

ภาคผนวก 13 : รายงานวิจัย เรื่อง การศึกษาความเป็นพิษแบบเฉียบพลันและเรื้อรัง
ของสมุนไพรที่ใช้เป็นยาต้านจุลชีพในผู้ป่วยโรคเอดส์

รายงานผลการวิจัย

เรื่อง

การศึกษาความเป็นพิษแบบเฉียบพลันและกึ่งเรื้อรังของสมุนไพรมะเขือเทศที่ใช้เป็นยาต้านจุลชีพในผู้ป่วยโรคเอดส์

ผศ. นพ. วีรวัฒน์ มหัทธนะตระกูล* รศ. ดร. สนั่น สุภธีรสกุล# ผศ. นิติศา บำรุงวงศ์*
ภญ. พีรรัชต์ ไทยนะ* ผศ. ภญ. มานินี วงศ์นาวา* รศ. นพ. ภก. วิบูลย์ ฤทธิพิศ*
ดร. นสพ. สุรีย์ ชาตวิทย์งาม** ผศ. นพ. อนุพงศ์ นิตีเรืองจรัส***

บทคัดย่อ

สมุนไพรมะเขือเทศต้านเชื้อจุลชีพ ทั้งแบบที่เรื้อรัง และเฉียบพลัน ได้รับการศึกษากันอย่างแพร่หลาย อย่างไรก็ตาม การศึกษาถึงความเป็นพิษของสมุนไพรมะเขือเทศเหล่านี้มีน้อยมาก คณะผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาความเป็นพิษแบบเฉียบพลันและกึ่งเรื้อรังของสารสกัดจากสมุนไพรมะเขือเทศต้านเชื้อจุลชีพคือข่าในหนูขาว โดยการป้อนสารสกัดของสมุนไพรมะเขือเทศให้หนูขาวทางปาก พบว่าขนาดของสารสกัดจากข่าด้วย chloroform ที่ทำให้หนูขาวตายร้อยละ 50 (LD₅₀) ในหนูขาวเพศผู้ คือ 3,200 มก./กก. ส่วนในหนูขาวเพศเมียคือ 6,300 มก./กก. การศึกษาความเป็นพิษแบบกึ่งเรื้อรังในหนูขาวเพศผู้และเพศเมีย แบ่งหนูออกเป็นเพศละ 3 กลุ่ม คือ กลุ่มควบคุม (ป้อนสารละลาย gum arabic) กลุ่มทดลองที่ป้อนสารสกัดจากข่าขนาด 24 มก./กก./วัน และ 240 มก./กก./วัน (ขนาดประมาณ 10 และ 100 เท่าของขนาดที่คนรับประทาน) ติดต่อกันเป็นเวลา 3 เดือน ผลการศึกษาพบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากข่าในขนาด 24 มก./กก./วัน มีอัตราการเจริญเติบโตและการกินอาหารไม่ต่างจากกลุ่มควบคุมทั้ง 2 เพศ แต่หนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากข่าในขนาด 240 มก./กก./วัน มีอัตราการเจริญเติบโตและการกินอาหารลดลง อย่างไรก็ตามไม่พบความผิดปกติทางด้านพฤติกรรมในหนูที่ได้รับสารสกัดจากข่าทุกกลุ่ม ผลการตรวจทางชีวเคมีของเลือดและโลหิตวิทยาไม่พบความแตกต่างระหว่างกลุ่ม ยกเว้นมีการเพิ่มขึ้นของระดับเอนไซม์จากตับในหนูขาวเพศเมียที่ได้รับสารสกัดจากข่าในขนาด 240 มก./กก./วัน ผลการตรวจทางจุลพยาธิวิทยาของอวัยวะภายในของหนูขาวเพศเมียที่ได้รับสารสกัดจากข่าขนาด 24 มก./กก./วัน วันละครั้งเป็นเวลา 3 เดือน พบพยาธิสภาพที่ตับในระดับเกรด 1 จำนวน 2 ตัว จาก 10 ตัว (20 %) และ พบกรวยไตอักเสบเรื้อรังเฉพาะที่ (Focal chronic pyelonephritis) 1 ตัว จาก 10 ตัว (10%) แต่ไม่พบพยาธิสภาพในหนูขาวที่ได้รับสารสกัดจากข่าในขนาด 240 มก./กก./วัน ส่วนในหนูขาวเพศผู้พบพยาธิสภาพที่หัวใจ คือกล้ามเนื้อหัวใจอักเสบเฉพาะที่ (Focal myocarditis) ในหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากข่าในขนาด 24 มก./กก./วัน กลุ่มละ 1 ตัว จาก 10 ตัว (10%) และ 15 ตัว (6.7%) ตามลำดับ แต่ไม่พบพยาธิสภาพในหนูทดลองที่ได้รับสารสกัดจากข่าในขนาด 240 มก./กก./วัน

โดยสรุป การศึกษานี้พบว่าหนูขาวเพศผู้มีโอกาสเสี่ยงต่อพิษแบบเฉียบพลันจากสารสกัดจากข่ามากกว่าหนูขาวเพศเมีย แต่ไม่มีความแตกต่างกันในด้านพิษแบบเรื้อรัง และไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของสารสกัด

กับความเป็นพิษแบบเรื้อรัง อย่างไรก็ตามการใช้สารสกัดดังกล่าวเพื่อต้านจุลชีพควรให้ในขนาดที่ใช้ตามปกติในชีวิตประจำวัน.

- * ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
- # ภาควิชาเภสัชเวช คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
- ** ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
- *** ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

Abstract

Antibacterial and antifungal activities against the infections in HIV infected patients of some Thai medicinal plants have been widely studied. However, their toxicity studies are quite rare. The objectives of this study are to study both acute and subchronic toxicity of the lead traditional medicines that have been shown to have antibacterial or antifungal activities such as "Galanga" in rats. In acute toxicity study, the LD50 of the chloroform extract of Galanga given orally in male and female rats were 3,200 and 6,300 mg/kg respectively. For the subchronic toxicity study, 40 rats per each sex were divided into 3 groups. The control group received 5% gum arabic (as vehicle of the extract) by orally intubation and the two treatment groups received chloroform extract of Galanga at the dose of 24 and 240 mg/kg/day (equivalent to about 10 and 100 times of routinely used) for 3 months. The result of the study has shown that the body weight gain and food consumption were significantly reduced in the rats (of both sexes) that received the extract at the dose of 240 mg/kg/day. Anyway, there was no abnormal behavior detected. Histopathological finding has shown some histological changes which were not related to the concentration of the extract and should be just incidental finding. In conclusion, there was no correlation between the dose and toxicity of the Galangal extract. Therefore, Galanga should be considered safe if it is used as in daily life.

