

### บทที่ 3

#### ผลการวิจัย

ตอนที่ 1 การศึกษาผลของสารสกัดด้วย ethanol จากรากสามสิบ ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบมดลูกของหนูขาวที่แยกจากกาย

1.1 ศึกษาผลของตัวทำละลาย (95 % ethanol) ที่ใช้สกัดสารจากรากสามสิบต่อการหดตัวของมดลูกที่เกิดขึ้นเอง (spontaneous contraction)

เมื่อมดลูกเกิด spontaneous contraction แล้วให้ 95 % ethanol ปริมาตร 20  $\mu$ l ซึ่งเท่ากับปริมาตรของสารสกัดด้วย ethanol จากรากสามสิบที่ใช้ในการศึกษา จะทำให้ทั้ง tension และ frequency ไม่เปลี่ยนแปลงไปมากนัก (รูปภาพที่ 7) โดยสามารถ เพิ่ม tension ได้  $3.36 \pm 2.03$  % (รูปภาพที่ 8) และ ลด frequency ได้  $2.27 \pm 1.49$  % (รูปภาพที่ 9) ซึ่งการเพิ่มขึ้นของ tension และ ลด frequency ของการหดตัวของมดลูกนี้มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ )

1.2 ศึกษาผลของสารสกัดด้วย ethanol จากรากสามสิบต่อการหดตัวของมดลูกที่เกิดขึ้นเอง (spontaneous contraction)

เมื่อมดลูก spontaneous contraction แล้วให้สารสกัดด้วย ethanol จากรากสามสิบ ในขนาด 0.2 mg/ml จะทำให้ทั้ง tension และ frequency ของการหดตัวของมดลูกลดลง (รูปภาพที่ 10) โดยสามารถลด tension ได้  $22.80 \pm 5.21$  % (รูปภาพที่ 11) และลด frequency ได้  $18.10 \pm 4.10$  % (รูปภาพที่ 12) ซึ่งการลดลงทั้ง tension และ frequency ของการหดตัวของมดลูกนี้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

1.3 ศึกษาผลของสารสกัดด้วย ethanol จากรากสามสิบต่อการหดตัวของมดลูกเมื่อให้สารมาตรฐานกระตุ้นการหดตัว ACh

เมื่อให้ acetylcholine แบบ single dose ขนาด  $5 \times 10^{-6}$  M (final concentration) จะทำให้กล้ามเนื้อเรียบมดลูกเกิดการหดตัวโดยจะเพิ่มทั้ง tension และ frequency และเมื่อให้สารสกัดด้วยเอธานอลจากรากสามสิบในขนาด 0.2 mg/ml จะทำให้ทั้ง tension และ frequency

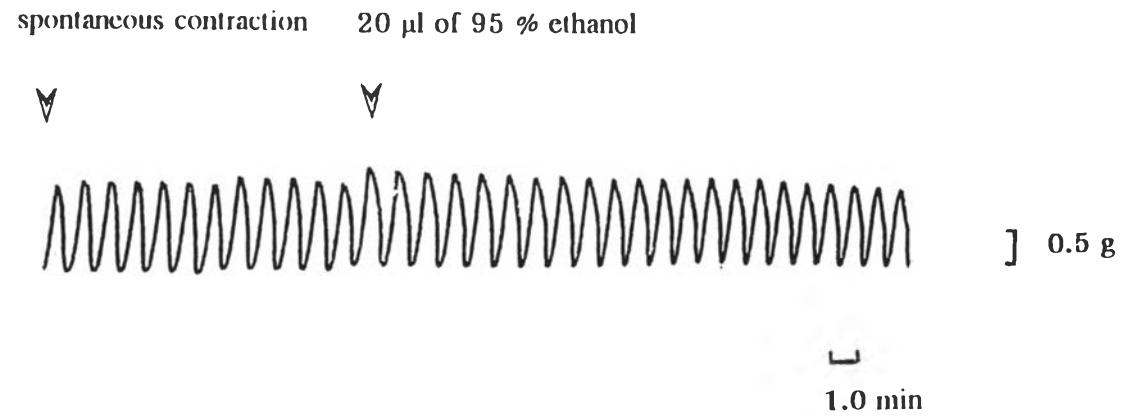
ลดลงได้และเมื่อให้ acetylcholine ในขนาดเท่าเดิมอีกครั้งพบว่าสามารถกระตุ้นการหดตัวของมดลูกได้ (รูปภาพที่ 13) โดยลด tension ได้  $36.05 \pm 6.46 \%$  (รูปภาพที่ 14) ลด frequency ได้  $24.70 \pm 3.22 \%$  (รูปภาพที่ 15) ซึ่งการลดลงทั้ง tension และ frequency ของการหดตัวของมดลูกนี้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

#### 1.4 ศึกษาผลของสารสกัดด้วย ethanol จากรากสามสิบต่อการหดตัวของมดลูกเมื่อให้ให้สารกระตุ้นการหดตัว oxytocin

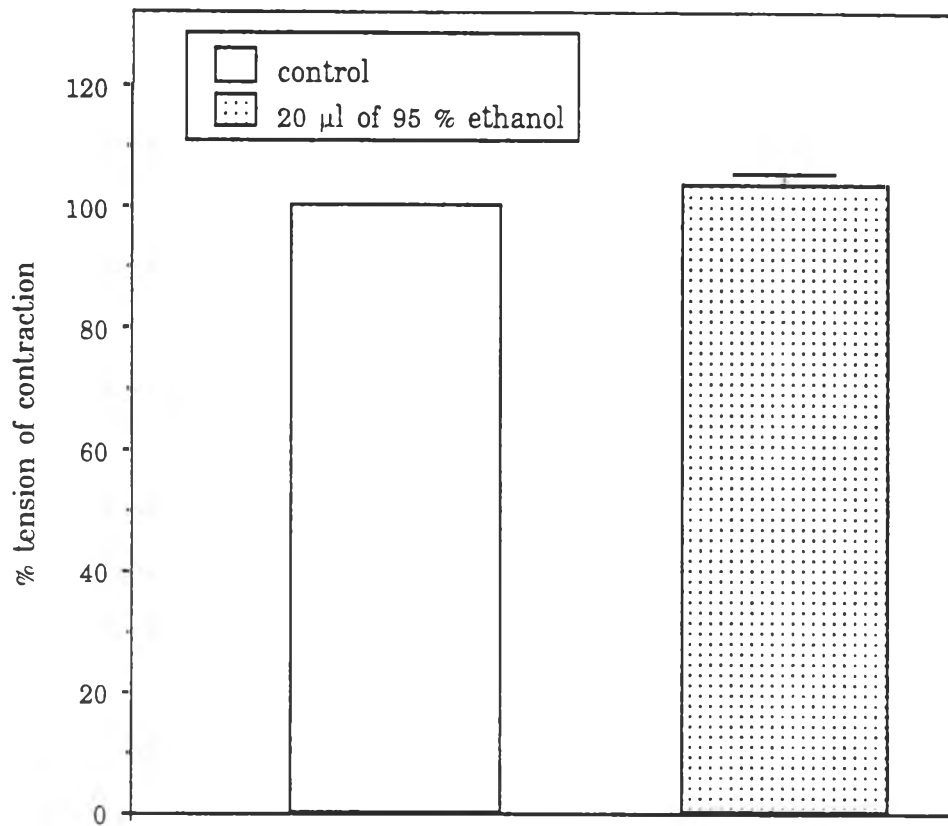
เมื่อให้ oxytocin แบบ single dose ขนาด  $5 \times 10^{-3}$  IU/ml (final concentration) จะทำให้กล้ามเนื้อเรียบมดลูกเกิดการหดตัว โดยจะเพิ่มทั้ง tension และ frequency และเมื่อให้สารสกัดด้วยเอทานอลจากรากสามสิบในขนาด 0.2 mg/ml จะทำให้ tension และ frequency ลดลง และเมื่อให้ oxytocin ในขนาดเท่าเดิมอีกครั้งพบว่าสามารถกระตุ้นการหดตัวของมดลูกได้ (รูปภาพที่ 16) โดยสามารถลด tension ได้  $50.23 \pm 3.57 \%$  (รูปภาพที่ 17) ลด frequency ได้  $50.72 \pm 3.18 \%$  (รูปภาพที่ 18) ซึ่งการลดลงทั้ง tension และ frequency ของการหดตัวของมดลูกนี้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

#### 1.5 ศึกษาผลของสารสกัดด้วย ethanol จากรากสามสิบต่อการหดตัวของมดลูกเมื่อให้สารกระตุ้นการหดตัว oxytocin ใน calcium-free Locke Ringer solution

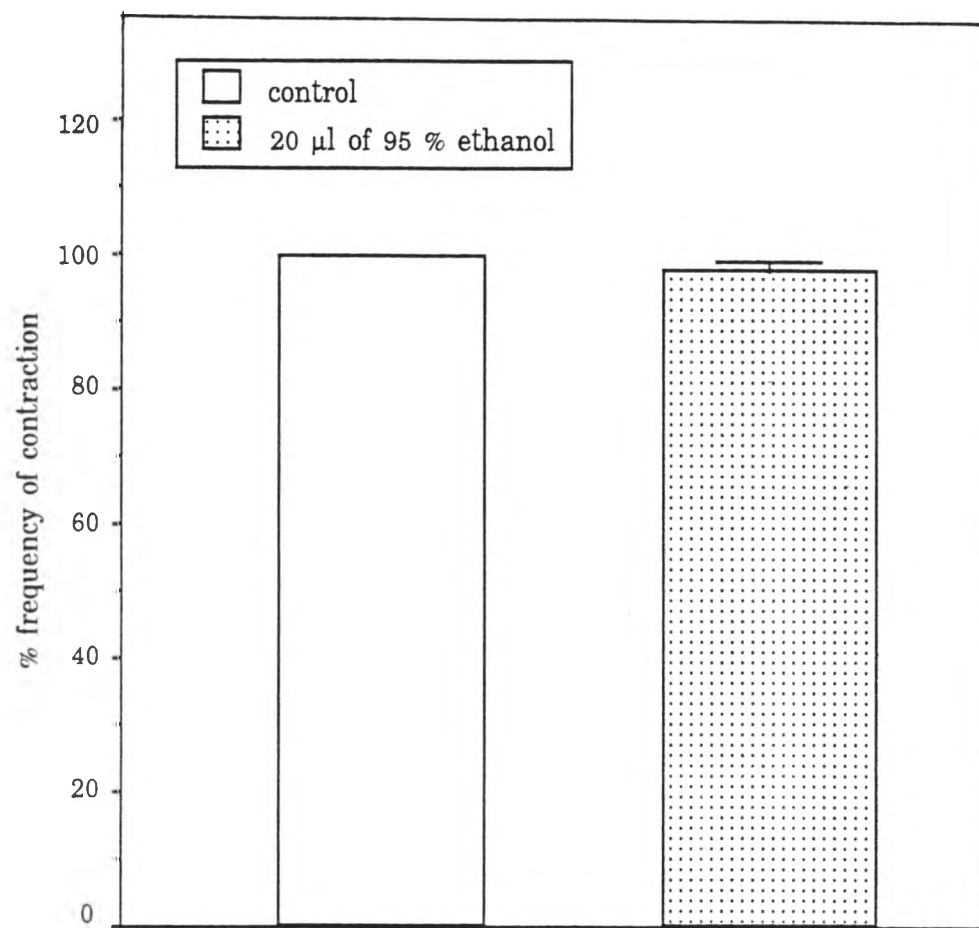
เมื่อให้ oxytocin แบบ single dose ขนาด 0.02 IU/ml (final concentration) ใน Locke Ringer solution ที่ปราศจากแคลเซียม และมี EGTA จะทำให้กล้ามเนื้อเรียบมดลูกค่อย ๆ หดตัวเพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ และเมื่อถึงจุดที่มีการหดตัวสูงสุดจะหดตัวคงที่จนกระทั่งได้ล้างเอา oxytocin ออกจากกล้ามเนื้อเรียบมดลูก แล้ว incubate กล้ามเนื้อเรียบมดลูกใหม่จนได้ baseline คงที่แล้วให้ สารสกัดด้วยเอทานอลจากรากสามสิบ 0.2 mg/ml ต่อจากนั้นกระตุ้นกล้ามเนื้อเรียบมดลูกด้วย oxytocin แบบ single dose ขนาด 0.02 IU/ml (final concentration) เมื่อเปรียบเทียบกับกระตุ้นครั้งแรกแล้ว การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบมดลูกจะลดลง (รูปภาพที่ 19) ซึ่งสามารถลดแรงการหดตัวได้  $50.05 \pm 4.50 \%$  (รูปภาพที่ 20) ซึ่งในการยับยั้งการหดตัวของมดลูกนี้ จะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )



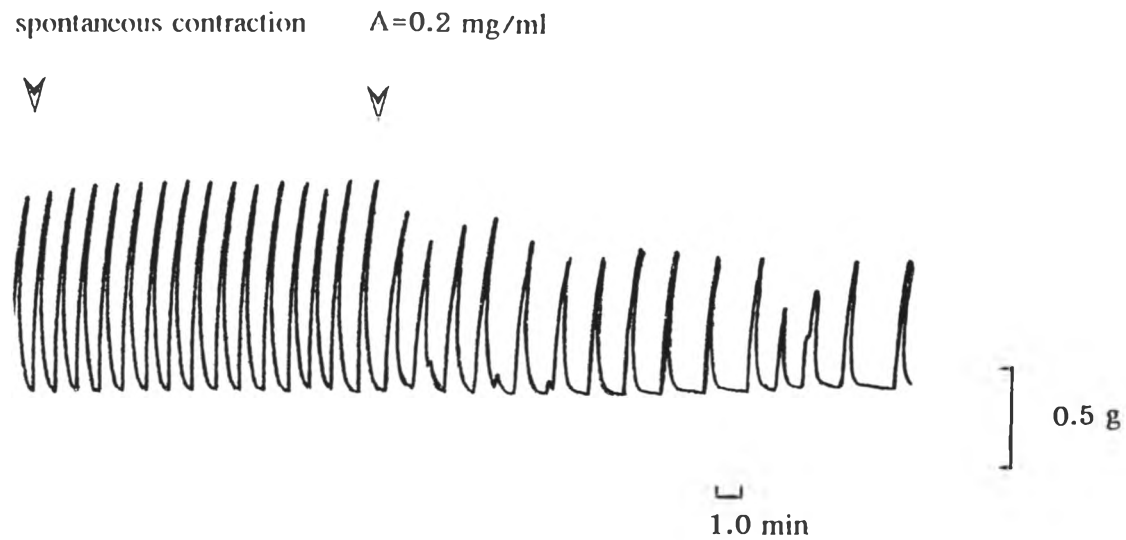
รูปภาพที่ 7 แสดงผลของ 95 % ethanol ต่อการหดตัวที่เกิดขึ้นเอง (spontaneous contraction) ของกล้ามเนื้อเรียบมดลูกหนูขาว ใน De Jalon solution



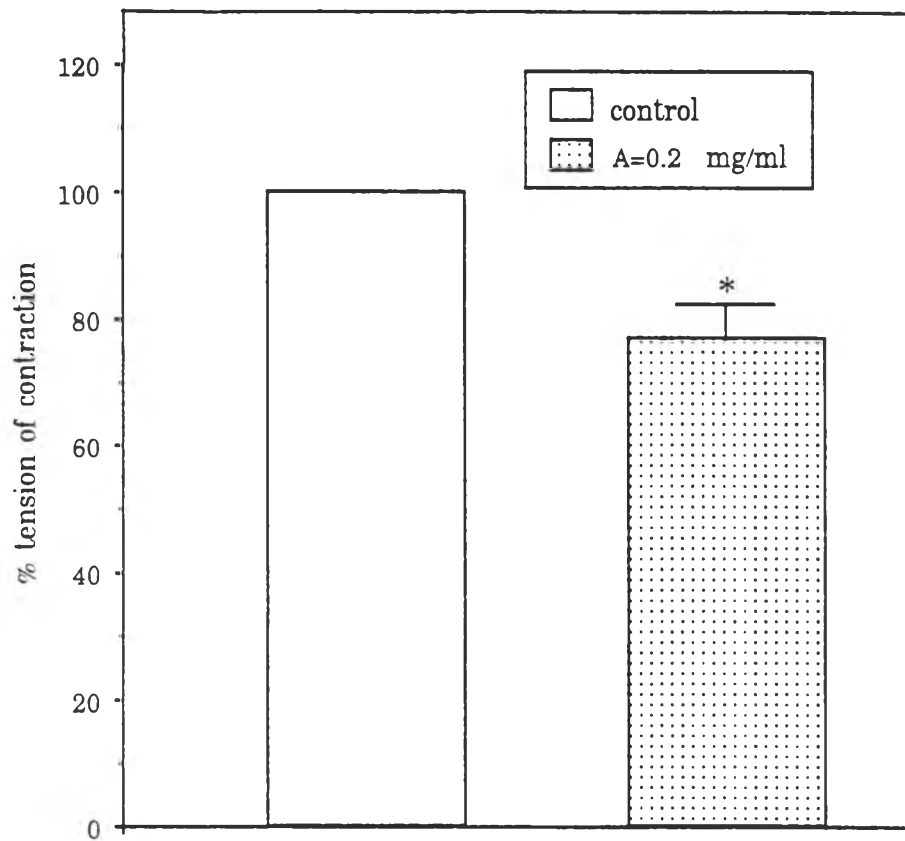
รูปภาพที่ 8 แสดงผลของ 95 % ethanol ต่อแรงในการหดตัวที่เกิดขึ้นเอง (spontaneous contraction) ของกล้ามเนื้อเรียบมดลูกหนูขาว ใน De Jalon solution กราฟแสดงค่าเฉลี่ย  $\pm$  ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย จำนวนการทดลอง (n) = 8



