

บทที่ 2

## วิธีดำเนินการวิจัย (ทดลอง)



รายการยาที่ใช้ในการทดลองวิจัย

- 1) Microgynon 30 Ed (อภินันท์นาการจาก บริษัทเซอร์วิง จำกัด)
- 2) Phenobarbital Sodium
- 3) Diphenylhydantoin
- 4) Chlorpromazine (จากบริษัท Atlantic)
- 5) Meprobamate (จากบริษัท Atlantic)
- 6) Ampicillin Trihydrate (จากบริษัท Atlantic)
- 7) Diethylstilbestrol
- 8) Estradiol
- 9) Normal Saline Solution
- 10) Olive oil

การทดลองแบ่งเป็น 2 แบบ คือ

1. การศึกษาผลของยาต่าง ๆ ต่อฤทธิ์ในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของมดลูกในหนูขาวตัวเมียที่กำลังหย่านม (Immature Weanling Rat) น้ำหนักระหว่าง  $25 \pm 10$  กรัม แบ่งเป็นกลุ่มดังนี้

- 1.1 กลุ่ม Control ให้ Normal Saline Solution (N.S.S.) ขนาด 0.2 cc และ/หรือ Olive Oil ขนาด 0.2 cc จำนวน 35 ตัว
- 1.2 ให้ N.S.S. และ 17 -  $\beta$  Estradiol Caproate 3  $\mu\text{g}/\text{rat}$  แก่หนูขาวจำนวน 22 ตัว
- 1.3 ให้ Phenobarbital Sodium 30 mg/kg และ 17- $\beta$  Estradiol Caproate 3  $\mu\text{g}/\text{rat}$  แก่หนูขาวจำนวน 13 ตัว
- 1.4 ให้ Diphenylhydantoin (D.P.H.) 100 mg/kg และ 17 -  $\beta$  Estradiol Caproate 3  $\mu\text{g}/\text{rat}$  แก่หนูขาวจำนวน 15 ตัว
- 1.5 ให้ Chlorpromazine ขนาด 5 mg/kg และ 17- $\beta$ -Estradiol Caproate 3  $\mu\text{g}/\text{rat}$  แก่หนูขาวจำนวน 8 ตัว
- 1.6 ให้ Meprobamate ขนาด 400 mg/kg และ 17 -  $\beta$  Estradiol Caproate 3  $\mu\text{g}/\text{rat}$  แก่หนูขาวจำนวน 8 ตัว
- 1.7 ให้ N.S.S. และ Diethylstilbestrol (DES) ขนาด 3  $\mu\text{g}/\text{rat}$  แก่หนูขาวจำนวน 4 ตัว
- 1.8 ให้ Phenobarbital Sodium ขนาด 30 mg/kg และ Diethylstilbestrol ขนาด 3  $\mu\text{g}/\text{rat}$  แก่หนูขาวจำนวน 5 ตัว
- 1.9 ให้ Diphenylhydantoin ขนาด 50 mg/kg และ Diethylstilbestrol 3  $\mu\text{g}/\text{rat}$  แก่หนูขาวจำนวน 11 ตัว
- 1.10 ให้ Ampicillin ขนาด 125 mg/rat และ 17  $\beta$  - Estradiol Caproate 3  $\mu\text{g}/\text{rat}$  แก่หนูขาวจำนวน 29 ตัว

หนูขาวในกลุ่ม 1.3 ถึง 1.9 ซึ่งได้รับยาที่มีคุณสมบัติในการกระตุ้นการทำงานของ Microsomal Enzymes ในตับคือ Phenobarbital Sodium,

Diphenylhydantoin, Chlorpromazine, และ Meprobamate จะได้รับยาวันละ 2 ครั้ง  
เช้า, เย็น เป็นเวลาติดต่อกัน 3 วัน และเว้นระยะ 18 ชั่วโมง จึงให้ 17- $\beta$ -Estradiol  
หรือ Diethylstilbestrol ตามที่บ่งไว้อีกคน ส่วนหนูขาวในกลุ่ม 1.10 จะได้รับ  
Ampicillin รวมไปกับ 17- $\beta$ -Estradiol เลย ต่อมา 4 ชั่วโมง จึงฆ่าหนูขาวทั้งหมด  
โดยใช้ anesthetic Ether และยาคัดเอามดลูก, รังไข่, ตับ ออกมา ตัดเนื้อเยื่ออื่น ๆ  
ที่ติดมาออกให้หมด ชับด้วยกระดาษกรอง ซึ่งและบันทึกน้ำหนักไว้ เพื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์  
ทางสถิติต่อไป