บทนำ

การใช้สมุนไพรไทยเป็นยาเป็นภูมิปัญญาไทยที่มีการใช้ทั่วทุกภูมิภาคและมีประวัติการใช้มาเป็นเวลานาน แต่อย่างไรก็ตาม การใช้สมุนไพรไทยก็จำกัดอยู่ในวงแคบ และไม่ได้ได้รับความนิยมในการใช้ ทั้งนี้ อาจมีหลายเหตุผล เช่น รูปแบบของยาขาดต่อการใช้, ส่วนผสมไม่แน่นอน, แหล่งที่มาของยาสมุนไพรที่แตกต่างกัน หรือ ฤดูกาลที่ต่างกัน อาจมีผลต่อองค์ประกอบของยาและผลในการรักษา ความไม่แน่ใจในประสิทธิภาพและความปลอดภัยในการใช้ เป็นต้น ประชาชนทั่วไป รวมทั้งบุคลากรทางการแพทย์จึงนิยมใช้ยาแผนปัจจุบันมากกว่า อย่างไรก็ตาม หลังจกมีการวิจัยพัฒนายาสมุนไพร ประกอบกับมีการส่งเสริมจากภาครัฐ และภาวะเศรษฐกิจที่ตกต่ำ จึงส่งผลให้ประชาชนเริ่มหันมาให้ความสนใจสมุนไพรหรือผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติมากขึ้น ไม่เพียงเฉพาะในประเทศไทยเท่านั้น แต่มีความตื่นตัวในการใช้สมุนไพรทั่วโลก สำหรับในประเทศไทย มีการผลิตผลิตภัณฑ์จากพืชสมุนไพรขึ้นมาจำหน่ายกันอย่างแพร่หลายทั้งในประเทศ และ ยังมีการส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศอีกด้วย ซึ่งเป็นผลดีต่อประเทศ เพราะช่วยนำเข้าเงินตราต่างประเทศเข้าสู่ประเทศด้วย

ปัจจุบัน ปัญหาสาธารณสุขระดับโลกคือ โรคเอดส์ซึ่งเกิดจากการติดเชื้อ human immunodeficiency virus (HIV) และปัญหาที่ติดตามมาในผู้ป่วยเหล่านี้คือ การติดเชื้อฉวยโอกาสชนิดต่างๆ เช่น วัณโรคปอด ปอดบวมจากเชื้อ *Pneumocystis carinii* (PCP) หรือ เชื้อรา เป็นต้น ซึ่งจำเป็นต้องได้รับการรักษาติดต่อกันเป็นเวลานาน และใช้งบประมาณในการรักษาพยาบาลจำนวนมาก แต่หากเราสามารถพัฒนายารักษาโรคเหล่านี้ได้เองจากยาสมุนไพรไทย นอกจากจะสามารถลดการนำเข้ายาจากต่างประเทศที่มีราคาแพงและลดการพึ่งพิงต่างชาติแล้ว ยังสามารถส่งออกและนำเงินตราต่างประเทศอีกด้วย อันจะเป็นช่องทางในการช่วยฟื้นฟูเศรษฐกิจของประเทศได้อีกทางหนึ่ง

อย่างไรก็ตาม “สมุนไพร” นั้นอาจมีทั้ง “คุณ” และ “โทษ” กล่าวคือ นอกจากจะมีฤทธิ์ในการรักษาโรคต่างๆแล้ว หากใช้ไม่ถูกต้อง หรือ ไม่เหมาะสม อาจก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้ใช้ได้เช่น การใช้มะเกลือในการถ่ายพยาธิแล้วพบว่าทำให้ตาบอด หรือในกรณีของสมุนไพร “จีเหล็ก” ซึ่งมีสรรพคุณที่เขียนกำกับไว้ว่าช่วยระบายท้อง ทำให้นอนหลับ ช่วยเจริญอาหาร และคลายเครียดด้วย โดยผลิตและจำหน่ายในรูปแบบของยาเม็ด และองค์การเภสัชกรรมฯให้การรับรองแล้ว ยาสมุนไพรนี้ออกวางจำหน่ายในเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2540 และได้รับความนิยมใช้กันอย่างมาก แต่ต่อมามีรายงานว่ายาสสมุนไพรนี้ทำให้เกิดผลข้างเคียง คือตับอักเสบเฉียบพลัน โดยพบผู้ป่วยอย่างน้อย 9 ราย ในปี พ.ศ. 2542 โดยผลข้างเคียงนี้ได้รับการประเมินอยู่ในระดับตั้งแต่ probable จนถึงขั้น definite ตามเกณฑ์มาตรฐานการวินิจฉัย หรือ DILI (drug induced liver injury) scale ดังนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องทำการศึกษาวิจัยอย่างละเอียดถี่ถ้วนและระมัดระวัง ทั้งในด้านประสิทธิภาพในการรักษา และความเป็นพิษ ทั้งแบบเฉียบพลัน และเรื้อรังก่อนที่จะนำยาสมุนไพรมาใช้ในการรักษาโรคต่างๆกันอย่างแพร่หลาย รวมทั้งเฝ้าติดตามผลหลังจากยาได้ออกจำหน่ายสู่ท้องตลาดแล้วด้วย