รูปภาพที่ 9 แสดงผลของ 95 % ethanol ต่อความถี่ในการหดตัวที่เกิดขึ้นเอง (spontaneous contraction) ของกล้ามเนื้อเรียบมดลูกหนูขาว ใน De Jalon solution  
 กราฟแสดงค่าเฉลี่ย  $\pm$  ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย  
 จำนวนการทดลอง (n) = 8

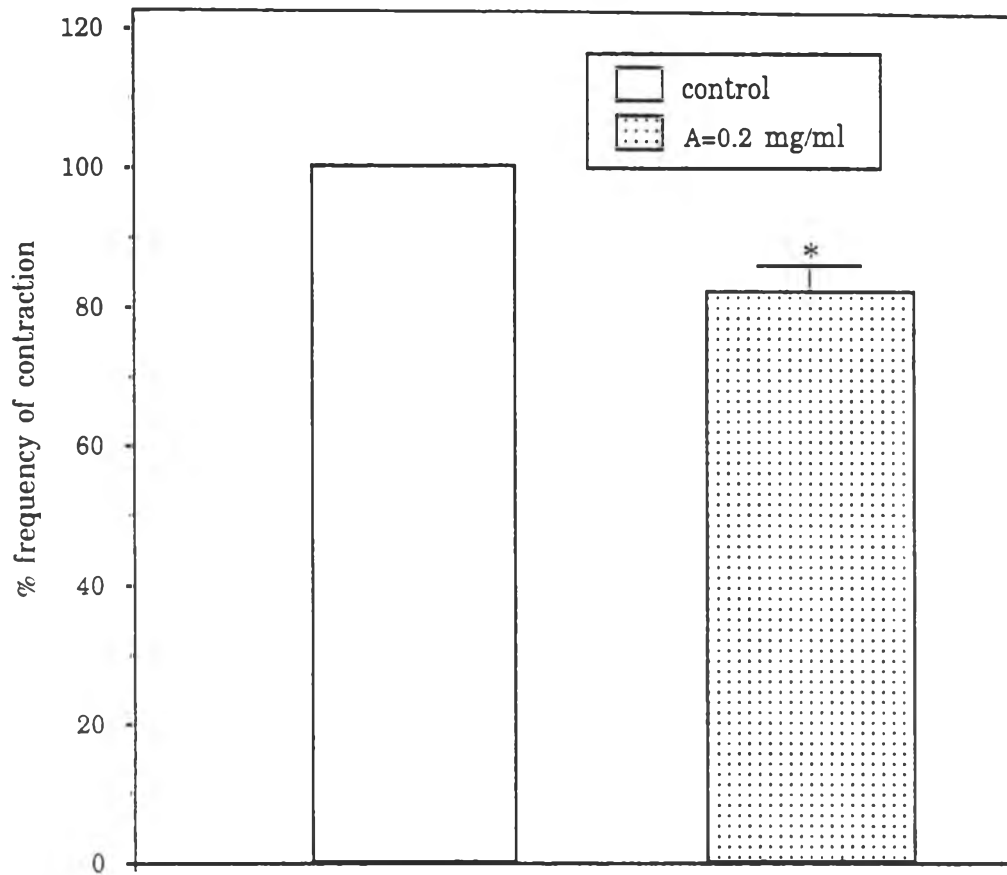


รูปภาพที่ 10 แสดงผลของสารสกัดด้วยเอธานอลจากรากสามสิบ ( $\Lambda$ ) ต่อการหดตัวที่เกิดขึ้นเอง (spontaneous contraction) ของกล้ามเนื้อเรียบมดลูกหนูขาวใน De Jalon solution



รูปภาพที่ 11 แสดงผลของสารสกัดด้วยเอธานอลจากรากสามสิบ (A) ต่อแรงในการหดตัวที่เกิดขึ้นเอง (spontaneous contraction) ของกล้ามเนื้อเรียบมดลูกหนูขาว ใน De Jalon solution  
 กราฟแสดงค่าเฉลี่ย + ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย  
 จำนวนการทดลอง (n) = 8

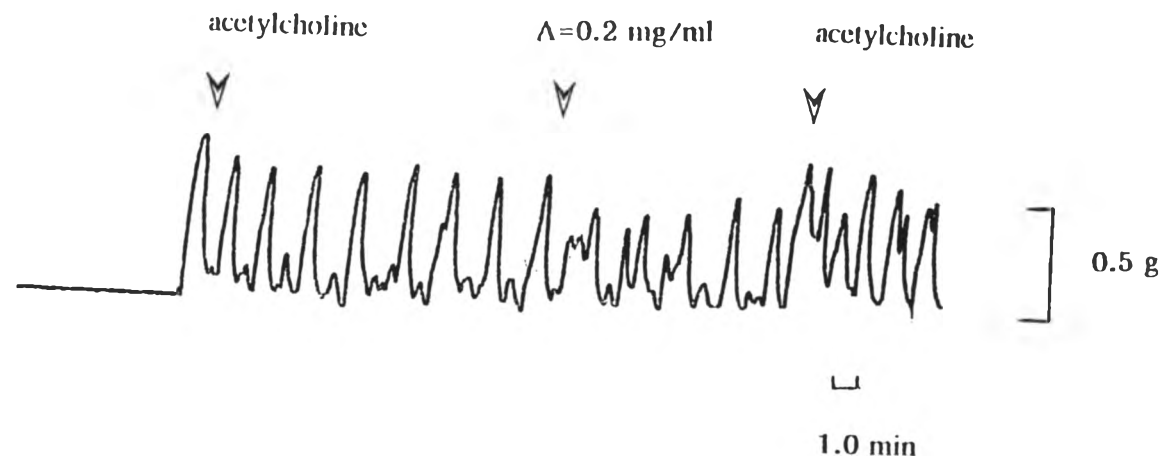
\* แสดงถึง ความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )



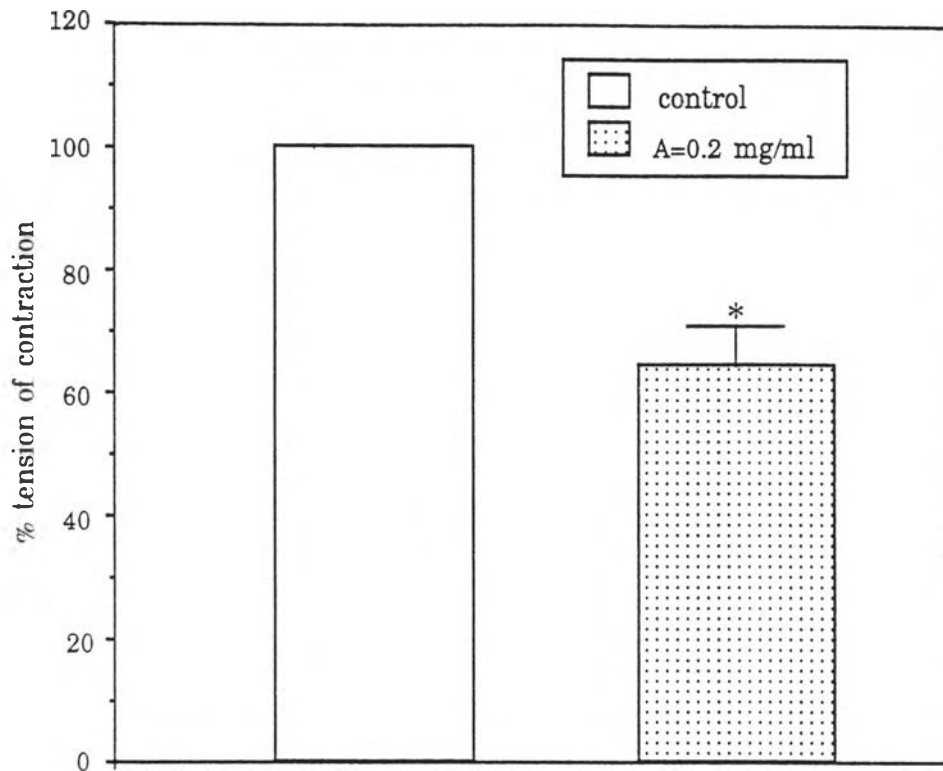
รูปภาพที่ 12 แสดงผลของสารสกัดด้วยเอทานอลจากรากสามสิบ (A) ต่อความถี่ในการหดตัวที่เกิดขึ้นเอง (spontaneous contraction) ของกล้ามเนื้อเรียบมดลูกหนูขาว ใน De Jalon solution  
 กราฟแสดงค่าเฉลี่ย  $\pm$  ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย  
 จำนวนการทดลอง (n) = 8

\* แสดงถึง ความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

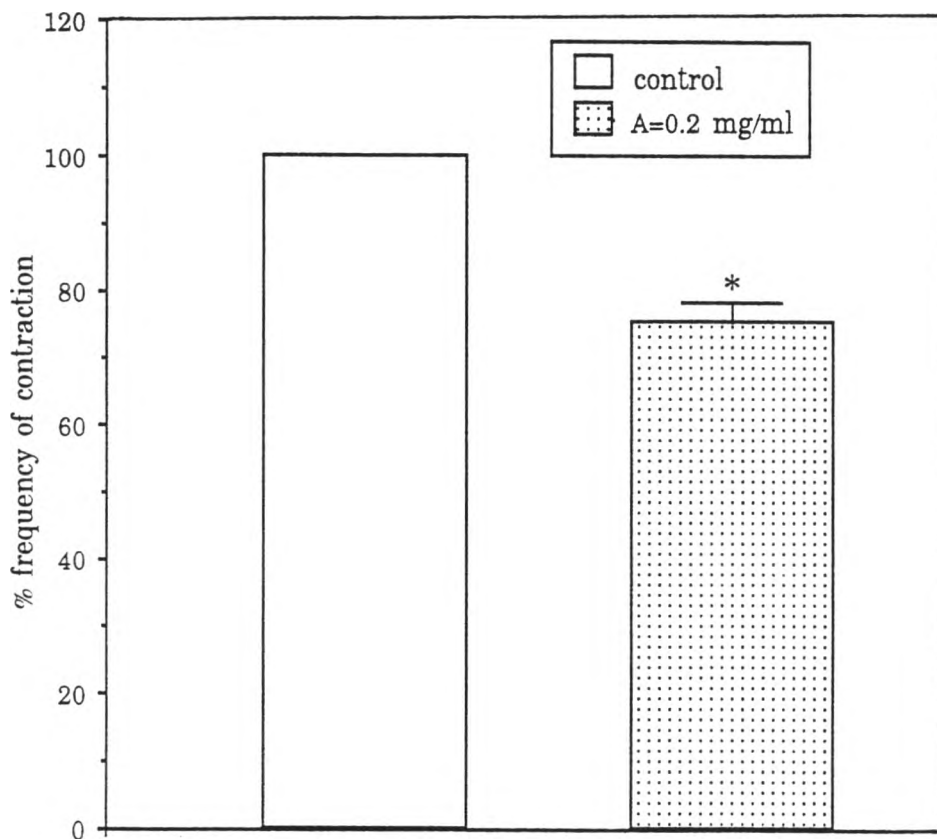




รูปภาพที่ 13 แสดงผลของสารสกัดด้วยเอทานอลจากรากสามสิบ (A) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ  
 มดลูกหนูขาว เมื่อกระตุ้นด้วย acetylcholine  $5 \times 10^{-6}$  M ใน De Jalon solution

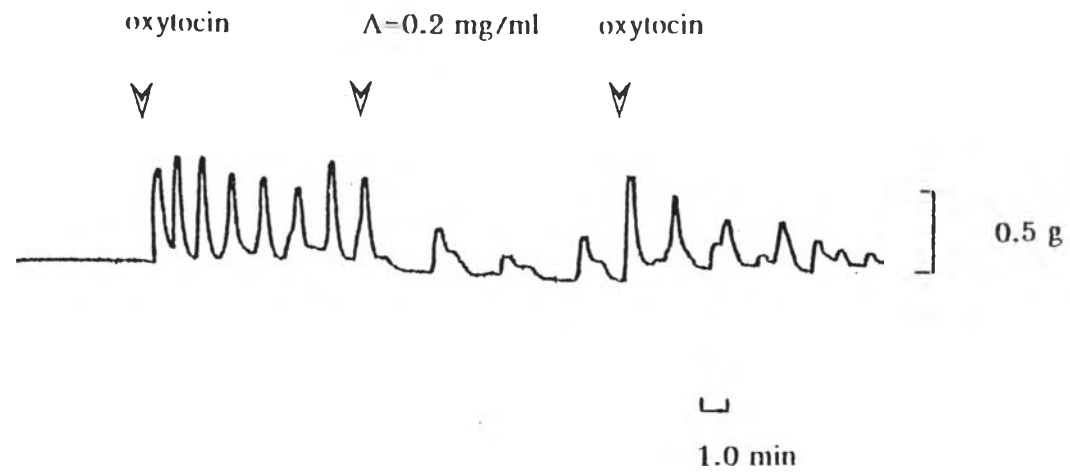


รูปภาพที่ 14 แสดงผลของสารสกัดด้วยเอทานอลจากรากสามสิบ (A) ต่อแรงในการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบมดลูกหนูขาว เมื่อกระตุ้นด้วย acetylcholine  $5 \times 10^{-6}$  M ใน De Jalon solution กราฟแสดงค่าเฉลี่ย  $\pm$  ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย จำนวนการทดลอง (n) = 8  
\* แสดงถึง ความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

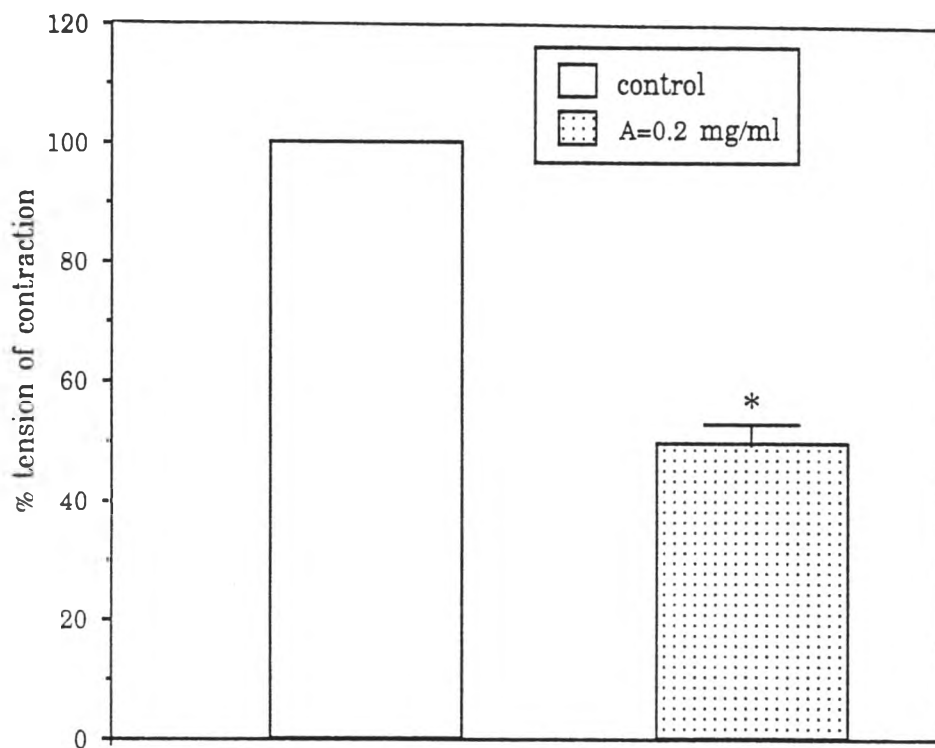


รูปภาพที่ 15 แสดงผลของสารสกัดด้วยเอธานอลจากรากสามสิบ (A) ต่อความถี่ในการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบมดลูกหนูขาว เมื่อกระตุ้นด้วย acetylcholine  $5 \times 10^{-6}$  M ใน De Jalon solution กราฟแสดงค่าเฉลี่ย + ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย จำนวนการทดลอง (n) = 8

