

ORIGINAL ARTICLE

การทดสอบความเป็นพิษของน้ำสกัดใบรางจืด (*Thunbergia laurifolia* Linn.) ในหนูขาว

วิวรรรณ วิสิฐพงศ์พันธ์ วิระวรรณ เรืองยุทธิกการณ ไชยยง รุจจนเวท อำไพ บันทอง อุษณีย์ วินิจเขต-
คำนวณ นิรัชร์ เลิศประเสริฐสุข
คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

บทคัดย่อ

รางจืด (*Thunbergia laurifolia* Linn.) เป็นพืชสมุนไพรไทยที่ถูกนำมาใช้แก้พิษสารพิษหลายชนิดใน
รูปชาชาขงดื่มและแคปซูล แต่ยังไม่มียางานการศึกษาความเป็นพิษของสมุนไพรรางจืดมาก่อน การวิจัย
ครั้งนี้จึงได้ศึกษาความเป็นพิษของรางจืดเมื่อบริโภคขนาดสูง และขนาดเทียบเท่ากับการดื่มชาในคนทุกวันต่อ
เนื่องกัน โดยใช้หนูขาวสายพันธุ์ Sprague-Dawley เป็นสัตว์ทดลองพร้อมทั้งศึกษาฤทธิ์ก่อการกลายพันธุ์ของรางจืด
โดยใช้แบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 และ TA100 ผลการทดลองพบว่าน้ำสกัด
ใบรางจืดขนาดสูง 10 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ไม่เปลี่ยนแปลงพฤติกรรมโดยทั่วไปของหนูขาวและไม่
พบความผิดปกติของอวัยวะภายใน เมื่อทดสอบให้น้ำสกัดใบรางจืดขนาด 500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม
ต่อเนื่องกันเป็นเวลา 28 วัน พบว่าไม่มีหนูขาวตัวใดเสียชีวิตในระหว่างการทดสอบ และไม่พบความผิด
ปกติของอวัยวะภายในทั้งหมด ยกเว้นน้ำหนักของตับ ไต และผลทางโลหิตวิทยาบางค่าของกลุ่มหนูขาวเพศผู้
แตกต่างกันเล็กน้อย สำคัญทางสถิติจากกลุ่มควบคุม ในกลุ่มหนูขาวที่ได้รับน้ำสกัดใบรางจืดเป็นเวลา 28 วันและ
หยุดให้เพื่อสังเกตอาการต่อไปอีกเป็นเวลา 14 วัน พบว่าน้ำหนักตับและไตของหนูขาวเพศเมียต่ำกว่ากลุ่มควบคุม
นอกจากนี้พบว่าระดับ malondialdehyde ซึ่งเป็นผลผลิตของการเกิด lipid peroxidation ในซีรัมของหนูขาว
เพศผู้ลดลงอย่างชัดเจน และรางจืดความเข้มข้นระหว่าง 2.5-20.0 มิลลิกรัม ไม่ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์

คำสำคัญ: รางจืด การทดสอบความเป็นพิษ การกลายพันธุ์

ABSTRACT

Rang Chuet (*Thunbergia laurifolia* Linn.) is a Thai herbal medicinal plant used as an antidote
for many toxic substances in the forms of powder preparation and capsule. However, the toxicity of
Rang Chuet has not been reported. The objective of this study was to determine the toxicity of Rang
Chuet in rats at a high dose and at the dose equivalent to the quantity of daily drinking tea in human.

Acute and 28 days repeated oral dose toxicity studies were performed using Sprague-Dawley rats of both sexes. Bacteria *Salmonella typhimurium* strains TA98 and TA100 were used in the study of mutagenicity. The results revealed that the aqueous extract of Rang Chuet leaves at a single oral dose of 10 grams per kilogram bodyweight did not alter the general behavior and the feature of the visceral organs of rats. In addition, the extract at an oral dose of 500 milligrams per kilogram bodyweight given 28 days continually did not produce mortal effect or changes in gross morphology of the internal organs of the rats. No histological changes of visceral organs in every group of rats were found, except the mean weight of the livers and kidneys and some values of hematology of the male tested group were statistically significant different from those of the control. In a separated group where the rats were treated with the extract for 28 days and kept for a further 14 days without treatment, the liver's and kidney's weight in the treated female group were lower than those of the control group. Furthermore, malondialdehyde, a by-product of lipid peroxidation, decreased significantly in the treated male group. The aqueous extract of Rang Chuet leaves at the concentrations between 2.5-20.0 milligrams per milliliter did not cause bacterial genome mutation.

Key words: Rang Chuet, toxicity test, mutagenicity

บทนำ

รางจืด (*Thunbergia laurifolia* Linn.) เป็นพืชสมุนไพรชนิดหนึ่งที่รู้จักกันดีและใช้แพร่หลายในวงการแพทย์แผนโบราณ จากตำรายาสมุนไพร (ชะลอ, 2519, เสี่ยงม, 2508, วุฒิ 2540) กล่าวว่า รางจืดมีรสเย็นใช้ปรุงเป็นยาเขียวถอนพิษไข้ แก้เบื่อเมา แก้อ่อนใน กระจายน้ำ ประจำเดือนไม่ปกติ ปวดหู อักเสบ ปวดบวม และใช้รักษาผู้ป่วยที่ถูกยาพิษต่าง ๆ อาทิเช่น พิษจากสุรา เห็ดเมา พิษเนื่องจากอาการแพ้ หรือรับประทานสัตว์ที่มีพิษ เช่น ปลาปักเป้าทะเลบางชนิด แมงดาทะเลชนิดที่มีพิษ รวมทั้งใช้รักษาผู้ที่ได้รับสารเคมีที่มีพิษร้ายแรง เช่น สารหนู สตรีกันนิน และสารกำจัดแมลงชนิดต่าง ๆ

รางจืดเป็นพืชในวงศ์ ACANTHACEAE เป็นพรรณไม้เถาชนิดหนึ่งมักพบอยู่ตามชายป่าดิบ ชอบอาศัยพื้นเกาะเกี่ยวกับต้นไม้ใหญ่ มีเถาที่แข็งแรงมาก ลักษณะของเถากลมเป็นข้อปล้อง มีสีเขียว ใบเป็นไม้ใบเดี่ยวออกตรงข้ามกันเป็นคู่ ๆ และ

ขนาดของใบจะไล่กันขึ้นไปตั้งแต่ขนาดใหญ่ตรงโคนกันไปหาขนาดเล็กตรงปลายก้านใบ ใบสีเขียว ผิวเกลี้ยง ลักษณะเป็นรูปหัวใจ ตรงโคนเว้าปลายใบเป็นติ่งแหลม กว้างประมาณ 4-5 เซนติเมตร ยาว 8-10 เซนติเมตร ออกดอกเป็นช่ออยู่ตามง่ามใบ ช่อ ๆ หนึ่งจะมีดอกอยู่ 3-4 ดอก ห้อยระย้าลงมา ลักษณะของดอกเป็นกรวยสั้น ๆ หลอดกรวยยาวประมาณ 1 เซนติเมตร (วิทย์, 2539, พนิดา, 2542)

มีรายงานการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและเภสัชวิทยาของรางจืดดังนี้ สารเคมีที่พบในรางจืดส่วนใหญ่เป็นสารในกลุ่ม flavonoids (Purina, 1978) ได้แก่ apigenin, cosmosin และ delphinidin-3,5-di-O-β-D-glucoside วิรุทธ (2522) วิเคราะห์ส่วนประกอบของน้ำสกัดใบรางจืดพบว่ามี amino acids 4 ชนิดคือ methionine, glycine, serine และ unidentified amino acid แต่สกัดด้วย petroleum ether พบ steroids 8 ชนิด และ carotenoid หนึ่งชนิด

ศิริวรรณ (2522) พบว่าสารสกัดใบรางจืดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Aerobacter aerogens* ได้ ในขณะที่ Kongyingyos และคณะ (1990) ใช้หน้าสกัดใบรางจืดยับยั้งการเจริญของไวรัส hepes simplex type 1 และ Chanawirat (2000) ใช้สารสกัดจากใบรางจืดลดพิษต่อตับของอัลกอฮอล์ในหนูถีบจักรได้ ส่วนสุพรและคณะ (2541) ได้พัฒนาสารสกัดใบรางจืดเป็นยาทาภายนอกสำหรับต้านการอักเสบ เพราะสามารถต้านการอักเสบในหนูทดลองได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

นอกจากนี้มีการทดสอบยืนยันว่าน้ำสกัดใบรางจืดสามารถลดอัตราการตายของหนูขาวเนื่องจากพิษของสารกำจัดแมลงได้ (พานี และ ชัชวดี, 2523, วีระวรรณ, 2523) และยังสามารถลดอุณหภูมิร่างกายหนูขาวได้ด้วย (บุษบง, 2521)

ปัจจุบันมีการนำพืชสมุนไพรมาใช้เพื่อรักษาโรคและเสริมสุขภาพแทนยาสังเคราะห์สารเคมีกันมากขึ้น เพราะต้องการลดความเป็นพิษของสารเคมีที่มีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและสุขภาพ แต่พืชสมุนไพรหลายชนิดที่นำมาใช้ยังไม่มีข้อมูลด้านความเป็นพิษ เช่นเดียวกับสมุนไพรรางจืดซึ่งถึงแม้ว่าจะมีรายงานการวิจัยในแง่ต่าง ๆ มากพอสมควรดังที่กล่าวข้างต้น แต่ก็ยังไม่มีข้อมูลเกี่ยวกับความเป็นพิษของรางจืด ได้มีบริษัทและหน่วยงานหลายแห่งทำการผลิตและจำหน่ายรางจืดในรูปแบบแคปซูลและชาผงออกวางจำหน่ายในท้องตลาดทั่วไป ทำให้ผู้บริโภคมีความเสี่ยงต่อการใช้สมุนไพรรางจืด ซึ่งอาจก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อร่างกายได้

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมโดยทั่วไปของหนูขาวเมื่อได้รับน้ำสกัดใบรางจืดในขนาดสูง และศึกษาความเป็นพิษเมื่อให้น้ำสกัดใบรางจืดในขนาดต่ำแก่หนูขาวต่อเนื่องกันเป็นระยะเวลา 28 วัน พร้อมกับศึกษาความผิดปกติต่าง ๆ ของอวัยวะ

ใน และระดับสารเคมีตลอดจนส่วนประกอบต่างๆ ในเลือด รวมทั้งศึกษาความเป็นพิษระดับเซลล์ว่ามีการกระตุ้นให้เกิดการสร้างอนุมูลอิสระหรือไม่ โดยการวัดระดับ malondialdehyde ในซีรัมของหนูขาว หลังจากได้รับน้ำสกัดใบรางจืด และศึกษาความเป็นพิษต่อยีนของน้ำสกัดใบรางจืดว่าสามารถก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ของดีเอ็นเอในแบคทีเรียได้หรือไม่

วัสดุและวิธีการทดลอง

สัตว์ทดลอง

ใช้หนูขาวสายพันธุ์ Sprague-Dawley ทั้งเพศผู้และเพศเมีย น้ำหนักประมาณ 150-200 กรัม จากสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ ศาเลา มหาวชิยา-ลัยมทิศ นำหนูขาวมาเลี้ยงไว้ในห้องเลี้ยงสัตว์ทดลอง ที่หน่วยสัตว์ทดลอง คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เป็นเวลา 7 วัน เพื่อให้ปรับตัวคุ้นเคยกับสภาวะแวดล้อมก่อนการทดลอง ควบคุมอุณหภูมิตลอดเวลาที่ 22 ± 3 °C เปิดและปิดไฟทุก 12 ชั่วโมง เปลี่ยนถาดรองปัสสาวะและอุจจาระหนูวันเว้นวัน ให้อาหารเม็ดมาตรฐาน และน้ำตามต้องการ

การเตรียมสารสกัดใบรางจืด

เก็บใบรางจืดจากบริเวณทางเข้าอุทยานแห่งชาติออบขาน ต.น้ำแพร่ อ.หางดง จ.เชียงใหม่ โดยเลือกเฉพาะใบที่ไม่แก่หรืออ่อนเกินไป นำมาล้างสิ่งสกปรกออกและเช็ดให้แห้ง ตากใบรางจืดในที่ร่มจนใบแห้ง และนำมาป่นให้ละเอียดเก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิห้อง นำผงใบรางจืดแห้งที่ได้สกัดด้วยน้ำร้อนที่ต้มจนเดือดในอัตราส่วน 1:10 (W/V) ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 1 ชั่วโมง แล้วกรองเอาเฉพาะส่วนน้ำด้วยผ้ากอซ 3 ชั้น และกรองอีกครั้งด้วยกระดาษกรอง Whatman No.4 นำส่วนที่กรองได้ไปทำให้แห้งด้วย เครื่อง lyophilizer เก็บใส่ขวดสีชา ใน

dessicator ที่อุณหภูมิ 4°C ก่อนนำไปใช้

การศึกษาความเป็นพิษ (Toxicity studies)

ทดสอบการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมโดยทั่วไปของหนูขาว

ทำการทดสอบนำร่องโดยให้สารสกัดใบรางจืดแก่หนูขาวขนาด 2 และ 5 กรัม/กิโลกรัม ใช้หนูขาว 2 ตัว (เพศผู้ 1 เพศเมีย 1) ต่อหนึ่งขนาด และกลุ่มควบคุม 2 ตัว (เพศผู้ 1 เพศเมีย 1) ให้น้ำในปริมาณที่เท่ากัน สังเกตอาการหลังจากให้สารสกัดใบรางจืดในเวลา 5, 15, 30 นาที และ 1, 2 และ 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นสังเกตอาการทุกวันเป็นเวลา 7 วัน พบว่าหนูขาวไม่มีพฤติกรรมผิดปกติไปจากกลุ่มควบคุม และไม่พบการเสียชีวิตของสัตว์ทดลองตัวใดเลย ดังนั้นในการทดสอบความเป็นพิษศึกษาการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมโดยทั่วไปจึงให้สารสกัดใบรางจืดแก่หนูขาวในขนาดสูง 10 กรัม/กิโลกรัม

ป้อนสารสกัดใบรางจืดขนาดสูงครั้งเดียวคือ 10 กรัม/กิโลกรัม แก่หนูขาวจำนวน 10 ตัว (เพศผู้ 5 เพศเมีย 5) เป็นกลุ่มทดสอบและมีหนูขาวกลุ่มควบคุมจำนวนเท่ากันที่ให้น้ำอย่างเดียวย สังเกตอาการที่เปลี่ยนแปลงของหนูขาวในช่วงเวลาดังนี้ 5, 15, 30 นาที และ 1, 2 และ 24 ชั่วโมง ฝ้าดูพฤติกรรมที่ผิดปกติ รวมทั้งนับจำนวนสัตว์ทดลองที่รอด สังเกตอาการ และชั่งน้ำหนักทุกวันเป็นเวลา 7 วัน หนูขาวที่ยังมีชีวิตอยู่ครบ 7 วัน ถูกนำมาทำให้สลบด้วย pentobarbital ทางช่องท้อง และผ่าซาก สังเกตความผิดปกติด้วยตาเปล่าของอวัยวะภายในทั้งหมด สังเกตอาการที่เปลี่ยนแปลงตามรายการใน standard working sheet ซึ่งดัดแปลงมาจาก standardized work sheet สำหรับการทำให้ Hippocratic screening test ของ Malone และ Robichaud (1962)

ทดสอบความเป็นพิษเมื่อให้ซ้ำสกัดใบรางจืดต่อเนื่องกันในหนูขาว (Short term repeated exposure toxicity test)

คำนวณขนาดสารสกัดใบรางจืดที่จะให้กับหนูขาวเทียบเท่ากับขนาดที่ผู้บริโภคดื่มชารางจืดจริง ๆ ใน 1 วัน โดยประมาณว่าผงใบรางจืด ในหนึ่งซองมี 1 กรัม หากดื่มชาวันละ 3 ถ้วย คิดเป็นน้ำหนัก 3 กรัม โดยประมาณ ต่อน้ำหนักเฉลี่ย 60 กิโลกรัม หรือ 50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน ผงสกัดใบรางจืดแห้งได้ yield ประมาณร้อยละ 10 ของ น้ำหนักใบรางจืดเริ่มต้น ดังนั้นใบรางจืด 50 มิลลิกรัม เมื่อนำมาสกัดแล้วได้ yield เท่ากับ 5 มิลลิกรัม ใช้ค่าความไม่แน่นอนที่อาจเกิดขึ้น (uncertainty factor) ในการกำหนดค่าความปลอดภัย (safety factor) จากความแตกต่างระหว่างคนกับสัตว์ (interspecies difference) คือ 10 และความแตกต่างระหว่าง species เดียวกัน (interindividual difference) อีก 10 มาคำนวณขนาดของสารสกัดใบรางจืดที่ให้กับหนูขาวซึ่งได้ 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

แบ่งหนูขาวออกเป็น 3 กลุ่ม ๆ ละ 24 ตัว เป็นเพศผู้ 12 ตัว เพศเมีย 12 ตัว รวม 72 ตัว กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุม ป้อนเฉพาะน้ำเป็นเวลา 28 วัน กลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มทดสอบ ป้อนสารสกัดใบรางจืดขนาด 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม เป็นเวลา 28 วัน กลุ่มที่ 3 เป็นกลุ่มศึกษาผลย้อนกลับหลังหยุดให้น้ำสกัดรางจืด หรือเรียกว่า กลุ่ม satellite โดยป้อน สารสกัดใบรางจืด ขนาด 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม เป็นเวลา 28 วัน แล้วหยุดให้ สังเกตอาการต่ออีก 14 วัน ชั่งน้ำหนักหนูทุกวันพร้อมกับสังเกตอาการ

อาการที่สังเกตคือ ลักษณะผิวหนัง ขน ตา เยื่อเมือก การหายใจ การไหลเวียนโลหิตบริเวณใบหูและเท้า ระบบประสาทอัตโนมัติและระบบประสาท

ส่วนกลาง ได้แก่อาการ ซึม ตื่นตัว ชัก และมีสารคัดหลั่งเพิ่มขึ้น รวมทั้งพฤติกรรมที่ผิดปกติ หนูขาวที่เสียชีวิตในระหว่างการทดสอบนำมาผ่าซากเพื่อศึกษาพยาธิสภาพ ส่วนหนูขาวที่ยังมีชีวิตรอดจนครบกำหนด นำมาทำให้สลบด้วย pentobarbital เก็บเลือดและผ่าซากเพื่อศึกษาดังนี้

- สังเกตลักษณะ gross pathology ซึ่งน้ำหนักอวัยวะภายในต่าง ๆ ได้แก่ ตับ ไต หัวใจ ปอด ม้าม ต่อมหมวกไต และอวัยวะสืบพันธุ์ (เพศเมียใช้ ovary เพศผู้ใช้ testis)
- ตรวจความผิดปกติของเนื้อเยื่อ (histology) โดยใช้อวัยวะภายในในสารละลาย 10% neutral-buffered formalin เพื่อ fixed เนื้อเยื่อก่อนนำไปตัดชิ้นเนื้อตรวจทางกล้องจุลทรรศน์
- ตรวจทางเคมีคลินิกด้วยการวัดปริมาณ glucose, electrolytes, BUN, creatinine, AST, ALT, alkaline phosphatase, total protein และ albumin
- ตรวจทางโลหิตวิทยาด้วยการวัดปริมาณ white blood cells, differential leukocyte counts, hematocrit และ hemoglobin

การศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์

ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์โดยวัดระดับของ malondialdehyde (MDA) โดยประยุกต์ใช้วิธีของ Santos และคณะ (1980) อาศัยหลักการที่ MDA ทำปฏิกิริยากับ thiobarbituric acid (TBA) ในซีรัมในสภาวะที่เป็นกรดเกิดเป็น MDA-TBA complex มีสีชมพูอมส้ม มีคุณสมบัติดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร

การทดสอบการกลายพันธุ์ หรือ การทดสอบเอมส์

ใช้สารสกัดรังสีความเข้มข้น 125, 250 และ 500 ไมโครกรัม/plate ทำ triplicate ทดสอบกับการทดลองที่เติมและไม่เติม S9 mix ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่แยกจากตับหนู โดยมี 2-(2-furyl-3-(5-nitro-2-furyl) acrylamide (AF-2) 0.025 ไมโครกรัม/plate เป็น positive control ในหลอดทดลองที่ไม่เติม S9 mix และใช้ 2-aminoanthracene (2-AA) ความเข้มข้น

0.5 ไมโครกรัม/plate เป็น positive control ในการทดลองที่เติม S9 mix ใช้ น้ำแทนสารสกัดไบรารังสีเป็น negative control เพื่อดู spontaneous reversion ของแบคทีเรีย *S. typhimurium* สองสายพันธุ์คือ TA98 และ TA100

เติม 0.2 M sodium phosphate buffer หลอดละ 0.5 มิลลิลิตร และ 0.1 มิลลิลิตร ของเชื้อแบคทีเรีย TA98 หรือ TA100 ตามด้วย Top agar (45 °C) 2 มิลลิลิตร เขย่าหลอดทดลองประมาณ 4-5 วินาที เทสารละลายทั้งหมดลงใน minimal glucose agar plate ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที หลอดทดลองชุดที่ 2 เติมสารละลายผสม S9 mix หลอดละ 0.5 มิลลิลิตร แทน phosphate buffer นำ plates ทั้งหมด ไปวางแบบพลิกคว่ำกลับด้าน (inverted) ในตู้บ่มอุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียด้วย stereomicroscope

สถิติที่ใช้วิเคราะห์ข้อมูล

ใช้ซอฟต์แวร์สถิติโปรแกรม SPSS 9.0 คำนวณผลแสดงเป็นค่า mean + standard deviation ($\bar{X} + S.D.$) สัตว์ทดลองที่เสียชีวิตในระหว่างการทดสอบไม่นำมารวมในการหาค่าเฉลี่ย สำหรับการเปรียบเทียบความแตกต่างของผลการทดลองระหว่างกลุ่มทดสอบกับกลุ่มควบคุมใช้ one way ANOVA ที่ระดับนัยสำคัญ $p < 0.05$ ส่วนลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยา และสัตว์ทดลองที่เสียชีวิตในระหว่างการทดสอบวิเคราะห์โดยวิธีพรรณนาความผิดปกติเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

ผลการวิจัย

การทดสอบการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมโดยทั่วไป

ผลการทดลองพบว่าไม่มีหนูขาวตัวใดมีพฤติกรรมที่ผิดปกติไปจากกลุ่มควบคุมในระยะเวลา 7 วัน เมื่อป้อนสารสกัดไบรารังสีขนาด 10 กรัม/กิโลกรัม ลักษณะการกินอาหารเม็ดมาตรฐานและน้ำ และการขับถ่ายของหนูขาวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) แม้จะมีแนวโน้มว่าหนูกลุ่มได้รับสารสกัดไบรารังสีมีน้ำหนักต่ำกว่า

Table 1. Body weight of rats after treated with Rang Chuet leave extract 10 g/kg

Group	n	Body weight (g)		
		Day 0	Day 7	%Increase
Male rats				
- control	5	168 + 14	203 + 25	17
- tested	5	165 + 18	180 + 25	8
Female rats				
- control	5	138 + 9	203 + 12	12
- tested	5	145 + 19	180 + 20	9

หนูกลุ่มควบคุม (ตาราง 1) น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นใน 7 วันของหนูขาวเพิ่มขึ้นปกติและไม่มีหนูขาวตัวใดเสียชีวิตในระหว่างการทดสอบ เมื่อผ่าซากดูอวัยวะภายในของหนูขาวด้วยตาเปล่าไม่พบความผิดปกติที่ลักษณะ สี และขนาดของอวัยวะภายใน

การทดสอบความเป็นพิษเมื่อให้น้ำสกัดใบรางจืดต่อเนื่องกัน

ลักษณะภายนอกและพฤติกรรมต่าง ๆ ของหนูขาวเมื่อได้รับน้ำสกัดใบรางจืดขนาด 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ทุกวัน ๆ ละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 28 วัน ไม่แตกต่างไปจาก กลุ่มควบคุม และไม่มีหนูขาวตัว

ใดเสียชีวิตในระหว่างการทดสอบทั้งในกลุ่มควบคุม กลุ่มให้น้ำสกัดใบรางจืด และกลุ่มศึกษาผลย้อนกลับ น้ำหนักตัวของหนูขาวกลุ่มที่ให้น้ำสกัดไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) และไม่พบความผิดปกติทางพยาธิสภาพของอวัยวะภายในของหนูขาวทั้ง 2 เพศ เมื่อสังเกตด้วยตาเปล่า แต่เมื่อนำอวัยวะภายในมาชั่งน้ำหนักพบว่าเฉพาะ น้ำหนักตับและไตของหนูขาวเพศผู้ที่ได้รับน้ำสกัดใบรางจืดมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แสดงผลในตาราง 2

Table 2. Visceral organ weight of male rats after treated with Rang Chuet leave extract 500 mg/ kg/day for 28 days

Visceral organ		Organ weight (g/100 g, mean + S.D.)	
		Control group	Tested group
Lung		0.378 + 0.09	0.388 + 0.08
Heart		0.352 + 0.03	0.357 + 0.02
Liver		3.454 + 0.17	3.743 + 0.35*
Spleen		0.230 + 0.02	0.238 + 0.02
Adrenal gland	left	0.008 + 0.00	0.008 + 0.00
	right	0.007 + 0.00	0.007 + 0.00
Kidney	left	0.417 + 0.05	0.464 + 0.03*
	right	0.411 + 0.04	0.465 + 0.04**
Prostate gland	left	0.522 + 0.03	0.525 + 0.04
	right	0.528 + 0.02	0.525 + 0.04
Number of rats		12	12

significantly difference from the control group * ($p < 0.05$) , ** ($p < 0.01$)

ผลทางโลหิตวิทยา

ตาราง 3 แสดงผลเฉพาะหนูขาวเพศผู้ที่มีค่า hematocrit (Hct), white blood cell counts (WBC) และเม็ดเลือดขาวชนิด eosinophil สูงกว่ากลุ่มควบคุม ส่วนเม็ดเลือดขาวชนิด lymphocyte มีค่าต่ำกว่ากลุ่มควบคุมเช่นเดียวกับ mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin (MCH) ในกลุ่มศึกษาผลย้อนกลับ ที่มีค่าต่ำกว่ากลุ่มควบคุม แต่มีจำนวนเม็ดเลือดขาวสูงกว่า

กลุ่มควบคุม ส่วนเพศเมียมีเฉพาะเม็ดเลือดขาว lymphocyte ของกลุ่มศึกษาผลย้อนกลับเท่านั้นที่ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม (ไม่ได้แสดงข้อมูล) นอกนั้นไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม

ผลทางเคมีคลินิก

ตาราง 4 แสดงค่า glucose และ CO₂ ของหนูขาวเพศผู้กลุ่มได้รับน้ำสกัดรางจืดที่ต่ำกว่า

Table 3. Hematological values of male rats after treated with Rang Chuet leave extract 500 mg/kg/day for 28 days

CBC	Group (mean + S.D.)		
	Control	Tested	Satellite
Hb (g/dl)	15.0 + 0.9	15.8 + 0.9	15.7 + 1.1
Hct (%)	44 + 3	47 + 2*	46 + 4
WBC (per cu.mm.)	2758 + 1079	850 + 1668**	5682 + 1956***
PMNs (%)	12 + 6	15 + 7	9 + 5
Band (%)	0 + 0	1 + 1	0 + 0
Lymphocyte (%)	87 + 6	81 + 8*	88 + 5
Monocyte (%)	0 + 0	1 + 1	1 + 1
Eosinophil (%)	0 + 0	2 + 1*	2 + 1**
MCV (fl.)	57 + 1	57 + 1	55 + 1***
MCH (pg.)	20 + 1	19 + 1	19 + 0*
MCHC (%)	34 + 1	34 + 1	34 + 1
Platelet count (x10 ³) (per cu.mm.)	858 + 118	762 + 158	740 + 156
Number of rats	12	12	11

significantly difference from the control group * p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001

MCV = mean corpuscular volume

MCH = mean corpuscular hemoglobin

Satellite group = rat received Rang Chuet leave extract 500 mg/kg/day for 28 days and stop dosing, then observed any reversal signs and symptoms for further 14 days

Table 4. Clinical blood chemistry value of male rats after treated with Rang Chuet leave extract 500 mg./kg/day for 28 days

Blood chemistry	Group (mean + S.D.)		
	Control	Tested	Satellite
BUN (mg/dl)	20.58 + 2.75	20.58 + 2.43	24.08 + 2.19**
Creatinine (mg/dl)	0.47 + 0.05	0.43 + 0.07	0.48 + 0.06
Total protein (g/dl)	5.20 + 0.37	5.18 + 0.25	5.08 + 0.33
Albumin (g/dl)	1.43 + 0.12	1.43 + 0.06	1.38 + 0.09
Globulin (g/dl)	3.77 + 0.27	3.75 + 0.22	3.71 + 0.28
Total bilirubin (mg/dl)	0.23 + 0.11	0.27 + 0.27	0.32 + 0.15
Direct bilirubin (mg/dl)	0.03 + 0.05	0.06 + 0.09	0.08 + 0.06*
AST (U/L)	97.33 + 23.03	118.42 + 29.80	108.08 + 23.99
ALT (U/L)	40.75 + 7.17	41.83 + 8.27	44.67 + 6.85
ALK (U/L)	164.75 + 42.03	165.25 + 50.83	168.58 + 25.20
Glucose (mg/dl)	143.83 + 26.44	121.17 + 25.88*	122.92 + 13.64*
Na (mmol/L)	147.25 + 6.34	145.17 + 4.04	144.25 + 1.71
K (mmol/L)	4.23 + 0.43	4.50 + 0.42	4.32 + 0.31
Cl (mmol/L)	113.67 + 5.57	112.83 + 3.79	111.08 + 2.19
CO ₂ (mmol/L)	20.58 + 3.68	18.25 + 2.14*	20.33 + 1.83
Number of rats	12	12	12

significantly difference from the control group *p<0.05, ** p<0.01

BUN = blood urea nitrogen

AST = aspartate aminotransferase

ALT = alanine aminotransferase

ALK = alkaline phosphatase

Na = sodium

K = potassium

Cl = chloride

CO₂ = carbondioxide

กลุ่มควบคุม แต่กลุ่มศึกษาผลย้อนกลับมีค่า blood urea nitrogen (BUN) และ direct bilirubin สูงกว่ากลุ่มควบคุม ผลทางเคมีคลินิกในกลุ่มหนูขาวเพศเมีย แสดงในตาราง 5 พบว่ากลุ่มให้หน้าสกัดใบรางจืดมีค่า aspartate amino transferase (AST) สูงกว่ากลุ่มควบคุมแต่ค่า chloride ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม ในกลุ่มศึกษาผลย้อนกลับมีค่า BUN, creatinine,

direct bilirubin, AST, Na และ K สูงกว่ากลุ่มควบคุม ผลทางพยาธิวิทยา

การสังเกตพยาธิสภาพด้วยตาเปล่าไม่พบความแตกต่างระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มให้หน้าสกัดใบรางจืด ทั้งสีและลักษณะของเนื้อเยื่อ ผลทางพยาธิวิทยาของชิ้นเนื้ออวัยวะภายในของหนูขาวพบว่าปกติทุกกลุ่ม และไม่มีลักษณะการเปลี่ยนแปลง

Table 5 Clinical blood chemistry values of female rats after treated with Rang Chuet leave extract 500 mg/kg/day for 28 days

Blood chemistry	Group (mean + S.D.)		
	Control	Tested	Satellite
BUN (mg/dl)	22.83 + 3.64	21.67 + 2.71	28.17 + 4.51**
Creatinine (mg/dl)	0.48 + 0.07	0.45 + 0.05	0.58 + 0.09**
Total protein (g/dl)	4.33 + 1.48	4.83 + 0.47	4.93 + 0.83
Albumin (g/dl)	1.34 + 0.26	1.46 + 0.14	1.41 + 0.25
Globulin (g/dl)	3.04 + 1.04	3.37 + 0.36	3.52 + 0.60
Total bilirubin (mg/dl)	0.27 + 0.10	0.31 + 0.21	0.38 + 0.26
Direct bilirubin (mg/dl)	0.02 + 0.04	0.06 + 0.07	0.12 + 0.06***
AST (U/L)	72.92 + 10.15	96.17 + 22.39**	102.08 + 25.62**
ALT (U/L)	37.00 + 7.64	38.25 + 5.88	40.25 + 10.46
ALK (U/L)	124.08 + 25.40	135.67 + 45.16	106.50 + 22.30
Glucose (mg/dl)	141.25 + 13.34	129.08 + 25.04	129.08 + 25.04
Na (mmol/L)	142.25 + 0.97	141.42 + 1.00	143.75 + 1.91*
K (mmol/L)	3.32 + 0.32	3.68 + 0.48	3.83 + 0.59*
Cl (mmol/L)	115.42 + 4.76	111.83 + 2.04*	117.00 + 5.34
CO ₂ (mmol/L)	18.00 + 3.67	19.00 + 2.56	16.67 + 2.27
Number of rats	12	12	12

significantly difference from the control group *p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001