ในการศึกษารครั้งนี้เลือกศึกษาเฉพาะขานเนื่องจากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพของ รศ. ดร. เสาวลักษณ์ พงศ์ไพจิตร และคณะ พบว่าสารสกัดจากข่าด้วย chloroform มีฤทธิ์ต้านเชื้อรา *P. marneffei* และ *M. gypseum* ดีที่สุด โดยมีค่า EC50 และ MIC เท่ากับ 180.2 และ 16 µg/ml ตามลำดับ นอกจากนี้ยังสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ATCC25923 และ MRSA ได้ดีที่สุด โดยมีค่า MIC 128 และ 256

µg/ml ตามลำดับ และมีค่า MBC เท่ากับ 256 µg/ml นอกจากนี้สารสกัดจากข่ายังมีฤทธิ์ต้านโปรโตซัว *Entamoeba histolytica* อีกด้วย

ข่า (Galanga) เป็นพืชสมุนไพรที่มีถิ่นกำเนิดในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น ไทย ศรีลังกา อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ อินเดีย เป็นต้น เป็นพืชในวงศ์ Zingiberaceae มีชื่อทางวิทยาศาสตร์คือ *Alpinia galanga* (Linn.) Swartz., *Languas galanga* (Linn.) Stuntz. ข่าเป็นไม้ล้มลุก ลำต้นเป็นก้านกลมแข็ง ใบสีเขียวแก่หนา มีดอกจากกอขึ้นไปเป็นช่อใหญ่สีขาวอมม่วงแดง ข่ามีสรรพคุณด้านแบคทีเรีย และเชื้อราโดยใช้รักษาโรคผิวหนัง กลากเกลื่อน (Shaiphanich C et al) สารสำคัญที่ออกฤทธิ์ต้านเชื้อราคือ 1'-acetoxychavicol acetate และ 1'-acetoxyeugenol acetate (Jassen AM and Scheffer JJC) และใช้ลดอาการท้องอืดเพื่อ ขับลม (Ross MSF and Brain KR) เนื่องจากข่ามีน้ำมันหอมระเหยที่มีฤทธิ์ขับลม โดยพบ eugenol ซึ่งมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียในลำไส้ที่เป็นสาเหตุของอาการแน่นจุกเสียด (Okazaki K and Oshima S.) และ eugenol ในข่ายังมีฤทธิ์ขับน้ำดีซึ่งช่วยย่อยอาหารได้ (Yamahara et al).

สัตว์ทดลอง สารสกัด วิธีการศึกษา

สัตว์ทดลอง

หนูขาว (rat) พันธุ์วิสตาร์ จากสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล และสถานสัตว์ทดลอง คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ น้ำหนัก เริ่มต้นประมาณ 150 กรัม เลี้ยงในกรงเดี่ยว ในห้องสัตว์ทดลองที่ควบคุมอุณหภูมิห้องที่ 22 ± 3 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 40-70 % ควบคุมการเปิด ปิด ไฟฟ้าอัตโนมัติช่วงละ 12 ชั่วโมง ให้อาหารสำเร็จรูปและน้ำประปาโดยไม่จำกัดปริมาณ

สารสกัด

สกัดข่า (เหง้า) ด้วย chloroform ทำสารสกัดให้แห้ง ได้สารสกัดเข้มข้น (yield) 0.82 %

วิธีการศึกษา

การทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลัน

แบ่งหนูขาวทั้งเพศผู้และเพศเมีย เป็น 5 กลุ่มๆละ 8 ตัว กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุมซึ่งให้สารละลาย gum arabic 5 % กลุ่มที่ 2 3 4 และ 5 ให้สารสกัดจากข่า ในขนาด 1 2.5 5.0 10 และ 15 กรัม/กก. โดยการป้อนทางปาก (oral intubation) หลังจากให้สารสกัดแล้ว สังเกตอาการของสัตว์ทดลองประมาณ 1 ชั่วโมง หากสัตว์ทดลองตายจะทำ necropsy ทันที เพื่าสังเกตสัตว์ทดลองเป็นเวลา 7 วัน บันทึกจำนวนสัตว์ทดลองที่ตายภายใน 7 วัน แล้วนำไปคำนวณหาค่า lethal dose 50 % (LD_{50}) ตามวิธีของ Litchfield & Wilcoxon (1949)

การทดสอบพิษกึ่งเรื้อรัง

แบ่งหนูขาวทั้งเพศผู้และเพศเมีย เป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มควบคุม 10 ตัว ให้สารละลาย gum arabic 5 % กลุ่มที่ 2 ให้สารสกัดจากข่าในขนาด 24 มก/กก/วัน (ขนาดประมาณ 10 เท่าของขนาดที่รับประทานในคน) และกลุ่มที่ 3 ให้สารสกัดจากข่าในขนาด 240 มก/กก/วัน (ขนาดประมาณ 100 เท่าของขนาดที่รับประทาน) ทุกวัน ติดต่อกันเป็นเวลา 3 เดือน สังเกตพฤติกรรมสัตว์ทดลองหลังจากป้อนสารสกัด หากสัตว์ทดลองตายจะทำ necropsy (gross observation) ทันที

เมื่อครบกำหนด 3 เดือน เก็บตัวอย่างเลือดโดยเจาะจากหัวใจโดยตรง (heart puncture) เพื่อส่งตรวจเลือดทางโลหิตวิทยา (hematology :CBC) และทางชีวเคมี (blood chemistry : FBS, BUN, Cr, SGOT, SGPT, alkaline phosphatase, cholesterol, triglyceride, direct bilirubin, total bilirubin, total protein, albumin และ uric acid)

เก็บอวัยวะที่สำคัญ คือ ตับ ไต หัวใจ ปอด ม้าม กระเพาะอาหาร ลำไส้เล็ก ลำไส้ใหญ่ ตับอ่อน และ อัณฑะ หรือ มดลูก และ รังไข่ เพื่อส่งตรวจจุลพยาธิวิทยา (histopathology)

ผลการศึกษา

การศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันของสารสกัดจากข่า

พบว่าขนาดของสารสกัดจากข่า (ด้วย chloroform) ที่ทำให้หนูขาวเพศผู้ตายร้อยละ 50 (LD_{50}) คือ 3,200 มก./กก. ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การศึกษาความเป็นพิษแบบเฉียบพลัน (acute toxicity) ของสารสกัดจากข่า (chloroform extract) ในหนูขาวเพศผู้โดยการกรอกสารสกัดทางปาก

น้ำหนัก(ก) (Mean± SD)	Dose (mg/kg)	Log dose (mg/kg)	Death/N	Observed % Death	LD50 (mg/kg)
236.2 ± 3.2	0	-	0/8	0	3,200
234.8 ± 6.9	1,000	3	0/8	0	
222.1 ± 3.7	2,500	3.4	3/8	37.5	
212.3 ± 2.3	5,000	3.7	6/8	75	
203.5 ± 3.6	10,000	4	8/8	100	
185.6 ± 9.5	15,000	4.18	8/8	100	

ส่วนขนาดของสารสกัดจากข่าที่ทำให้หนูขาวเพศเมีย ตายร้อยละ 50 (LD₅₀) คือ 6,300 มก./กก.

ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 การศึกษาความเป็นพิษแบบเฉียบพลัน (acute toxicity) ของสารสกัดจากข่า (chloroform extract) ในหนูขาวเพศเมีย โดยการกรอกสารสกัดทางปาก

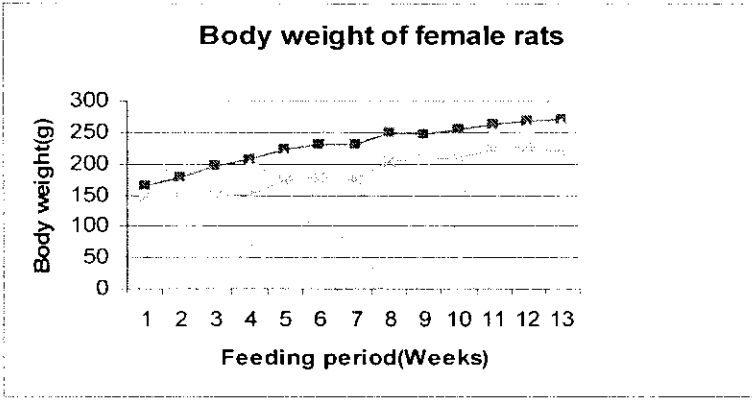
น้ำหนัก(ก) (Mean± SD)	Dose (mg/kg)	Log dose (mg/kg)	Death/N	Observed % Death	LD50 (mg/kg)
245.6 ± 10.5	0	-	0/8	0	6,300
227.9 ± 10.3	1,000	3	0/8	0	
219.8 ± 6.04	2,000	3.30	2/8	25	
205.6 ± 9.0	5,000	3.7	3/8	37.5	
194.8 ± 10.8	10,000	4	8/8	100	

การศึกษาพิษกึ่งเรื้อรังของสารสกัดจากข่า

อัตราการเจริญเติบโตของหนูขาวเพศเมียที่ได้รับสารสกัดจากข่า ขนาด 24 มก./กก./วัน ไม่แตกต่างจากหนูขาวกลุ่มควบคุม ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณอาหารที่กิน คือกินอาหารต่างกันเพียง 1.2 % ดังแสดงในตารางที่ 3 ในขณะที่หนูขาวเพศเมียกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากข่าในขนาด 240 มก./กก./วัน มีอัตราการเจริญเติบโตลดลงถึง 32.3 % ซึ่งสัมพันธ์กับการกินอาหารที่ลดลง 16.1 % (ดังแสดงในตารางที่ 3)

ส่วนอัตราการเจริญเติบโตของหนูขาวเพศผู้ที่ได้รับสารสกัดจากข่า ขนาด 24 มก./กก./วัน ไม่แตกต่างจากหนูขาวกลุ่มควบคุมเช่นกัน ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณอาหารที่กิน คือกินอาหารต่างกันเพียง 2.5 % (ดังแสดงในตารางที่ 4) ในขณะที่หนูขาวเพศผู้กลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากข่าในขนาด 240 มก./กก./วัน มีอัตราการเจริญเติบโตลดลงถึง 26.9 % ซึ่งสอดคล้องกับการกินอาหารที่ลดลง 23.7 % (ดังแสดงในตารางที่ 4)

ในระหว่างการป้อนสารสกัดจากข่าในระยะ 3 เดือน พบว่าหนูขาวเพศเมียตาย 5 และ 11 ตัว ส่วนหนูขาวเพศผู้ตาย 1 ตัว และ 11 ในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากข่าขนาด 24 และ 240 มก./กก ตามลำดับ เนื่องจากการสำลักสารสกัดเข้าปอด โดยเฉพาะในหนูที่ได้รับสารสกัดในขนาดสูง ดังนั้นจึงเหลือสัตว์ทดลองตามจำนวนที่ระบุไว้ในตารางต่างๆ

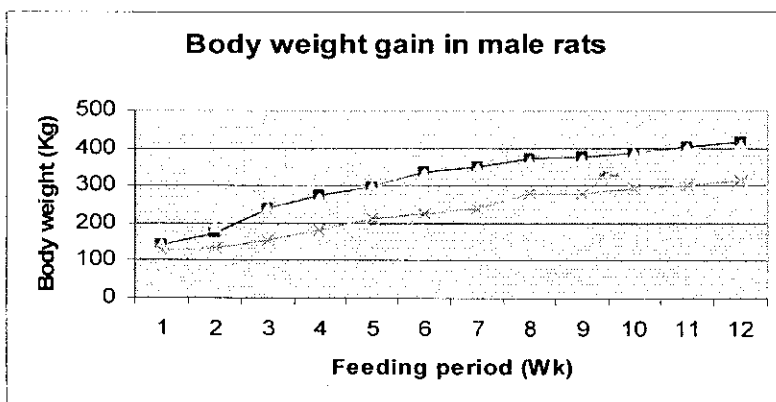


รูปที่ 1 น้ำหนักเฉลี่ยของหนูขาวเพศเมียที่ได้รับสารสกัดจากข่านาน 3 เดือน

- : กลุ่มที่ 1 กลุ่มควบคุม (Control) ได้รับ gum arabic 5%
- △-----△ : กลุ่มที่ 2 ได้รับสารสกัดจากข่าในขนาด 24 มก./กก./วัน
- x-----x : กลุ่มที่ 3 ได้รับสารสกัดจากข่าในขนาด 240 มก./กก./วัน