\* แสดงถึง ความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

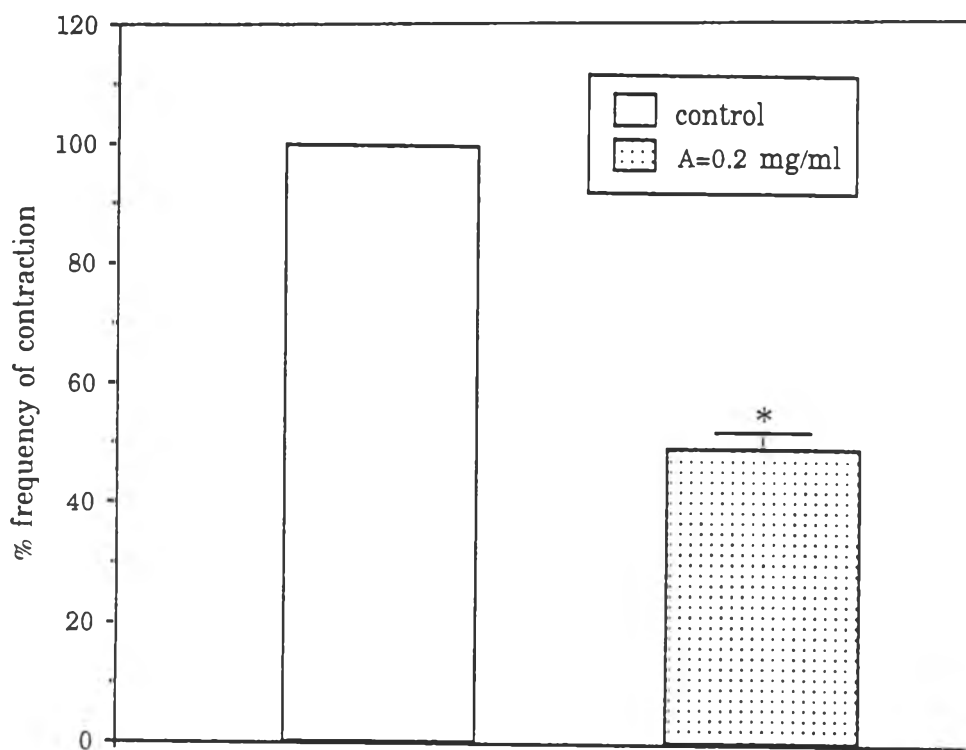


รูปภาพที่ 16 แสดงผลของสารสกัดด้วยเอทานอลจากรากสามสิบ (A) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ  
 มดลูกหนูขาว เมื่อกระตุ้นด้วย oxytocin  $5 \times 10^{-3}$  IU/ml ใน De Jalon solution



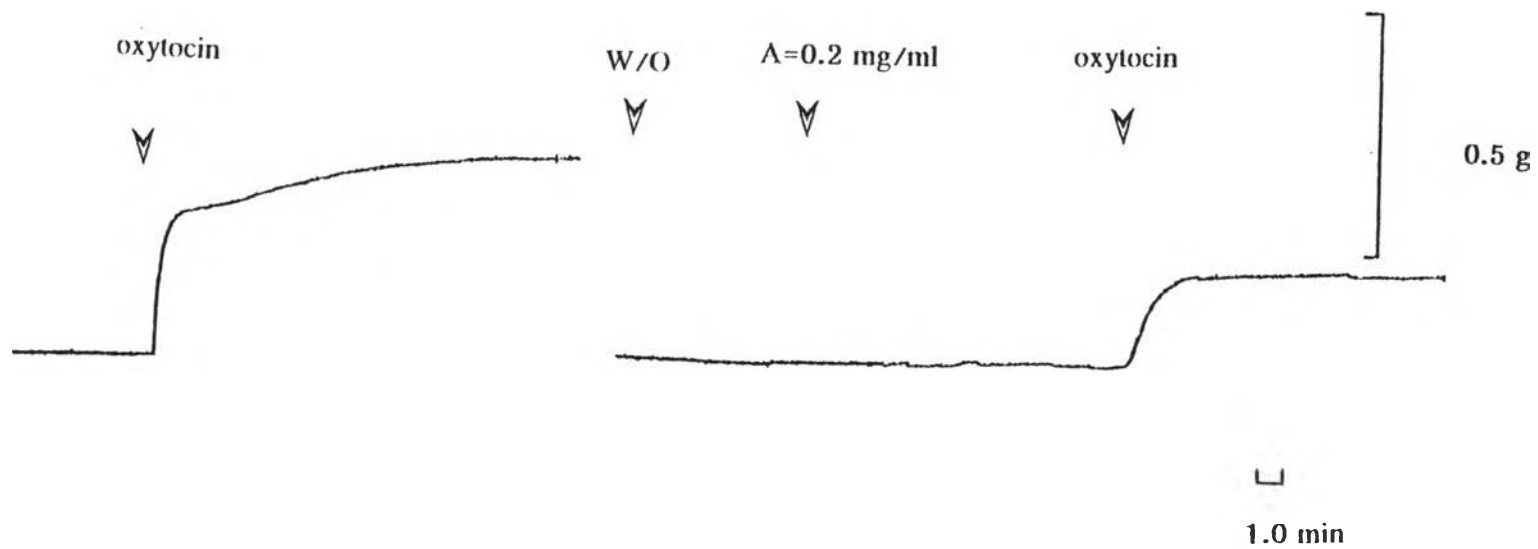
รูปภาพที่ 17 แสดงผลของสารสกัดด้วยเอทานอลจากรากสามสิบ (A) ต่อแรงในการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบมดลูกหนูขาว เมื่อกระตุ้นด้วย oxytocin  $5 \times 10^{-3}$  IU/ml ใน De Jalon solution กราฟแสดงค่าเฉลี่ย  $\pm$  ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย จำนวนการทดลอง (n) = 8

\* แสดงถึง ความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

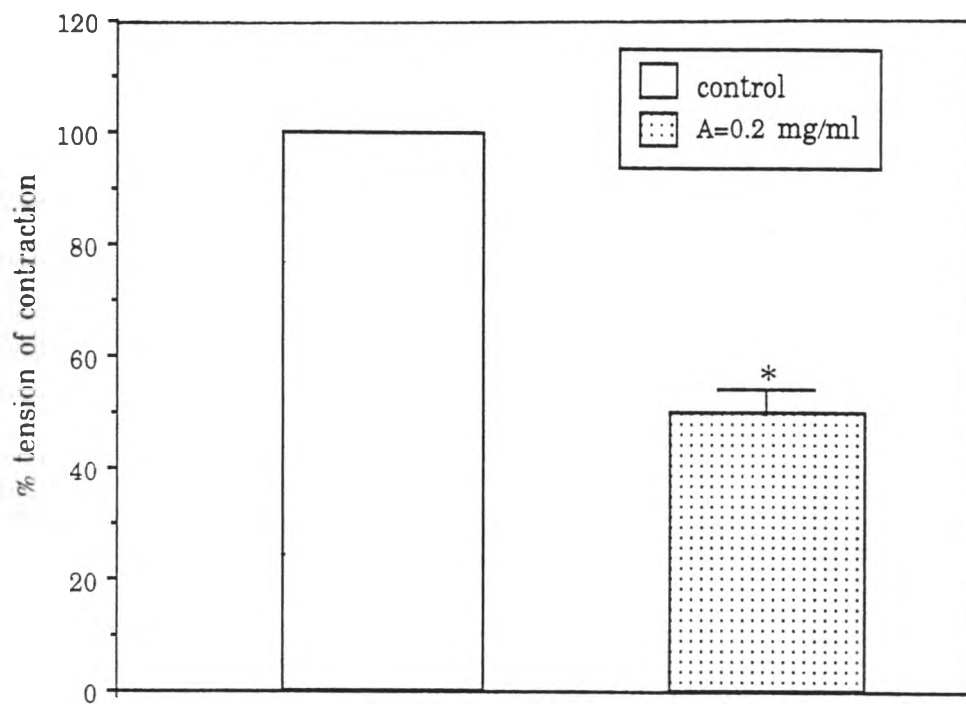


รูปภาพที่ 18 แสดงผลของสารสกัดด้วยเอธานอลจากรากสามสิบ (A) ต่อความถี่ในการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบมดลูกหนูขาว เมื่อกระตุ้นด้วย oxytocin  $5 \times 10^{-3}$  IU/ml ใน De Jalon solution กราฟแสดงค่าเฉลี่ย  $\pm$  ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย จำนวนการทดลอง (n) = 8

\* แสดงถึง ความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )



รูปภาพที่ 19 แสดงผลของสารสกัดด้วยเอธานอลจากรากสามสิบ (A) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบมดลูกหนูขาว  
เมื่อกระตุ้นด้วย oxytocin 0.02 IU/ml ใน Locke Ringer solution ที่ปราศจากแคลเซียม



รูปภาพที่ 20 แสดงผลของสารสกัดด้วยเอทานอลจากรากสามสิบ (A) ต่อความแรงในการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบมดลูกหนูขาวเมื่อกระตุ้นด้วย oxytocin 0.02 IU/ml ใน Locke Ringer solution ที่ปราศจากแคลเซียม

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย + ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย จำนวนการทดลอง (n) = 8

\* แสดงถึง ความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )



ตอนที่ 2 การศึกษาผลของสารสกัดด้วย ethanol จากรากสามสิบต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ หลอดเลือดแดงใหญ่ (aorta) ของหนูขาวที่แยกจากกาย

2.1 ศึกษาผลของตัวทำละลาย (95 % ethanol) ที่ใช้สกัดสารจากรากสามสิบต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ เมื่อให้สารมาตรฐานกระตุ้นการหดตัว NE

เมื่อให้สารกระตุ้นมาตรฐาน NE กระตุ้นกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด แบบ cumulative dose โดยเริ่มที่ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-11}$  M,  $1 \times 10^{-10}$  M,  $1 \times 10^{-9}$  M,  $1 \times 10^{-8}$  M และ  $1 \times 10^{-7}$  M กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดจะมีการหดตัวเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ จนถึง maximum contraction ซึ่งต้องใช้ความเข้มข้นของสารกระตุ้นมาตรฐาน NE สูงสุดคือ  $1 \times 10^{-7}$  M ต่อจากนี้ก็ล้างเอา NE ออกให้หมดแล้ว incubate ใหม่จนได้ baseline คงที่แล้วให้ 95 % ethanol ในปริมาตร 20  $\mu$ l ซึ่งเท่ากับปริมาตรของสารสกัดด้วยเอธานอลจากรากสามสิบที่ใช้ในการศึกษา แล้วเติมสารกระตุ้นมาตรฐาน NE แบบ cumulative dose เหมือนตอนแรก

พบว่าแรงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด จะเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับครั้งแรก (รูปภาพที่ 21) โดยการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดเพิ่ม  $7.50 \pm 4.05$  % ที่ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-7}$  M (รูปภาพที่ 22)

การเพิ่มแรงในการหดตัวนี้จะมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) ทุกความเข้มข้นของสารกระตุ้นมาตรฐาน NE

2.2 ศึกษาผลของสารสกัดด้วย ethanol จากรากสามสิบต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ เมื่อให้สารมาตรฐานกระตุ้นการหดตัว NE

เมื่อให้สารกระตุ้นมาตรฐาน NE กระตุ้นกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด แบบ cumulative dose โดยเริ่มที่ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-11}$  M,  $1 \times 10^{-10}$  M,  $1 \times 10^{-9}$  M,  $1 \times 10^{-8}$  M และ  $1 \times 10^{-7}$  M กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดจะมีการหดตัวเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ จนถึง maximum contraction ซึ่งต้องใช้ความเข้มข้นของสารกระตุ้นมาตรฐาน NE สูงสุดคือ  $1 \times 10^{-7}$  M ต่อจากนี้ก็ล้างเอา NE ออกให้หมดแล้ว incubate ใหม่จนได้ baseline คงที่แล้วให้สารสกัดด้วยเอธานอลจากรากสามสิบในขนาด 0.6 mg/ml แล้วเติมสารกระตุ้นมาตรฐาน NE แบบ cumulative dose เหมือนตอนแรก

ผลปรากฏว่า แรงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดจะลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับครั้งแรก (รูปภาพที่ 23) โดยการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดลด  $44.01 \pm 2.51$  % ที่ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-7}$  M (รูปภาพที่ 24)

การลดลงของการหดตัวนี้จะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ทุกความเข้มข้นของสารกระตุ้นมาตรฐาน NE

### 2.3 ศึกษาผลของสารสกัดด้วย ethanol จากรากสามสิบต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ เมื่อให้สารมาตรฐานกระตุ้นการหดตัว 5-HT

เมื่อให้สารกระตุ้นมาตรฐาน 5-HT กระตุ้นกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด แบบ cumulative dose โดยเริ่มที่ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-8}$  M,  $1 \times 10^{-7}$  M,  $1 \times 10^{-6}$  M,  $1 \times 10^{-5}$  M และ  $1 \times 10^{-4}$  M กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดจะมีการหดตัวเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ จนถึง maximum contraction ซึ่งต้องใช้ความเข้มข้นของสารกระตุ้นมาตรฐาน 5-HT สูงสุดคือ  $1 \times 10^{-4}$  M ต่อจากนี้ก็ล้างเอา 5-HT ออกให้หมดแล้ว incubate ใหม่จนได้ baseline คงที่แล้วให้สารสกัดด้วยเอธานอลจากรากสามสิบในขนาด 0.6 mg/ml แล้วเติมสารกระตุ้นมาตรฐาน 5-HT แบบ cumulative dose เหมือนตอนแรก

แรงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด จะลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับครั้งแรก (รูปภาพที่ 25) โดยการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดลด  $67.30 \pm 2.58$  % ที่ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-4}$  M (รูปภาพที่ 26)

การลดลงของการหดตัวนี้จะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ทุกความเข้มข้นของสารกระตุ้นมาตรฐาน 5-HT

### 2.4 ศึกษาผลของสารสกัดด้วย ethanol จากรากสามสิบต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ให้หดตัวโดยใช้สารละลาย $\text{CaCl}_2$ ในสารละลาย potassium depolarizing

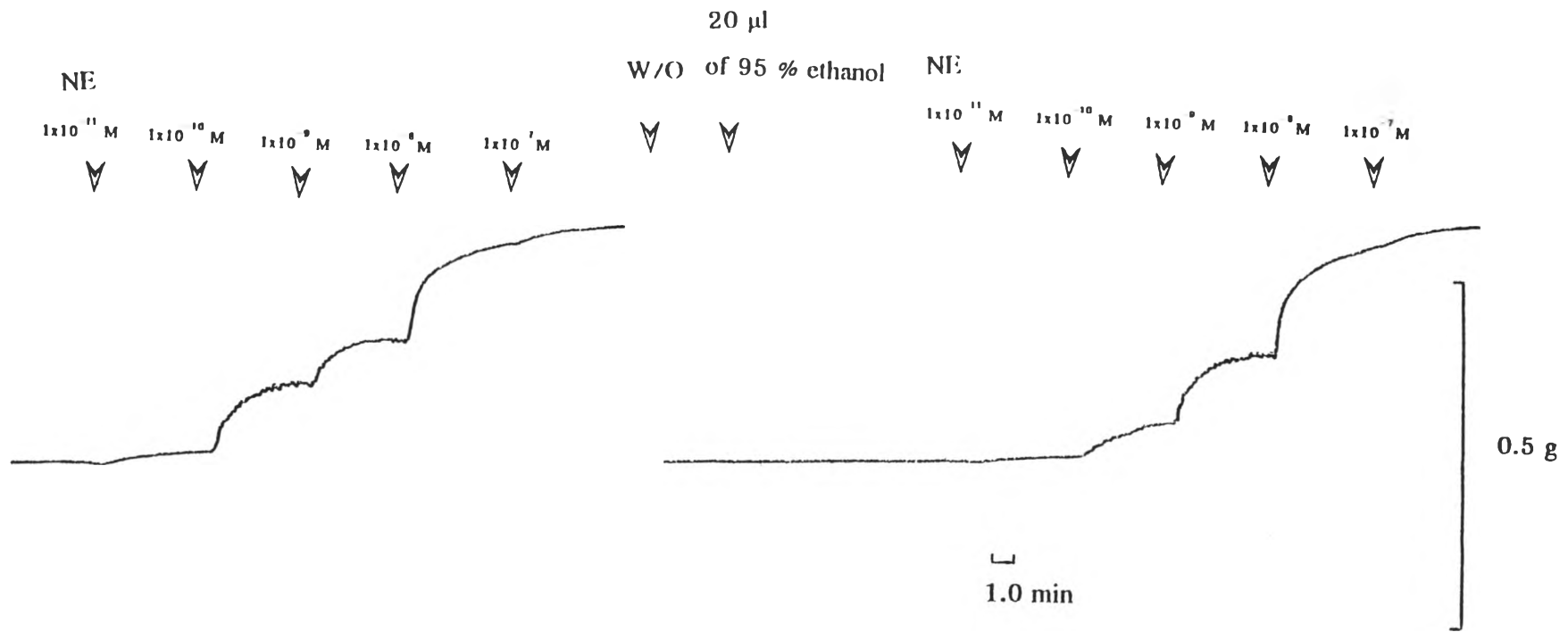
incubate กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดโดย calcium-free Krebs-Hensleit solution จนกระทั่งหลอดเลือดมีแรงตึงคงที่ แล้วเปลี่ยนสารละลายจาก calcium-free Krebs-Hensleit solution เป็นสารละลาย potassium depolarizing จนกระทั่งกล้ามเนื้อหลอดเลือดมีแรงตึงคงที่ ต่อจากนั้นให้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์แบบสะสม (cumulative dose) โดยเริ่มที่ขนาดความเข้มข้น 0.1 mM, 1 mM, 10 mM, 20 mM และ 30 mM ซึ่งผลการทดลองทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด หลังจากนั้นล้างหลอดเลือดด้วย calcium-free Krebs-Hensleit solution หลาย ๆ ครั้ง จนกระทั่งหลอดเลือดมีแรงตึงคงที่ จึงเปลี่ยนสารละลายจาก calcium-free Krebs-Hensleit solution มาเป็นสารละลาย potassium depolarizing จนกระทั่งกล้ามเนื้อหลอดเลือดมีแรงตึงคงที่ ต่อจากนั้นให้สารสกัดด้วย ethanol จากรากสามสิบ โดยให้สารสกัดด้วย ethanol จากรากสามสิบ 0.6 mg/ml ก่อนนานประมาณ 5 นาที แล้วจึงให้

สารละลายแคลเซียมคลอไรด์แบบผสมขนาดความเข้มข้นต่าง ๆ เหมือนกับการทดลองในตอนแรก

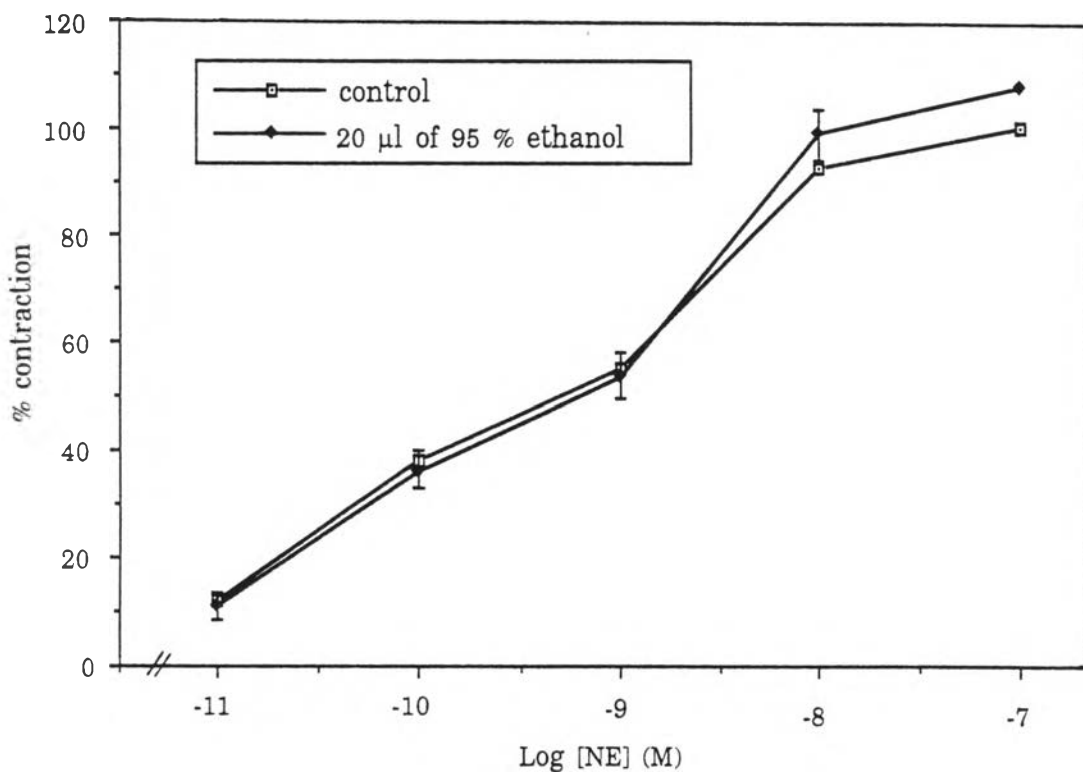
พบว่า การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดลดลง (รูปภาพที่ 27) โดยการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดลด  $56.76 \pm 3.46 \%$  ที่ความเข้มข้น 30 mM (รูปภาพที่ 28)

การลดลงของการหดตัวนี้จะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ทุกความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์

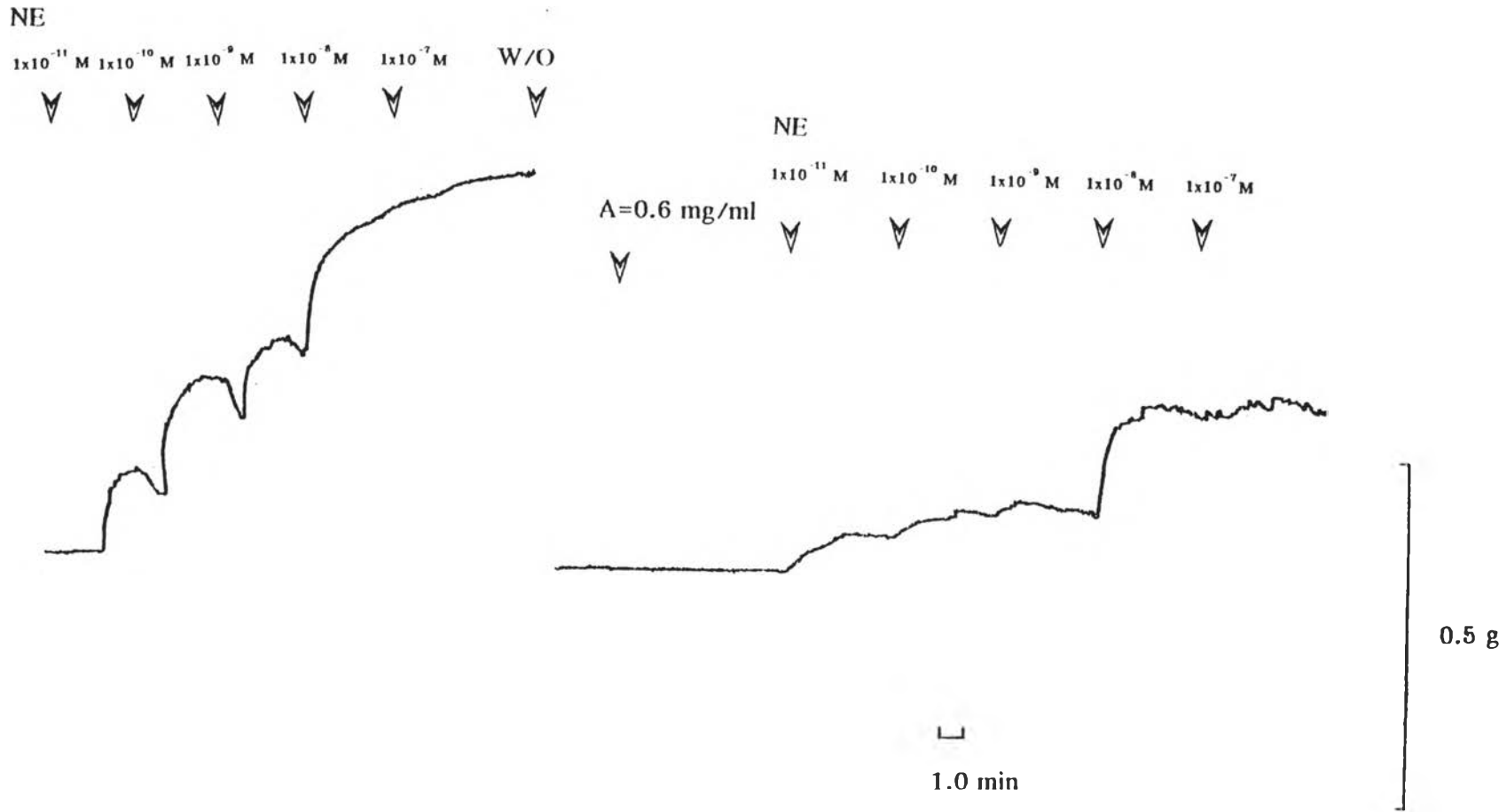




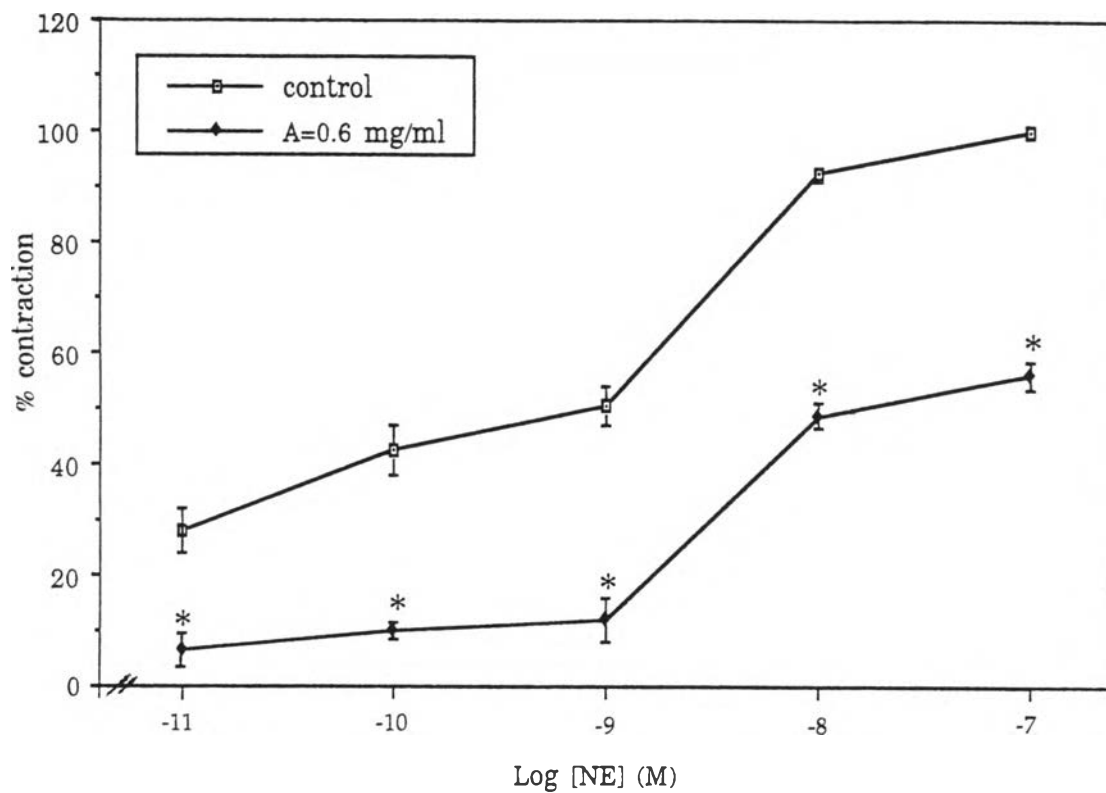
รูปภาพที่ 21 แสดงผลของ 95 % ethanol ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว เมื่อกระตุ้นด้วย NE แบบ cumulative dose-response curve ใน Krebs-Henseleit solution



รูปภาพที่ 22 แสดงผลของ 95 % ethanol ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ หลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว เมื่อกระตุ้นด้วย NE แบบ cumulative dose-response curve ใน Krebs-Henseleit solution กราฟแสดงค่าเฉลี่ย  $\pm$  ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย จำนวนการทดลอง (n) = 8

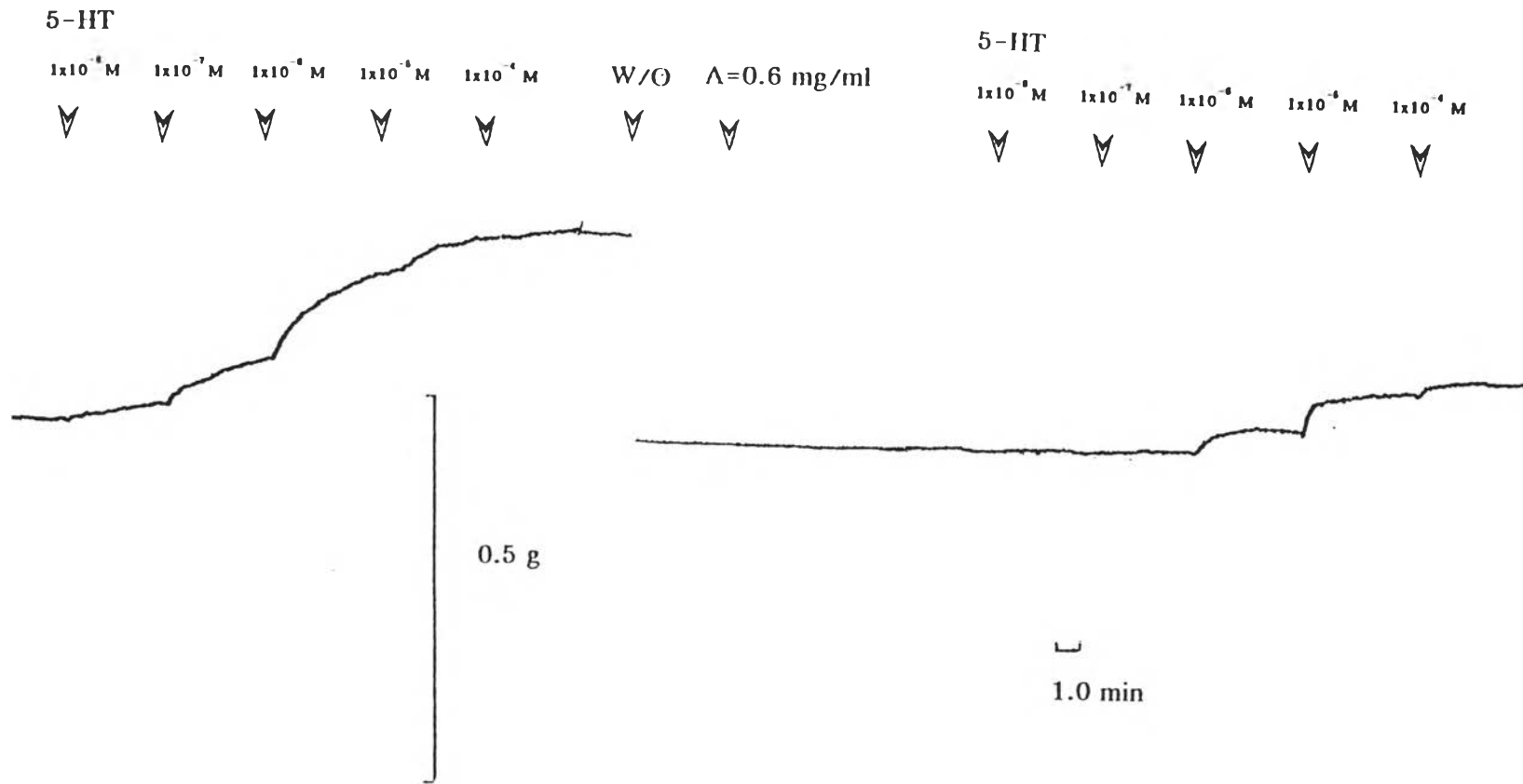


รูปภาพที่ 23 แสดงผลของสารสกัดด้วยเอทานอลจากรากสามสิบ (A) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว เมื่อกระตุ้นด้วย NE: แบบ cumulative dose-response curve ใน Krebs-Henseleit solution



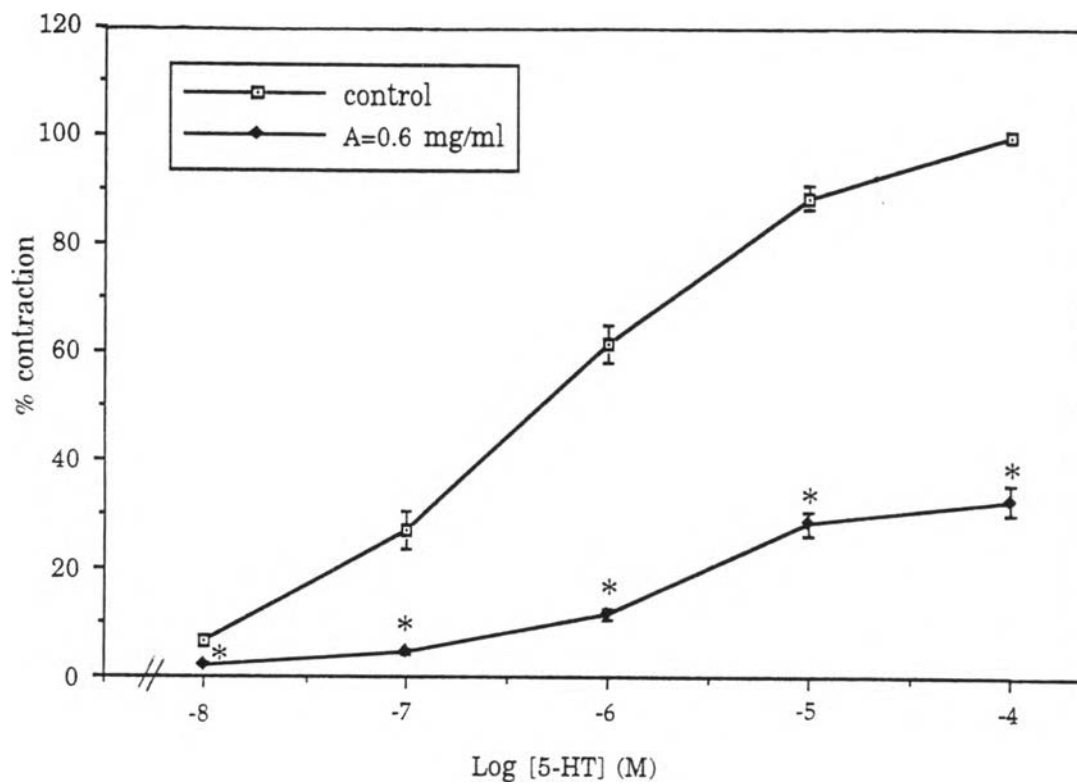
รูปภาพที่ 24 แสดงผลของสารสกัดด้วยเอทานอลจากรากสามสิบ (A) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว เมื่อกระตุ้นด้วย NE แบบ cumulative dose-response curve ใน Krebs-Henseleit solution กราฟแสดงค่าเฉลี่ย  $\pm$  ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย จำนวนการทดลอง (n) = 8

\* แสดงถึง ความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)



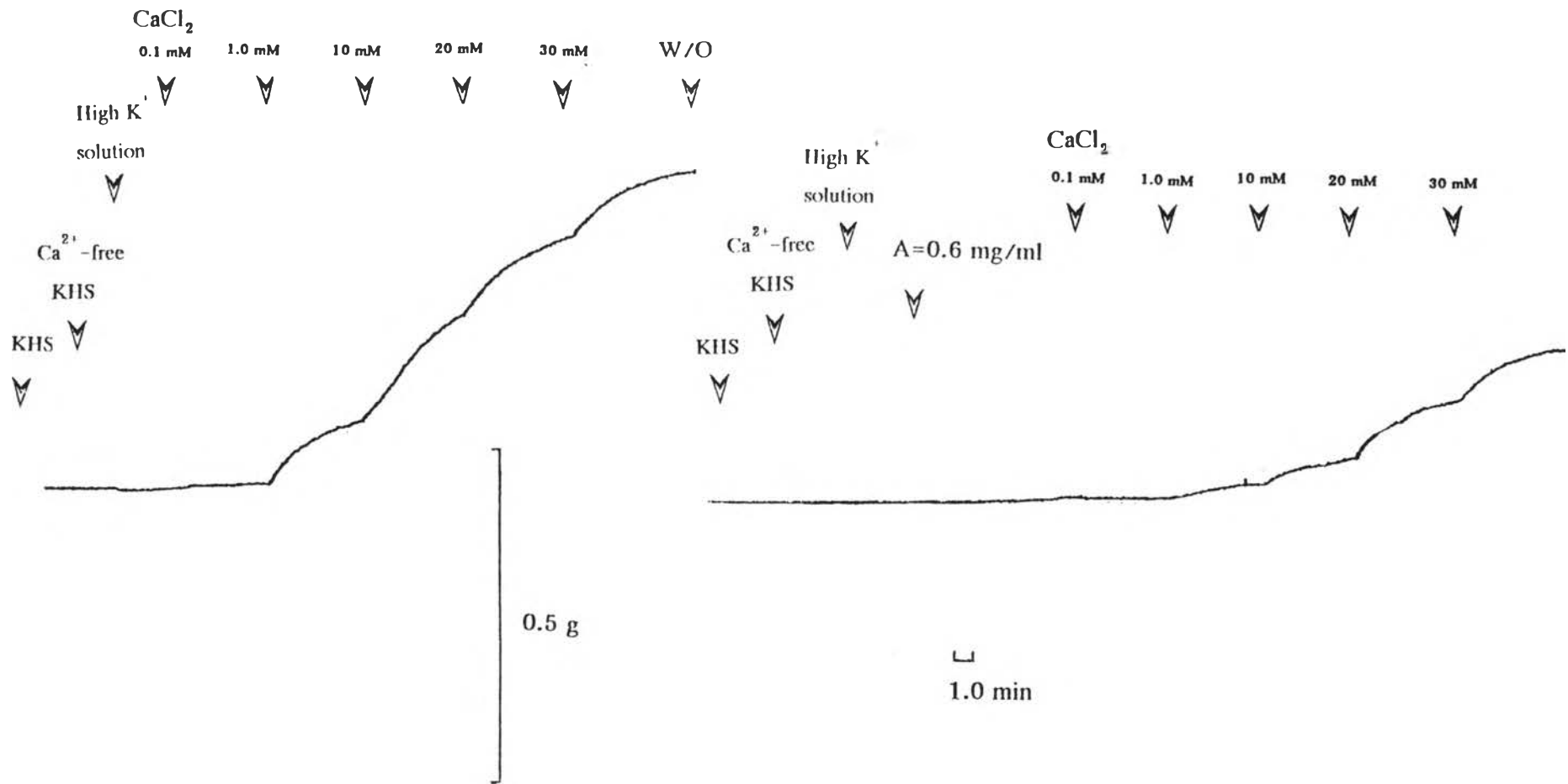
รูปภาพที่ 25 แสดงผลของสารสกัดด้วยเอธานอลจากรากสามสิบ (A) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาวเมื่อกระตุ้นด้วย 5-HT แบบ cumulative dose-response curve ใน Krebs-Henseleit solution



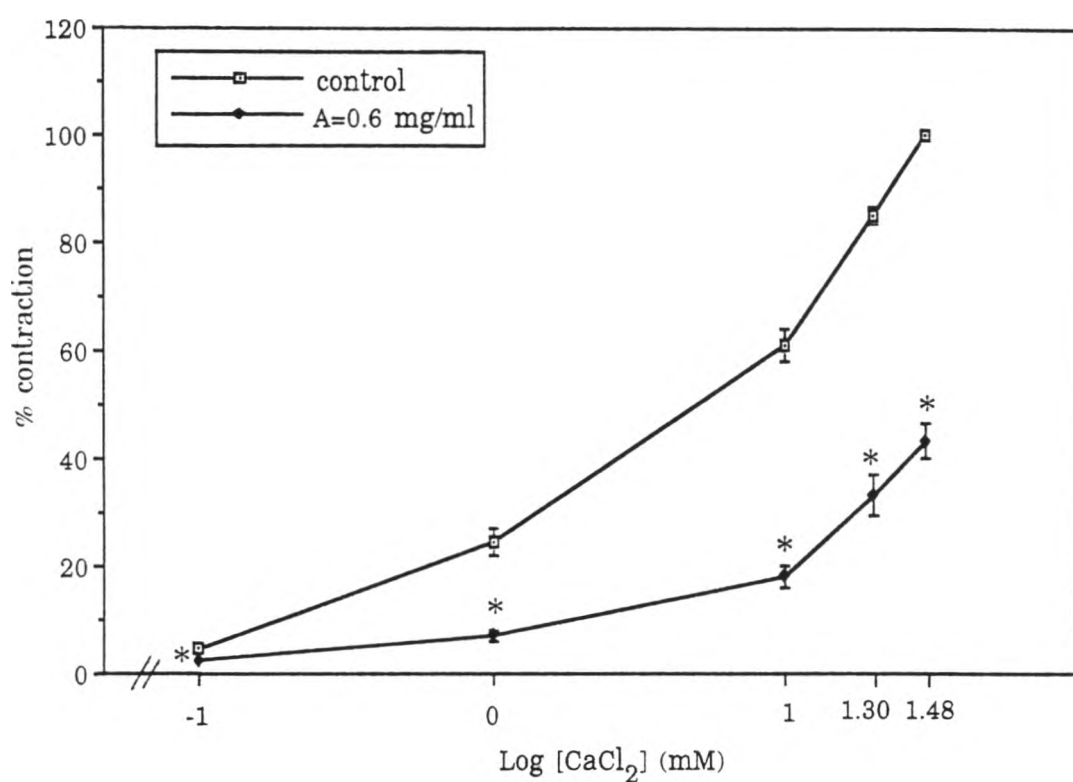


รูปภาพที่ 26 แสดงผลของสารสกัดด้วยเอทานอลจากรากสามสิบ (A) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาว เมื่อกระตุ้นด้วย 5-HT แบบ cumulative dose-response curve ใน Krebs-Henseleit solution กราฟแสดงค่าเฉลี่ย ± ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย จำนวนการทดลอง (n) = 8

\* แสดงถึง ความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)



รูปภาพที่ 27 แสดงผลของสารสกัดด้วยเอทานอลจากรากสามสิบ (A) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาวเมื่อกระตุ้นด้วย  $\text{CaCl}_2$  แบบ cumulative dose-response curve ใน potassium depolarizing solution



รูปภาพที่ 28 แสดงผลของสารสกัดด้วยเอธานอลจากรากสามสิบ (A) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่หนูขาวเมื่อกระตุ้นด้วย  $\text{CaCl}_2$  แบบ cumulative dose-response curve ใน potassium depolarizing solution

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย  $\pm$  ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

จำนวนการทดลอง (n) = 8

\* แสดงถึง ความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  
( $P < 0.05$ )

ตอนที่ 3 การศึกษาผลของสารสกัดด้วย ethanol จากรากสามสิบต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ ลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภาที่แยกจากกาย

### 3.1 ศึกษาผลของตัวทำละลาย (95 % ethanol) ที่ใช้สกัดสารจากรากสามสิบต่อการหดตัวของลำไส้เล็กส่วน ileum เมื่อให้สารมาตรฐานกระตุ้นการหดตัว ACh

เมื่อให้สารกระตุ้นมาตรฐาน ACh กระตุ้นกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum แบบ cumulative dose โดยเริ่มที่ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-9}$  M,  $1 \times 10^{-8}$  M,  $1 \times 10^{-7}$  M,  $1 \times 10^{-6}$  M และ  $1 \times 10^{-5}$  M กล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum จะมีการหดตัวเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ จนถึง maximum contraction ซึ่งต้องใช้ความเข้มข้นของสารกระตุ้นมาตรฐาน ACh สูงสุดคือ  $1 \times 10^{-6}$  M ต่อจากนั้นก็ล้างเอา ACh ออกให้หมดแล้ว incubate ใหม่จนได้ baseline คงที่แล้วให้ 95 % ethanol ในปริมาตร 20  $\mu$ l ซึ่งเท่ากับปริมาตรของสารสกัดด้วย ethanol จากรากสามสิบที่ใช้ในการศึกษา แล้วเติมสารกระตุ้นมาตรฐาน ACh แบบ cumulative dose เหมือนตอนแรก

แรงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum จะเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับครั้งแรก (รูปภาพที่ 29) โดยการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum เพิ่ม  $2.44 \pm 1.85$  % ที่ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-6}$  M (รูปภาพที่ 30)

การเพิ่มแรงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีความนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) ทุกความเข้มข้นของสารกระตุ้นมาตรฐาน ACh

### 3.2 ศึกษาผลของสารสกัดด้วย ethanol จากรากสามสิบต่อการหดตัวของลำไส้เล็กส่วน ileum เมื่อให้สารมาตรฐานกระตุ้นการหดตัว ACh

เมื่อให้สารกระตุ้นมาตรฐาน ACh กระตุ้นกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum แบบ cumulative dose โดยเริ่มที่ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-9}$  M,  $1 \times 10^{-8}$  M,  $1 \times 10^{-7}$  M,  $1 \times 10^{-6}$  M และ  $1 \times 10^{-5}$  M กล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum จะมีการหดตัวเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ จนถึง maximum contraction ซึ่งต้องใช้ความเข้มข้นของสารกระตุ้นมาตรฐาน ACh สูงสุดคือ  $1 \times 10^{-6}$  M ต่อจากนั้นก็ล้างเอา ACh ออกให้หมดแล้ว incubate ใหม่จนได้ baseline คงที่แล้วให้สารสกัดด้วย ethanol จากรากสามสิบในขนาด 0.08 mg/ml แล้วเติมสารกระตุ้นมาตรฐาน ACh แบบ cumulative dose เหมือนตอนแรก

แรงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum จะลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับครั้งแรกและ spontaneous contraction ก็ลดลง (รูปภาพที่ 31) โดยการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้

เล็กส่วน ileum ลด  $51.17 \pm 2.89 \%$  ที่ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-6} \text{ M}$  (รูปภาพที่ 32)

แรงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ที่ลดลงนี้จะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ทุกความเข้มข้นของสารกระตุ้นมาตรฐาน ACh

### 3.3 ศึกษาผลของสารสกัดด้วย ethanol จากรากสามสิบต่อการหดตัวของลำไส้เล็กส่วน ileum เมื่อให้สารมาตรฐานกระตุ้นการหดตัว 5-HT

เมื่อให้สารกระตุ้นมาตรฐาน 5-HT กระตุ้นกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum แบบ cumulative dose โดยเริ่มที่ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-9} \text{ M}$ ,  $1 \times 10^{-8} \text{ M}$ ,  $1 \times 10^{-7} \text{ M}$ ,  $1 \times 10^{-6} \text{ M}$  และ  $1 \times 10^{-5} \text{ M}$  กล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum จะมีการหดตัวเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ จนถึง maximum contraction ซึ่งต้องใช้ความเข้มข้นของสารกระตุ้นมาตรฐาน 5-HT สูงสุดคือ  $1 \times 10^{-5} \text{ M}$  ต่อจากนั้นก็ล้างเอา 5-HT ออกให้หมดแล้ว incubate ใหม่จนได้ baseline คงที่แล้วให้สารสกัดด้วย ethanol จากรากสามสิบในขนาด  $0.08 \text{ mg/ml}$  แล้วเติมสารกระตุ้นมาตรฐาน 5-HT แบบ cumulative dose เหมือนตอนแรก

แรงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum จะลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับครั้งแรก และ spontaneous contraction ก็ลดลง (รูปภาพที่ 33) โดยการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ลด  $54.90 \pm 3.54 \%$  ที่ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-5} \text{ M}$  (รูปภาพที่ 34)

แรงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ที่ลดลงนี้จะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ทุกความเข้มข้นของสารกระตุ้นมาตรฐาน 5-HT

### 3.4 ศึกษาผลของสารสกัดด้วย ethanol จากรากสามสิบต่อการหดตัวของลำไส้เล็กส่วน ileum เมื่อให้สารมาตรฐานกระตุ้นการหดตัว histamine

เมื่อให้สารกระตุ้นมาตรฐาน histamine กล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum แบบ cumulative dose โดยเริ่มที่ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-9} \text{ M}$ ,  $1 \times 10^{-8} \text{ M}$ ,  $1 \times 10^{-7} \text{ M}$ ,  $1 \times 10^{-6} \text{ M}$  และ  $1 \times 10^{-5} \text{ M}$  กล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum จะมีการหดตัวเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ จนถึง maximum contraction ซึ่งต้องใช้ความเข้มข้นของสารกระตุ้นมาตรฐาน histamine สูงสุดคือ  $1 \times 10^{-6} \text{ M}$  ต่อจากนั้นก็ล้างเอา histamine ออกให้หมดแล้ว incubate ใหม่จนได้ baseline คงที่แล้วให้สารสกัดด้วยเอธานอลจากรากสามสิบในขนาด  $0.08 \text{ mg/ml}$  แล้วเติมสารกระตุ้นมาตรฐาน histamine แบบ cumulative dose เหมือนตอนแรก

แรงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum จะลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับครั้งแรก และ spontaneous contraction ก็ลดลง (รูปภาพที่ 35) โดยการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ลด  $58.07 \pm 3.56 \%$  ที่ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-6} \text{ M}$  (รูปภาพที่ 36)

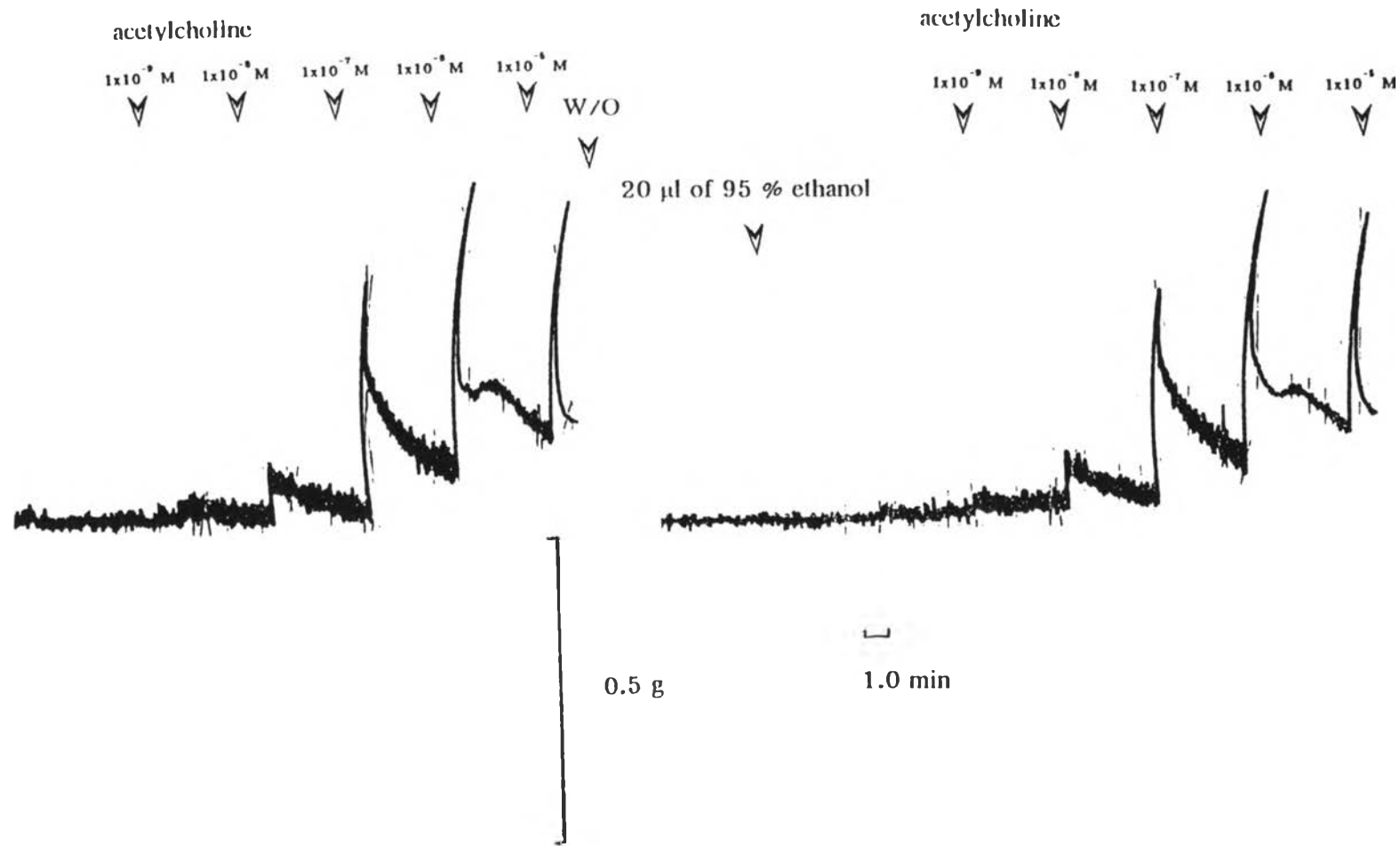
แรงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ที่ลดลงนี้จะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ทุกความเข้มข้นของสารกระตุ้นมาตรฐาน histamine

### 3.5 ศึกษาผลของสารสกัดด้วย ethanol จากรากสามสิบต่อการหดตัวของลำไส้เล็กส่วน ileum เมื่อให้สารมาตรฐานกระตุ้นการหดตัว $\text{BaCl}_2$

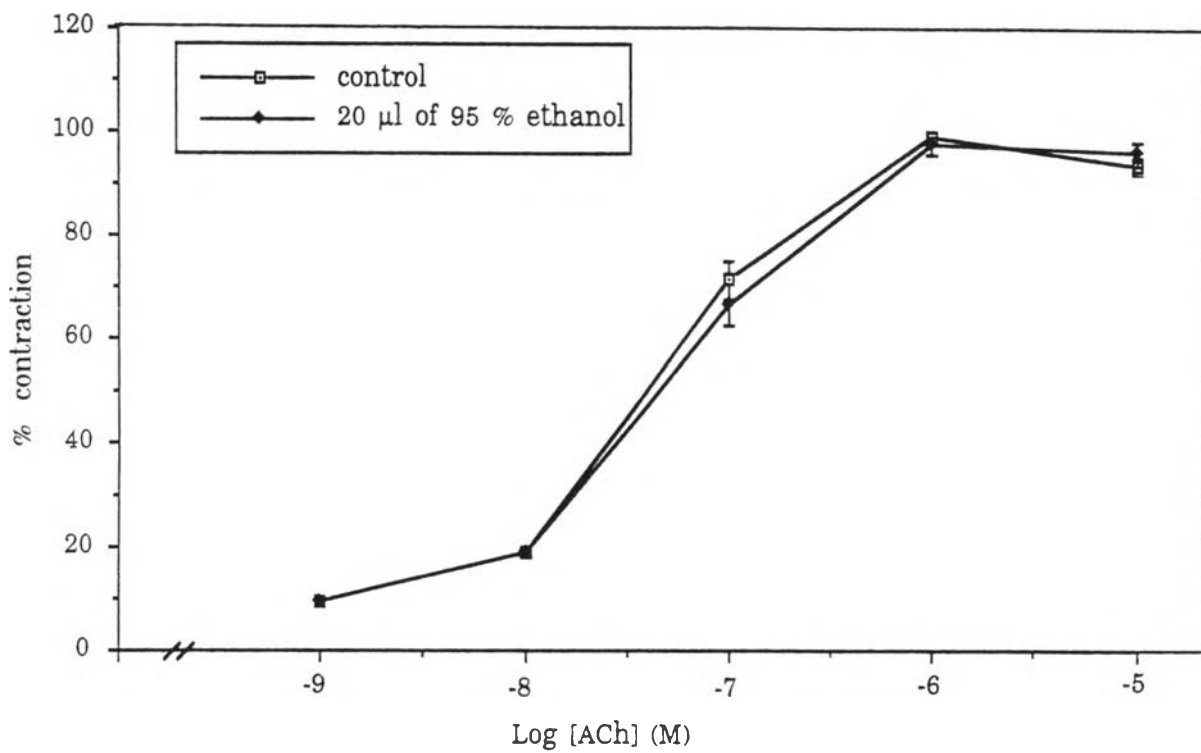
เมื่อให้สารกระตุ้นมาตรฐาน  $\text{BaCl}_2$  กระตุ้นกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum แบบ cumulative dose โดยเริ่มที่ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-5} \text{ M}$ ,  $5 \times 10^{-5} \text{ M}$ ,  $1 \times 10^{-4} \text{ M}$ ,  $5 \times 10^{-4} \text{ M}$  และ  $1 \times 10^{-3} \text{ M}$  กล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum จะมีการหดตัวเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ จนถึง maximum contraction ซึ่งต้องใช้ความเข้มข้นของสารกระตุ้นมาตรฐาน  $\text{BaCl}_2$  สูงสุดคือ  $5 \times 10^{-4} \text{ M}$  ต่อจากนั้นก็ล้างเอา  $\text{BaCl}_2$  ออกให้หมดแล้ว incubate ใหม่จนได้ baseline คงที่แล้วให้สารสกัดด้วย ethanol จากรากสามสิบในขนาด  $0.08 \text{ mg/ml}$  แล้วเติมสารกระตุ้นมาตรฐาน  $\text{BaCl}_2$  แบบ cumulative dose เหมือนตอนแรก

แรงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum จะลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับครั้งแรก และ spontaneous contraction ก็ลดลง (รูปภาพที่ 37) โดยการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ลด  $43.16 \pm 3.81 \%$  ที่ความเข้มข้น  $5 \times 10^{-4} \text{ M}$  (รูปภาพที่ 38)

แรงการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ที่ลดลงนี้จะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ทุกความเข้มข้นของสารกระตุ้นมาตรฐาน  $\text{BaCl}_2$

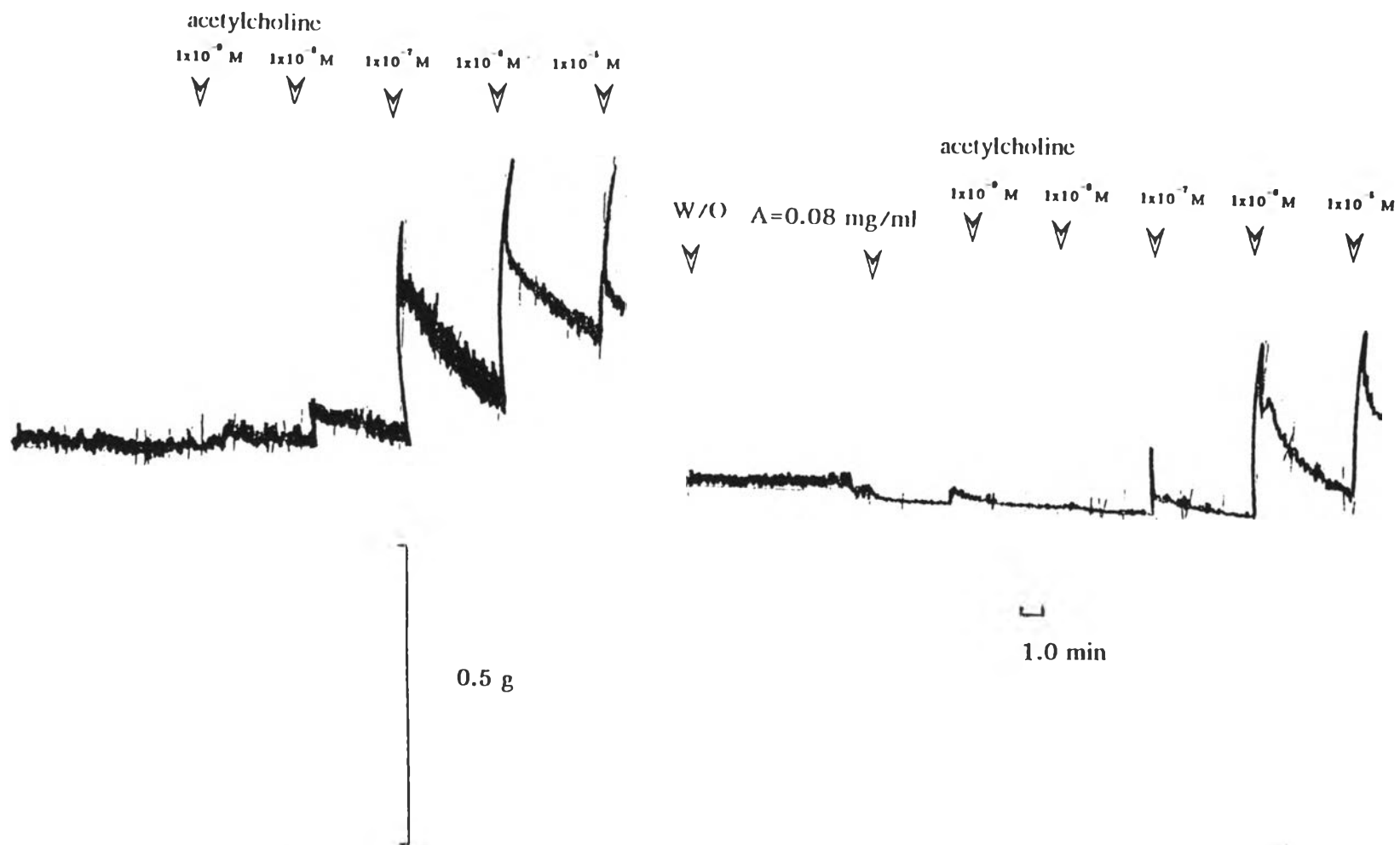


รูปภาพที่ 29 แสดงผลของ 95 % ethanol การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภา เมื่อกระตุ้นด้วย acetylcholine แบบ cumulative dose-response curve ใน Tyrode solution

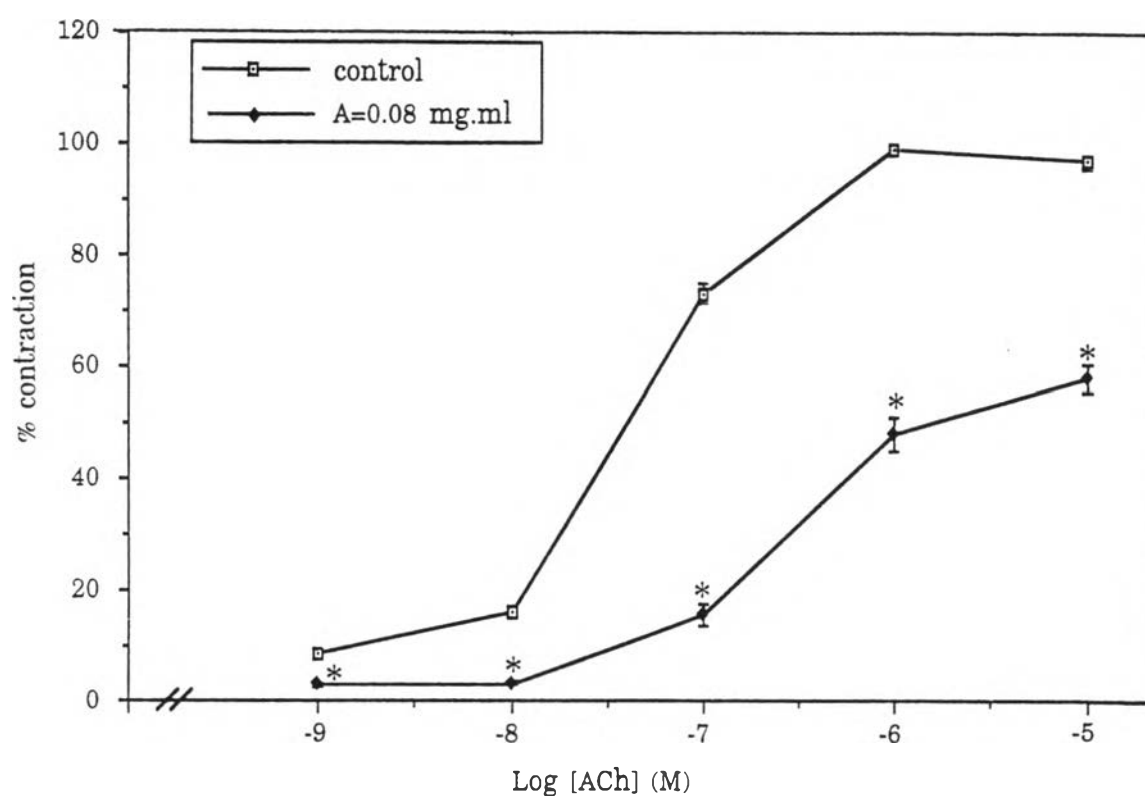


รูปภาพที่ 30 แสดงผลของ 95 % ethanol ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ ลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภา เมื่อกระตุ้นด้วย acetylcholine แบบ cumulative dose-response curve ใน Tyrode solution กราฟแสดงค่าเฉลี่ย  $\pm$  ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย จำนวนการทดลอง (n) = 8





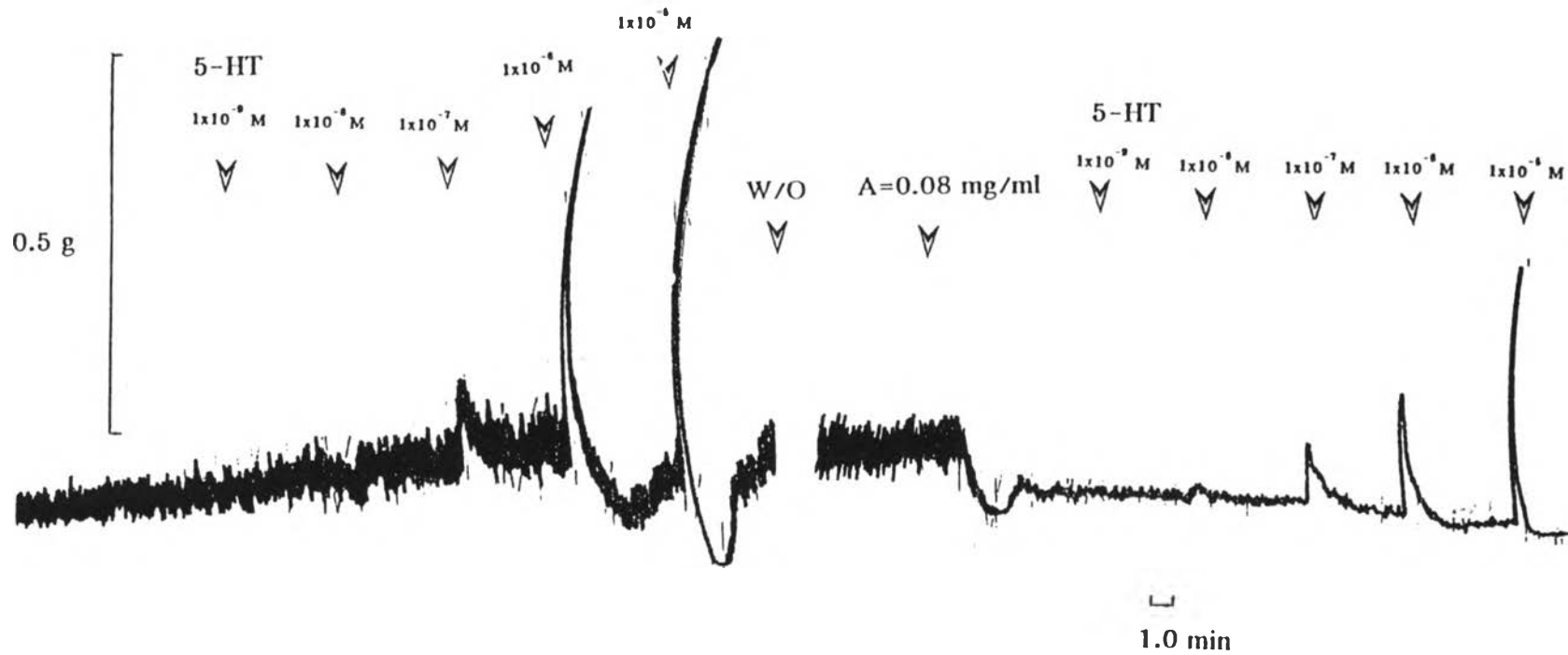
รูปภาพที่ 31 แสดงผลของสารสกัดด้วยเอทานอลจากรากสามสิบ ( $\Lambda$ ) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภา เมื่อกระตุ้นด้วย acetylcholine แบบ cumulative dose-response curve ใน Tyrode solution



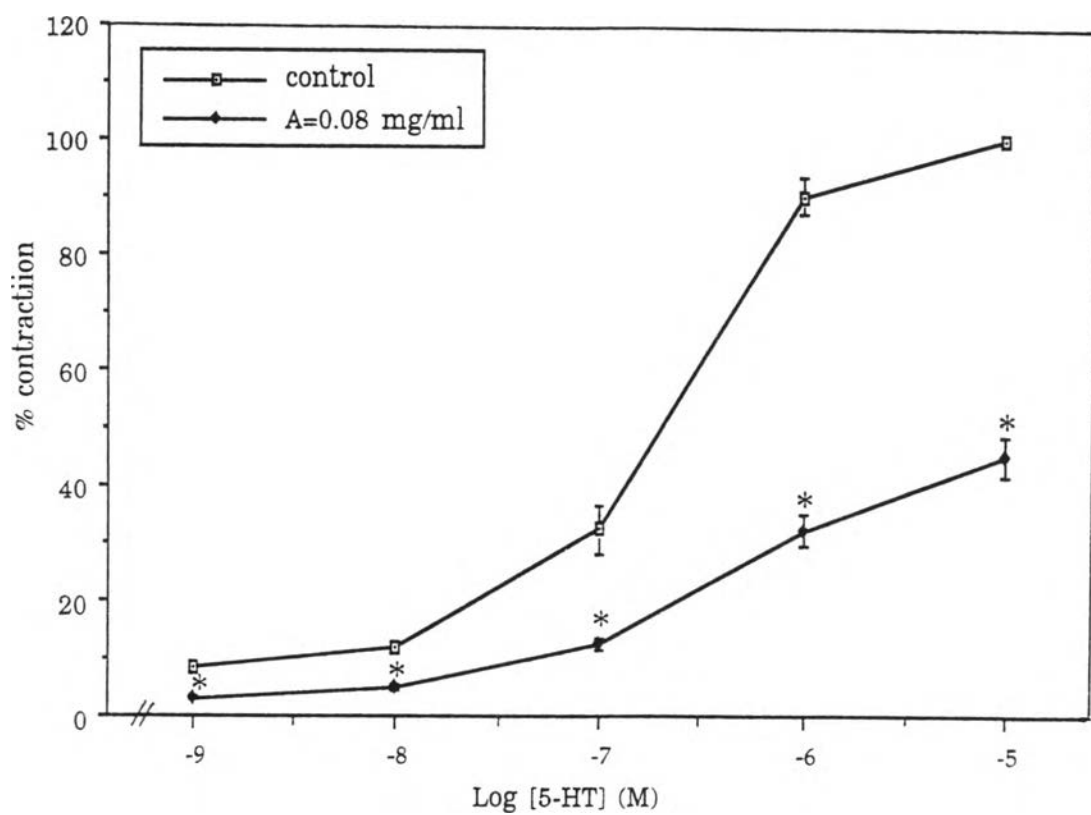
รูปภาพที่ 32 แสดงผลของสารสกัดด้วยเอทานอลจากรากสามสิบ (A) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภาเมื่อกระตุ้นด้วย acetylcholine แบบ cumulative dose-response curve ใน Tyrode solution

กราฟแสดงค่าเฉลี่ย + ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย  
จำนวนการทดลอง (n) = 8

\* แสดงถึง ความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  
( $P < 0.05$ )



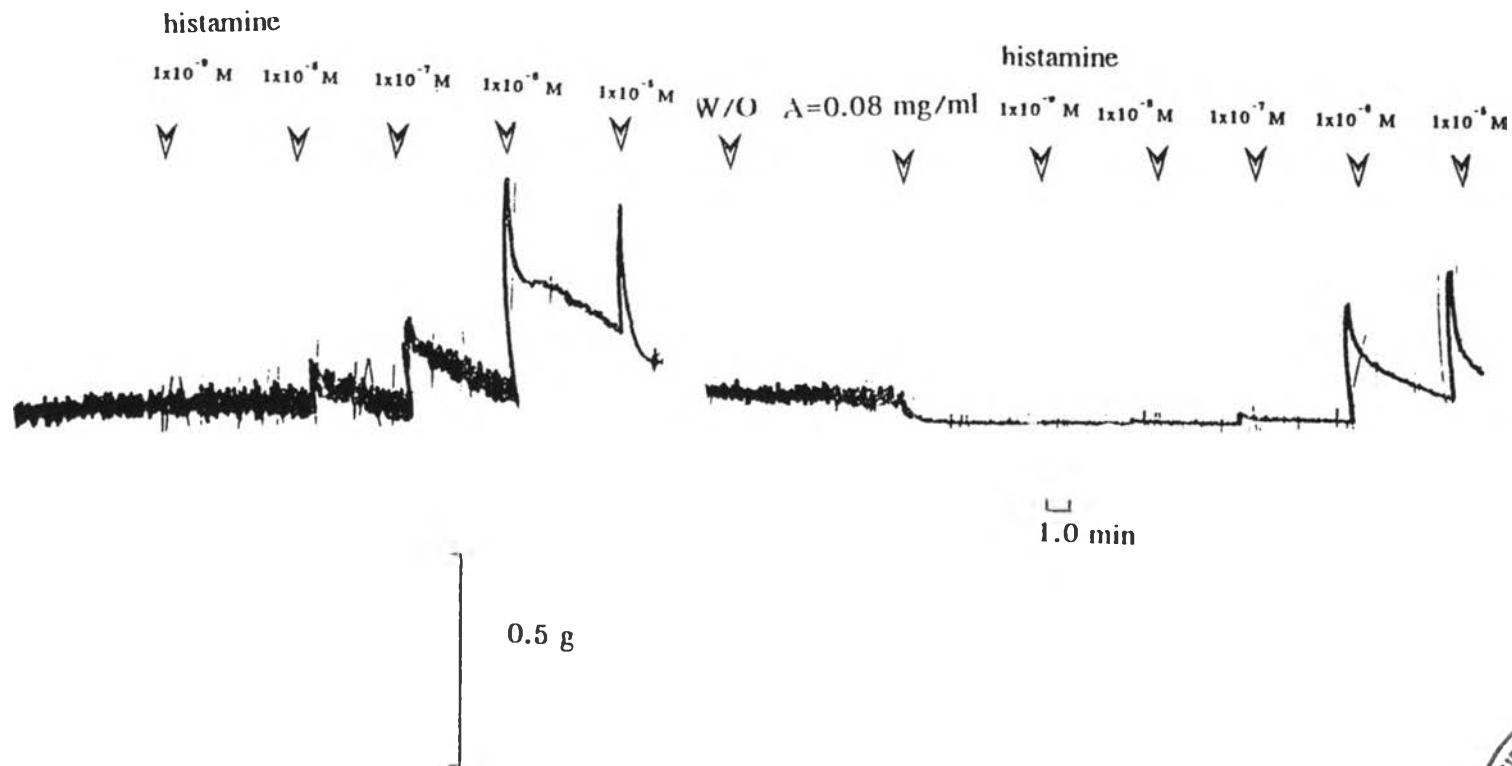
รูปภาพที่ 33 แสดงผลของสารสกัดด้วยเอทานอลจากรากสามสิบ (A) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภา เมื่อกระตุ้นด้วย 5-HT แบบ cumulative dose-response curve ใน Tyrode solution



รูปภาพที่ 34 แสดงผลของสารสกัดด้วยเอทานอลจากรากสามสิบ (A) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภาเมื่อกระตุ้นด้วย 5-HT แบบ cumulative dose-response curve ใน Tyrode solution

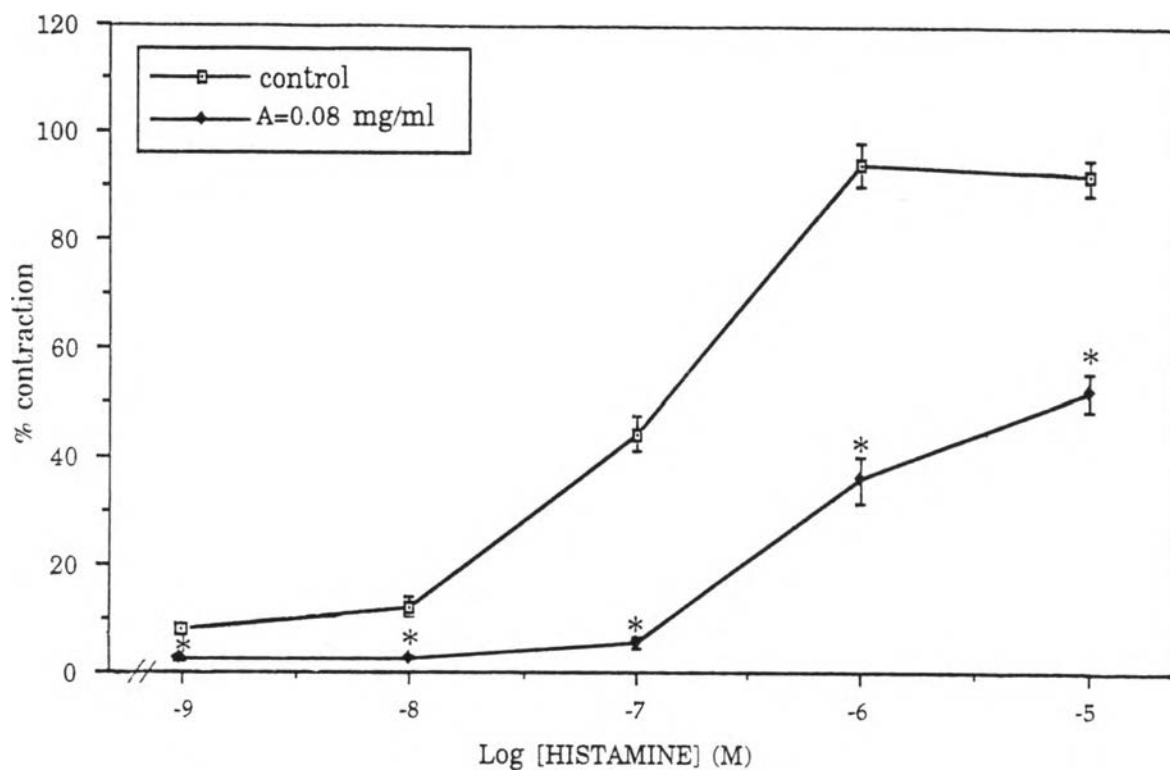
กราฟแสดงค่าเฉลี่ย + ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย  
จำนวนการทดลอง (n) = 8

\* แสดงถึง ความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

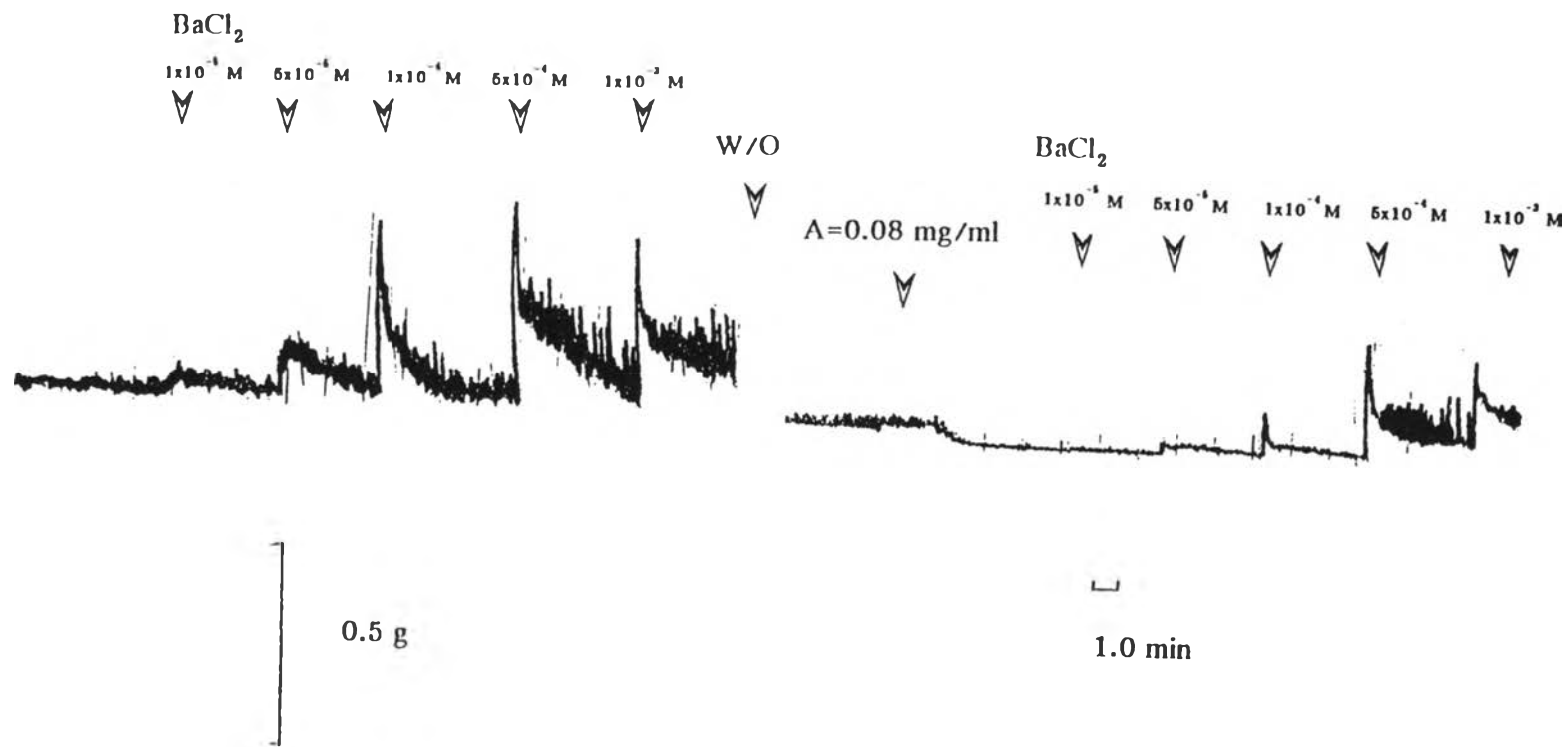


รูปภาพที่ 35 แสดงผลของสารสกัดด้วยเอธานอลจากรากสามสิบ (A) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภา เมื่อกระตุ้นด้วย histamine แบบ cumulative dose-response curve ใน Tyrode solution

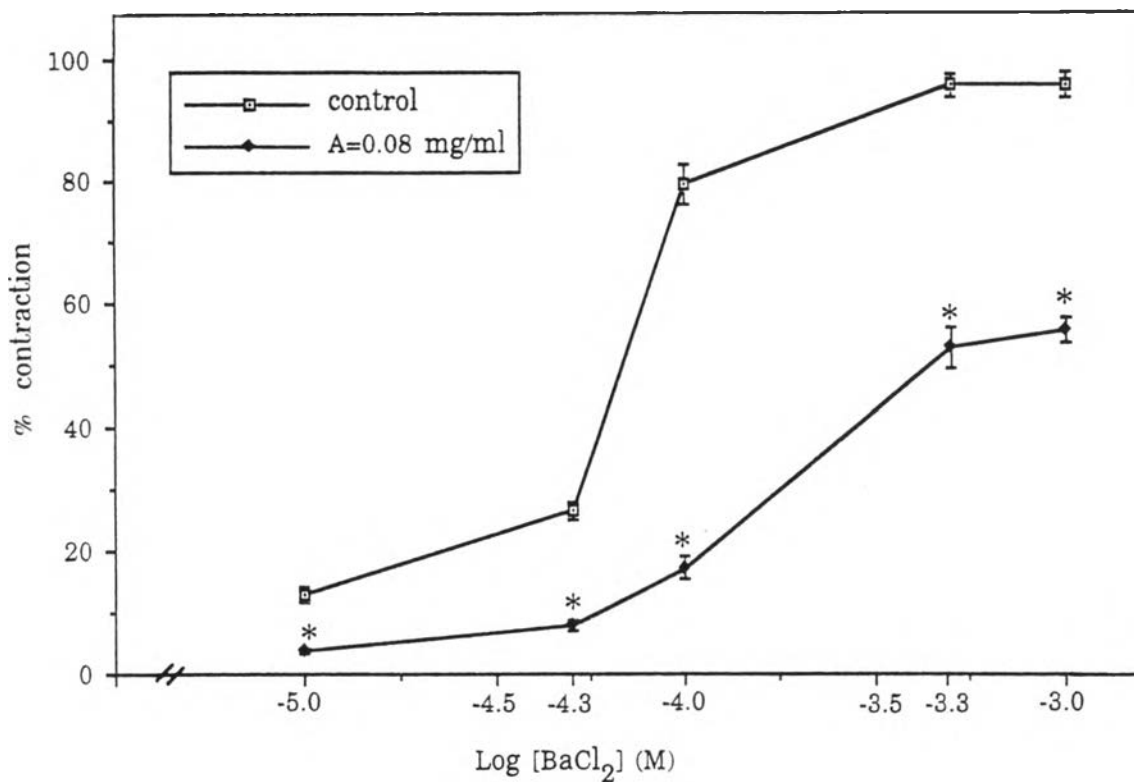




รูปภาพที่ 36 แสดงผลของสารสกัดด้วยเอธานอลจากรากสามสิบ (A) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภา เมื่อกระตุ้นด้วย histamine แบบ cumulative dose-response curve ใน Tyrode solution กราฟแสดงค่าเฉลี่ย  $\pm$  ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย จำนวนการทดลอง (n) = 8  
\* แสดงถึง ความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )



รูปภาพที่ 37 แสดงผลของสารสกัดด้วยเอทานอลจากรากสามสิบ (A) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภา เมื่อกระตุ้นด้วย BaCl<sub>2</sub> แบบ cumulative dose-response curve ใน Tyrode solution



รูปภาพที่ 38 แสดงผลของสารสกัดด้วยเอทานอลจากรากสามสิบ (A) ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลำไส้เล็กส่วน ileum ของหนูตะเภา เมื่อกระตุ้นด้วย BaCl<sub>2</sub> แบบ cumulative dose-response curve ใน Tyrode solution  
 กราฟแสดงค่าเฉลี่ย ± ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย จำนวนการทดลอง (n) = 8  
 \* แสดงถึง ความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)



### การทดสอบความคงตัวของสารสกัดด้วยเอทานอลจากรากสามสิบ

- ศึกษาผลของสารสกัดด้วย ethanol จากรากสามสิบต่อการหดตัวของมดลูกที่เกิดขึ้นเอง (spontaneous contraction) ในระยะเวลาที่ห่างจากการศึกษาครั้งแรก (ข้อ 1.1) 3 เดือน

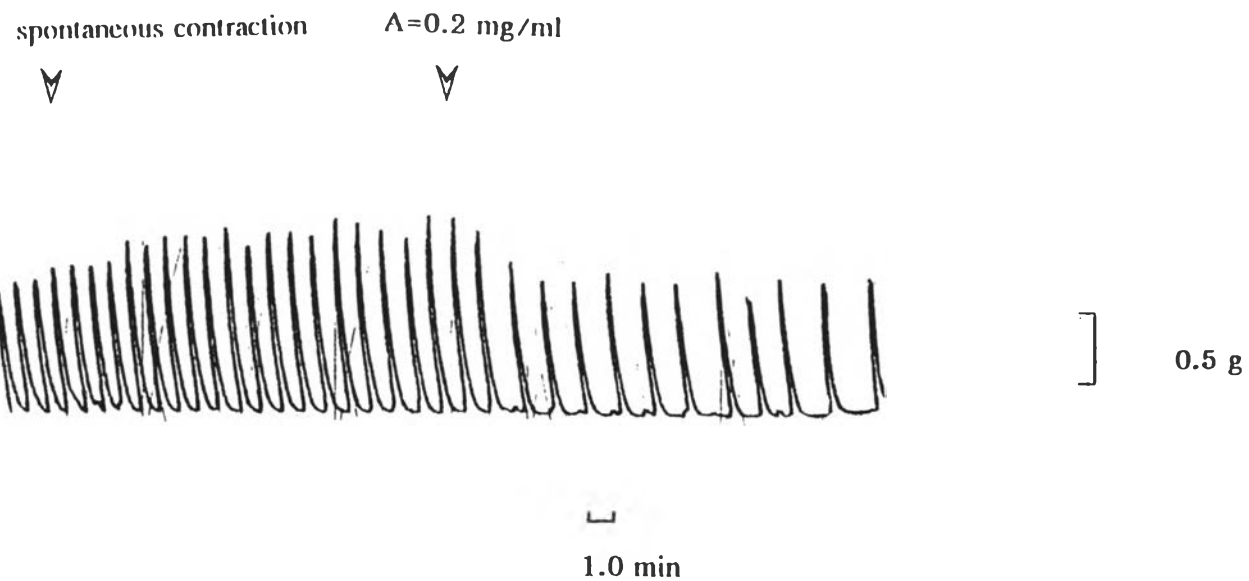
เมื่อมดลูกเกิด spontaneous contraction แล้วให้สารสกัดด้วยเอทานอลจากรากสามสิบ ในขนาด 0.2 mg/ml (final concentration) จะทำให้ทั้ง tension และ frequency ลดลง (รูปภาพที่ 39) โดยสามารถลด tension ได้  $20.73 \pm 2.96 \%$  (รูปภาพที่ 40) และลด frequency ได้  $21.02 \pm 2.23 \%$  (รูปภาพที่ 41)

ซึ่งการลดลงทั้ง tension และ frequency จะมีความแตกต่างจากก่อนการให้สารสกัดด้วยเอทานอลจากรากสามสิบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

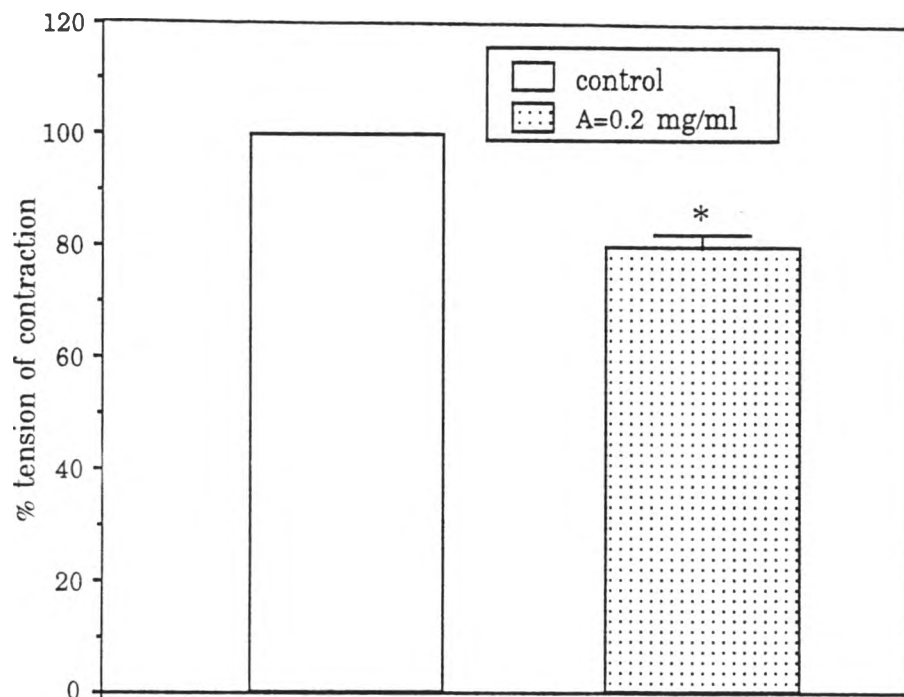
เมื่อเปรียบเทียบ ผลการทดลองระหว่างการศึกษาผลของสารสกัดด้วย ethanol จากรากสามสิบต่อการหดตัวของมดลูกที่เกิดขึ้นเอง (spontaneous contraction) เมื่อเริ่มต้นทำการวิจัยในครั้งแรก (หัวข้อการทดลอง ตอนที่ 1 ข้อ 1.1) กับการศึกษาผลของสารสกัดด้วย ethanol จากรากสามสิบต่อการหดตัวของ มดลูกที่เกิดขึ้นเอง (spontaneous contraction) ที่ทำการวิจัยก่อนสิ้นสุดการวิจัย (ระยะเวลาห่างกันประมาณ 3 เดือน) โดยเปรียบเทียบในหัวข้อดังต่อไปนี้

- เปรียบเทียบ tension หลังให้สารสกัดด้วย ethanol จากรากสามสิบ 0.2 mg/ml ผลปรากฏว่า tension จะมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) (รูปภาพที่ 42)

- เปรียบเทียบ frequency หลังให้สารสกัดด้วย ethanol จากรากสามสิบ 0.2 mg/ml ผลปรากฏว่า frequency จะมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) (รูปภาพที่ 43)

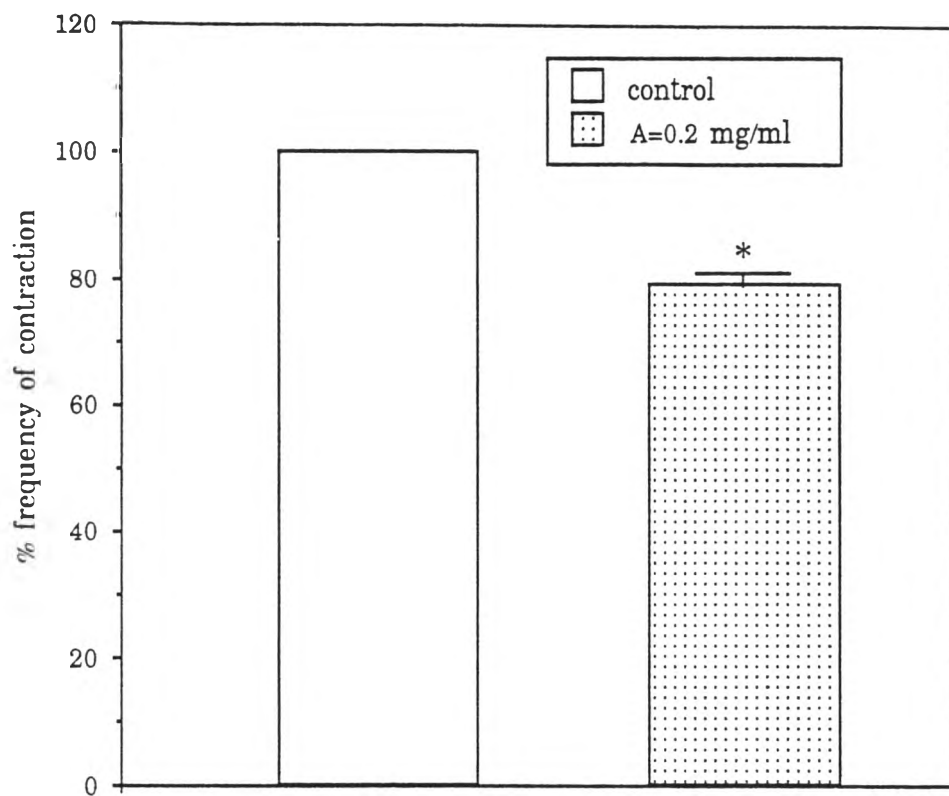


รูปภาพที่ 39 แสดงผลของสารสกัดด้วยเอธานอลจากรากสามสิบ (A) ต่อการหดตัวที่เกิดขึ้นเอง (spontaneous contraction) ของกล้ามเนื้อเรียบมดลูกหนูขาว ใน De Jalon solution เมื่อเวลาผ่านไป 3 เดือน



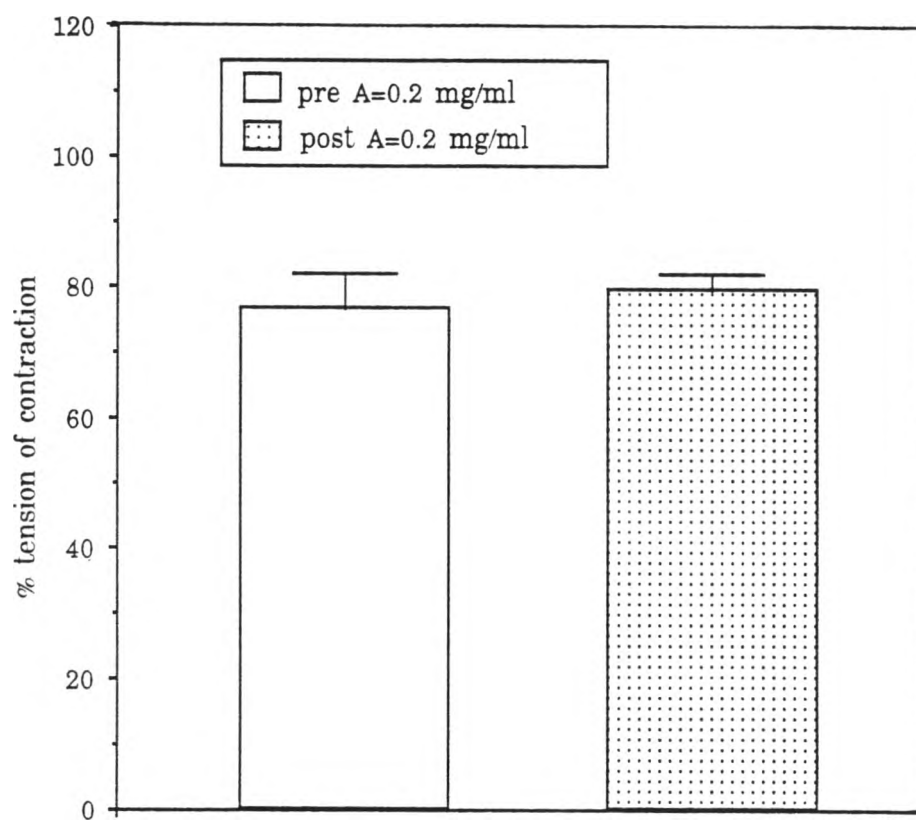
รูปภาพที่ 40 แสดงผลของสารสกัดด้วยเอธานอลจากรากสามสิบ (A) ต่อแรงในการ  
ในการหดตัวที่เกิดขึ้นเอง (spontaneous contraction) ของกล้ามเนื้อ  
เรียบมดลูกหนูขาวใน De Jalon solution เมื่อเวลาผ่านไป 3 เดือน  
กราฟแสดงค่าเฉลี่ย + ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย  
จำนวนการทดลอง (n) = 8

\* แสดงถึง ความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  
( $P < 0.05$ )

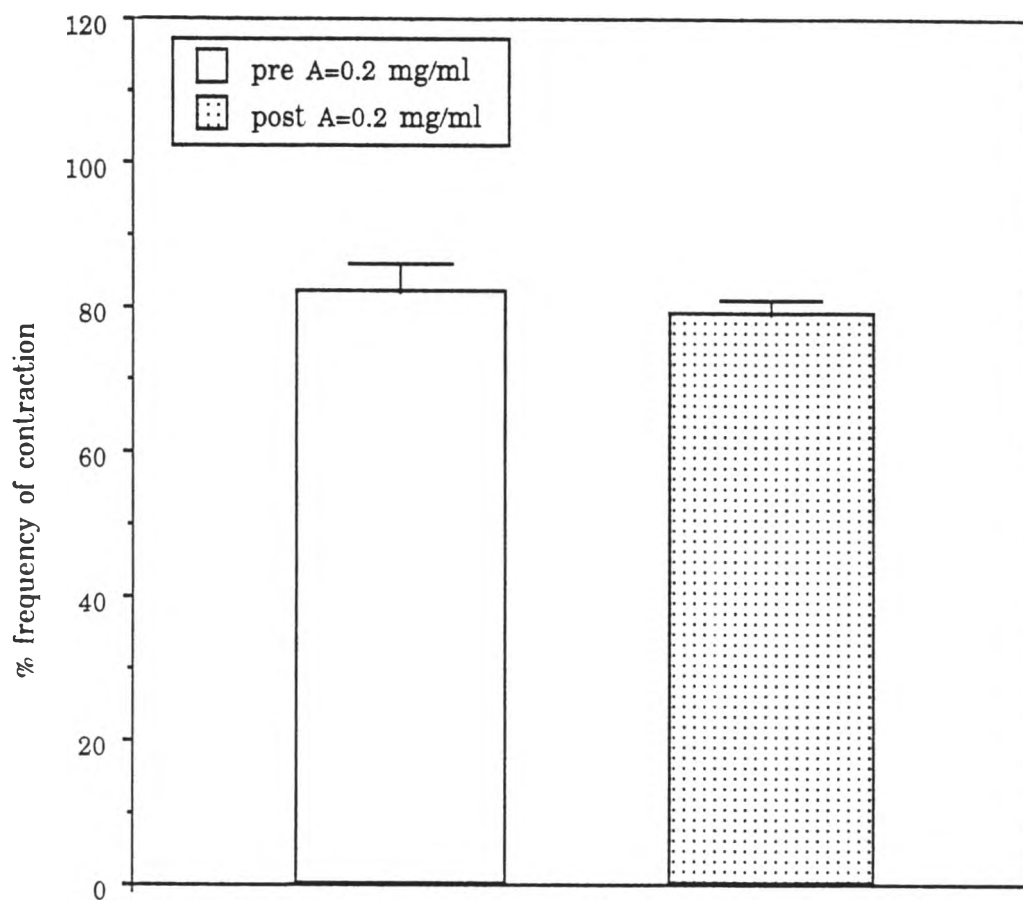


รูปภาพที่ 41 แสดงผลของสารสกัดด้วยเอธานอลจากรากสามสิบ (A) ต่อความถี่ในการหดตัวที่เกิดขึ้นเอง (spontaneous contraction) ของกล้ามเนื้อเรียบมดลูกหนูขาวใน De Jalon solution เมื่อเวลาผ่านไป 3 เดือน  
กราฟแสดงค่าเฉลี่ย ± ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย  
จำนวนการทดลอง (n) = 8

\* แสดงถึง ความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  
( $P < 0.05$ )



รูปภาพที่ 42 เปรียบเทียบผลของสารสกัดด้วยเอธานอลจากรากสามสิบ (A) ต่อแรงในการหดตัวที่เกิดขึ้นเอง (spontaneous contraction) ของกล้ามเนื้อเรียบมดลูกหนูขาวใน De Jalon solution ตั้งแต่เริ่มทำการวิจัยกับเมื่อการวิจัยสิ้นสุดลง ระยะเวลาห่างกัน 3 เดือน  
กราฟแสดงค่า เฉลี่ย  $\pm$  ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย  
จำนวนการทดลอง (n) = 8



รูปภาพที่ 43 เปรียบเทียบผลของสารสกัดด้วยเอทานอลจากรากสามสิบ (A) ต่อความถี่ในการหดตัวที่เกิดขึ้นเอง (spontaneous contraction) ของกล้ามเนื้อเรียบมดลูกหนูขาวใน De Jalon solution ตั้งแต่เริ่มทำการวิจัยกับเมื่อการวิจัยสิ้นสุดลงระยะเวลาห่างกัน 3 เดือน  
 กราฟแสดงค่าเฉลี่ย  $\pm$  ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย  
 จำนวนการทดลอง (n) = 8