รหัสโครงการ SUT1-104-48-24-09

รายงานการวิจัย

การทดสอบความเป็นพิษของกาแลนจินในสัตว์ทดลอง

(In vivo toxicity test of galangin)

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

รหัสโครงการ SUT1-104-48-24-09

รายงานการวิจัย

การทดสอบความเป็นพิษของกาแลนจินในสัตว์ทดลอง

(In vivo toxicity test of galangin)

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภก. ดร. เกรียงศักดิ์ เอื้อมเก็บ

สาขาวิชาชีววิทยา

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผู้ร่วมวิจัย

นายอภัย ดวงคำ

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2548-2549

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

สิงหาคม 2555

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยเรื่องการทดสอบความเป็นพิษของกาแลนจินในสัตว์ทดลองในครั้งนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ 2548-2549 ทำให้งานวิจัยในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี และขอขอบคุณ คุณอภัย ดวงคำ และคุณมนตรี ล่ามละคร ที่ช่วยการทำวิจัยในครั้งนี้ด้วยความทุ่มเท คุณวัชระ วงศ์วิริยะ ที่ช่วยอำนวยความสะดวกเรื่องสัตว์ทดลองและสถานที่ทำการทดลอง และศาสตราจารย์ ดร. ไมตรี สุทธจิตต์ ที่กรุณาให้คำปรึกษา สำนักงานสัตว์ทดลองแห่งชาติ ที่กรุณาเป็นแหล่งเตรียมหนูทดลองให้ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่อนุเคราะห์ทั้งอุปกรณ์และสถานที่ในการทำวิจัยจนประสบผลสำเร็จ

บทคัดย่อภาษาไทย

ฟลาโวนอยด์เป็นสารประกอบในกลุ่มโพลีฟีนอลที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติซึ่งพบได้ในผลไม้และผัก ฟลาโวนอยด์เป็นส่วนประกอบสำคัญของอาหารที่เรารับประทานเป็นประจำและมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่หลากหลายโดยเฉพาะอย่างยิ่งฟลาโวนอยด์สามารถเสริมฤทธิ์กับยาปฏิชีวนะในกลุ่มเบตาแลคแทม ต้านเชื้อแบคทีเรียดื้อยาได้ อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีรายงานการศึกษาความเป็นพิษของฟลาโวนอยด์ในสัตว์ทดลอง ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการวิจัยครั้งนี้ เพื่อศึกษาพิษกึ่งเฉียบพลันและพิษกึ่งเรื้อรังของฟลาโวนอยด์ คือ กาแลนจิน เมื่อใช้เดี่ยวและผสมกับยาเซพทาซิดีมในหนูถีบจักร วิธีการศึกษาพิษกึ่งเฉียบพลันโดยฉีดสารกาแลนจินเดี่ยวๆ เข้าช่องท้องขนาด (ปกติและสูง) 10 และ 20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักตัว) ต่อวัน และฉีดกาแลนจินผสมกับเซพทาซีดีม ขนาด (ปกติ, สูง) 10+160, 20+320 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักตัว) ต่อวัน โดยฉีดติดต่อกันทุกวันเป็นเวลา 14 วัน วิธีการศึกษาพิษกึ่งเรื้อรังโดยฉีดสารกาแลนจินเดี่ยวๆ เข้าช่องท้อง ขนาด (ปกติและสูง) 10 และ 20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักตัว) ต่อวัน และฉีดกาแลนจินผสมกับเซพต้าซิดีม ขนาด (ปกติ, สูง) 10+160, 20+320 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักตัว) ต่อวัน โดยฉีดติดต่อกันทุกวันเป็นเวลา 90 วัน ภายหลังสิ้นสุดการทดลองได้นำอวัยวะที่สำคัญและเลือดมาวิเคราะห์ผลทางชีวเคมีและโลหิตวิทยาทั้งพิษกึ่งเฉียบพลันและพิษกึ่งเรื้อรัง พบว่า น้ำหนักสัมพัทธ์และน้ำหนักของอวัยวะสำคัญ (ต่อน้ำหนักตัว) ได้แก่ หัวใจ ตับ ม้าม ปอด ไต และกระเพาะอาหาร และผลการตรวจสอบชีววิทยาของเนื้อเยื่อของหนูทดลองไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ส่วนผลทางชีวเคมีและโลหิตวิทยาของการทดสอบพิษทั้งกึ่งฉับพลันและกึ่งเรื้อรัง พบว่ากาแลนจินไม่ทำให้ผลทางชีวเคมีและโลหิตวิทยา เปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ ยกเว้นฤทธิ์การทำให้ค่า Hct ลดลงในขนาดตั้งแต่ 10 mg/kg BW/day ในขณะที่ระดับของ Cholesterol ลดลงในทุกกลุ่มของ post-treatment และการลดลงมากขึ้นตามขนาดของกาแลนจินที่เพิ่มขึ้นเปรียบเทียบกับ pre-treatment groups แต่ยังไม่มีนัยสำคัญทางสถิติของความแตกต่างของการลดลงนี้

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ

Flavonoids are part of a family of naturally occurring polyphenolic compounds and represent one of the most prevalent classes of compounds in vegetables and fruits. Flavonoids are important constituents of normal human diet and also have various pharmacological properties. Especially, flavonoids have synergistic activity with β-lactam antibiotic against drugs resistant bacteria. However, *in vivo* toxicity test of these flavonoids have not been studied. Thus, the purpose of this study was to investigate the subacute and subchronic toxicity of galangin alone and in combination with cloxacillin or ceftazidime antibiotics in mice. In subacute toxicity test, the mice were administered intraperitoneally (i.p.) for 14 consecutive days with the galangin (normal and high dose) 10 and 20 mg/kg BW/day when used singularly. In addition galangin in combination with ceftazidime 10+160, 20+320 mg/kg BW/day. In the subchronic toxicity test, the mice were injected (i.p.) for 90 consecutive days with 10 and 20 mg/kg BW/day of galangin alone. Moreover, the combinations of galangin plus ceftazidime at 10+160, 20+320 mg/kg BW/day. At the end of the experiments, blood and the selected main organs were collected for haematological and histological analyses. The results showed that there were no significant difference in either the relative growth rate of total body weight or weight of the selected main body organs of mice such as heart, liver, spleen, lung, kidney, stomach, and their histology treated with galangin using singly and in combinations when compared to the control in both subacute and subchronic toxicity test. The blood chemistry and haematological analysis of subacute toxicity and subchronic toxicity showed that galangin did not changed blood chemistry and haematological levels with significant differences except for its caused significantly decreased of Hct at the dose from 10 mg/kg BW/day in post treatment groups. Moreover, cholesterol levels were decreased in post-treatment groups following increase dose but not significant differences compared to pre-treatment groups.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ …….	ก
บทคัดย่อภาษาไทย ……..……	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ……..…….	ค
สารบัญ …….	ง
สารบัญตาราง …….	จ
สารบัญภาพ …….	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	
ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย ……..…….	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย ……..……..	6
ขอบเขตของการวิจัย ……..……..……. 6	
ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย ……..……..……..…….	6
บทที่ 2 วิธีดำเนินการวิจัย	
แหล่งที่มาของข้อมูล ……..…….	7
วิธีการเก็บรวบรวมข้อมูล ……..	8
วิธีวิเคราะห์ข้อมูล ……..…….	13
บทที่ 3 ผลการวิจัย	
การทดสอบผลของ Subacute toxicity test ของ galangin …….....	15
การทดสอบ Subchronic toxicity test ของ galangin ……	20
บทที่ 4 อภิปรายและสรุปผลการวิจัย	
การวิเคราะห์และอภิปรายผลการวิจัย ……..	25
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ ……..	26
บรรณานุกรม ……..	27
ภาคผนวก	
Output ที่ได้จากโครงการวิจัย ……..…….	30
ประวัติผู้วิจัย …….	31

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญตาราง

ตาราง **หน้า**

ตาราง 1.1 กลุ่มหลักของฟลาโวนอยด์บางชนิด ตัวอย่างของฟลาโวนอยด์
และแหล่งที่พบในอาหาร..... 2

ตาราง 3.1 Effects of intraperitoneally administered galangin alone
and in combination with ceftazidime for 14 days on relative
weight of the selected main organ in mice 17

ตาราง 3.2 Blood chemistry and hematological studies on mice
before and after subacute treatment with galangin alone
and in combination with ceftazidime for 14 days 19

ตาราง 3.3 Effects of intraperitoneally administered galangin alone
and in combination with ceftazidime for 90 days on relative
weight of the selected main organ (per 100g body weight) in mice 22

ตาราง 3.4 Blood chemistry and hematological studies on mice
before and after subchronic treatment with galangin alone
and in combination with ceftazidimefor 90 days..... 24

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญภาพ

รูปภาพ **หน้า**

รูปภาพ 1.1 โครงสร้างของกลุ่มฟลาโวนอยด์..... 3
รูปภาพ 1.2 สรุปยาต้านจุลชีพที่มีผลกระทบต่อการสร้างผนังเซลล์..... 5
รูปภาพ 2.1 ความเป็นพิษกึ่งเฉียบพลัน : หนูถูกฉีดกาแลนจินเดี่ยวๆ..... 8
รูปภาพ 2.2 ความเป็นพิษกึ่งเฉียบพลัน : หนูถูกฉีดกาแลนจินผสมกับเซพทาซีดีม..... 9
รูปภาพ 2.3 ความเป็นพิษกึ่งเรื้อรัง : หนูถูกฉีดกาแลนจินเดี่ยวๆ..... 11
รูปภาพ 2.4 ความเป็นพิษกึ่งเรื้อรัง : หนูถูกฉีดกาแลนจินผสมกับเซพทาซีดีม..... 12
รูปภาพ 3.1 Body weights of mice treated with galangin alone and in combination with ceftazidime for 14 consecutive days in comparison with the negative control.. 15
รูปภาพ 3.2 Morphology of main body organs of mice treated with galangin alone and in combination with ceftazidime for 14 consecutive days in comparison with the negative control..... 16
รูปภาพ 3.3 Body weights of mice treated with galangin alone and in combination with ceftazidime for 90 consecutive days in comparison with the negative control. 20
รูปภาพ 3.4 Morphology of main body organs of mice treated with galangin alone and in combination with ceftazidime for 90 consecutive days in comparison with the negative control..... 21

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 1
บทนำ

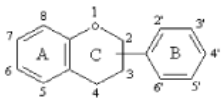
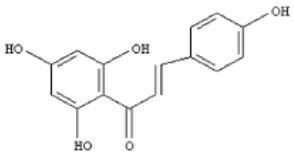
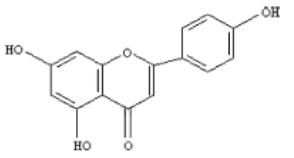
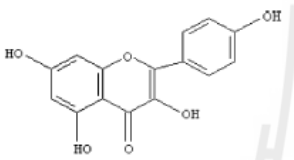
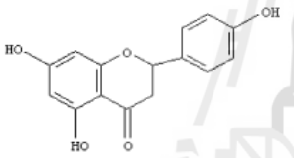
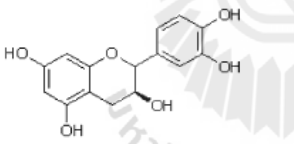
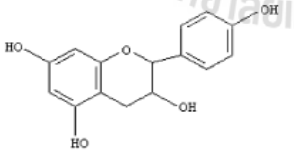
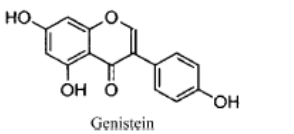
ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย

แบคทีเรียที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะเป็นปัญหาสำคัญระดับโลก เชื้อแบคทีเรียชนิด *Staphylococcus aureus* ดื้อต่อยาปฏิชีวนะกลุ่มเบ้ตาแลคแทม รวมไปถึงแบคทีเรียชนิด *S. aureus* ดื้อต่อยาเมธิซิลิน (MRSA) และแบคทีเรียชนิด *Enterobacter cloacae* ดื้อต่อยาเซพต้าซิดีม ซึ่งปัจจุบันเป็นปัญหาที่สำคัญต่อผู้ป่วยที่นอนพักรักษาตัวในโรงพยาบาลรวมทั้งผู้ที่ดูแลรักษาผู้ป่วย (Mulligan, 1993) ดังนั้นการค้นหาสารชนิดใหม่เพื่อแก้ปัญหาดังกล่าวจึงมีความจำเป็น ซึ่งสารออกฤทธิ์จากพืชสมุนไพรได้มีการนำมาใช้อย่างกว้างขวางรวมไปถึงนำมาใช้เป็นยาต้านแบคทีเรีย