สำคัญที่แสดงให้เห็นถึงการทำลายของเซลล์เนื้อเยื่อต่าง ๆ ทั้ง 2 เพศ ดังรายละเอียดต่อไปนี้

สมอง : การจัดเรียงตัวของเซลล์ในชั้น cerebral cortex ปกติ ไม่พบว่ามี การตายของเซลล์สมอง หรือมีการเกิดเนื้อเยื่อพังผืดขึ้นภายในสมอง เซลล์เยื่อช่องโพรงสมอง (ependyma) จัดเรียงตัวเป็นปกติ

ต่อมพิทูอิทารี : ทั้ง anterior และ posterior lobe รวมทั้ง intermedia ไม่มีพยาธิสภาพ รวมทั้ง endocrine cell ซึ่งเป็นส่วนประกอบในต่อมพิทูอิทารี

หัวใจ : ผนังหัวใจชั้นในมีลักษณะบางแต่ไม่พบก้อนเลือดเกาะติดกับผนังหัวใจ ชั้นกล้ามเนื้อ myocardium ไม่มีการอักเสบหรือการตาย ผนัง epicardium มีลักษณะเรียบ ไม่พบการตายของชั้นไขมันที่อยู่ที่ผนังหัวใจชั้นนอก

ปอด : เนื้อปอดอยู่ในลักษณะปกติที่ประกอบไปด้วย alveolar septae และเซลล์ pneumocyte แขนงหลอดลมและเส้นเลือดในปอดไม่พบว่ามีเลือดออกหรือสารคัดหลั่งไปอุดตัน

ตับ : ไม่พบความผิดปกติของเนื้อเยื่อและการ

จัดเรียงตัวของเนื้อเยื่อของตับ ไม่พบว่ามีการตายของเซลล์ตับและ Kupffer's cell ไม่พบเซลล์ซึ่งแสดงถึงการอักเสบและการคั่งของน้ำดีภายในตับ พบการสะสมของไขมันอยู่ในเนื้อเยื่อปริมาณเล็กน้อย โดยมีลักษณะเป็นไขมันสะสมอยู่ในเนื้อเยื่อทั้งในกลุ่มควบคุมและกลุ่มให้ น้ำสกัดใบรางจืด แต่ลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่เห็นไม่มีความสำคัญทางพยาธิวิทยา

ตับอ่อน : ลักษณะโครงสร้างที่เป็นท่อประกอบด้วย intralobular และ interlobular duct อยู่ในลักษณะปกติ และ Islets cell อยู่กระจัดกระจายอย่างเป็นระเบียบและมีขนาดเท่า ๆ กัน

ทางเดินอาหาร : ในแต่ละส่วนของทางเดินอาหารพบเนื้อเยื่อชั้นในของทางเดินอาหารอยู่ในสภาพปกติ แต่ต่อมที่ทำหน้าที่หลั่งสารคัดหลั่งต่าง ๆ ภายในท่อทางเดินอาหารมี plasma cell แทรกซึมอยู่จำนวนเล็กน้อย เนื้อเยื่อน้ำเหลืองภายในผนังท่อทางเดินอาหารส่วน ileum และ colon รวมทั้งผนังชั้นกล้ามเนื้อของท่อทางเดินอาหารอยู่ในลักษณะปกติ

ม้าม : ไม่พบการทำลายของเซลล์หรือการติดสีที่ผิดปกติในส่วนของ red pulp และส่วน white pulp ลักษณะเส้นเลือดที่อยู่ในบริเวณนี้มีลักษณะปกติ

ไต : เยื่อหุ้มไตอยู่ในลักษณะปกติ บริเวณ renal cortex มีเลือดคั่งอยู่เล็กน้อย ไม่พบการทำลายที่เฉพาะเจาะจงของเซลล์ในชั้น tubulointerstitium ไม่พบมีการแทรกซึมที่ผิดปกติของเซลล์ ลักษณะท่อไตซึ่งเป็นส่วนประกอบของ renal medulla ปกติ

ต่อมหมวกไต : ทั้งต่อมหมวกไตชั้นนอกและชั้นในแยกออกจากกันได้อย่างชัดเจน เซลล์ของต่อมหมวกไตชั้นในมีจำนวนค่อนข้างมากและมี cytoplasmic granule จำนวนมาก เนื้อเยื่อชั้น zona fasciculata ของ adrenal cortex มีการจัดเรียงตัวอย่างปกติ มี fat granule จำนวนมาก และไม่มีการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ที่บ่งชี้ว่ามีการทำลายหรือการเพิ่มจำนวนของเซลล์มากขึ้นกว่าปกติ

ต่อมธัยรอยด์ : thyroid lobule ประกอบไปด้วย

เซลล์ขนาดเล็กเรียงตัวกันเป็นทรงกลมและมีของเหลวอยู่ภายใน ส่วน fibromuscular septae มีลักษณะบางและบวมเล็กน้อย

มดลูก : ไม่พบมีการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อหลอดมดลูกทั้งสองข้าง และช่องภายในโพรงมดลูกบุอยู่ด้วยเซลล์ชนิด simple columna และ stroma ในส่วนลึกของเนื้อเยื่อมดลูกประกอบด้วย endometrial glands และ hyalinized stromal cells ชั้น myometrium อยู่ในลักษณะปกติ พบว่ามีการแทรกซึมของเซลล์ประเภท granulocytes และ eosinophile จำนวนเล็กน้อยอยู่ในชั้น endometrium

รังไข่ : ไม่พบว่ามียาพิษสภาพในรังไข่ พบถุง follicles ที่มีขนาดแตกต่างกันที่ประกอบไปด้วย corpora lutea และ theca cells พบเซลล์ของไข่อยู่ภายในรังไข่ มีการเจริญในระยะต่าง ๆ เป็นปกติ

อวัยวะและส่วนประกอบ : อวัยวะทั้งสองข้างมีลักษณะเหมือนกัน พบกระบวนการสร้างสเปิร์มตามปกติ มี spermatozoa จำนวนมากในท่อ epididymis ต่อมลูกหมากและท่อเก็บตัวอสุจิปกติ

ผลการศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์

ตาราง 6 แสดงผลการทดลองที่พบว่าระดับ MDA ในซีรัมของหนูขาวกลุ่มศึกษาผลย้อนกลับของหนูเพศผู้ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม แต่ระดับของ MDA ในซีรัมของหนูขาวเพศเมียไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติทั้งในกลุ่มให้ น้ำสกัดใบรางจืด และกลุ่มศึกษาผลย้อนกลับเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

ผลการศึกษาความเป็นพิษต่อยีน

ตาราง 7 แสดงจำนวน mutant colonies ของแบคทีเรียที่ไม่แตกต่างจาก negative control

วิจารณ์ผลการทดลอง

ร่างจืดที่นำมาใช้ในการวิจัยครั้งนี้เป็นร่างจืดที่ขึ้นเองตามธรรมชาติโดยนำเฉพาะส่วนของใบมาใช้ และสกัดด้วยน้ำร้อน แตกต่างจากวิธีสกัดในการวิจัยของ Chanawirat (2000) ซึ่งใช้เมทานอล 80%

