



# รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ ผลของกาวเครือแดงต่อการแข็งตัวขององคชาตในหนูแรทที่เป็น  
โรคเบาหวาน

โดย ผศ.ดร.ชัยณรงค์ โตจรัส และคณะ

สิงหาคม 2553

# รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ ผลของกาวเครือแดงต่อการแข็งตัวขององคชาติในหนูแรทที่เป็นโรคเบาหวาน

คณะผู้วิจัย

สังกัด

ผศ.ดร.ชัยณรงค์ โตจรัส

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

รศ.ดร.อมร เพชรสม

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สนับสนุนโดยสำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกอ. และ สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

## Abstract

---

**Project Code :** MRG 5080353

**Project Title :** Effects of *Butea superba* (Roxb.) on penile erection in diabetic rats

**Investigator :** Asst. Prof. Dr.Chainarong Tocharus

Chiang Mai University

**E-mail Address :** [chainarongt@hotmail.com](mailto:chainarongt@hotmail.com), [ctocharu@mail.med.cmu.ac.th](mailto:ctocharu@mail.med.cmu.ac.th)

**Project Period :** 2 year

We investigate the effect of ethanolic extract of *Butea superba* (Roxb.) on erectile dysfunction in diabetic rats by measurement of intracavernous pressure (ICP) and on cavernosal smooth muscle relaxation. Male Sprague-Dawley rats were induced to become diabetic by a single intravenous injection of Streptozotocin; STZ (55 mg/kg body weight; BW). The ethanolic extract at the concentration of 1, 10 and 100 mg/kg BW were administered orally once a day to diabetic rats in each group for 4 weeks. Diabetic rats showed a significant decreased both ICP and the relaxation of the cavernosal smooth muscle compared to the normal rats. The extract of *B. superba* significantly increased the ICP with the effective dose of 10 mg/kg BW (61.00 ±11.11 mmHg vs 39.61± 11.01 mmHg in diabetic control group). Moreover, *B. superba* treated group also enhanced the relaxation of cavernosal smooth muscle with the EC<sub>50</sub> 1.17 mg/ml. Moreover, immunohistochemistry and computerized image analysis were performed to quantify the percent area within the corpora cavernosa occupied by the endothelial cells, smooth muscle cells and fibrotic tissue. Diabetic rats showed a significant decrease in smooth muscle and endothelial cell content, and an increase in the TGF-β<sub>1</sub> expression level compared to the normal rats. In treated rats, *B. superba* increased smooth muscle and endothelial cell and decreased TGF-β<sub>1</sub> expression level compared to the diabetic rats.

These results suggest that the extract of *B. superba* enhanced penile erection in diabetic rats by increasing the ICP that might be explained by increasing in blood flow as a result of relaxing cavernous smooth muscle, and provides a rationale for the use of the extract as treatment of diabetic ED.

**Keywords:** *Butea superba* Roxb., diabetic mellitus, erectile dysfunction, intracavernous pressure

## บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : MRG 5080353

ชื่อโครงการ ผลของกาวเครือแดงต่อการแข็งตัวขององคชาตในหนูแรทที่เป็นโรคเบาหวาน

ชื่อนักวิจัย ผศ.ดร.ชัยณรงค์ โตจรัส

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

E-mail Address : [chainarongt@hotmail.com](mailto:chainarongt@hotmail.com), [ctocharu@mail.med.cmu.ac.th](mailto:ctocharu@mail.med.cmu.ac.th)

ระยะเวลาโครงการ 2 ปี

การศึกษานี้ทำการศึกษาผลของสารสกัดกาวเครือแดงที่สกัดได้จากเอธานอล ต่อการแข็งตัวขององคชาตในหนูที่เป็นเบาหวาน โดยทำการวัดค่าแรงดันแกนองคชาต ศึกษาการคลายตัวของกล้ามเนื้อแกนองคชาต และศึกษาดูปริมาณของ endothelial, กล้ามเนื้อเรียบ และการแสดงออกของ TGF- $\beta$ 1 ในแกนองคชาต โดยทำการทดลองในหนูแรท เพศผู้สายพันธุ์ Sprague-Dawley ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะเบาหวานโดยการฉีดสาร streptozotocin ที่ความเข้มข้น 55 มกต่อกก น้ำหนักตัว จากนั้นทำการป้อนสารสกัดกาวเครือแดงที่ความเข้มข้น 1, 10 และ 100 มก ต่อ กก น้ำหนักตัว ทางปากติดต่อกันทุกวันเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ส่วนหนูกลุ่มควบคุมได้รับการป้อนน้ำกลั่น เป็นเวลา 1 สัปดาห์ จากนั้นนำหนูที่ได้มาทำการวัดค่าความดันในแกนองคชาต, การคลายตัวของกล้ามเนื้อแกนองคชาตโดยเปรียบเทียบกับค่า EC<sub>50</sub> นอกจากนั้นศึกษาดูปริมาณของ endothelial, กล้ามเนื้อเรียบ และการแสดงออกของ TGF- $\beta$ 1 โดยเทคนิค immunohistochemistry ผลการศึกษา: พบว่าสารสกัดกาวเครือแดงมีฤทธิ์ในการเพิ่มแรงดันในแกนองคชาตในหนูที่เป็นเบาหวานได้ โดยพบว่าที่ความเข้มข้น 10 มก ต่อ กก น้ำหนักตัว จะให้ค่าที่ดีที่สุด คือมีค่า แรงดันแกนองคชาตเท่ากับ  $61.00 \pm 11.00$  มมปรอท เทียบกับหนูควบคุมที่เป็นเบาหวานมีค่าแรงดันเท่ากับ  $39.61 \pm 11.01$  มมปรอท นอกจากนี้พบว่าสารสกัดกาวเครือแดงยังมีฤทธิ์ในการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบแกนองคชาตที่ความเข้มข้น 10 มก ต่อ กก น้ำหนักตัว จะให้ค่าที่ดีที่สุด โดยมีค่า EC<sub>50</sub> เท่ากับ 1.17 mg/ml ในขณะที่หนูกลุ่มควบคุมเบาหวาน มีค่า EC<sub>50</sub> เท่ากับ 2.32 mg/ml เมื่อทำการเปรียบเทียบกับ สาร 3-isobutyl-1-methyl-xanthine (IBMX) ซึ่งเป็น ตัวยับยั้งของเอนไซม์ phosphodiesterase พบว่าค่าการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบในหนูควบคุมเบาหวานมีค่า EC<sub>50</sub> เท่ากับ  $7.45 \times 10^{-6}$  M และ หนูเบาหวานที่ได้รับสารสกัดกาวเครือแดง 10 มก ต่อ กก น้ำหนักตัว มีค่า EC<sub>50</sub> เท่ากับ  $1.85 \times 10^{-6}$  M นอกจากนี้ในหนูเบาหวานกลุ่มควบคุมมีการลดลงของกล้ามเนื้อเรียบและ endothelial cell และมีการเพิ่มขึ้นของ TGF- $\beta$ 1 ในแกนองคชาต ส่วนในหนูเบาหวานที่ได้รับกาวเครือแดงที่ความเข้มข้น 10 มก ต่อ กก น้ำหนักตัว สามารถ

เพิ่มขึ้นของกล้ามเนื้อเรียบ และ endothelial cell และ มีการลดลงของ TGF- $\beta$ 1 ในแกนองคชาติ จากผลการศึกษาพบว่าสารสกัดกวาวเครือแดงที่ความเข้มข้น 10 มก ต่อ กก น้ำหนักตัว โดยไปมีผลเพิ่มแรงดันแกนองคชาติ ในหนูเบาหวานที่ได้รับสารสกัดกวาวเครือแดงได้ถึง  $61.00 \pm 11.11$  mmHg ในขณะที่หนูเบาหวานควบคุม มีแรงดันองคชาติเพียง  $39.61 \pm 11.01$  mmHg และเพิ่มการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบโดยมีค่า  $EC_{50}$  เท่ากับ 1.17 มก/มล โดยไปมีผลต่อการเพิ่ม blood flow นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดกวาวเครือแดงยังไปมีผลเพิ่มกล้ามเนื้อเรียบในแกนองคชาติ และในหลอดเลือด และลดจำนวน fibrosis ในเซลล์กล้ามเนื้อที่จะไปมีผลทำให้เกิดการแข็งตัวได้น้อยลง จากผลการทดลองที่ได้พบว่าสารสกัดกวาวเครือแดงมีฤทธิ์ในการป้องกันการเกิดภาวะเสื่อมสมรรถภาพทางเพศในหนูเบาหวานได้โดยสามารถเพิ่มแรงดันในแกนองคชาติ และเกิดการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบในแกนองคชาติ และป้องกันการทำลายของกล้ามเนื้อเรียบและหลอดเลือดในแกนองคชาติ ซึ่งจะไปมีผลทำให้ลดการเสื่อมสมรรถภาพทางเพศในหนูเบาหวานได้ จึงเป็นที่น่าสนใจที่จะศึกษาสารสกัดกวาวเครือแดงต่อไปในคนที่ เป็นโรคเบาหวานและมีปัญหาการเสื่อมสมรรถภาพทางเพศ

**คำหลัก :** กวาวเครือแดง, เบาหวาน, การเสื่อมสมรรถภาพทางเพศ, แรงดันแกนองคชาติ

## บทนำ

ปัจจุบันปัญหาเรื่องความบกพร่องในการแข็งตัวขององคชาต (Erectile dysfunction : ED) เพิ่มขึ้น ความบกพร่องของการแข็งตัวขององคชาต หรือการที่อวัยวะเพศไม่แข็งตัวได้เพียงพอที่จะทำการกิจจนประสบผลสำเร็จ ซึ่งเป็นปัญหาที่ได้รับความสนใจกันอย่างกว้างขวางทั้งในหมู่ประชาชนทั่วไปและในวงการแพทย์ และเป็นปัญหาที่พบได้ทั่วไปในชายทั่วโลก ปัญหาความบกพร่องของการแข็งตัวขององคชาตไม่ได้เป็นปัญหาเฉพาะตัวบุคคลเท่านั้น แต่มีผลกระทบต่อครอบครัวและมีผลกระทบต่อสังคมอีกด้วย นอกจากนี้ยังพบว่าปัญหานี้มักพบมากในกลุ่มคนที่เป็นโรคเบาหวานร่วมด้วย (Metro and Broderick, 1999) จากการศึกษาทางระบาดวิทยาพบว่าโรคความบกพร่องของการแข็งตัวขององคชาตในคนที่เป็นโรคเบาหวานร่วมด้วยจะสูงมากกว่าในคนปกติ พบว่า 75% ของคนที่เป็นเบาหวานจะพบโรคหย่อนสมรรถภาพทางเพศ และมากกว่า 50% ของคนที่เป็นเบาหวานนาน 10 ปี จะมีการพัฒนาของโรคหย่อนสมรรถภาพทางเพศเพิ่มมากขึ้น (Vinik and Richardson., 1998) จากรายงานการวิจัยทางพยาธิสภาพของโรคหย่อนสมรรถภาพทางเพศ พบว่ามีการลดลงของ กล้ามเนื้อเรียบในแกนองคชาต และ endothelial cells และมีการเพิ่มขึ้นของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน และในหนูแรทที่เป็นโรคเบาหวานจะพบว่า ความหนาแน่นของกล้ามเนื้อเรียบในแกนองคชาตและ endothelial cells ลดลงด้วยเช่นกัน (Mersdorf et al., 1991)

ปัจจุบันได้มีการรักษาผู้ป่วยกลุ่มนี้โดยใช้ยาฉีดเข้าที่องคชาต, การใช้กระบอกสุญญากาศ, การผ่าตัดโดยใช้แกนองคชาตเทียม และการรักษาด้วยการใช้ยาสอดเข้าที่ท่อปัสสาวะ ยาที่ใช้ นั่นก็คือ intraurethral alprostadil หรือ MUSE<sup>®</sup> (Medicated Urethral System for Erection) ผลข้างเคียงคือจะพบอาการเจ็บระคายเคืองภายในท่อปัสสาวะ, การอักเสบของท่อปัสสาวะ นอกจากนี้ที่ได้รับความนิยมคือการใช้ยารับประทาน เช่น ยาที่อยู่ในกลุ่ม PDE-5 inhibitor ได้แก่ Sildenafil, Verdenafil, Tadalafil ซึ่งยาในกลุ่มนี้จะทำให้เกิดอาการข้างเคียง คือ หน้าแดง, ปวดศีรษะ, คัดจมูก, อาหารไม่ย่อย, ตาพร่า

นอกจากนี้ยังมีการใช้ยาในกลุ่มของ phosphodiesterase 5 (PDE5) inhibitors แก่คนที่เป็นโรคความบกพร่องของการแข็งตัวขององคชาตและมีโรคเบาหวานร่วมด้วย แต่ผลของการใช้ยาที่ได้ ไม่ดีเท่ากับกลุ่มผู้ป่วยที่เป็นโรคความบกพร่องของการแข็งตัวขององคชาตเพียงอย่างเดียวไม่ได้ ที่จะตอบสนองต่อยาได้ดีกว่า (Rendel et al., 1999 and Saens et al., 2002) ซึ่งยาที่รักษาโรคนี้ต้องนำเข้าจากต่างประเทศในราคาแพงทำให้ประเทศไทยเราเสียดุลการค้ากับต่างประเทศจำนวนมากต่อปี ดังนั้นการวิจัยในเมืองไทยก็ได้มีการวิจัยโดยใช้สมุนไพรไทยเป็นการรักษาทางเลือกใหม่อีกทางหนึ่ง

จากการศึกษาที่ผ่านมาได้มีการนำพืชสมุนไพรไทยคือ กวาวเครือแดงมาใช้ในการรักษาโรคความบกพร่องของการแข็งตัวขององคชาต พบว่า สารสกัดกวาวเครือแดงสามารถกระตุ้นให้เกิดการแข็งตัวขององคชาตเพิ่มขึ้นและมีผลต่อการขยายตัวของกล้ามเนื้อเรียบในองคชาตในหนูแรทเพิ่มขึ้นด้วย (Tocharus et al., 2006) ผลของกวาวเครือแดงยังสามารถเพิ่มอัตราการเคลื่อนไหวของเซลล์อสุจิ และเพิ่มจำนวนเซลล์อสุจิในหนู แรท และหนูเม้าท์ด้วย (Tocharus et al., 2005) ซึ่งปัจจัยที่กล่าวมาไปมีผลต่อการเพิ่มอัตราการปฏิสนธิของเซลล์ไข่กับเซลล์อสุจิในหนูแฮมสเตอร์ (Tocharus et al., in press) และขนาดที่ใช้ในการรักษาก็ไม่ก่อให้เกิดพยาธิสภาพทั้งทางเคมีคลินิกและทางจุลกายวิภาคศาสตร์คลินิก (Tocharus et al., in press) จากที่กล่าวมา กวาวเครือแดง สมุนไพรไทยน่าจะมีศักยภาพในการรักษาโรคความบกพร่องของการแข็งตัวขององคชาต และน่าที่จะทำการศึกษาระดับสูงต่อไป

ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้ เป็นการศึกษาฤทธิ์ของกวาวเครือแดงต่อความสามารถในการรักษาโรคความบกพร่องของการแข็งตัวขององคชาตในหนูแรทที่เป็นเบาหวาน รวมทั้งศึกษาดูกลไกการทำงานของสารสกัดกวาวเครือแดงในการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบในแกนองคชาต รวมทั้งศึกษาผลต่อความหนาแน่นของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบในแกนองคชาต ซึ่งทั้งหมดถ้าเป็นไปตามสมมุติฐานที่ตั้งเอาไว้ ก็สามารถช่วยผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานและมีอาการของโรคความบกพร่องของการแข็งตัวขององคชาตรวมด้วย และจะได้เป็นแนวทางการพัฒนายาสมุนไพรไทยในชั้นคลินิกต่อไป



## วัตถุประสงค์

1. ศึกษาผลของกาวเครือแดงต่อความดันเลือดในแกนองคชาตในหนูที่เป็นเบาหวาน
2. ศึกษาผลของกาวเครือแดงต่อปริมาณความหนาแน่นของกล้ามเนื้อเรียบในแกนองคชาตในหนูที่เป็นเบาหวาน
3. ศึกษากลไกของกาวเครือแดงต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบในแกนองคชาตในหนูที่เป็นเบาหวาน
4. ศึกษาผลของกาวเครือแดงต่อการแสดงออกของ  $\alpha$  smooth muscle actin ในแกนองคชาตในหนูที่เป็นเบาหวาน

