies on the drug for peptic ulcer. A reliable method for producing stress ulcer in rats. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* 12: 465-472.
- Trakoontivakorn G., K. Nakahara, H. Shinmoto, M. Takenaka, M. Onishi-Kameyama, H. Ono, M. Yoshida, T. Nagata and T. Tsushida. 2001. Structural analysis of a novel antimutagenic Compound, 4-hydroxypanductatib A, and the antimutagenic activity of flavonoids in a Thai spice, fingerroot (*Boesenbergia pandurata* Schult). against mutagenic heterocyclic amines. *J. Agric. Food Chem.* 49:3046-3050.
- Trease G.E. and W.C. Evans.1989. *Pharmacognosy*. Brailliar Trindel Can. Macmillan Publishers, 11<sup>th</sup> Edition, London. 401 p.
- Tuchinda P., V. Reutrakul, P. Claeson, U. Pongprayoon, T. Sematong, T. Santisuk and CW. Taylor. 2002. Anti-inflammantory cyclohexenyl chalcone derivatives in *Boesenbergia pandurata*. *Phytochem.* 59:169-173.
- Ushijima, M., I. Sumioka, M. Kakimoto, K. Yokoyama, N. Uda. H. Matsuura, E. Kyo, A. Suzuki, S. Kasuga, Y. Itakura, B.L. Petesch and H. Amagase. 1997. Effect of garlic and garlic preparations on physiological

- and psychological stress in mice.  
*Phytother. Res.* 11:226-230.
- Yenjai C., K. Prasanphan, S. Daodee, V. Wongpanich and P. Kittikoop. 2004. Bioactive flavonoids from *Kaempferia parviflora*. *Fitoterapia* 57 (1): 89-92.
- Yenjai C., Y. Sumanont, S. Daodee, N. Siriratpiboon and K. Prasanphen. 2002. Antilipid peroxidation activity of flavonoids from *Kaempferia parviflora*. Page 44. In: *3<sup>rd</sup> Symposium on the Family Zingiberaceae*. 7-12 July, 2002, Khon Kaen, Thailand.