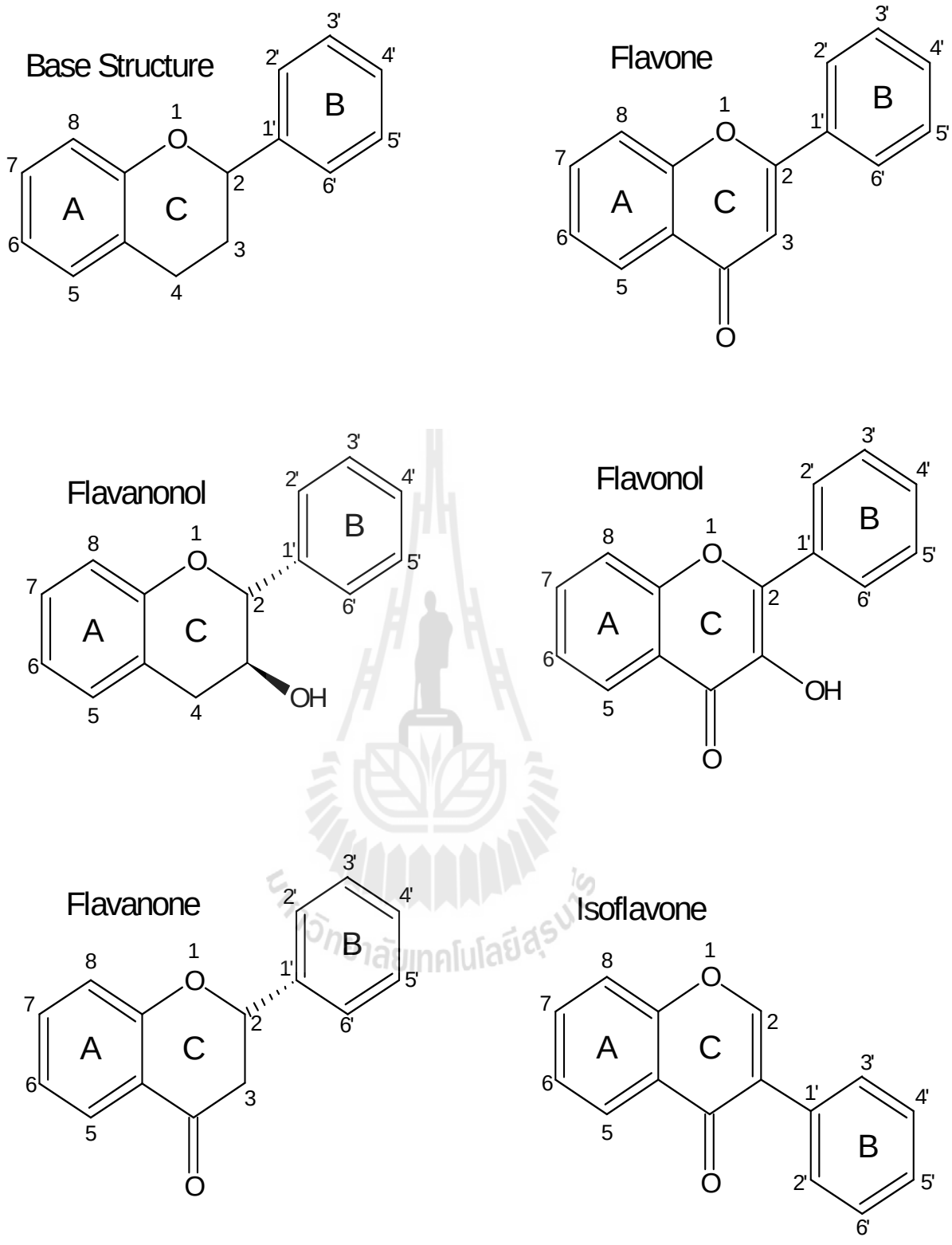
ฟลาโวนอยด์เป็นสารประกอบในกลุ่มโพลีฟีนอลที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติพบได้ทั่วๆไปในสารประกอบทุติยภูมิ (Liao et al., 2011) ซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญของอาหารที่เรารับประทานเป็นประจำและสามารถพบได้ทั่วๆ ไปใน ผลไม้ ผัก ธัญพืช เปลือกไม้ ลำต้น ราก ไวน์ และชา ซึ่งประโยชน์ของสารจากธรรมชาติดังกล่าวได้มีการศึกษามาเป็นระยะเวลานานโดยใช้ขั้นตอนที่หลากหลาย และสามารถระบุฟลาโวนอยด์ได้มากกว่า 4,000 ชนิด ซึ่งส่วนใหญ่ทำหน้าที่ให้สีของดอก ใบ และผล ทั้งนี้ฟลาโวนอยด์ได้รับการยอมรับอย่างกว้างขวางว่าการบริโภคในปริมาณที่สูงทั้งในรูปของอาหารหรือเครื่องดื่มมีส่วนช่วยลดปัจจัยเสี่ยงของโรคหลอดเลือดหัวใจและสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเนื้องอกหลายชนิดได้เช่นเดียวกัน นอกจากนี้การศึกษาทางระบาดวิทยาได้แนะนำบทบาทในการป้องกันของอาหารที่มีส่วนประกอบของฟลาโวนอยด์ที่สามารถต้านมะเร็งในอวัยวะต่างๆ เช่น ลำไส้ ปอด ต่อมลูกหมาก และกระเพาะปัสสาวะ (Morello et al., 2006).

ฟลาโวนอยด์สามารถแบ่งออกได้หลายกลุ่มตามโครงสร้างโมเลกุล สำหรับกลุ่มหลักของฟลาโว-นอยด์บางชนิดและโครงสร้างทางเคมีได้แสดงในตารางที่ 1.1 และรูป 1.1 ตามลำดับ

ตารางที่ 1.1 กลุ่มหลักของฟลาโวนอยด์บางชนิด ตัวอย่างของฟลาโวนอยด์และแหล่งที่พบในอาหาร

	Structure	Example	Major food sources
Basic structure of flavonoids			
Chalcone	 Chalcone	Hop chalcones (xanthohumol and dehydrocyclo-xanthohumol hydrate)	Hops, beer
Flavone	 Apigenin	Acacetin Apigenin Baicalein Chrysin Diosmetin Luteolin Tangeretin	Parsley, thyme, celery, sweet red peppers, honey, propolis
Flavonol	 Kaempferol	Galangin Kaempferol Morin Myricetin Quercetin	Onions, kale, broccoli, apples, cherries, berries, tea, red wine
Flavanone	 Naringenin	Eriodictyol Hesperetin Homoeriodictyol Naringenin	Citrus
Flavanol	 Epicatechin	Catechin Epicatechin Proanthocyanidins	Cocoa, green tea, chocolate, red wine, hawthorn, bilberry, motherwort, and other herbs
Anthocyanin	 Cyanidin	Cyanidins Pigmented compounds	Cherries, grapes, berries, red cabbage
Isoflavone	 Genistein	Biochanin A Genistein Diadzein Equol Formononetin	Red clover, alfalfa, peas, soy and other legumes

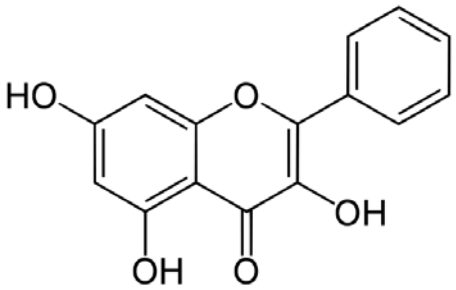
ที่มา: (Moon et al., 2006)



รูปที่ 1.1 โครงสร้างของกลุ่มฟลาโวนอยด์

ที่มา : (Morello et al., 2006)

คุณสมบัติทางชีววิทยาของกาแลนจิน มีดังนี้



สูตรโมเลกุล : $C_{15}H_{10}O_5$

ความสามารถในการละลาย : ละลายในคลอโรฟอร์ม แอทธานอล อีเทอร์ และ DMSO

จุดหลอมละลาย : 214-215 ^{o}C

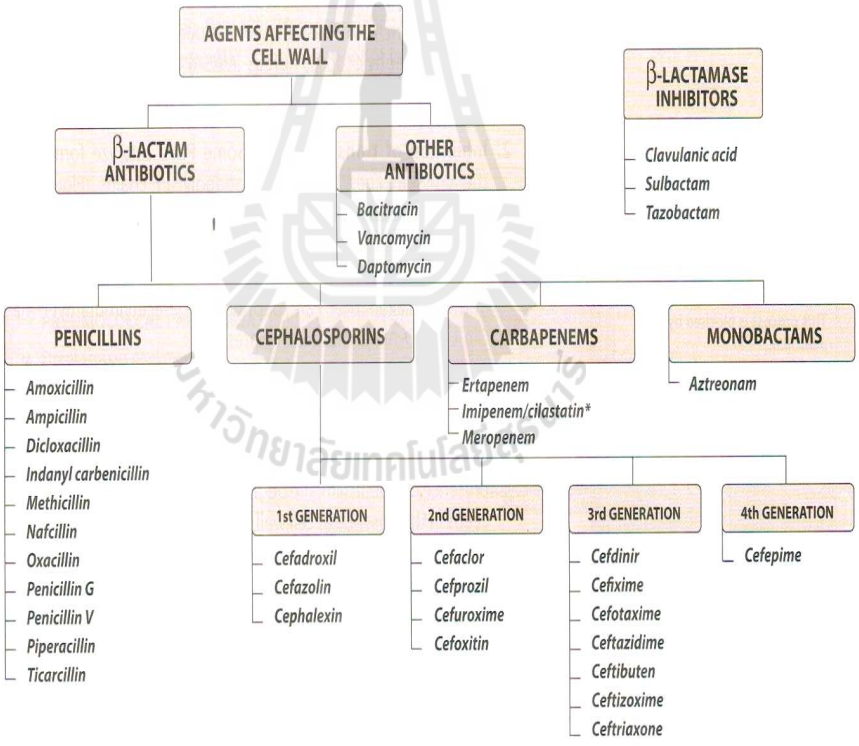
ลักษณะ : มีสีค่อนข้างเหลือง (Cushnie and Lamb, 2011)

โดยทั่วๆ ไปกาแลนจินได้รับการยอมรับว่าเป็นฟลาโวนอลเนื่องจากไม่มีหมู่ไฮดรอกซิลในริงก์ บี อีกทั้งยังเป็นสารตั้งต้นของไซโตโครม พี450 ได้มีรายงานผลของกาแลนจินในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกด้วยความเข้มข้นในการยับยั้ง 0.1-0.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และสามารถต้านแบคทีเรียชนิด *Enterobacater cloacae* ได้เช่นเดียวกันด้วยความเข็มข้นในการยับยั้ง 0.1ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ขณะเดียวกัน Eumkeb (2005) พบว่าอะม็อกซีซิลินผสมกับกาแลนจิน 12.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งแบคทีเรียชนิด *S. aureus* จำนวน 12 isolates และ แบคทีเรียชนิด *S. aureus* ดื้อต่อยาเมธิซิลิน 4 isolates

การผสมระหว่างกาแลนจิน 5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และ เซพต้าซิดีม 5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีการเสริมฤทธิ์ต้านแบคทีเรียชนิด *S. aureus* ดื้อต่อยาแพนนิซิลิน จากการศึกษากลไกการออกฤทธิ์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ แบบอิเล็กตรอนได้แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่าสารผสมระหว่างกาแลนจินกับเซพต้าซิดีมไปทำลายโครงสร้างอัลตร้าของเซลล์แบคทีเรีย (Eumkeb et al., 2010) นอกจากนี้กาแลนจินยังมีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียชนิด *S. aureus* ดื้อต่อ 4-ควิโนโลน ที่ความเข้มเข้นในการยับยั้ง 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (Cushnie and Lamb, 2006).