2. ศึกษาผลของยาดัง ๆ ต่อประสิทธิภาพในการคุมกำเนิดของ Contraceptive  
Steroids โดยใช้หนูขาวตัวเมีย (Mature Female Rat) ที่มีน้ำหนัก 150 - 200 gm.  
และเป็นหนูที่พิสูจน์แล้วว่าไม่เป็นหมัน (Proven Fertile Rat) จำนวน 244 ตัว โดยแบ่ง  
เป็นกลุ่ม ๆ กลุ่มละ 5 - 10 ตัว

2.1 เพื่อหาขนาดของฮอร์โมนที่น้อยที่สุดที่สามารถป้องกันการตั้งครรภ์ (Minimum  
Effective Dose = MED) ในหนูขาวได้ โดยเริ่มป้อนยา Norgestrel และ  
Ethinyl - Estradiol ในขนาดค่า ๆ แล้วจึงค่อย ๆ เพิ่มขนาดขึ้น

ทุกวันในตอนเช้า ให้ยาหนูขาวทุกตัวในแต่ละกลุ่ม เป็นเวลาติดต่อกันอย่าง  
น้อย 5 - 10 วัน ซึ่งเท่ากับ 2 Estrous Cycles ก่อนที่จะนำไปผสมกับหนูตัวผู้ (Proven  
Fertile Male Rats) เมื่อหนูขาวตั้งครรภ์ครบ 12 วัน นับจากวันตรวจพบ Sperm  
ใน Vaginal Smear จึงนำมาผ่าท้อง เพื่อดู Implantation - Sites  
โดยใช้ Ether ฆ่า หนูที่โชตทดลองแบ่งเป็น 6 กลุ่ม แต่ละกลุ่มให้ยาขนาดต่าง ๆ กัน  
ดังต่อไปนี้

Norgestrel (mg/rat)	Ethinylestradiol (mg/rat)
0.00325	0.0075
0.0075	0.0015
0.015	0.003
0.021	0.0043

0.025

0.005

0.03

0.006



2.2 การศึกษาถึงผลของยาชนิดต่าง ๆ ต่อระดับฮอร์โมน Norgestrel และ Ethinyl Estradiol โดยใช้ประสิทธิภาพในการคุมกำเนิดเป็นเครื่องบ่งชี้ ยาที่ใช้ทดลองมี

ก. Phenobarbital Sodium 20 mg/kg

ข. Diphenylhydantoin 50 mg/kg

ค. Chlopromazine 5 mg/kg

ง. Meprobamate 400 mg/kg

จ. Ampicillin 125 mg/rat

ขนาดของยาที่ใช้ทุกชนิด จะได้รับการพิสูจน์ว่าไม่มีผลต่อการเจริญพันธุ์ของหนูขาว โดยให้ยาต่าง ๆ ตามขนาดที่กล่าวข้างต้น (ก - จ) แก่หนูขาวทุกวันเป็นเวลาติดต่อกัน 5 - 10 วัน แล้วจึงนำมาผสมกับหนูตัวผู้ และดำเนินการทดลองเช่นเดียวกับ 2.1

2.3 ยาชนิดใดที่มีผลไปทำให้ระดับฮอร์โมน Norgestrel และ Ethinylestradiol ลดต่ำลงจะไม่สามารถป้องกันการตั้งครรภ์ได้ก็เท่าที่ควร ก็ให้นำยามาให้ควบคู่ไปกับฮอร์โมน Norgestrel และ Ethinylestradiol ในขนาดที่เพิ่มขึ้นเป็น Norgestrel = 0.05 Ethinylestradiol = 0.010 mg/rat และดำเนินการทดลองตามข้อ 2.2 เพื่อพิสูจน์ว่ายาเหล่านั้นมีผลทำให้ระดับฮอร์โมน Norgestrel และ Ethinylestradiol ลดต่ำลงจริงหรือไม่