## วิธีการทดลอง

### การขออนุมัติทำวิจัยในสัตว์ทดลอง

เสนอรายละเอียดโครงการวิจัย ผ่านคณะแพทยศาสตร์ ตันสังกัด เพื่อขออนุมัติการทำวิจัยในสัตว์ทดลองจากคณะกรรมการพิจารณางานวิจัยในสัตว์ทดลอง มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

### สัตว์ทดลอง

หนูแรท เพศผู้สายพันธุ์ Sprague-Dawley อายุ 8 สัปดาห์ น้ำหนัก 200-250 กรัม จำนวน 50 ตัวจากสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติสลาบายา มหาวิทยาลัยมหิดล นำมาเลี้ยงที่ห้องควบคุมแสง light-dark cycle เท่ากับ 12:12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ  $24 \pm 1^\circ\text{C}$

### การเหนี่ยวนำให้หนูเป็นเบาหวาน

การเหนี่ยวนำให้หนูเป็นเบาหวานด้วยการให้สาร streptozotocin ที่ความเข้มข้น 55 mg/kg BW เพียงครั้งเดียว โดยการฉีดสารเข้าทางหลอดเลือด (intravenous injection) หลังจากนั้น 1 สัปดาห์ทำการตรวจวัดระดับน้ำตาลในเลือดโดยนำหนูมาทำการเก็บเลือดโดยการตัดหางหนูด้านปลายออกเล็กน้อย แล้วจึงนำเลือดที่ได้มาวัดหาระดับน้ำตาลโดยใช้ glucose test kit จากนั้นทำการคัดเลือกหนูในกลุ่มที่มีระดับน้ำตาลในเลือดสูงตั้งแต่ 300 mg/dl ขึ้นไป จะถูกนำมาใช้ในการทดลองต่อไป

## วิธีการสกัดกาวเครื่อแดง

นำหัวของกาวเครื่อแดงที่ได้หลังจากผ่านการตรวจสอบจากผู้เชี่ยวชาญโดย รศ.ยุทธนา สมิตะสิริ จากมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง จากนั้นนำมาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ แล้วอบแห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 50°C แล้วนำไปบดจนเป็นผงละเอียดแล้วนำไปสกัดด้วยเอทานอล จากนั้นนำสารที่สกัดได้เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20°C จนกว่าจะนำมาใช้

## การได้รับสารสกัดกาวเครื่อแดง

แบ่งหนูทดลองออกเป็น 5 กลุ่ม กลุ่มละ 10 ตัว โดยกลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุม เป็นหนูที่ไม่ได้เป็นเบาหวาน จะได้รับน้ำกลั่นในปริมาตร 0.7 มิลลิลิตร / ตัว / วัน นาน 2 เดือน กลุ่มที่ 2 เป็นหนูที่เป็นเบาหวาน จะได้รับน้ำกลั่นในปริมาตร 0.7 มิลลิลิตร / ตัว / วัน นาน 2 เดือน กลุ่มที่ 3, 4 และ 5 เป็นกลุ่มทดลอง และเป็นหนูที่เป็นเบาหวาน จะได้รับสารสกัดกาวเครื่อแดงในน้ำกลั่นปริมาตร 0.7 มิลลิลิตร / ตัว / วัน ที่ความเข้มข้น 1, 10 และ 100 มิลลิกรัม/ตัว/วัน ตามลำดับ เป็นเวลานาน 2 เดือน โดยวิธีป้อนทางปาก

## เทคนิคทาง Immunohistochemistry เพื่อหา $\alpha$ -actin ของกล้ามเนื้อเรียบในแกนองคชาต

ตัดแยกกล้ามเนื้อเรียบในแกนองคชาตของหนูทุกกลุ่มออกมาแช่ใน 4% พาราฟอร์มัลดีไฮด์ แล้วจึงทำการ embedding เนื้อเยื่อ และทำการตัดเนื้อเยื่อนำไปวางเรียงบนแผ่นสไลด์ แล้วเติมสารละลายที่เป็น blocker สำหรับยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ peroxide ภายในเซลล์ ทำการล้างสไลด์ด้วยสารละลาย phosphate buffer saline (PBS) เป็นเวลา 5 นาที แล้วจึงเติม mouse monoclonal antibody ต่อ  $\alpha$ -actin ลงไปที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเติม second antibody คือ anti-mouse IgG labeled ด้วย biotin ลงไปที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที แล้วเติมสารละลาย avidin phosphatase reagent ลงไปที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที ขั้นตอนสุดท้ายเติมสารละลาย substrate ที่ทำให้เกิดสีคือ Fast red chromogen ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที แล้วจึงนำไปสไลด์ทั้งหมดด้วย hematoxylin

## ผลของกาวาเครือแดงต่อความดันเลือดในแกนองคชาต

### วิธีการผ่าตัด

หลังจากให้กาวาเครือแดงแล้วเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทำการสลบหนูด้วย Pentobarbital sodium (Nembutal<sup>®</sup>, 35 mg/kg) ทางหน้าท้อง จากนั้นทำการเปิดผนังตรงถุงหุ้มอวัยวะให้เห็นส่วนของ corpus cavernosum ใช้เข็มเบอร์ 23 ที่ต่อเข้ากับท่อพลาสติกที่ใส่สารโซเดียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้น 0.9% แล้วผสมด้วยสารเฮปารินที่มีความเข้มข้น 100 ยูนิต / มิลลิลิตร ขณะเดียวกันใช้เข็มเบอร์ 23 สอดเข้าไปใน เส้นเลือด Femoral เพื่อวัดความดันปกติของร่างกาย (Mean arterial pressure; MPP) โดยความดันที่วัดทั้งสองตำแหน่งนี้จะต่อกับเครื่องวัดความดันเลือด (Blood pressure transducer) และต่อเข้ากับเครื่องแปลงสัญญาณ (Mac Lab/8e ADI Instruments, MA) โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ของเครื่อง Macintosh (Mac Lab Software V 4.0, ADI Instruments, MA)

### การกระตุ้นการแข็งตัวของแกนองคชาต

ทำการผ่าตัดผนังหน้าท้องหนูแล้วเปิดให้เห็นเส้นประสาท (Cavernous nerve) ที่ติดกับต่อมลูกหมาก จากนั้นใช้ตะขอตวนำไฟฟ้ามาคล้องเส้นประสาทนี้ไว้ และทำการกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้าที่มีความดัน 5 Volts, ความถี่ 20 Hertz เป็นเวลานาน 20 milliseconds

### การวัดการหดตัวและคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบในแกนองคชาต

นำหนู rat ที่ทำการเหนี่ยวนำให้เกิดเบาหวาน มาทำให้สลบแล้วทำการแยก penis ของหนูออกมา จากนั้นทำการผ่าแยกเอาเฉพาะ เนื้อเยื่อส่วน corpus cavernosum แล้วจึงรึบนำเนื้อเยื่อใส่ไว้ในบัฟเฟอร์ HPSS ที่ประกอบด้วย 140 mM NaCl, 5 mM KCl, 2 mM CaCl<sub>2</sub>, 1 mM MgCl<sub>2</sub>, 5 mM HEPES, 11 mM glucose, pH 7.4 และมี 100% O<sub>2</sub> จากนั้นทำการแขวนชิ้นของเนื้อเยื่อที่ติดกับ probe ที่ติดกับ force transducer ที่ต่อกับเข้ากับเครื่องคอมพิวเตอร์ MacLab สำหรับการอ่านค่าความแรงการหดตัวและคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ โดยเริ่มด้วยการหยดสาร phenylephrine เข้าไปเพื่อให้กล้ามเนื้อเกิดการหดตัว จากนั้นทำการล้างกล้ามเนื้อด้วยบัฟเฟอร์ แล้วจึงหยดสารสกัดกาวาเครือแดงที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน ลงไปเพื่อทดสอบดูการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบในแกนองคชาต โดยทำเปรียบเทียบกับสาร isobutyl-methylxanthine (IBMX) ซึ่งเป็น phosphodiesterase inhibitor เป็นตัวควบคุม

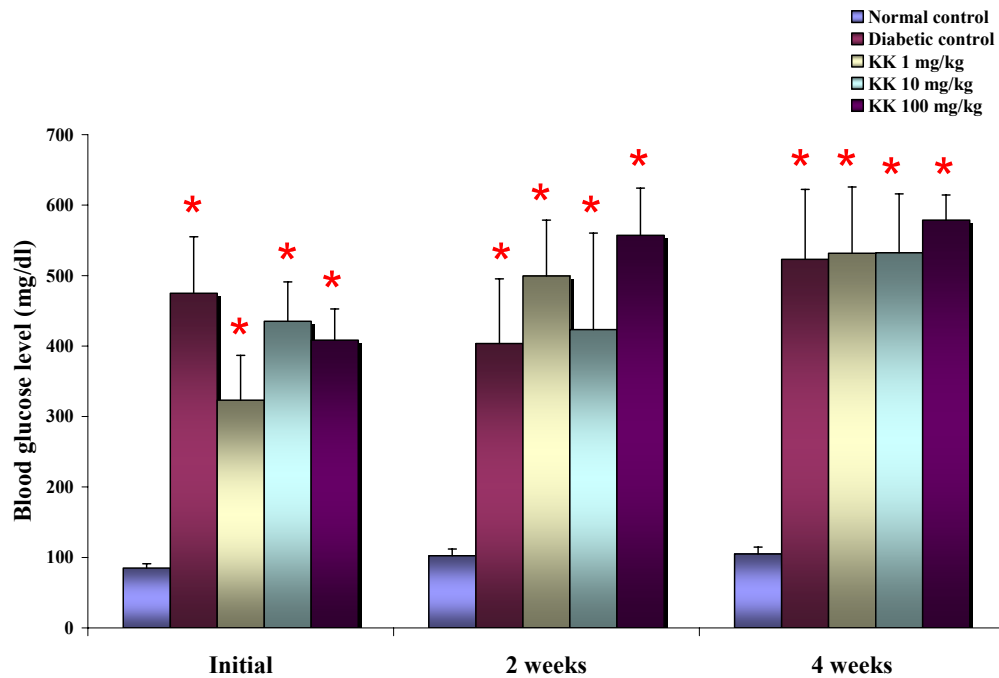
## วิเคราะห์ข้อมูล

การทดลองนี้ทำการวิเคราะห์ข้อมูลที่เปลี่ยนแปลงโดยใช้ one way analysis of variance (ANOVA) และใช้ Duncann test ทดสอบค่าความแตกต่างทางสถิติและค่าระดับความเชื่อมั่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ  $P < 0.05$

## ผลการทดลอง

### 1. ค่าระดับน้ำตาลกลูโคสในกระแสเลือดของหนูที่เหนียวทำให้เป็นเบาหวาน

การเหนียวหนูให้เป็นเบาหวานโดยการฉีดสาร streptozotocin ที่ความเข้มข้น 55 mg/kg BW เพียงครั้งเดียว โดยการฉีดสารเข้าทางหลอดเลือด (intravenous injection) หลังจากนั้น 1 สัปดาห์ทำการตรวจวัดระดับน้ำตาลในเลือด โดยนำหนูมาทำการเก็บเลือดโดยการตัดหางหนูด้านปลายออกเล็กน้อย แล้วจึงนำเลือดที่ได้มาวัดหาระดับน้ำตาล โดยใช้ glucose test kit (Accu-check advantage II glucose test kit, Roche diagnostic Ltd., Switzerland) โดยเริ่มเจาะเลือดหนูเมื่อเริ่มต้นการฉีด streptozotocin และเมื่อเวลา 2 สัปดาห์ และ 4 สัปดาห์ พบว่าหนูหลังจากที่ได้รับ การฉีดด้วย streptozotocin แล้วจะพบว่าหนูทุกตัวจะมีระดับของน้ำตาลในเลือดสูงทุก ๆ กลุ่ม รวมทั้งหนูเบาหวานที่ได้รับสารสกัดกวาวเครือแดง ซึ่งหนูทุกกลุ่มจะมีระดับน้ำตาลในเลือดสูงตั้งแต่ 300 mg/dl ขึ้นไปจะถูกนำมาใช้ในการทดลองต่อไป

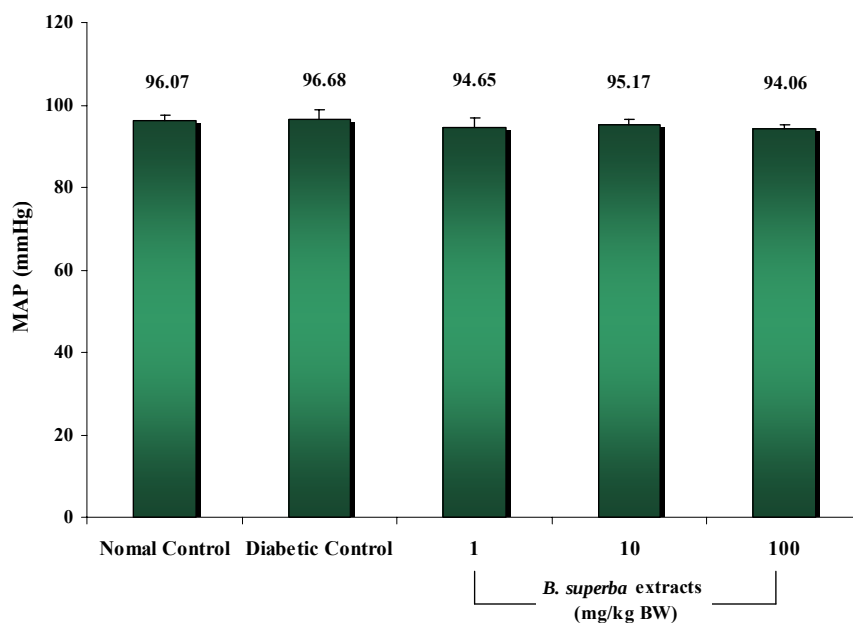


รูปที่ 1 แสดงค่าระดับน้ำตาลกลูโคสในกระแสเลือดของหนูกลุ่มต่างๆ หลังจากถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะเบาหวาน โดยแสดงเป็นค่าเฉลี่ย (mean)  $\pm$  SD, \*P < 0.05 แสดงข้อมูลที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม, KK = สารสกัดกวาวเครือแดง

## 2. ผลของสารสกัดกวาวเครือแดงต่อค่า mean arterial blood pressure (MAP) ในหนูที่ได้รับการ

### เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวาน

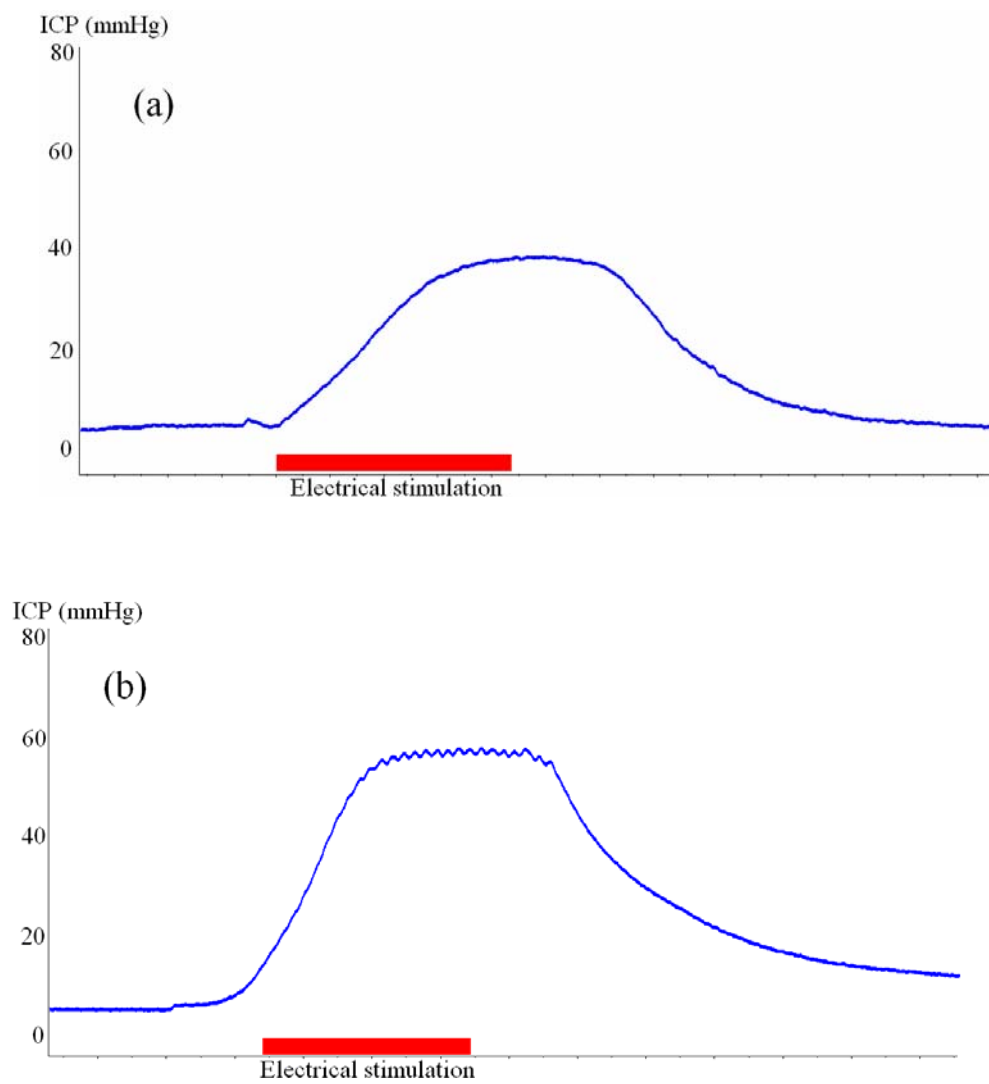
เมื่อให้สารสกัดกวาวเครือแดงแก่หนูติดต่อกันเป็นเวลา 4 สัปดาห์ นำหนูทุกกลุ่มมาวัด MAP พบว่าหนูทุกกลุ่มมีค่า MAP ไม่ต่างจากกลุ่มควบคุม นั้นแสดงว่าภาวะเบาหวานไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่า (MAP)



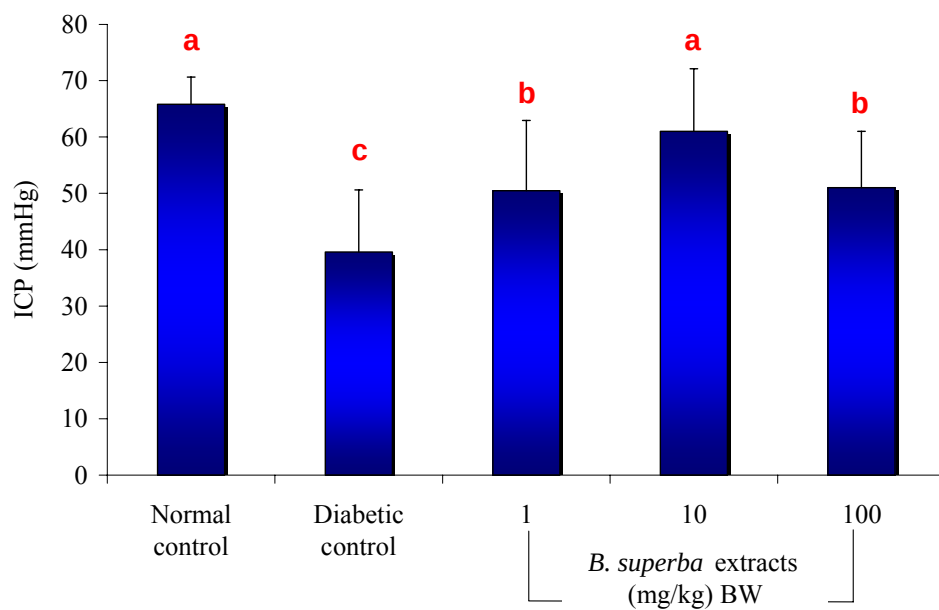
**รูปที่ 2** แสดงผลของสารสกัดกวาวเครือแดงต่อการเปลี่ยนแปลงค่า MAP ในหนูที่ได้รับการเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานเป็นเวลา 4 สัปดาห์ โดยแสดงเป็นค่าเฉลี่ย (mean)  $\pm$  SD, \*P < 0.05 แสดงข้อมูลที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

### 3. การเปลี่ยนแปลงของค่า ICP ของหนูที่เป็นเบาหวานและหนูที่ได้รับสารสกัดกวาวเครือแดงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

เมื่อให้สารกวาวเครือแดงแก่หนูติดต่อกันเป็น เวลา 4 สัปดาห์ นำหนูทุกกลุ่มมาวัด ICP พบว่าหนูในกลุ่มควบคุมเบาหวานที่ได้รับน้ำกลั่น มีค่า ICP ต่ำกว่าหนูควบคุมปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่เมื่อนำหนูที่เป็นเบาหวานมาป้อนด้วยสารสกัดกวาวเครือแดง ที่ความเข้มข้น 1, 10 และ 100 มก ต่อ นนตัว พบว่าค่า ICP สูงขึ้นกว่าหนูควบคุมเบาหวานอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบว่าที่ความเข้มข้น 10 มก ต่อ นนตัว ให้ค่า ICP สูงที่สุด (รูปที่ 3 และ 4)



**รูปที่ 3** รูปแสดงการเปลี่ยนแปลงค่า ICP (a) หนูเบาหวานควบคุม (b) หนูเบาหวานที่ได้รับสารสกัดกวาวเครือแดง 10 mg/kg BW เป็นเวลา 4 สัปดาห์



รูปที่ 4 แสดงผลของสารสกัดกวาวเครือแดงต่อการเปลี่ยนแปลงค่า ICP โดยแสดงเป็นค่าเฉลี่ย (mean)  $\pm$  SD,

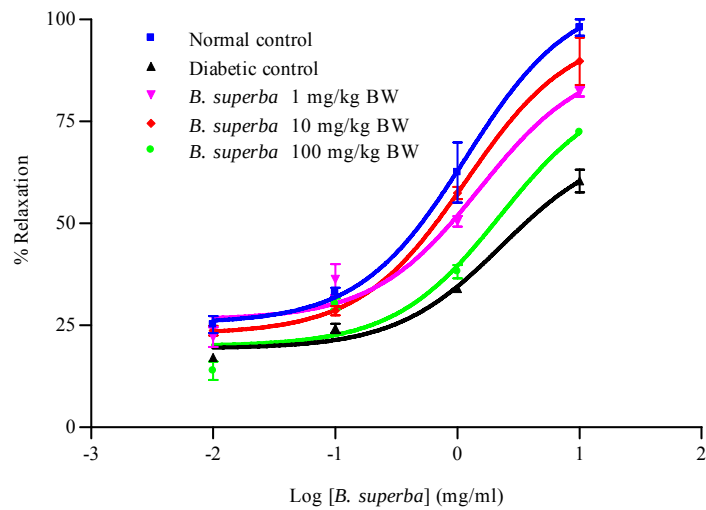
<sup>a,b,c</sup>  $P < 0.05$  แสดงข้อมูลที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมปกติ



#### 4. ผลของสารสกัดกาวเครือแดงต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อแกนองคชาตหนูเบาหวาน

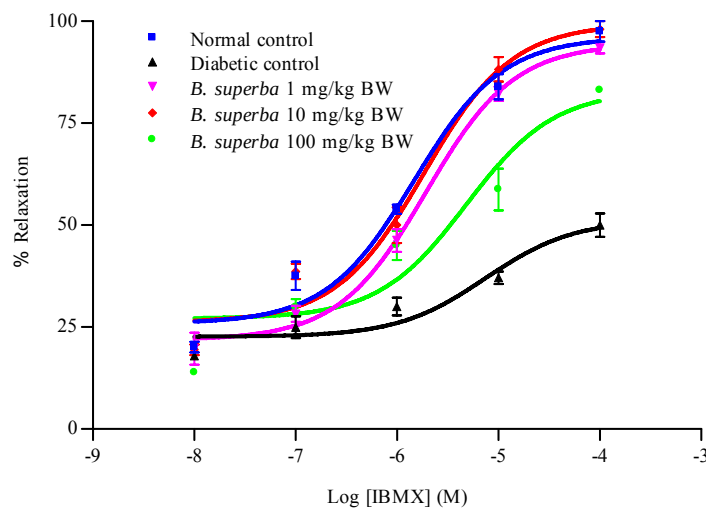
เมื่อให้สารสกัดกาวเครือแดงแก่หนูติดต่อกันเป็น เวลา 4 สัปดาห์ ทำการผ่าแยกเอาเฉพาะเนื้อเยื่อส่วน corpus cavernosum แล้วจึงรึบน้ำเนื้อเยื่อใส่ไว้ในบัฟเฟอร์ HPSS ที่ประกอบด้วย 140 mM NaCl, 5 mM KCl, 2 mM  $\text{CaCl}_2$ , 1 mM  $\text{MgCl}_2$ , 5 mM HEPES, 11 mM glucose, pH 7.4 และมี 100%  $\text{O}_2$  จากนั้นทำการแขวนชิ้นของเนื้อเยื่อที่ติดกับ probe ที่ติดกับ force transducer ที่ต่อกับเข้ากับ เครื่องคอมพิวเตอร์ MacLab สำหรับการอ่านค่าความแรงการหดตัวและคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ โดยเริ่มด้วยการหยดสาร phenylephrine เข้าไปเพื่อให้กล้ามเนื้อเกิดการหดตัว จากนั้นทำการล้างกล้ามเนื้อด้วยบัฟเฟอร์แล้วจึงหยดสารสกัดกาวเครือแดงที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน ลงไปเพื่อทดสอบดูการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบในแกนองคชาต พบว่า เนื้อเยื่อส่วน corpus cavernosum ในหนูกลุ่มเบาหวานควบคุมมีฤทธิ์ในการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบได้น้อยที่สุดเมื่อเทียบกับกลุ่มหนูควบคุมปกติ หรือหนูเบาหวานที่ได้รับสารสกัดกาวเครือแดง และพบว่ากล้ามเนื้อเรียบแกนองคชาตสามารถคลายตัวได้ดีที่สุดเมื่อได้รับสารสกัดกาวเครือแดงที่ความเข้มข้น 10 มก ต่อ นนตัว โดยมีค่า  $\text{EC}_{50}$  1.17 (รูปที่ 5)

จากนั้นทำการเปรียบเทียบฤทธิ์ในการคลายตัวของกล้ามเนื้อ กับสาร isobutyl-methylxanthine (IBMX) ซึ่งเป็น phosphodiesterase inhibitor เป็นตัวเปรียบเทียบ พบว่าในหนูกลุ่มที่เป็นเบาหวานและได้รับสารสกัดกาวเครือแดง เมื่อทำการหยด IBMX จะมีการคลายตัวของกล้ามเนื้อดีกว่าหนูเบาหวานควบคุม ค่า  $\text{EC}_{50}$  ของหนูกลุ่มควบคุมปกติ หนูกลุ่มควบคุมเบาหวาน และหนูเบาหวานที่ได้รับสารสกัดกาวเครือแดงความเข้มข้น 1, 10 และ 100 10 มก ต่อ นนตัว มีค่าเท่ากับ  $1.48 \times 10^{-6}$ ,  $7.45 \times 10^{-6}$ ,  $1.94 \times 10^{-6}$ ,  $1.85 \times 10^{-6}$ ,  $4.91 \times 10^{-6}$  M ตามลำดับ (รูปที่ 6)



รูปที่ 5 ผลของสารสกัดกาวาวเครือแดงที่ความเข้มข้น (0.01-10 mg/ml) ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบแกนองค

ชาต โดยแสดงเป็นค่าเฉลี่ย (mean)  $\pm$  SD



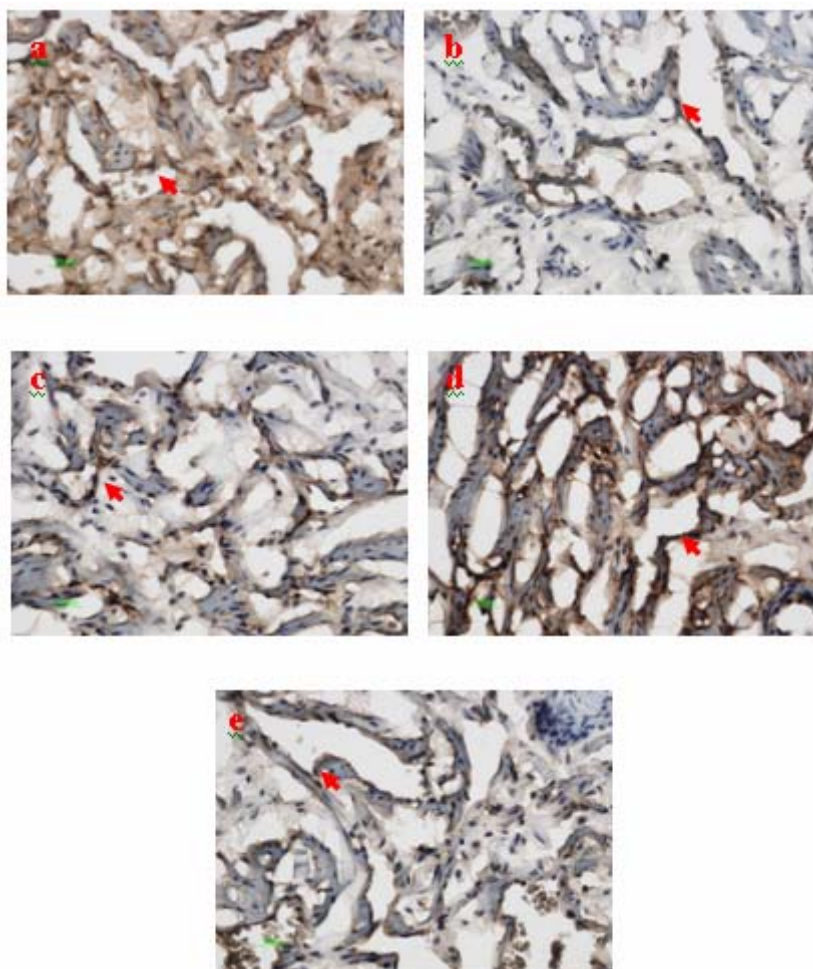
รูปที่ 6 ผลของสาร IBMX ที่ความเข้มข้น ( $10^{-8}$ - $10^{-4}$  mg/ml) ต่อการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบแกนองคชาต

โดยแสดงเป็นค่าเฉลี่ย (mean)  $\pm$  SD

## 5. การตรวจวัดหาปริมาณกล้ามเนื้อเรียบโดยเทคนิค immunohistochemistry

เมื่อให้สารสกัดกาวเครือแดงแก่หนูติดต่อกันเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ทำการผ่าแยกเอาเฉพาะ เนื้อเยื่อ

Corpora cavernosa ทำการตัดชิ้นเนื้อแล้วย้อมด้วย anti  $\alpha$ -actin monoclonal antibody ผลการทดลองพบว่า ในหนูเบาหวานจะมีปริมาณของ smooth muscle ลดลง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และพบว่าหนูเบาหวานที่ได้รับสารสกัดกาวเครือแดง 1 , 10, 100 mg/ kg BW มีการเพิ่มขึ้นของ smooth muscle อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเฉพาะที่ความเข้มข้น 10 mg/ kg BW

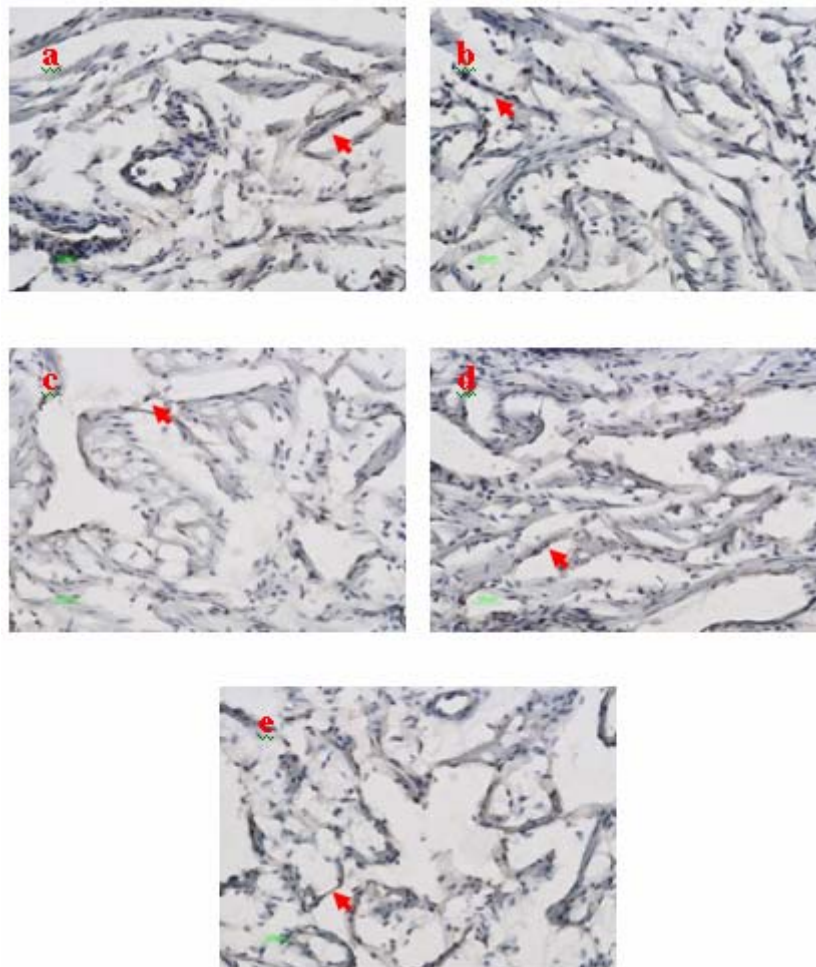


รูปที่ 7 แสดงรูป immunohistochemistry ของกล้ามเนื้อเรียบแกนองคชาต (กำลังขยาย 40 เท่า) ที่ย้อมด้วย  $\alpha$ -actin monoclonal antibodies (a) หนูปกติกลุ่มควบคุม (b) หนูเบาหวาน (c) หนูเบาหวานที่ได้รับสารสกัดกาวเครือแดง 1 mg/ kg (d) หนูเบาหวานที่ได้รับสารสกัดกาวเครือแดง 10 mg/ kg (e) หนูเบาหวานที่ได้รับสารสกัดกาวเครือแดง 100 mg/ kg.). Arrows indicates positive staining for smooth muscle  $\alpha$ -actin.

#### 6. การตรวจวัดหาปริมาณ endothelial โดยเทคนิค immunohistochemistry

เมื่อให้สารสกัดกวาวเครือแดงแก่หนูติดต่อกันเป็น เวลา 4 สัปดาห์ ทำการผ่าแยกเอาเฉพาะ เนื้อเยื่อ

Corpora cavernosa ทำการตัดชิ้นเนื้อแล้วย้อมด้วย anti-PECAM-1 monoclonal antibodies ผลการทดลองพบว่า ในหนูเบาหวานจะมีปริมาณของ endothelial ลดลง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และพบว่าหนูเบาหวานที่ได้รับสารสกัดกวาวเครือแดง 1 , 10, 100 mg/ kg BW มีการเพิ่มขึ้นของ smooth muscle อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเฉพาะที่ความเข้มข้น 10 mg/ kg BW

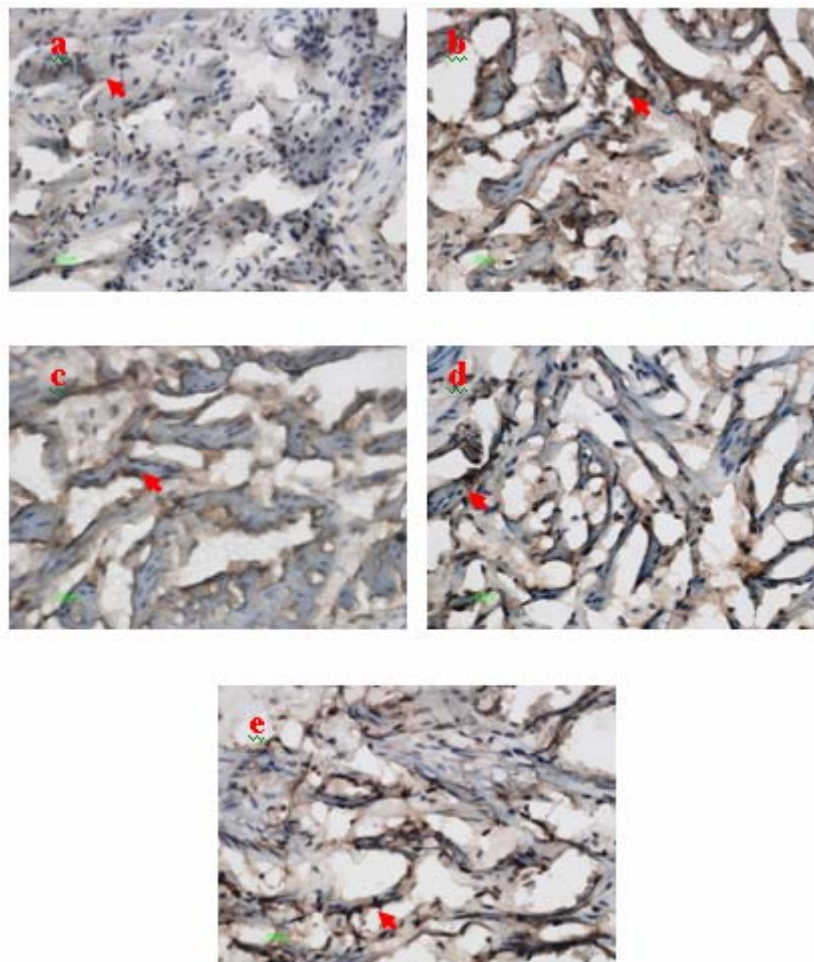


**รูปที่ 8** แสดงรูป immunohistochemistry ของกล้ามเนื้อเรียบแกนองคชาต (กำลังขยาย 40 เท่า) ที่ย้อมด้วย anti-PECAM-1 monoclonal antibodies (a) หนูปกติกลุ่มควบคุม (b) หนูเบาหวาน (c) หนูเบาหวานที่ได้รับสารสกัดกวาวเครือแดง 10 mg/ kg (d) หนูเบาหวานที่ได้รับสารสกัดกวาวเครือแดง 10 mg/ kg (e) หนูเบาหวานที่ได้รับสารสกัดกวาวเครือแดง 100 mg/ kg.). Arrows indicates positive staining for endothelial cells.

## 7. การตรวจวัดหาปริมาณ TGF- $\beta$ 1 โดยเทคนิค immunohistochemistry

เมื่อให้สารสกัดกาวเครือแดงแก่หนูติดต่อกันเป็น เวลา 4 สัปดาห์ ทำการผ่าแยกเอาเฉพาะ เนื้อเยื่อ

Corpora cavernosa ทำการตัดชิ้นเนื้อแล้วย้อมด้วย anti- TGF- $\beta$ 1 monoclonal antibodies ผลการทดลองพบว่า ในหนูเบาหวานจะมีปริมาณของ TGF- $\beta$ 1 เพิ่มขึ้น ซึ่งแสดงถึงปริมาณของ fibrous tissue เพิ่มขึ้น อย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติ และพบว่าหนูเบาหวานที่ได้รับสารสกัดกาวเครือแดง 1 , 10, 100 mg/ kg BW มีการลดลงของ smooth muscle อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเฉพาะที่ความเข้มข้น 10 mg/ kg BW



รูปที่ 9 แสดงรูป immunohistochemistry ของกล้ามเนื้อเรียบแองคชาต (กำลังขยาย 40 เท่า) ที่ย้อมด้วย anti-TGF- $\beta$ 1 monoclonal antibodies (a) หนูปกติกลุ่มควบคุม (b) หนูเบาหวาน (c) หนูเบาหวานที่ได้รับสารสกัดกาวเครือแดง 10 mg/ kg (d) หนูเบาหวานที่ได้รับสารสกัดกาวเครือแดง 10 mg/ kg (e) หนูเบาหวานที่ได้รับสารสกัดกาวเครือแดง 100 mg/ kg.). Arrows indicates positive staining for TGF- $\beta$ 1.

ตารางที่ 1 แสดงค่า mean area of smooth muscle cells, endothelial cells and the TGF- $\beta$ 1 expression level in the corpora cavernosa

|                                          | <i>Normal control</i>         | <i>Diabetic control</i>       | <i>B. superba extract</i>     |                               |                               |
|------------------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
|                                          |                               |                               | <i>1 mg/kg</i>                | <i>10 mg/kg</i>               | <i>100 mg/kg</i>              |
| Mean % of SM cell area                   | 30.57 $\pm$ 1.11 <sup>a</sup> | 10.08 $\pm$ 1.55 <sup>b</sup> | 15.99 $\pm$ 1.45 <sup>c</sup> | 27.08 $\pm$ 1.00 <sup>d</sup> | 16.90 $\pm$ 1.53 <sup>c</sup> |
| Mean % of endothelial cell area          | 8.29 $\pm$ 0.75 <sup>a</sup>  | 4.00 $\pm$ 0.29 <sup>b</sup>  | 4.78 $\pm$ 0.62 <sup>b</sup>  | 5.78 $\pm$ 0.44 <sup>c</sup>  | 4.07 $\pm$ 0.12 <sup>b</sup>  |
| Mean % area of TGF- $\beta$ 1 expression | 5.80 $\pm$ 1.31 <sup>a</sup>  | 23.13 $\pm$ 1.22 <sup>b</sup> | 15.33 $\pm$ 1.13 <sup>c</sup> | 11.83 $\pm$ 1.95 <sup>d</sup> | 17.02 $\pm$ 0.65 <sup>c</sup> |

โดยแสดงเป็นค่าเฉลี่ย (mean)  $\pm$  SD, <sup>a,b,c</sup> P < 0.05 แสดงข้อมูลที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

## สรุปผลการทดลอง

1. สารสกัดกวาวเครือแดงมีฤทธิ์ในการเพิ่มแรงดันในแกนองคชาต (ICP) ในหนูที่เป็นเบาหวานได้โดยพบว่าที่ความเข้มข้น 10 มกต่อ นน ตัว ให้ฤทธิ์สูงสุด โดยไม่มีผลกระทบต่อค่า mean arterial blood pressure (MAP)
2. สารสกัดกวาวเครือแดงมีฤทธิ์ในการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบในแกนองคชาตในหนูที่เป็นเบาหวานได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และมีฤทธิ์ส่งเสริมกับสารที่เป็นตัวยับยั้งของเอนไซม์ phosphodiesterase จึงอธิบายได้ว่าสารกวาวเครือแดงมีฤทธิ์ในการเพิ่มการแข็งตัวขององคชาตเนื่องจากเพิ่มแรงดันในแกนองคชาต แล้วยังมีผลให้เกิดการคลายตัวกล้ามเนื้อร่วมด้วยเพื่อเป็นการเพิ่ม blood flow ซึ่งจะไปมีผลทำให้เกิดการแข็งตัวขององคชาตได้
3. สารสกัดกวาวเครือแดงยังมีฤทธิ์ในการเพิ่มปริมาณของกล้ามเนื้อเรียบที่แกนองคชาต รวมถึง รักษาสภาพของ endothelial cell ที่แกนองคชาต รวมทั้งลดปริมาณของ fibrous tissue จึงเป็นปัจจัยการลดลงของการแข็งตัวขององคชาต
4. จากผลทั้งหมดที่ได้พบว่าสารกวาวเครือแดงเป็นสารสมุนไพรไทยที่มีฤทธิ์ในการเพิ่มสมรรถภาพทางเพศในภาวะเบาหวานได้ จึงเป็นที่น่าสนใจที่พัฒนาเป็นสารเสริมสุขภาพต่อไปในอนาคต

## เอกสารอ้างอิง

1. กฤษฎา รัตนโอฬาร และ สมบุญ เหลืองวัฒนาภิ. (2544). ความบกพร่องของการแข็งตัวขององคชาต. กรุงเทพฯ: บียอนด์ เอ็นเทอร์ไพรซ์ .
2. ภาณุวรรณ (นามแฝง). (2537). กาวเครือสมุนไพรรุข-สตรี. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ห่อสมุดกลาง 09.
3. ธนาธิป รักศิลป์. (2537). องค์ประกอบทางเคมีในหัวกาวเครือแดง (*Butea superba* Roxb.), วิทยานิพนธ์ วท.ม., จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
4. ปราณี ขวลิตร่าง และคณะ. (2544). พิษเรื้อรังของกาวเครือแดง. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 3, 182-195.
5. อนุสารสุนทร. (2474). ตำรายาหัวกาวเครือ. เชียงใหม่: อู่ปะติพงศ์.
6. เพ็ญภา ทรัพย์เจริญ. (2541). การใช้กาวเครือแดงในการแพทย์แผนไทยและแพทย์พื้นบ้าน. ในเอกสาร ประกอบการสัมมนาวิชาการเรื่องกาวเครือแดง; 1 ธันวาคม 2541. นนทบุรี: สถาบันการแพทย์แผนไทย.
7. อภิชาติ กงกะนันท์. (2546). ตำราโรคหย่อนสมรรถภาพทางเพศ. กรุงเทพฯ: บียอนด์ เอ็นเทอร์ไพรซ์.
8. Blaker, M. H. et al. (2001). Erection and ejaculatory dysfunction in a community based sample of men 50 to 78 years old; prevalence, concern and relation to sexual activity. Urology, 57, 763-768.
9. Kongkanand, A. & Leungwattanakij, S. (2001). Erectile dysfunction. Bangkok: Beyond Enterprise.
10. Kongkanand, A. et al. (2003). The efficacy and safety of oral sildenafil in Thai men with erectile dysfunction: A random double blind, placebo controlled, flexible dose study. Journal of the Medical Association of Thailand, 87, 195-205.
11. Mersdorf, A. et al. (1991). Ultrastructural changes in impotent penile tissue: a comparison of 65 patients. J Urol. 145: 749-758.
12. Metro, M. J., Broderick, G. A. (1999). Diabetes and vascular impotence: does insulin dependence increase the relative severity? Int J Impot Res. 11: 87-89.



13. Nicolosi, A. et al. (2003). Epidemiology of Erectile dysfunction in four countries: cross-national study of the prevalence and correlates of erectile dysfunction, Journal of Adult Urology, 61, 201-206.
14. Niyomdham, C. (1992). Note on Thai and Indo-Chinese Phaseoleae (*Leguminosae-Papilionoideae*). Nordic Journal of Botany, 12, 344-345.
15. Oliver, J. J., Leckie, S. M. & Webb, D. J. (2002). Interaction between glyceryl trinitrate and sildenafil citrate (Viagra<sup>®</sup>) may last less than 4 hours. International Journal of Impotence Research, 14, 112-120.
16. Rendell, M. S., Rajfer, J., Wicker, P. A., and Smith, M. D. (1999). Sildenafil for treatment of erectile dysfunction in men with diabetes: a randomized controlled trial. Sildenafil Diabetes Study Group. JAMA. 281: 421-426.
17. Roengsumran, S. et al. (2000). Flavonoid flavonoid Glycoside from *Butea superba* Roxb. and their cAMP phosphodiesterase inhibitory activity. Journal Scientific Research Chulalongkorn, 23, 169-176.
18. Ruangdilokrat, S. (2001). Erectile Dysfunction. Bangkok: Beyond Enterprise.
19. Saenz De Tejada, I., Anglin, G., Knight, J. R. and Emmick, J. T. (2002). Effects of tadalafil on erectile dysfunction in men with diabetes. Diab Care. 25: 2159-2164.
20. Tocharus, C., Jeenapongsa, R., Teakthong, T. and Smitasiri, Y. (2005). Effects of long-term treatment of *Butea superba* on sperm motility and concentration. Naresuan University Journal, 13: 11-17.
21. Tocharus, C., Smitasiri, Y. and Jeenapongsa, R. (2006). *Butea superba* Roxb. enhances penile erection in rats. Phytotherapy Research, 20: 484-489.
22. Tocharus, C., Smitasiri, Y. and Jeenapongsa, R. Acute and chronic toxicity studies of *Butea superba* (in press).
23. Tocharus, C., Posri, R. and Tocharus, J. Long – term effect of *Butea superba* on hamster sperm fertility ability (submitted).

24. Vinik, A., Richardson, D. (1998). Erectile dysfunction in diabetes. Diab Rev. 6: 16-33.

**Output ที่ได้จากโครงการ**

**Manuscript ได้รับการ submit ในวารสาร Asian Journal of Andrology**