ตารางที่ 3 ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักและการกินอาหารของหนูขาวเพศเมียที่ได้รับสารสกัดจากข่าเป็นเวลา 3 เดือน

Dose (mg/kg/day)	n	Body weight gain (g)		Food consumption (g/rat/day)	
		Mean \pm SD	% Difference from control	Mean \pm SD	% Difference from control
0	10	104.6 \pm 22.7	-	16.1 \pm 1.2	-
24	10	112.3 \pm 27.3	+7.4	15.9 \pm 1.8	-1.2
240	4	70.75 \pm 25.7*	-32.3	13.5 \pm 3.2	-16.1



รูปที่ 2 น้ำหนักเฉลี่ยของหนูขาวเพศผู้ที่ได้รับสารสกัดจากข่านาน 3 เดือน

- : กลุ่มที่ 1 กลุ่มควบคุม (Control) ได้รับ gum arabic 5%
- △-----△ : กลุ่มที่ 2 ได้รับสารสกัดจากข่าในขนาด 24 มก./กก./วัน
- x-----x : กลุ่มที่ 3 ได้รับสารสกัดจากข่าในขนาด 240 มก./กก./วัน

ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักหนูและกรกินอาหารของหนูเพศผู้ที่ได้รับสารสกัดจากข่าเป็นเวลา 3 เดือน

Dose (mg/kg/day)	n	Body weight gain (g)		Food consumption (g/rat/day)	
		Mean \pm SD	% Difference from control	Mean \pm SD	% Difference from control
0	10	273.5 \pm 37.3	-	24.1 \pm 2.2	-
24	15	267.5 \pm 46.5	-2.2	23.5 \pm 2.4	-2.5
240	4	200.0 \pm 73.9*	-26.9	18.4 \pm 2.2	-23.7

ในระหว่างการป้อนสารสกัดจากข่าให้หนูขาว พบว่าหนูขาวมีอาการขนพองขึ้นหลังการป้อนสารสกัด แต่ไม่มีอาการผิดปกติอื่นๆ เช่นเดินเซหรือสูญเสียการทรงตัว ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของตา จมูก การหายใจ ผิวหนัง หรือพฤติกรรมที่ผิดปกติ ยกเว้นหนูขาวบางตัวแสดงอาการปิดบริเวณจมูก หลังการป้อนสารสกัด

ผลการตรวจทางชีวเคมีในหนูขาวเพศเมียที่ได้รับสารสกัดจากข่าเป็นเวลา 3 เดือน (ตารางที่ 5) พบว่าระดับเอนไซม์ SGOT และ SGPT เพิ่มขึ้นในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากข่าในขนาด 240 มก./กก./วัน แต่ไม่พบความผิดปกติของค่าทางชีวเคมีอื่นๆ ในทุกกลุ่ม

ตารางที่ 5 ผลทางชีวเคมีในหนูขาวเพศเมียที่ได้รับสารสกัดจากข่าเป็นเวลา 3 เดือน

	Dose (mg/kg/day)		
	0 (n = 10)	24 (n = 10)	240 (n = 4)
FBS	87.60 \pm 34.69	76.90 \pm 13.38	102.67 \pm 13.61
BUN	37.44 \pm 7.63	22.64 \pm 3.42	25.17 \pm 4.31
Cr	0.89 \pm 0.14	1.04 \pm 0.16	1.17 \pm 0.21
SGOT	123.2 \pm 121.21	67.90 \pm 35.94	361.00 \pm 481.20
SGPT	26.4 \pm 26.03	34.10 \pm 20.11	105.67 \pm 66.37
ALP	49.30 \pm 21.44	52.30 \pm 15.03	49.67 \pm 35.02
Total protein	7.52 \pm 0.63	7.04 \pm 0.31	6.50 \pm 0.61
Albumin	3.56 \pm 0.28	3.39 \pm 0.14	3.07 \pm 0.38
Direct Bilirubin	0.03 \pm 0.06	0.04 \pm 0.05	0.13 \pm 0.15
Total Bilirubin	1.08 \pm 2.40	0.22 \pm 0.09	0.30 \pm 0.26
Cholesterol	65.00 \pm 14.96	66.90 \pm 9.36	61.33 \pm 6.66
Triglyceride	113.8 \pm 54.29	91.40 \pm 27.97	83.33 \pm 12.01
Uric acid	2.80 \pm 1.48	2.73 \pm 1.11	4.63 \pm 2.21

ผลการตรวจทางชีวเคมีในหนูขาวเพศผู้ ที่ได้รับสารสกัดจากข้าวเป็นเวลา 3 เดือน (ตารางที่ 6) พบว่าไม่มี การเปลี่ยนแปลงของค่าทางชีวเคมีในทุกกลุ่ม

ตารางที่ 6 ผลทางชีวเคมีในหนูขาวเพศผู้ที่ได้รับสารสกัดจากข้าวเป็นเวลา 3 เดือน

	Dose (mg/kg/day)		
	0 (n = 10)	24 (n = 15)	240 (n = 4)
FBS	96.00 ± 33.68	72.00 ± 16.73	71.00 ± 14.74
BUN	22.23 ± 5.22	21.83 ± 2.70	25.38 ± 3.46
Cr	0.88 ± 0.06	0.86 ± 0.09	1.0 ± 0.22
SGOT	374.40 ± 270.22	261.47 ± 159.69	495.25 ± 278.56
SGPT	60.3 ± 50.19	113.47 ± 94.95	65.75 ± 26.11
ALP	108.00 ± 43.93	85.40 ± 26.43	76.50 ± 19.94
Total protein	7.73 ± 0.26	7.25 ± 0.70	7.70 ± 1.09
Albumin	3.72 ± 0.26	3.61 ± 0.33	3.57 ± 0.76
Direct Bilirubin	0.13 ± 0.05	0.17 ± 0.10	0.38 ± 0.49
Total Bilirubin	0.27 ± 0.07	0.31 ± 0.09	0.55 ± 0.57
Cholesterol	85.50 ± 17.64	81.47 ± 12.27	85.00 ± 20.59
Triglyceride	115.00 ± 35.41	104.27 ± 23.43	105.75 ± 27.89
Uric acid	3.95 ± 1.65	3.54 ± 1.39	6.47 ± 5.88