วิธีการทดสอบความเป็นพิษแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ ประเภทแรกได้สร้างมาเพื่อประเมินผลโดยรวมของสารประกอบต่อสัตว์ทดลอง การทดสอบแต่ละอันในประเภทนี้แตกต่างกัน โดยพื้นฐานจะพิจารณาถึงช่วงเวลาของการทดสอบและขอบเขตที่สัตว์ทดลองจะถูกประเมินสำหรับความเป็นพิษโดยทั่วไป การทดสอบดังกล่าวถูกแบ่งเป็นการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลัน พิษระยะยาว และพิษเรื้อรัง ประเภทที่สองเป็นการประเมินผลที่เฉพาะเจาะจงอย่างละเอียด การทดสอบระยะยาวและเรื้อรังไม่สามารถตรวจพบความเป็นพิษทุกรูปแบบได้ ดังนั้นการทดสอบประเภทนี้จึงถูกพัฒนามาเพื่อตรวจสอบผลของสารต่อทารกในช่วงตั้งครรภ์ของสัตว์ ความสามารถในการสืบพันธ์ของสัตว์ และระบบพันธุกรรมเพื่อตรวจสอบความสามารถของสารที่ส่งผลต่อการสร้างเนื้องอก (Suchinina et al., 2011) ผลกระทบเฉียบพลันโดยปกติจะสังเกตได้ทันทีหลังจากที่ได้รับสารที่เป็นพิษจำนวนมากเข้าไป สำหรับผลกระทบเรื้อรังมักตรวจพบหลังจากที่ได้รับสารเป็นเวลานานอาจจะได้รับต่อเนื่องหรือเป็นช่วงๆ แต่อาจได้รับในปริมาณที่น้อยจึงทำให้ไม่เห็นผลกระทบในระยะเฉียบพลัน

ยาปฏิชีวนะกลุ่มเบต้าแลคแทมมีประโยชน์และถูกใช้บ่อยในการต้านจุลชีพ ซึ่งมีโครงสร้างทั่วไปและกลไกในการออกฤทธิ์ร่วมกันในการยับยั้งการสร้างผนังเซลล์เปปทิโดไกลเคนของแบคทีเรีย สารประกอบของเบต้าแลคแทม ได้แก่ แพนนิซิลิน เซพฟาโลสปอรินส์ คาร์บาพิแนมส์ และโมโนแบคแทม สำหรับแพนนิซิลินเป็นยาปฏิชีวนะที่มีประสิทธิภาพกว้างที่สุดและมีความเป็นพิษน้อย ผลข้างเคียงของแพนนิซิลินที่พบทั่วไปคือการแพ้ยา สมาชิกในกลุ่มนี้แตกต่างจากชนิดอื่นที่หมู่อาร์ จะเกาะกับ 6-aminopenicillanic acid โดยธรรมชาติของโครงสร้างดังดังกล่าวส่งผลต่อการต้านแบคทีเรีย ให้ความคงทนต่อ Stomach acid และไวต่อเอ็นไซม์เบต้าแลคแทมเมส (Ncube et al., 2011) ส่วนเซพฟาโลสปอรินส์มีลักษณะคล้ายคลึงกับแพนนิซิลินแต่จะมีความคงทนต่อเอ็นไซม์เบต้าแลคแทมเมสมากว่า ดังนั้นจึงมีการออกฤทธิ์ต้านจุลชีพครอบคลุมมากกว่า อย่างไรก็ตามแบคทีเรียดื้อยาชนิด *E. coli* และสายพันธ์ *Klebsiella* จะพบเอ็นไซม์เบต้าแลคแทมเมสชนิดขยาย (Extended-spectrum beta-lactamases) ที่สามารถสลายเซพฟาโลสปอรินส์ซึ่งกำลังกลายเป็นปัญหาที่สำคัญ ทั้งนี้เซพฟาโลสปอรินส์ไม่สามารถออกฤทธิ์ต้านเชื้อ *Enterococci* และ *L. momocytogens* (Wijaya et al., 2011) **รูป 1.2** แสดงการแบ่งประเภทของยาที่มีผลกระทบต่อการสร้างผนังเซลล์



รูปภาพ 1.2 สรุปยาต้านจุลชีพที่มีผลกระทบต่อการสร้างผนังเซลล์

ที่มา : (Alkhamaiseh et al., 2012)

สารผสมระหว่างยาปฏิชีวนะและสารออกฤทธิ์จากพืชสมุนไพรเป็นวิธีการใหม่ที่นำมาใช้เพื่อต้านเชื้อแบคทีเรียดื้อยา การศึกษาล่าสุดพบว่ามีการเสริมฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียระหว่างสารผสมฟลาโวนอยด์และยาปฏิชีวนะ (Cushnie and Lamb, 2011) และได้มีหลักฐานเพิ่มขึ้นถึงผลของสารผสมฟลาโวนอยด์และยาปฏิชีวนะโดยจะไปรบกวนปัจจัยต่างๆ ของแบคทีเรียก่อหนอง ได้แก่ เอ็นไซม์ ท็อกซิน และตัวรับสัญญาณ

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อตรวจสอบความเป็นพิษกึ่งเฉียบพลันและพิษกึ่งเรื้อรังของกาแลนจินในหนู เมื่อใช้เดี่ยว และใช้ร่วมกับยาปฏิชีวนะกลุ่มเบต้าแลคแทม
2. เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางชีววิทยาของเซรุ่มในหนูที่ได้รักษาด้วยกาแลนจินเดี่ยวๆ และกาแลนจินร่วมกับยาปฏิชีวนะกลุ่มเบต้าแลคแทม

ขอบเขตของการวิจัย

1. หนูตัวผู้และตัวเมียที่มีน้ำหนักและอายุเหมือนกันถูกสั่งซื้อมาจากศูนย์สัตว์ทดลองแห่งชาติ วิทยาเขตศาลายา มหาวิทยาลัยมหิดล ประเทศไทย
2. ฟลาโวนอยด์ที่ถูกนำมาทดสอบในครั้งนี้คือ กาแลนจิน ซึ่งได้สั่งซื้อมาจากบริษัท อินโดไฟน์ เคมีคอล ประเทศสหรัฐอเมริกา
3. เซพต้าซิดีม ได้รับมาจากซิกมา (Sigma-Aldrich, USA.)

ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย

1. ข้อมูลผลความเป็นพิษกึ่งเฉียบพลันและกึ่งเรื้อรังของกาแลนจินต่อหนู เมื่อใช้เดี่ยวๆ และใช้ร่วมกับยาปฏิชีวนะกลุ่มเบต้าแลคแทมจะมีความชัดเจนขึ้น
2. ข้อมูลทางด้านพิษวิทยาดังกล่าวจะเป็นประโยชน์สำหรับการศึกษาต่อไปในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมที่สูงขึ้น

บทที่ 2
วิธีดำเนินการวิจัย

แหล่งที่มาของข้อมูล

1. สัตว์ทดลอง

หนูตัวผู้และตัวเมียที่มีน้ำหนักและอายุเหมือนกันถูกสั่งซื้อมาจากศูนย์สัตว์ทดลองแห่งชาติ วิทยาเขตศาลายา มหาวิทยาลัยมหิดล ประเทศไทย สัตว์ทดลองถูกเลี้ยงไว้ในกรงภายในอาคารดูแลสัตว์ทดลอง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ภายใต้อุณหภูมิคงที่ 25 ± 0.5 °C และสภาวะแวดล้อมที่ถูกสุขลักษณะร่วมกับมีรอบกลางวันและกลางคืนรอบละ 12 ชั่วโมง ตลอดช่วงการทดลอง และสัตว์ทดลองสามารถเข้าถึงอาหารและดื่มน้ำได้อย่างอิสระ

2. สารเคมี

สารเคมีที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้มีคุณภาพระดับวิเคราะห์ (Analytical grade) ได้แก่

ไดเมธิลซัลฟอกไซด์

โซเดียมคลอไรด์

เอทานอล 95% ระดับห้องปฏิบัติการ

ฟอร์มัลดีไฮด์ 38% w/v ระดับห้องปฏิบัติการ

เซพต้าซิดีม

กาแลนจิน

3. เครื่องมือในการศึกษา

Experimental glassware (ไปเปตต์ ขวดวัดปริมาตร บีกเกอร์)

หลอดเซ็นตริฟิวก์

หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave)

แอร์ปั้ม; เบนซ์อคลอเรียมปั้ม (Air pump; Benz aquarium pump)

หลอดอีดีทีเอ

หลอดโซเดียมฟลูออไรด์

หลอดฮีมาโตคริต

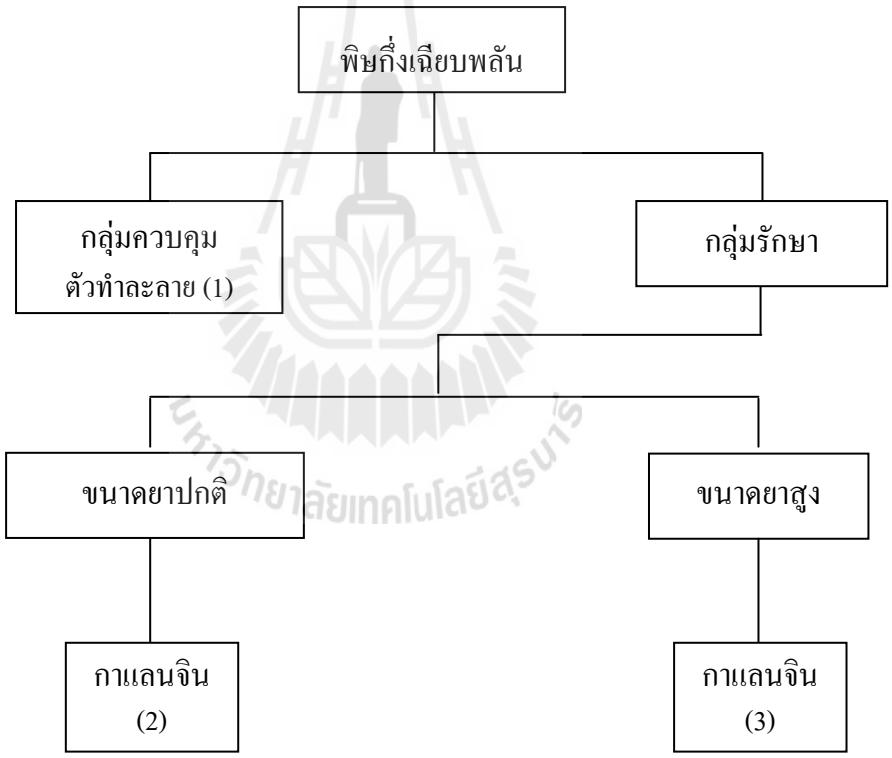
วิธีการเก็บรวบรวมข้อมูล

1. การทดสอบความเป็นพิษกึ่งเฉียบพลันในหนู

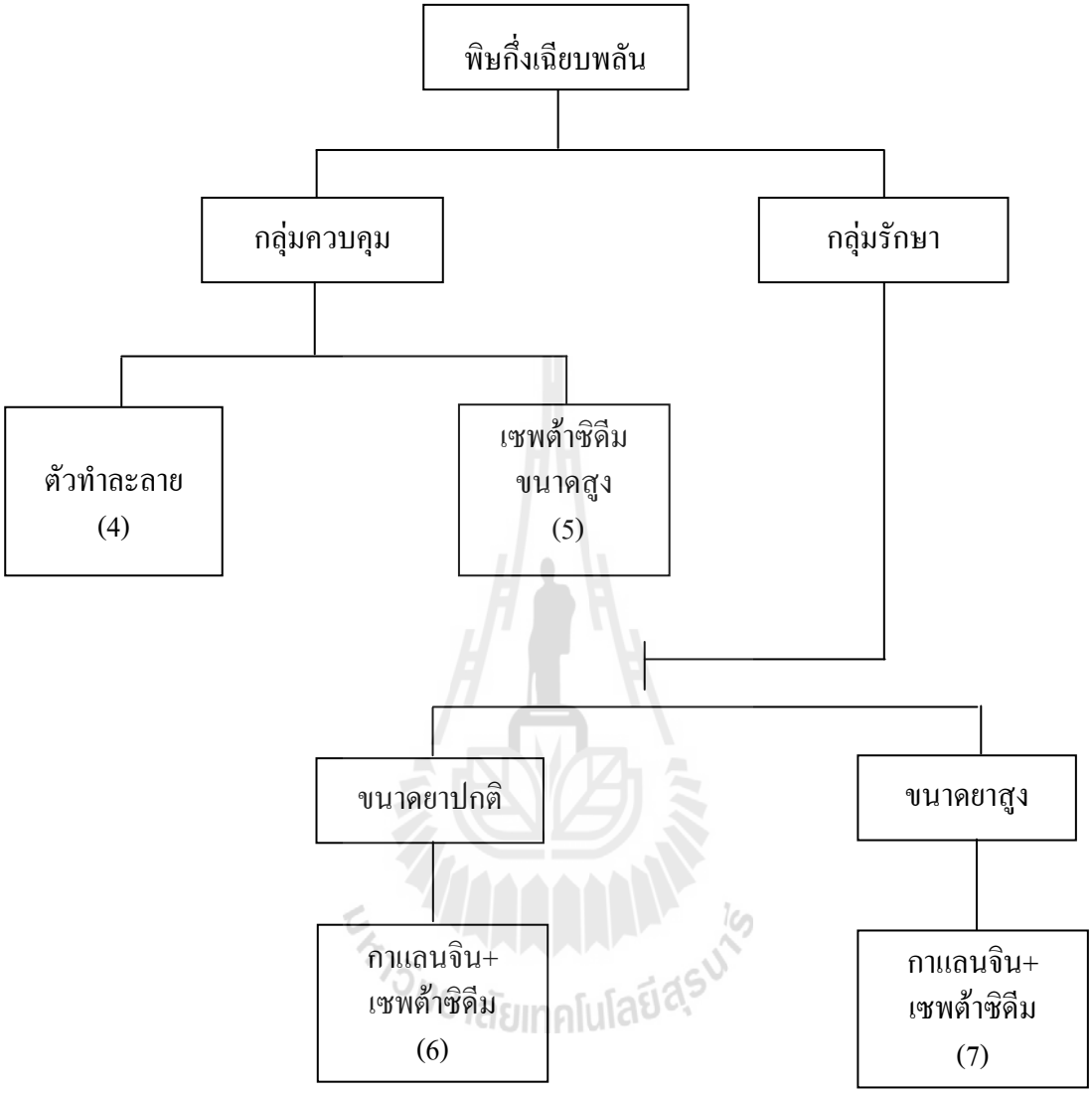
หนูที่ใช้ทดสอบถูกแบ่งออกเป็น 7 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่ม 1, 4และ 5 เป็นกลุ่มควบคุม (หนู 10 ตัว) สำหรับกลุ่ม 2,3, และ 6,7 (หนู 10 ตัว/กลุ่ม) เป็นกลุ่มรักษา ซึ่งจะได้รับกาแลนจินเดี่ยวๆ และกาแลนจินผสมกับยาปฏิชีวนะกลุ่มเบต้าแลคแทม หนูดังกล่าวจะถูกฉีดเข้าภายในช่องท้องดังต่อไปนี้

1.1 กลุ่ม 2 และ 3 จะถูกฉีดเฉพาะกาแลนจินเดี่ยวๆ ในขนาดปกติ (Therapeutic dose) ที่ 10 mg/Kg BW/day และขนาดสูง ที่ 20 mg/Kg BW/day (รูป 2.1)

1.2 กลุ่ม 6 และ 7 จะถูกฉีดกาแลนจินผสมกับเซพต้าซิดีมในขนาดปกติ (Therapeutic dose) ที่ กาแลนจิน 10 mg/Kg BW/day + เซพต้าซิดีม 160 mg/Kg BW/day และขนาดสูง ที่ กาแลนจิน 20 mg/Kg BW/day + เซพต้าซิดีม 320 mg/Kg BW/day (รูป 2.2)



รูปภาพ 2.1 ความเป็นพิษกึ่งเฉียบพลัน : หนูถูกฉีดกาแลนจินเดี่ยวๆ



รูปภาพ 2.2 ความเป็นพิษกึ่งเฉียบพลัน : หนูถูกฉีดกาแลนจินผสมกับเซพต้าซีดีม

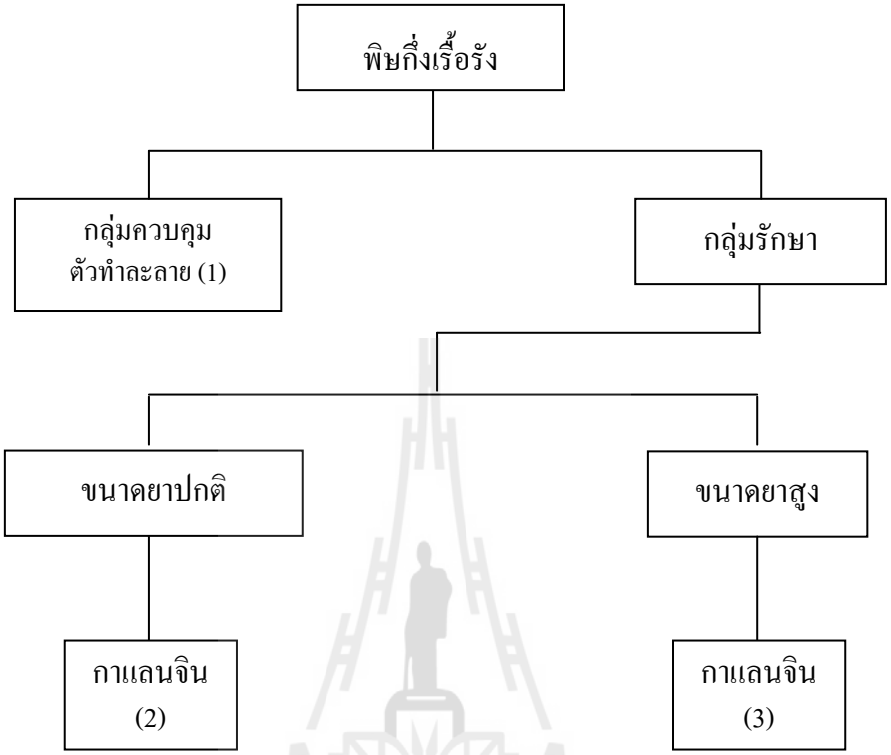
ทุกกลุ่มที่กล่าวมาจะถูกฉีดสารเข้าทางช่องท้องจำนวน 2 ครั้งต่อวัน เป็นเวลา 2 สัปดาห์ หนูทั้งหมดจะถูกวิเคราะห์ส่วนประกอบของเลือดก่อนและหลังฉีดตัวอย่าง ภายหลังการทดลองสัตว์ทดลองทุกตัวจะถูกฆ่าโดยใช้ยาสลบไอโซฟลูเรน รูปแบบในการทดลองได้อ้างอิงตามการเพาะเลี้ยงและการดูแลสัตว์ทดลอง ปี 1998 (ฉบับที่ 1) ที่ได้จัดเตรียมสำหรับองค์การอนามัยโลก หน่วยเทคโนโลยีห้องปฏิบัติการสุขภาพ เมืองเจนีวา ประเทศสวิสเซอร์แลนด์ สำหรับขั้นตอนการทดลองได้ทำตามความเห็นชอบของคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในสัตว์ทดลอง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี น้ำหนักตัวของสัตว์ทดลองจะถูกประเมินทุกๆ สัปดาห์ หลังจากได้รับการรักษาครบกำหนดก็ประเมินน้ำหนักตัวและน้ำหนักของอวัยวะต่างๆ (ปอด ตับ ไต ม้าม หัวใจ และกระเพาะอาหาร) อีกทั้งประเมินทางด้านสัณฐานวิทยาของอวัยวะดังกล่าวด้วยเช่นกัน ตัวแปรทางด้านโลหิตวิทยาที่จะถูกประเมิน ได้แก่ ฮีมาโตคริต จำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดง จำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาว และปริมาตรของเม็ดเลือดแดงโดยเฉลี่ย (MCV) และสารเคมีที่จะประเมินผลประกอบด้วย น้ำตาลในเลือดขณะอดอาหาร (FBS) เอ็นไซม์ AST, บียูเอ็น คอเลสเตอรอล และกรดยูริก

2. การศึกษาความเป็นพิษกึ่งเรื้อรัง

สัตว์ทดลองถูกแบ่งออกเป็น 7 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่ม 1, 4 และ5 เป็นกลุ่มควบคุม (หนู 10 ตัว) สำหรับกลุ่ม 2,3 และ 6,7 (หนู 10 ตัว/กลุ่ม) เป็นกลุ่มรักษา ซึ่งจะได้รับกาแลนจินเดี่ยวๆ และกาแลนจินผสมกับยาปฏิชีวนะกลุ่มเบต้าแลคแทม หนูดังกล่าวจะถูกฉีดเข้าภายในช่องท้องดังต่อไปนี้

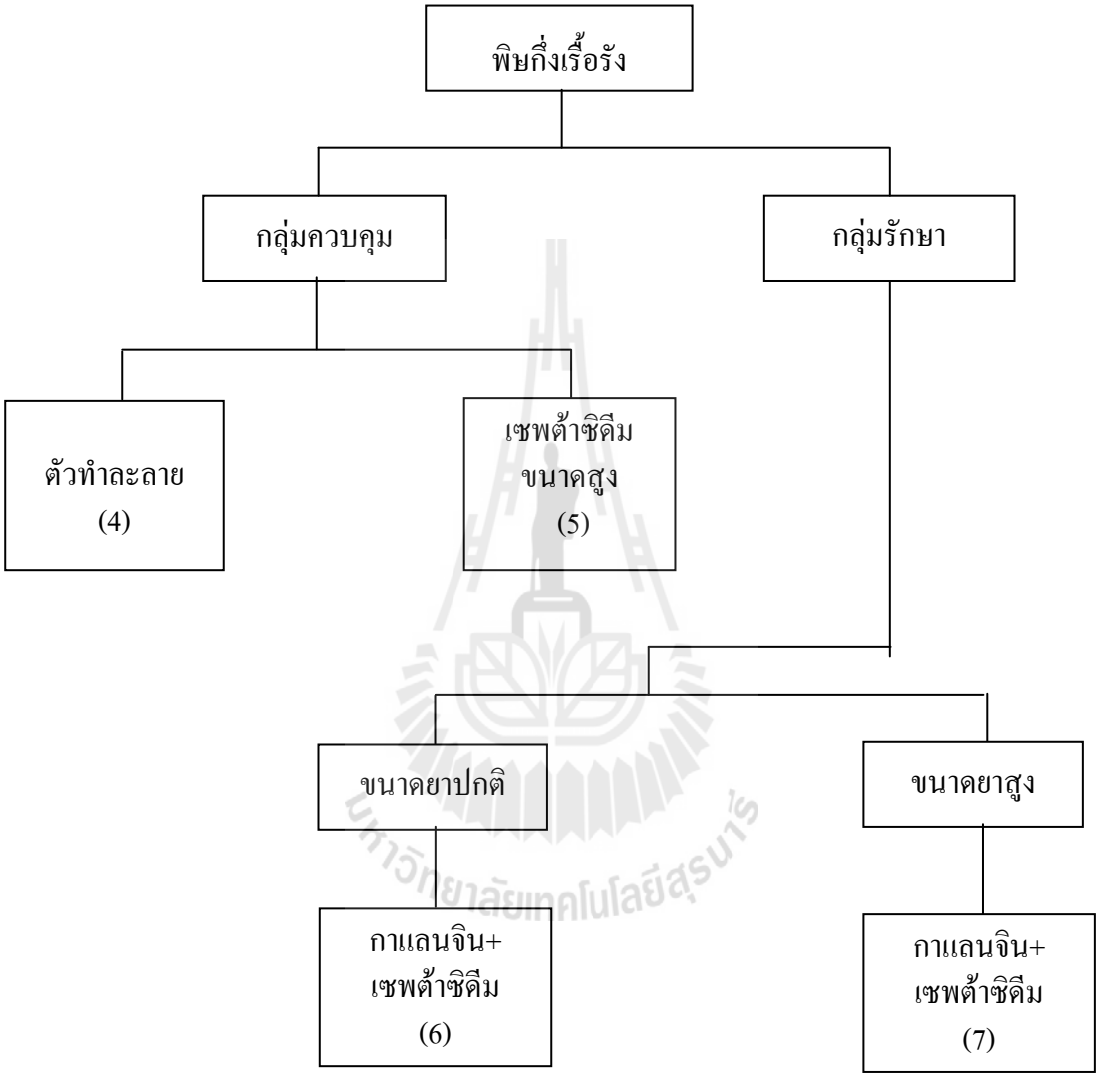
1.1 กลุ่ม 2 และ 3 จะถูกฉีดเฉพาะกาแลนจินเดี่ยวๆ ในขนาดปกติ (Therapeutic dose) ที่ 10 mg/Kg BW/day และขนาดสูง ที่ 20 mg/Kg BW/day (รูป 2.3)

1.2 กลุ่ม 6 และ 7 จะถูกฉีดกาแลนจินผสมกับเซฟต้าซิดีมในขนาดปกติ (Therapeutic dose) ที่ กาแลนจิน 10 mg/Kg BW/day + เซฟต้าซิดีม 160 mg/Kg BW/day และขนาดสูง ที่ กาแลนจิน 20 mg/Kg BW/day + เซฟต้าซิดีม 320 mg/Kg BW/day (รูป 2.4)



รูปภาพ 2.3 ความเป็นพิษกึ่งเรื้อรัง : หนูถูกฉีดกาแลนจินเดี่ยวๆ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



รูปภาพ 2.4 ความเป็นพิษกึ่งเรื้อรัง : หนูถูกฉีดกาแลนจินผสมกับเซพต้าซิดีม

สัตว์ทดลองทุกกลุ่มจะถูกฉีกสารตัวอย่างเข้าทางช่องท้อง 2 ครั้งต่อวัน เป็นเวลา 3 เดือน (90 วัน) หนู ทั้งหมดจะถูกวิเคราะห์ส่วนประกอบของเลือดก่อนและหลังฉีดตัวอย่าง ภายหลังการทดลองสัตว์ทดลองทุก ตัวจะถูกฆ่าโดยใช้ยาสลบไอโซฟลูเรน รูปแบบในการทดลองได้อ้างอิงตามการเพาะเลี้ยงและการดูแล สัตว์ทดลอง ปี 1998 (ฉบับที่ 1) ที่ได้จัดเตรียมสำหรับองค์การอนามัยโลก หน่วยเทคโนโลยีห้องปฏิบัติการ สุขภาพ เมืองเจ-นิวา ประเทศสวิสเซอร์แลนด์ สำหรับขั้นตอนการทดลองได้ทำตามภายใต้ความเห็นชอบของ คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในสัตว์ทดลอง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี สัตว์ทดลองทุกตัวจะถูก ประเมินน้ำหนักตัวทุกๆ สัปดาห์ และหลังจากได้รับสารครบกำหนดก็ประเมินน้ำหนักตัวและน้ำหนักของ อวัยวะต่างๆ (ปอด ตับ ไต ม้าม หัวใจ และกระเพาะอาหาร) อีกทั้งประเมินทางด้านสัณฐานวิทยาของอวัยวะ ดังกล่าวด้วยเช่นกัน ตัวแปรทางด้านโลหิตวิทยาที่จะถูกประเมิน ได้แก่ ฮีมาโตคริต จำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดง จำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาว และปริมาตรของเม็ดเลือดแดงโดยเฉลี่ย (MCV) และสารเคมีที่จะประเมินผล ประกอบด้วย น้ำตาลในเลือดขณะอดอาหาร (FBS) เอ็นไซม์ AST, บียูเอ็น คอเลสเตอรอล และกรดยูริก