Table 6. Malondialdehyde (mM) level in rat's serum

Sex	Group (mean + S.D.)		
	Control	Tested	Satellite
Male	24.75+6.12	24.42+6.67	15.68+2.52***
Female	17.90+4.76	19.08+2.48	17.32+2.53
Number of rats	12	12	12

*** significantly difference from the control group ($p < 0.001$)

Control group = rats were orally dosed with water (vehicle) for 28 days

Tested group = rats were orally dosed with Rang Chuet leave extract 500 mg/kg/day for 28 days

Satellite group = rats were orally dosed with 500 mg/kg/day of Rang Chuet leave extract for 28 days and stop dosing, then observed the reversal signs and symptoms for a further 14 days

Table 7. Number of mutant colonies of *S. typhimurium* after treated with Rang Chuet leave extraction various doses with (+) and without (-) S9 mix activation

Rang Chert leave extract ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	Number of revertant colonies (His ⁺) in TA 98/plate		Number of revertant colonies (His ⁺) in TA 98/plate	
	+S9	-S9	+S9	-S9
Water	42 + 13	33 + 5	179 + 26	189 + 16
125	40 + 11	26 + 12	192 + 28	194 + 27
250	37 + 8	29 + 4	177 + 19	168 + 16
500	41 + 17	29 + 6	150 + 22	180 + 14
1,000	38 + 8	35 + 6	170 + 24	182 + 18
DMSO	47 + 18	32 + 8	166 + 29	165 + 16
2-AA 0.5	545 + 151	-	912 + 294	-
AF-2 0.025	-	357 + 37	-	1772 + 583

Data expressed as mean + S.D. which was an average of colonies / 6 plates / 1 dose

S9 mix = mixture of microsomal and cytosol enzymes which were necessary for bioactivation

2-AA = 2-aminoanthracene was positive control for activated reaction

AF-2 = 2-(2-furyl-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide was positive control for non-activated reaction

DMSO = dimethyl sulfoxide was diluent for 2-AA and AF-2

ส่วนในงานวิจัยของบุษบง (2521) ใช้ใบรางจืดสด และ
สุรียันต์ (2535) ใช้ทั้งใบรางจืดสดและใบแห้ง
งานวิจัยครั้งนี้ทำการทดสอบความเป็นพิษในหนูขาว
โดยการป้อนทางปากเพื่อให้คล้ายกับการดื่มชารางจืด
ในผู้บริโภค

การให้น้ำสกัดใบรางจืดขนาด 10 กรัม/กิโลกรัม
เป็นขนาดที่สูงมากสำหรับการทดสอบความเป็น
พิษแบบเฉียบพลัน เพื่อสังเกตการเปลี่ยนแปลง
พฤติกรรมโดยทั่วไปของหนูขาว ถ้าขนาดของสาร
ที่ใช้ทดสอบสูงกว่า 5 กรัม/กิโลกรัม ไม่ก่อให้เกิดการ

ตายในสัตว์ทดลองถือว่าสารนั้นไม่มีพิษ จากการแบ่งแยกประเภทของสารพิษชนิดต่าง ๆ โดยให้ทางปากและใช้ค่า LD₅₀ เป็นตัวกำหนดตาม Organization for Economic Co-operation and Development (OECD, 1987) ซึ่งขนาดที่มากที่สุดที่กำหนดว่าไม่ต้องระบุ (no label) คือ 2 กรัม/กิโลกรัม ดังนั้นสารสกัดใบรางจืดที่ให้ในขนาด 10 กรัม/กิโลกรัม ไม่เปลี่ยนแปลงพฤติกรรมทั่วไปและไม่ก่อให้เกิดการตายในหนูขาว แสดงให้เห็นว่ารางจืดเป็นสารที่ไม่อันตรายต่อหนูขาวเมื่อได้รับขนาดสูงในระยะเวลาสั้น และไม่มีความหมายของน้ำสกัดใบรางจืดที่ทำให้หนูขาวเสียชีวิต (lethal dose)

การทดสอบความเป็นพิษในหนูขาวต่อเนื่องกันเป็นระยะเวลา 28 วัน ได้ประมาณการจากปริมาณการบริโภคที่คล้ายการดื่มชารางจืดใน 1 วัน แสดงผลทางโลหิตวิทยาและผลทางเคมีคลินิกโดยรวมให้เห็นว่าน้ำสกัดใบรางจืดเมื่อบริโภคเป็นระยะเวลานานอาจมีผลต่อตับและไตของหนูขาว

Glucose มีค่าลดลงทั้งในกลุ่มให้สารสกัดและกลุ่ม satellite กลไกของการลดลงของ glucose นี้ยังไม่ทราบแน่ชัด ผลการวิจัยครั้งนี้สอดคล้องกับผลการวิจัยของสุริยันต์ (2535) ที่พบว่าสารสกัดใบรางจืดสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดของหนูขาวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่มีผลต่อระดับน้ำตาลในเลือดของหนูขาวกลุ่มที่เป็นเบาหวาน

ผลทางเคมีคลินิกของหนูขาวเพศเมียในกลุ่ม satellite ค่า BUN และ creatinine สูงกว่ากลุ่มควบคุม ซึ่งอาจจะมีผลของการลดลงของการทำงานของไตแต่โครงสร้างของไตไม่เปลี่ยนแปลงให้เห็นเมื่อตรวจพิสูจน์ทางพยาธิวิทยา จึงอาจแปลผลได้เช่นเดียวกับในกลุ่มหนูขาวเพศผู้ว่าในกลุ่ม satellite ที่พบว่าหนูขาวมีขนาดไตขึ้น การกินอาหารหรือกินโปรตีนจึงมากขึ้นตามขนาดของร่างกาย ดังนั้นการสร้าง BUN จึงมากขึ้นตามไปด้วย อย่างไรก็ตามการที่ค่า BUN และ creatinine ที่เพิ่มขึ้นต้องตระหนักว่าน้ำสกัดใบรางจืดอาจมีผลต่อหน้าที่การทำงานของ

ไตแบบ delayed effect ได้

MDA เป็นผลผลิตของปฏิกิริยา oxidation ของ lipid membrane ที่มีอยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์และองค์ประกอบของ เซลล์ทุกเซลล์จากอนุมูลอิสระ ซึ่งเกิดขึ้นตลอดเวลาที่ภาวะปกติในระดับหนึ่ง การที่น้ำสกัดใบรางจืดไม่ทำให้ระดับ MDA แตกต่างจากกลุ่มควบคุม แสดงว่าน้ำสกัดใบรางจืดไม่ทำให้ lipid membrane เสียหายจึงไม่เป็นพิษต่อเซลล์ผ่านกลไกการเกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation ในกลุ่ม satellite ระดับ MDA ลดลง ได้ผลในทำนองเดียวกับผลการวิจัยของสกุรัตน์และคณะ (2543) ที่ใช้สารสกัดใบรางจืดลดพิษพาราควอท โดยสามารถลดเปอร์เซ็นต์การตายและลดระดับ MDA ในหนูกลุ่มที่ได้รับพิษพาราควอทได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ถึงแม้ว่าจำนวน mutant colony ของแบคทีเรีย *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 และ TA100 ที่เกิดหลังได้รับน้ำสกัดใบรางจืดไม่แตกต่างจาก spontaneous revertant colony แต่ก็มีแนวโน้มให้เห็นว่าจำนวน mutant colony ลดลงแม้จะไม่ลดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทำให้คาดว่าน้ำสกัดใบรางจืดอาจมีผลช่วยต้านฤทธิ์การกลายพันธุ์ของแบคทีเรียได้

สรุปผลการวิจัย

การศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่า น้ำสกัดใบรางจืดในขนาด 10 กรัม/กิโลกรัม ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมโดยทั่วไปและไม่ก่อให้เกิดการตายในหนูขาว รวมทั้งไม่มีผลต่อน้ำหนักตัว แต่น้ำสกัดใบรางจืดในขนาด 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม อาจมีผลต่อตับ ไตและระบบเลือดของหนูขาวหากบริโภคเป็นระยะเวลานาน

น้ำสกัดใบรางจืดไม่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อของอวัยวะภายในของหนูขาวทั้ง 2 เพศ และไม่ก่อให้เกิดพิษต่อเซลล์เนื่องจากไม่เหนี่ยวนำให้เกิดอนุมูลอิสระและมีแนวโน้มว่าอาจมีฤทธิ์ช่วยลดความเป็นพิษต่อเซลล์มากกว่า

ก่อให้เกิดพิษ นอกจากนี้ น้ำสกัดใบรางจืดในความเข้มข้น 2.5, 5, 10 และ 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ไม่สามารถเหนี่ยวนำให้เกิด mutation ของยีนแบคทีเรีย *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 และ TA100

จากผลของการวิจัยนี้พบว่าน้ำสกัดใบรางจืดมีความเป็นพิษเพียงเล็กน้อยต่อหนูขาว แต่การจะสรุปถึงความเป็นพิษในคนนั้นต้องมีการศึกษาให้ละเอียดขึ้นต่อไป ดังนั้นผลของการวิจัยนี้จึงเป็นข้อมูลเบื้องต้นให้กับผู้บริโภคทราบว่า การดื่มชารางจืดไม่เป็นพิษทันทีทันใด แต่การดื่มในระยเวลานานอาจมีผลต่อตับ ไต และระบบเลือด อย่างไรก็ตามงานวิจัยครั้งนี้ยังไม่ได้ศึกษาฤทธิ์ของน้ำสกัดใบรางจืดแบบเรื้อรัง ซึ่งหากได้มีการศึกษาเพิ่มขึ้นอาจได้ข้อมูลที่น่าสนใจมากกว่านี้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากกองทุนพัฒนาคณะแพทยศาสตร์ ส่วนส่งเสริมการวิจัยประจำปี 2545

เอกสารอ้างอิง

ชะลอ อุกฤษภานัน. ยาสมุนไพรกับโรคในประเทศเขตร้อนและวิธีการบำบัดรักษา. กรุงเทพฯ: แพทย์พิทยาอินเตอร์เนชั่นแนล, 2519: 244-52.

บุษบง จำเริญดารารัตน์. ผลของน้ำสกัดใบรางจืด ต่ออูณหภูมิจากร่างกาย. บทคัดย่อการประชุมวิชาการ เรื่องวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเพื่อการพัฒนาภาคเหนือ, คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 2521.

พินดา ใหญ่ธรรมสาร. รางจืด. จุลสารข้อมูลสมุนไพร, 2542; 16(1): 4-7.

พานี เตชะเสน, ชัชวดี ทองทาบ. การทดลองใช้รางจืดแก้พิษยาฆ่าแมลง. เชียงใหม่เวชสาร 2523; 19(2): 105-14.

วุฒิ วุฒิธรรมราช. สารานุกรมสมุนไพรไทย. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, 2540: 390.

วิทย์ เทียงบุญธรรม. พจนานุกรมสมุนไพรไทย. พิมพ์ครั้งที่ 4, กรุงเทพฯ: อักษรพิทยา, 2539: 676-7.

วีระยุทธ จิตผิงงาม. การศึกษาสารประกอบรางจืด. วิทยานิพนธ์วิจัยวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (การสอบเคมี) มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 2522.

วีระวรรณ เรื่องยุทธการณ. การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของใบรางจืด. วิทยานิพนธ์การวิจัยวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เภสัชวิทยา) มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 2523.

ศิริวรรณ ศิลปสุวรรณ. การศึกษาผลของสมุนไพรบางชนิดต่อการเจริญของแบคทีเรียบางอย่างในตระกูล Enterobacteriaceae. วิทยานิพนธ์การวิจัยวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (การสอบชีววิทยา) มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 2522.

สุรียนต์ ปินเครือ. ผลของใบสมุนไพรรางจืด (*Thunbergia laurifolia* Linn.) ต่อระดับน้ำตาลในเลือด. รายงานปัญหาพิเศษ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล 2535: 80-101.

เสงี่ยม พงษ์บุญรอด. ไม่เทศเมืองไทย. กรุงเทพฯ: การพิมพ์ไชยวัฒน์, 2508: 465-6.

สุพร จารุมณี และคณะ. รายงานการวิจัยเรื่องการพัฒนายาทาภายนอกสำหรับต้านการอักเสบจากเถารางจืด ตอนที่ 1. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 2541: 1-4.

Chanawirat A. The protective effect of *Thunbergia laurifolia* extract on ethanol-induced hepatotoxicity in mice. Master of Science Thesis, Mahidol University 2000.

Kongyingyos B, Plentong C, Ekalaksananan T, et al. Antiviral activity of Thai medicinal herbs on herpes simplex virus. 16th Conference on Science and Technology of Thailand 25-27 October 1990.

Malone MH, Robichaud RC. A hippocratic screen for pure or crude drug materials. *Lloydia* 1962; 25: 320-32.

OECD guideline for testing of chemicals, No. 401: acute oral toxicity, Paris: organisation for economic cooperation and development, 1987.

Purina GPC. Coloring matters from flower of *Thanbergia laurifolia*. J Indian Chem Soc 1978; 55: 622.

Santos MT, Valles J, Aznar J, Vilches J. Determination of plasma malondialdehyde-like material and clinical application in stroke patients. J Clin Pathol 1980; 33: 973-6.