ในหนูขาวทั้ง 2 เพศที่ได้รับสารสกัดจากข้าวเป็นเวลา 3 เดือน ไม่พบว่ามี การเปลี่ยนแปลงทางโลหิตวิทยา ที่ผิดปกติในทุกกลุ่ม ดังแสดงในตารางที่ 7 และ 8

ตารางที่ 7 ผลทางโลหิตวิทยาในหนูขาวเพศเมียที่ได้รับสารสกัดจากข้าวเป็นเวลา 3 เดือน

	Dose (mg/kg/day)		
	0 (n = 10)	24 (n = 10)	240 (n = 4)
Hematocrit (%)	45.00 ± 3.09	48.00 ± 2.49	45.33 ± 2.62
Hemoglobin (g/dl)	15.00 ± 1.02	16.05 ± 0.86	15.03 ± 1.10
WBC (cells/cu.mm)	2,015 ± 653	3,715 ± 1062	4,200 ± 1,768
PMN(%)	25.40 ± 4.12	30.30 ± 11.04	28.00 ± 5.20
Eosinophil(%)	0.60 ± 1.26	0.50 ± 1.58	0.00 ± 0.00
Lymphocyte(%)	74.00 ± 4.00	68.50 ± 13.39	72.00 ± 5.20
Monocyte(%)	0.00 ± 0.00	0.70 ± 1.06	0.00 ± 0.00
Platelet	Adequate	Adequate	Adequate
Red blood cell	Normochromic, Normocytic	Normochromic, Normocytic	Normochromic, Normocytic

ตารางที่ 8 ผลทางโลหิตวิทยาในหนูขาวเพศผู้ที่ได้รับสารสกัดจากข้าวเป็นเวลา 3 เดือน

	Dose (mg/kg/day)		
	0 (n = 10)	24 (n = 15)	240 (n = 4)
Hematocrit (%)	49.40 ± 4.62	48.93 ± 2.15	47.75 ± 3.77
Hemoglobin (g/dl)	16.47 ± 1.55	16.32 ± 0.72	15.88 ± 1.18
WBC(cells/cu.mm)	3,470 ± 1,510	3,637 ± 1,778	2,200 ± 604
PMN(%)	38.9 ± 8.91	38.87 ± 6.91	34.00 ± 6.78
Eosinophil(%)	0.50 ± 0.71	0.27 ± 0.70	0.00 ± 0.00
Lymphocyte(%)	59.50 ± 9.42	58.87 ± 7.00	65.25 ± 6.85
Monocyte(%)	1.10 ± 1.10	2.00 ± 1.56	0.75 ± 0.96
Platelet	Adequate	Adequate	Adequate
Red blood cell	Normochromic, Normocytic	Normochromic, Normocytic	Normochromic, Normocytic

น้ำหนักอวัยวะต่อน้ำหนักตัว 100 กรัม ของหนูทดลองเพศเมียไม่พบว่ามีความแตกต่างกันในทุกกลุ่มยกเว้น น้ำหนักของกระเพาะอาหารในหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดในขนาด 240 มก./กก/วัน ซึ่งเพิ่มขึ้น ดังแสดงในตารางที่ 9

ตารางที่ 9 น้ำหนักอวัยวะต่อน้ำหนักตัว 100 กรัม ของหนูทดลองเพศเมีย

	Dose (mg/kg/day)		
	0 (n = 10)	24 (n = 10)	240 (n = 4)
Liver	2.93 ± 0.30	2.79 ± 0.18	3.33 ± 0.38
Right kidney	0.32 ± 0.04	0.30 ± 0.05	0.36 ± 0.04
Left kidney	0.29 ± 0.04	0.28 ± 0.04	0.34 ± 0.05
Heart	0.36 ± 0.04	0.32 ± 0.03	0.43 ± 0.12
Lung	0.58 ± 0.12	0.50 ± 0.06	0.74 ± 0.35
Stomach	0.50 ± 0.06	0.60 ± 0.06	0.91 ± 0.22*
Spleen	0.23 ± 0.04	0.21 ± 0.04	0.21 ± 0.08
Uterus	0.22 ± 0.06	0.17 ± 0.06	0.18 ± 0.02
Right Ovary	0.03 ± 0.00	0.03 ± 0.01	0.03 ± 0.00
Left Ovary	0.03 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.03 ± 0.01

* Significantly different from control ($p < 0.05$). The results are expressed as Mean ± S.D.

น้ำหนักอวัยวะต่อน้ำหนักตัว 100 กรัม ของหนูทดลองเพศผู้ ไม่พบว่ามีความแตกต่างกันในทุกกลุ่มยกเว้น น้ำหนักของกระเพาะอาหารในหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดในขนาด 240 มก./กก./วัน ซึ่งเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในตารางที่ 10

ตารางที่ 10 น้ำหนักอวัยวะต่อน้ำหนักตัว 100 กรัม ของหนูทดลองเพศผู้

	Dose (mg/kg/day)		
	0 (n = 10)	24 (n = 15)	240 (n = 4)
Liver	2.53 ± 0.17	2.48 ± 0.27	3.13 ± 0.27
Right kidney	0.29 ± 0.03	0.29 ± 0.04	0.31 ± 0.05
Left kidney	0.28 ± 0.02	0.29 ± 0.04	0.31 ± 0.01
Heart	0.33 ± 0.03	0.32 ± 0.04	0.36 ± 0.07
Lung	0.44 ± 0.09	0.39 ± 0.08	0.44 ± 0.04
Stomach	0.45 ± 0.04	0.50 ± 0.05	0.77 ± 0.14*
Spleen	0.18 ± 0.05	0.18 ± 0.04	0.23 ± 0.05
Right testis	0.47 ± 0.03	0.48 ± 0.11	0.59 ± 0.07
Left testis	0.48 ± 0.09	0.49 ± 0.09	0.57 ± 0.11

* Significantly different from control (p < 0.05). The results are expressed as Mean ± S.D.

ผลการตรวจทางจุลพยาธิวิทยาของอวัยวะภายใน ซึ่งได้แก่ ตับ ไต หัวใจ ปอด กระเพาะอาหาร ม้าม ตับอ่อน ลำไส้เล็ก ลำไส้ใหญ่ รังไข่ และ มดลูก พบว่าหนูขาวเพศเมียที่ได้รับสารสกัดจากง่าในขนาด 24 มก./กก./วัน มีพยาธิสภาพที่ตับในเกรด 1 จำนวน 2 ตัวจาก 10 ตัว (20%) และพบไตอักเสบเรื้อรังเฉพาะที่ (Focal chronic pyelonephritis) จำนวน 1 ตัวจาก 10 ตัว (10%) ดังแสดงในตารางที่ 11

ตารางที่ 11 ผลการตรวจทางจุลพยาธิวิทยาของอวัยวะภายในของหนูขาวเพศเมียที่ได้รับสารสกัดจากง่าเป็นเวลา 3 เดือน

	Dose (mg/kg/day)		
	0 (n = 10)	24 (n = 10)	240 (n = 4)
Liver Grade 1	0/10	2/10 (20%)	0/4
Kidney Focal chronic pyelonephritis	0/10	1/10(10%)	0/4

ผลการตรวจทางจุลพยาธิวิทยาของอวัยวะภายใน ซึ่งได้แก่ ตับ ไต หัวใจ ปอด กระเพาะอาหาร ม้าม ตับอ่อน ลำไส้เล็ก ลำไส้ใหญ่ อذنชนะ พบว่าหนูขาวเพศผู้มีพยาธิสภาพที่ตับในระดับเกรด 1 ในหนูกลุ่มควบคุม 3 ตัว จาก 10 ตัว (30%) และพบ focal myocarditis 1 ตัว (10%) ส่วนกลุ่มที่ได้รับสารสกัดข้าวในขนาด 24 มก./กก./วัน พบ focal myocarditis 1 ตัวจาก 15 ตัว(6.67%) ดังแสดงในตารางที่ 12

ตารางที่ 12 ผลการตรวจทางจุลพยาธิวิทยาของอวัยวะภายในของหนูขาวเพศผู้ที่ได้รับสารสกัดจากข้าว เป็น เวลา 3 เดือน

	Dose (mg/kg/day)		
	0 (n = 10)	24 (n = 15)	240 (n = 4)
Liver			
Grade I	3/10(30%)	0/15	0/4
Heart			
Focal myocarditis	1/10 (10%)	1/15(6.67%)	0/4

วิจารณ์

การศึกษาความเป็นพิษแบบเฉียบพลันและกึ่งเรื้อรังของสารสกัดจากข้าวในหนูขาวครั้งนี้พบว่าหนูขาวเพศผู้มีโอกาสเกิดพิษเฉียบพลันได้ง่ายกว่าหนูเพศเมีย เนื่องจากพบว่าค่า LD50 ของสารสกัดจากข้าวในหนูขาวเพศผู้ต่ำกว่าเพศเมียประมาณ 50% (3,200 และ 6,300 มก./กก ในเพศผู้และเพศเมียตามลำดับ) ทั้งนี้อาจเป็นผลจากความแตกต่างในด้านเภสัชจลนศาสตร์ หรือความไว (sensitivity)ต่อสารสกัดนี้ แต่อย่างไรก็ตามในการศึกษาความเป็นพิษแบบเรื้อรังกลับไม่พบว่ามีความแตกต่างกันระหว่างเพศ

ในการใช้ข้าวรักษาอาการแน่นจุกเสียดจะใช้เหง้าสด 5 กรัม หรือ เหง้าแห้ง 2 กรัม คั้นกับน้ำจนเคี้ยว รินน้ำคั้น สำหรับการศึกษาความเป็นพิษกึ่งเรื้อรัง(3 เดือน)จะใช้ในขนาด 24 และ 240 มก./กก./วัน ซึ่งเทียบเท่ากับ 10 และ 100 เท่าที่คนรับประทาน ไม่พบความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ยกเว้นการเจริญเติบโตซึ่งลดลงในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด240 มก./กก./วัน

การศึกษาพิษกึ่งเรื้อรังในหนูขาวไม่พบว่สารสกัดจากข้าวมีพิษต่อระบบต่างๆของหนูขาว สำหรับพยาธิสภาพที่ตับ(เกรด 1) ที่พบในหนูขาวเพศเมียที่ได้รับสารสกัดจากข้าวในขนาด 24 กรัม/กก./วัน จำนวน 2 ตัว จาก 10 ตัว(20%) แต่ไม่พบพยาธิสภาพของตับในหนูขาวที่ได้รับสารสกัดจากข้าวในขนาด 240 กรัม/กก./วัน แสดงว่าการเกิดพยาธิสภาพไม่มีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นหรือขนาดของสารสกัดที่ได้รับ นอกจากนี้ยังตรวจพบพยาธิสภาพที่ตับ (เกรด1) ในหนูขาวเพศผู้กลุ่มควบคุม 3 ตัว จาก 10 ตัว(30 %) ดังนั้นพยาธิสภาพที่ตรวจพบในหนูขาวเพศเมีย ไม่น่าจะเกิดจากสารสกัดจากข้าว ส่วน focal myocarditis ที่พบในหนูขาวเพศผู้ ในกลุ่มควบคุม 1 ตัว จาก 10 ตัวและในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากข้าวขนาด 24 กรัม/กก./วัน 1 ตัวจาก 15 ตัวนั้น ไม่น่าจะเกิดจากสารสกัดจากข้าว เนื่องจากตรวจพบได้ในกลุ่มควบคุมด้วย และไม่พบในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาดสูง สำหรับ focal

hemorrhage ที่พบในหนูบางตัวในทั้ง 3 กลุ่มน่าจะเป็นผลจากการเก็บตัวอย่างเลือดจากหัวใจโดยตรง(heart puncture)

หนูขาวที่ได้รับสารสกัดจากข่าในขนาดสูงถึง 240 มก/กก/วัน มีอัตราการเจริญเติบโตน้อยกว่ากลุ่มควบคุม โดยสัมพันธ์กับการกินอาหารที่ลดลง แสดงว่าสารสกัดจากข่าในขนาดสูงอาจมีผลต่อความอยากอาหารในหนูขาว ทั้ง 2 เพศ ส่วนกลไกของการออกฤทธิ์นั้นยังไม่ทราบแน่ชัด ซึ่งต้องการการศึกษาต่อไป

การศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมา(Mokkhasmit M et al)ซึ่งพบว่าสารสกัดข่าด้วยแอลกอฮอล์ 50 % ขนาด 10 กรัม/กิโลกรัม ในหนูถีบจักร โดยการกรอกปากและฉีดเข้าใต้ผิวหนังไม่เป็นพิษต่อหนูถีบจักร

สรุป

การศึกษานี้พบว่าหนูขาวเพศผู้มีโอกาสเสี่ยงต่อพิษแบบเฉียบพลันจากสารสกัดจากข่ามากกว่าหนูขาวเพศเมีย แต่ไม่มีความแตกต่างกันในด้านพิษแบบเรื้อรัง และไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของสารสกัดกับความเป็นพิษแบบเรื้อรัง อย่างไรก็ตามการใช้สารสกัดดังกล่าวเพื่อดำเนินจุลชีพควรให้ในขนาดที่ใช้ตามปกติ เนื่องจากการใช้ในขนาดสูงติดต่อกันเป็นเวลานาน อาจก่อให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพ เช่นอาจมีพิษต่อดับได้

คำขอขอบคุณ

โครงการวิจัยนี้ ได้รับการสนับสนุนจากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประเภทเงินอุดหนุนทั่วไป คณะผู้วิจัยขอขอบคุณมา ณ โอกาสนี้ ขอขอบคุณ รศ. ดร. สนั่น สุภธีรสกุล ที่ได้จัดหาและสกัดสมุนไพรที่ใช้ในการวิจัยนี้ และขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่อนุญาตให้ใช้เครื่องมือ สถานที่และสาธารณูปโภคต่างๆ

เอกสารอ้างอิง

1. Cheah PB and Gan SP. Antioxidative/Antimicrobial effects of galangal and alpha-tocohero; in minced beef. J. Food Prot.2000 Mar;63(3):407-7.
2. Haraguchi H, Kuwata Y, Inada K, Shingu K, Miyahara K, Nagao M and Yagi A. Antigungal activity from *Alpinia galanga* and the competition for incorporation of unsaturated fatty acids in cell growth. *Planta Med.* 1996 Aug;62(4):308-13.
3. Jassen AM and Scheffer JJC. Acetoxyhydroxychavicol acetate, an antifungal component of *Alpinia galanga*. *Planta Med.* 1985; 6: 507-11.
4. Litchfield, J.T., Jr. & Wilcoxon, E. (1949) : A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 96: 99 -188.

5. Mokkahasmit M, Sawasdimongkol K, Satravaha P. Toxicity study of Thai medicinal plants. Bull Dept Med Sci, Thailand 1971; 12, 2-4: 36-66.
6. Okazaki K, Oshima S. Antibacterial activity of higher plants. XX. Antimicrobial effect of essential oils. (1). Clove oil and eugenol. J Pharm Soc Japan 1952; 72: 558-60.
7. Qureshi S, Shah AH and Ageel AM. Toxicity studies on *Alpinia galanga* and *Curcuma longa*. Planta Med. 1992 Apr;58(2):124-7.
8. Ross MSF and Brain KR. An Introduction to phytopharmacy. London: Pitman Publishing Ltd., 1977, 158-176.
9. Shaiphanich C, Wuthiudomlert M, Sawasdimongkol O, Saowakhont R. *Languas galanga* cream for treatment of ringworm. Report of medicinal plants for the primary health care project, 1984.
10. Yamahara J, Kobayashi M, Saiki Y, Sawada T, Fujimura H. Biologically active principles of crude drugs : Pharmacological evaluation of cholagogue substances in clove and its properties. J. Pharmacobio-Dyn 1983; 6(5): 281-6.
11. <http://medplant.mahidol.ac.th/pubhealth/alpinia.html>

ภาคผนวก

การแบ่งเกรดพยาธิสภาพของตับหนู

เกรด 0 : ลักษณะเซลล์ตับปกติ ขอบเขตของเซลล์ชัดเจน นิวเคลียสกลมและมีนิวคลีโอลัสชัดเจน เห็น endothelial cell ปรากฏอยู่รอบๆ central vein และข้างเซลล์ตับ

เกรด 1 : เซลล์ตับรอบๆ central vein 1-2 แถวแรกเกิด degeneration พบได้อย่างน้อย 1 central vein ต่อกำลังขยาย x100, พบ single cell necrosis ได้ในบาง hepatic lobule, endothelial cell บางส่วนถูกทำลาย อาจพบ lymphocytic infiltration ในบริเวณที่เกิด necrosis

เกรด 2 : เซลล์ตับรอบๆ central vein 3-4 แถวแรกเกิด degeneration หรือ necrosis พบลักษณะดังกล่าวมากกว่าครึ่งหนึ่งของจำนวน central vein ทั้งหมด, พบ lymphocytic infiltration ในบริเวณที่เกิด necrosis, endothelial cell ส่วนใหญ่ ถูกทำลาย

เกรด 3 : เซลล์ตับรอบๆ central vein ถูกทำลายอย่างมากไปจนถึง mid zone ของ hepatic lobule อาจมีการเชื่อมต่อกันของบริเวณที่เกิด necrosis ไปยัง hepatic lobule ข้างเคียง พบลักษณะดังกล่าวเกือบทุก central vein, endothelial cell ของ central vein ทั้งหมดถูกทำลาย พบ lymphocytic infiltration ในบริเวณที่เกิด necrosis