3. การตรวจสอบทางสัณฐานวิทยา

ภายหลังเสร็จสิ้นการทดลอง เฉพาะอวัยวะที่ผิดปกติ (ปอด ตับ ไต ม้าม หัวใจ หรือ กระเพาะอาหาร) จะถูกตรึงไว้ในฟอร์มาลิน ถูกฝังไว้ในพาราฟิน แบ่งออกเป็นส่วนๆ และถูกย้อมด้วยฮีมาโต ไซลิน-อีโอซิน เพื่อใช้ในการตรวจสอบทางด้านพยาธิวิทยาโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ นอกจากนั้นความผิดปกติ ของอวัยวะที่ได้เลือกไว้จะถูกตัดออกเป็น 1 ลูกบาศก์มิลลิเมตร และจะถูกตรึงไว้ใน 25% กลูต้าอัลดีไฮด์ที่ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จะถูกแบ่งออกเป็นส่วนๆ ด้วยเครื่องตัดตัวอย่างใบมีดเพชร ส่วนที่ตัดออก 0.8 มิลลิเมตรถูกเก็บบนตะแรงลวดทองแดง และจะถูกย้อมไว้ใน 3% กลูต้าอัลดีไฮด์ และ 1% ออสเมียมเตตรอกไซด์ ตามด้วย 2% ยูรานิวอะซิเตท ขั้นตอนดังกล่าวจะถูกเปรียบเทียบกับอวัยวะที่ปกติ (An et al., 2006)

4. การวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยาเคมีในเลือด

ภายหลังเสร็จสิ้นการทดลองตัวอย่างเลือดถูกเก็บโดยการเจาะเข้าหัวใจภายใต้ยาสลบอีเทอร์ และถูกนำมาใช้วิเคราะห์ทางโลหิตวิทยาเพียงบางส่วน จากเซรั่มที่เหลือจะถูกเตรียมด้วยการปั่นความแรง 1000 x g ทั้งสิ้น 30 นาที และถูกเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสเพื่อใช้ในการวิเคราะห์เคมีในเลือด ซึ่ง ได้แก่ ฮีโมโกลบิน จำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาว (WBC) จำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดง (RBC) เฮชดีเอล บิลลิรูบิน ในเลือด น้ำตาลในเลือด คอเลสเตอรอล ไตรกลีเซอไรด์ เอ็นไซม์ AST, บียูเอ็น และกรดยูริก ซึ่งทดสอบด้วย เครื่องออโตเมท

5. วิธีวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลทั้งหมดแสดงในรูปแบบ ค่าเฉลี่ย ± เอส อี เอ็ม ซึ่งความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มรักษาได้วิเคราะห์ด้วยสถิติ Student T-test โดยค่า P <0.05 จะพิจารณาว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ สำหรับความแตกต่างระหว่างก่อนและหลังการรักษาจะเปรียบเทียบโดยใช้สถิติ Paired- Student T-test และค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญถูกกำหนดไว้ที่ P<0.05

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

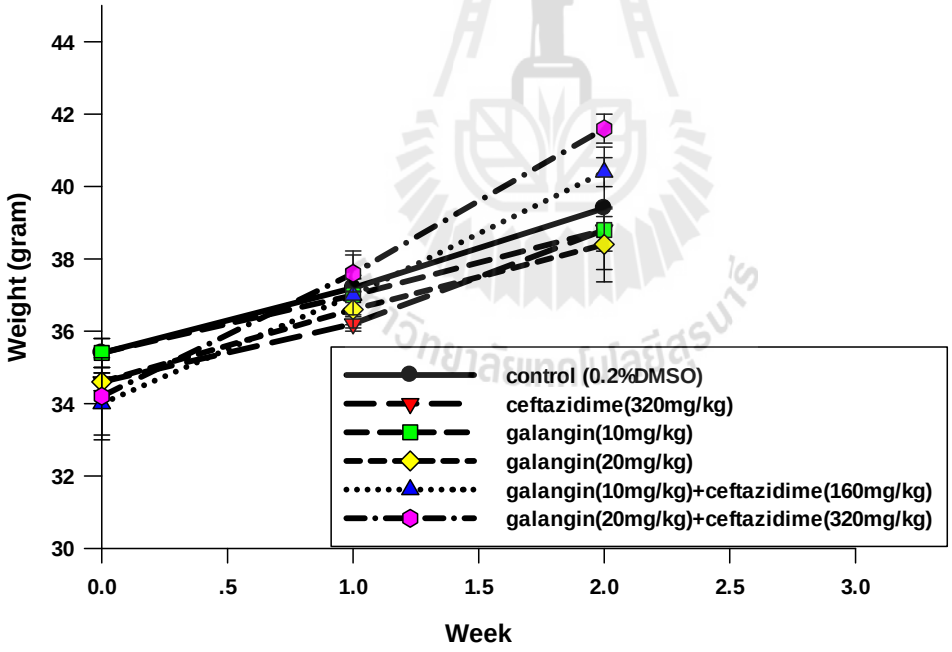
บทที่ 3
ผลการวิจัย

การทดลองนี้แบ่งออกเป็น 2 ส่วน ส่วนแรก คือ การทดสอบพิษของ galangin เพียงอย่างเดียว และ การใช้ร่วมกับ β-Lactams antibiotics (galangin + ceftazidime) โดยการฉีดหนูทดลอง(mice)แบบ intraperitoneal เป็นเวลา 14 วัน ส่วนที่สองคือการทดสอบ subchronic toxicity ของ galangin เดี่ยวๆ และการใช้ร่วมกับ β-Lactams antibiotics (galangin + ceftazidime) ด้วยการฉีดหนูทดลองแบบ intraperitoneal เป็นเวลา 90 วัน

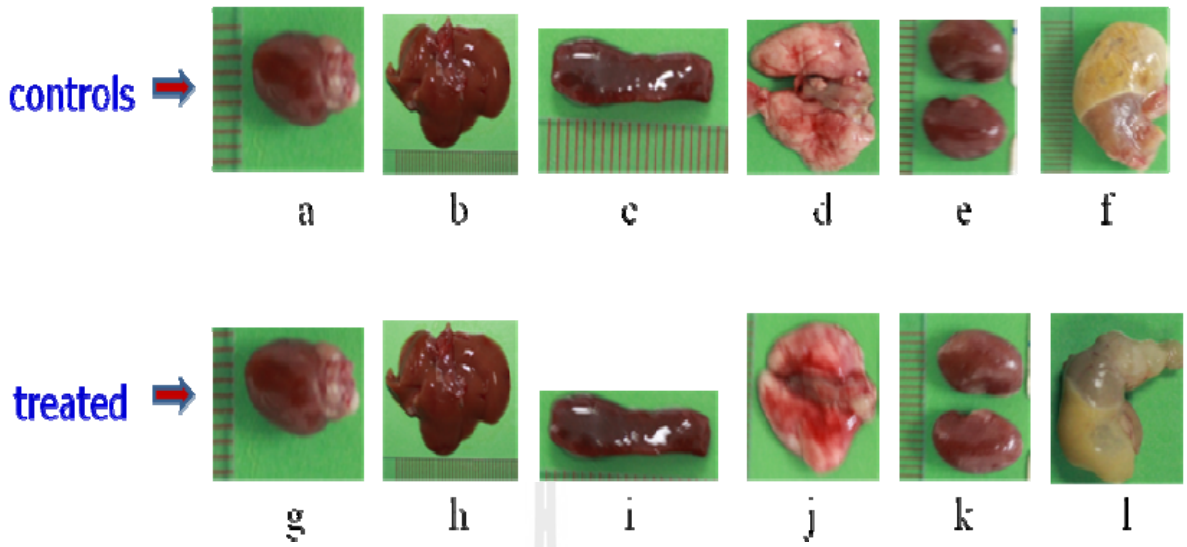
3.1 การทดสอบผลของ Subacute toxicity test ของ galangin

3.1.1 ผลกระทบของ galangin ต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัว และ อวัยวะสำคัญของหนูทดลอง

ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทั้งในด้านของ growth rate (ภาพ 3.1) หรือ น้ำหนักอวัยวะสำคัญของหนูทดลอง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ตาราง 3.1) ตลอดจนลักษณะทาง patho-histology of the หัวใจ, ตับ, ม้าม, ไต และ กระเพาะอาหาร ก็ไม่พบความแตกต่างเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม



รูปภาพ 3.1 Body weights of mice treated with galangin alone and in combination with ceftazidime for 14 consecutive days in comparison with the negative control.



รูปภาพ 3.2 Morphology of main body organs of mice treated with galangin alone and in combination with ceftazidime for 14 consecutive days in comparison with the negative control. Control group; a = heart; b = liver; c = spleen; d = lung; e = kidney; f = stomach. Treated group; g = heart; h = liver; i = spleen; j = lung; k = kidney; l = stomach.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตาราง 3.1 Effects of intraperitoneally administered galangin alone and in combination with ceftazidime for 14 days on relative weight of the selected main organ (per 100g body weight) in mice. Group 1 = galangin 10 mg/kg BW/day, Group 2 = galangin 20 mg/kg BW/day, Group 3 = galangin 10 mg/kg BW/day plus ceftazidime 160 mg/kg BW/day, Group 4 = galangin 20 mg/kg BW/day plus ceftazidime 320 mg/kg BW/day, Cefta = Ceftazidime (320 mg/kg BW)

Organ (g)	Control (0.2%DMSO)	Control Cefta	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4
Heart	0.0049±0.0005	0.0045±0.0004	0.0050±0.0002	0.0052±0.0002	0.0046±0.0001	0.0045±0.0004
Liver	0.0514±0.0029	0.0512±0.0048	0.0498±0.0032	0.0514±0.0048	0.0474±0.0012	0.0523±0.0035
Spleen	0.0041±0.0005	0.0041±0.0005	0.0045±0.0004	0.0063±0.0011	0.0040±0.0005	0.0042±0.0006
Lung	0.0062±0.0008	0.0061±0.0007	0.0062±0.0001	0.0062±0.0003	0.0061±0.0001	0.0062±0.0003
Kidney	0.0172±0.0033	0.0170±0.0034	0.0170±0.0014	0.0163±0.0023	0.0165±0.0023	0.0177±0.0027
Stomach	0.0199±0.0035	0.0199±0.0005	0.0133±0.0010	0.0223±0.0037	0.0286±0.0043	0.0231±0.0042

3.1.2 ผลกระทบของ Subacute toxicity test ของ the galangin เคมีในกระแสเลือด และโลหิตวิทยาของหนูทดลอง

ผลปรากฏว่า ระดับของ AST และ cholesterol ลดลงเล็กน้อย หลังจาก treat ด้วย galangin เพียงอย่างเดียว หรือ เมื่อ ใช้ร่วมกับ ceftazidime เปรียบเทียบกับ pre-treatment groups อย่างไรก็ตามการลดระดับของ AST and cholesterol นั้นไม่มีนัยสำคัญที่ $p<0.05$ นอกจากนี้ยังไม่พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ของ BUN รวมทั้ง FBS ระหว่าง pre- และ post-treatment ในทุกกลุ่มการทดลอง ผลการทดสอบทางโลหิตวิทยา พบว่า ไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญของ WBC, RBC, Hb และ MCV in post-treatment group เปรียบเทียบกับ pre-treatment group ในทางตรงกันข้าม ระดับ post-treatment ของ Hct ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) เมื่อเพิ่มระดับของ galangin เปรียบเทียบกับ pre-treatment ในทุกกลุ่มการทดลอง (ตาราง 3.2).

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตาราง 3.2 Blood chemistry and hematological studies on mice before and after subacute treatment with galangin alone and in combination with ceftazidime for 14 days. Group 1 = galangin 10 mg/kg BW/day, Group 2 = galangin 20 mg/kg BW/day, Group 3 = galangin 10 mg/kg BW/day plus ceftazidime 160 mg/kg BW/day, Group 4 = galangin 20 mg/kg BW/day plus ceftazidime 320 mg/kg BW/day, Cefta = Ceftazidime (320 mg/kg BW).

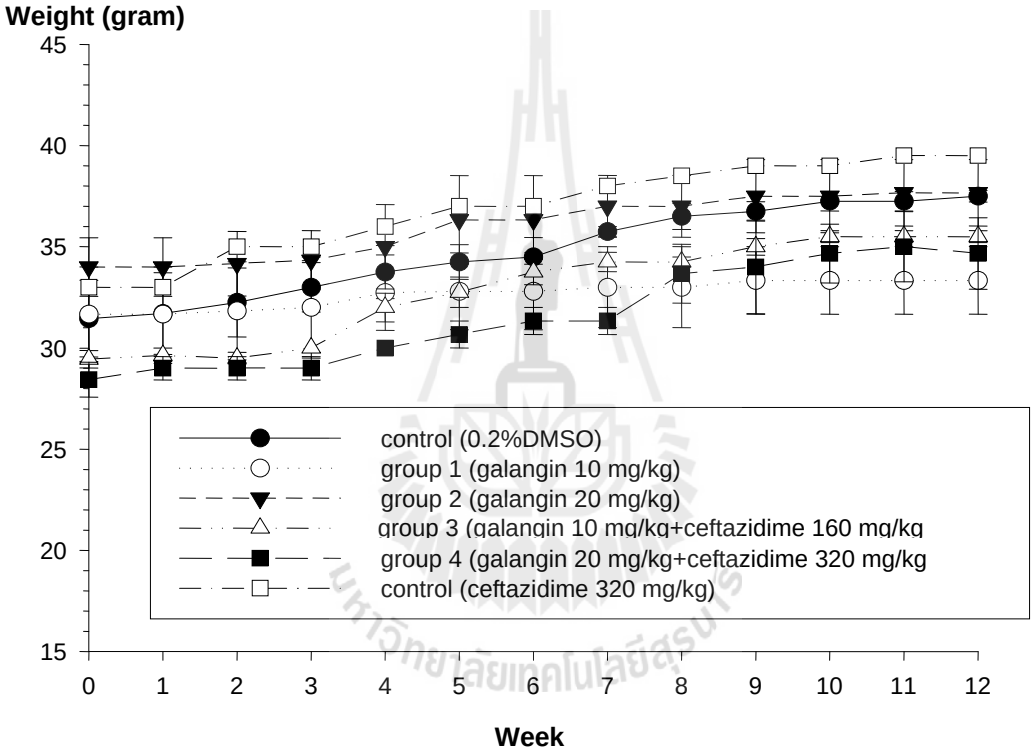
Parameter	Control (0.2% DMSO)		Control Cefta.		Group 1		Group 2		Group 3		Group 4	
	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post
AST (U/L)	207.2±33.6	209.2±33.7	118.4±13.3	118.2±13.4	150.8±4.0	149.4±3.9	139.2±8.2	109.4±12.3	153.0±24.2	111.4±5.9	118.4±13.3	97.2±4.4
BUN (mg/dl)	23.5±0.6	23.7±1.1	20.4±2.1	16.7±0.4	21.4±1.4	15.8±2.1	16.5±1.0	22.0±4.1	25.3±1.4	24.4±1.2	22.4±2.1	16.7±0.4
FBS(mg/dl)	137.5±9.8	176.7±22.4	103.2±25.9	103.8±3.4	108.4±19.13	154.0±8.2	109.6±22.7	87.2±10.1	114.8±20.9	115.8±5.0	103.2±25.9	139.8±3.4
Cholesterol(mg/dl)	85.2±2.7	92.0±4.1	185.2±12.5	145.2±9.5	166.4±2.23	164.2±1.5	187.2±16.4	141.0±7.7	182.0±14.8	174.0±14.7	185.2±12.5	145.2±9.5
WBC ($x10^3$//μ L)	9.6±0.6	9.7±0.7	6.5±0.3	5.6±0.9	8.0±0.5	7.1±0.7	7.2±1.1	7.60±1.7	5.9±0.5	4.7±0.3	6.5±0.3	5.6±0.9
RBC ($x10^6$ /μL)	9.0±0.1	8.9±0.4	8.2±0.2	7.2±0.3	8.9±0.7	7.7±0.1	8.5±0.2	8.40±0.2	8.4±0.4	7.4±0.2	8.2±0.2	7.2±0.3
Hb (g/dl)	15.5±0.2	14.5±0.2	14.5±0.8	12.2±0.6	13.9±0.6	12.6±0.2	12.7±0.2	12.0±0.2	14.0±0.7	12.6±0.6	14.5±0.8	12.2±0.6
Hct (%)	44.7±1.2	44.0±0.9	53.1±1.7	53.2±2.4	**54.8±1.3**	**45.5±0.6***	**51.5±2.4**	**33.2±1.6***	**51.3±0.6**	**38.8±2.0***	**53.1±1.7**	**36.7±2.4***
MCV (fL)	54.5±0.8	54.2±0.7	53.1±1.7	53.2±0.5	50.7±5.7	57.4±0.6	53.5±1.3	50.4±1.4	53.7±2.0	51.8±1.6	53.1±1.7	49.6±0.5

Mean ± SEM (n=5), *$p < 0.05$ (Student's *t*–test) significant relative to pre-treatment value.

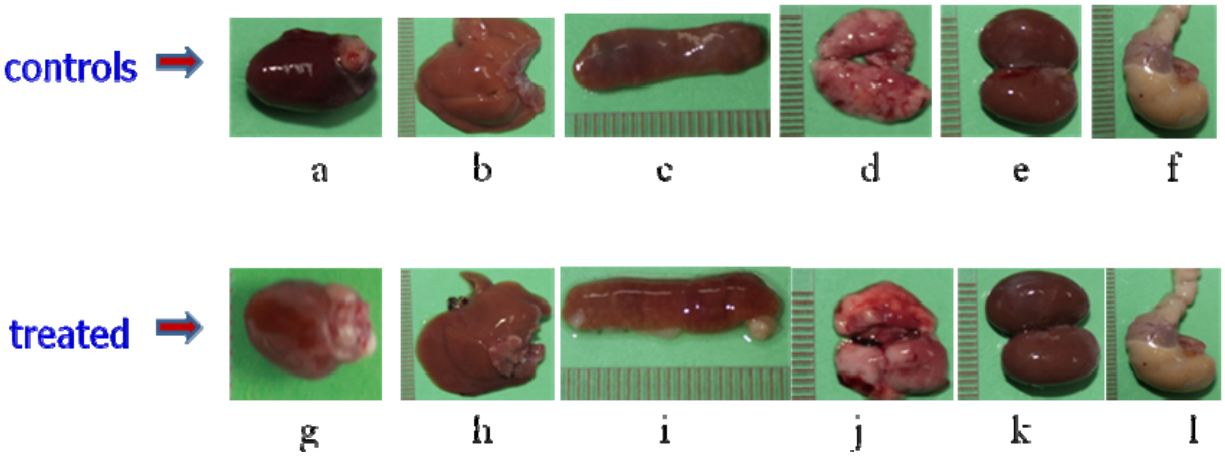
3.2 การทดสอบ Subchronic toxicity test ของ galangin

3.2.1 ผลกระทบของ galangin ต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัว และ อวัยวะสำคัญของหนูทดลอง

พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทั้งในด้านของ growth rate (รูปภาพ 3.3) หรือ น้ำหนักอวัยวะสำคัญของหนูทดลอง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (control) (ตาราง 3.3) นอกจากนี้ไม่พบความผิดปกติทาง patho-histology ของอวัยวะต่างๆ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม



รูปภาพ 3.3 Body weights of mice treated with galangin alone and in combination with ceftazidime for 90 consecutive days in comparison with the negative control.



รูปภาพ 3.4 Morphology of main body organs of mice treated with galangin alone and in combination with ceftazidime for 90 consecutive days in comparison with the negative control. Control group; a = heart; b = liver; c = spleen; d = lung; e = kidney; f = stomach. Treated group; g = heart; h = liver; i = spleen; j = lung; k = kidney; l = stomach.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตาราง 3.3 Effects of intraperitoneally administered galangin alone and in combination with ceftazidime for 90 days on relative weight of the selected main organ (per 100g body weight) in mice. Group 1 = galangin 10 mg/kg BW/day, Group 2 = galangin 20 mg/kg BW/day, Group 3 = galangin 10 mg/kg BW/day plus ceftazidime 160 mg/kg BW/day, Group 4 = galangin 20 mg/kg BW/day plus ceftazidime 320 mg/kg BW/day, Cefta = Ceftazidime (320 mg/kg BW).

Organ (g)	Control (0.2%DMSO)	Control Cefta	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4
Heart	0.0019±0.0001	0.0016±0.0001	0.0017±0.0002	0.0018±0.0002	0.0019±0.0001	0.0017±0.0000
Liver	0.0189±0.0011	0.0173±0.0012	0.0162±0.0019	0.0118±0.0047	0.0213±0.0010	0.0196±0.0011
Spleen	0.0017±0.0001	0.0018±0.0001	0.0020±0.0002	0.0063±0.0034	0.0016±0.0001	0.0051±0.0034
Lung	0.0027±0.0001	0.0024±0.0001	0.0029±0.0002	0.0025±0.0001	0.0022±0.0003	0.0023±0.0001
Kidney	0.0063±0.0006	0.0055±0.0006	0.0068±0.0022	0.0054±0.0004	0.0317±0.0254	0.0060±0.0008
Stomach	0.0063±0.0013	0.0071±0.0009	0.0066±0.0013	0.0086±0.0024	0.0083±0.0008	0.0094±0.0022

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3.2.2 Subchronic toxicity test ของ galangin ต่อค่าทางเคมีในกระแสเลือด และ โลหิตวิทยาของหนูทดลอง

ผลจากจากการวิเคราะห์ค่าทางเคมีในกระแสเลือดพบว่า ระดับของ AST และ BUN จะลดลงเล็กน้อย ยกเว้นกลุ่มหนูทดลองที่ treat ด้วย 20 mg/kg BW/day galangin ร่วมกับ 320 mg/kg BW/day ceftazidime ในขณะที่ระดับของ FBS ลดลง ในทุกกลุ่มการทดลองของ post-treatment group เปรียบเทียบกับ pre-treatment group อย่างไรก็ตาม ไม่พบการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) ในทุกกลุ่มการทดลองระหว่าง pre-และ post-treatment (ตาราง 3.4) ในขณะที่ระดับของ Cholesterol ลดลงในทุกกลุ่มของ post-treatment และการลดลงมากขึ้นตามขนาดของกาแลนจินที่เพิ่มขึ้นเปรียบเทียบกับ pre-treatment group แต่ยังไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ผลการทดสอบทางโลหิตวิทยาพบว่ามีการไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในกลุ่ม post-treatment เปรียบเทียบกับ pre-treatment (p<0.05) ในทุกพารามิเตอร์ของทุกกลุ่มการทดลองยกเว้น ค่า Hct ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) ในกลุ่มที่ได้รับกาแลนจินเดี่ยวๆ และผสมกับ ceftazidime ทั้งขนาดต่ำและสูง โดยการลดลงของ Hct ต่ำลงตามขนาดของกาแลนจินที่เพิ่มขึ้น (ตาราง 3.4)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตาราง 3.4 Blood chemistry and hematological studies on mice before and after subchronic treatment with galangin alone and in combination with ceftazidime for 90 days. Group 1 = galangin 10 mg/kg BW/day, Group 2 = galangin 20 mg/kg BW/day, Group 3 = galangin 10 mg/kg BW/day plus ceftazidime 160 mg/kg BW/day, Group 4 = galangin 20 mg/kg BW/day plus ceftazidime 320 mg/kg BW/day BW/day, Cefta = Ceftazidime (320 mg/kg BW).

Parameter	Control (NSS)		Control Cefta		Group 1		Group 2		Group 3		Group 4	
	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post
AST (U/L)	235.2±2.9	235.5±3.3	133.5±7.3	173.2±31.8	190.2±49.2	128.5±7.5	181.7±29.2	147.0±16.6	257.7±92.0	249.0±45.4	185.6±52.2	361.3±118
BUN (mg/dl)	23.5±0.6	23.7±0.6	26.5±3.3	25.5±1.0	33.7±2.5	33.0±2.6	33.0±1.9	27.9±1.9	37.2±10.8	20.4±2.9	19.0±1.8	23.5±3.1
FBS(mg/dl)	138.0±9.3	142.2±7.6	186.0±13.6	216.7±3.0	151.7±7.1	153.0±9.1	180.0±22.4	180.5±40.9	168.5±4.9	224.2±22.2	195.3±27.1	224.3±41.3
Cholesterol(mg/dl)	86.5±4.8	91.5±4.6	111.7±9.5	93.2±9.9	100.7±5.0	85.5±6.1	101.2±6.3	88.0±11.5	110.2±8.8	92.7±7.9	107.0±20.8	100.0±5.2
WBC ($x10^3$//μ L)	9.0±0.8	9.2±0.2	7.9±0.5	5.9±1.2	5.60±0.4	6.3±0.9	4.6±0.1	5.8±0.6	5.5±1.4	6.8±0.4	8.2±0.3	8.4±0.2
RBC ($x10^6$ /μL)	9.0±0.1	9.2±0.2	7.3±0.3	6.2±0.4	5.6±04	6.3±0.9	5.8±04	6.0±0.9	5.5±1.4	6.8±0.4	8.2±0.3	7.9±2.0
Hb (g/dl)	15.5±0.2	15.5±0.6	12.5±0.6	11.7±1.3	15.5±0.7	13.7±0.6	15.5±0.5	14.8±0.7	11.5±0.9	11.7±0.6	12.0±1.0	12.3±1.6
Hct (%)	44.7±1.2	44.0±0.8	37.7±1.3	30.0±0.5	**43.6±2.0**	**36.7±2.4***	**40.2±1.9**	**33.4±1.0***	**38.2±1.7**	**30.0±2.6***	**37.3±1.7**	**24.6±6.3***
MCV (fL)	53.2±0.4	53.5±0.2	51.5±1.1	47.5±0.6	50.5±0.6	50.0±1.0	49.9±0.3	53.6±3.2	47.4±1.9	48.9±0.5	51.4±0.4	49.2±1.5

Mean ± SEM (n=5), ***p** < 0.05 (Student's *t*–test) significant relative to pre-treatment.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 4
อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

การวิเคราะห์และอภิปรายผลการวิจัย

ในการวิจัยนี้ galangin จะถูกละลายด้วย 0.20% DMSO สำหรับการทดสอบความเป็นพิษ (toxicity test) การทดสอบความเป็นพิษนี้ กาแลนจิน เมื่อใช้เดี่ยวและผสมกับยาคลอกซาซิลินหรือเซพทาซิดีมในหนูถีบจักร วิธีการศึกษาพิษกึ่งเฉียบพลันโดยฉีดสารกาแลนจินเดี่ยวๆ เข้าช่องท้องเป็นเวลา 14 วัน ขนาด (ปกติและสูง) 10 และ 20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักตัว) ต่อวัน และฉีดกาแลนจินผสมกับเซพทาซีดีม ขนาด (ปกติ, สูง) 10+160, 20+320 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักตัว) ต่อวัน วิธีการศึกษาพิษกึ่งเรื้อรังโดยฉีดสารกาแลนจินเดี่ยวๆ เข้าช่องท้องเป็นเวลา 90 วัน ขนาด (ปกติและสูง) 10 และ 20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักตัว) ต่อวัน และฉีดกาแลนจินผสมกับเซพต้าซิดีม ขนาด (ปกติ, สูง) 10+160, 20+160 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักตัว) ต่อวัน ภายหลังสิ้นสุดการทดลองได้นำอวัยวะที่สำคัญและเลือดมาวิเคราะห์ผลทางชีวเคมีและโลหิตวิทยาทั้งพิษกึ่งเฉียบพลันและพิษกึ่งเรื้อรัง พบว่า น้ำหนักสัมพัทธ์และน้ำหนักของอวัยวะสำคัญ (ต่อน้ำหนักตัว) ได้แก่ หัวใจ ตับ ม้าม ปอด ไต และกระเพาะอาหาร และผลการตรวจสอบชีววิทยาของเนื้อเยื่อของหนูทดลองไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ส่วนผลทางชีวเคมีและโลหิตวิทยาของการทดสอบพิษกึ่งฉับพลันและกึ่งเรื้อรัง พบว่ากาแลนจินทำให้ค่าเอชซีทีลดลง โดยขนาดของการลดลงมากขึ้นตามขนาดของกาแลนจินที่เพิ่มขึ้น เมื่อให้สารดังกล่าวในขนาดปกติและขนาดสูง ทั้งกึ่งเฉียบพลันและกึ่งเรื้อรัง การวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่า dose ที่สูง และ ระยะเวลาที่ยาวนานของการ treat ด้วย galangin จะมีผลต่อ การลดลงของ Hct ในขณะที่ระดับของ Cholesterol ลดลงในทุกกลุ่มของ post-treatment และการลดลงมากขึ้นตามขนาดของกาแลนจินที่เพิ่มขึ้นเปรียบเทียบกับ pre-treatment group แต่ยังไม่มีนัยสำคัญทางสถิติของความแตกต่างของการลดลงนี้ เมื่อเปรียบเทียบประโยชน์ของการลดลงของ Cholesterol ในการวิจัยนี้กับงานวิจัยอื่นๆพบว่าการวิจัยนี้ มีความสอดคล้องกับ งานวิจัยของฟลาโวนอยด์อื่นๆ ที่พบว่า Baicalin สามารถลดระดับของ serum cholesterol, free fatty acid และ insulin ในหนูทดลองที่ได้รับอาหารไขมันสูง Guo et al. (2009) ได้มีงานวิจัยที่หากลไกการออกฤทธิ์ของ Baicalein ในการยับยั้งการสะสมของ triglyceride ระหว่างขบวนการ adipogenesis และพบการลดลงของการแสดงออกของ mRNA expression of fatty acid-binding protein (FABP), ซึ่งอาจมาจากความสามารถของ baicalein ในการเสริมการแสดงออกของ COX-2 ส่งผลให้ยับยั้งขบวนการ adipogenesis (Cha et al., 2006) นอกจากนั้นแล้วยังมีงานวิจัยอื่นๆของฟลาโวนอยด์ที่ชี้ให้เห็นว่า สาร ursolic acid (UA) และ luteolin-7-glucoside (L7G) สามารถลดระดับของ total plasma cholesterol และ low-density lipoprotein ในเลือดของหนูทดลอง (male wistar rats) ได้อย่างมีนัยสำคัญ (Azevedo et al., 2010) ส่วนงานวิจัยอื่นๆของ galangin มักทดสอบฤทธิ์ของสารนี้ในแง่ของการเป็นสารต้านเนื้องอกและมะเร็ง ตัวอย่างเช่น Heo et al. (1994) ซึ่งรายงานไว้ว่า galagin แสดงการเป็น anticlastogenic โดย ต้าน bleomycin-induced chromosomal aberrations

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

การวิจัยครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า galangin มีความปลอดภัยพอควร โดยการทดสอบพิษกึ่งเฉียบพลันและพิษกึ่งเรื้อรัง พบว่าไม่มีพิษต่อน้ำหนักสัมพัทธ์และอวัยวะสำคัญของหนูทดลองตลอดจนค่าเคมีทางโลหิตวิทยาในเกือบทุกพารามิเตอร์ ยกเว้นฤทธิ์การทำให้ค่า Hct ลดลงในขนาดตั้งแต่ 10 mg/kg BW/day ซึ่งอาจทำการทดลองหาสารมาลดผลข้างเคียงนี้ การใช้ในมนุษย์ในขนาดที่ต่ำกว่านี้และระยะเวลาสั้นกว่านี้เพื่อประโยชน์การประยุกต์ใช้สารนี้ควรถูกทำการวิจัยต่อไปทั้งในสัตว์ทดลองและในมนุษย์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บรรณานุกรม

Alkhamaiseh SI, Taher M, Ahmad F, Qaralleh H, Althunibat OY, Susanti D and Ichwan SJ (2012) The phytochemical content and antimicrobial activities of Malaysian *Calophyllum canum* (stem bark). *Pakistan Journal of Pharmaceutical Science* **25**:555-563.

An H, Zhou YH, Yang LJ, Jia QJ, Yang H and Cao J (2006) [Preliminary research on effects of subchronic exposure to hydroxylammonium nitrate on tests germ cells of male rats]. *Zhonghua lao dong wei sheng zhi ye bing za zhi = Zhonghua laodong weisheng zhiyebing zazhi = Chinese Journal of Industrial Hygiene and Occupational Diseases* **24**:556-557.

Azevedo MF, Camsari C, Sa CM, Lima CF, Fernandes-Ferreira M and Pereira-Wilson C (2010) Ursolic acid and luteolin-7-glucoside improve lipid profiles and increase liver glycogen content through glycogen synthase kinase-3. *Phytotherapy Research : PTR* **24 Suppl 2**:S220-224.

Cha MH, Kim IC, Lee BH and Yoon Y (2006) Baicalein inhibits adipocyte differentiation by enhancing COX-2 expression. *Journal of Medicinal Food* **9**:145-153.

Cushnie TPT and Lamb AJ (2005) Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents* **26**:343-356.

Cushnie TPT and Lamb AJ (2006) Assessment of the antibacterial activity of galangin against 4-quinolone resistant strains of *Staphylococcus aureus*. *Phytomedicine* **13**:187-191.

Cushnie TPT and Lamb AJ (2011) Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*.

Eumkeb G, Richards, R.M.E., (2005) Reversing beta-lactam antibiotic resistance with flavonoids in Gram positive Bacteria, in *WOCMAP III* (Sagdic O ed) pp 171-178, Acta Horticulturae., Chiangmai, Thailand.

Eumkeb G, Sakdarat S and Siriwong S (2010) Reversing β-lactam antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* with galangin from *Alpinia officinarum* Hance and synergism with ceftazidime. *Phytomedicine* **18**:40-45.

Guo HX, Liu DH, Ma Y, Liu JF, Wang Y, Du ZY, Wang X, Shen JK and Peng HL (2009) Long-term baicalin administration ameliorates metabolic disorders and hepatic steatosis in rats given a high-fat diet. *Acta Pharmacology Singapore* **30**:1505-1512.

Heo MY, Lee SJ, Kwon CH, Kim SW, Sohn DH and Au WW (1994) Anticlastogenic effects of galangin against bleomycin-induced chromosomal aberrations in mouse spleen lymphocytes. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* **311**:225-229.

Liao SG, Zhang LJ, Sun F, Zhang JJ, Chen AY, Lan YY, Li YJ, Wang AM, He X, Xiong Y, Dong L, Chen XJ, Li YT, Zuo L and Wang YL (2011) Antibacterial and anti-inflammatory effects of extracts and fractions from *Polygonum capitatum*. *Journal of Ethnopharmacology* **134**:1006-1009.

Moon YJ, Wang X and Morris ME (2006) Dietary flavonoids: Effects on xenobiotic and carcinogen metabolism. *Toxicology in Vitro* **20**:187-210.

Morello S, Vellecco V, Alfieri A, Mascolo N and Cicala C (2006) Vasorelaxant effect of the flavonoid galangin on isolated rat thoracic aorta. *Life Sciences* **78**:825-830.

Mulligan ME, Murray-Leisure, K.A., Ribner, B.S., Standiford, H.C., John, J.F., Korvick, J.A., Kauffman, C.A., Yu, V.L., (1993) Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a consensus review of microbiology, pathogenesis, and epidemiology with implications for prevention and management. *The American Journal of Medicine* **94**:313-328.

Ncube B, Ngunge VNP, Finnie JF and Van Staden J (2011) A comparative study of the antimicrobial and phytochemical properties between outdoor grown and micropropagated *Tulbaghia violacea* Harv. plants. *Journal of Ethnopharmacology* **134**:775-780.

Suchinina TV, Shestakova TS, Petrichenko VM and Novikova VV (2011) Solvent polarity effect on the composition of biologically active substances, UV spectral characteristics, and antibacterial activity of *Euphrasia brevipila* herb extracts. *Pharmaceutical Chemistry Journal*:1-4.

Wijaya S, Nee TK, Jin KT, Hon LK, San LH and Wiart C (2011) Antibacterial and antioxidant activities of *Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn. (Asteraceae). *Journal of Complementary and Integrative Medicine* **8**.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ภาคผนวก

Output ที่ได้จากโครงการ

Referred articles:

Eumkeb, G. and Duangkham A. (2011). "Subacute Toxicify Test of Galangin and ceftazidime in Mice." Thai Journal of Toxicology **26**(1): 5-13.

Conference Proceedings:

Griangsak Eumkeb, Nichayanan Chaisena, Nitaya Rojtinnakorn, Supatcharee Siriwong, Aphai Duangkham. (2008). P14 Reversing β-Lactam Antibiotic Resistant Bacteria with Flavonoids. In : Proceeding of 30th Pharmacological and Therapeutic Society of Thailand Meeting. 27-28 March 2008. *Thai Journal of Pharmacology*. Vol 29: No I: 117-126. Bangkok: Ruen Kaew Press.

Conference Abstracts:

Eumkeb, G., Phitaktim, S., Rojtinnakorn, N., Siriwong, S., Duangkham, A., Naknarong, W., Wisansawat, J. (2009). Flavonoids synergy with **β**-lactam antibiotics against **β**-lactam-resistant bacteria. The Thai research Fund meeting : Senior Thai research Fund researchers meet Junior Thai research Fund researchers, **Abstract Book** (Poster presentation, PS-BIO-B24). 15-17 October 2009, Cha-am, Petchaburi, Thailand, Thailand research fund and Commission on higher education**:** p. 105.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ประวัติผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการวิจัย

1. **Name and Rank**: Assistant Professor Dr. Griangsak Eumkeb
2. **Department / School**: School of Biology, Institute of Science
3. **University**: Suranaree University of Technology
4. **Degree**:

Degree	Field	Date Awarded	Institute / Country
Ph.D.	Pharmacology	1999	The Robert Gordon University, United Kingdom
B.Sc.	Pharmacy	1989	Chulalongkorn University, Thailand

5. **Experiences**:

5.1 Administration Experience:

Period	Position	Institution / Firm
2004-present	Assistant Professor	Institute of Science, Suranaree University of Technology (SUT)
2002-2005	Assistant Director of Center for Scientific and Technology equipment, Center for Scientific and Technology equipment Suranaree University of Technology	
1999-2002	Lecturer	School of Biology, Inst. of Science, SUT.
1989-1994	Pharmacist	MaharatNakhonRatchasima Hospital, Thailand

6. **Current Professional Field Registration**:

Pharmacology and toxicology, Medicinal plant, Clinical Pharmacy

7. **Members**:

1. Thai society of toxicology
2. Thai society of pharmacist
3. Thai pharmacy council
4. The alumni association of Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University.

8. Research Grants Awarded:

2011- The Royal Golden Jubilee Ph.D. Program Advisorships (1 **Grant**): The Thailand Research Fund, Thailand

2006-2008: Research Career Development Grant (**Metheevijai**): The Thailand Research Fund, Thailand

2003-2004: Research Grant for New Scholar : The Thailand Research Fund-Commission on Higher Education

2004-2011: Research Grants (9 **Grants**): National Research Council of Thailand/Institute of Research and Development, Suranaree University of Technology, Thailand

2011:The Royal Golden Jubilee Ph.D. Program Advisorships (**1 Grants**): The Thailand Research Fund, Thailand

9. **Award** :

2011 : Renowned deed in athletics leader, Suranaree University of Technology

2010 : Renowned deed in athletics manager, Suranaree University of Technology

2008 : Outstanding alumnus, Nonkipittakom school, Burirum, Thailand

1994-1999: The Royal Thai Government Scholarship, MUA, to study Ph.D. in U.K. for 4 years.

1985-1988: Boonrod - Brewery Scholarship for 4 years, Chulalongkorn University,

1983-1984: Bangkok-Bank Scholarship for 2 years, Mahidol University

10. Scientific Publications :

Referred articles:

Richards, R.M.E., **Eumkeb, G**.and Marshall, D. (1997). Is the ultrastructural damage caused by subinhibitory concentrations of trimethoprim and sulphadiazine part of their normal mechanism of action? Microbios, 92, 183 - 197.

Eumkeb, G. and Richards, R.M.E. (2005). Reversing beta-lactam antibiotic resistance with flavonoids in Gram positive Bacteria. *Acta Horticulturae*. Vol 4: 678: 171-178.

Jirawan Oonmetta-aree, Tomoko Suzuki, Piyawan Gasaluck and **Griangsak Eumkeb**. (2006). Antimicrobial Properties and Action of Galangal (*Alpinia galanga* Linn.) on *Staphylococcus aureus*. *LWT Food Science and Technology*. 39: 1214-1220.

(IF 2011 = 2.545)

Punopas, K., **Eumkeb, G**., Chitsomboon, B. and Nakkiew, P. (2004). The study of antibacterial activity of some medicinal plant in Lamiaceae family. *Suranaree J. Sci. Technol.* 11:52-59.

Eumkeb, G. and Richards R.M.E. (2004). Reversing β- Lactam Antibiotic Resistance in Gram-positive bacteria by Some Flavonoids. *Suranaree J. Sci. Technol.* 11:143-150.

Eumkeb, G., Sakdarat, S and Siriwong, S. (2010). "Reversing [beta]-lactam antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* with galangin from *Alpinia officinarum* Hance and synergism with ceftazidime." Phytomedicine **18**(1): 40-45.

(Impact Factor 2011 = 3.268)

Eumkeb, G. and Duangkham A. (2011). "Subacute Toxicify Test of Galangin and ceftazidime in Mice." Thai Journal of Toxicology **26**(1): 5-13.

Eumkeb, G., Siriwong, S., Phitaktim, S., Rojtinnakorn, N., Sakdarat, S. (2012). "Synergistic activity and mode of action of flavonoids isolated from smaller galangal and amoxicillin combinations against amoxicillin-resistant *Escherichia coli*." J. Appl. Microbiol. 112, 55-64.

(Impact Factor 2011 = 2.337)

Munglue, P., Eumkep, G., Wray, S., Kupittayanant, S., 2012. The Effects of Watermelon (*Citrullus lanatus*) Extracts and L-Citrulline on Rat Uterine Contractility. Reproductive Sciences. is accepted.

(Impact Factor 2011 = 2.444)

Patent

The combination of flavonoids and drugs against *Staphylococcus aureus* and *Enterobacter cloacae* : patent asking no: 0601001839 , 2006

Conference Proceedings:

Griangsak Eumkeb, Nichayanan Chaisena, Nitaya Rojtinnakorn, Supatcharee Siriwong, Aphai Duangkham. (2008). P14 Reversing β-Lactam Antibiotic Resistant Bacteria with Flavonoids. In : Proceeding of 30th Pharmacological and Therapeutic Society of Thailand Meeting. 27-28 March 2008. *Thai Journal of Pharmacology*. Vol 29: No I: 117-126. Bangkok: Ruen Kaew Press.

Siriwong S, Thumanu K, **Eumkeb G.** (2010). Using FT-IR microspectroscopy to investigate biochemical change of drugs-resistance *Escherichia coli* treated with amoxicillin and apigenin. In: Proceeding of the 36th Congress on Science and Technology of Thailand (STT36). Abstract Book (Oral presentation, B2_0051/pp70.) 26-28 October 2010, Bangkok, Thailand: Bangkok International Trade & Exhibition Centre (BITEC), Thailand.

Research reports:

Eumkeb,G. and Jinakoon, N. (2003). The study of medicinal plants and supplement food for health of community in NakhonRatchasima province

Conference Abstracts:

Eumkeb, G. and Richards, R.M.E. (2003). Reversing beta-lactam antibiotic resistance with flavonoids in Gram positive Bacteria. In The 3rd World Congress on Medicinal and Aromatic Plant for Human Welfare (WOCMAP III) From Biodiversity through Science and Technology, Trade and Industry to Sustainable Use, **Abstracts Book** (Poster presentation, PP04 -59, pp. 450). 3-7 February 2003, Chiangmai, Thailand : Chiangmai University

Eumkeb, G. and Richards, R.M.E. (2004). Reversing beta-lactam antibiotic resistance in Gram positive Bacteria with some flavonoids. In :The 20th FAPA Congress 2004 : Emerging Science and Profession in Pharmacy **, Abstracts Book** (Oral presentation, PP-O-01, pp. 160). 30 Nov – 3 Dec 2004, Bangkok, Thailand : The Pharmaceutical Association of Thailand under Royal Patronage, Bangkok.

Eumkeb, G. (2005). Investigation of the effect of Some Flavonoids on some β - lactam antibiotics resistant bacteria. In :The Thai research Fund meeting : Senior Thai research Fund researchers meet Junior Thai research Fund researchers**, Abstracts Book** (Poster presentation, MRG168/p225, pp. 214.). 14-16 January 2005, Kanchanaburee, Thailand : The Thai Research Fund and The higher education commission, Bangkok.

Eumkeb, G. (2005). Investigation of the effect of Some Flavonoids on some beta - lactam antibiotics resistant bacteria. In :The Thai research Fund meeting : Senior Thai research Fund researchers meet Junior Thai research Fund researchers, **Abstract Book** (Oral presentation, 13-R1-S1-MRG4680168/p227, pp. 1). 13-15 October 2005, Petchaburi, Thailand : The Thai Research Fund and The higher education commission, Bangkok.

Eumkeb, G. Chukratok. S., Suttajit. M. and Ruangrungsi. N. (2005). Investigation of the effect of Some Flavonoids on some beta-lactam antibiotics resistant bacteria. In :The 1st International Conference on Natural products for Health and Beauty; From local wisdom to global marketplace. **Abstract Book** (Oral presentation, O4-1/p232, pp. 124). 17-21 October 2005, Mahasarakham, Thailand : Mahasarakham University, and the higher education commission, Thailand.

Eumkeb, G., Wongkamsound, K (2007). Flavonoids synergy with beta-lactam antibiotics against beta-lactam-resistant bacteria. In :The Thai research Fund meeting : Senior Thai research Fund researchers meet Junior Thai research Fund researchers **7th, Abstract Book** (Poster presentation, P-PHY-B06-RSA4980004 /p26 , pp. 26). 11-13 October 2007, Pattaya, Chonburee,Thailand : The Thai Research Fund and The higher education commission, Bangkok

Eumkeb, G., Wongkamsound, K. (2008). Flavonoids synergy with β-lactam antibiotics against β-lactam-resistant bacteria. The Thai research Fund meeting : Senior Thai research Fund researchers meet Junior Thai research Fund researchers**, Abstract Book** (Poster presentation, PS-BIO-E20). 16-18 October 2008, Cha-am, Petchaburi, Thailand, Thailand research fund and Commission on higher education**:** p. 144.

Eumkeb, G., Phitaktim, S., Rojtinnakorn, N., Siriwong, S., Duangkham, A., Naknarong, W., Wisansawat, J. (2009). Flavonoids synergy with β-lactam antibiotics against β-lactam-resistant bacteria. The Thai research Fund meeting : Senior Thai research Fund researchers meet Junior Thai research Fund researchers, **Abstract Book** (Poster presentation, PS-BIO-B24). 15-17 October 2009, Cha-am, Petchaburi, Thailand, Thailand research fund and Commission on higher education**:** p. 105.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานตีพิมพ์ทางหนังสือพิมพ์และสื่ออินเตอร์เนต (บางส่วน)

เกรียงศักดิ์ เอื้อมเก็บ พัฒนาสารสกัด"ข่า"สู่ยาปฏิชีวนะสูตรใหม่ ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดหนอง **สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย** วันที่ 14 มกราคม 2548

เกรียงศักดิ์ เอื้อมเก็บ วิจัยพบ"ข่า"ยาปฏิชีวนะสูตรใหม่ ผู้จัดการออนไลน์ วันที่ 15 มกราคม 2548 เวลา 12:39 น. **http://www.manager.co.th/**

เกรียงศักดิ์ เอื้อมเก็บ เร่งวิจัย"ข่า"เป็นยาปฏิชีวนะสูตรใหม่ ต้านเชื้อหนองดื้อยา**หนังสือพิมพ์บ้านเมือง** ประจำวันจันทร์ที่ 17 มกราคม 2548

เกรียงศักดิ์ เอื้อมเก็บ "ข่า"สยบเชื้อดื้อยา เล็งวิจัยสูตรใหม่ ผสมสารสมุนไพร **หนังสือพิมพ์กรุงเทพธุรกิจ** ประจำวันอังคารที่ 18 มกราคม 2548

เกรียงศักดิ์ เอื้อมเก็บ วิจัย"ข่า"ทำยาปราบเชื้อแบคทีเรียจอมดื้อ **หนังสือพิมพ์ผู้จัดการรายวัน** ประจำวันศุกร์ที่ 21 มกราคม 2548 หน้า 43.

เกรียงศักดิ์ เอื้อมเก็บ พัฒนาสารสกัดจาก"ข่า"แทนยาปฏิชีวนะสมัยใหม่ ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดหนอง **หนังสือพิมพ์สยามรัฐ** ประจำวันศุกร์ที่ 28 มกราคม 2548

เกรียงศักดิ์ เอื้อมเก็บ สารสกัด"ข่า"ส่วนผสมยาปฏิชีวนะสูตรใหม่ ต้านเชื้อหนองดื้อยา **หนังสือพิมพ์โพสต์ทูเดย์** ประจำวันอาทิตย์ที่ 13 กุมภาพันธ์ 2548 หน้า B5.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ประวัตินักวิจัย

Name	Mr. Aphai Duangkham
Date of Birth	January 15, 1982
Place of Birth	Ubon Ratchathani, Thailand
Education	
2001-2004	B.Sc. (Biology), Mahasarakham University, Mahasarakham, Thailand

Publications

1. Eumkeb, G., Chaisena, N., Rojtinnakorn, N. and **Duangkham, A.** (2008). Reversing β-lactam antibiotic resistance with flavonoids. **Thai Journal of Pharmacology.** 30: 1.

2. **Duangkham, A**. and Eumkeb, G. (2011). Sub Acute Toxicity Test of Galangin and Ceftazidime in mice. **Thai Journal of Toxicology.** 26: 5-13.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี