รหัสโครงการSUT3-305-52--24-21

รายงานการวิจัย

การทดสอบความเป็นพิษกึ่งระยะยาวของสารสกัดรางจืดในหนูขาว

(Sub chronic toxicity studies of Rang Chuet extracts in rats)

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

รหัสโครงการSUT3-305-52-24-21

รายงานการวิจัย

การทดสอบความเป็นพิษกึ่งระยะยาวของสารสกัดรางจืดในหนูขาว

(Sub chronic toxicity studies of Rang Chuet extracts in rats)

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

ดร.รัชฎาพร อุ่นศิวิไลย์

สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร

สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีปีงบประมาณ 2552

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

มิถุนายน 2555

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ รศ.ดร.บรรจบ ศรีภา อาจารย์ประจำคณะแพทย์ศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และคุณสุวิทย์ บาลไธสง ให้ความช่วยเหลือในการตัดเนื้อเยื่อและทำสไลด์อวัยวะให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.เบญจมาศ จิตรสมบูรณ์ที่กรุณาให้คำปรึกษา ชี้แนะ และให้ความช่วยเหลือในการศึกษาวิจัยอย่างดียิ่งตลอดมา และนักศึกษาปริญญาเอกและโท สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร สำนักเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่อำนวยความสะดวกให้ความช่วยเหลือในการทำวิจัย

ขอขอบคุณวันชัย จอกกระโทก และเจ้าหน้าที่ประจำศูนย์เครื่องมือ 1, 3 และ 9 คุณวัชระ วงค์วิริยะ และเจ้าหน้าที่ประจำที่อาคารสัตว์ทดลอง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ทุกท่านที่เสียสละเวลาให้ความช่วยเหลือ และอำนวยความสะดวกแก่ผู้วิจัยด้วยดีตลอดมา ขอบคุณโรงพยาบาลครบุรีสำหรับวัตถุดิบรางจืด เพื่อใช้ในการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ 2552

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทคัดย่อ

รางจืด (*Thunbergi laurifolia* Linn.) เป็นพืชสมุนไพรที่มีคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาได้แก่ฤทธิ์ต้านยาฆ่าแมลงและสารเคมี ลดการติดสารเสพติด รวมทั้งแก้พิษไข้ จึงได้มีการนำไปใช้ในการแก้พิษหลายชนิดในรูปของชาชงดื่มและแคปซูลในวงการแพทย์แผนโบราณ แต่ยังไม่มีรายงานการศึกษาความเป็นพิษในรูปแบบของสารสกัดในสารละลายชนิดต่าง ๆ มาก่อนการวิจัยครั้งนี้จึงได้ศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันของสารสกัดรางจืดโดยการเตรียมในสารละลาย 3 ชนิดได้แก่ น้ำ เอทานอล และอะซีโตน เมื่อบริโภคขนาดสูง โดยใช้หนูขาวสายพันธุ์ Wistar ทั้งเพศผู้และเมียเป็นสัตว์ทดลองผลการทดลองพบว่าสารสกัดรางจืดในสารละลาย 3 ชนิด ขนาด 2,000 และ 15,000 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ไม่เปลี่ยนแปลงพฤติกรรมโดยทั่วไป และไม่เปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวของหนูขาว รวมทั้งไม่พบความผิดปกติของอวัยวะภายในทั้งหมด ในการศึกษาความเป็นพิษกึ่งระยะยาวของสารสกัดรางจืดน้ำและเอทานอลขนาดเทียบเท่าการดื่มชาในคน (1.46 และ 1.025 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ) เป็นระยะเวลา 90 วัน โดยมีกลุ่มควบคุมและกลุ่มย้อนกลับ(หยุดสารสกัด และสังเกตอาการต่ออีก 14 วัน) พบว่าไม่เปลี่ยนแปลงพฤติกรรมโดยทั่วไป และน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นตามปกติ ส่วนน้ำหนักของอวัยวะ ปอด ตับ ม้าม อวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้และเมีย ไม่แตกต่างทางกันทางสถิติ ยกเว้นน้ำหนักสัมพัทธ์เฉลี่ยของหัวใจ และไต มีแนวโน้มมีขนาดเล็กลง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($p<0.05$) ส่วนค่าทางเคมีคลินิค (RBC, WBC, Hemoglobin, hematocrit, PMN, PCV, MCV, MCH, MCHC, RDW,MPV) ค่าเลือดทางโลหิตวิทยา (BUN, creatinine, albumin) และเอนไซม์ในตับ (AST, ALT, ALP) พบว่าค่าทางเคมีคลินิคและค่าเอนไซม์ในตับไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ยกเว้นกลุ่มเพศผู้ที่ได้รับสารสกัดรางจืดเอทานอล พบว่า มีค่าเฉลี่ยระดับ ALT สูงขึ้น เท่ากับ 41.53±24.65 U/L จากกลุ่มควบคุมเท่ากับ 32.40±6.65 U/L อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และกลุ่มศึกษาผลย้อนกลับที่ได้รับสารสกัดรางจืดเอทานอลในหนูเพศผู้ พบว่า มีค่าเฉลี่ยของระดับ AST มีค่าลดลง เท่ากับ 108.20± 15.80 U/L จากกลุ่มควบคุมเท่ากับ 156.00±64.85 U/L อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และค่า creatinine กลุ่มย้อนกลับที่ได้รับสารสกัดรางจืดน้ำในเพศเมียมีค่าเพิ่มขึ้นจากกลุ่มควบคุม 0.89±0.14 อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ส่วนการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ โดยวัดระดับของ malondiadehyde (MDA) พบว่าในเพศผู้กลุ่มทดสอบที่ได้รับน้ำมีค่าลดลงมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.05$)

คำสำคัญ: สารสกัดรางจืด ความเป็นพิษกึ่งระยะยาว หนูขาว

Abstract

Rang Chuet (*Thunbergia laurifolia* Linn.) is Thai medicinal plant with pharmacological properties, such as antidote for many toxic substances in pesticide and others, drug addicted reduction, and decrease body temperature. This study investigated sub-chronic toxicity of Rang Chuet extract for safety concern in human use.In the determine acute toxicity studies of Rang Chuet in rats at 2,000 and 15,000 mg per kg body weight of three Rang Chuet extracts by using different solvents including water, ethanol, and acetone extraction. An acute toxicity study was performed by using both sexes of Wistar rats. The results revealed that all three types of Rang Chuet leave extract at a single dose of 2,000 mg per kg bodyweight did not alter the general behavior and the feature of the visceral organs of rats. In addition, the extracts with oral dose of 15,000 mg per kg bodyweight did not produce mortal or change in gross morphology of the internal organs of the rats, as well as no histological changes of visceral organs in every group were found.In sub-chronic toxicity study was performed using Wistar rats of both sexes (5 of each sex in each group) were gavarged with suspension of ethanol and water Rang Chuet extracts at dose 1.025 and 1.46 mg/body weight/day, respectively (quality of consumer drink for three times per day) for 90 days. In the satellite group were given the suspension at the same dose for 90 days and observed thereafter 14 days in order to study the reversibility of adverse effects.The result of study showed treated ethanol and water Rang chuet extracts were no significant effect on average body weight, relative organ weight(heart, lungs, liver, kidneys, adrenal gland, spleen, testis or ovary), histopathology of organ, clinical biochemistry(blood urea nitrogen, albumin, creatinine), hematological parameters(RBC, WBC, hemaglobin, hematocrit, PMN, PCV, MCV, MCH, MCHC, RDW, MPV) and liver enzymes (alkaline phosphate, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase) except, increase ALT in male rat treated ethanol Rang chuet extracts group ($p<0.05$) and decrease AST in male treated ethanol Rang chuet extracts satellite group and increase Creatinine in female treated water Rang chuet extracts satellite group. In addition, malondialdehyde assay, a by product of lipid peroxidation, when compared with control group showed decrease in male rat treated water Rang chuet extract group ($p<0.01$).

Keywords: Rang Chuet extracts, Sub chronic toxicity, Wistar rat

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ	ช
บทที่ 1 บทนำ	
ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
ขอบเขตของการวิจัย	2
ทฤษฎีและกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย	3
การทบทวนวรรณกรรม สารสนเทศ ที่เกี่ยวข้อง.....	4
ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย	6
แผนการถ่ายทอดเทคโนโลยีหรือผลการวิจัยสู่กลุ่มเป้าหมาย.....	6
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	7
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	
การเตรียมสัตว์ทดลอง และวิธีการวิจัย.....	23
การเตรียมสารสกัด.....	27
การศึกษาความเป็นพิษ.....	28
สถิติและการวิเคราะห์ข้อมูล.....	30
สถานที่ทำการทดลองและเก็บตัวอย่าง.....	30
บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล	
อภิปรายผล	31
บทที่ 5 บทสรุป	
สรุปผลการวิจัย	57
บรรณานุกรม.....	58

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

ประวัติคณะผู้วิจัย ……..... 62

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1: ระดับความเป็นพิษตามปริมาณของสารที่ทำให้เกิดการตายในมนุษย์แบบเฉียบพลัน 8

ตารางที่ 2.2: การจัดลำดับความเป็นพิษของสารเคมีในระยะความเป็นพิษอย่างเฉียบพลัน 9

ตารางที่ 2.3: กรงที่เหมาะสมสำหรับเลี้ยงหนูขาว 12

ตารางที่ 2.4: ค่าอ้างอิงทางโลหิตวิทยา และเคมีคลินิกของหนูสายพันธุ์ Wistar 14

ตารางที่ 4.1: การเปรียบเทียบน้ำหนักตัวเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นของหนูเพศผู้ 39

ตารางที่ 4.2: การเปรียบเทียบน้ำหนักตัวเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นของหนูเพศเมีย 40

ตารางที่ 4.3: การเปรียบเทียบน้ำหนักสัมพัทธ์เฉลี่ยของอวัยวะของหนูเพศผู้ 41

ตารางที่ 4.4: การเปรียบเทียบน้ำหนักสัมพัทธ์เฉลี่ยของอวัยวะของหนูเพศเมีย 42

ตารางที่ 4.5: การเปรียบเทียบน้ำหนักตัวเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นของหนูเพศผู้ ในแต่ละสัปดาห์ 43

ตารางที่ 4.6: การเปรียบเทียบน้ำหนักตัวเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นของหนูเพศเมีย ในแต่ละสัปดาห์ 44

ตารางที่ 4.7: การเปรียบเทียบน้ำหนักสัมพัทธ์เฉลี่ยของอวัยวะของหนูเพศผู้ 45

ตารางที่ 4.8: การเปรียบเทียบน้ำหนักสัมพัทธ์เฉลี่ยของอวัยวะของหนูเพศเมีย 46

ตารางที่ 4.9: การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยทางโลหิตวิทยาของหนูเพศผู้ 47

ตารางที่ 4.10: การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยทางโลหิตวิทยาของหนูเพศเมีย 48

ตารางที่ 4.11: การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยทางเคมีคลินิกของหนูเพศผู้ 49

ตารางที่ 4.12: การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยทางเคมีคลินิกของหนูเพศเมีย 50

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญรูปภาพ

	หน้า
รูปที่1.1 รางจืด	4
รูปที่2.1 ลักษณะของใบรางจืด	16
รูปที่2.2 การลดปริมาณสารสื่อประสาทโดยการจับกับ nicotinic receptors ที่รอยต่อประสาทกับกล้ามเนื้อ	18
รูปที่4.1 แสดงลักษณะทางจุลกายวิภาคของตับเพศผู้	51
รูปที่4.2 แสดงลักษณะทางจุลกายวิภาคของตับเพศเมีย	52
รูปที่4.3 แสดงลักษณะทางจุลกายวิภาคของไต (glomerulus) เพศผู้	53
รูปที่4.4 แสดงลักษณะทางจุลกายวิภาคของไต (glomerulus) เพศเมีย	54
รูปที่4.5 แสดงลักษณะทางจุลกายวิภาคของต่อมหมวกไตในชั้น cortex เพศผู้	55
รูปที่4.6 แสดงลักษณะทางจุลกายวิภาคของต่อมหมวกไตในชั้น cortex เพศเมีย	56

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 1

บทนำ

1. ความสำคัญ และที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

รางจืด (*Thunbergia Laurifolia* Linn.) พืชในวงศ์ Acanthacae เป็นพืชสมุนไพรชนิดหนึ่งที่รู้จักกันดีและใช้แพร่หลายในวงการแพทย์แผนโบราณ จากตำรายาสมุนไพร (ชะลอ, 2519 เสงี่ยม, 2508 วุฒิ, 2540) กล่าวว่ารางจืดมีรสเย็น ใช้ปรุงเป็นยาเขียวถอนพิษไข้ แก้เบื่อเมา แก้ร้อนใน กระหายน้ำ และใช้รักษาผู้ป่วยที่ถูกพิษต่างๆ เช่น พิษจากสุรา เห็ดเมา พิษเนื่องจากอาการแพ้ หรือรับประทานสัตว์ที่มีพิษ รวมทั้งใช้รักษาผู้ที่ได้รับสารเคมีที่มีพิษร้ายแรง เช่น สารหนู สตริ๊กนิน และสารกำจัดแมลงชนิดต่างๆ (พาณี และ ชัชวดี, 2523)

ปัจจุบันมีการนำพืชสมุนไพรมาใช้เพื่อรักษาโรคและเสริมสุขภาพแทนยาสังเคราะห์สารเคมีกันมากขึ้น เพราะต้องการลดความเป็นพิษของสารเคมีที่มีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและสุขภาพ แต่พืชสมุนไพรหลายชนิดที่นำมาใช้ยังไม่มีข้อมูลด้านความเป็นพิษ เช่นเดียวกับสมุนไพรรางจืดซึ่งมีเพียงการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดรางจืดในเซลล์ไลน์ L929, BHK(21)C13, Hep G2, และ Caco-2 พบว่ามีค่าความเป็นพิษต่ำกับทุกเซลล์ไลน์ในระดับความเข้มข้นของสารสกัดมากกว่า 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (Ratchadaporn, 2006) และมีการศึกษาความเป็นพิษของน้ำสกัดใบรางจืดเมื่อบริโภคในขนาดสูง และขนาดเทียบเท่ากับการดื่มชาในคนทุกวันต่อเนื่องกัน โดยใช้หนูขาวสายพันธุ์ Spraque-Dawley เป็นสัตว์ทดลอง โดย วีระวรรณและคณะ (2546) พบว่าน้ำสกัดใบรางจืด 10 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ไม่เปลี่ยนแปลงพฤติกรรมโดยทั่วไปของหนูขาวและไม่พบความผิดปกติของอวัยวะภายใน และเมื่อทดสอบให้น้ำสกัดใบรางจืดขนาด 500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ต่อเนื่องกันเป็นเวลา 28 วัน พบว่าไม่มีหนูขาวตัวใดเสียชีวิตระหว่างการทดสอบ และไม่พบความผิดปกติของอวัยวะภายในทั้งหมด ยกเว้นน้ำหนักของตับ ไต และผลทางโลหิตวิทยาบางค่าของกลุ่มหนูขาวเพศผู้แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากกลุ่มควบคุม ในกลุ่มหนูขาวที่ได้รับน้ำสกัดใบรางจืดเป็นเวลา 28 วันและหยุดให้เพื่อสังเกตอาการต่อไปอีกเป็นเวลา 14 วัน พบว่าน้ำหนักตับและไตของหนูขาวเพศเมียต่ำกว่ากลุ่มควบคุมซึ่งข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยดังกล่าวนี้สรุปได้ว่าน้ำสกัดใบรางจืดมีความเป็นพิษเล็กน้อยต่อหนูขาว และเป็นข้อมูลเบื้องต้นให้กับผู้บริโภคทราบว่าการดื่มชารางจืดไม่เป็นพิษในทันทีทันใด แต่การดื่มในระยะเวลานานอาจมีผลต่อตับ ไต และระบบเลือด แต่การที่จะสรุปถึงความเป็นพิษในคนนั้นต้องมีการศึกษาให้ละเอียดขึ้นต่อไป

ในปัจจุบันได้มีบริษัทและหน่วยงานหลายแห่งทำการผลิตและจำหน่ายสมุนไพรรางจืดในรูปแบบแคปซูลและชาผงออกวางจำหน่ายในท้องตลาดทั่วไป ทำให้ผู้บริโภคมีความเสี่ยงต่อการใช้สมุนไพรรางจืด ซึ่งอาจก่อให้เกิดพิษต่อร่างกาย

เนื่องจากการศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดรางจืดมีข้อมูลด้านความเป็นพิษน้อย ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงศึกษาความเป็นพิษเมื่อให้สารสกัดรางจืดแก่หนูขาวต่อเนื่องกันเป็นระยะเวลา 3 เดือนพร้อมศึกษาความผิดปกติต่างๆ ของอวัยวะภายในและระดับสารเคมีตลอดจนส่วนประกอบต่างๆ ในเลือด รวมทั้งศึกษาความเป็นพิษระดับเซลล์ว่ามีการกระตุ้นให้เกิดการสร้างอนุมูลอิสระหรือไม่โดยการวัดระดับ Malondialdehyde ในซีรั่มของหนูขาวหลังจากการได้สารสกัดรางจืด ซึ่งจะสรุปได้ถึงข้อมูลของความเป็นพิษของสารสกัดรางจืดเมื่อบริโภคในระยะยาวในหนูขาวและความสัมพันธ์ของขนาดของสารสกัดรางจืดและการตอบสนองผลของความเป็นพิษ ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการกำหนดขนาดการใช้รางจืดในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารได้ และยังสามารถนำไปเผยแพร่ให้กับกลุ่มประชากรเป้าหมายที่ผลิตและจำหน่ายสมุนไพรรางจืดในรูปแบบแคปซูลและชาผง รวมทั้งผู้บริโภคผลิตภัณฑ์ดังกล่าวด้วย

2. วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

2.1 เพื่อทดสอบความเป็นพิษกึ่งระยะยาวของสารสกัดรางจืดในหนูขาว

2.2 เพื่อทดสอบความเป็นพิษกึ่งระยะยาวของสารสกัดรางจืดในหนูขาวเมื่อบริโภคในขนาดที่สูงและขนาดเทียบเท่ากับการดื่มชาในคน

2.3 เพื่อทดสอบความเป็นพิษระดับเซลล์ต่อมีการกระตุ้นให้เกิดการสร้างอนุมูลอิสระในหนูขาว

2.4 เพื่อทดสอบหาปริมาณของรางจืดที่เหมาะสมต่อการบริโภค ปราศจากความเป็นพิษและมีฤทธิ์ทางชีวภาพ

3. ขอบเขตของโครงการวิจัย

3.1 สัตว์ทดลอง ใช้หนูขาวสายพันธุ์ Wistar จากหน่วยงานสัตว์ทดลอง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3.2 การเตรียมสารสกัดรางจืด : เตรียมสารสกัดรางจืด 3 ชนิด คือ สารสกัดน้ำ อะซีโตน และเอทานอล(รัชฎาพร, 2006)

3.3 การทดสอบนำร่องโดยให้สารสกัดรางจืดแก่หนูขาวขนาด 2 และ 15 กรัมต่อกิโลกรัม ใช้หนูขาว 10 ตัว (เพศผู้ 5 เพศเมีย 5) ต่อหนึ่งขนาด และกลุ่มควบคุม 10ตัว (เพศผู้ 5 เพศเมีย 5) ให้น้ำในปริมาตรที่เท่ากัน สังเกตอาการหลังจากให้สารสกัดรางจืดในเวลา 5, 15, 30 นาที และ 1, 2 และ 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นสังเกตอาการทุกวันเป็นเวลา 7 วัน เพื่อหาขนาดของสารสกัดรางจืดในขนาดสูงในการให้แก่หนูขาว

3.4 การทดสอบความเป็นพิษกึ่งระยะยาว (Subchronic toxicity test) : ทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดรางจืดในหนูขาวโดยการป้อนทางปาก เป็นระยะเวลานาน 3 เดือน โดยแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มควบคุม กลุ่มทดสอบ และกลุ่มศึกษาผลย้อนกลับหลังหยุดให้สารสกัดรางจืด

3.5 อาการที่สังเกต คือลักษณะผิวหนัง ขน ตา เยื่อเมือก การหายใจ การไหลเวียนโลหิต และระบบประสาทส่วนกลาง รวมทั้งพฤติกรรมที่ผิดปกติ หนูขาวที่เสียชีวิตระหว่างการทดสอบนำมาผ่าซากเพื่อศึกษาพยาธิสภาพ ส่วนหนูที่มีชีวิตรอดจนครบกำหนด นำมาทำให้สลบด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ เก็บเลือด และผ่าซากศึกษาดังต่อไปนี้

3.5.1 สังเกตลักษณะ Gross pathology ชั่งน้ำหนักอวยวะภายในต่างๆ ได้แก่ ตับ ไต หัวใจ ปอด ม้าม ต่อมหมวกไต และอวัยวะสืบพันธุ์ (เพศเมียใช้รังไข่ เพศผู้ใช้อัณฑะ)

3.5.2 ตรวจความผิดปกติของเนื้อเยื่อ (Histology)

3.5.3 ตรวจทางเคมีคลินิกด้วยการวัดปริมาณ Glucose, BUN, Cretinine, AST, ALT, Alkaline phosphatase

3.5.4 ตรวจทางโลหิตวิทยาด้วยการวัดปริมาณ White blood cells, Differential Leukocyte counts, Hematocrit และ Hemoglobin

3.6 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์โดยวัดระดับของ Malondiadehyde (MDA) อาศัยหลักการที่ MDA ทำปฏิกิริยากับ Thiobarbituric acid (TBA) ในซีรั่มในสภาวะที่เป็นกรดเกิดเป็น MDA-TBA complex มีสีชมพูอมส้ม มีคุณสมบัติดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร (วิรวรรณ และคณะ, 2546)

4. ทฤษฎี สมมติฐาน (ถ้ามี) และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย (Conceptual framework)

การทดสอบความเป็นพิษกึ่งระยะยาว เป็นการทดสอบการที่สารเคมีก่อให้เกิดปัญหาทางสุขภาพของสิ่งมีชีวิตในระยะยาวหลังจากได้รับสารเคมีเข้าไปเป็นระยะเวลาหนึ่ง โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อใช้ในการตัดสินในการ :

4.1 การปฏิเสธการใช้สารนั้นในอาหารถ้าจะก่อให้เกิดปัญหากับผู้บริโภคหนึ่งและสังคมจะไม่ปลอดภัย

4.2 การยอมรับการใช้สารในอาหารถ้า

4.2.1 แม้จะมีความเสี่ยงอยู่บ้าง แต่เป็นความเสี่ยงที่สังคมยอมรับได้เป็นส่วนใหญ่

4.2.2 ไม่มีสารเคมีอื่น (ที่มีโครงสร้างทางเคมีคล้ายสารที่ทดสอบ) เป็นสารก่อมะเร็ง

4.2.3 การทดสอบทางพันธุ์ศาสตร์พิษวิทยาไม่แสดงหลักฐานความเป็นพิษใดๆ

4.2.4 ปริมาณการบริโภคในประชากรในสังคมค่อนข้างต่ำ

ในกรณีที่ข้อย่อยข้อใดข้อหนึ่งในข้อ 4.2 มีข้อแม้หรือพบภายหลังว่ามีข้อมูลที่เปลี่ยนไปสารเคมีนั้น จะต้องถูกดำเนินการทดสอบระยะยาว (แก้ว, 2537)

5. การทบทวนวรรณกรรม (Reviewed literature)/สารสนเทศ (Information) ที่เกี่ยวข้อง

รางจืด (Thunbergia Laurifolia Lindl.) ดังรูปที่ 1.1 พืชในวงศ์ Acanthacae เป็นไม้เถาชนิดหนึ่งที่พบตามชายป่าดิบ มีเถาที่แข็งแรง ลักษณะเถากลมเป็นข้อปล้อง มีสีเขียว ใบเป็นใบเดี่ยวออกตรงข้ามกันเป็นคู่ ๆ และขนาดของใบไล่กันขึ้นไปตั้งแต่ขนาดใหญ่ตรงโคนก้านไปหาขนาดเล็กตรงปลายก้านใบ ใบสีเขียว ผิวเกลี้ยงลักษณะเป็นรูปหัวใจ ตรงโคนเว้าปลายใบเป็นติ่งแหลม กว้างประมาณ 4-5 เซนติเมตร ยาว 8-10 เซนติเมตร ออกดอกเป็นช่อๆ หนึ่งช่อมี 3-4 ดอก ลักษณะออกดอกเป็นกรวยตื้นๆ หลอดกรวยยาวประมาณ 1 เซนติเมตร (วิทย์, 2539 พณิดา, 2542)

รูปที่ 1.1 รางจืด

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

มีรายงานการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและเภสัชวิทยาของรางจืดดังนี้ สารเคมีที่พบในรางจืดส่วนใหญ่เป็นสารในกลุ่ม Flavonoids (Purnima, 1978) ได้แก่ Apigenin, Cosmodin และ Dedlphinidin-3,5-di-O-β-D-glucoside วีรยุทธ (2522) วิเคราะห์ส่วนประกอบของน้ำสกัดใบรางจืดพบว่ามี Amino acids 4 ชนิดคือ Methionine, Serine, Glycine และ Unidentified amino acid แต่ถ้าสกัดด้วย Petroleum ether พบ Steroinds 8 ชนิด และ Carotenoid หนึ่งชนิด Ratchadaporn et al. (2007) ได้ศึกษา Phytochemical profiling ของสารสกัดรางจืดน้ำ อะซีโตน และเอทานอลโดยวิธี High Performance Liquid Chromatography พบว่า Caffeic acid และ Apigenin เป็นส่วนประกอบหลักของสารสกัดน้ำ ขณะที่สารประกอบ Chlorophyll a, Chlorophyll b, Pheophorbide a, Pheophytin a, และ Lutein เป็นส่วนประกอบหลักของสารสกัดอะซีโตนและสารสกัดเอทานอล

ศิริวรรณ(2522) พบว่าสารสกัดใบรางจืดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย Aerobacter aerogens ได้ในขณะที่ Kogyingyos และคณะ (1990) ใช้น้ำสกัดใบรางจืดยับยั้งการเจริญของไวรัส Herpes simplex type 1 และ Chanawirat (2000)ใช้สารสกัดจากใบรางจืดลดพิษต่อตับของแอลกอฮอร์ในหนูขาวได้ ส่วนสุพรและคณะ (2541) ได้พัฒนาสารสกัดใบรางจืดเป็นยาทาภายนอกต้านการอักเสบ เพราะสามารถต้านการอักเสบในหนูทดลองได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้มีการทดสอบยืนยันว่าน้ำสกัดใบรางจืดสามารถลดอัตราการตายของหนูขาวเนื่องจากพิษของสารกำจัดแมลงได้ (พาณี และ ชัชวดี, 2523, วีระวรรณ, 2523) และยังสามารถลดอุณหภูมิในหนูขาวได้ด้วย (บุษบง, 2521)

เร็วๆ นี้ รัชฎาพรและคณะ (2007) ได้ทดสอบคุณสมบัติในด้านการแก้พิษของสารสกัดรางจืดโดยวัดค่าการเพิ่มการออกทธิ์ของเอนไซม์ NAD (P)H : quinine oxidoreductase (NQO1) ในเซลล์ตับชนิด Hepa lclc7 พบว่า สารสกัดอะซีโตนมีฤทธิ์ในการเพิ่มปฏิกิริยาของเอนไซม์ NQO1 สูงสุดถึง 2.8 เท่าเมื่อเทียบกับตัวควบคุม รองลงมาคือสารสกัดเอทานอลและสารสกัดน้ำซึ่งมีฤทธิ์ในการเพิ่มปฏิกิริยาของเอนไซม์ 1.35 และ 1.56 เท่าตามลำดับและทำการทดสอบฤทธิ์ของสารก่อกลายพันธุ์และการต่อต้านฤทธิ์ของสารก่อกลายพันธุ์ พบว่าสารสกัดรางจืดทุกชนิดมีฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ของ 2 Amino-anthracene สูงที่สุดที่ สายพันธุ์ TA98 และ TA 100

สารสกัดน้ำแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยการตรวจสอบด้วยวิธี DPPH assay ที่ค่า EC50 สูงสุดที่ 0.13 มิลลิกรัมกรดกาลิคต่อมิลลิลิตร ขณะที่สารสกัดเอทานอลและอะซีโตนแสดงค่า EC50 ที่ 0.26 และ 0.61 มิลลิกรัมกรดกาลิคต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ นอกจากนี้การแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยการตรวจสอบด้วยวิธี FRAP assay สูงสุดที่ 0.93 มิลลิโมลต่อกรัมนสารสกัดน้ำ รองลงมาเป็นสารสกัดเอทานอลและอะซีโตนที่ค่า 0.18 และ 0.0 มิลลิโมลต่อกรัม ตามลำดับ

Sorrentino (2006) ศึกษาความเป็นพิษระยะยาวของ Kava extract ในหนูทั้งสองเพศ(Wistar rats) ซึ่งได้รับสารสกัดทางปากเป็นระยะเวลานาน 3 และ 6 เดือน และตรวจความเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัว ผลทางโลหิต ตัวแปรของหน้าที่ของตับ และการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะภายในหลัก พบว่าไม่พบความเป็นพิษของ kava extract โดยเฉพาะอย่างยิ่งต่อตับหนู เนื่องจากมีการใช้ chicory root extract ในการรักษาการอักเสบ Schmist et al.(2007) จึงประเมินความเป็นพิษของ Chicory root extract ในหนูสายพันธุ์ Spraque-dawley โดยการป้อนสารสกัดทางปากเป็นระยะเวลานาน 28 วัน แล้วสังเกตผลทางคลินิก น้ำหนัก การบริโภคอาหาร พยาธิวิทยาคลินิก Mukinda และ Syce (2007) ศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันและระยะยาวของ Artermisia extract ใน mice และ rats โดยการฉีดเข้าทางผิวหนังหน้าท้องและป้อนทางปาก ผลการศึกษาพบว่า การฉีดสารสกัดเข้าทางผนังหน้าท้อง 1 ครั้ง กระตุ้นให้เกิดอัตรา

การตายมีพฤติกรรมเปลี่ยนแปลงโดยทั่วไป และการป้อนทางปากครั้งเดียวเพิ่มการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมและอัตราการตายของ Mice และ Rats

ปัญญา และคณะ (2542) ศึกษาการใช้สมุนไพรรางจืดขับสารฆ่าแมลงในร่างกายของอาสาสมัครเกษตรกรกลุ่มเสี่ยงในตำบลเมืองเดช อำเภอเดชอุด จังหวัดอุบลราชธานี โดยเลือกกลุ่มตัวอย่างโดยสมัครใจและตรวจพบระดับสารฆ่าแมลงในร่างกายดูจากระดับเอนไซม์ Cholinesterase ในเลือด ด้วย Reactive paper พบว่า อยู่ในระดับไม่ปลอดภัย ระดับเสี่ยงและระดับปลอดภัย ทำการทดลองโดยให้สมุนไพรรางจืดขนาด 8 กรัมต่อวัน และให้ Placebo ในกลุ่มควบคุมขนาดเดียวกัน ทำการหาการลดลงของสารฆ่าแมลงในร่างกายในวันที่ 7, 14 และ 21 วัน ภายหลังได้รับสมุนไพรรางจืด และ Placebo หลังจากนั้นนำผลวิเคราะห์เพื่อหาความสัมพันธ์ของการลดลงของระดับเอนไซม์ Cholinesterase ระหว่างกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม ผลการศึกษาพบว่า ในวันที่ 7 มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01 ในวันที่ 14 ไม่มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและในวันที่ 21 มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 และมีข้อเสนอแนะในการวิจัยว่าควรศึกษาเปรียบเทียบปริมาณรางจืดในแต่ละกลุ่มเพื่อหาขนาดที่เหมาะสมและระยะเวลาที่ได้ผลที่ดีที่สุดในการลดระดับสารฆ่าแมลงในร่างกาย

6. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ เช่น การเผยแพร่ในวารสาร จดสิทธิบัตร ฯลฯ และหน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

ผู้ใช้ประโยชน์จากการวิจัย

6.1 นักวิชาการที่ทำวิจัยเกี่ยวกับสมุนไพรไทย

6.2 กลุ่มประชากรเป้าหมายที่ผลิตและจำหน่ายสมุนไพร

6.3 ผู้บริโภคผลิตภัณฑ์มีสารสกัดสมุนไพรธรรมชาติเป็นส่วนประกอบ

7. แผนการถ่ายทอดเทคโนโลยีหรือผลการวิจัยสู่กลุ่มเป้าหมาย

7.2 นำเสนอผลงานในที่ประชุมวิชาการระดับชาติ

7.3 จัดฝึกอบรมแก่กลุ่มประชากรเป้าหมายหรือหน่วยงานในท้องถิ่นที่ผลิตและจำหน่ายสมุนไพร และผู้บริโภคผลิตภัณฑ์มีสารสกัดสมุนไพรธรรมชาติเป็นส่วนประกอบ

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. การศึกษาความเป็นพิษ

สารพิษ (Toxicant) หมายถึง สารที่เป็นอันตรายต่อมนุษย์ โดยอาจเป็นอันตรายเฉพาะที่ กรณีที่สัมผัสสารพิษ เช่น เมื่อกรดหกรดหรือเปื้อนผิวหนังจะกัดผิวหนังเป็นแผลหรือเป็นอันตรายต่อระบบต่างๆ ของร่างกาย หรือกรณีที่รับสารนั้นเข้าสู่ร่างกาย เช่น การกิน หรือหายใจเอาสารพิษเข้าไป เป็นต้น สาระพิษบางชนิดทำอันตรายต่อปอด บางชนิดทำอันตรายต่อตับ บางชนิดทำอันตรายต่อสมอง เป็นเหตุให้มีการแบ่งกลุ่มสารพิษตามอวัยวะเป้าหมาย แต่ยังมีการแบ่งกลุ่มสารพิษได้หลายแบบ เช่น แบ่งกลุ่มตามคุณสมบัติทางเคมี เช่น กลุ่มแร่ธาตุ เป็นกลุ่มสารอินทรีย์ หรืออาจแบ่งกลุ่มตามคุณสมบัติทางฟิสิกส์ เช่น เป็นกลุ่มก๊าซ กลุ่มของของเหลว หรือของแข็ง

1.1 วิธีการทดสอบสารพิษกับสัตว์ทดลอง

การทดสอบความเป็นพิษของสารพิษโดยทั่วไปนั้นจะทดสอบกับสัตว์ทดลองขนาดเล็กชนิดต่างๆ ตามลักษณะการเกิดพิษที่สัตว์ทดลองนั้นๆ ซึ่งมีการทดสอบได้แก่

1.1.1 การทดสอบการเกิดพิษอย่างเฉียบพลัน การทดสอบการเกิดพิษแบบเฉียบพลันจนถึงตาย เป็นการทดสอบในวิธีแรกๆ เพื่อการศึกษาสารพิษ สามารถทดสอบทำโดย เลือกชนิดของสัตว์ทดลองที่มีความสัมพันธ์กับการศึกษา เช่น ความคล้ายคลึงของอวัยวะสัตว์ทดลอง เพศของสัตว์ทดลอง กับมนุษย์ วิธีการได้รับสารพิษ ทั้งทางกิน หายใจ การดูดซึมทางผิวหนังและทางอื่นๆ

1.1.2 การทดสอบพิษกึ่งเฉียบพลัน เป็นการทดสอบที่มีวัตถุประสงค์เพื่อหาข้อมูลเกี่ยวกับการได้รับสารพิษซ้ำๆ กัน และหาปริมาณที่เหมาะสมสำหรับทดสอบการเป็นพิษกึ่งเรื้อรัง สามารถทดสอบได้โดยการแบ่งปริมาณของสารที่จะทดสอบเป็นกลุ่มๆ แล้วแบ่งให้สัตว์ทดลองได้รับสารนั้นเป็นกลุ่มๆ ทำการตรวจผลทางเคมีคลินิค หรือตรวจอวัยวะหลังจากได้รับสารแล้ว 14 วัน เปรียบเทียบความแตกต่างของสัตว์ทดลองแต่ละกลุ่มที่ได้รับสารเข้าร่างกายในปริมาณที่แตกต่างกัน

1.1.3 การทดสอบพิษกึ่งเรื้อรัง การทดสอบการเกิดพิษแบบกึ่งเรื้อรัง มีหลักการของการศึกษาการเกิดพิษแบบกึ่งเรื้อรัง คือ การหาระดับของสารพิษที่ไม่เกิดอันตราย (No-observable effect level) และอวัยวะเป้าหมายของสารพิษ หลังจากให้สัตว์ทดลองได้รับสารหลายครั้งติดต่อกันเป็นเวลา 90 วัน การทดลองนิยมใช้สัตว์ทดลอง 2 ชนิด คือ หนู และสุนัข โดยให้สัตว์ทดลองได้รับสารพิษทางปาก และใช้ปริมาณของสารที่แตกต่างกัน โดยที่ปริมาณของสารที่ใช้สูงสุดไม่ควรทำให้สัตว์ทดลองตายมากกว่าร้อยละ10 ของสัตว์ทดลองทั้งหมด จำนวนสัตว์ทดลองที่ใช้ในการทดลอง ถ้าเป็นหนูควรใช้ประมาณ 10-20 ตัวต่อเพศต่อแต่ละระดับของสาร แต่เมื่อใช้สัตว์ทดลองได้รับสารพิษแล้วสังเกตดู

สัตว์ทดลอง 1-2 ครั้งต่อทุกวันจนครบเวลา 90 วัน สิ่งที่สังเกต เช่น น้ำหนักที่เปลี่ยนไป การกินอาหารเปลี่ยนไป การหายใจขัดข้อง เป็นต้น เมื่อครบเวลา 90 วัน นำสัตว์ทดลองไปตรวจเลือด เนื้อเยื่อ และอวัยวะต่างๆ ต่อไป

1.1.4 การทดสอบพิษเรื้อรัง การทดสอบการเกิดพิษแบบเรื้อรัง เป็นการทดสอบการเกิดพิษระยะยาว เช่น การเกิดโรคมะเร็ง การได้รับสารพิษแบบเรื้อรังจะทำการทดลองเช่นเดียวกับการเกิดพิษแบบกึ่งเรื้อรัง แต่ระยะเวลาการได้รับสารควรจะมากกว่า 3 เดือนจนถึงเป็นปี การทดลองนิยมใช้สัตว์ทดลองจำนวนที่ค่อนข้างมาก เนื่องจากจะต้องใช้เวลานาน จะต้องมีสัตว์ทดลองเหลือจนถึงช่วงสุดท้ายของการทดลอง เป็นจำนวนประมาณร้อยละ 50 จากจำนวนเริ่มต้น ระดับของสารทดลองที่ใช้สูงสุดควรเป็นปริมาณของสารที่มากที่สุดที่สัตว์ทดลองทนอยู่ได้ (Maximum tolerable dose : MTD) ซึ่งจะได้จากการศึกษาแบบเรื้อรัง ขนาดอื่นๆ ที่จะใช้ทดสอบ คือ ½ หรือ ¼ ของ MTD และต้องมีกลุ่มเปรียบเทียบ (Control group)

การจัดลำดับความเป็นพิษเฉียบพลันของสาร (Acute toxicity) จัดกลุ่มสารพิษแตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 2.1 และ ตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.1 ระดับความเป็นพิษตามปริมาณของสารที่ทำให้เกิดการตายในมนุษย์แบบเฉียบพลัน

ระดับความเป็นพิษ (Toxicity rating or class)	ปริมาณสารที่ทำให้ตาย (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)	ค่าเฉลี่ยในผู้ใหญ่ (For average adult)
ไม่เป็นพิษ (Practically nontoxic)	>15,000	มากกว่า 64 ช้อนโต๊ะ
พิษน้อย (Slightly toxic)	5,000-15,000	ระหว่าง 32- 64 ช้อนโต๊ะ
พิษปานกลาง (Moderate toxic)	500-5,000	ระหว่าง 2- 32 ช้อนโต๊ะ
พิษมาก (Very toxic)	50-500	ระหว่างช้อนชาและ 2 ช้อนโต๊ะ
พิษมากอย่างยิ่ง (Extremely toxic)	5-50	ระหว่าง 7 หยด และช้อนชา
พิษมากที่สุด (Super toxic)	<5	น้อยกว่า 7 หยด

ที่มา: ดัดแปลงจาก Willium and Burson, 1985

ตารางที่ 2.2 การจัดลำดับความเป็นพิษของสารเคมีในระยะความเป็นพิษอย่างเฉียบพลัน

ระดับความเป็นพิษ	LD_{50} โดยการกิน มิลลิกรัม/กิโลกรัม	LD_{50} โดยการสัมผัส มิลลิกรัม/กิโลกรัม	LD_{50} โดยการหายใจ มิลลิกรัม/กิโลกรัม
พิษมากที่สุด (Super toxic)	<5	<250	<250
พิษมากอย่างยิ่ง (Extremely toxic)	5-50	250-100	250-100
พิษมาก (Very toxic)	50-500	1,000-3,000	1,000-1,000
พิษปานกลาง (Moderate toxic)	500-5,000	3,000-10,000	1,000-30,000
พิษน้อย (Slightly toxic)	>5,000	>10,000	>30,000

ที่มา : สรา อาภรณ์ (2546)

1.2 ค่าอ้างอิงทางโลหิตและเคมีคลินิคของสัตว์ทดลอง

งานวิจัยนี้ศึกษาความเป็นพิษกึ่งระยะยาวของสารสกัดรางจืดในหนู มีขนาดสารสกัดรางจืด 3 ระดับ คือขนาดสูง ปานกลาง และต่ำ โดยที่ขนาดสูงสุด จะต้องแสดงอาการเกิดพิษหรือผลทางเภสัชวิทยา แต่ต้องมีการตายของสัตว์ทดลองไม่เกิน 10% และเป็นขนาดที่สูงกว่ามนุษย์ ส่วนขนาดต่ำไม่แสดงอาการเกิดพิษใดๆ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และค่าอ้างอิงทางโลหิตวิทยาและเคมีคลินิกของหนูการทดสอบคลินิก สิ่งที่ต้องทดสอบได้แก่

1.2.1 ด้านโลหิตวิทยา ทำการทดสอบโลหิตวิทยาก่อนการให้สารช่วงกลางของการทดสอบ และช่วงก่อนจบการทดสอบ สิ่งที่ทดสอบ คือ

- Hematocrit (Hct หรือ Pack cell volume; PCV) วัดค่าปริมาตรของเม็ดเลือดแดงอัดแน่นมีประโยชน์ต่อการวินิจฉัยการเกิดพยาธิสภาพของร่างกาย เช่นในสภาวะที่ร่างกายขาดน้ำจะพบ Hct มีค่าสูงกว่าปกติในผู้ป่วยที่มีภาวะโลหิตจาง (anemia) มักพบ Hct มีค่าต่ำกว่าปกติ

- Hemoglobin (Hb) ค่าความเข้มข้นของฮีโมโกลบิน ทำหน้าที่ขนส่งออกซิเจน คาร์บอน ไดออกไซด์ และควบคุมความเป็นกรด- ด่าง เป็นโปรตีนที่ทำให้เลือดมีสีแดง

-White blood cell (WBC) การนับจำนวนเม็ดเลือดขาว

- Differencial leukocyte counts คือการนับเม็ดเลือดขาวอย่างน้อย 100 เซลล์จากแผ่นเสมียร์เลือดที่ย้อมสีแล้วแยกชนิด Wright's stain เลือดขาวออกมาเป็นร้อยละ

1.2.2 ด้านเคมีคลินิก ทดสอบก่อนให้สาร และทุกๆ 30 วัน ก่อนทดสอบให้สัตว์อดอาหารก่อน 1 คืน ครั้งสุดท้ายก่อนสิ้นสุดการทดสอบ สิ่งที่ทดสอบ คือ

- Glucose การตรวจระดับกลูโคส เพื่อคัดกรองหาความเสี่ยงต่อการเกิดโรคเบาหวาน

- Blood urea nitrogen (BUN) คือค่าไนโตรเจนจากยูเรียที่อยู่ในเลือด เนื่องจากสารยูเรีย

เป็นผลิตผลสุดท้ายจากการเผาผลาญโปรตีนที่ตับและขับออกทางไต จะมากหรือน้อยขึ้นกับสภาวะของร่างกาย ใช้วิเคราะห์ประสิทธิภาพการทำงานของไต

- Creatinine เป็นสารที่ได้จากการเผาผลาญพลังงาน ในซีรัมบ่งบอกการทำงานของไต

- การตรวจวัดกิจกรรมของเอนไซม์ Aminotransferase เป็นเอนไซม์ที่ช่วยในการสร้างกรดอะมิโน Aminotransferase บ่งชี้ความผิดปกติของตับที่เกิดจากเซลล์ตับที่มีการอักเสบ หรือถูกทำลาย จะพบกิจกรรมของเอนไซม์ในปริมาณสูง โดยเฉพาะ Aspartate aminotransferase (AST) และ Alanine aminotransferase (ALT)

L-Aspartate + 2-oxoglutarate $\xrightarrow{AST}$ Oxaloacetate + L-Glutamate

L-Alanine + 2-oxoglutarate $\xrightarrow{ALT}$ Pyruvate + L-Glutamate

- Alkaline phosphatase (ALP) เร่งปฏิกิริยาได้ดีในสภาวะที่เป็นด่าง pH 9-10.5 มีความจำเพาะเจาะจงกับสารตั้งต้นน้อย ทำหน้าที่ช่วยในการสลายสารพวก Phosphomonoester ได้แอลกอฮอล์ และฟอสเฟต เกี่ยวข้องกับการขนส่งสารเข้าสู่เซลล์ พบมากในบริเวณเนื้อเยื่อ ตับ ไต เยื่อบุลำไส้ ใช้ในการประเมินประเมินการทำงานของระบบทางเดินน้ำดีมีการอุดตันการไหลของท่อน้ำดีภายในตับ

- Total protein ปริมาณโปรตีนทั้งหมดโปรตีนมีบทบาทสำคัญในกระบวนการทางชีวเคมีทุกชนิด เพราะฉะนั้นเมื่อเกิดความผิดปกติของโรคมีผลทำให้เมตาบอลิซึมของโปรตีนเปลี่ยนแปลงไป สาเหตุที่ทำให้โปรตีนในพลาสมาต่ำลง คือเกิดการเปลี่ยนแปลงระบบหมุนเวียนโลหิต ร่างกายได้รับโปรตีนไม่เพียงพอ ตับไม่สังเคราะห์โปรตีนหรือน้อยลง(ตับแข็ง) แต่ถ้าค่าสูงขึ้น คือส่วนที่เป็นน้ำในร่างกายลดลง เช่น ภาวะขาดน้ำ โรคเรื้อรังบางชนิด

- Albumin เป็นโปรตีนสร้างจากตับ ในกระแสโลหิต มีอัลบูมินอยู่ครึ่งหนึ่ง ของ Total Protein มีหน้าที่อุ้มน้ำและเกลือไว้ในหลอดเลือด เป็นตัวควบคุมสมดุลน้ำ ควบคุมระดับอง Plasma osmotic pressure ตรวจดูการทำงานของไต ซึ่งในเลือดถ้าอัลบูมินมีระดับต่ำ บ่งบอกถึงความบกพร่องในการสร้างสารของเซลล์ตับ หากเซลล์ตับเกิดความเสียหาย ทำให้ไม่สามารถสร้างอัลบูมินได้ตามปกติ ส่วนการตรวจในปัสสาวะ ดูการทำงานของไต ซึ่งอัลบูมินเป็นโปรตีนที่ปกติไตจะทำหน้าที่กรองเก็บไว้ จึงบ่งบอกความผิดปกติของการทำงานของไต

- Electrolyte ในทางเคมีคลินิกมี 4 ชนิดหลักที่นิยมตรวจ คือ

โซเดียม เป็นไอออนหลักของน้ำนอกเซลล์ ช่วยรักษาปริมาณน้ำในร่างกาย เป็นดัชนีบ่งชี้สภาวะน้ำในร่างกาย ซึ่งถ้ามีค่าต่ำ (Hyponatremia) เกิดการเสียน้ำ เช่น ท้องร่วง อาเจียน ส่วนมีน้ำ

มากกว่าปกติ เช่น อาการบวมที่มาจากตับ ไตล้มเหลว ทำให้โซเดียมเจือจาง ส่วนค่าสูง (Hypernatremia) แสดงการขาดน้ำ เนื่องจากเป็นโรคเบาหวาน

โพแทสเซียม ช่วยรักษาระดับความเข้มข้นของไอออนภายในเซลล์ร่วมกับฟอสเฟตและโปรตีน ช่วยปฏิกิริยาที่อาศัยเอนไซม์ ทำให้เกิดความต่างศักย์ที่ผนังเซลล์ซึ่งถ้ามีค่าต่ำ (Hypokelamia) เกิดจากการที่โพแทสเซียมในซีรัมถูกส่งเข้าสู่ภายในเซลล์และขาดโพแทสเซียม เข้าสู่เซลล์โดยการหายใจสภาวะด่าง ร่างกายจึงผลักเอาโพแทสเซียมเข้าสู่เซลล์เพื่อแลกเปลี่ยนกับไฮโดรเจน การเสียโพแทสเซียม มีอาการ อาเจียน ท้องเสียเรื้อรัง ถ้าค่าสูง (Hyperkelamia) เกิดจากภาวะกรดเมทาบอลิซึม ทำลายเซลล์กล้ามเนื้อ และเม็ดเลือดแดง

คลอรีน กระจายอยู่ในน้ำนอกเซลล์ ทำหน้าที่ปรับสมดุลกรด-ด่างในเลือด ปรับความดันออสโมซิสของไต เพื่อให้กระจายไปยังเนื้อเยื่อต่างๆ ของร่างกาย ซึ่งถ้ามีค่าต่ำ (Hypochoremia) จะมีอาการ อาเจียน ไตวาย ภาวะกรดเมทาบอลิซึม ส่วนค่าสูง (Hyperchoremia) จะพบเมื่อร่างกายการขาดน้ำ

ไบคาร์บอเนต ทำหน้าที่รักษาระบบกรด-ด่าง และก๊าซในเลือด ถ้าต่ำกว่าระดับปกติเกิดจากภาวะกรดเมทาบอลิซึมและภาวะด่างหายใจ มีการหายใจเร็วเพื่อขับคาร์บอนไดออกไซด์ออกทางปอดอย่างรวดเร็ว และท้องร่วง

2. สัตว์ทดลองหนูขาวหรือหนูแรท (*Rattus norvegicus*) (สำนักงานสัตว์ทดลองแห่งชาติ, 2550)

หนูขาวสายพันธุ์ Wistar และ Spaque dawley นิยมนำไปศึกษาและวิจัยในด้านต่างๆ เช่น ด้านโภชนาการ (nutrition) ได้แก่ การศึกษาประโยชน์และโทษของโภชนะต่างๆ เป็นต้น ด้านพยาธิ (pathology) ได้แก่ การศึกษาด้านการงอกเกิดเนื้องอก เป็นต้น ด้านเภสัชวิทยา (Pharmacology) ได้แก่ การทดสอบความปลอดภัยของยาชนิดต่างๆ (Drug testing) ทดสอบความปลอดภัยของวัคซีน (Vaccine testing) การทดสอบความเป็นพิษ (Toxicology) เป็นต้น ด้านสรีรวิทยา (Physiology) ได้แก่ การศึกษาด้านสรีรวิทยาการสืบพันธุ์ วิทยาการต่อมไร้ท่อ ระบบไหลเวียนเลือด เป็นต้น และด้านพฤติกรรมศาสตร์ (Behavioral study) เป็นต้น

- ลักษณะทั่วไปหนูขาว (รูปที่ 2.8) ป็นหนูที่มีขนาดใหญ่ หางยาว แต่ไม่มีขนที่หาง ขนทั้งตัวสีขาว ตาแดง เลี้ยงง่าย เจริญเติบโตเร็ว มีวงจรการเป็นสัดสั้นและสม่ำเสมอตลอดปี ระยะการตั้งท้องสั้น ให้ลูกดก จับตัวได้ง่าย และเป็นที่นิยมนำมาใช้ทดลองอย่างแพร่หลายนั้น เป็นสัตว์ที่มีพฤติรรมอยู่รวมกันได้ไม่มีการต่อสู้ทำร้ายร่างกาย แย่งตัวผู้หรือตัวเมียกัน

- ข้อมูลทางสรีระวิทยาของหนูขาว

ระยะการเป็นสัด 4-5 วัน ช่วงเป็นสัด 13-15 ชั่วโมง ระยะตั้งท้อง 20-22 วัน จำนวนลูกต่อครอก 8-12 ตัว อายุเมื่อหย่านม 19-21 วัน น้ำหนักตัวเมื่อหย่านม(ตัวผู้และตัวเมีย) 45-70 กรัม น้ำหนักตัวเมื่อโต

เต็มวัยตัวผู้ 300-350 กรัม ตัวเมีย 200-250 กรัม อายุเมื่อพร้อมผสมพันธุ์ (ตัวผู้และตัวเมีย) 8-10 สัปดาห์ อายุยืน 3-4 ปี โดยมีค่าอ้างอิงทางโลหิตวิทยาและค่าทางเคมีคลินิค ดังตารางที่ 2.4

- การเลี้ยงสัตว์ทดลอง

นำหนูขาวสายพันธุ์ Wistar rat เพศผู้และเมีย มาเลี้ยงไว้ในห้องเลี้ยงสัตว์ทดลองตามข้อบังคับของสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ (2550) ดังนี้

วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในงานเลี้ยง : ขนาดของพื้นที่และส่วนสูงที่ไม่เพียงพอของกรงมีส่วนสร้างความกดดัน และความเครียดกับหนู กรงที่มีขนาดเล็ก ส่วนสูงเตี้ยเกินกว่าที่หนูยืนได้ และพื้นที่กรงไม่เหมาะสม เป็นสาเหตุที่สร้างความกดดันแก่หนูได้ทั้งสิ้น วัสดุอุปกรณ์ที่เหมาะสมสำหรับเลี้ยงหนูขาวมีดังนี้

2.1 กรง

ตารางที่ 2.3 กรงที่เหมาะสมสำหรับเลี้ยงหนูขาว

ชนิดกรง	ขนาด	จำนวนหนูต่อกรง	ลักษณะหนู
กรงแขวนใหญ่	12” x 11” x 7.5”	2	แม่หนูผสมและตั้งท้อง 0-1 สัปดาห์
กรงแขวนเล็ก	10” x 7” x 10”	1	แม่หนูตั้งท้อง 1-2 และ 2-3 สัปดาห์
กรงอลูมิเนียมใหญ่	14” x 29” x 6”	5-10	หนูพักท้อง, หนูรอผสมพันธุ์
กรงสแตนเลสใหญ่	14” x 29” x 6”	5-10	หนูอายุ 3-8 สัปดาห์
กรงสแตนเลสเล็ก	10” x 17.5” x 7”	1-14	แม่พร้อมลูก

ที่มา: สำนักงานสัตว์ทดลองแห่งชาติ (2550)

2.2 วัสดุรองนอน

วัสดุรองนอน เช่น ขี้กบ แกลบ และกระดาษ ขี้กบเป็นวัสดุจากโรงไม้ ซึ่งนิยมใช้เป็นวัสดุรองนอนกันทั่วโลก เนื่องจากซึมซับน้ำได้ดีและไม่ยุ่ย ขี้กบควรมาจากไม้เนื้ออ่อน ถ้ามาจากไม้เนื้อแข็งมักมีหลี่ยม มีมุมแข็งและแหลมคมและมียางที่เป็นอันตรายต่อสัตว์ได้

2.3 อาหาร

หนูขาวต้องการอาหารประมาณ 20-30 กรัมต่อตัวต่อวัน อาหารเป็นอาหารอัดเม็ด (เป็นวิวัฒนาการมาจากอาหารป่น โดยพ่นไอน้ำเข้าไปคลุกอาหารป่น ผสมตามสูตรก่อนเข้าเครื่องอัดเม็ดหรือปั้นเป็นก้อนให้ได้ขนาดที่ต้องการ เม็ดไม่แข็งเกินไป)

2.4 น้ำ

หนูขาวต้องการน้ำประมาณ 20-35 มิลลิลิตรต่อวัน น้ำดื่มหนูขาวเป็นน้ำสะอาดโดยเป็นน้ำกรองผสมคลอรีนที่มีความเข้มข้น 10 - 12 ppm เพื่อให้ปราศจากเชื้อ *Psudomonas aeroginosa*

2.5 การจัดสภาพแวดล้อมที่พอเหมาะ

อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเลี้ยงหนูขาวเป็น 25±2 องศาเซลเซียส ความต่างไม่เกิน 8 องศาเซลเซียส เป็นช่วงที่สัตว์สามารถปรับตัวได้ เมื่ออุณหภูมิสูง สัตว์จะเบื่ออาหาร กินน้ำมาก ไม่ผสมพันธุ์ หงุดหงิด ไม่เลี้ยงลูก กัดลูก เหนื่อย หอบ เลียตัวเอง เมื่ออุณหภูมิต่ำมีปัญหาคือ กินอาหารมาก กินน้ำน้อย นอน ไม่ผสมพันธุ์ ไม่เลี้ยงลูก

2.6 ความชื้นสัมพัทธ์

คือปริมาณไอน้ำในอากาศวัดค่าเป็นเปอร์เซนต์ ความชื้นสัมพัทธ์มีผลต่อการระเหยของน้ำ การเจริญเติบโตของเชื้อโรค เชื้อรา ความชื้นสัมพัทธ์ในห้องเลี้ยงหนูขาวคือ 60-90 เปอร์เซนต์ ถ้าความชื้นสัมพัทธ์ต่ำจะทำให้หนูขาวเป็นโรคหางสั้น

2.7 การถ่ายเทอากาศ

เพื่อถ่ายเทอากาศใหม่เข้ามาแทนอากาศเก่า เป็นการถ่ายเทออกซิเจนเข้ามาแทนคาร์บอนไดออกไซด์ในห้อง เป็นการถ่ายเอาอากาศสะอาดเข้ามาแทนอากาศที่มีกลิ่นในห้องเป็นการเอาอากาศแห้งเข้ามาแทนอากาศชื้นในห้องสามารถทำได้โดยการติดตั้งพัดลมดูดอากาศออกและเข้า

2.8 แสง

แสงมีความสำคัญต่อวงจรการเป็นสัด หนูขาวมีความต้องการแสง 350-400 ลักซ์ นานไม่น้อยกว่า 10 ชั่วโมง แต่ที่นิยมใช้คือมีอัตราส่วนของ 12 ชั่วโมงมืด และ 12 ชั่วโมงสว่าง

2.9 เสียง

วัดค่าเป็นเดซิเบล ความถี่วัดเป็นเฮิร์สซ์ สียงเป็นอันตรายที่เกิดดับสัตว์ได้ ตกใจ เครียด ไม่สืบพันธุ์ พฤติกรรมเปลี่ยนไป ไม่เลี้ยงลูก ปกติหนูรับเสียงได้ 50 เดซิเบล

ตารางที่ 2.4 ค่าอ้างอิงทางโลหิตวิทยาและเคมีคลินิกของหนูสายพันธุ์ Wistar

สาร	ค่าอ้างอิง		หน่วย
	เลือด	ปัสสาวะ	
Red blood cell(RBC)			
Male	7.69	-	$x10^6$ µL
Female	7.77	-	$x10^6$ µL
White blood cell(WBC)			
Male	11.6	-	$x10^3$ µL
Female	8.8	-	$x10^3$ µL
Hematocrit			
Male	45.1	-	%
Female	46.0	-	%
Hemoglobin			
Male	16.6	-	g/dL
Female	16.6	-	g/dL
Total protein	5.9-8.4	-	g/dL
Albumin	3.2-4.3	-	g/dL
Globulin	2.9-4.8	-	g/dL
Glucose	89.5-183.3	-	mg/dL
Creatinine	42.5	6	µmol/L
Blood urea nitrogen	6.9	-	mmol/L
Sodium	135	200	mmol/L
Potassium	4.9	150	mmol/L
Calcium	2.6	0.7	mmol/L
Chloride	97-110	-	mEq/L
Phosphate	2.3	-	mmol/L

ที่มา: Georg J Krinke (2000)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3. รางจืด

รางจืด (*Thunbergia Laurifolia* Lindl.) (รูปที่ 2.1) เป็นพืชในวงศ์ *Acanthacere* มีลักษณะของเถากลมเป็นข้อปล้อง มีสีเขียว ใบเป็นไม้ใบเดี่ยวออกตรงข้ามกันเป็นคู่ๆ และขนาดของใบจะไล่กันขึ้นไปตั้งแต่ขนาดใหญ่ตรงโคนก้านไปหาขนาดเล็กตรงปลายก้านใบ ใบสีเขียวผิวเกลี้ยง ลักษณะเป็นรูปหัวใจตรงโคนเว้า ปลายใบเป็นติ่งแหลม กว้างประมาณ 4-5 เซนติเมตร ยาว 8-10 เซนติเมตรดอกมีสีม่วง ปลายดอกจะแยกเป็นแฉกอยู่ 5 แฉก หรือ 5 กลีบ ดอกเป็นสีม่วงอ่อนๆ หรือสีคราม ดอกที่ยังอ่อนหรือยังไม่บานมีกาบห่อหุ้มอยู่ ดอกบานเต็มที่เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3 นิ้ว ภายในหลอดดอกเป็นสีขาวมีเกสรตัวผู้อยู่ประมาณ 4 อัน จะผลิดอกในเดือนพฤศจิกายนถึงมกราคม พอดอกร่วงโรยไปก็จะติดเป็นผล มีลักษณะเป็นฝักแหลมคล้ายกับปากนก ส่วนโคนกลมยาวประมาณ 1-1.5 นิ้ว เมื่อผลแก่จะแตกออกเป็น 2 ซีก มีการกระจายพันธุ์อยู่แถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ขึ้นได้ในดินทุกชนิด พบทั่วไปตามชายป่าดิบ ป่าละเมาะ ขยายพันธุ์โดยการเพาะเมล็ด ปักชำและตอนกิ่ง

รางจืดมีชื่อเรียกได้หลายชื่อ ได้แก่ กำลังช้างเผือก ยาเขียว เครือเขาเขียว ขอบชะนาง หนามแน่(เหนือ) ย้ำแย้(อุตรดิตถ์) น้ำนอง(สระบุรี) คาย รางเย็น(ยะลา) ดุเหว่า(ปัตตานี) รางเย็น ทิดพุด(นครศรีธรรมราช) จอลอดิเออ ปังกะล่ะ ซั้งกะ พอหน่อเตอ(กะเหรี่ยง-แม่ฮ่องสอน) แอดแอ (เพชรบูรณ์) และรางจืดเถา

ตำรายาสมุนไพรแบ่งรางจืดออกเป็น 3 ชนิด คือ

1. รางจืดเถา (*Thunbergia Laurifolia* Linn.) รางจืดชนิดเถานี้เป็นรางจืดตัวผู้ ดิกสีม่วง มีสารออกฤทธิ์ที่รากและใบสูงกว่าดอกสีเหลืองและขาวหลายเท่า

2. รางจืดชนิดต้น (*Milica kityana*) เป็นไม้ล้มลุก และเป็นไม้พุ่มสูงไม่เกิน 6 ฟุต ดอกสีเหลืองเหมือนดอกถั่ว และมีฝักเหมือนฝักถั่ว สารออกฤทธิ์อยู่ที่รากสามารถใช้ถอนยาสั่งหรือยาพิษได้ แต่สรรพคุณในการรักษาโรคน้อยกว่ารางจืดชนิดเถา

3. รางจืดชนิดว่าน ลักษณะเป็นกอเหมือน ต้นขมิ้น มีหัวคล้ายหัวขมิ้นแต่สีขาว ถ้าหักมาดมจะได้กลิ่นหอมน่ารับประทาน มีสรรพคุณในการถอนพิษยาสั่งและสารพิษต่างๆ ได้เช่นเดียวกัน

สรรพคุณของรางจืดชนิดเถามีระบุไว้ดังนี้

ใบสด : แก้ไข้ ถอนพิษ แก้โรคประจำเดือนผิดปกติ (มาเลเซีย)

ใบแห้ง : ถอนพิษจากสารเคมี เช่น สตริ๊กนิน สารหนู และพิษจากแมลง

รากและเถา : แก้ร้อนในกระหายน้ำ รักษาพิษร้อนทั้งปวง

ทั้งต้น : รสจืดเย็น ปรุงยาแก้มะเร็ง

ราก : แก้บวม แก้อักเสบ

รูปที่ 2.1 ลักษณะของใบรางจืด

1. คุณสมบัติทางเคมีของรางจืด

มีรายงานการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและเภสัชวิทยาของรางจืดดังนี้ สารเคมีที่พบในรางจืดส่วนใหญ่เป็นสารในกลุ่ม Flavonoids (Purnima, 1978) ได้แก่ Apigenin, Cosmodin และ Dedlphinidin-3,5-di-O-β-D-glucoside วีรยุทธ (2522) วิเคราะห์ส่วนประกอบของน้ำสกัดใบรางจืดพบว่ามี Amino acids 4 ชนิดคือ Methionine, Serine, Glycine และ Unidentified amino acid แต่ถ้าสกัดด้วย Petroleum ether พบ Steroinds 8 ชนิด และ Carotenoid หนึ่งชนิด Ratchadaporn et al. (2007) ได้ศึกษา Phytochemical profiling ของสารสกัดรางจืดน้ำ อะซีโตน และเอทานอลโดยวิธี High Performance Liquid Chromatography พบว่า Caffeic acid และ Apigenin เป็นส่วนประกอบหลักของสารสกัดน้ำ ขณะที่สารประกอบ Chlorophyll a, Chlorophyll b, Pheophorbide a, Pheophytin a, และ Lutein เป็นส่วนประกอบหลักของสารสกัดอะซีโตนและสารสกัดเอทานอล

2.คุณสมบัติทางเภสัชวิทยาของรางจืด

สมุนไพรรางจืด จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียและไวรัส, ต้านสารฆ่าแมลงและสารเคมี, ต้านออกซิเดชั่น, ต้านการเป็นเบาหวาน, ต้านสารเสพติด และต้านการอักเสบ โดยมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

2.1 ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียและไวรัส

ศิริวรรณ (2522) ทำการศึกษาการใช้สารสกัดรางจืดน้ำ Diethyl ether และ Petroleum ether ในการต้านเชื้อแบคทีเรียบางชนิดในตระกูล Enterobacteriaceae พบว่าสารสกัดรางจืด Diethyl ether ต้านเชื้อแบคทีเรียได้ดีกว่า สารสกัดรางจืด Petroleum ether และน้ำ ตามลำดับต่อมา Bunkerd et al.(1990) ได้ทดสอบการยับยั้งปริมาณไวรัส Herps simplex virus type 1(HSV-1) พบว่าสารสกัดด้วยน้ำใบรางจืด

สามารถยับยั้งการเพิ่มปริมาณของไวรัส HSV-1 และมีฤทธิ์ทำลายไวรัสโดยตรงเมื่อมีส่วนผสมของสารสกัดด้วยน้ำใบรางจืดอยู่ที่ระดับความเข้มข้นซึ่งไม่เป็นพิษต่อเซลล์เพาะเลี้ยงชนิดวีโรผสมไวรัสปริมาณ 100 TCID50 (tissue culture infection dose 50) ต่อมา Mali and Sakulrat (2006) ทำการนำสารสกัดรางจืดน้ำผสมเอทานอล น้ำผสม ethyl acetate และ ethylacetate อย่างเดียว สามารถยับยั้งเชื้อไวรัส Herps simplex virus type 2 (HSV-2 : ไวรัสเริมริมฝีปาก) ได้เมื่อเปรียบเทียบกับ acyclovir ในการเพิ่มปริมาณในเซลล์ที่อยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ แต่ไม่สามารถขัดขวางการเข้าสู่เซลล์ของไวรัสได้ ต่อมา Wilawan (2003) ทำการศึกษาสารสกัดรางจืดเอทานอลในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ โดยใช้ plate agar diffusion มีเชื้อแบคทีเรีย 11ชนิด และเชื้อรา 1 ชนิด คือ Str. *Mutan*, Str. *Sanguis*, *Lactobacilli*, A. *actinomycetemcomitans* ATCC 43717, *A.actinomycetemcomitans* ATCC 43718, *S. aureus*, *S. epidermidis, B. subtillis, Ps. Aeruginosa, E-coli, C. albicans* โดยเชื้อ A. *actinomycetemcomitans* ATCC 43717 เป็นสปีชีส์ที่ไวต่อสารสกัดที่มีความเข้มข้นต่ำ คือ 0.78% (MBC: Minimum bacterial concentration) และ 6.25% (MIC:Minimum inhibitory concentration) สารสกัดรางจืดเอทานอลสามารถต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้ 10 ชนิด ยกเว้นเชื้อ *Ps. Aeruginosa*และ *C. albicans*

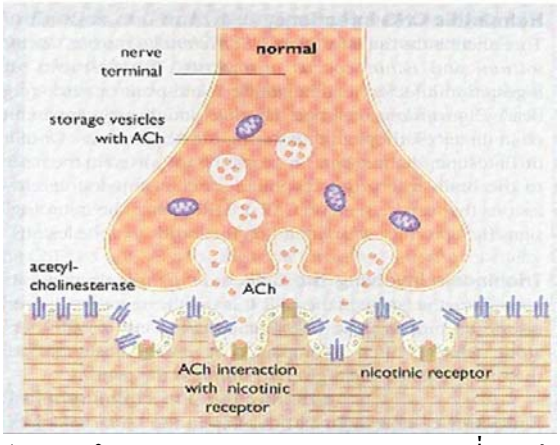
2.2 ฤทธิ์ต้านสารฆ่าแมลงและสารเคมี

ธีระและธำรงค์ (2520-2521) ได้ศึกษาการแก้พิษสตริกนินซัลเฟตด้วยรางจืด โดยทดลองกรอกรางจืดแห้ง(น้ำยาแขวนตะกอนในน้ำตาลกลูโคส 50%) ขนาด 1, 1.5, 2, 4 g/kg ในหนูขาว 10 นาที ก่อนให้สตริกนินซัลเฟต พบว่าสามารถยับยั้งฤทธิ์ของสารได้ เนื่องจากรางจืดสามารถดูดซับสารไว้และสามารถล้างการดูดซับด้วยน้ำ ทำให้หนูขาวไม่แสดงอาการผิดปกติใดๆ ต่อมาพาณีและชัชวดี (2523) ได้ศึกษาการต้านพิษเฉียบพลันของสารกำจัดแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต(โฟลิดอล 605®)ในหนูขาวโดยใช้สารสกัดรางจืดน้ำ พบว่าสามารถลดอัตราการตายของหนูขาวจากร้อยละ 60 เป็นร้อยละ 25 ที่ได้ผลดีเท่ากับการใช้ Atropine ร่วมกับ 2-PAM ซึ่งออกฤทธิ์ไปทำปฏิกิริยากับ Phosphorylated enzyme ทำให้เกิดเป็นสารเชิงซ้อนขึ้น ซึ่งเมื่อเกิดสารเชิงซ้อนขึ้นแล้วจะถูกขบวนการ Hydrolysis ปลดปล่อย Acetylcholinesterase enzyme ทันที เอนไซม์จึงกลับเป็นอิสระอีกครั้งและสามารถทำงานต่อไปได้ เนื่องจากสารกำจัดแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต จะทำให้เกิด Phosphorylation ทำให้เอนไซม์ที่ถูกจับทำงานไม่ได้ (รูปที่ 2.2) ต้องรอให้เอนไซม์ถูกปล่อยโดยขบวนการ Hydrolysis ที่เกิดขึ้นเองซึ่งช้ามากถ้าปล่อยไว้นานจะทำให้ Phosphorelated enzyme เกิด Hydrolysis แล้วทำให้เอนไซม์ไม่สามารถทำงานได้ ยับยั้งการทำงานของ Acetylcholinesterase enzyme แบบไม่คืนสภาพ

กนกพร (2545) ได้ใช้รางจืดต้านความเป็นพิษที่เกิดจากสารสกัดกวาวเครือขาว ในหนูขาวเพศผู้ขนาดของกวาวเครือร่วมกับเอทานอล 400, 600, 800 mg/kg สามารถลดปริมาณเม็ดเลือดแดงของหนู ชัก

นำให้เกิดการก่อกลายพันธุ์ โดยการเพิ่มจำนวนไมโครนิวเคลียสและส่งผลให้น้ำหนักของหนูลดลง โดยใช้รางจืดแบบสดและแห้งควบคู่กับน้ำกวาวเครือ สามารถลดการชักนำให้เกิดไมโครนิวเคลียส แต่ไม่มีผลต้านฤทธิ์กวาวเครือในการลดปริมาณเม็ดเลือดแดงและน้ำหนักตับของหนู แสดงว่ารางจืดต้านการก่อกลายพันธุ์

สกาวรัตน์ (2547) ได้ศึกษาผลของสารสกัดใบรางจืดในการต้านการเหนี่ยวนำทำให้เกิดไมโครนิวเคลียส โดยสารฆ่าแมลงเมโธนิล ซึ่งสารเมโธมิลอยู่กลุ่มคาร์บาเมต มีฤทธิ์ในการก่อกลายพันธุ์ ความผิดปกติของ DNA โดยทำการศึกษาในหลอดทดลองใช้เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ในคนและเซลล์ไขกระดูกในหนู พบว่าสารสกัดรางจืดเข้มข้น 0.5 และ 1 μg/ml สามารถลดจำนวนไมโครนิวเคลียสใน binucleated cell ที่เหนี่ยวนำด้วยเมโธมิล ในหนูก็เช่นเดียวกันที่ระดับความเข้มข้น 25, 250, 2,500 mg/kg ลดลงเป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นของสารสกัดรางจืดที่เพิ่มขึ้น แสดงว่าสารสกัดรางจืดไม่ทำให้เกิดความผิดปกติของโครโมโซม หรือเกิดการกลายพันธุ์ในลิมโฟไซต์ในคนและเซลล์ไขกระดูกในหนู แต่ป้องกันการเหนี่ยวนำทำให้เกิดไมโครนิวเคลียสโดยสารฆ่าแมลงเมโธมิล Kanokwan (2004) รายงานว่าสารสกัดรางจืดน้ำสามารถต้านความเป็นพิษจากสารกำจัดแมลงในกลุ่มที่ยับยั้งเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสได้ในหนูขาว คือ เมโธมิล ซึ่งมีความเป็นพิษสูงเพราะทำให้เกิดความเป็นพิษแบบเฉียบพลันต่อเนื้อเยื่อที่ถูกควบคุมโดยสารสื่อประสาทกลุ่มcholinergic โดยออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ cholinesterase โดยทดสอบกับเอนไซม์cholinesterase ในซีรัมคนและหนูขาว และระดับcholinesterase ที่ระบบประสาทในผนังลำไส้เล็กของหนูขาวพันธุ์ Spraque dawley



รูปที่ 2.2การลดปริมาณสารสื่อประสาทโดยการจับกับ nicotinic receptors ที่รอยต่อประสาทกับกล้ามเนื้อ
ที่มา : Page et al. (1997)

ปัญญา และคณะ (2542) ศึกษาการใช้สมุนไพรรางจืดขับสารฆ่าแมลงในร่างกายของอาสาสมัครเกษตรกรกลุ่มเสี่ยงในตำบลเมืองเดช อำเภอเดชอุดม จังหวัดอุบลราชธานี โดยเลือกกลุ่มตัวอย่างโดย

สมัครใจและตรวจพบระดับสารฆ่าแมลงในร่างกายดูจากระดับเอนไซม์ Cholinesterase ด้วย Reactive paper อยู่ในระดับไม่ปลอดภัย ระดับเสี่ยงและระดับปลอดภัยทำการทดลองโดยให้สมุนไพรรางจืดขนาด 8 กรัมต่อวัน และให้ Placebo ในกลุ่มควบคุมขนาดเดียวกัน และศึกษาการลดลงของสารฆ่าแมลงในร่างกายในวันที่ 7, 14 และ 21 วัน ภายหลังได้รับสมุนไพรรางจืด และ Placebo หลังจากนั้นนำผลการทดลองมาวิเคราะห์เพื่อหาความสัมพันธ์ของการลดลงของระดับเอนไซม์ Cholinesterase ระหว่างกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม ผลการศึกษาพบว่า ในวันที่ 7 มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01 ในวันที่ 14 ไม่มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและในวันที่ 14 มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 และมีข้อเสนอแนะในการวิจัยว่าควรศึกษาเปรียบเทียบปริมาณยาในแต่ละกลุ่มเพื่อหาขนาดยาที่เหมาะสมและระยะเวลาที่ได้ผลที่ดีที่สุดในการลดระดับสารฆ่าแมลงในร่างกายวีระวรรณ (2543)ศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสกัดใบรางจืดน้ำต่อกล้ามเนื้อเรียบ พบว่ามีผลต่อการทำงานของระบบไหลเวียนโลหิต ทำให้ความดันโลหิตลดลง มีผลต่อเส้นเลือดแดงของคนซึ่งแยกจากสายสะดือของทารกแรกคลอดเป็น 2 ระยะคือ ทำให้เส้นเลือดหดตัว (Vasoconstriction) และตามด้วยการคลายตัว (Vasodilatation) และหากใช้สารสกัดใบรางจืดน้ำในขนาดสูง การคลายตัวของเส้นเลือดในระยะที่สองจะเห็นชัดเจนกว่าการใช้ความเข้มข้นขนาดต่ำ มีผลทำให้กล้ามเนื้อเรียบของลำไส้เล็กของหนูขาวเกิดการคลายตัวในระยะสั้นและตามด้วยการหดตัว การเพิ่มของความตึงตัวและแรงบีบตัวของลำไส้ที่เกิดขึ้นไม่ได้เกี่ยวข้องกับ Histaminic และ Cholinergic receptor ผลต่อลำไส้หนูขาวทำให้ลำไส้คลายตัวก่อนในช่วงเวลาสั้นๆ แล้วตามด้วยการหดตัวอย่างเด่นชัด นอกจากนี้ยังช่วยกระตุ้นการทำงานของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดลมหนูตะเภา และกล้ามเนื้อเรียบของมดลูกหนูขาว ซึ่งผลต่อกล้ามเนื้อเรียบนี้ไม่สามารถต้านฤทธิ์ด้วย Atropine และ Diphenhydramine

2.3 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชั่น

กระบวนการเมทาบอลิซึมของสารแปลกปลอม จะเกิดขึ้นโดยเอนไซม์ที่ไม่มีความเฉพาะ เจาะจง และสามารถแบ่งปฏิกิริยาทางเคมีที่เกิดขึ้นออกเป็น 2 ช่วง คือ Phase I(เป็นปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่โมเลกุลของสารแปลกปลอมหรือสารพิษ ทำให้มีหมู่โพลาร์เกิดขึ้น เพื่อให้สามารถละลายได้ดีในน้ำและมีสมบัติเหมาะสมที่จะทำหน้าที่เป็นสารตั้งต้นตัวใหม่ คือพร้อมที่จะไปรับการเติมหมู่สำหรับปฏิกิริยาในช่วงที่สอง) และ Phase II (เป็นปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงโมเล กุลของสารแปลกปลอมหรือสารพิษ โดยไปรวมกับสารประกอบบางชนิดที่อยู่ในร่างกายได้เป็นสารใหม่ที่ละลายได้ดีในน้ำและพร้อมที่จะถูกขับออกจากร่างกาย เรียกว่า ปฏิกิริยา Conjugation) ใน Phase I เกี่ยวข้องกับไซโทโครม P450 ทำให้เกิดปฏิกิริยา ซึ่งยาฆ่าแมลงกลุ่มคาร์บาเมตจะเกิดปฏิกิริยาดีอัลคิลเลชั่น (Dealkylation) เกิดที่อะตอมของ N-, O- และ S- ส่วนกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต เกิดปฏิกิริยา S-oxidation

สารไทโออีเทอร์จะถูกออกซิไดซ์ให้เป็นซัลฟอกไซด์ โดยอาศัยไซโทโครม P450 แล้วเปลี่ยนต่อไปเป็นซัลโฟน Phase II มักมีบทบาทในการกำจัดฤทธิ์ (detoxification) ของสารหรืออนุมูลว่องไวปฏิกิริยาให้หมดฤทธิ์ และช่วยการขับออกจากร่างกาย คือ Glutathione S-transferase (GST) และ NADPH-quinone oxidoreductase (NQO1) โดยทำปฏิกิริยาชนิด Conjugation กับสารตัวรับเช่น Glutathione,glucuronate, sulfate มีการเติมโมเลกุลของน้ำ (Trans-addition) และการรีดิวซ์สาร Quinones ด้วย 2 อิเล็คตรอนตามลำดับ การเพิ่มการทำงานของเอนไซม์เหล่านี้จะลดโอกาสการทำปฏิกิริยาของสาร นอกจากนี้ยังเพิ่มคุณสมบัติการละลายน้ำและเร่งการกำจัดออกจากร่างกาย การยับยั้งสารก่อมะเร็งยังอาจทำได้ด้วยการเพิ่มการทำงานของระบบต้านอนุมูลอิสระ เช่น เอนไซม์ต่อต้านออกซิเดชัน (Antioxidant enzyme) ได้แก่ Glutathione S-transferase (GST), Superoxide dismutase (SOD), Glutathione reductase, glutamy-cystein ligase (GCL), Hemeoxygenase-1 (HO-1) และที่ไม่ใช่เอนไซม์ เช่น Ferritin และ Bilirubin เป็นต้น(นิธิยาและวิบูรณ์, 2543) ซึ่ง Ratchadaporn et al. (2007) ได้ทดสอบคุณสมบัติในด้านการแก้พิษของสารสกัดรางจืดโดยวัดค่าการเพิ่มการออกฤทธิ์ของเอนไซม์ NAD(P)H : Quinine oxidoreductase (NQO1) ในเซลล์ตับชนิด Hepa lclc7 พบว่า สารสกัดอะซีโตนมีฤทธิ์ในการเพิ่มปฏิกิริยาของเอนไซม์ NQO1 สูงสุดถึง 2.8 เท่าเมื่อเทียบกับตัวควบคุม รองลงมาคือสารสกัดเอทานอลและสารสกัดน้ำซึ่งมีฤทธิ์ในการเพิ่มปฏิกิริยาของเอนไซม์ 1.35 และ 1.56 เท่าตามลำดับซึ่งเอนไซม์ NAD(P)H : Quinine oxidoreductase (NQO1) นี้เป็นเอนไซม์ใน PhaseII กระบวนการกำจัดสารพิษ และทำการทดสอบฤทธิ์ของสารก่อกลายพันธุ์และการต่อต้านฤทธิ์ของสารก่อกลายพันธุ์ พบว่าสารสกัดรางจืดทุกชนิดมีฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ของ 2 Amino-anthracene สูงที่สุดที่ สายพันธุ์ TA98 และ TA 100 สารสกัดน้ำแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยการตรวจสอบด้วยวิธี DPPH assay ที่ค่า EC_{50}สูงสุดที่ 0.13 มิลลิกรัมกรดกาลิคต่อมิลลิลิตร ขณะที่สารสกัดเอทานอลและอะซีโตนแสดงค่า EC_{50}ที่ 0.26 และ 0.61 มิลลิกรัมกรดกาลิคต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ นอกจากนี้การแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยการตรวจสอบด้วยวิธี FRAP assay สูงสุดที่ 0.93 มิลลิโมลต่อกรัมสารสกัดน้ำ รองลงมาเป็นสารสกัดเอทานอลและอะซีโตนที่ค่า 0.08 และ 0.04 มิลลิโมลต่อกรัมตามลำดับ

ศิริพร (2546) ศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชั่นของสมุนไพร พบว่าสารสกัดรางจืดน้ำ มีค่า EC_{50}เท่ากับ 21.31 เมื่อเทียบกับวิตามินซี อี และ BHT ต่อมา Suratwadee (2002) ศึกษาสารสกัดรางจืดมีผลต่อเอนไซม์ที่เป็นตัวเร่งกระบวนการเมทาบอลิซึม Hypoxanthin ทดสอบกับ Epstein Barr virus(EBV) พบว่าสามารถยับยั้ง O^-_2 generation (by XA/XOD system) ยับยั้งกิจกรรมทั้งหมด และยับยั้ง Xanthin oxidase ได้ 50-69%ต่อมา ฉัตรชัย (2551) ศึกษาผลของสมุนไพรรางจืดต่อการย่อยได้ของสารอาหารเอนไซม์ต้านออกซิเดชั่นและการทำงานของตับในไก่กระทงที่ได้รับอาหารที่ปนเปื้อนสารพิษจากเชื้อรา

โดยเติมสารสกัดรางจืดลงไปในอาหาร 2%ช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือดของไก่กระทงให้อยู่ในระดับปกติ สารพิษจากเชื้อราที่ปนเปื้อนในอาหารจะลดสมรรถภาพการเจริญเติบโตของไก่กระทงในวันที่ 21-42 และเมื่อมีการเติมกลูโคแมนแนนเพิ่มอีก 1% ในอาหารไก่ ช่วยลดผลกระทบจากสารพิษจากเชื้อรา โดยส่งเสริมการย่อยได้ของสารอาหารและการทำงานของเอนไซม์ต้านออกซิเดชั่นของ Glutathione peroxidase

2.4 ฤทธิ์ต้านการเป็นเบาหวาน

สาลิกา (2002) ใช้สารสกัดรางจืดในหนูที่เป็นเบาหวาน โดยใช้สารสกัดรางจืดเข้มข้น 60 mg/ml ป้อนหนูเป็นเวลา 15 วัน พบว่า สามารถลดน้ำตาลในเลือดในหนูที่เป็นเบาหวานได้ และมีแนวโน้มลดน้ำตาลในเลือดหนูที่เป็นเบาหวานเกือบเป็นปกติได้แต่ไม่ชัดเจน นอกจากนี้สารสกัดยังไม่มีผลในการรักษาความเสื่อมสภาพของระบบสืบพันธุ์ที่เกิดจากเบาหวานได้

2.5 ฤทธิ์ต้านสารเสพติด

Zhang, Z.J. (2004) ศึกษาการรักษาการติดสารเสพติดโดยใช้สารสกัดสมุนไพรในหนู พบว่าสารสกัดรางจืดสามารถยับยั้งพฤติกรรมการติดสารเสพติดในหนู ต่อมา Watchareewan (2005) ศึกษาผลของสารสกัดรางจืดในการรักษาการติดสารเสพติด โดยการตรวจคลื่นสมองในหนู เมื่อให้สารสกัดรางจืดในปริมาณสูงพบว่าทำให้เกิดสัญญาณจากสมองเพิ่มขึ้น โดยดูจาก Nucleus accumbens, Globus pallidus, Amygdala, Frontal cortex, Caudate putamen และ Hippocampus ซึ่งให้ผลเหมือนกับสภาวะก่อนมีอาการเสพติด Cocaine หรือ Amphetamine การให้สารสกัดรางจืดปริมาณ 200 mg/kg ทางผิวหนังหน้าท้องไม่ก่อให้เกิดผลกระทบ แต่ทำให้ความดันเลือดลดลงแสดงว่าสารสกัดรางจืดช่วยกระตุ้นการทำงานของระบบประสาทโดยเฉพาะสมองส่วนด้านการตัดสินใจและพฤติกรรมการเคลื่อนไหวไม่พบความแตกต่างระหว่างกลุ่มที่ให้สารสกัดรางจืดกับกลุ่มที่ให้ยา

2.6 ฤทธิ์ต้านการอักเสบ

ณัฏฐิยา (2546) ได้พัฒนาสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านการอักเสบเพื่อใช้เป็นยาทาภายนอก รางจืดสามารถยับยั้งการบวมได้ 70% เมื่อศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันและเรื้อรัง รางจืดไม่มีผลทำให้หนูตาย Nattiya (2003) ศึกษาผลของสารสกัดรางจืดในการต้านการอักเสบ พบว่าสารสกัดรางจืดมีค่า EC_{50}=2.5 g/kg และสารสกัดเปลือกมังคุด มีค่า EC_{50}=5.51 g/kg สารสกัดรางจืดต้านการอักเสบได้ดีกว่าสารสกัดเปลือกมังคุด เป็น 2 เท่า เมื่อศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดรางจืดในหนู โดยให้ขนาด 1, 2, 4, 8 g/kg/d ไม่มีหนูตายภายใน 30 วัน แสดงว่าสารสกัดรางจืดมีประสิทธิภาพและปลอดภัย Prayomthin (2005) ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดใบรางจืดในการป้องกันการทำลายเซลล์ตับของหนูที่มีการให้แอลกอฮอล์ และมีการเปรียบเทียบผลกับสาร Silymarinพบว่า สารสกัดใบรางจืด และสาร Silymarin ที่ปริมาณที่เหมาะสม

สามารถเพิ่มอัตราเซลล์ตับปกติขึ้น 2-3 เท่า และลดปริมาณเอนไซม์ Aspatate aminotranferase(AST), Alanine aminotranferase(ALT) ส่วนระดับการทำลายเซลล์ตับนั้นอยู่ระดับที่ปกติ และระดับของ Hepatic triglyceride(HTg) ใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุม ซึ่งจากผลการทดลองแสดงว่าทั้งสารสกัดใบรางจืดและสาร silymarin มีความสามารถในการป้องกันการทำลายเซลล์ตับจากแอลกอฮอล์

ปราชญ์ (2549) กล่าวว่า การนำเอารางจืดมาเคี้ยวและอมในปากระหว่างดื่มเหล้า โดยเชื่อว่ารางจืดจะทำให้ไม่เกิดอาการเมาแอลกอฮอล์ ซึ่งเป็นอันตรายเพราะว่าทำให้อวัยวะในร่างกายถูกทำลายมากขึ้น โดยเฉพาะตับซึ่งสร้างสารเคมีที่จำเป็น เช่น น้ำดี วิตามิน สารทำให้เลือดแข็งตัว ขจัดสารพิษต่างๆออกนอกร่างกาย ทำให้ตับทำงานหนัก ถึงขั้นตับแข็ง ทำให้เสียชีวิตเร็วขึ้น เนื่องจากการสูญเสียเซลล์ตับทุกเซลล์ซึ่งปราศจากการสร้างเซลล์ตับทดแทนเพราะตับเป็นแหล่งสันดาปที่สำคัญของแอลกอฮอล์ ตับจึงเป็นอวัยวะที่ได้รับพิษจากเหล้ามากที่สุด เซลล์ตับที่ถูกทำลายจะมีไขมันเข้าไปแทนที่ทำให้เกิดการคั่งของไขมันในตับซึ่งเป็นสาเหตุแรก ๆ ของอาการตับอักเสบ ส่งผลให้เซลล์ตับถูกทำลายเพิ่มมากขึ้น เมื่อเซลล์ตับตายลงถึงระดับหนึ่ง จะมีการสร้างพังผืดขึ้นที่บริเวณนั้น ในลักษณะคล้ายแผลเป็นทำให้ตับที่เคยอ่อนนุ่ม แข็งตัวขึ้น เกิดอาการที่เรียกว่า ตับแข็ง(Naegle, M.A. and D'avanzo, C.E. 2001)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 การเตรียมสัตว์ทดลอง และวิธีการวิจัย

3.1.1 ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

ใช้หนูขาวสายพันธุ์ Wistar ทั้งเพศผู้และเพศเมีย น้ำหนักประมาณ 150-200 กรัม อายุไม่เกิน 6 สัปดาห์ จากสำนักงานสัตว์ทดลอง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ควบคุมอุณหภูมิตลอดเวลาที่ 22±3 °C เปิดและปิดไฟทุก 12 ชั่วโมง เปลี่ยนถาดรองปัสสาวะและอุจจาระหนูทุกวัน ให้อาหารเม็ดมาตรฐานและน้ำตามต้องการ ระยะเวลาการศึกษา 3 เดือน และได้มีการขออนุญาติในการใช้สัตว์ทดลองเพื่อการศึกษาวิจัย ผ่านจากคณะกรรมการกำกับดูแลการใช้สัตว์เพื่อการศึกษาวิจัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3.1.2 วิธีการป้อนสารให้แก่สัตว์ทดลอง

นำกระบอกฉีดยาขนาด 3 มล. มาต่อด้วย Feeding tube (Rat) No.18 ยาวประมาณ 7 ซม. จากนั้นดูดสารที่จะใช้ป้อนครั้งละ 1 มล. ต่อหนู 1 ตัวใช้นิ้วชี้และนิ้วหัวแม่มือข้างซ้ายดึงส่วนหนังบริเวณด้านต้นคอด้านบนของหนู ใช้อุ้งมือและนิ้วทั้งสามที่เหลือจับหนังตรงบริเวณหลังของหนูให้แน่น การจับโดยวิธีนี้ทำให้หนูไม่ดิ้นและอ้าปากออกเล็กน้อย จึงสอด Feeding tube ผ่านบนลิ้นเข้าถึงลำคอแล้วค่อยสอดลงไปให้ลึกพอประมาณ จึงป้อนสารลงไปอย่างระมัดระวังและรวดเร็ว เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดแผลกับหลอดอาหาร และการสำลักของหนู

3.1.3 การเก็บตัวอย่างเลือดจากสัตว์ทดลอง

3.1.3.1 การสลบหนูก่อนผ่าตัด

นำหนูใส่ลงไปในกล่องเพื่อให้ดมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ จนกระทั่งสลบ นำหนูออกมาและทำดึงคอเพื่อเคลื่อนกระดูกคอของหนู แล้วนำมาวางไว้ที่ถาด Paraffin และจัดท่าหนูให้นอนหงาย ตรึงที่เท้าทั้งสี่ข้าง

3.1.3.2 การผ่าตัดเจาะเลือดหัวใจ

ทำการผ่าตัด โดยใช้กรรไกรตัดเปิดผ่านผิวหนังและเนื้อจากช่องอื้อ ตัดกระดูกซี่โครงทั้งสองข้างหน้าแล้วพลิกขึ้นไปด้านหน้า จะเห็นหัวใจเต้นอยู่ในช่องอก ใช้คีมปากเล็กจับบริเวณหัวใจส่วน Apex โดยพยายามให้โดนกล้ามเนื้อหัวใจน้อยที่สุด แล้วดึงขึ้นมาเล็กน้อย จากนั้นใช้เข็มเบอร์ 18 แทงลงไปที่หัวใจห้องล่างซ้าย พร้อมกับเริ่มดูดเลือดอย่างช้าๆ จนได้ประมาณ 3-4 มล. เพื่อนำไปวิเคราะห์ค่าทางโลหิตวิทยา และทางชีวเคมีคลินิคต่อไป

3.1.3.3 การเตรียมเลือดเพื่อนำไปวิเคราะห์หาค่าทางโลหิต

นำเลือดของหนูปริมาณ 1 มล. ใส่ในหลอดทดลองที่มีสาร Ethylene diamine tetra acetate (EDTA) ขนาด 2 มก. บรรจุอยู่ และเขย่าให้เข้ากัน

3.1.3.4 การเตรียมซีรัม และวิเคราะห์ค่าทางชีวเคมี

นำเลือดที่เจาะจากหัวใจปริมาณ 1 มล.ใส่หลอดทดลองปิดปากให้แน่น ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 15 นาที เลือดจะเริ่มตกตะกอนบางส่วน นำตัวอย่างเลือดที่ได้ไปปั่นด้วยเครื่อง Centrifuge ที่ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที จะได้ส่วนซีรัมแยกออกจากเม็ดเลือดใช้ dropper ดูดเอาส่วนเฉพาะส่วนที่เป็นซีรัมใส่หลอด Appendoff เปล่าที่เตรียมไว้ และเก็บในตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปวิเคราะห์หาค่าทางชีวเคมีคลินิค

3.1.4 การเตรียมอวัยวะ เพื่อการวิเคราะห์หาค่าน้ำหนักของอวัยวะต่างๆ

เมื่อครบอายุการเลี้ยงหนูทดลอง นำหนูทดลองมาผ่าตัด โดยทำตามข้อ 3.2.3.1 และ 3.2.3.2 ก่อน จากนั้นจึงเริ่มทำการผ่าตัดเพื่อชั่งน้ำหนักอวัยวะต่างๆ ด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง และบันทึกน้ำหนักของหัวใจ ปอด ตับ ม้าม ต่อมหมวกไต ไต อัณฑะหรือรังไข่ ด้วยวิธีการดังต่อไปนี้

3.1.4.1 หัวใจ

ใช้คีมคีบดึงส่วนของหัวใจ ลอกเยื่อ Pericardium ออกจากหัวใจ และใช้กรรไกรตัดเส้นเลือด Aorta, Punmonary artery, Punmonary wein และ Superior vena cava ให้เลือแต่ส่วนที่เป็นตัวหัวใจ จากนั้นใช้กรรไกรตัดบริเวณหัวใจตามแนว Median plane ให้ถึงส่วนของหัวใจห้องล่างเพียงเล็กน้อย จึงใช้คีมคีบ และใช้สารละลาย Normal saline solution ล้างเลือดที่ค้างอยู่ในหัวใจออก ใช้กระดาษทิชชูซับหัวใจให้แห้ง แล้วจึงนำไปชั่งน้ำหนัก คำนวณเป็นน้ำหนักสัมพัทธ์ (กรัม%)

3.1.4.2 ปอด

ใช้กรรไกรค่อยๆ เลาะเนื้อเยื่อที่ติดกับหลอดลม เส้นเลือดหัวใจ และหัวใจออกแล้วจึงส่วนทั้งหมดออกมา เลาะเส้นเลือดและพังพืดออกให้หมด ต่อจากนั้นจึงนำปอดไปชั่งน้ำหนัก และคำนวณเป็นน้ำหนักสัมพัทธ์ (กรัม%)

3.1.4.3 ตับ

ใช้กรรไกรค่อยๆ เลาะเนื้อเยื่อที่ติดกับตับและส่วนต่างๆ ของอวัยวะทางเดินอาหารออกแล้วจึงตัดส่วนทั้งหมดของตับออกมา เลาะเนื้อเยื่อไขมันที่ติดออกให้หมดอีกครั้ง ต่อจากนั้นจึงนำตับไปชั่งน้ำหนัก และคำนวณเป็นน้ำหนักสัมพัทธ์ (กรัม%)

3.1.4.4 ม้าม

ใช้คีมคีบม้ามขึ้นเล็กน้อยแล้วใช้กรรไกรตัดส่วนพังพืดที่ติดกับตับอ่อนและไตซ้าย เลาะเนื้อเยื่อไขมันที่ติดออกให้หมด แล้วจึงนำม้ามไปชั่งน้ำหนัก และคำนวณเป็นน้ำหนักสัมพัทธ์ (กรัม%)

3.1.4.5 ต่อมหมวกไต

ใช้คีมคีบดึงต่อมหมวกไตขึ้นเล็กน้อย แล้วใช้กรรไกรตัดตรงรอยระหว่างต่อมหมวกไตกับไต เลาะเนื้อเยื่อไขมันที่ติดกับต่อมหมวกไตออกให้หมด แล้วจึงนำต่อมหมวกไตไปชั่งน้ำหนัก และคำนวณเป็นน้ำหนักสัมพัทธ์ (กรัม%)

3.1.4.6 ไต

ใช้คีมคีบไตขึ้นเล็กน้อยแล้วใช้กรรไกรตัดส่วนเส้นเลือดออก เลาะเนื้อเยื่อไขมันที่ติดกับไตออกให้หมด แล้วจึงนำไตไปชั่งน้ำหนัก และคำนวณเป็นน้ำหนักสัมพัทธ์ (กรัม%)

3.1.4.7 อัณฑะและรังไข่

อัณฑะ ใช้กรรไกรตัดส่วนลูกอัณฑะออกจากส่วนหัวและท้าย ของท่อพักอสุจิ ที่เชื่อมต่อกับสายรั้งลูกอัณฑะ แล้วจึงนำไปชั่งน้ำหนัก และคำนวณเป็นน้ำหนักสัมพัทธ์ (กรัม%)

รังไข่ ใช้กรรไกรเลาะส่วนไขมันบริเวณปีกมดลูกออกจะเจอรังไข่ ลักษณะคล้ายพวงองุ่น แล้วจึงใช้กรรไกรตัดส่วนของรังไข่ออกจากเอ็นยึดรังไข่และตัวมดลูก แล้วจึงนำไปชั่งน้ำหนัก และคำนวณเป็นน้ำหนักสัมพัทธ์ (กรัม%)

3.1.5 การเตรียมชิ้นเนื้อของอวัยวะต่างๆ เพื่อทำสไลด์

หลังจากชั่งน้ำหนักเสร็จแล้ว นำส่วนของหัวใจ ปอด ตับ ม้าม ต่อมหมวกไต ไต อัณฑะและรังไข่ใส่ใน Formaldehyde neutral buffer (Formaldehyde neutral buffer; 10% Formalin 238 ml, Distilled water 762 ml ปรับ pH 7.4) ทันที หลังจากชั่งน้ำหนักเสร็จแล้ว จากนั้นประมาณ 7 วัน นำชิ้นเนื้อมาตัดแต่งหน้าตัดชิ้นเนื้อ (เพื่อเอาบริเวณที่ต้องการให้ติดบนสไลด์) เสร็จแล้วจึงจัดเรียงใส่ตลับพลาสติก (Cassettes) แล้วบรรจุลงในภาชนะที่มี Formaldehyde neutral buffer ก่อนที่จะนำไปทำเป็นสไลด์เนื้อเยื่อ

3.1.5.1 การล้าง (Washing)

ชิ้นเนื้อที่ตรึงสภาพมาแล้ว นำมาล้างด้วยน้ำที่หมุนเวียนอยู่ตลอดเวลา (Running water) เป็นเวลา 20-30 นาที เพื่อให้น้ำยาตรึงสภาพถูกขับออกไปจากชิ้นเนื้อ

3.1.5.2 การดูดเอาน้ำออก (Dehydration)

เป็นการเอาน้ำออกจากตัวอย่าง หลังจากล้าง เพื่อให้พร้อมต่อการยอมให้ Embedding media ซึมผ่านเข้าไปได้ โดยใช้ Ethyl alcohol เป็นตัวดูดน้ำ (Dehydrant) ขั้นตอนนี้ให้ชิ้นเนื้อผ่าน Ethyl alcohol ที่อยู่ในแต่ละอ่าง แต่ละความเข้มข้น 80%, 85%, 95%, 100%, 100% และ 100% ตามลำดับ โดย

แต่ละความเข้มข้นชิ้นเนื้อใช้เวลาแช่อยู่ดังนี้ 0.5, 2, 1, 1, 1 และ 1 ชม.ตามลำดับ (ใช้เครื่อง Automatic tissue processor)

3.1.5.3 การทำให้ใส (Clearing)

เป็นการนำสารเคมีตัวที่ยอมให้ Embedding media แทรกซึมเข้าสู่เซลล์เนื้อเยื่อได้ (Clearingagent) เข้ามาแทนที่ Dehydrant จากขั้นตอนที่ผ่านมา โดยจะใช้ Xylene เป็นตัว Clearing ขั้นตอนนี้จะให้ชิ้นเนื้อผ่าน Xylene ซึ่งอยู่ในแต่ละอ่างจำนวน 3 อ่าง และแต่ละอ่างใช้เวลาในการแช่ชิ้นเนื้อดังนี้ 1, 1 และ 2 ชม. ตามลำดับ (ใช้เครื่อง Automatic tissue processor)

3.1.5.4 การคงรูปโครงสร้าง (Impregnation)

เป็นการขจัดเอา Xylene ออกจากชิ้นเนื้อ แล้วแทนที่ด้วย Embedding media ในการปฏิบัติการใช้ Paraffin เป็น Embedding media (อุณหภูมิ 58 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการหลอมเหลว Paraffin) ที่บรรจุอยู่ใน Electric paraffin dispenser (หม้อละลาย Paraffin และมีก็อกปิด-เปิด เพื่อให้ Paraffin ไหลออกมา) ซึ่งจะทำให้เซลล์ และเนื้อเยื่อตลอดจนโครงสร้างภายในเนื้อเยื่อคงรูป และแข็งพอที่จะตัดเป็นสไลด์ชิ้นเนื้อได้ ขั้นตอนนี้จะให้ชอ้นเนื้อผ่าน Paraffin ซึ่งอยู่ในแต่ละอ่างจำนวน 2 อ่าง และแต่ละอ่างใช้เวลาในการแช่ชิ้นเนื้อดังนี้ 2 และ 1.5 ชม. ตามลำดับ (ใช้เครื่อง Automatic tissue processor)

3.1.5.5 การทำบล็อกตัวอย่าง (Embedding)

เป็นขั้นตอนที่ทำต่อ Impregnation เพื่อให้ Paraffin ที่แข็งตัวห่อหุ้มชิ้นเนื้อไว้สำหรับการตัดให้เป็นแผ่นบางๆ นั้นจะนำชิ้นเนื้อวางด้านที่ต้องการจะตัดอยู่ด้านล่างติดกับพื้นของแม่พิมพ์ (ถาดอลูมิเนียม) แล้วหล่อด้วย Paraffin ให้เต็มแม่พิมพ์ (ให้ความร้อนอยู่เสมอขณะจัดเรียงชิ้นเนื้อ) ทาบ Cassettes ลงไปบนแม่พิมพ์ ปล่อยให้เย็นลงที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จึงสามารถหยิบออกมาจากพิมพ์ได้ จะได้บล็อกที่เสร็จแล้ว

3.1.5.6 การตัดบล็อกชิ้นเนื้อ (Sectioning)

เป็นการตัดชิ้นเนื้อที่ผ่าน Embedding ให้เป็นแผ่นบางด้วยเครื่องตัดชิ้นเนื้อ microtome โดยกระทำดังนี้ เริ่มจากการตัดเอา Paraffin ที่อยู่รอบตัวอย่างทั้ง 4 ด้านออกไป (Trimming) จากนั้นนำบล็อกที่ Trim แล้วมาใส่ในช่องยึดตัวอย่าง (Block holder) จับยึดบล็อกตัวอย่างให้แน่น (Facing) จึงตัดบล็อกตัวอย่างด้วย Microtome โดยให้ความหนาของชิ้นเนื้ออยู่ประมาณ 4-7 ไมโครเมตร (Sectioning) จากนั้นเอาชิ้นเนื้อที่ตัดได้ลอยบนผิวน้ำอุ่นใน Water bath (อุณหภูมิประมาณ 43-45 องศาเซลเซียส) เลื่อนกระจกสไลด์ไปแตะติดกับชิ้นเนื้อที่ลอยอยู่ และเลื่อนกระจกสไลด์เอียงมุม 45 องศาขึ้นจากน้ำอุ่น (แผ่น

ชิ้นเนื้อจะเกาะติดกับสไลด์ขึ้นมา) ขั้นตอนสุดท้ายในกระบวนการตัดชิ้นเนื้อ เป็นการทำให้ชิ้นเนื้อแห้งอยู่บนแผ่นสไลด์ (Drying slide) นำไปเข้า Hot air oven

3.1.5.7 การย้อมสี (Staining)

การย้อมสีนั้นจะใช้สีอยู่สองชนิด คือ Mayer's hematoxylin ทำปฏิกิริยากับกรดนิวคลิอิค และ Acid tissue ทำให้เกิดเป็นสีน้ำเงิน หรือสีน้ำเงินแกมดำ และสีอีกชนิดหนึ่งคือ Eosin ซึ่งทำปฏิกิริยากับ Basic tisuue โดยเฉพาะอย่างยิ่งโปรตีนที่อยู่ในไซโทพลาสซึม ทำให้เกิดสีชมพู หรือสีชมพูแกมแดง ขั้นตอนการย้อมสีมีดังต่อไปนี้

3.1.5.7.1 ละลาย Paraffin ในชิ้นเนื้อ โดยแช่น้ำยา Xylene 2 ครั้งๆ ละ 2 นาที

3.1.5.7.2 จุ่มลงน้ำกลั่นประมาณ 4 ครั้ง

3.1.5.7.3 ย้อมสี Mayer's hematoxylin โดยแช่ไว้ในอ่างสีประมาณ 15 นาที

3.1.5.7.4 ล้างด้วยน้ำประปาประมาณ 20นาที (Running water)

3.1.5.7.5 ย้อมสีทับด้วย Eosin โดยแช่ไว้ในอ่างสีประมาณ 15 วินาที ถึง 2 นาที

3.1.5.7.6 ดูดน้ำออกจากชิ้นเนื้อ โดยแช่ใน 95% Ethyl alcohol 2 ครั้งๆ ละ 2 นาที

3.1.5.7.7 ดูดน้ำออกจากชิ้นเนื้อ โดยแช่ใน 100% Ethyl alcohol 2 ครั้งๆ ละ 2 นาที

3.1.5.7.8 ทำชิ้นเนื้อให้ใส โดยแช่ใน xylene 2 ครั้งๆ ละ 2 นาที

3.1.5.7.9 ปิดทับชิ้นเนื้อบนสไลด์ด้วย Coverglass มีน้ำยา Permount ช่วยให้ติดแน่น

2. การเตรียมสารสกัด

2.1 การเตรียมใบรางจืดผง ใช้ใบรางจืดของโรงพยาบาลครบุรี อ.ครบุรี จ. นครราชสีมาในช่วงเดือนมิถุนายน – ตุลาคม 2552 โดยทำแห้งด้วยตู้อบที่อุณหภูมิ 60 °C นาน 6 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปปั่นด้วยเครื่องปั่น (Mitsubishi, MX-T1PW, Thailand)เพื่อให้ได้ใบรางจืดผง และบรรจุแบบสุญญากาศ นำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C ก่อนนำไปใช้ในการทดลอง

2.2 การเตรียมสารสกัดรางจืด เตรียมสารสกัดรางจืด 3 ชนิด คือ สารสกัดน้ำ อะซีโตน และเอทานอล ตามวิธีของ Ratchadaporn et al. (2006) คือ นำใบรางจืดผง 100 mg นำไปใส่ในหลอด Centrifuge พลาสติกขนาด 15 mL เติมน้ำร้อน(100 °C) หรืออะซีโตน หรือเอทานอล ปริมาตร 12 ml แล้วนำไปใส่ใน Water bath (shaking)(JULABO, SW22, USA) ที่อุณหภูมิ 25°C นาน 15 นาที ต่อมานำไปเข้าเครื่อง Centrifuge (Hettich,universal 16R, USA) ที่ 3,000 g 3 นาที โดยแยกส่วนของเหลวกรองด้วยกระดาษกรอง และทำการสกัดซ้ำอีก 2 ครั้ง แล้วนำส่วนที่เป็นของเหลวทั้ง 3 ครั้งรวมกัน และกรองด้วยเครื่องกรองแบบสุญญากาศ ปรับปริมาตรใน Volumetric flask 50 ml ปิเปตสารสกัดใส่หลอดทดลอง (ขนาด 5 ml) ปริมาณ 2 ml เฉพาะสารสกัดน้ำนำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 °C เป็นเวลา 12

ชั่วโมง แล้วนำไปทำแห้งโดยเครื่อง Freeze dryer (GEA, LYOVAC GT2-S, MD) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ส่วนสารสกัดอะซีโตนและเอทานอล นำไปเข้าเครื่องTherbo vap (Caliper, LV, USA) เพื่อกำจัดตัวทำละลายอะซีโตนและเอทานอล จัดเก็บสารสกัดที่อุณหภูมิ -20°Cในภาชนะทึบแสง ก่อนนำไปใช้ในการทดลอง

3. การศึกษาความเป็นพิษ

3.1 การศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันของสารสกัดรางจืดในหนูขาว ทำการทดสอบนำร่องโดยให้สารสกัดน้ำแก่หนูขาวขนาด 2,000และ 15,000มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ใช้หนูขาว 10ตัว (เพศผู้ 5เพศเมีย 5) ต่อหนึ่งขนาด และกลุ่มควบคุม 2 ตัว(เพศผู้ 5เพศเมีย 5) ให้น้ำในปริมาตรที่เท่ากัน สังเกตอาการหลังจากให้สารสกัดรางจืดในเวลา 5, 15, 30 นาที และ 1, 2 และ 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นสังเกตอาการทุกวันเป็นเวลา 1วัน เพื่อหาขนาดของสารสกัดรางจืดในขนาดสูงในการให้แก่หนูขาว

3.2 การทดสอบความเป็นพิษกึ่งระยะยาว ของสารสกัดรางจืดในหนู การทดสอบความเป็นพิษกึ่งระยะยาว เป็นการทดสอบโดยใช้ปริมาณความเข้มข้นของสารขนาดต่ำ ระยะเวลาประมาณ 1-3 เดือน ซึ่งขึ้นอยู่กับช่วงชีวิตของสัตว์ทดลองโดยเป็นระยะเวลาน้อยกว่าร้อยละ 10 ของช่วงชีวิต (Life span) จึงคำนวณขนาดน้ำสกัดใบรางจืดที่จะให้กับหนูจากขนาดที่ผู้บริโภคดื่มชารางจืดใน 1 วัน โดยใช้ผงใบรางจืดแห้งหนักประมาณ 1 กรัมต่อหนึ่งซอง คือประมาณ 3 กรัมต่อน้ำหนักตัว 60 กิโลกรัมต่อวัน หรือ 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน ผงสารสกัดรางจืดแห้งมี yield ประมาณร้อยละ 29.2 ของน้ำหนักใบรางจืดเริ่มต้น ดังนั้นใบรางจืด 50 มิลลิกรัมเมื่อนำมาสกัดแล้วได้ Yield เท่ากับ 14.6 มิลลิกรัม ใช้ค่าความแน่นอนที่อาจเกิดขึ้น (Uncertainly factor) ในการกำหนดค่าความปลอดภัย (Safety factor) จากความแตกต่างระหว่างคนกับสัตว์ (Interspecies difference) คือ 10 และค่าความแตกต่างระหว่างสปีชีส์เดียวกัน (Interindividual difference) อีก 10 มาคำนวณขนาดของสารสกัดรางจืดน้ำที่ให้กับหนูคือ 14.6x10x10 เท่ากับ 1.46 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ส่วนสารสกัดรางจืดอะซีโตนและเอทานอล มี Yield เท่ากับ 15.3 และ 10.25 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักใบรางจืดเริ่มต้น 50 มิลลิกรัมตามลำดับ เมื่อนำมาคำนวณขนาดสารสกัดรางจืดอะซีโตนและเอทานอล เท่ากับ 1.53 และ 1.025 กรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ

นำผงสารสกัดรางจืด มาละลายด้วยน้ำกลั่น แล้วเก็บไว้ในหลอดปิดฝาให้สนิทก่อนนำไปป้อนหนูในขนาด 1.46 กรัมต่อกิโลกรัม (ส่วนของสารสกัดรางจืดอะซีโตน และเอทานอลทำเช่นเดียวกัน)

ทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดรางจืดในหนูขาวโดยการป้อนทางปาก แบ่งหนูขาวออกเป็น 6 กลุ่มๆ ละ 10 ตัวเป็นเพศผู้ 5 ตัว เพศเมีย 5 ตัว รวม 60 ตัว กลุ่มที่ 1, 2 เป็นกลุ่มควบคุม

ป้อนเฉพาะน้ำ และ Tween 80 5% ตามลำดับ เป็นเวลา 3 เดือน กลุ่มที่ 3,4 เป็นกลุ่มทดสอบขนาดเทียบเท่ากับการบริโภคชาในคน ป้อนสารสกัดรางจืดน้ำและสารสกัดรางจืดเอทานอลขนาด 1.6และ 1.2 กรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ เป็นเวลา 3 เดือน ส่วนกลุ่ม 5 และ 6 เป็นกลุ่มศึกษาผลย้อนกลับหลังหยุดให้สารสกัดน้ำ หรือเรียกว่า กลุ่ม satellite ป้อนสารสกัดรางจืดน้ำ และสารสกัดรางจืดเอทานอลขนาด 1.6 และ1.2 กรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ เป็นเวลา 3 เดือน แล้วหยุดให้ สังเกตอาการต่ออีก 14 วัน ชั่งน้ำหนักหนูทุกวันพร้อมกับสังเกตอาการ คือลักษณะผิวหนัง ขน ตา เยื่อเมือก การหายใจ การไหลเวียนโลหิตและระบบประสาทส่วนกลาง รวมทั้งพฤติกรรมที่ผิดปกติ หนูขาวที่เสียชีวิตระหว่างการทดสอบนำมาผ่าซากเพื่อศึกษาพยาธิสภาพ ส่วนหนูที่มีชีวิตรอดจนครบกำหนด นำมาทำให้สลบด้วย pentobarbital เก็บเลือด และผ่าซากเพื่อศึกษา(ตารางที่ 3.1)

3.3 การศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์โดยระดับของ malondialdehyde (MDA) อาศัยหลักการที่ MDA ทำปฏิกิริยากับ thiobarbituric acid (TBA) ในซีรั่มในสภาวะที่เป็นกรดเกิดเป็น MDA-TBA complex มีสีชมพูอมส้ม มีคุณสมบัติดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร (วีระวรรณ และคณะ, 2546) สารเคมีและการเตรียมเพื่อวัดระดับ MDA ดังนี้

3.3.1 Trichloroacetic acid (TCA) reagent

ละลาย TCA 100 กรัม ด้วย 0.6 M HCl 100 มล. เก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิห้อง

3.3.2 Thiobarbituric acid (TBA) 0.12 M

ชั่ง TBA (Eastman, MW 144.5) 17.298 กรัม ละลายด้วย 0.26 M 2-amino-2-hydroxymethyl-1,3-propanediol (Tris, MW 121.1) ในปริมาณ 1,000 มล. เก็บที่อุณหภูมิห้องและกรองก่อนใช้

3.3.3 MDA standard (100μM)

เตรียม stock MDA ความเข้มข้น 10 mM โดย standard tetramethoxypropane (TMP)(MW 164.2) 20.8 μL เติม HCl เข้มข้นลงไปประมาณ 5-8 หยด เขย่าให้เข้ากัน แล้วเติมน้ำลงไปให้ครบ 10 mL จะได้ stock MDA ความเข้มข้น 10 μM จากนั้นดูด stock MDA มา 10 μL เติมน้ำลงไป 990 μL จะได้ความเข้มข้นเท่ากับ 10 μM นำมาเตรียม standard MDA ในความเข้มข้นต่างๆ กัน คือ 10, 20, 30 และ 40 μM เพื่อใช้ทำ calibration curve

4.สถิติและการวิเคราะห์ข้อมูล

ใช้ซอฟท์แวร์สถิติโปรแกรม SPSS 16.0 คำนวณผลแสดงเป็นค่า mean ±standard deviation (X±S.D.) สัตว์ทดลองที่เสียชีวิตในระหว่างการทดสอบไม่นำมารวมในการหาค่าเฉลี่ย สำหรับการเปรียบเทียบความแตกต่างของผลการทดลองระหว่างกลุ่มทดสอบกับกลุ่มควบคุมใช้ Turkey-Kramer post-hoc test ที่ระดับนัยสำคัญ $p<0.05$ ส่วนลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยา และสัตว์ทดลองที่เสียชีวิตในระหว่างการทดสอบวิเคราะห์โดยวิธีพรรณนาความผิดปกติเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

5. สถานที่ทำการทดลองและเก็บข้อมูล

ห้องปฏิบัติการเคมี ห้องปฏิบัติการแปรรูปอาหาร ณ อาคารเครื่องมือ 3 อาคารสัตว์ทดลอง ห้องจุลทรรศน์ อาคารเครื่องมือ 9 ฝ่ายวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือ ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 4
ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

4.1 ผลการศึกษาพิษเฉียบพลัน

จากการศึกษาพบว่าไม่มีหนูขาวตัวใดมีพฤติกรรมที่ผิดปกติไปจากกลุ่มควบคุมในระยะ 14 วัน เมื่อป้อนสารสกัดรางจืดที่สกัดด้วย น้ำ เอทานอล และอะซีโตน ขนาด 2,000 และ 15,000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ลักษณะการกินอาหารเม็ดมาตรฐานและน้ำ และการขับถ่ายของหนูขาวแม้จะมีแนวโน้มว่าหนูกลุ่มได้รับสารสกัดรางจืดมีน้ำหนักต่ำกว่าหนูกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 4.1 และ 4.2) น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นใน 14 วันของหนูขาวเพิ่มขึ้นปกติและไม่มีหนูขาวตัวใดเสียชีวิตในระหว่างการทดสอบ ไม่แตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม เมื่อผ่าซากอวัยวะภายใน ไม่พบความผิดปกติทางพยาธิสภาพของอวัยวะภายในของหนูทั้งเศผู้และเมีย เมื่อสังเกตด้วยตาเปล่า แต่เมื่อนำมาชั่งน้ำหนักเฉพาะ พบว่า ในหนูเพศผู้ที่ได้รับสารสกัดน้ำ และเอทานอล ขนาดสูงทำให้น้ำหนักเฉลี่ยสัมพัทธ์ของ หัวใจ ตับ ไต ต่อมหมวกไต มีค่าเพิ่มขึ้นจากกลุ่มควบคุม ในสารสกัดรางจืดอะซีโตนนั้น กลุ่มควบคุมทำให้น้ำหนักเฉลี่ยสัมพัทธ์ของตับน้อยกว่ากลุ่มควบคุม เนื่องจากกลุ่มควบคุมที่ได้รับอะซีโตน 0.09% ซึ่งในระยะแรกนั้นเป็นผลการตอบสนองของตับต่อสารออกฤทธิ์กลุ่มฟลาวานอยด์ในรางจืด เพื่อให้อยู่ในสภาวะสมดุลทำให้ขนาดตับโตขึ้น แต่กลุ่มที่ทดสอบสารสกัดรางจืดอะซีโตน ตับมีขนาดเล็กลงกว่ากลุ่มควบคุม แสดงว่ารางจืดมีส่วนที่ช่วยป้องกันการทำลายเซลล์ตับ และมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ (Nattiya, 2003) ส่วนในเพศเมียนั้นที่ได้รับสารสกัดน้ำ และเอทานอล ขนาดสูงทำให้น้ำหนักเฉลี่ยสัมพัทธ์ของ ปอด หัวใจ ม้าม ไต ต่อมหมวกไต รังไข่ เพิ่มขึ้นมากกว่ากลุ่มควบคุม(ตารางที่ 4.3 และ 4.4)

ผลทางพยาธิสภาพด้วยตาเปล่าไม่พบความผิดปกติทั้งกลุ่มควบคุม และกลุ่มทดสอบให้สารสกัดรางจืดน้ำ เอทานอล และอะซีโตน ทั้งสีและลักษณะเนื้อเยื่อ ผลทางพยาธิวิทยาของชิ้นเนื้ออวัยวะภายในของหนู พบว่าปกติทุกกลุ่ม และไม่มีลักษณะการเปลี่ยนแปลง ที่แสดงให้เห็นถึงการทำลายของเซลล์เนื้อเยื่อต่างๆ

4.2 ผลการศึกษาพิษกึ่งระยะยาว

4.2.1 ผลต่อทางมหกายวิภาคและจุลกายวิภาคของหนูขาวที่ได้รับสารสกัดรางจืด

4.2.1.1ผลต่อน้ำหนักตัวเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นต่อวัน

น้ำหนักตัวเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นต่อวันของหนูขาว ทั้งเพศผู้และเมีย พบว่า หนูในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดรางจืดน้ำและเอทานอล ขนาดเทียบเท่าการดื่มชาในคน (1.46 และ 1.025 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ) เป็นระยะเวลา 90 วัน และกลุ่มที่ศึกษาผลย้อนหลัง หลังให้สารสกัดรางจืดน้ำ และเอทานอล เป็นเวลา 90 วันแล้วหยุดให้สารสกัดดูผลต่ออีก 14 วัน ตามลำดับนั้น ทุกกลุ่มมีน้ำหนักตัวเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นต่อวัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 4.9 และ 4.10 ตามลำดับ)

จากการทดลอง พบว่า หนูขาวในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดรางจืดน้ำ และ เอทานอล ขนาด 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับนั้น มีน้ำหนักตัวเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นต่อวันไม่แตกต่างกันจากกลุ่มควบคุม ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ วีระวรรณ และคณะ (2546) ที่พบว่าน้ำสกัดใบรางจืด ขนาด 2 และ 5 กรัม/กิโลกรัม เป็นเวลา 7 วัน และ ขนาด 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เป็นเวลา 28 วัน ไม่ทำให้น้ำหนักตัวของหนูลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และไม่มีหนูขาวตัวใดเสียชีวิตในระหว่างการทดสอบ จากรายงานของ ทรงพลและคณะ (2552) ที่พบว่าสกัดรางจืดด้วยน้ำขนาด 20 200 1,000 2,000 กรัม/กิโลกรัม เป็นเวลา 6 เดือน น้ำหนักเฉลี่ยเพิ่มขึ้นปกติ ไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุม ไม่พบความผิดปกติภายนอกและพฤติกรรม ไม่แสดงความเป็นพิษและไม่มีหนูเสียชีวิต และจากรายงานของ Malini and Vanithakumari (1989) พบว่าสาร ß-sitosterol ซึ่งเป็นสารชนิดหนึ่งในรางจืด ไม่มีผลทำให้น้ำหนักตัวของหนูขาวลดลงหลังให้ สารขนาด 2.5, 5 และ 10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ เป็นระยะเวลา 60 วัน ทั้งนี้เนื่องมาจากสารต่างๆ ที่มีอยู่ในรางจืดไม่มีผลทำให้การกินได้ของหนูลดลง จึงทำให้น้ำหนักตัวเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นต่อวันของหนูขาวทั้งเพศผู้และเมียที่ได้รับสารสกัดรางจืดเป็นปกติ

4.1.1.2 ผลต่อหัวใจ

ในกลุ่มทดสอบที่ได้รับสารสกัดรางจืดน้ำและเอทานอล ขนาดเทียบเท่าการดื่มชาในคน (1.46 และ 1.025 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ) พบว่าเมื่อให้สารเป็นระยะเวลา 90 วัน ทั้งเพศผู้และเพศเมียนั้นและกลุ่มศึกษาผลย้อนกลับที่ให้สารสกัดรางจืดน้ำและเอทานอล ขนาดเทียบเท่าการดื่มชาในคน (1.46 และ 1.025 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ) เป็นระยะเวลา 90 วัน แล้วหยุดให้ สังเกตอาการต่ออีก 14 วัน ในเพศผู้ น้ำหนักสัมพัทธ์เฉลี่ยของหัวใจ (ตารางที่ 4.11 และ 4.12) และผลจากการตรวจทางจุลกายวิภาคของหัวใจ พบว่า กลุ่มที่ได้รับสารสกัดรางจืดน้ำและเอทานอล ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อหัวใจ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม น้ำหนักสัมพัทธ์เฉลี่ยของหัวใจในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดรางจืดน้ำและเอทานอล ในกลุ่มทดสอบ และศึกษยผลย้อนกลับ มีแนวโน้มขนาดของหัวใจเล็กลง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม แต่ไม่พบความแตกต่างทางจุลกายวิภาค

Herrera et al. (1996) พบว่าสารกลุ่ม Flavanoid หลายชนิดมีผลต่อการชักนำ Noradrenaline ทำให้การหดตัวของ Aortic smooth muscle ในหนูแรทเปลี่ยนแปลง วีระวรรณ (2543) พบว่า สารสกัดใบรางจืดน้ำมีผลต่อการทำงานของระบบไหลเวียนโลหิต ทำให้ความดันโลหิตลดลง มีผลต่อเส้นเลือดแดงช่วยเพิ่มการคลายตัวของเส้นเลือดเมื่อใช้ในขนาดสูง ต่อมาวิรวรรณและคณะ (2546) พบว่าเมื่อให้สารสกัดรางจืด 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม นาน 28 วัน พบว่า ผนังหัวใจชั้นในมีลักษณะบาง แต่ไม่พบก้อนเลือดเกาะติดกับผนังหัวใจ ชั้นกล้ามเนื้อ Myocardium ไม่มีการอักเสบหรือการตาย ผนัง Epicardium มีลักษณะเรียบ ไม่พบการตายของชั้นไขมันที่อยู่ที่ผนังหัวใจชั้นนอก ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารสกัดรางจืดส่ไม่ส่งผลทำให้หัวใจของหนูทดลองเกิดการเปลี่ยนแปลงทางมหกายวิภาค และจุลกายวิภาค เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

4.1.1.3 ผลต่อตับ

หลังจากให้สารหลังจากให้สารสกัดรางจืดน้ำ และเอทานอล ขนาดเทียบเท่าการดื่มชาในคน (1.46 และ 1.025 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ) เป็นเวลา 90 วันในกลุ่มทดสอบ และกลุ่มศึกษาผลย้อนกลับ พบว่า น้ำหนักสัมพัทธ์เฉลี่ยของตับไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 4.11 และ 4.12) และผลการตรวจทางจุลกายวิภาคของตับ ไม่พบการเปลี่ยนแปลงที่แตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (รูปที่ 4.1, 4.2)

จากการศึกษาครั้งนี้หนูที่ได้รับสารสกัดรางจืดเมื่อให้สารสกัดรางจืด เป็นเวลา 14 วัน (พิษเฉียบพลัน) พบว่า มีน้ำหนักเฉลี่ยสัมพัทธ์ของตับเพิ่มสูงขึ้น อย่างไรก็ตามเมื่อให้สารสกัดรางจืดแบบกึ่งระยะยาว ไม่พบความแตกต่างกันทั้งทางมหกายวิภาคและจุลกายวิภาค ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าการที่หนูขาวมีน้ำหนักเพิ่มในระยะแรกนั้นเป็นผลการตอบสนองของตับต่อสารออกฤทธิ์กลุ่มฟลาวานอยด์ในรางจืด เพื่อให้อยู่ในสภาวะสมดุล เนื่องจากพบว่ากระบวนการเมทาบอลิซึมของฟลาวานอยด์เกิดขึ้นในตับเป็นส่วนใหญ่ (Hollman and Katan, 1988) นอกจากนี้รายงานของ Dai et al. (1997) ที่พบว่า Flavanoid เป็นตัวชักนำทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ Cytochrome P450 ที่เป็นส่วนสำคัญที่ทำให้เกิดบทบาทต่อการเปลี่ยนแปลงเมทาบอลิซึมของสเตอรอยด์ โดยที่ Cytochrome P450 จะช่วยทำหน้าที่ในการสลาย Side chain ของคลอเรสเตอรอลออกให้เป็น Pregnenolone ซึ่งเป็น pathway ของการสังเคราะห์ Steroid hormone (Devlin, 1992) ซึ่งสอดคล้องกับ Prayomthin (2005) ว่าสารสกัดรางจืดมีฤทธิ์ในการป้องกันการทำลายเซลล์ตับของหนูที่มีการให้แอลกอฮอล์ ในปริมาณที่เหมาะสมจะสามารถเพิ่มอัตราเซลล์ตับปกติขึ้น 2-3 เท่า และลดปริมาณเอนไซม์ AST และ ALT ส่วนระดับการทำลายเซลล์ตับนั้นอยู่ระดับที่ปกติ และระดับของ hepatic triglyceride (HTg) ใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุม แสดงว่าสารสกัดใบรางจืดมีความสามารถในการป้องกันการทำลายเซลล์ตับจากแอลกอฮอล์ ต่อมาวิรวรรณและคณะ (2546) พบว่า

เมื่อให้สารสกัดรางจืด 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม นาน 28 วัน พบว่าไม่พบความผิดปกติของเนื้อเยื่อและการจัดเรียงตัวของเนื้อเยื่อตับ ไม่พบว่ามีการตายของเซลล์ตับและ Kupffer's cell ไม่พบเซลล์ซึ่งแสดงถึงการอักเสบและการคั่งของน้ำดีภายในตับ พบการสะสมของไขมันอยู่ในเนื้อเยื่อปริมาณเล็กน้อย โดยมีลักษณะเป็นไขมันสะสมอยู่ในเนื้อเยื่อทั้งในกลุ่มควบคุมและกลุ่มให้น้ำสกัดใบรางจืด แต่ลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่เห็นไม่มีความสำคัญทางพยาธิวิทยา

4.1.1.4 ผลต่อไต

หลังจากให้สารสกัดรางจืดน้ำ และเอทานอล ขนาดเทียบเท่าการดื่มชาในคน (1.46 และ 1.025 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ) เป็นเวลา 90 วันในกลุ่มทดสอบ และกลุ่มศึกษาผลย้อนกลับ ทั้งเพศผู้และเพศเมีย พบว่า น้ำหนักสัมพัทธ์เฉลี่ยของไตแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 4.11 และ 4.12) และไม่พบการเปลี่ยนแปลงทางจุลกายวิภาคเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (รูปที่4.3, 4.4) ยกเว้นกลุ่มศึกษาผลย้อนกลับของสารสกัดรางจืดเอทานอลในเพศผู้ และเมียมีน้ำหนักสัมพัทธ์เฉลี่ยของไตไม่แตกต่างกันทางสถิติ

จากการศึกษาครั้งนี้หนูกลุ่มศึกษาผลย้อนกลับที่ได้รับสารสกัดรางจืดเอทานอลนั้น มีน้ำหนักของไตเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ วิรวรรณ (2546) พบว่า เมื่อให้น้ำสกัดใบรางจืดต่อเนื่องเป็นเวลา 28 วัน พบว่ามีน้ำหนักสัมพัทธ์เฉลี่ยของไต ของหนูเพศผู้ มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งลักษณะทางจุลกายวิภาคของไต พบว่าเยื่อหุ้มไตอยู่ในลักษณะปกติ บริเวณ renal cortex มีเลือดคั่งเล็กน้อย ไม่พบการทำลายที่เฉพาะเจาะจงของเซลล์ในชั้น tubulointerstitium ไม่พบว่ามีการแทรกซึมที่ผิดปกติของเซลล์ ลักษณะท่อไตซึ่งเป็นส่วนประกอบของ renal medulla ปกติ และ ทรงพล (2552) เมื่อให้สารสกัดรางจืดน้ำ ขนาด 2,000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม นาน 6 เดือน ทั้งเพศผู้และเมีย พบว่ามีน้ำหนักสัมพัทธ์เฉลี่ยของไตเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($p<0.05$)

4.1.1.5 ผลต่อต่อมหมวกไต

น้ำหนักสัมพัทธ์เฉลี่ยของต่อมหมวกไต หลังจากให้สารสกัดรางจืดน้ำ และเอทานอล ขนาดเทียบเท่าการดื่มชาในคน (1.46 และ 1.025 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ) เป็นเวลา 90 วันในกลุ่มทดสอบ และกลุ่มศึกษาผลย้อนกลับ ทั้งเพศผู้และเพศเมีย พบว่า น้ำหนักสัมพัทธ์เฉลี่ยของต่อมหมวกไตไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 4.11 และ 4.12) ยกเว้นกลุ่มศึกษาผลย้อนกลับทั้งเพศผู้และเพศเมีย และกลุ่มที่ได้รับสารสกัดรางจืดเอทานอลในหนูเพศผู้ พบว่ามีน้ำหนักสัมพัทธ์เฉลี่ยเพิ่มขึ้น เท่ากับ 0.03 ± 0.00 ทั้งสองข้าง 0.029 ± 0.00 และ 0.06 ± 0.00 ตามลำดับ มีน้ำหนักมากกว่ากลุ่มควบคุมที่มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.018 ± 0.00 และ 0.017 ± 0.00 (ซ้าย) 0.019 ± 0.00 (ขวา) และ

0.02±0.00 ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และผลจากการตรวจทางจุลกายวิภาคของต่อมหมวกไต ก็ไม่พบการเปลี่ยนแปลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (รูปที่ 4.5, 4.6)

4.2.2 ผลต่อสารประกอบทางเคมีของเลือดในหนูที่ได้รับสารสกัดรางจืด

4.2.2.1 ผลต่อค่า AST, ALT และ ALP

หลังการให้สารเป็นระยะเวลา 90 วัน พบว่าทุกกลุ่มที่ได้รับสารสกัดรางจืดน้ำและเอทานอล ทั้งเพศผู้และเพศเมียมีค่าเฉลี่ยของระดับ AST, ALT และ ALP ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ตามลำดับ (ตารางที่ 4.15 และ 4.16) ยกเว้นกลุ่มเพศผู้ที่ได้รับสารสกัดรางจืดเอทานอล พบว่า มีค่าเฉลี่ยระดับ ALT สูงขึ้น เท่ากับ 41.53±24.65 U/L จากกลุ่มควบคุมเท่ากับ 32.40±6.65 U/L อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และกลุ่มศึกษาผลย้อนกลับที่ได้รับสารสกัดรางจืดเอทานอลในหนูเพศผู้ พบว่า มีค่าเฉลี่ยของระดับ AST มีค่าลดลง เท่ากับ 108.20± 15.80 U/L จากกลุ่มควบคุมเท่ากับ 156.00±64.85 U/L อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

สุพิศ จินดาวณิค (2524) รายงานว่าเอนไซม์ AST และ ALT สามารถออกจากเซลล์ได้เมื่อเนื้อเยื่อของเซลล์ที่เก็บเอนไซม์ไว้ถูกทำลาย และค่าของเอนไซม์จะเพิ่มขึ้นเป็นสัดส่วนกับการสลายตัวของเซลล์ โดยทั่วไปเอนไซม์ทั้งสองสามารถบอกได้ถึงความผิดปกติของตับ และหัวใจได้ ซึ่งสำนักสัตว์ทดลอง (2540) ได้รายงานว่าค่าปกติของ AST และ ALT ของหนูขาวสายพันธุ์ Wistar มีค่าอยู่ประมาณ 160.83 และ 47.53 U/L ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าค่าที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้กลุ่มทดสอบเพศเมียนั้นมีค่ายังอยู่ในระดับปกติเมื่อเปรียบเทียบกับค่าอ้างอิง จากรายงานของวีระวรรณ (2546) ในกลุ่มให้น้ำสกัดใบรางจืดและกลุ่มศึกษาผลย้อนกลับ ของหนูขาวเพศเมีย มีค่า AST สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$)

4.2.2.2 ผลต่อค่า BUN และ Creatinine ในซีรัม

หลังการให้สารเป็นระยะเวลา 90 วัน พบว่าทุกกลุ่มที่ได้รับสารสกัดรางจืดน้ำและเอทานอล ทั้งเพศผู้และเพศเมียมีค่าเฉลี่ยของระดับ BUN และ Creatinie ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ตามลำดับ (ตารางที่ 4.15 และ 4.16) ยกเว้นกลุ่มในเพศเมีย กลุ่มศึกษาผลย้อนกลับ ที่ได้รับสารสกัดรางจืดน้ำ ขนาดเทียบเท่าการดื่มชาในคน (1.46 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) พบว่า มีค่าเฉลี่ยของ Creatinine ระดับสูงขึ้น เท่ากับ 0.89 ± 0.14 มิลลิกรัม% จากกลุ่มควบคุม เท่ากับ 0.53 ±0.16 มิลลิกรัม% อย่างมีนัยสำคัญยิ่งสถิติ ($p<0.01$)

BUN และ Cratinine เป็นสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน (Nonprotein

Nitrgenous compound) และ BUN เป็นผลผลิตขั้นสุดท้ายจากเมทาบอลิซึมของโปรตีน และถูกขับออกทางไต โดยไตจะทำหน้าที่ในการควบคุมระดับของ BUN การวัดค่า BUN จึงมีประโยชน์ในการดูการทำงานของไต และ การเปลี่ยนแปลงทางเมทาบอลิซึมของโปรตีนในร่างกาย หากไตถูกทำลายไป จะพบว่ามีการสะสมของ BUN และ Creatinine เป็นแอนไฮไดรด์ ของ Creatinine เกิดขึ้นที่กล้ามเนื้อ จากการสลายตัวของCreatinnine phosphate ซึ่งพบอยู่ในโลหิต และปัสสาวะ โดยปกติ Creatinine phosphate มีอยู่ในกล้ามเนื้อประมาณ 2% เปลี่ยนเป็น Creatinine ทุกวัน หลังจากนั้นจะถูกขับออกทางไตในปริมาณที่คงที่ ส่วนปัจจัยอื่นอาทิ เช่น อายุ เพศ อาหารจำพวกโปรตีน การออกกำลังกาย เหล่านี้ไม่ใช่ปัจจัยสำคัญในการเปลี่ยนแปลงของประมาณ Creatinie ในซีรัม ปริมาณของ Creatinine จะเพิ่มขึ้นเมื่อหน้าที่ของไตเสื่อมไป โดยทั่วไปจะพบว่าระดับของ BUN และ Creatinine จะสูงขึ้นเมื่อเกิดการผิดปกติที่ไต เลือดไปไตได้น้อยลง หรือมีการอุดกั้นทางเดินปัสสาวะ จึงทำให้ BUN และ Creatinie ไม่สามารถถูกขับออกได้ตามปกติ จึงยังคงตกค้างอยู่ในเส้นเลือด (สุพิศ, 2524) ส่วนค่าของ BUN ในหนูขาวนั้นมีค่าประมาณ 46-92 mg/dl (Olfert, Cross and McWilliam, 1993) และสำนักงานสัตว์ทดลองแห่งชาติ (2540) พบว่าระดับ Creatinine ของหนูมีค่าประมาณ 0.53 mg/dl ซึ่งจากงานวิจัยของวีระวรรณ (2546) พบว่ากลุ่มศึกษาผลย้อนกลับในเพศเมีย มีค่า BUN สูงกว่ากลุ่มควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แต่เมื่อไปดูลักษณะทางจุลกายวิภาคของไต พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อของไต ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในครั้งนี้

4.2.3 ผลต่อค่าทางโลหิตวิทยาของหนูที่ได้รับสารสกัดรางจืด

4.2.3.1 ผลต่อจำนวนเม็ดเลือดแดง

จากการศึกษาครั้งนี้ หนูทุกลุ่มที่ป้อนสาสกัดรางจืดน้ำและเอทานอล เป็นระยะเวลา 90 วัน ตามลำดับ พบว่าทุกกลุ่มมีค่าเฉลี่ยจำนวนเม็ดเลือดแดงไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 4.13 และ 4.14) ซึ่งเป็นไปได้ว่าสารที่มีอยู่ในรางจืดนั้น ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของจำนวนเม็ดเลือดแดง โดยสำนักงานสัตว์ทดลองแห่งชาติ (2540) ได้รายงานว่าหนู เมื่อมีอายุ 4-7 สัปดาห์ จะมีค่าของเลือดอยู่ประมาณ 5.7-8.6 ($x10^6$cell/mm^3) ซึ่งมีค่าสอดคล้องกับ Olfert, Cross and McWillaim (1993) ที่ระบุว่าจำนวนเม็ดเลือดแดงควรมีค่าอยู่ในช่วง 5.4-8.5($x10^6$cell/mm^3) และจากผลการทดลอง ค่าที่ได้อยู่ในช่วงที่ปกติตามมาตรฐานที่กำหนด

4.2.3.2 ผลต่อปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่น

เมื่อนำเลือดของหนูที่ได้รับสารสกัดรางจืดน้ำและเอทานอล ขขนาดเทียบเท่าการดื่มชาในคน (1.46 และ 1.025 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ) พบว่าหนูทุกๆ กลุ่ม มีค่าเฉลี่ยของปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่น ไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 4.13 และ 4.14) ซึ่ง

จากรายงานของ Olfert, Cross and McWillaim (1993) พบว่า ค่าเฉลี่ยปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่นของหนู จะมีประมาณ 37-49% ซึ่งค่าที่ได้จากการทดลองนั้นยังคงอยู่ในช่วงมาตรฐานที่กำหนดไว้

4.2.3.3 ผลต่อจำนวนเม็ดเลือดขาว

ค่าเฉลี่ยจำนวนเม็ดเลือดขาวของหนูทุกกลุ่มที่ได้รับสารสกัดรางจืดน้ำและเอทานอล ขนาดเทียบเท่าการดื่มชาในคน (1.46 และ 1.025 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ) พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 4.13 และ 4.14) ยกเว้นกลุ่มที่ได้รับสารสกัดรางจืดเอทานอล ในหนูเพศผู้ มีค่าลดลง จากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p<0.01$) ซึ่งจากรายงานของ Olfert et al. (1993) พบว่า ค่าเฉลี่ยของจำนวนเม็ดเลือดขาวในหนูมีค่าประมาณ 4.0-10.2 ($x10^3$cell/mm^3) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ สำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ (2540) ว่าหนูขาวที่มีอายุในช่วงนี้จะมีค่าเม็ดเลือดขาวประมาณ 5.7-8.6 ($x10^3$cell/mm^3) และจากรายงานของ Park Lee et al. (1999) พบว่า ฟลาวานอยด์หลายชนิดมีผลยับยั้งการกระตุ้น Interleukin-5(IL-5) ซึ่ง มีความสำคัญต่อการกระตุ้น และช่วยในการคงอยู่ของ eosinophils นอกจากนี้ ฤทัย (2539) ได้รายงานว่า IL-5 มีผลต่อการกระตุ้น B-cells ด้วย และยังมีรายงานเพิ่มเติมเพื่อยืนยันว่า ฟลาวานอยด์ ที่มี C-2,3-Double Bond หลายชนิดมีผลยับยั้งการแบ่งตัวของ T-lymphocytes ในหนูเมาส์

4.2.3.4 ผลต่อปริมาณความเข้มข้นของฮีโมโกลบิน

หนูที่ได้รับสารสกัดรางจืดน้ำและเอทานอล ขนาด 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ซึ่งทุกกลุ่มมีค่าเฉลี่ยปริมาณความเข้มข้นของฮีโมโกลบิน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 4.13 และ 4.14) ซึ่งจากรายงานของ Olfert, Cross and McWillaim (1993) พบว่า ค่าเฉลี่ยของปริมาณความเข้มข้นของฮีโมโกลบินในหนูมีค่าประมาณ 11.5-16.0 g/dl ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ สำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ (2540) ว่าหนูขาวที่มีอายุตั้งแต่ 4-17 สัปดาห์ จะมีค่าของปริมาณความเข้มข้นของฮีโมโกลบินอยู่ประมาณ 12.3-15.9 g/dl และในการทดลองครั้งนี้ พบว่าค่าที่ได้อยู่ในช่วงปกติค่ามาตรฐานที่กำหนดไว้

4.2.3.5 ผลต่อค่าดัชนีทางโลหิต

ในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดรางจืดน้ำและเอทานอล ขนาดเทียบเท่าการดื่มชาในคน (1.46 และ 1.025 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ) เป็นระยะเวลา 90 วัน ทั้งเพศผู้และเพศเมีย พบว่า ค่าเฉลี่ยปริมาตรของเซลล์เม็ดเลือดแดงหนึ่งเซลล์ (MCV) ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักฮีโมโกลบินต่อเม็ดเลือดแดงหนึ่งเซลล์ (MCH) และค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของฮีโมโกลบินภายในเม็ดเลือดแดงแต่ละเซลล์ (MCHC) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามลำดับ (ตารางที่ 4.13 และ 4.14) ยกเว้นในกลุ่มเพศเมีย กลุ่มทดสอบที่ได้รับสารสกัดรางจืดน้ำ พบว่า ค่าเฉลี่ย MCH และค่าเฉลี่ย

MCHC ลดลงจากกลุ่มควบคุม มีค่าเท่ากับ 19.40 ± 0.51 และ 34.26 ± 0.48 g/dl RBC ตามลำดับ ซึ่งกลุ่มควบคุมมีค่าเท่ากับ 20.54 ± 13.51 และ 35.66 ± 3.94 g/dl RBC ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$)

ค่าดรรชนีของเลือดนี้ต้องอาศัยค่าของ RBC, Hematocrit% และ HGB มาพิจารณาร่วมกัน แล้วจึงนำมาพิจารณาว่าเป็นโรคโลหิตจางชนิดใด (กนกนาถ,2525; อานนท์, 2535) ซึ่งจากการทดลองครั้งนี้พบว่าค่าดรรชนีของเลือดมีค่าใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุม ซึ่งมีเฉพาะในกลุ่มทดสอบที่ได้รับสารสกัดรางจืดน้ำ ในเพศเมียเท่านั้นที่พบว่า ค่าเฉลี่ย MCH และ MCHC ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตามพบว่า ค่าที่แตกต่างกันนั้นมีค่าน้อยมาก เมื่อเปรียบเทียบกับมาตรฐานที่ทางสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ (2540) ตั้งเกณฑ์เฉลี่ยไว้ว่าหนูที่มีอายุในช่วง 4-17 สัปดาห์ ค่าเฉลี่ย MCV, MCH และ MCHC จะอยู่ในช่วงประมาณ 51.3-64.1 xm^3/red cell, 18.6-21.5 pg/red cells และ 33.5-36.2 g/dl ตามลำดับ ซึ่งจากผลของการทดลองพบว่าค่าที่ได้อยู่ในช่วงปกตอมาตรฐานที่กำหนด ดังนั้นผลการทดลองน่าจะบ่งชี้ได้ว่า สารชนิดต่างๆ ที่พบอยู่ในรางจืด ไม่มีผลทำให้เปลี่ยนแปลงของค่าดรรชนีทางโลหิต และไม่ทำให้เกิดภาวะโลหิตจางชนิดต่างๆ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 4.1 การเปรียบเทียบน้ำหนักตัวเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นของหนูเพศผู้ (X ± S.D.) ระหว่างหนูกลุ่มควบคุมกับหนูได้รับสารสกัดรางจืดน้ำ เอทานอล และอะซีโตน ขนาด 2,000 และ 15,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม นาน 14 วัน

สารสกัด	จำนวน	วันที่	น้ำหนักตัวเฉลี่ย (X ± S.D.) กรัม

	หนู(ตัว)		กลุ่มควบคุม	สารสกัดรางจืดขนาด (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)	
				2,000	15,000
น้ำ	5	1	320±20	300±18	290±19
		7	390±15	400±15	350±13
		14	400±25	400±15	370±20
เอทานอล	5	1	260±13	300±14	300±15
		7	280±15	330±10	350±9
		14	290±25	370±20	400±20
อะซีโตน	5	1	260±15	320±15	330±12
		7	270±10	310±12	320±10
		14	290±20	310±18	320±15

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 4.2 การเปรียบเทียบน้ำหนักตัวเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นของหนูเพศเมีย (X ± S.D.) ระหว่างหนูกลุ่มควบคุมกับหนูได้รับสารสกัดรางจืดน้ำ เอทานอล และอะซีโตน ขนาด 2,000 และ 15,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม นาน 14 วัน

สารสกัด	จำนวนหนู(ตัว)	วันที่	น้ำหนักตัวเฉลี่ย (X ± S.D.) กรัม		
			กลุ่มควบคุม	สารสกัดรางจืดขนาด (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)	
				2,000	15,000
น้ำ	5	1	170±8	205±8	210±10

		7	170±10	220±10	210±10
		14	190±10	230±12	230±12
เอทานอล	5	1	170±10	210±15	220±9
		7	185±10	220±12	230±5
		14	200±12	245±20	250±12
อะซีโตน	5	1	170±10	200±18	210±15
		7	175±12	220±15	210±10
		14	180±12	225±25	230±20

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 4.3 การเปรียบเทียบน้ำหนักสัมพัทธ์เฉลี่ยของอวัยวะของหนูเพศผู้ (X ± S.D.) ระหว่างหนูกลุ่มควบคุม กับหนูได้รับสารสกัดรางจืดน้ำ เอทานอล และอะซีโตน ขนาด 2,000 และ 15,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม นาน 14 วัน

อวัยวะ		น้ำหนักสัมพัทธ์เฉลี่ย (g /100g, X±S.D.) สารสกัดรางจืดขนาด (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)								
		น้ำ			เอทานอล			อะซีโตน		
		ควบคุม	2,000	15,000	ควบคุม	2,000	15,000	ควบคุม	2,000	15,000
ปอด		0.50±0.02	0.43±0.04*	0.45±0.01	0.40±0.03	0.47±0.03**	0.50±0.02**	0.47±0.02	0.33±0.01	0.40±0.03
หัวใจ		0.42±0.02	0.31±0.03	0.34±0.02	0.40±0.03	0.46±0.02	0.63±0.02	0.51±0.07	0.25±0.01	0.36±0.02
ตับ		2.95±0.15	3.13±0.15	3.99±0.13*	2.25±0.16	3.31±0.15	4.60±0.20	2.50±0.10	2.60±0.12	3.45±0.15**
ม้าม		0.21±0.05	0.19±0.03	0.25±0.02	0.15±0.02	0.20±0.02*	0.34±0.05**	0.17±0.01	0.17±0.01	0.25±0.02
ไต	ซ้าย	0.38±0.02	0.27±0.02*	0.40±0.01	0.29±0.01	0.33±0.01	0.41±0.04**	0.28±0.01	0.24±0.01	0.35±0.02
	ขวา	0.31±0.01	0.29±0.02*	0.34±0.02	0.22±0.01	0.37±0.01*	0.37±0.01**	0.27±0.01	0.27±0.02	0.33±0.02
ต่อมหมวก	ซ้าย	0.035±0.00	0.066±0.00*	0.058±0.00*	0.045±0.00	0.018±0.00	0.077±0.00	0.032±0.00	0.032±0.00	0.078±0.00*
ไต	ขวา	0.032±0.00	0.074±0.00	0.063±0.00	0.035±0.00	0.029±0.00	0.083±0.00	0.035±0.00	0.050±0.00	0.075±0.00*
	ซ้าย	0.45±0.03	0.43±0.02	0.39±0.04	0.68±0.05	0.45±0.04**	0.67±0.02	0.72±0.05	0.42±0.02	0.62±0.04
อัณฑะ	ขวา	0.46±0.04	0.44±0.04	0.40±0.05	0.66±0.04	0.44±0.04**	0.68±0.02	0.84±0.05	0.40±0.02	0.60±0.02

หมายเหตุ: * $p<0.05$ แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

** $p<0.01$ แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

ตารางที่ 4.4 การเปรียบเทียบน้ำหนักสัมพัทธ์เฉลี่ยของอวัยวะของหนูเพศเมีย (X ± S.D.) ระหว่างหนูกลุ่มควบคุม กับหนูได้รับสารสกัดรางจืดน้ำ เอทานอล และอะซีโตน ขนาด 2,000 และ 15,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม นาน 14 วัน

อวัยวะ		น้ำหนักสัมพัทธ์เฉลี่ย (g /100g, X±S.D.) สารสกัดรางจืดขนาด (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)								
		น้ำ			เอทานอล			อะซีโตน		
		ควบคุม	2,000	15,000	ควบคุม	2,000	15,000	ควบคุม	2,000	15,000
ปอด		0.66±0.03	0.68±0.04	0.70±0.05	0.64±0.04	0.54±0.03*	0.61±0.04	0.51±0.02	0.45±0.02	0.61±0.04
หัวใจ		0.62±0.03	0.74±0.05	0.50±0.03	0.42±0.02	0.67±0.05**	0.39±0.02	0.74±0.03	0.60±0.03	0.40±0.02
ตับ		3.78±0.15	3.63±0.13	4.50±0.18	3.21±0.20	3.40±0.15	3.66±0.13	3.71±0.16	3.19±0.10*	3.23±0.25*
ม้าม		0.27±0.02	0.30±0.01	0.40±0.02**	0.28±0.01	0.27±0.01	0.33±0.02	0.27±0.01	0.27±0.01	0.30±0.02
ไต	ซ้าย	0.43±0.01	0.45±0.02	0.53±0.04**	0.34±0.00	0.52±0.04**	0.39±0.02	0.36±0.01	0.38±0.02	0.42±0.02*
	ขวา	0.36±0.01	0.40±0.01*	0.49±0.04*	0.32±0.01	0.46±0.02	0.35±0.01	0.35±0.01	0.32±0.02	0.36±0.02
ต่อมหมวกไต	ซ้าย	0.047±0.00	0.043±0.00	0.061±0.00	0.026±0.00	0.050±0.00	0.040±0.00	0.026±0.00	0.034±0.00	0.052±0.00
	ขวา	0.063±0.00	0.048±0.00	0.055±0.00	0.047±0.00	0.063±0.00	0.045±0.00	0.043±0.00	0.030±0.00	0.038±0.00
รังไข่	ซ้าย	0.031±0.00	0.070±0.00**	0.033±0.00	0.052±0.00	0.054±0.00	0.027±0.00	0.052±0.00	0.047±0.00	0.061±0.00
	ขวา	0.057±0.00	0.081±0.00**	0.038±0.00	0.052±0.00	0.059±0.00	0.036±0.00	0.065±0.00	0.052±0.00	0.057±0.00

หมายเหตุ: * $p<0.05$ แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

** $p<0.01$ แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

ตารางที่ 4.5 การเปรียบเทียบน้ำหนักตัวเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นของหนูเพศผู้ ในแต่ละสัปดาห์(X ± S.D.) ระหว่างหนูกลุ่มควบคุม กับหนูได้รับสารสกัดรางจืดน้ำและเอทานอล ขนาดเทียบเท่าการดื่มชาในคน (1.46 และ 1.025 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ) นาน 90 วันและหนูกลุ่มศึกษาผลย้อนกลับ

สัปดาห์	น้ำหนักตัวเฉลี่ย (X ± S.D.) กรัม							
	สารสกัดน้ำ				สารสกัดเอทานอล			
	กลุ่มทดสอบ		กลุ่มย้อนกลับ		กลุ่มทดสอบ		กลุ่มย้อนกลับ	
	ควบคุม	ทดสอบ	ควบคุม	ย้อนกลับ	ควบคุม	ทดสอบ	ควบคุม	ย้อนกลับ
1	296.66±5.77	238.33±2.88	305±12.90	247.5±49.24	236±23.02	226±8	279.16±42.23	209±7.4
2	290±13.22	246.66±5.77	298.75±11.08	267.5±28.72	264±16.73	253±13.26	285±40.37	233±14.40
3	300±26.45	271.66±10.40	305±23.80	293.75±26.88	273±19.87	269±20.09	301.66±44	244±14.74
4	343.33±20.81	281.66±7.63	316.25±24.95	298.75±28.39	290±21.50	280±14.14	310.83±48.41	271±18.50
5	350±26.45	300±10	325±28.86	318.75±23.58	304±28.80	288±13.26	326.66±40.20	288±8.36
6	360±30	306.66±5.77	330±34.64	322.5±16.58	317±23.34	303±18.33	335±33.91	297±16.43
7	370±30	310±10	342.5±44.25	335±23.45	319±25.59	323±16	336.66±43.32	298±17.88
8	375±31.22	320±10	338.75±33.26	336.25±24.28	338±25.88	333±10.77	342.5±38.56	312±17.88
9	376.66±35.11	340±5	351.25±36.14	360±27.08	340±27.38	337±16	336.66±57.85	330±20
10	410±26.45	330±10	372.5±37.74	363.75±22.86	351±32.09	340±19.23	351.66±38.16	334±20.73
11	411.66±40.10	336.66±11.54	377.5±38.62	371.25±24.62	364±28.15	351±20.09	360.83±38.26	336±23.02
12	426.66±32.14		372.5±46.45	374.5±21.92	372±37.01	359±19.59	380.83±43.17	354±19.49
13				395±35.35			382.5±36.57	375±21.79
14				395±21.21			395±33.91	378±16.80

หมายเหตุ: * $p<0.05$ แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

** $p<0.01$ แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

ตารางที่ 4.6 การเปรียบเทียบน้ำหนักตัวเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นของหนูเพศเมีย ในแต่ละสัปดาห์(X ± S.D.) ระหว่างหนูกลุ่มควบคุม กับหนูได้รับสารสกัดรางจืดน้ำและเอทานอล ขนาดเทียบเท่าการดื่มชาในคน (1.46 และ 1.025 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ) นาน 90 วันและหนูกลุ่มศึกษาผลย้อนกลับ

สัปดาห์	น้ำหนักตัวเฉลี่ย (X ± S.D.) กรัม							
	สารสกัดน้ำ				สารสกัดเอทานอล			
	กลุ่มทดสอบ		กลุ่มย้อนกลับ		กลุ่มทดสอบ		กลุ่มย้อนกลับ	
	ควบคุม	ทดสอบ	ควบคุม	ย้อนกลับ	ควบคุม	ทดสอบ	ควบคุม	ย้อนกลับ
1	172.5±3.53	195±35	189±34.35	201±27.27	236.66±23.09	181±6.63	245±17.32	210±25.49
2	197.5±3.53	226.66±20.81	212±28.85	220±24.49	245±22.91	199±2	253.75±17.96	221±23.32
3	217.5±3.53	236.66±29.29	224±19.17	233±26.75	246.66±15.27	213±4	247.5±18.92	231±17.43
4	227.5±3.53	230±36.05	235±24.23	241±24.16	250±26.45	225±10.95	260±15.81	244±21.77
5	242.5±3.53	262.5±17.67	243±17.88	240±17.02	255±15	230±7.07	271.25±10.30	243±20.39
6	253.5±3.53	260±14.14	249±20.12	244±17.43	261.66±20.20	235±17.79	270±21.21	247±24.81
7	245±7.07	255±7.07	250±19.03	247±17.77	268.33±14.43	242.5±2.5	263.75±14.93	251±19.59
8	252.2±10.60	265±7.07	251±18.84	251±15.62	258.33±12.58	242.5±2.5	270±13.54	244.13
9	250±14.14	265±14.14	252±16.80	253±18.60	260±21.21	245±5	268.75±13.14	255±17.88
10	252.5±3.53	272.5±3.53	256±19.49	258±16.91	260±17.32	250.5±0.5	267.5±15	257±17.20
11	260±14.14	275±7.07	258±10.95	259±16.24	260±14.14	252.5±2.5	260±8.16	256.66±23.57
12	265±11.40	276.66±5.77	259±8.94	258±17.20	282.5±17.67	255±17.88	266.25±16.52	257±21.81
13			262±13.03	260±18.97			272.5±17.07	263±20.88
14			265±11.18	265±15			262.5±15	264±19.59

หมายเหตุ: * $p<0.05$ แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

** $p<0.01$ แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

ตารางที่ 4.7 การเปรียบเทียบน้ำหนักสัมพัทธ์เฉลี่ยของอวัยวะของหนูเพศผู้ (X±S.D.) ระหว่างหนูกลุ่มควบคุมกับหนูได้รับสารสกัดรางจืดน้ำ และเอทานอล ขนาดเทียบเท่าการดื่มชาในคน (1.46 และ 1.025 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ) นาน 90 วันและหนูกลุ่มศึกษาผลย้อนกลับ

อวัยวะ		น้ำหนักสัมพัทธ์เฉลี่ย (g/100g, X±S.D.)							
		สารสกัดรางจืดน้ำ				สารสกัดรางจืดเอทานอล			
		กลุ่มทดสอบ		กลุ่มย้อนกลับ		กลุ่มทดสอบ		กลุ่มย้อนกลับ	
		ควบคุม	ทดสอบ	ควบคุม	ย้อนกลับ	ควบคุม	ทดสอบ	ควบคุม	ย้อนกลับ
ปอด		0.34±0.02	0.28±0.03*	0.39±0.04	0.30±0.03*	0.37±0.03	0.30±0.04	0.44±0.02	0.38±0.02
หัวใจ		0.31±0.02	0.23±0.03*	0.33±0.03	0.24±0.03*	0.38±0.03	0.24±0.02**	0.34±0.02	0.35±0.02
ตับ		2.49±0.16	2.41±0.16	2.54±0.15	2.35±0.19	2.27±0.04	2.30±0.20	2.34±0.07	2.47±0.16
ม้าม		0.21±0.05	0.18±0.02	0.22±0.03	0.17±0.01	0.20±0.02	0.17±0.02	0.18±0.01	0.21±0.05
ไต	ซ้าย	0.30±0.01	0.24±0.02*	0.29±0.02	0.22±0.02*	0.29±0.01	0.20±0.01*	0.26±0.00	0.24±0.02
	ขวา	0.27±0.00	0.24±0.01*	0.27±0.02	0.23±0.02	0.28±0.01	0.21±0.01*	0.25±0.01	0.24±0.02
ต่อมหมวกไต	ซ้าย	0.019±0.00	0.016±0.00	0.019±0.00	0.016±0.00	0.02±0.00	0.02±0.00	0.018±0.00	0.018±0.00
	ขวา	0.019±0.00	0.016±0.00	0.019±0.00	0.016±0.00	0.02±0.00	0.02±0.00	0.018±0.00	0.018±0.00
อัณฑะ	ซ้าย	0.51±0.04	0.51±0.04	0.51±0.05	0.53±0.06	0.52±0.05	0.54±0.04	0.48±0.02	0.52±0.04
	ขวา	0.52±0.03	0.49±0.03	0.51±0.05	0.53±0.06	0.52±0.04	0.54±0.04	0.50±0.04	0.52±0.02

หมายเหตุ: * $p<0.05$ แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

** $p<0.01$ แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 4.8 การเปรียบเทียบน้ำหนักสัมพัทธ์เฉลี่ยของอวัยวะของหนูเพศเมีย (X ± S.D.) ระหว่างหนูกลุ่มควบคุมกับหนูได้รับสารสกัดรางจืดน้ำและเอทานอล ขนาดเทียบเท่าการดื่มชาในคน (1.46 และ 1.025 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ) นาน 90 วันและหนูกลุ่มศึกษาผลย้อนกลับ

อวัยวะ		น้ำหนักสัมพัทธ์เฉลี่ย (g/100g, X±S.D.)							
		สารสกัดรางจืดน้ำ				สารสกัดรางจืดเอทานอล			
		กลุ่มทดสอบ		กลุ่มย้อนกลับ		กลุ่มทดสอบ		กลุ่มย้อนกลับ	
		ควบคุม	ทดสอบ	ควบคุม	ย้อนกลับ	ควบคุม	ทดสอบ	ควบคุม	ย้อนกลับ
ปอด		0.49±0.04	0.41±0.04	0.56±0.06	0.42±0.05*	0.47±0.02	0.41±0.06	0.52±0.07	0.47±0.04
หัวใจ		0.37±0.01	0.29±0.03*	0.38±0.02	0.28±0.02*	0.35±0.02	0.29±0.03*	0.35±0.04	0.35±0.03
ตับ		2.50±0.15	2.49±0.16	2.65±0.14	2.46±0.19	2.48±0.13	2.28±0.20	2.31±0.34	2.38±0.16
ม้าม		0.26±0.02	0.24±0.03	0.25±0.01	0.21±0.02	0.28±0.02	0.21±0.02**	0.23±0.07	0.24±0.03
ไต	ซ้าย	0.33±0.03	0.27±0.02*	0.33±0.01	0.25±0.02*	0.32±0.01	0.23±0.03*	0.29±0.04	0.27±0.02
	ขวา	0.32±0.01	0.27±0.03*	0.31±0.00	0.27±0.03	0.31±0.01	0.25±0.02*	0.27±0.04	0.27±0.03
ต่อมหมวกไต	ซ้าย	0.022±0.00	0.013±0.00	0.018±0.00	0.014±0.00	0.022±0.00	0.013±0.00	0.017±0.00	0.013±0.00
	ขวา	0.022±0.00	0.011±0.00	0.022±0.0	0.012±0.00	0.024±0.00	0.012±0.00	0.019±0.00	0.011±0.00
รังไข่	ซ้าย	0.041±0.00	0.040±0.00	0.048±0.00	0.048±0.02	0.041±0.00	0.040±0.00	0.042±0.00	0.041±0.00
	ขวา	0.042±0.00	0.040±0.00	0.038±0.00	0.050±0.04	0.040±0.00	0.038±0.00	0.036±0.01	0.043±0.00

หมายเหตุ: * $p<0.05$ แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

** $p<0.01$ แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

ตารางที่ 4.9 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยทางโลหิตวิทยาของหนูเพศผู้ (X ± S.D.) ระหว่างหนูกลุ่มควบคุม กับหนูได้รับสารสกัดรางจืดน้ำ และเอทานอล ขนาดเทียบเท่าการดื่มชาในคน (1.46 และ 1.025 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ) นาน 90 วันและหนูกลุ่มศึกษาผลย้อนกลับ

ค่าทางโลหิตวิทยา	ค่าเฉลี่ยทางโลหิตวิทยา (X±S.D.)							
	สารสกัดรางจืดน้ำ				สารสกัดรางจืดเอทานอล			
	กลุ่มทดสอบ		กลุ่มย้อนกลับ		กลุ่มทดสอบ		กลุ่มย้อนกลับ	
	ควบคุม	ทดสอบ	ควบคุม	ย้อนกลับ	ควบคุม	ทดสอบ	ควบคุม	ย้อนกลับ
Hematocrit(%)	47.28±2.38	47.42±0.35	47.6±1.81	46.11±1.23	48.00±2.44	47.03±1.24	49.16±1.47	46.0±4.12
RBCs($x10^6$cell/mm^3)	8.48±0.38	8.35±0.53	8.64±0.37	8.25±0.22	8.46±0.51	9.02±0.44	8.62±0.35	9.0±0.45
Hemoglobin (g/dl)	16.28±0.70	15.38±0.87	16.6±0.54	15.09±0.41	16.6±0.54	15.47±0.42	16.75±0.77	15.7±1.10
MCV (xm^3/red cell)	55.71±1.61	56.84±1.69	55.3±0.73	55.87±1.39	58.24±2.33	52.23±2.33	57.01±1.39	55.0±1.33
MCH (pg/red cell)	19.41±0.57	18.43±0.57	19.18±0.29	18.28±0.54	22.32±5.75	17.20±0.81	19.4±0.52	19.0±0.81
MCHC (g/dl RBC)	34.85±0.35	32.44±0.48	34.7±0.40	32.73±0.61	38.06±8.08	32.93±0.31	34.03±0.43	34.03±1.03
WBCs ($x10^3$cell/mm^3)	7.1±2.98	3.54±1.30	4.3±2.30	3.71±1.08	14.84±20.86	2.8±1.10**	4.55±2.30	2.85±0.95
Lymphocytes (%)	83.57±11.19	70.63±9.45	70.8±33.85	67.76±12.1	82.6±6.42	61.33±11.29	83.66±4.27	88.0±5.65
Platelets ($x10^3$cell/mm^3)	794.28±119.52	976.83±159.26*	865.2±59.22	956.67±65.15	741.2±58.01	930.14±180.8	775.16±100.56	746±156.0

หมายเหตุ: * $p<0.05$ แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

** $p<0.01$ แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

ตารางที่ 4.10 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยทางโลหิตวิทยาของหนูเพศเมีย (X ± S.D.) ระหว่างหนูกลุ่มควบคุม กับหนูได้รับสารสกัดรางจืดน้ำ และเอทานอล ขนาดเทียบเท่าการดื่มชาในคน (1.46 และ 1.025 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ) นาน 90 วันและหนูกลุ่มศึกษาผลย้อนกลับ

ค่าทางโลหิตวิทยา	ค่าเฉลี่ยทางโลหิตวิทยา (X±S.D.)							
	สารสกัดรางจืดน้ำ				สารสกัดรางจืดเอทานอล			
	กลุ่มทดสอบ		กลุ่มย้อนกลับ		กลุ่มทดสอบ		กลุ่มย้อนกลับ	
	ควบคุม	ทดสอบ	ควบคุม	ย้อนกลับ	ควบคุม	ทดสอบ	ควบคุม	ย้อนกลับ
Hematocrit(%)	44.60±3.13	46.10±2.78	50.40±3.84	47.06±2.10	46.75±2.87	45.70±1.44	45.75±2.21	45.76±1.89
RBCs($x10^6$cell/mm^3)	7.73±5.69	7.78±0.43	8.56±0.56	8.01±0.49	8.32±0.38	8.02±0.36	7.91±0.27	8.00±0.83
Hemoglobin (g/dl)	15.80±16.01	15.14±0.92	17.6±1.14	15.58±0.60	16.25±1.25	15.18±0.42	16.25±0.50	15.87±0.34
MCV (xm^3/red cell)	57.62±7.96	59.24±2.00	58.60±1.58	58.84±1.77	56.22±1.65	56.99±1.56	57.70±1.16	57.5±0.36
MCH (pg/red cell)	20.54±13.51	19.46±0.52	20.22±0.59	19.48±0.64	19.37±0.45	18.93±0.53	20.10±0.35	19.0±0.10
MCHC (g/dl RBC)	35.66±3.94	32.86±0.36	34.48±0.41	33.12±0.42	34.40±0.35	33.22±0.41	34.87±0.12	34.58±0.23
WBCs ($x10^3$cell/mm^3)	4.54±1.62	2.46±0.84	7.44±2.99	2.23±0.70	4.40±2.10	2.07±0.45	3.87±2.06	1.66±0.95*
Lymphocytes (%)	78.00±15.40	70.23±13.01	90.80±4.60	68.18±13.08	78.25±15.88	66.93±9.02	91.75±1.70	86.45±5.15
Platelets ($x10^3$cell/mm^3)	783.00±62.56	995.43±69.71*	637.00±153.31	941.07±117.86	842.25±32.32	926.07±73.75	828.25±45.93	862.10±58.56

หมายเหตุ: * $p<0.05$ แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

** $p<0.01$ แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 4.11 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยทางเคมีคลินิกของหนูเพศผู้ (X ± S.D.) ระหว่างหนูกลุ่มควบคุม กับหนูได้รับสารสกัดรางจืดน้ำ และเอทานอล ขนาดเทียบเท่าการดื่มชาในคน (1.46 และ 1.025 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ) นาน 90 วันและหนูกลุ่มศึกษาผลย้อนกลับ

ค่าทางเคมีคลินิก	ค่าเฉลี่ยทางเคมีคลินิก (X±S.D.)							
	สารสกัดรางจืดน้ำ				สารสกัดรางจืดเอทานอล			
	กลุ่มทดสอบ		กลุ่มย้อนกลับ		กลุ่มทดสอบ		กลุ่มย้อนกลับ	
	ควบคุม	ทดสอบ	ควบคุม	ย้อนกลับ	ควบคุม	ทดสอบ	ควบคุม	ย้อนกลับ
ALP (U/L)	45.42±15.31	56.27±7.27	78.80±9.36	53.2±4.68	54.00±11.44	57.40±8.86	50.66±8.98	65.58±11.57
ALT (U/L)	31.28±7.09	24.60±3.60	35.00±6.92	30.53±7.94	32.40±6.65	41.53±24.65*	34.66±7.08	44.00±7.55
AST (U/L)	94.85±16.32	86±8.17	96.60±14.51	82.2±10.5	93.60±25.12	94.93±34.9	156.00±64.85	108.2±15.8*
BUN (mg/dl)	26.01±2.03	19.54±2.05	26.20±4.37	18.31±2.20	17.96±3.14	18.10±2.65	21.88±2.38	24.08±2.19
Creatinine (mg%)	0.60±0.10	0.75±0.06	0.58±0.06	0.73±0.05	0.46±0.07	0.73±0.07	0.70±0.07	0.48±0.06
Glucose (mg%)	142.85±52.59	185.62±37.08	112.4±10.96	172.43±18.75*	90.00±23.86	165.33±23.77*	130.33±32.06	122.92±13.64

หมายเหตุ: * $p<0.05$ แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

** $p<0.01$ แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

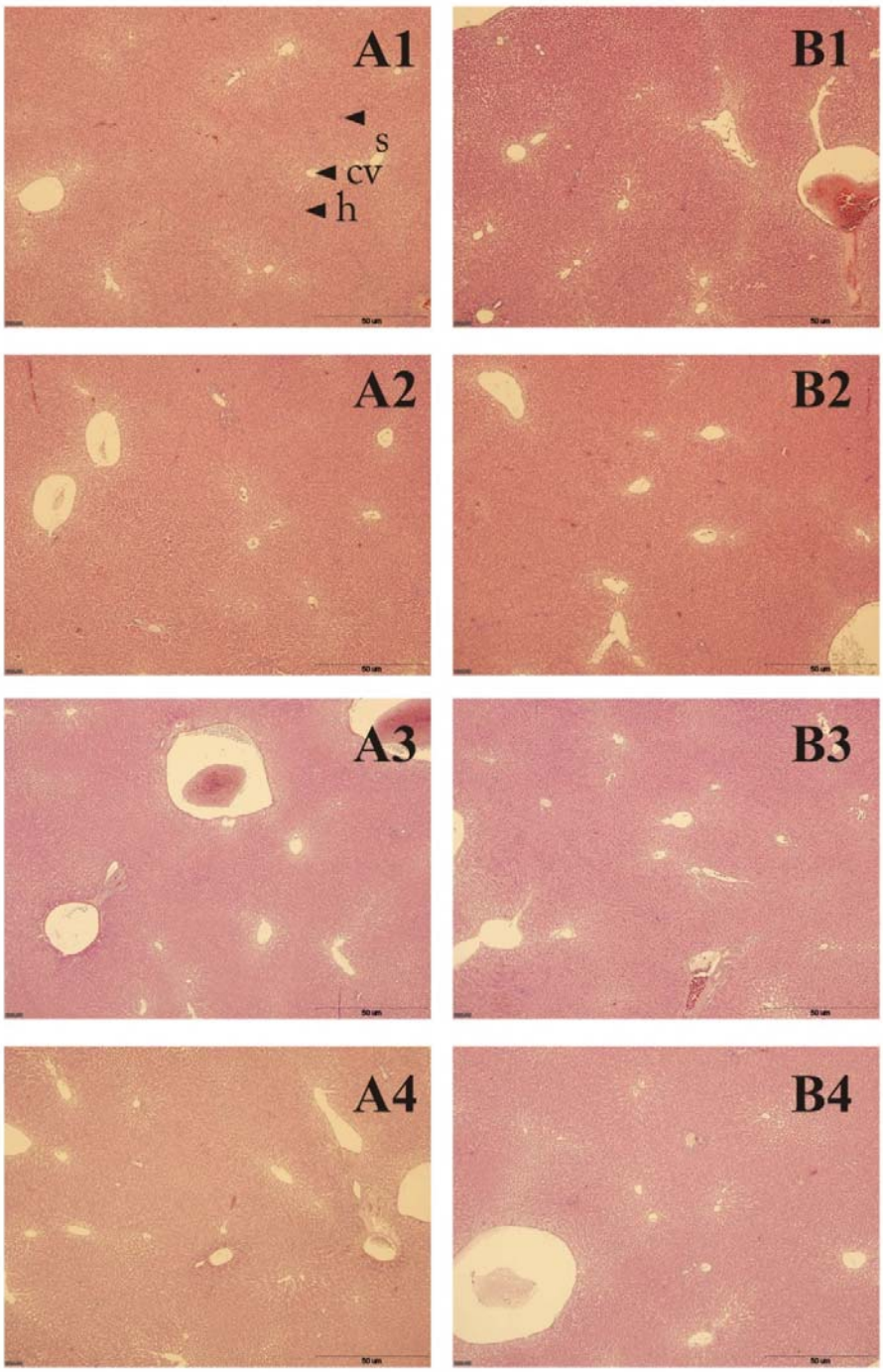
ตารางที่ 4.12 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยทางเคมีคลินิกของหนูเพศเมีย (X ± S.D.) ระหว่างหนูกลุ่มควบคุมกับหนูได้รับสารสกัดรางจืดน้ำ และเอทานอล ขนาดเทียบเท่าการดื่มชาในคน (1.46 และ 1.025 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ) นาน 90 วันและหนูกลุ่มศึกษาผลย้อนกลับ

ค่าทางเคมีคลินิก	ค่าเฉลี่ยทางเคมีคลินิก (X±S.D.)							
	สารสกัดรางจืดน้ำ				สารสกัดรางจืดเอทานอล			
	กลุ่มทดสอบ		กลุ่มย้อนกลับ		กลุ่มทดสอบ		กลุ่มย้อนกลับ	
	ควบคุม	ทดสอบ	ควบคุม	ย้อนกลับ	ควบคุม	ทดสอบ	ควบคุม	ย้อนกลับ
ALP (U/L)	29.60±4.01	20.73±5.70	47.20±23.76	26.07±5.92	33.25±5.79	22.33±6.50	28.25±11.14	26.5±2.23
ALT (U/L)	27.00±10.87	19.2±3.40	30.00±6.28	23.00±6.33	22.50±3.69	28.4±12.60	30.50±13.52	28.25±4.60
AST (U/L)	105.00±16.31	70.07±11.16	132.00±26.16	78.20±11.30	89.25±17.72	89.33±35.70	109.25±48.30	102.87±25.62
BUN (mg/dl)	28.22±2.86	25.69±6.08	27.30±6.30	24.59±4.72	32.55±6.41	24.01±4.12	32.05±5.07	28.17±4.51
Creatinine (mg%)	0.61±37.78	0.85±0.16	0.53±0.16	0.89±0.14*	0.64±0.18	0.89±0.11	0.56±0.06	0.58±0.09
Glucose (mg%)	99.40±20.34	130.51±20.46*	130.80±30.67	131±18.95	111.00±34.65	123.56±14.68	94.75±19.25	129.08±25.04

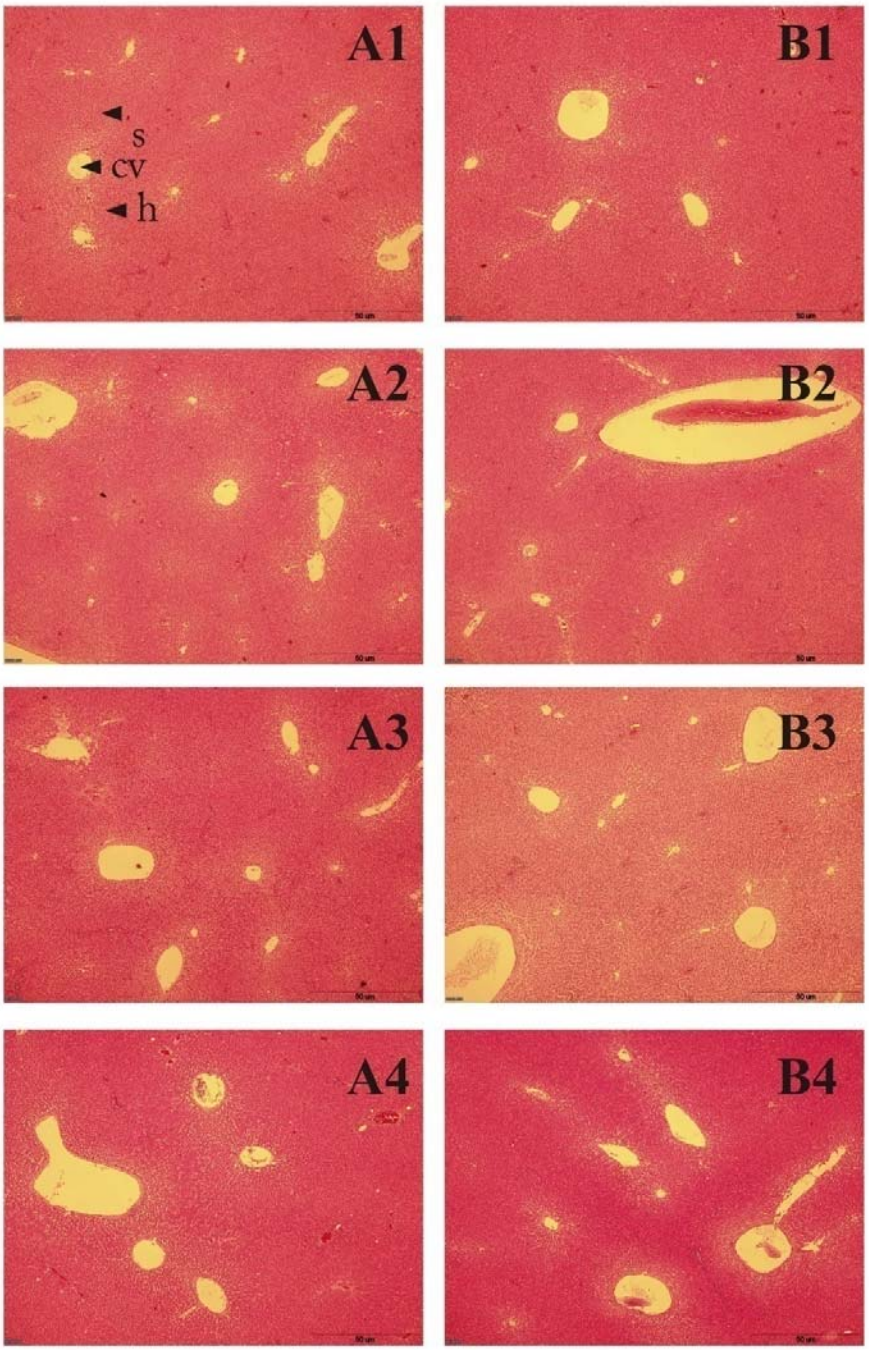
หมายเหตุ: * $p<0.05$ แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

** $p<0.01$ แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

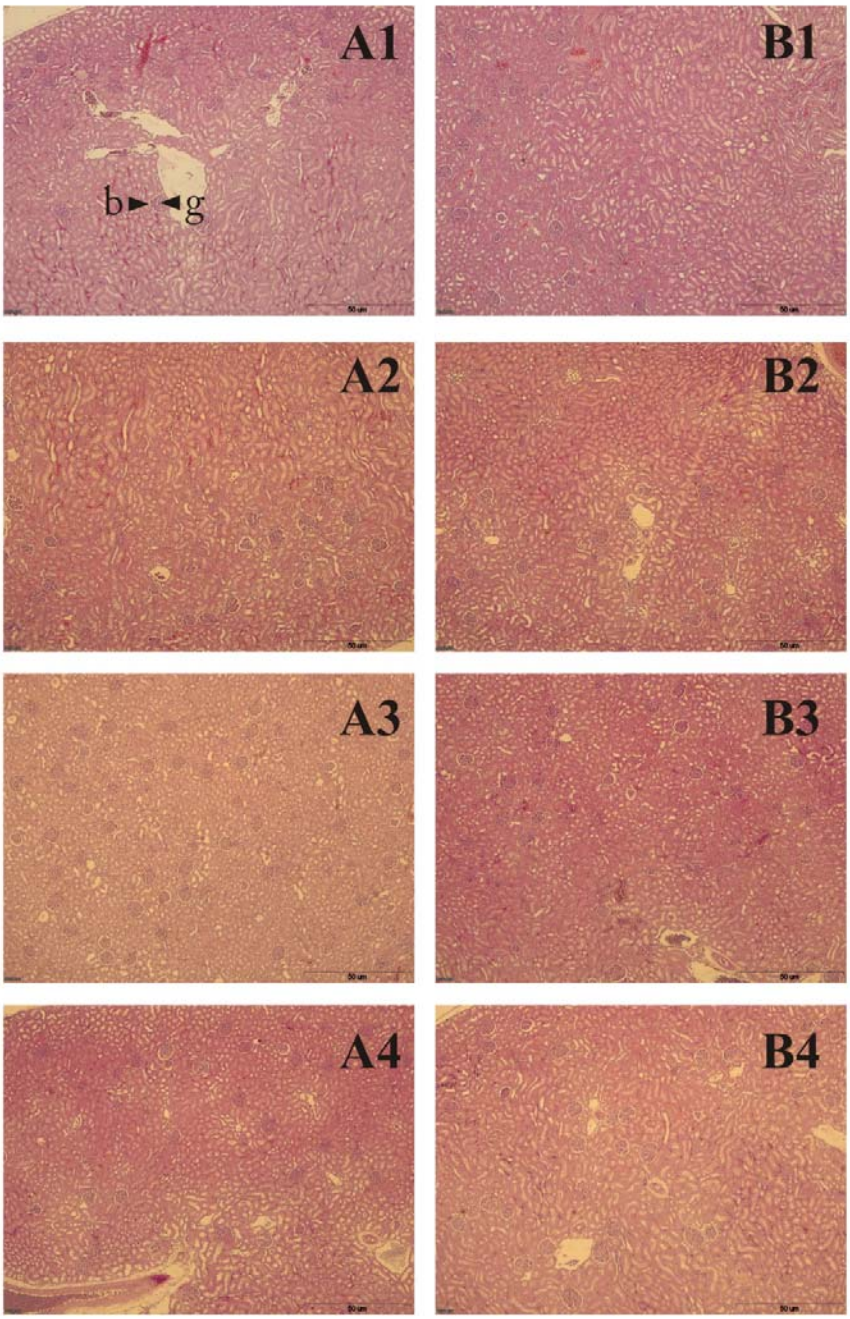
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



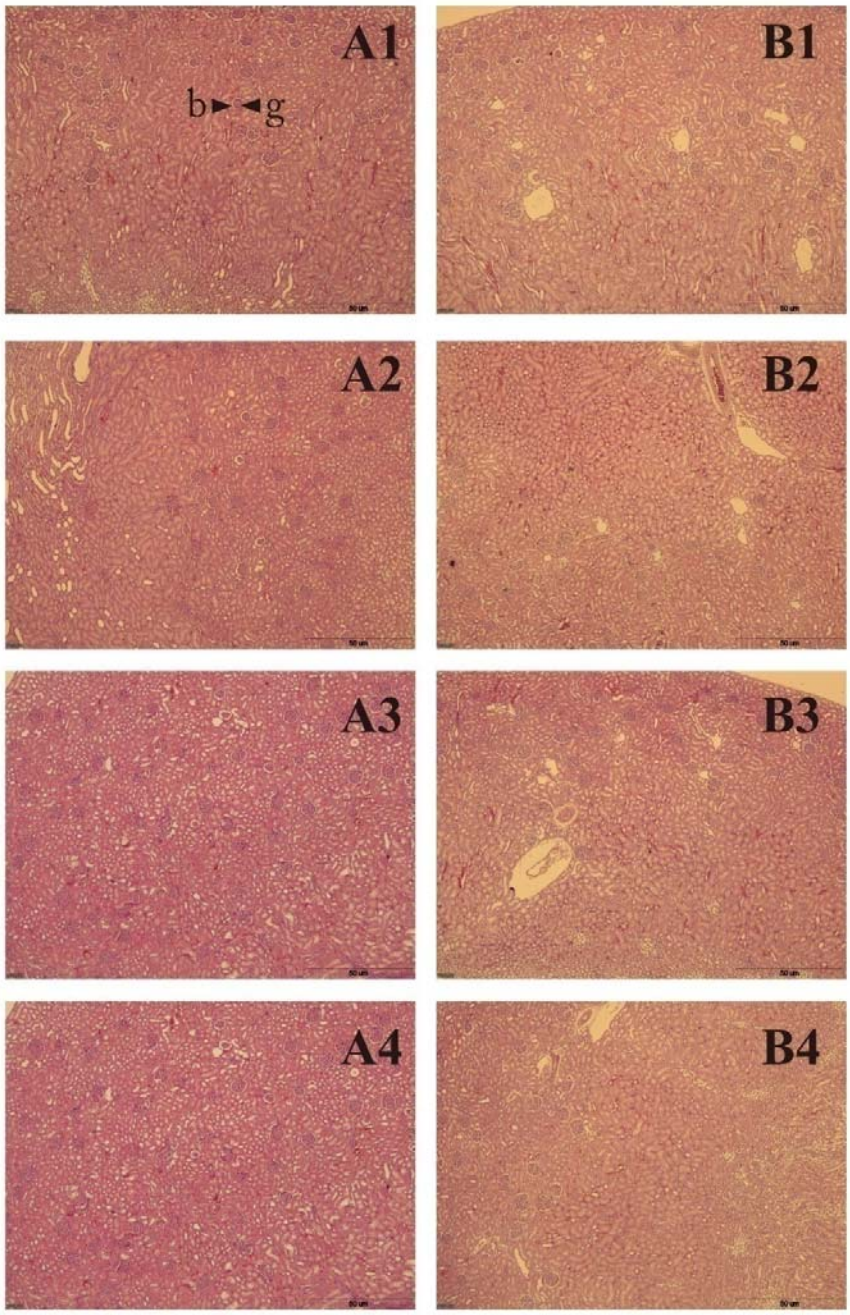
รูปที่ 4.1 แสดงลักษณะทางจุลกายวิภาคของตับเพศผู้ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมกับกลุ่มที่ได้รับสารสกัดรางจืดน้ำ (A1, A3) และเอทานอล (B1, B3) เป็นระยะเวลา 90 วัน ตามลำดับ กลุ่ม Sattlite กับกลุ่มที่ได้รับสารสกัดรางจืดน้ำ (A2, A4) และเอทานอล (B2, B4) เป็นระยะเวลา 90 วัน หยุดและสังเกตอาการอีก 14 วันโดย Hepatocyte (h), Cetral vein (cv), Sinusoid (s)



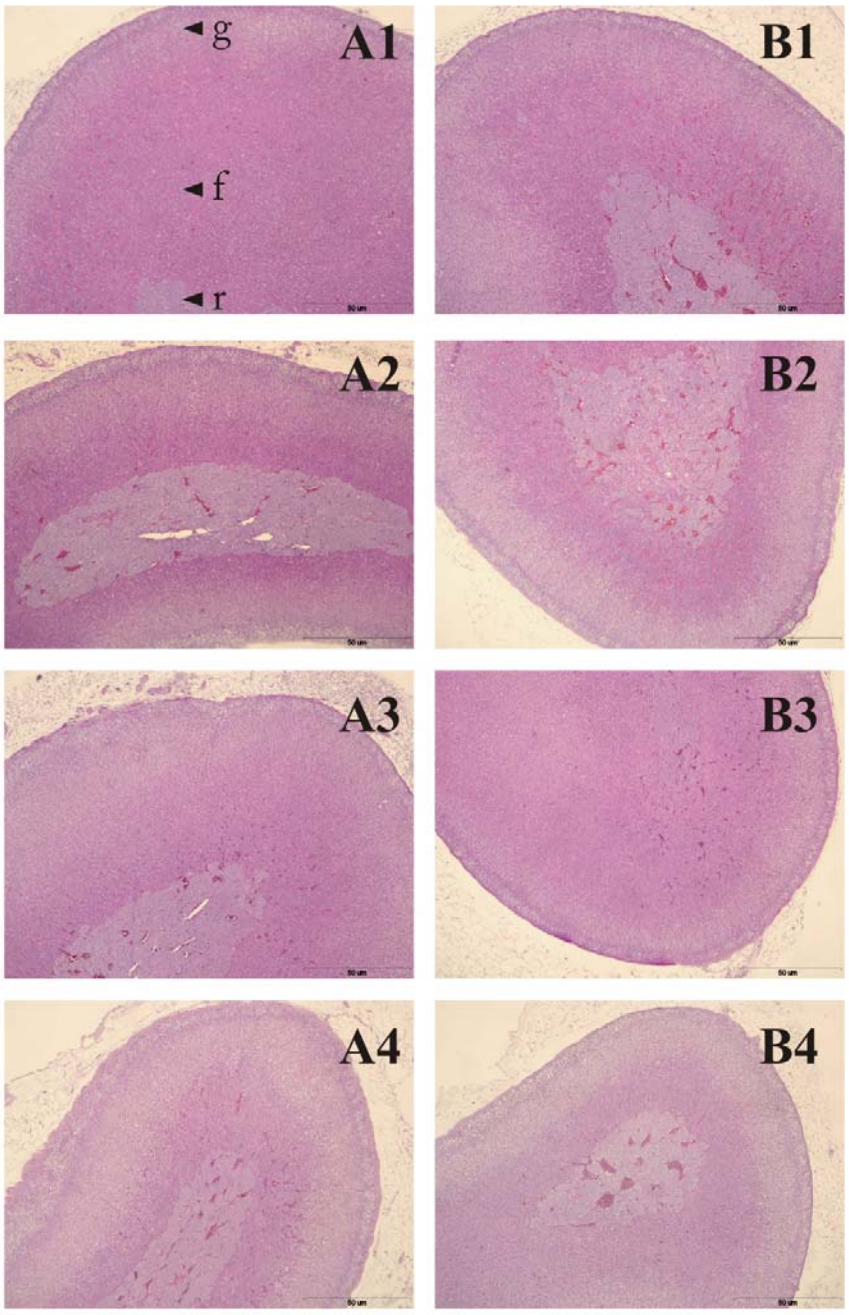
รูปที่ 4.2 แสดงลักษณะทางจุลกายวิภาคของตับเพศเมีย เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมกับกลุ่มที่ได้รับสารสกัดรางจืดน้ำ (A1, A3) และเอทานอล (B1, B3) เป็นระยะเวลา 90 วัน ตามลำดับ กลุ่ม Sattlite กับกลุ่มที่ได้รับสารสกัดรางจืดน้ำ (A2, A4) และเอทานอล (B2, B4) เป็นระยะเวลา 90 วัน หยุดและสังเกตอาการอีก 14 วันโดย Hepatocyte (h), Cetral vein (cv), Sinusoid (s)



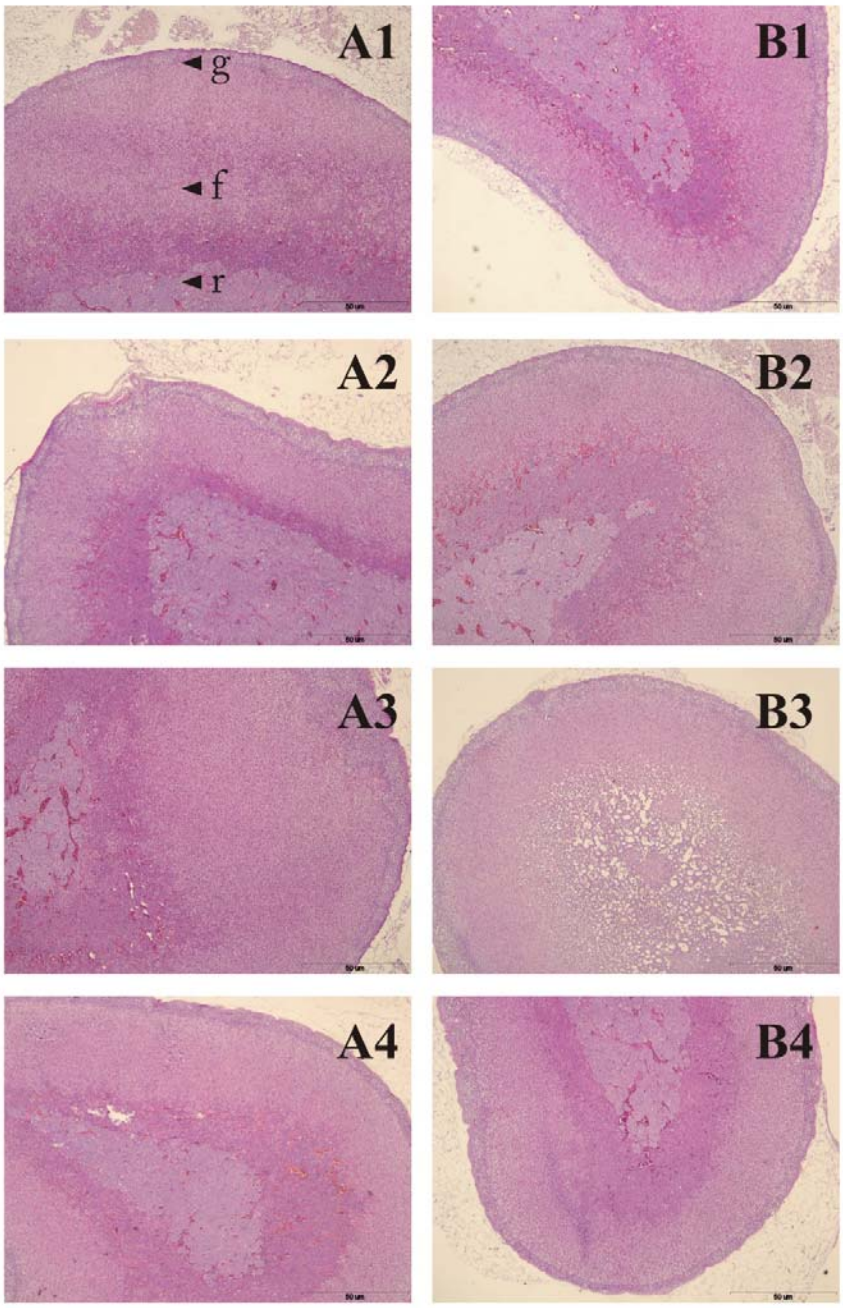
รูปที่ 4.3 แสดงลักษณะทางจุลกายวิภาคของไต (Glomerulus) เพศผู้ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมกับกลุ่มที่ได้รับสารสกัดรางจืดน้ำ (A1, A3) และเอทานอล (B1, B3) เป็นระยะเวลา 90 วัน ตามลำดับ กลุ่ม Sattlite กับกลุ่มที่ได้รับสารสกัดรางจืดน้ำ (A2, A4) และเอทานอล (B2, B4) เป็นระยะเวลา 90 วัน หยุดและสังเกตอาการอีก 14 วันโดย Glomerulus (g), Bowman's capsule (b)



รูปที่ 4.4 แสดงลักษณะทางจุลกายวิภาคของไต (Glomerulus) เพศเมีย เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมกับกลุ่มที่ได้รับสารสกัดรางจืดน้ำ (A1, A3) และเอทานอล (B1, B3) เป็นระยะเวลา 90 วัน ตามลำดับ กลุ่ม Sattliteกับกลุ่มที่ได้รับสารสกัดรางจืดน้ำ (A2, A4) และเอทานอล (B2, B4) เป็นระยะเวลา 90 วัน หยุดและสังเกตอาการอีก 14 วันโดย Glomerulus (g), Bowman's capsule (b)



รูปที่ 4.5 แสดงลักษณะทางจุลกายวิภาคของต่อมหมวกไตในชั้น Cortex เพศผู้ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมกับกลุ่มที่ได้รับสารสกัดรางจืดน้ำ (A1, A3) และเอทานอล (B1, B3) เป็นระยะเวลา 90 วัน ตามลำดับ กลุ่ม Sattlite กับกลุ่มที่ได้รับสารสกัดรางจืดน้ำ (A2, A4) และเอทานอล (B2, B4) เป็นระยะเวลา 90 วัน หยุดและสังเกตอาการอีก 14 วันโดย Glomerulus (g), Fasciculata (f), Reticularis (r)



รูปที่ 4.5 แสดงลักษณะทางจุลกายวิภาคของต่อมหมวกไตในชั้น Cortex เพศเมีย เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมกับกลุ่มที่ได้รับสารสกัดรางจืดน้ำ (A1, A3) และเอทานอล (B1, B3) เป็นระยะเวลา 90 วัน ตามลำดับ กลุ่ม Sattlite กับกลุ่มที่ได้รับสารสกัดรางจืดน้ำ (A2, A4) และเอทานอล (B2, B4) เป็นระยะเวลา 90 วัน หยุดและสังเกตอาการอีก 14 วัน โดย Glomerulus (g), Fasciculata (f), Reticularis (r)

บทที่ 5
บทสรุป

สรุปผลการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้จึงได้ศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันของสารสกัดรางจืดโดยการเตรียมในสารละลาย 3 ชนิดได้แก่ น้ำ เอทานอล และอะซีโตน เมื่อบริโภคขนาดสูง โดยใช้หนูขาวสายพันธุ์ Wistar ทั้งเพศผู้และเมียเป็นสัตว์ทดลองผลการทดลองพบว่าสารสกัดรางจืดในสารละลาย 3 ชนิด ขนาด 2,000 และ 15,000 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ไม่เปลี่ยนแปลงพฤติกรรมโดยทั่วไป และไม่เปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวของหนูขาว รวมทั้งไม่พบความผิดปกติของอวัยวะภายในทั้งหมด ในการศึกษาความเป็นพิษกึ่งระยะยาวของสารสกัดรางจืดน้ำและเอทานอล ขนาด 50 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เป็นระยะเวลา 90 วัน โดยมีกลุ่มควบคุมและกลุ่มย้อนกลับ(หยุดสารสกัด และสังเกตอาการต่ออีก 14 วัน) พบว่า ไม่เปลี่ยนแปลงพฤติกรรมโดยทั่วไป และน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นตามปกติ ส่วนน้ำหนักของอวัยวะ ปอด ตับ ม้าม อวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้และเมีย ไม่แตกต่างทางกันทางสถิติ ยกเว้นน้ำหนักสัมพัทธ์เฉลี่ยของหัวใจ และไต มีแนวโน้มมีขนาดเล็กลง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($p<0.05$) ส่วนค่าทางเคมีคลินิค (RBC, WBC, Hemoglobin, hematocrit, PMN, PCV, MCV, MCH, MCHC, RDW,MPV) ค่าเลือดทางโลหิตวิทยา (BUN, creatinine, albumin) และเอนไซม์ในตับ (AST, ALT, ALP) พบว่าค่าทางเคมีคลินิคและค่าเอนไซม์ในตับไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ยกเว้นกลุ่มเพศผู้ที่ได้รับสารสกัดรางจืดเอทานอล พบว่า มีค่าเฉลี่ยระดับ ALT สูงขึ้น เท่ากับ 41.53±24.65 U/L จากกลุ่มควบคุมเท่ากับ 32.40±6.65 U/L อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และกลุ่มศึกษาผลย้อนกลับที่ได้รับสารสกัดรางจืดเอทานอลในหนูเพศผู้ พบว่า มีค่าเฉลี่ยของระดับ AST มีค่าลดลง เท่ากับ 108.20± 15.80 U/L จากกลุ่มควบคุมเท่ากับ 156.00±64.85 U/L อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และค่า creatinine กลุ่มย้อนกลับที่ได้รับสารสกัดรางจืดน้ำในเพศเมียมีค่าเพิ่มขึ้นจากกลุ่มควบคุม 0.89±0.14 อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ส่วนการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ โดยวัดระดับของ malondiadehyde (MDA) พบว่าในเพศผู้กลุ่มทดสอบที่ได้รับน้ำมีค่าลดลงมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.05$)

บรรณานุกรม

กนกพร แสนเพชร. (2545). **การขจัดพิษของสารกวาวเครือขาว (*Pueraria mirifica airy shaw* and *suvatabandhu*) โดยรางจืด (*Thunbergia laurifolia* Linn.).** วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ ภาควิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

โกสินทร์ เพิ่มพูนสถาพร. (2551). **ชอบกินอาหารมันๆ แต่ห่วงสุขภาพทำอย่างไรดี**. ข่าววิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ฉบับวันที่ 13 กุมภาพันธ์.

แก้ว กังสดาลอำไพ. (2537). **พิษวิทยา : หลักการเบื้องต้นประยุกต์อาหารและโภชนาการ**. สถาบันวิจัยโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล.

ฉัตรชัย คอนโคตรจันทร์. (2551**). ผลของสมุนไพรรางจืดต่อการย่อยได้สารอาหารเอนไซม์ต้านออกซิเดชั่นและการทำงานของตับในไก่กระทงที่ได้รับอาหารที่ปนเปื้อนเชื้อรา.** วิทยานิพนธ์ปริญญามหา บัณฑิต คณะสรีรวิทยา จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ชะลอ อุทกภาชน์. (2519). **ยาสมุนไพรกับโรคในประเทศเขตร้อนและวิธีการบำบัดรักษา**. กรุงเทพฯ: แพร่ พิทยา อินเตอร์เนชั่นแนล, 244-252.

ณัฏฐิยา พงศ์ผาสุก. (2546). **การพัฒนาสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านการอักเสบเพื่อใช้เป็นยาทาภายนอก.** วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ธีระ พงศ์วิวัฒน์ และ ธำรง สมบุญตนนท์. (2521**). การแก้พิษสตริกนินซัลเฟตด้วยรางจืด.** รายงานปัญหาพิเศษ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

นิธิยา และ วิบูลย์ รัตนาปนนท์. (2543). **สารพิษในอาหาร.** กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, 5.

ปัญญา อิทธิธรรม และคณะ. (2542). **การใช้สมุนไพรรางจืดขับสารฆ่าแมลงในร่างกายของเกษตรกรกลุ่มเสี่ยง ในตำบลเมืองเดช อำเภอเดชอุดม จังหวัดอุบลราชธานี.** การแพทย์แผนไทยและทิศทางการวิจัยในอนาคต สถาบันการแพทย์แผนไทย โรงพยาบาลสมเด็จพระยุพราชเดชอุดม.

ปราชญ์ บุณยวงค์วิโรจน์. (2549). **เกษตรกรเชื่อกินเหล้า-ขับสารเคมี อันตรายถึงขั้น ตับพัง-ตายเร็ว**. [ออนไลน์]. ได้จาก: http://www.thairath.co.th

พาณี เตชะเสน และ ชัชวดี ทองทาบ. (2523). การทดลองใช้รางจืดแก้พิษยาฆ่าแมลง. **เชียงใหม่เวชสาร** 19(2) : 105-114.

วีรยุทธ จิตรผิวงาม. (2522). **การศึกษาสารประกอบรางจืด.** วิทยานิพนธ์ปริญญาหาบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

วิระวรรณ วิสิฐพงศ์พันธ์, วีระวรรณ เรืองยุทธิการณ์, อำไพ ปั้นทอง, อุษณีย์ วินิจเขตคำนวณ, นิรัชร์ เลิศประเสริฐสุข และ ไชยยง รุจจนเวช. (2546). การทดสอบความเป็นพิษของน้ำสกัดใบรางจืด (*Thunbergia laurifolia* Lindl)ในหนูขาว. **วารสารสมุนไพร**ปีที่ 10 (2) ธันวาคม คณะแพทย์ศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

วีรวรรณ เรืองยุทธการณ์. (2523). **การศึกษาทางเภสัชวิทยาของใบรางจืด.** วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต คณะเภสัชวิทยา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

วุฒิ วุฒิธรรมราช. (2540). **สารานุกรมสมุนไพรไทย.** กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, 390.

ศิริวรรณ ศิลปะสุวรรณ. (2522). **การศึกษาผลของสมุนไพรบางชนิดต่อการเจริญเติบโตของ แบคทีเรียบางอย่างในตระกูล Enterobacteriaceae.** วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

สกาวรัตน์ บุญยะรัตน์. (2547**). ผลของสารสกัดใบรางจืดในการต้านการเหนี่ยวนำทำให้เกิดไมโครนิวเคลียสโดยสารฆ่าแมลงเมโธมิล.** วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

เสงี่ยม ปินเครือ. (2535). **ไม้เทศเมืองไทย.** กรุงเทพฯ: การพิมพ์ไชยวัฒน์, 455-456.

Atitchat, S., Vutteerapol, S. and Sanpetch, K. (2002). Effect of *Thunbergia laurifolia* Linn. on blood glucose level and reproductive system of diabatic rats. Reserch of medicinal plants in Thailand. **The 4th National seminar on pharmaceutical biotechnology**. September 10-12. Chiangmai, Thailand: Chiangmai University.

Chaiyasing, K. (2004) . **Effect of Thunbergia laurifolia Lindl. leaf extract on Methomyl-induced cholinesterase inhibition.** Master of science Thesis, Chiangmai University.

Jiwajinda. S., Santisopasri, V., Murakami, A., Kim, O.K., Kim, H.W. and Ohikashi, H. (2002). Suppressive effect of edible thai plants on superoxide and nitric oxide generation. Asian pacific **Journal of cancer prevention .** 3: 215-223.

Khunkitti, W., Taweechaisupapong, S., Aromdee, A., and Pese, M. (2003). Antimicrobial activity of *Thunbergia laurifolia* Linn. crude extract. **The 3rd world congress on medicinal plants and promatic plants for human welfare**. February 3-7. Chiangmai, Thailand.

Kongyingyoes, B., Pientong, C., Ekalaksananan, T. and Simasatiansophon, S. (1990). Antiviral activity of thai medicinal herbs on Herps simplex virus type 1. **The 16th conference on science and technology of Thailand**. October 25-27.

Krinke., G.J. (2000). **The Laboratory Rat**. UK: Midas Printing Ltd.

Limmatrapichat, C., Sang-Uthai, K., Charoenteeraboon, J. and Phaechamud, T. (2007). **Heavy metal of herbal teas from Nakhon-pathom, Thailand.** Master of science Thesis, Silpakorn University.

Naegle, M.A. and D'Avanzo, C.E. (2001). Addiction and substance abuse: Strategies for advanced practice nursing. New Jersey: Prentice Hall.

Oonsivilai, R., Cheng, C., Ningsanond, S., Bomser, J.A. and Ferruzzi, M.G. (2006). Induction of quinine reductase activity in murine hepatoma cells by extracts *Thunbergia laurifolia* Linn. **Presented at EB 2006. Moscone Convection center**. April 1-5. San Francisco: CA.

Oonsivilai, R., Cheng, C., Bomser, J.A., Ferruzzi, M.G. and Ningsanond, S. (2007). Phytochemical profiling and detoxification properties of *Thunbergia laurifolia* Linn. (Rang Chute) extracts. **Journal of Ethnopharmacology.** 114: 300 – 306.

Oonsivilai, R., Ferruzzi, M.G., and Ningsanond, S. (2007). Antioxidant activity and cytotoxicity of Rang Chute (*Thunbergia laurifolia* Linn.) extracts. **Presented at FoSTAT . BITEC**. June 14-15. Bangkok, Thailand.

Page, C.P., Cutis, M.J., Sutter, M.C., Walker, M.J., and Hoffman, B.B. 1997. **Integated pharmacology**. Mosby. London

Pramyothin, P., Chrdchupunsare, H., Rungsipipat, A. and Chaichatipyuth, C. (2005). Hepatoprotective activity of *Thunbergia laurifolia* Linn. Extracts in rat treated with ethanol: in vitro and in vivo studies. **Journal of Ethanopharmacology.** 102: 408 - 411.

Purina, GPC. (1978). Coloring matters from flowers of *Thunbergia laurifolia* Linn. **Journal of the Indian chemical society**. 55(6): 622-623

Wirotesangthong, M. and Ratanakiat., S. (2006). Anti-Herps simplex virus type 2 activity of some thai medicinal plants extracts. **Thai Journal pharmacy science**. 30: 19-27

Thongsaard, W., Mardsden, C.A., Morris, P., Prior, M. and Shah, Y.B. (2005). Effect of *Thunbergia laurifolia*, a thai natural product used to treat drug addiction, on cerebal activity detected by functional magnetic resonance imaging in the rat. **Journal of Psychopharmacology**.180: 752-760.

Zhang, J.Z. (2004). Therapeutic effect of herbal extracts and constituents in animal models of psychiatric disorders. **Life science**. 75: 1659-1699.

ประวัติคณะผู้วิจัย (ต้องระบุประวัติคณะผู้วิจัย / ที่ปรึกษาโครงการฯ ครบทุกคน)

1. ชื่อ ดร. รัชฎาพร อุ่นศิวิไลย์

Dr. Ratchadaporn Oonsivilai

2. ที่อยู่ สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จังหวัดนครราชสีมา 30000

โทรศัพท์ 0-4422 - 4232 โทรสาร 0-4422 – 4387

Email address: roonsivi@sut.ac.th

3. ประวัติการศึกษา

ปริญญาตรี สาขาวิชาวิทยาศาสตร์บัณฑิต (พยาบาล)

สถาบัน คณะพยาบาลศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ปีที่สำเร็จ 2530

ปริญญาโท สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร

สถาบัน Dalhousie University, DalTech, Canada

ปีที่สำเร็จ 2543

หัวข้อวิทยานิพนธ์: “The Effect of Beta-Glucan Polymers on the Rheological and Filtration Properties of Wort”

แหล่งทุนที่ได้รับ : ทุนผู้ช่วยวิจัย NSERC Canada

ปริญญาเอก สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร

สถาบัน มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ปีที่สำเร็จ 2549

หัวข้อวิทยานิพนธ์ : “ Neutraceutical and Functional Properties of *Thunberga Laurifolia* Lindl (Rang Chuet) Extract

แหล่งทุนที่ได้รับ : ทุนพัฒนาอาจารย์ทบวงมหาวิทยาลัย

4. ตำแหน่งปัจจุบัน

อาจารย์ ประจำสาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

5. ประสบการณ์การทำงาน

Jan 2007 – Present	: Lecturer, Department of Food Technology Institute of Agricultural Technology Suranaree University of Technology Nakhon Ratchasima, Thailand
Jan.2002 - Dec 2006	: Ph. D. candidate, Suranaree University of Technology
Oct 2000 - Dec.2001	: Lecturer Department of Food Technology Institute of Agricultural Technology Suranaree university of Technology Nakhon Ratchasima, Thailand
Sept.1997 – Oct. 2000	: Research Assistant Department of Food Science and Technology Dalhousie University DalTech Halifax, Nova Scotia, Canada
Oct. 1993 - Aug.1997	: Register Nurse, University Infirmary Suranaree University of Technology Nakhon Ratchasima Thailand
May.1987 - Sept.1993	: Register Nurse Intensive Care Unit, Srinakarin Hospital, Khonkaen University Khonkaen, Thailand

6. **งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว**

1. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์โครงการประยุกต์ใช้ neural network สำหรับหาค่าความเข้มข้นวิกฤตในสารละลาย beta-glucan
1. แหล่งทุน มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ทุนวิจัยอาจารย์ใหม่ 2543: หัวหน้าโครงการ
2. โครงการ IRPUS: การเตรียมสารสกัดอุดมด้วยวิตามินซีจากหัวไชเท้า ทุนวิจัย สกว. 2550: หัวหน้าโครงการ
3. โครงการ UBI: การพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มเจี่ยวกู้หลาน ทุนวิจัย SUT-UBI: หัวหน้าโครงการ
4. โครงการ iTAP: การพัฒนาผลิตภัณฑ์สาหร่ายเส้นแก้ว: หัวหน้าโครงการ
5. โครงการ UBI: การยืดอายุการเก็บผลิตภัณฑ์สาหร่ายเส้นแก้ว: หัวหน้าโครงการ
6. โครงการ iTAP: โครงการการศึกษาประสิทธิภาพของน้ำยาล้างเครื่องซักผ้า : หัวหน้าโครงการ
7. .โครงการการศึกษาการปรับแต่งกระบวนการหมักเบียร์ที่เหมาะสมโดยใช้profileของอุณหภูมิเป็นตัวกำหนด: หัวหน้าโครงการ
8. โครงการ UBI: การพัฒนาผลิตภัณฑ์เคอรี่พัพฟ์: หัวหน้าโครงการ
9. โครงการ UBI: การพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำจิ้มสุกี้: หัวหน้าโครงการ

10. โครงการฤทธิ์ทางชีวภาพและคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของสารสกัดรางจืด ย่านางและ เครือหมาน้อย : หัวหน้าโครงการ

7. งานวิจัยที่กำลังดำเนินการ

1. 1. โครงการการศึกษาพิษกึ่งระยะยาวของสารสกัดรางจืด : หัวหน้าโครงการ
2. โครงการชีวภาพพร้อมใช้และการนำไปใช้ทางชีวภาพของสารสกัดรางจืด : หัวหน้าโครงการ
3. โครงการฤทธิ์ทางชีวภาพและคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของถั่วเหลืองและถั่วขาวทีผานการหมัก: หัวหน้าโครงการ
4. โครงการชีวภาพพร้อมใช้และการนำไปใช้ทางชีวภาพของสารสกัดถั่วขาว: หัวหน้าโครงการ
5. โครงการการสกัด ฤทธิ์ทางชีวภาพ และคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของไกลโคไซด์จากกระบองเพชรและลีลาวดี: หัวหน้าโครงการ
6. โครงการ การสกัด ฤทธิ์ทางชีวภาพและคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของสารสกัดจากหัวไชเท้า : หัวหน้าโครงการ

8. Publications and presentations :

1) **Oonsivilai, R**., Chanphuak, C., Srisutor, P., Kulrattanarak, T., Sutheerawattananond, M., and Oonsivilai, A. 2011. Dietary Fiber Prepared from Cassava byproduct. World Academy of Science, Engineering and Technology Journal. 60: 1120-1123.
2) **Oonsivilai, R.,** Manatwiyangkool, J. and Oonsivilai, A. 2011. Extraction Condition of Phaseolus vulgaris. . World Academy of Science, Engineering and Technology Journal. 60: 382-385.
3) Singthong, J. **Oonsivilai, R**., Oonmetta-aree., and Ningsanond, S. 2011. Phytochemical oprofile, antioxidant activity and cytotoxicity of Tiliacora triandra (Colebr.) Diels. (Yanang) extracts on Caco-2-cells. The 5th Thailand Congress of Nutrition 2011. September 5-7. Oral Presentation.
4) **Posridee, K., Sripa, B. Jitsomboon, B., and **Oonsivilai, R**. Acute oral toxicity study of *Thunbergia laurifolia* Linn. Extracts**.** Asean Food Conference 2011. June, 16-18.

5) **Manatwiyangkool, J. **Oonsivilai, R**. 2011. Modification of method for phaseolamin extraction from white kidney beans (Phaseolus vulgaris.). Asean Food Conference 2011. June, 16-18.

6) **Posridee, K., Sripa, B. Jitsomboon, B., and **Oonsivilai, R**. The acute oral toxicity determination (LD50) of Rang Chute extract. 3rd SUT Graduate Conference. November 21-23, 2010.

7) **Manatwiyangkool, J. **Oonsivilai, R**. 2010. Phaseolamin in white kidney beans (Phaseolus vulgaris.). 4th Thailand Congress of Nutrition. Sep, 5-7.EX-P-11(P33).

8) ****R. Oonsivilai**, N. Chaijareonudomroung, Y. Huantanom., and A. Oonsivilai. 2010. Extraction condition of *Echinocactus grusonii*. World Academy of Science, Engineering and Technology Journal. 70: 366: 369.

9) ****Oonsivilai, R**. and Oonsivilai, A. 2010. Differential evolution application in temperature profile of fermenting. WSEAS TRANSACTION on SYSTEMS. Issue. ISSN: 1109-2777. Issue 6(9): 618-628.

10) ****Oonsivilai, R**. and Oonsivilai, A. 2010. Temperature profiling during fermenting processing differential evolution. Proceeding of the 9th WSEAS International conference on energy and environment. February 23-25, Cambridge, London

11) **Oonsivilai, A. and **Oonsivilai, R**. 2009. A genetic algorithm application in natural cheese products. WSEAS TRANSACTIONS on SYSTEMS. Issue 1, Vol 8, January, ISSN : 1109 – 2777, pp: 44 – 54.

12) ****Oonsivilai, R** and Oonsivilai, A. 2008. Apply a genetic algorithm to natural cheese product. Proceeding of the 8th WSEAS International conference on applied computer science (ACS'08). ISSN 1790 – 5109, pp: 269 – 274.

13) **Oonsivilai, A. and **Oonsivilai, R**. 2008 Parameter Estimation of Frequency Response Twin-Screw Food Extrusion Process using Genetic Algorithm. WSEAS TRANSACTIONS on SYSTEMS. Issue 7 Volume 7, July, ISSN: 1109 – 2777

14) ****Oonsivilai, R**. and Oonsivilai, A. 2008. Genetic Algorithm Approach to Twin-Screw Food Extrusion Process Frequency Domain Parameter Estimation. Proceeding of the

7th WSEAS International Conference on Applied Computer & Applied Computational Science (ACACOS' 08), Hangzhou, China, April 6-8. pp: 645 – 650.

15) **Oonsivilai, R**., Ferruzzi, M.G., and Ningsanond, S. 2007. Antioxidant activity and Cytotoxicity of Rang Chuet (*Thunbergia laurifolia* Lindl.) Extracts. As. J. Food Ag-Ind. 1(02): pp 116 – 128.

16) ****Oonsivilai, R**. and Oonsivilai, A. 2007. Probabilistic neural network for β-glucan suspensions. Proceeding of the 7th WSEAS International Conference on Simulation, Modeling and Optimization, Beijing, China, September 15-17.

17) ****Oonsivilai, R**. and Oonsivilai, A. 2007. Probabilistic neural network for β-glucan suspensions. Proceeding of the 7th WSEAS International Conference on Simulation, Modeling and Optimization, Beijing, China, September 15-17.

18) **Oonsivilai, R**., Ferruzzi, M.G., and Ningsanond, S. 2007. Antioxidant activity and Cytotoxicity of Rang Chuet (*Thunbergia laurifolia* Lindl.) Extracts. Presented at FoSTAT 2007. BITEC, June 14-15, Bangkok, Thailand.

19) **Oonsivilai, R**., Cheng, C., Bomser, J.A., Ferruzzi, M.G., and Ningsanond, S. 2007. Phytochemical profiling and detoxification properties of *Thunbergia Laurifolia* Lindl (Rang Chuet) extracts. Journal of Ethnopharmacology 114: 300– 306.

20) **Oonsivilai, R**., Cheng, C., Ningsanond, S., Bomser, J.A. and Ferruzzi, M.G. 2006. Induction of quinone reductase activity in murine hepatoma cells by extracts of *Thunbergia Laurifolia* Lindl. *FASEB Journal*. Vol. 20, no. 4, Part 1: A154

21) Speers, R. A., Patelakis, S.J.J., A. T. Paulson, and **Oonsivilai, R**. 2004. Shear rate during brewing operations. MBAA TQ vol. 41, no. 3, pp. 241-247.

22) **Oonsivilai, R**., Speers, R.A. and Paulson, A.T. 2000. Effects of pH, maltose and ethanol on the physical properties of model beta-glucan suspensions. Presented at IOB 2000, Institute of Brewing, Asia-Pacific Section 26th Convention, Mar. 19-24, Singapore, SGP.

23) **Oonsivilai, R**. Patelakis, S.J.J., Speers, R.A., and Paulson, A.T. 1999. Rheological and filtration properties of beta-glucan polymers in the brewing process. CIFST Annual Meeting, Presentation #OR-12, June 6-9, Kelowna, BC.

**งานวิจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับวิทยานิพนธ์

9. อนุสิทธิบัตร: ยื่นจดอนุสิทธิบัตรเรื่องการเตรียมสารสกัดจากหัวไชเท้า เลขที่คำขอ 0801003939

10. ความลับทางการค้า: กรรมวิธีการผลิตสาหร่ายเส้นแก้ว วันที่ 19 ตุลาคม 2553

สูตรและส่วนผสมสาหร่ายเส้นแก้ว วันที่ 8 พฤศจิกายน 2553

11. เอกสารประกอบการสอน Course Notes

รัชฎาพร อุ่นศิวิไลย์ . 2553. อาหารและโภชนาการ: เอกสารประกอบการสอนวิชาอาหารและโภชนาการ. สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร, สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยี-สุรนารี. 499.หน้า (3 หน่วยกิต)

12. Training Courses:

1. โครงการพัฒนาบุคลากรให้เป็นผู้เชี่ยวชาญ ระบบ HACCP. สถาบันอาหาร 22-24 กรกฎาคม 2544

2. IRCA2009/Approved Food safety and Management System (ISO 22000: 2005) Lead Auditors training course. By National Food Institute of Thailand (NFI) , Agro-Industry Academic Council Association., April 28-30, 2008. Amari Airport Hotel, Bangkok, Thailand.

3. ISO2200:2005 Food safety and Management System: Document & Implementation course. by National Food Institute of Thailand (NFI) , Agro-Industry Academic Council Association. June 9-11, 2008. Amari Airport Hotel, Bangkok, Thailand.

13. งานบริการทางวิชาการ (Academic Service) ดร. รัชฎาพร อุ่นศิวิไลย์

ปีงบประมาณ	ประเภทการบริการ	การบริการวิชาการ	ปริมาณเวลาที่ใช้ในการให้บริการ
2551	อาจารย์พิเศษ	เป็นอาจารย์พิเศษสอนวิชาโภชนศาสตร์และโภชนบำบัดให้กับนักศึกษาคณะพยาบาลศาสตร์ชั้นปีที่ 2 มหาวิทยาลัยวงษ์ชวลิตกุล	1 วัน/สัปดาห์ (1/6/2551-31/10/2551)
2552	ผู้เชี่ยวชาญด้านวิชาชีพ	เป็นผู้วินิจฉัยปัญหาเบื้องต้นเพื่อพัฒนาศักยภาพของวิสาหกิจขนาดกลางและขนาดย่อมให้กับบริษัทธนาภัทร์ฟูดส์จำกัดจ.นครราชสีมา	1 วัน (7/10/2551)
2552	ผู้เชี่ยวชาญด้านวิชาชีพ	ที่ปรึกษาโครงการ UBI : การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจี่ยวกู่หลานให้กับกลุ่มวิสาหกิจชุมชนภูเขียงทาจ.ชัยภูมิ	3 เดือน (1/10/2551-31/12/2551)

ปีงบประมาณ	ประเภทการบริการ	การบริการวิชาการ	ปริมาณเวลาที่ใช้ในการให้บริการ
2552	ผู้เชี่ยวชาญด้านวิชาชีพ	ที่ปรึกษาโครงการ UBI : การพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มข้าวกล้องงอก	1 วัน (13/2/2552)
2552	ผู้เชี่ยวชาญด้านวิชาชีพ	เป็นที่ปรึกษากลุ่มแม่บ้านอ.เฉลิมพระเกียรติผลิตภัณฑ์เครื่องปรุงลาบ (32 อำเภอ 32 ดอกเตอร์)	7 เดือน 20 วัน (28/10/2552-17/6/2552)
2552	ผู้เชี่ยวชาญด้านวิชาชีพ	เป็นผู้วินิจฉัยปัญหาเบื้องต้นให้กับโครงการสนับสนุนการพัฒนาเทคโนโลยีของอุตสาหกรรมไทยเพื่อพัฒนาศักยภาพของวิสาหกิจขนาดกลางและขนาดย่อมให้มีขีดความสามารถทางเทคโนโลยีสูงขึ้นให้กับไร่ปลูกรัก อ.บางแพจ.ราชบุรี (คณะบุคคลไทยออแกนิคฟาร์ม)	1 วัน (15/7/2552)
2552	ผู้เชี่ยวชาญด้านวิชาชีพ	เป็นผู้วินิจฉัยปัญหาเบื้องต้นให้กับโครงการสนับสนุนการพัฒนาเทคโนโลยีของอุตสาหกรรมไทยเพื่อพัฒนาศักยภาพของวิสาหกิจขนาดกลางและขนาดย่อมให้มีขีดความสามารถทางเทคโนโลยีสูงขึ้นให้กับห้างหุ้นส่วนจำกัด คลองยางกรุงเทพฯ	1 วัน (7/8/2552)
2553	ผู้เชี่ยวชาญด้านวิชาชีพ	เป็นผู้เชี่ยวชาญในการให้คำปรึกษาเพื่อพัฒนาศักยภาพวิสาหกิจขนาดกลางและขนาดย่อมให้มีขีดความสามารถทางเทคโนโลยีสูงขึ้นโดยให้คำปรึกษาประเมินโครงการเรื่อง "การจัดทำระบบสุขลักษณะที่ดีในการผลิตอาหาร GMP สำหรับผลิตภัณฑ์แคปซูลเห็ดหลินจือของสถานประกอบการบ้านเห็ดไท	1 วัน (2/3/2553)
2553	ผู้เชี่ยวชาญด้านวิชาชีพ	เป็นผู้ประเมินผลโครงการวิจัยเรื่อง "การยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กะหรี่ปั๊บ" เพื่อพัฒนาศักยภาพของวิสาหกิจขนาดกลางและขนาดย่อมให้มีขีดความสามารถทางเทคโนโลยีให้สูงขึ้น	1 วัน (21/9/2553)
2553	ผู้เชี่ยวชาญด้านวิชาชีพ	เป็นผู้เชี่ยวชาญเพื่อหารือในรายละเอียดของโครงการการพัฒนาผลิตภัณฑ์และศักยภาพวิสาหกิจขนาดกลางและขนาดย่อมให้มีขีดความสามารถทางเทคโนโลยีสูงขึ้นให้กับบริษัทเจริญภัณฑ์เบเกอรี่ จำกัด	1 วัน (27/9/2553)

ปีงบประมาณ	ประเภทการบริการ	การบริการวิชาการ	ปริมาณเวลาที่ใช้ในการให้บริการ
2553	ผู้เชี่ยวชาญด้านวิชาชีพ	เป็นผู้เชี่ยวชาญในการให้คำปรึกษาเพื่อพัฒนาศักยภาพวิสาหกิจขนาดกลางและขนาดย่อมให้มีขีดความสามารถทางเทคโนโลยีสูงขึ้นโดยให้คำปรึกษาประเมินปิดโครงการเรื่อง "การจัดทำระบบสุขลักษณะที่ดีในการผลิตอาหาร GMP สำหรับผลิตภัณฑ์แคปซูลเห็ดหลินจือของสถานประกอบการบ้านเห็ดไท	1 วัน (28/12/2553)
2553	ผู้เชี่ยวชาญด้านวิชาชีพ	เป็นผู้วินิจฉัยปัญหาเบื้องต้นเพื่อพัฒนาศักยภาพของวิสาหกิจขนาดกลางและขนาดย่อมให้กับบริษัทสยามปิ่นนาคเคอรี่พัพฟ์จำกัด จ.นครราชสีมา	1 วัน (1/11/2553)
2554	ผู้เชี่ยวชาญด้านวิชาชีพ	ที่ปรึกษาโครงการ UBI : การพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำจิ้มสุกี้	1 วัน (5/01/2554)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี