
การศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันและพิษเรื้อรังของ สารสกัดใบพลู (*Piper betle* L.)

มาสเกียรติ บุญยฤทธิ์* สุธมณฑา วัฒนสินธุ์** เรวดี บุตรภรณ์* นวชนิษฐ์ สัจจามนต์*

วริฐฐา สงวนเรือง* ทิฆัมพร แยมสอาด* และสมชาย แสงกิจพร*

*สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000

**มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ อำเภอกองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12121

บทคัดย่อ

สารสกัดใบพลู (*Piper betle* L.) นำมาใช้กันแพร่หลายทั้งในผลิตภัณฑ์ที่ใช้กับมนุษย์และสัตว์ เพื่อเป็นการประเมินความปลอดภัย การศึกษานี้ได้ทำการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันในหนูเมชเพศเมียสายพันธุ์ไอซอร์ และพิษเรื้อรังในหนูแรททั้งสองเพศสายพันธุ์วีสตาร์ (เป็นเวลานาน 6 เดือน) โดยใช้สารสกัดใบพลูที่สกัดด้วยเทคนิคของไหลวิกฤตยิ่งยวดด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายร่วม ผลการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันที่ขนาดป้อนอย่างละ 300 และ 2,000 มก./กก. ไม่พบอาการพิษแบบเฉียบพลันใดๆ ส่วนผลทดสอบพิษเรื้อรังพบว่าสารสกัดขนาด 3, 30 และ 300 มก./กก./วัน ไม่ส่งผลกระทบต่ออาการป่วยพิษสะสม การเจริญเติบโตและการกินอาหาร อีกทั้งยังไม่พบการเปลี่ยนแปลงตามขนาดของสารสกัดที่ได้รับในค่าของน้ำหนักอวัยวะสัมพันธ์และค่าโลหิตวิทยาต่างๆ แต่พบการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญของระดับโซเดียม คลอไรด์ แคลเซียม และฟอสฟอรัสในซีรัมตามขนาดสารสกัดที่เพิ่มขึ้นในหนูทั้งสองเพศ พบการเพิ่มขึ้นเล็กน้อยของเอนไซม์ ALT ในหนูเพศเมียกลุ่ม recovery (300 มก./กก./วัน) และการอักเสบเล็กน้อยที่ตับในหนูเพศเมียที่ได้รับสารสกัด 300 มก./กก./วัน และในกลุ่ม recovery ดังนั้นการนำสารสกัดใบพลูมาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารและยาอย่างต่อเนื่อง จึงควรเฝ้าระวังสมดุลของระบบอิเล็กโทรไลต์และการทำงานของตับ

บทนำ

พลู (*Piper betle* L.) เป็นพืชสมุนไพรอยู่ในวงศ์ Piperaceae ที่มีถิ่นกำเนิดในประเทศอินเดีย ต่อมา มีการปลูกแพร่กระจายไปยังประเทศต่าง ๆ ทั่วทวีปเอเชียและแอฟริกา ส่วนของใบพลุนิยมนำมาใช้เป็นส่วนประกอบ ในการรักษาโรคต่าง ๆ ใช้เป็นยาทาภายนอกสำหรับแก้อาการคันแก้แสบ^(1, 2) สารสกัดจากใบพลูมีรายงานในการ ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย^(3, 4) เชื้อรา^(5, 6, 7) และเชื้อมาลาเรีย⁽⁸⁾ ต้านฮีสตามีนที่ทำให้เกิดการหดเกร็งในหลอดลมและลำไส้เล็ก ของหนูตะเภา⁽⁹⁾ นอกจากนี้สารสกัดจากใบพลูยังมีฤทธิ์ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging assay) กำจัดอนุมูลอิสระชนิดซูเปอร์ออกไซด์เรดิคัล (Superoxide radical) และไนตริกออกไซด์ (Nitric oxide)^(10, 11, 12)

จากการศึกษาวิจัยในองค์ประกอบทางเคมีของใบพลูพบสารสำคัญมีอยู่หลายชนิด Nalina T และคณะ⁽¹³⁾ พบว่าสารสกัดหยาบจากใบพลูด้วยน้ำมีสาร hydroxychavicol ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus mutans* ในหลอดทดลอง ซึ่งเชื่อนี้มักก่อให้เกิดคราบหินปูนของฟันในช่องปาก ในทำนองเดียวกัน อุไรวรรณ ดิลกคุณานันท์ และคณะ⁽¹⁴⁾ ได้รายงานว่ามีสารสกัดหยาบจากใบพลูด้วยเอทานอลมีสาร hydroxychavicol ที่ออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา *Trichophyton mentagrophytes* และเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ได้ในหลอดทดลอง อีกทั้งสาร hydroxychavicol ยังพบว่ามีฤทธิ์ลดการจับกลุ่มของเกล็ดเลือดกระต่ายได้ในหลอดทดลอง (antiplatelet aggregation)⁽¹⁵⁾ Misra P และคณะ⁽¹⁶⁾ รายงานว่าสาร eugenol ในน้ำมันหอมระเหยจากใบพลูมีฤทธิ์ในการต้าน เชื้อโปรโตซัว *Leishmania donovani* ได้ในหลอดทดลอง นอกจากนี้สาร eugenol ที่ได้จากการสกัดใบพลูด้วย เอทานอลยังมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและลดระดับไขมันในเลือดในหนูแรท⁽¹⁷⁾ Majumdar B และคณะ⁽¹⁸⁾ พร้อมทั้ง Bhattacharya S และคณะ⁽¹⁹⁾ รายงานตรงกันว่าสาร allylpyrocatechol (APC) ที่ได้จากการสกัดใบพลูด้วย เอทานอลมีฤทธิ์ลดการเกิดแผลในกระเพาะอาหารของหนูแรทที่เหนียวนำด้วยสาร indomethacin มีรายงานพบว่า สาร APC และ chevibetol ที่อยู่ในสารสกัดใบพลูด้วยเอทานอลสามารถลดอันตรายจากการได้รับรังสีแกมมาที่ทดสอบ ในหนูแรทได้อีกด้วย⁽²⁰⁾ นอกจากนี้สาร hydroxychavicol และ chavibetol ที่ได้จากสารสกัดใบพลูด้วยเมทานอล ยังพบฤทธิ์ในการต้านเซลล์มะเร็งต่อมลูกหมากของมนุษย์ที่ทำการปลูกฝังในหนูไม่⁽²¹⁾

สำหรับข้อมูลด้านความเป็นพิษพบว่า สารสกัดใบพลูด้วยน้ำและอะซิโตนที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัม/จาน เพาะเชื้อ ไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ต่อเชื้อ *Salmonella typhimurium*⁽²²⁾ ในขณะที่การทดสอบด้วยน้ำที่กรองจาก การบดละเอียดของใบพลูกับน้ำกลั่นก็พบว่าไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ต่อเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* เช่นเดียวกัน⁽²³⁾ Ratnasooriya WD และคณะ⁽²⁴⁾ รายงานว่าสารสกัดใบพลูด้วยน้ำมีผลต่อระบบสืบพันธุ์ในหนูแรทเพศผู้โดยไปลด การปฏิสนธิ (antifertility) นอกจากนี้ Sengupta A และคณะ⁽²⁵⁾ ยังพบว่าสารสกัดก้านใบของพลูด้วยเอทานอล ไม่พบความผิดปกติจากการทดสอบพิษเฉียบพลันในหนูไม่ซึ่งที่ขนาดสูงสุด 3,200 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และไม่พบความ เป็นพิษเรื้อรังต่อระบบร่างกายในหนูแรทที่ขนาดตั้งแต่ 300 ถึง 1,000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

ในบัญชียาจากสมุนไพรของบัญชียาหลักแห่งชาติ⁽²⁶⁾ พ.ศ. 2556 มีการระบุการใช้สารสกัดใบพลูสดด้วย เอทานอลในการบรรเทาอาการผิวหนังอักเสบ และการอักเสบจากแมลงกัดต่อย นอกจากนี้ยังมีรายงานการนำใบพลู มาใช้รักษาโรคต่าง ๆ เช่น ใช้ใบพลูสดตำผสมกับเหล้าแล้วใช้ทารักษาโรคเชื้อราที่ผิวหนังและแก้ลมพิษ⁽²⁷⁾ บางตำรายาไทย มีการใช้น้ำคั้นใบสดของพลูกับเหล้ากินเป็นยาขับลม⁽²⁸⁾ อีกทั้งมีการวิจัยพัฒนานำสารสกัดจากใบพลูมาใช้เป็นผลิตภัณฑ์ หม่าเชื้อในช่องปาก⁽²⁹⁾ และนำสารสกัดใบพลูไปใช้ทดแทนสารเคมีที่ใช้เป็นส่วนผสมในการยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus flavus* ในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรและวัตถุดิบที่ใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตอาหาร⁽³⁰⁾ อีกทั้งยังมีแนวโน้มที่จะนำสารสกัดใบพลู มาใช้เป็นส่วนประกอบเสริมในอาหารสัตว์เพื่อใช้ต้านเชื้อต้านจุลชีพต่าง ๆ และใช้เป็นสารต้านออกซิเดชันในน้ำมันที่ใช้ ปปรุงอาหารแทนการใช้สารเคมีสังเคราะห์อีกด้วย^(31, 32, 33) ดังนั้นการนำสารสกัดใบพลูไปประยุกต์เป็นส่วนประกอบของ

ผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในมนุษย์และสัตว์ และการพัฒนาไปเป็นยาสำหรับบำบัดรักษาโรคตามฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่พบถือว่ามีความประโยชน์อย่างมาก แต่ปัจจุบันยังขาดข้อมูลด้านความปลอดภัยต่อระบบต่างๆ ของร่างกาย ดังนั้นผลจากการศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันและพิษเรื้อรังของสารสกัดใบพลูในสัตว์ทดลองจะเป็นข้อมูลเบื้องต้นด้านความปลอดภัยสำหรับการพัฒนาและผลิตเป็นยา สมุนไพร ผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ หรือผลิตภัณฑ์ถนอมอาหารที่ใช้แทนวัตถุกันหืนสังเคราะห์ได้

วัสดุและวิธีการ

สารสกัดใบพลู

สารสกัดใบพลูควบคุมคุณภาพทางเคมีวิเคราะห์และได้รับจากภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ สกัดด้วยเทคนิคของไหลวิกฤตยิ่งยวดยิ่ง (Supercritical Fluid Extraction-SFE) โดยใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวทำละลาย และใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายร่วม หลังผ่านกระบวนการระเหยนำเอทานอลออก ได้สารสกัดหยาบสีเขียวน้ำตาลเข้ม เหลว หนืด สารสกัดหยาบที่มีความดัน 9 MPa และที่ 6 MPa นำมารวมกัน คิดเป็น % Yield เท่ากับ 8.6% เทียบกับผงของใบพลูแห้ง ทำการตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) ซึ่งพบว่ามีสารสำคัญคือ Allypyrocatechol (APC) และ Eugenol ในสัดส่วนร้อยละของปริมาณสารต่อน้ำหนักของสารสกัดเท่ากับ 46.95 และ 6.26 (% w/w) ตามลำดับ

สัตว์ทดลอง

หนูไมซ์สายพันธุ์ไอซีอาร์ (ICR Mice) เพศเมีย จำนวน 12 ตัว น้ำหนักตัว 30-35 กรัม อายุประมาณ 6 สัปดาห์ ซื้อจากศูนย์สัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล ใช้สำหรับการศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลัน เลี้ยงในกรงเลี้ยงสัตว์ภายในห้องเลี้ยงสัตว์ทดลองที่มีอุณหภูมิ 23 ± 3 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ $60 \pm 20\%$ ควบคุมความมืด/สว่าง 12/12 ชั่วโมง ให้อาหารสำเร็จรูป และน้ำดื่มตลอดการเลี้ยง ก่อนดำเนินการทดสอบ ปักหนูเพื่อให้ปรับตัว (Acclimatization) เป็นเวลาอย่างน้อย 5 วัน

หนูแรทสายพันธุ์วิสตา (Wistar Rat) อายุประมาณ 6 สัปดาห์ จำนวน 140 ตัว (เพศเมีย 70 ตัว เพศผู้ 70 ตัว) ซื้อจากบริษัท BioLASCO ประเทศไต้หวัน เลี้ยงในชุดกรงเลี้ยงสัตว์ทดลองแบบปลอดเชื้อ (Individually Ventilated Cage, IVC) ภายในห้องเลี้ยงสัตว์ทดลองที่มีอุณหภูมิ 23 ± 3 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ $60 \pm 20\%$ ควบคุมความมืด/ความสว่างสลับกัน 12 ชั่วโมง ให้อาหารสำเร็จรูป และน้ำดื่มตลอดการเลี้ยง ก่อนดำเนินการทดสอบปักหนูเพื่อให้ปรับตัว (Acclimatization) เป็นเวลา 1 สัปดาห์

วิธีการทดสอบ

การศึกษาในสัตว์ทดลองนี้ ได้รับการพิจารณาอนุมัติจากคณะกรรมการการเลี้ยงและใช้สัตว์ทดลองของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ตามเลขที่อนุมัติการวิจัย 53-010 โดยการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันด้วยวิธี OECD-423 Guideline (Acute Toxic Class Method)⁽³⁴⁾ ในหนูไมซ์โดยการป้อนทางปากในครั้งเดียวด้วยสารสกัดใบพลูที่เตรียมในรูปแบบสารแขวนตะกอนในสารละลาย Tragacanth 1.0% (น้ำหนัก/ปริมาตร) สังเกตอาการ บันทึกอาการผิดปกติจนครบ 14 วัน และทำการผ่าซากตรวจความผิดปกติของอวัยวะภายใน (Gross Lesions) โดยการทดสอบนี้เริ่มต้นการป้อนสารสกัดที่ขนาด 300 มก./กก. (มิลลิกรัม/กิโลกรัม) ต่อหนู 3 ตัว สังเกตอาการและจำนวนหนูทดลองตายอย่างใกล้ชิดภายใน 5 ชั่วโมง ของการทดสอบ 24 ชั่วโมงแรก และทุกวันจนครบ 14 วัน ทำการทดสอบเพิ่มเติมที่ขนาด 300 มก./กก. ต่อหนู 3 ตัว และประเมินผลการทดสอบตามที่กล่าวมา จากนั้นทดสอบหนูด้วยสารสกัดในขนาดที่สูงขึ้น 2,000 มก./กก. ต่อหนู 3 ตัว เพิ่มอีก 2 กลุ่มพร้อมกับการประเมินผลการทดสอบตามที่กล่าวมาข้างต้น

การศึกษาความเป็นพิษเรื้อรังในหนูแรชใช้วิธี OECD-452 Guideline (Chronic Toxicity studies)⁽³⁵⁾ และ ICH Guideline: M3(R2)⁽³⁶⁾ แบ่งหนูออกเป็น 5 กลุ่ม กลุ่มละ 28 ตัว (เพศผู้ 14 ตัว เพศเมีย 14 ตัว) โดยกลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุมได้รับสารละลาย 1.0% Tragacanth ในปริมาตร 1 มิลลิลิตร/น้ำหนักหนู 100 กรัม กลุ่มทดลองที่ 2-4 ได้รับสารสกัดใบพลูที่แขวนตะกอนในสารละลาย 1.0% Tragacanth ในขนาด 3, 30 และ 300 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน (มก./กก./วัน) ตามลำดับ ทุกวันติดต่อกันเป็นเวลา 180 วัน ซึ่งขนาดสูงสุดที่ใช้สำหรับการทดสอบนี้ประมาณการว่าไม่ทำให้หนูตายระหว่างการทดลอง (Maximum Tolerated Dose, MTD) สารสกัด 300 มก./กก. นี้มีส่วนประกอบของสาร APC ในปริมาณ 140 มก. โดยปัจจุบันยังไม่มีรายงานความเป็นพิษของสาร APC พบแต่เพียงรายงานความเป็นพิษของสารที่คล้ายคลึงกันคือ Pyrocatechol ที่อาจนำมาเทียบเคียงได้โดยมีค่า LD₅₀ เท่ากับ 210 มก./กก. ในหนูตะเภา⁽³⁷⁾ นอกจากนี้สารสกัดที่ใช้ในการทดสอบยังพบว่ามีส่วนประกอบของสาร eugenol ซึ่งขนาดที่ใช้ในการทดสอบนี้ยังครอบคลุมอยู่ในช่วงประมาณ 0.1 ถึง 7.5 เท่าของสารสำคัญ eugenol ที่ยอมรับในการรับประทานของคน (Acceptable Daily Intake, ADI) ตาม WHO ซึ่งมีค่าไม่เกิน 2.5 มก./กก./วัน⁽³⁸⁾

สำหรับกลุ่มทดลองที่ 5 เป็นกลุ่ม recovery ได้รับสารสกัดใบพลูที่แขวนตะกอนในสารละลาย 1.0% Tragacanth ขนาด 300 มก./กก./วัน ทุกวันติดต่อกันเป็นเวลา 180 วัน จากนั้นหยุดการให้สารละลาย 2 สัปดาห์ เพื่อศึกษาถึงการหายของความผิดปกติที่เกิดขึ้นระหว่างการทดสอบ สังเกตอาการที่แสดงออกภายนอกอย่างน้อยวันละ 1 ครั้ง บันทึกปริมาณอาหารและน้ำที่หนูกินและน้ำหนักตัวต่อสัปดาห์ เมื่อครบกำหนด 180 วัน ดมสลบหนูด้วย Isoflurane (AERRANE®, Baxter Healthcare Corporation) อิมมัลชันหมดความรู้สึก ทำการเปิดช่องท้อง เก็บตัวอย่างเลือดจากเส้นเลือดแดงใหญ่ dorsal aorta สำหรับตรวจค่าโลหิตวิทยาได้แก่ ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (Hematocrit) ความเข้มข้นของฮีโมโกลบิน (Hemoglobin concentration) จำนวนเม็ดเลือดแดง (Erythrocytes) จำนวนและชนิดของเม็ดเลือดขาว (Total and Differential leukocytes) จำนวนเกล็ดเลือด (Platelets) โดยเครื่องตรวจวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยาอัตโนมัติ รุ่น Cell Dyne® 3700 (Abbot) และทำการตรวจค่าชีวเคมีได้แก่ ALP (Alkaline phosphatase), ALT (Alanine aminotransferase), AST (Aspartate transferase), Total protein, Albumin, BUN (Blood urea nitrogen), Creatinine, Glucose, Uric acid, Bilirubin, Triglyceride, Cholesterol, Sodium, Chloride, Calcium และ Phosphorus โดยเครื่องตรวจวิเคราะห์ค่าชีวเคมีอัตโนมัติ Johnson&Johnson Company รุ่น Vitros® 250 จากนั้นทำการผ่าซากตรวจสอบรอยโรคของอวัยวะต่างๆ ที่มองเห็นด้วยตาเปล่า (Gross lesion) ซึ่งน้ำหนักอวัยวะแล้วคำนวณค่าน้ำหนักอวัยวะสัมพันธ์ (% relative organ weight) และเก็บอวัยวะแช่ลงในสารละลายบัฟเฟอร์ฟอร์มาลิน 10% เพื่อนำไปเตรียมสไลด์สำหรับการตรวจหาการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยา (Histopathology)

การวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติเชิงพรรณนา และการทดสอบสมมติฐานด้วยสถิติวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทิศทางเดียว (one-way ANOVA ที่ $p < 0.05$) หากผลการวิเคราะห์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จะทดสอบความแตกต่างของกลุ่มทดลองกับกลุ่มควบคุมด้วย Dunnett's t test เมื่อความแปรปรวนมีค่าเท่ากัน หรือสถิติ Dunnett's T3 เมื่อความแปรปรวนมีค่าไม่เท่ากัน วิเคราะห์ความแตกต่างของสัดส่วนในกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมด้วยสถิติ Pearson Chi-Square Exact Test วิเคราะห์หาความสัมพันธ์ของขนาดตัวอย่างที่ได้รับกับค่าทางโลหิตวิทยาหรือค่าโลหิตชีวเคมีด้วยสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ Pearson Correlation Coefficient วิเคราะห์หาความสัมพันธ์ทางพยาธิวิทยาและจุลพยาธิวิทยากับขนาดตัวอย่างที่ได้รับด้วยสถิติ Fisher's Exact Test ที่ $p < 0.05$

ผล

การทดสอบพิษเฉียบพลัน

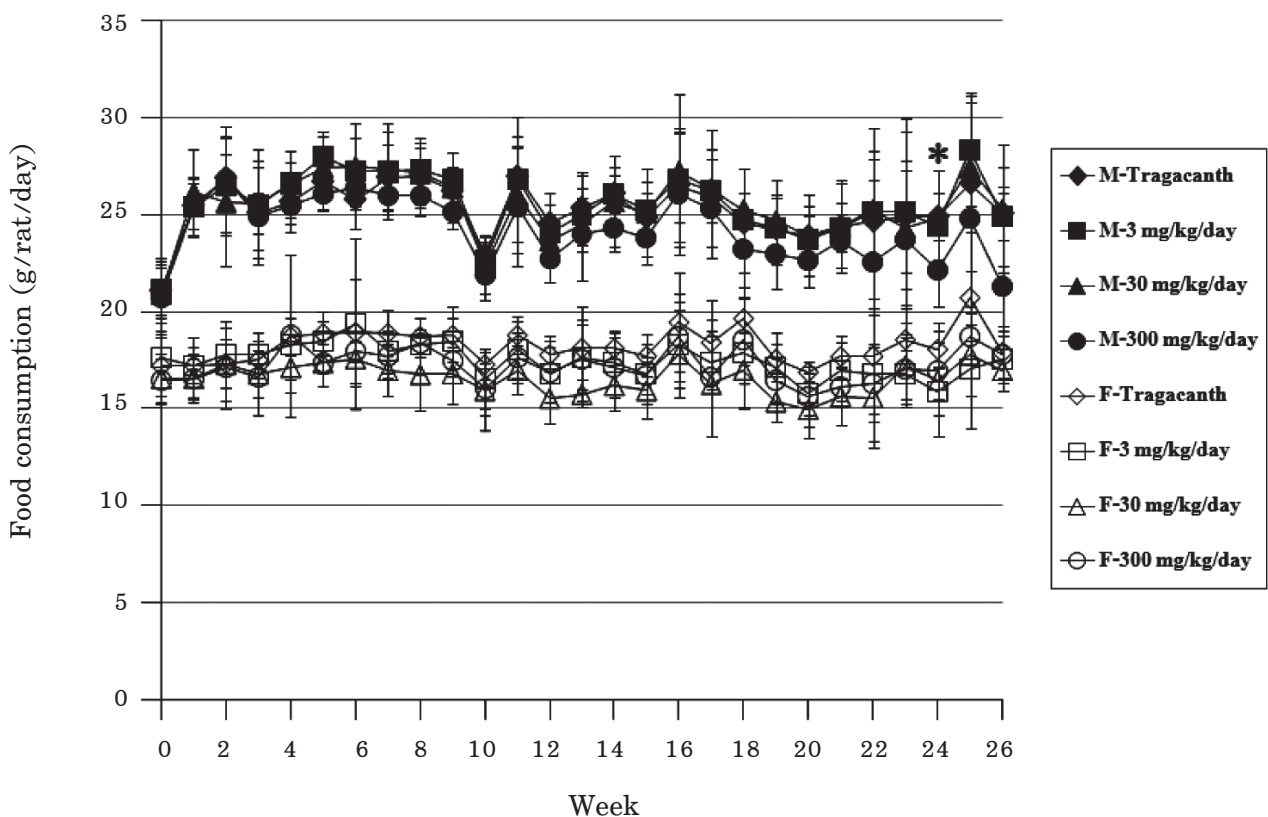
หนูสองกลุ่มแรกที่ได้รับสารสกัดใบพลูที่ขนาด 300 มก./กก. (จำนวน 6 ตัว) ภายหลังการป้อน ไม่พบอาการผิดปกติและไม่พบหนูตายเมื่อครบกำหนด 14 วันของการทดลอง หนูสองกลุ่มหลังที่ได้รับสารสกัดใบพลูที่ขนาด 2,000 มก./กก. พบว่าหนู 2 ตัวของการทดสอบครั้งแรก (จากจำนวน 3 ตัว) มีอาการขนบริเวณลำตัวตั้ง (Piloerection) เล็กน้อยที่สังเกตเห็นได้ โดยพบอาการต่างๆ นี้ที่ระยะเวลา 30 นาที ไปจนถึง 60 นาที ภายหลังจากการได้รับสารสกัด (ไม่ได้แสดงผล)

การทดสอบพิษเรื้อรัง

การกินอาหารและน้ำ

หนูแรพเพคเมียทั้ง 3 กลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลูทั้ง 3 ขนาด เป็นเวลานาน 180 วัน (26 สัปดาห์) พบว่าปริมาณอาหารที่หนูแรพเพคเมียเฉลี่ยต่อสัปดาห์ มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารละลาย 1.0% Tragacanth ส่วนในหนูแรพเพคเมียพบปริมาณการกินอาหารเฉลี่ยต่อสัปดาห์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในสัปดาห์ที่ 24 ของกลุ่มหนูที่ได้รับสารสกัดใบพลูขนาด 300 มก./กก./วัน เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารละลาย 1.0% Tragacanth (p -value = 0.047) (ภาพที่ 1)

ผลต่อการกินน้ำพบว่าในกลุ่มทดสอบของหนูแรพเพคเมียและเพศผู้มีแนวโน้มของการกินน้ำที่ลดลง แต่มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารละลาย 1.0% Tragacanth (ไม่ได้แสดงผล)

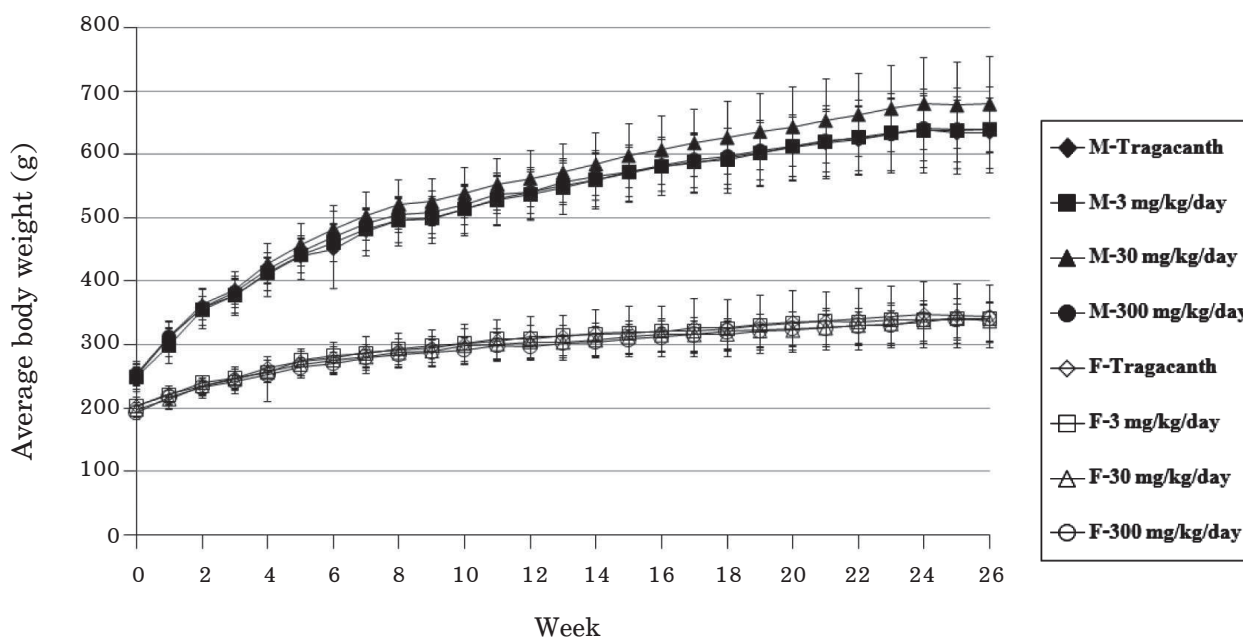


ภาพที่ 1 การกินอาหารของหนูแรพเพคเมีย (M) และเพศเมีย (F) ที่ได้รับสารสกัดใบพลูเป็นเวลา 180 วัน

* แตกต่างจากกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารละลาย 1.0% Tragacanth อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ค่าในภาพแสดงในรูปค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

อัตราการเจริญเติบโต

ผลต่อการเจริญเติบโตพบว่า หนูแรทเพศเมียกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลูตลอดการทดลอง 180 วัน มีค่าน้ำหนักตัวเฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารละลาย 1% tragacanth ส่วนผลต่อการเจริญเติบโตในหนูแรทเพศผู้พบว่า หนูแรทกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลูตลอดการทดลองทั้งสามขนาด มีการเจริญเติบโตที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารละลาย 1% tragacanth เช่นเดียวกัน (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 การเจริญเติบโตของหนูแรทเพศผู้ (M) และเพศเมีย (F) ที่ได้รับสารสกัดใบพลูเป็นเวลา 180 วัน ค่าในภาพแสดงในรูปค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

อาการหรือพฤติกรรมที่ผิดปกติ

จากการทดสอบเป็นระยะเวลา 180 วัน ในหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลูทั้งสองเพศ ไม่พบความผิดปกติของอาการหรือพฤติกรรมที่สังเกตได้ในด้านการเดิน การทรงตัว ดวงตา สีของเยื่อเมือก ระบบขับถ่ายปัสสาวะ สภาพขนและผิวหนัง

ผลต่อค่าโลหิตวิทยา

ผลต่อค่าโลหิตวิทยาต่างๆ ของกลุ่มหนูแรทเพศเมียและกลุ่มหนูแรทเพศผู้ที่ได้รับสารสกัดใบพลูในขนาด 3 ถึง 300 มก./กก./วัน (ตารางที่ 1 และ 2) ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารละลาย 1.0% Tragacanth

ตารางที่ 1 ค่าโลหิตวิทยาของหนูแรพเทศเมียที่ได้รับสารสกัดใบพลูเป็นเวลา 180 วัน

Parameters	กลุ่มหนูที่ได้รับสารสกัดใบพลู (มก./กก./วัน)				
	1.0% Tragacanth n = 13	3 n = 14	30 n = 14	300 n = 13	300-R n = 11
RBC ($\times 10^6$ cells/ μ L)	7.87 $\pm$ 0.37	8.06 $\pm$ 0.60	8.00 $\pm$ 0.21	7.52 $\pm$ 0.42	7.78 $\pm$ 0.33
Hemoglobin (g/dL)	14.06 $\pm$ 0.54	14.79 $\pm$ 0.36	14.72 $\pm$ 0.52	14.06 $\pm$ 0.62	14.52 $\pm$ 0.71
Hematocrit (%)	44.29 $\pm$ 2.09	47.07 $\pm$ 1.98	46.50 $\pm$ 1.74	44.38 $\pm$ 2.63	45.73 $\pm$ 2.15
MCV (fL)	55.96 $\pm$ 1.74	58.39 $\pm$ 2.88	57.96 $\pm$ 3.24	58.83 $\pm$ 3.09	59.40 $\pm$ 3.89
MCH (pg)	18.52 $\pm$ 0.43	18.44 $\pm$ 0.69	18.21 $\pm$ 0.70	18.61 $\pm$ 0.53	18.52 $\pm$ 0.58
MCHC (g/dL)	32.76 $\pm$ 0.47	31.21 $\pm$ 1.02	31.34 $\pm$ 1.06	31.48 $\pm$ 1.32	31.38 $\pm$ 1.00
WBC (cells/ μ L)	1,864.29 $\pm$ 722.82	2,185.71 $\pm$ 903.72	2,042.86 $\pm$ 1,190.81	2,407.69 $\pm$ 1,049.18	2,890.91 $\pm$ 699.22
Neutrophil (%)	17.20 $\pm$ 3.27	16.43 $\pm$ 2.99	20.50 $\pm$ 5.39	18.88 $\pm$ 4.39	20.90 $\pm$ 5.82
Basophil (%)	1.4 $\pm$ 0.89	1.57 $\pm$ 0.95	1.00 $\pm$ 0.63	0.75 $\pm$ 0.46	3.14 $\pm$ 2.34
Lymphocyte (%)	76.60 $\pm$ 2.00	76.71 $\pm$ 1.98	73.00 $\pm$ 6.60	75.00 $\pm$ 5.61	72.50 $\pm$ 7.03
Enosinophil (%)	2.60 $\pm$ 0.96	2.71 $\pm$ 0.95	2.83 $\pm$ 1.33	2.88 $\pm$ 1.36	2.70 $\pm$ 0.95
Monocyte (%)	2.20 $\pm$ 0.87	2.57 $\pm$ 0.98	2.67 $\pm$ 1.51	2.50 $\pm$ 0.76	1.80 $\pm$ 0.92
Platelets ($\times 10^5$ cells/ μ L)	7.44 $\pm$ 1.55	8.28 $\pm$ 1.19	8.56 $\pm$ 1.14	8.67 $\pm$ 0.67	8.15 $\pm$ 0.83
Reticulocyte (%)	1.18 $\pm$ 0.85	1.27 $\pm$ 0.84	1.29 $\pm$ 0.74	1.10 $\pm$ 0.78	0.48 $\pm$ 0.39

ค่าในตารางแสดงในรูปค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน R = Recovery group

ตารางที่ 2 ค่าโลหิตวิทยาของหนูแรพเทศผู้ที่ได้รับสารสกัดใบพลูเป็นเวลา 180 วัน

Parameters	กลุ่มหนูที่ได้รับสารสกัดใบพลู (มก./กก./วัน)				
	1.0% Tragacanth n = 13	3 n = 14	30 n = 14	300 n = 13	300-R n = 12
RBC ($\times 10^6$ cells/ μ L)	8.40 $\pm$ 0.39	8.29 $\pm$ 0.42	8.49 $\pm$ 0.44	8.12 $\pm$ 0.22	8.06 $\pm$ 0.53
Hemoglobin (g/dL)	14.88 $\pm$ 0.53	14.99 $\pm$ 1.08	14.41 $\pm$ 0.81	14.35 $\pm$ 0.24	14.28 $\pm$ 0.90
Hematocrit (%)	45.08 $\pm$ 1.89	45.14 $\pm$ 2.66	45.93 $\pm$ 2.30	45.46 $\pm$ 1.71	44.67 $\pm$ 3.39
MCV (fL)	53.19 $\pm$ 1.96	53.69 $\pm$ 2.16	53.36 $\pm$ 4.46	55.38 $\pm$ 2.76	56.58 $\pm$ 4.61
MCH (pg)	17.62 $\pm$ 0.60	17.66 $\pm$ 0.43	21.25 $\pm$ 16.19	17.60 $\pm$ 0.46	17.70 $\pm$ 1.13
MCHC (g/dL)	32.72 $\pm$ 0.47	33.0 $\pm$ 2.34	31.11 $\pm$ 0.97	31.37 $\pm$ 1.27	31.71 $\pm$ 1.20
WBC (cells/ μ L)	3,961.54 $\pm$ 1,247.36	3,228.57 $\pm$ 1,5497.80	4,235.71 $\pm$ 1,576.56	3,751.38 $\pm$ 1,597.84	4,366.67 $\pm$ 1,603.59
Neutrophil (%)	17.25 $\pm$ 4.97	18.60 $\pm$ 4.12	20.25 $\pm$ 8.34	19.55 $\pm$ 3.96	23.68 $\pm$ 5.85
Basophil (%)	1.86 $\pm$ 1.21	1.50 $\pm$ 0.97	1.83 $\pm$ 1.03	1.44 $\pm$ 0.53	2.38 $\pm$ 1.06
Lymphocyte (%)	75.33 $\pm$ 6.21	73.30 $\pm$ 5.25	72.17 $\pm$ 9.50	73.45 $\pm$ 4.76	70.75 $\pm$ 5.38
Enosinophil (%)	3.67 $\pm$ 2.02	3.70 $\pm$ 1.64	3.25 $\pm$ 1.22	3.09 $\pm$ 1.04	2.83 $\pm$ 0.83
Monocyte (%)	2.67 $\pm$ 1.15	2.90 $\pm$ 0.99	2.50 $\pm$ 1.09	2.73 $\pm$ 1.01	1.75 $\pm$ 0.75
Platelets ($\times 10^5$ cells/ μ L)	8.30 $\pm$ 1.96	9.00 $\pm$ 1.16	8.41 $\pm$ 2.3	8.88 $\pm$ 1.61	9.19 $\pm$ 0.70
Reticulocyte (%)	1.24 $\pm$ 0.87	1.80 $\pm$ 0.69	1.25 $\pm$ 0.69	1.24 $\pm$ 0.57	1.05 $\pm$ 0.53

ค่าในตารางแสดงในรูปค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน R = Recovery group

ผลต่อค่าชีวเคมี

ผลต่อค่าชีวเคมีของหนูแรทเพศเมียที่ได้รับสารสกัดใบพลูเป็นเวลา 180 วัน (ตารางที่ 3) พบว่ามีค่าเอนไซม์ ALT ของหนูแรทกลุ่ม Recovery ที่ได้รับสารสกัดใบพลูขนาด 300 มก./กก./วัน มีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมที่ได้รับสารละลาย 1.0% Tragacanth อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.032$) หนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลูขนาด 30 ถึง 300 มก./กก./วัน และกลุ่ม Recovery มีค่า Calcium สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$; $p < 0.001$; $p = 0.011$ ตามลำดับ) โดยสัมพันธ์กับขนาดของสารสกัดใบพลูที่ได้รับ ($p < 0.001$) หนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลูขนาด 300 มก./กก./วัน มีค่า Cholesterol สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.010$) โดยสัมพันธ์กับขนาดของสารสกัดใบพลูที่ได้รับ ($p = 0.003$) ส่วนหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลูขนาด 300 มก./กก./วัน มีค่า Glucose สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.008$) โดยสัมพันธ์กับขนาดของสารสกัดใบพลูที่ได้รับ ($p = 0.005$)

ตารางที่ 3 ค่าชีวเคมีของหนูแรทเพศเมียที่ได้รับสารสกัดใบพลูเป็นเวลา 180 วัน

Parameters	กลุ่มหนูที่ได้รับสารสกัดใบพลู (มก./กก./วัน)				
	1.0% Tragacanth n = 13	3 n = 14	30 n = 14	300 n = 13	300-R n = 11
AST (U/L)	79.77 ± 15.40	84.43 ± 16.64	88.43 ± 21.35	93.00 ± 48.31	119.27 ± 100.08
ALT (U/L)	39.23 ± 6.78	38.71 ± 6.96	40.07 ± 8.68	41.31 ± 8.86	64.09 ± 46.47*
ALP (U/L)	56.31 ± 13.06	55.21 ± 18.86	59.14 ± 23.16	57.23 ± 19.58	55.27 ± 12.58
Total Bilirubin (mg/dL)	0.12 ± 0.04	0.16 ± 0.16	0.16 ± 0.10	0.15 ± 0.07	0.12 ± 0.04
BUN (mg/dL)	17.08 ± 2.23	17.71 ± 2.76	17.21 ± 3.45	19.69 ± 3.47	16.36 ± 2.66
Creatinine (mg/dL)	0.35 ± 0.05	0.37 ± 0.05	0.39 ± 0.06	0.40 ± 0.07	0.35 ± 0.05
Cholesterol (mg/dL)	82.15 ± 11.38	93.86 ± 18.99	95.75 ± 14.96	107.62 ± 21.54*	101.36 ± 23.17
Triglyceride (mg/dL)	90.92 ± 37.04	93.29 ± 48.91	111.29 ± 93.31	73.23 ± 43.67	68.73 ± 28.40
Total protein (g/dL)	5.97 ± 0.78	6.59 ± 0.63	6.91 ± 0.50*	7.16 ± 0.43*	6.60 ± 0.44
Albumin (g/dL)	3.51 ± 0.35	3.90 ± 0.56	4.24 ± 0.55*	4.44 ± 0.34*	3.88 ± 0.41
Globulin (g/dL)	2.46 ± 0.72	2.69 ± 0.18	2.67 ± 0.09	2.72 ± 0.43	2.72 ± 0.09
Uric acid (mg/dL)	1.55 ± 0.20	1.42 ± 0.27	1.21 ± 0.26*	0.96 ± 0.30*	1.05 ± 0.22*
Glucose (mg/dL)	128.00 ± 23.05	136.79 ± 6.90	138.93 ± 19.71	152.15 ± 19.27*	147.64 ± 14.58
Sodium (mmol/L)	146.92 ± 3.07	151.71 ± 4.84*	156.50 ± 4.40*	160.54 ± 5.36*	154.91 ± 3.83*
Potassium (mmol/L)	3.98 ± 0.34	4.21 ± 0.78	4.14 ± 0.41	4.01 ± 0.38	3.75 ± 0.22
Chloride (mmol/L)	105.02 ± 3.70	109.86 ± 3.76	113.07 ± 3.69*	117.00 ± 4.43*	113.00 ± 2.14*
Calcium (mg/dL)	10.56 ± 0.36	10.89 ± 0.61	11.53 ± 0.53*	11.90 ± 0.64*	11.31 ± 0.57*
Phosphorus (mg/dL)	4.12 ± 0.93	4.76 ± 0.78	5.43 ± 0.81*	5.86 ± 0.93*	4.93 ± 1.14

หนูแรพเพคเมียกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลูขนาด 30 ถึง 300 มก./กก./วัน และกลุ่ม Recovery มีค่า Uric acid ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.008$, $p < 0.001$, $p < 0.001$ ตามลำดับ) โดยสัมพันธ์กับขนาดของสารสกัดใบพลูที่ได้รับ ($p < 0.001$) หนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลูขนาด 30 ถึง 300 มก./กก./วัน และกลุ่ม Recovery มีค่า Chloride สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$, $p < 0.001$, $p < 0.001$ ตามลำดับ) โดยสัมพันธ์กับขนาดของสารสกัดใบพลูที่ได้รับ ($p < 0.001$) หนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลูขนาด 3 ถึง 300 มก./กก./วัน และกลุ่ม Recovery มีค่า Sodium สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.033$, $p < 0.001$, $p < 0.001$, $p < 0.001$ ตามลำดับ) โดยสัมพันธ์กับขนาดของสารสกัดใบพลูที่ได้รับ ($p < 0.001$) หนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลูขนาด 30 ถึง 300 มก./กก./วัน มีค่า Phosphorus สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.009$, $p < 0.001$ ตามลำดับ) โดยสัมพันธ์กับขนาดของสารสกัดใบพลูที่ได้รับ ($p = 0.001$) ส่วนหนูแรพเพคเมียกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลูขนาด 30 ถึง 300 มก./กก./วัน มีค่า Total Protein และ Albumin สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.001$) โดยสัมพันธ์กับขนาดของสารสกัดใบพลูที่ได้รับ ($p = 0.001$)

ผลต่อค่าชีวเคมีของหนูแรพเพคเมียที่ได้รับสารสกัดใบพลูเป็นเวลา 180 วัน (ตารางที่ 4) พบว่าค่าเอนไซม์ AST ของหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลูขนาด 300 มก./กก./วัน และกลุ่ม Recovery มีค่าต่ำกว่ากลุ่มควบคุมที่ได้รับสารละลาย 1.0% Tragacanth อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.007$; $p = 0.046$ ตามลำดับ) โดยสัมพันธ์กับขนาดของสารสกัดใบพลูที่ได้รับ ($p = 0.014$) หนูแรพเพคเมียกลุ่ม Recovery มีค่า BUN และค่า Creatinine ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.026$; $p = 0.045$ ตามลำดับ) หนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลูขนาด 3 ถึง 300 มก./กก./วัน มีค่า Calcium สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.003$; $p < 0.001$; $p < 0.001$ ตามลำดับ) โดยสัมพันธ์กับขนาดของสารสกัดใบพลูที่ได้รับ ($p < 0.001$)

หนูแรพเพคเมียกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลูขนาด 30 ถึง 300 มก./กก./วัน มีค่า Uric acid ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.026$; $p < 0.001$ ตามลำดับ) โดยสัมพันธ์กับขนาดของสารสกัดใบพลูที่ได้รับ ($p < 0.001$) หนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลูขนาด 3 ถึง 300 มก./กก./วัน มีค่า Sodium และ Chloride สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Sodium: $p = 0.003$, $p < 0.001$, $p < 0.001$ ตามลำดับ; Chloride: $p = 0.025$, $p < 0.001$, $p < 0.001$ ตามลำดับ) โดยสัมพันธ์กับขนาดของสารสกัดใบพลูที่ได้รับ ($p < 0.001$)

หนูแรพเพคเมียกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลูขนาด 30 ถึง 300 มก./กก./วัน มีค่า Total Protein และ Albumin สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.024$; $p < 0.001$ ตามลำดับ) โดยสัมพันธ์กับขนาดของสารสกัดใบพลูที่ได้รับ ($p = 0.001$) หนูแรพเพคเมียกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลูขนาด 30 ถึง 300 มก./กก./วัน มีค่า Albumin ที่สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยสัมพันธ์กับขนาดของสารสกัดใบพลูที่ได้รับ ($p = 0.001$)

ผลต่อน้ำหนักอวัยวะสัมพันธ์และความผิดปกติของอวัยวะภายใน

จากการเปรียบเทียบน้ำหนักสัมพันธ์ของอวัยวะต่างๆ ระหว่างหนูแรพเพคเมีย (ตารางที่ 5) ที่ได้รับสารสกัดใบพลูเป็นเวลา 180 วัน เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารละลาย 1.0% Tragacanth พบมีการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญของน้ำหนักสัมพันธ์กระเพาะอาหารในหนูกลุ่ม Recovery ($p = 0.012$) โดยสัมพันธ์กับขนาดของสารสกัดใบพลูที่ได้รับ ($p = 0.016$) ส่วนน้ำหนักสัมพันธ์ของอวัยวะต่างๆ ของหนูแรพเพคเมียที่ได้รับสารสกัดทั้ง 4 กลุ่มไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารละลาย 1.0% Tragacanth (ตารางที่ 6) ผลการตรวจ

ความผิดปกติทางมหัพยาธิวิทยา (Gross Anatomy) ของอวัยวะภายในต่าง ๆ จากการผ่าซากหลังสิ้นสุดการทดลองของหนูแรพเพคเมีย ไม่พบลักษณะอาการที่เกิดจากการได้รับสารสกัดใบพลู ส่วนหนูแรพเพคเมียพบเพียงลักษณะ 1 จุดเล็ก ๆ (1 spotted lesion) ที่ผิวหนังในหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 3 มก./กก./วัน (จำนวนหนูที่พบอาการ 1 ตัว ต่อหนูทดสอบ 14 ตัว) โดยอาการหรือการเปลี่ยนแปลงทางมหัพยาธิวิทยาที่พบนี้ไม่สัมพันธ์กับขนาดของสารสกัดที่ได้รับ ส่วนหนูแรพเพคเมียและเพศผู้ที่ตายระหว่างการทดสอบของกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับสารสกัดในขนาด 300 มก./กก./วัน และกลุ่ม recovery เนื่องมาจากการสำลักยาเข้าปอดขณะป้อน

ตารางที่ 4 ค่าชีวเคมีของหนูแรพเพคเมียที่ได้รับสารสกัดใบพลูเป็นเวลา 180 วัน

Parameters	กลุ่มหนูที่ได้รับสารสกัดใบพลู (มก./กก./วัน)				
	1.0% Tragacanth n = 13	3 n = 14	30 n = 14	300 n = 13	300-R n = 12
AST (U/L)	90.62 ± 27.64	74.21 ± 17.73	77.86 ± 12.38	65.85 ± 11.10*	70.25 ± 16.01*
ALT (U/L)	43.62 ± 13.49	41.64 ± 10.57	38.93 ± 9.38	34.31 ± 4.17	37.42 ± 10.31
ALP (U/L)	87.38 ± 25.44	101.57 ± 21.36	107.21 ± 30.60	86.08 ± 28.12	84.17 ± 17.02
Total Bilirubin (mg/dL)	0.12 ± 0.06	0.10 ± 0.00	0.11 ± 0.03	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00
BUN (mg/dL)	20.54 ± 3.64	19.21 ± 2.75	19.57 ± 3.11	20.08 ± 3.88	16.67 ± 2.06*
Creatinine (mg/dL)	0.44 ± 0.07	0.39 ± 0.07	0.37 ± 0.06	0.41 ± 0.03	0.37 ± 0.05*
Cholesterol (mg/dL)	121.23 ± 85.79	149.57 ± 76.51	124.50 ± 39.60	132.23 ± 62.82	154.17 ± 83.66
Triglyceride (mg/dL)	160.38 ± 69.96	179.57 ± 59.56	192.71 ± 105.76	197.54 ± 78.49	200.00 ± 82.24
Total protein (g/dL)	5.87 ± 0.02	6.04 ± 0.24	6.24 ± 0.35*	6.51 ± 0.36*	5.84 ± 0.18
Albumin (g/dL)	2.95 ± 0.23	3.13 ± 0.20	3.26 ± 0.29*	3.52 ± 0.35*	2.88 ± 0.21
Globulin (g/dL)	2.92 ± 0.20	2.91 ± 0.17	2.98 ± 0.14	2.99 ± 0.19	2.97 ± 0.19
Uric acid (mg/dL)	1.82 ± 0.41	1.48 ± 0.28	1.36 ± 0.26*	1.12 ± 0.14*	1.45 ± 0.23
Glucose (mg/dL)	129.00 ± 28.80	127.21 ± 18.40	143.36 ± 25.65	146.08 ± 16.05	122.25 ± 10.49
Sodium (mmol/L)	144.00 ± 2.08	148.07 ± 2.87*	151.43 ± 4.67*	157.92 ± 5.57*	145.92 ± 3.18
Potassium (mmol/L)	4.75 ± 0.55	4.71 ± 0.39	4.64 ± 0.44	4.69 ± 0.38	4.27 ± 0.63
Chloride (mmol/L)	102.00 ± 2.48	105.29 ± 2.61*	108.36 ± 2.02*	133.38 ± 4.31*	104.92 ± 3.23
Calcium (mg/dL)	10.42 ± 0.30	10.92 ± 0.32*	11.21 ± 0.50*	11.81 ± 0.55*	10.65 ± 0.20
Phosphorus (mg/dL)	5.84 ± 0.65	6.04 ± 1.03	5.94 ± 1.10	5.95 ± 0.55	5.42 ± 0.63

ตารางที่ 5 น้ำหนักอวัยวะสัมพันธ์ (กรัม/น้ำหนักตัว 100 กรัม) ของหนูแรพเทศเมียที่ได้รับสารสกัดใบพลู เป็นเวลา 180 วัน

อวัยวะ	กลุ่มหนูที่ได้รับสารสกัดใบพลู (มก./กก./วัน)				
	1.0% Tragacanth n = 13	3 n = 14	30 n = 14	300 n = 13	300-R n = 11
สมอง	0.582 ± 0.083	0.565 ± 0.072	0.601 ± 0.067	0.567 ± 0.077	0.573 ± 0.056
หัวใจ	0.292 ± 0.026	0.283 ± 0.035	0.291 ± 0.028	0.298 ± 0.033	0.301 ± 0.033
ต่อมไทมัส	0.102 ± 0.042	0.103 ± 0.034	0.100 ± 0.044	0.095 ± 0.044	0.081 ± 0.037
ปอด	0.374 ± 0.047	0.381 ± 0.051	0.362 ± 0.055	0.382 ± 0.081	0.398 ± 0.047
ตับ	2.730 ± 0.259	2.682 ± 0.396	2.908 ± 0.491	2.864 ± 0.392	2.929 ± 0.402
กระเพาะอาหาร	0.476 ± 0.051	0.480 ± 0.062	0.516 ± 0.053	0.551 ± 0.132	0.580 ± 0.060*
ม้าม	0.185 ± 0.016	0.193 ± 0.039	0.190 ± 0.017	0.177 ± 0.061	0.191 ± 0.035
ต่อมหมวกไตซ้าย	0.013 ± 0.002	0.013 ± 0.003	0.014 ± 0.002	0.012 ± 0.003	0.013 ± 0.002
ต่อมหมวกไตขวา	0.013 ± 0.003	0.013 ± 0.002	0.013 ± 0.003	0.013 ± 0.003	0.012 ± 0.003
ไตซ้าย	0.303 ± 0.036	0.308 ± 0.039	0.310 ± 0.035	0.303 ± 0.039	0.323 ± 0.027
ไตขวา	0.317 ± 0.040	0.318 ± 0.034	0.317 ± 0.037	0.314 ± 0.040	0.333 ± 0.037
กระเพาะปัสสาวะ	0.029 ± 0.006	0.027 ± 0.006	0.028 ± 0.007	0.026 ± 0.037	0.031 ± 0.006
รังไข่ซ้าย	0.023 ± 0.006	0.026 ± 0.004	0.024 ± 0.005	0.026 ± 0.008	0.023 ± 0.006
รังไข่ขวา	0.021 ± 0.006	0.020 ± 0.005	0.021 ± 0.004	0.022 ± 0.005	0.020 ± 0.006
มดลูก	0.300 ± 0.126	0.203 ± 0.057	0.226 ± 0.049	0.233 ± 0.070	0.282 ± 0.049

ค่าในตารางแสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

R = Recovery group

*แตกต่างจากกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารละลาย 1.0% Tragacanth อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p < 0.05)

ผลการตรวจอวัยวะทางจุลพยาธิวิทยา

ผลการตรวจทางจุลพยาธิวิทยาในหนูแรพเทศเมียที่ได้รับสารสกัดใบพลูทั้ง 3 ขนาด และของกลุ่ม recovery เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารละลาย 1.0% Tragacanth (ตารางที่ 7) ไม่พบความผิดปกติของสมอง ปอด ม้าม กระเพาะอาหาร ลำไส้ตับอ่อน ต่อมไทมัส ต่อมทรอยด์ ต่อมหมวกไต รังไข่ มดลูก และไขกระดูก หนูแรพเทศเมียของกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับสารสกัดที่ขนาด 300 มก./กก./วัน พบหัวใจมีการอักเสบระดับอ่อนในลักษณะ 1 focal myocarditis ซึ่งมีสัดส่วนที่ไม่แตกต่างกัน การเสื่อมของเซลล์ตับชนิด lobular vacuolar degeneration ในหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 3 และ 30 มก./กก./วัน มีสัดส่วนที่ไม่แตกต่างกัน พบการอักเสบระดับอ่อนที่เซลล์ตับในลักษณะ 1-2 small foci of hepatitis ในหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 3, 30 และ 300 มก./กก./วัน พบการอักเสบในระดับปานกลางที่เซลล์ตับในลักษณะ 3-6 small foci of hepatitis ในหนูกลุ่ม recovery และพบการอักเสบระดับรุนแรงเป็นบริเวณกว้างที่เซลล์ตับ (large area of hepatitis) ในหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 300 มก./กก./วัน ใต้พบการอักเสบระดับอ่อนในลักษณะ 1 focal nephritis ในหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 3 มก./กก./วัน พบลักษณะของตะกอนในท่อหน่วยไต (cast in renal tubules) ในหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 30 และ 300 มก./กก./วัน นอกจากนี้ยังพบลักษณะเลือดออกที่ไตส่วนใน (medullary hemorrhage) ในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 30 มก./กก./วัน โดยทั้งนี้ลักษณะการพบจุลพยาธิสภาพที่หัวใจและไตไม่มี

ตารางที่ 6 น้ำหนักอวัยวะสัมพันธ์ (กรัม/น้ำหนักตัว 100 กรัม) ของหนูแรพเพสคูที่ได้รับสารสกัดใบพลู เป็นเวลา 180 วัน (ต่อ)

Parameters	กลุ่มหนูที่ได้รับสารสกัดใบพลู (มก./กก./วัน)				
	1.0% Tragacanth n = 13	3 n = 14	30 n = 14	300 n = 13	300-R n = 12
สมอง	0.345 ± 0.033	0.338 ± 0.038	0.323 ± 0.032	0.339 ± 0.031	0.343 ± 0.037
หัวใจ	0.226 ± 0.022	0.229 ± 0.029	0.230 ± 0.022	0.235 ± 0.020	0.225 ± 0.017
ต่อมไทมัส	0.083 ± 0.032	0.074 ± 0.026	0.079 ± 0.033	0.073 ± 0.033	0.065 ± 0.040
ปอด	0.290 ± 0.036	0.296 ± 0.049	0.257 ± 0.034	0.276 ± 0.020	0.288 ± 0.050
ตับ	2.899 ± 0.541	3.058 ± 0.399	2.756 ± 0.756	3.058 ± 0.390	3.047 ± 0.270
กระเพาะอาหาร	0.394 ± 0.044	0.402 ± 0.060	0.556 ± 0.605	0.493 ± 0.050	0.461 ± 0.044
ม้าม	0.166 ± 0.017	0.166 ± 0.031	0.182 ± 0.065	0.162 ± 0.019	0.176 ± 0.021
ต่อมหมวกไตซ้าย	0.006 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.005 ± 0.001
ต่อมหมวกไตขวา	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.001
ไตซ้าย	0.267 ± 0.034	0.281 ± 0.034	0.246 ± 0.072	0.282 ± 0.033	0.299 ± 0.030
ไตขวา	0.272 ± 0.035	0.290 ± 0.041	0.271 ± 0.025	0.291 ± 0.037	0.305 ± 0.029
กระเพาะปัสสาวะ	0.025 ± 0.005	0.021 ± 0.008	0.025 ± 0.004	0.027 ± 0.007	0.029 ± 0.008
อวัยวะชาย	0.297 ± 0.022	0.300 ± 0.038	0.273 ± 0.030	0.310 ± 0.038	0.289 ± 0.041
อวัยวะขวา	0.293 ± 0.025	0.296 ± 0.034	0.279 ± 0.029	0.304 ± 0.034	0.285 ± 0.040
ท่อน้ำเชื้อซ้าย	0.142 ± 0.022	0.124 ± 0.018	0.126 ± 0.023	0.138 ± 0.020	0.133 ± 0.025
ท่อน้ำเชื้อขวา	0.130 ± 0.016	0.130 ± 0.041	0.121 ± 0.026	0.136 ± 0.029	0.136 ± 0.019

ความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม ส่วนการพบเซลล์ตับที่มีการเสื่อมแบบ lobular vacuolar degeneration ก็ถือว่าไม่มี ความแตกต่างเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ยกเว้นลักษณะของการเกิดการอักเสบที่ตับโดยรวม (small foci of hepatitis and large area of hepatitis) จะพบได้อย่างมีนัยสำคัญในหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 300 มก./กก./วัน (p-value =0.015) และกลุ่ม recovery (p-value =0.031) เมื่อเทียบกับหนูกลุ่มควบคุม

ผลการตรวจทางจุลพยาธิวิทยาในหนูแรพเพสคูที่ได้รับสารสกัดใบพลูทั้ง 3 ขนาด และของกลุ่ม recovery ที่ได้รับสารสกัด 300 มก./กก./วัน เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารละลาย 1.0% Tragacanth (ตารางที่ 8) ไม่พบความผิดปกติของสมอง ปอด ม้าม กระเพาะอาหาร ลำไส้ ตับอ่อน ต่อมไทมัส ต่อมไพเรอยด์ ต่อมหมวกไต ท่อน้ำเชื้อ อวัยวะ และไขกระดูก หนูแรพเพสคูของกลุ่มที่ได้รับสารสกัดที่ขนาด 3, 30 และ 300 มก./กก./วัน พบหัวใจมีการอักเสบระดับอ่อนเป็นหย่อมในลักษณะ 1 focal myocarditis ในสัดส่วนที่ไม่แตกต่างจากกลุ่ม ควบคุม การเสื่อมของเซลล์ตับชนิด lobular vacuolar degeneration ในหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับ สารสกัดขนาด 3, 30 และ 300 มก./กก./วัน มีสัดส่วนที่ไม่แตกต่างกัน พบการอักเสบระดับอ่อนที่เซลล์ตับใน ลักษณะ 1-2 small foci of hepatitis ในหนูกลุ่มควบคุม หนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 30 และ 300 มก./กก./ วัน และหนูกลุ่ม recovery พบการอักเสบระดับปานกลางที่เซลล์ตับในลักษณะ 3-5 small foci of hepatitis ในหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 3 มก./กก./วัน ไม่พบการอักเสบเป็นวงกว้างในลักษณะ

ตารางที่ 7 ผลการตรวจเนื้อเยื่ออวัยวะทางจุลพยาธิวิทยาหนูแรพเทศเมียที่ได้รับสารสกัดใบพลูเป็นเวลา 180 วัน

อวัยวะ	พยาธิสภาพที่พบ	กลุ่มหนูที่ได้รับสารสกัดใบพลู (มก./กก./วัน)				
		1.0% Tragacanth n = 13	3 n = 14	30 n = 14	300 n = 13	300-R n = 11
สมอง		N	N	N	N	N
ปอด		N	N	N	N	N
หัวใจ	1 Focal myocarditis	1/13	N	N	1/13	N
ตับ	Lobular vacuolar degeneration	2/13	1/14	3/14	N	N
	1-2 Small foci of hepatitis ^a	N	1/14	1/14	5/13a*	N
	3-6 Small foci of hepatitis ^a	N	N	N	N	4/11 a*
	Large area of hepatitis ^a	N	N	N	1/13 a*	N
ไต	1 Focal nephritis	N	2/14	N	N	N
	Cast in renal tubules	N	N	1/14	1/13	N
	Medullary hemorrhage	N	N	1/14	N	N
ม้าม		N	N	N	N	N
ตับอ่อน		N	N	N	N	N
กระเพาะอาหาร		N	N	N	N	N
ลำไส้		N	N	N	N	N
ต่อมไทมัส		N	N	N	N	N
ต่อมไทรอยด์		N	N	N	N	N
ต่อมหมวกไต		N	N	N	N	N
รังไข่		N	N	N	N	N
มดลูก		N	N	N	N	N
ไขกระดูก		N	N	N	N	N

N = No lesion ค่าในตารางแสดงในรูปจำนวนหนูที่พบพยาธิสภาพ/จำนวนหนูที่ทดสอบ

a* แตกต่างจากกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารละลาย 1.0% Tragacanth อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยคิดจากจุลพยาธิสภาพที่พบการอักเสบในตับโดยรวม (hepatitis) R = Recovery group

1 large focal nephritis ในหนูกลุ่มควบคุม พบการอักเสบของไตในลักษณะ 2 small foci of nephritis ในหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 3 และ 30 มก./กก./วัน พบการอักเสบของไตในลักษณะ 1 small focal interstitial nephritis ในหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 3 มก./กก./วัน และพบการอักเสบที่มีเลือดออกที่เส้นเลือดในไต (a few foci of nephritis with hemolysis in vessels) ในหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 300 มก./กก./วัน โดยทั้งนี้ลักษณะการพบจุลพยาธิสภาพต่างๆ ที่หัวใจ ตับ และไต ถือว่าไม่มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม และลักษณะของการอักเสบเป็นหย่อมเล็กๆ ที่ตับ (small foci of hepatitis) ยังพบได้ในหนูทดลองบางตัวทั้งในกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 3, 30 และ 300 มก./กก./วัน และกลุ่ม recovery

ตารางที่ 8 ผลการตรวจเนื้อเยื่ออวัยวะทางจุลพยาธิวิทยาหนูแรพเพคต์ที่ได้รับสารสกัดใบพลูเป็นเวลา 180 วัน (ต่อ)

อวัยวะ	พยาธิสภาพที่พบ	กลุ่มหนูที่ได้รับสารสกัดใบพลู (มก./กก./วัน)				
		1.0% Tragacanth n = 13	3 n = 14	30 n = 14	300 n = 13	300-R n = 12
สมอง		N	N	N	N	N
ปอด		N	N	N	N	N
หัวใจ	1 Focal myocarditis	N	1/14	1/14	1/13	N
ตับ	Lobular vacuolar degeneration	1/13	3/14	2/14	2/14	N
	1-2 Small foci of hepatitis	2/13	N	1/14	1/14	4/12
	3-5 Small foci of hepatitis	2/13	1/14	N	N	N
ไต	1 Large focal nephritis	1/13	N	N	N	N
	2 Small foci of nephritis	N	2/14	2/14	N	N
	1 Small focal interstitial nephritis	N	2/14	N	N	N
	A few foci of nephritis with hemolysis in vessels	N	N	N	1/14	N
ม้าม		N	N	N	N	N
ตับอ่อน		N	N	N	N	N
กระเพาะอาหาร		N	N	N	N	N
ลำไส้		N	N	N	N	N
ต่อมไทรอยด์		N	N	N	N	N
ต่อมไทมัส		N	N	N	N	N
ต่อมหมวกไต		N	N	N	N	N
ท่อน้ำเชื้อ		N	N	N	N	N
อวัยวะ		N	N	N	N	N

N = No lesion ค่าในตารางแสดงในรูปจำนวนหนูที่พบพยาธิสภาพ/จำนวนหนูที่ทดสอบ R = Recovery group

วิจารณ์

การศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันของสารสกัดใบพลูในหนูไมซ์โดยป้อนสารสกัดที่ขนาด 300 และ 2,000 มก./กก. พบว่าสารสกัดใบพลูไม่ทำให้เกิดอาการพิษเฉียบพลัน และไม่พบการตายเมื่อครบกำหนด 14 วัน ผลจากการทดสอบประเมินได้ว่าสารสกัดใบพลูมีช่วงของค่าขนาดที่ทำให้หนูไมซ์ตายร้อยละ 50 (LD_{50}) ที่มากกว่า 2,000 ถึง 5,000 มก./กก. ดังนั้นจากการจัดแบ่งประเภทความเป็นพิษตามหลักเกณฑ์ของ GHS (Globally Harmonized Classification System)⁽³⁴⁾ อาจถือได้ว่าสารสกัดใบพลูที่ใช้ในการศึกษานี้ จัดอยู่ในประเภทที่ 5 ที่มีความเป็นพิษต่ำ (relatively low acute toxicity hazard)

การศึกษาความเป็นพิษเรื้อรังของสารสกัดใบพลูในหนูแรพเพคต์เป็นระยะเวลา 180 วัน พบว่าการกินอาหารเฉลี่ยในแต่ละสัปดาห์ของหนูแรพเพคต์เมียทั้ง 3 กลุ่ม ที่ได้รับสารสกัดใบพลูทั้ง 3 ขนาด ตั้งแต่ 3 ถึง 300 มก./กก./วัน

มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารละลาย 1.0% Tragacanth ที่เป็นตัวทำละลายในหนูแรพเพศผู้พบเพียงการกินอาหารเฉลี่ยลดลงอย่างมีนัยสำคัญในสัปดาห์ที่ 24 ของกลุ่มหนูที่ได้รับสารสกัดใบพลูขนาด 300 มก./กก./วัน เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ส่วนผลต่อการกินน้ำเฉลี่ยในแต่ละสัปดาห์พบว่า หนูแรพเพศเมียและเพศผู้ทั้ง 3 กลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลูมีแนวโน้มที่ลดลง แต่ก็มีค่าที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมหนูแรพทั้งสองเพศในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลูทั้ง 3 ขนาด มีค่าน้ำหนักตัวเฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งแสดงว่าสารสกัดใบพลูไม่ทำให้เกิดความผิดปกติของการเจริญเติบโตในหนูกลุ่มทดสอบทั้งสองเพศ

จากผลการตรวจค่าโลหิตวิทยาต่างๆ ของกลุ่มหนูแรพเพศเมียและกลุ่มหนูแรพเพศผู้ที่ได้รับสารสกัดใบพลูขนาด 3 ถึง 300 มก./กก./วัน เป็นเวลา 180 วัน ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารละลาย 1.0% Tragacanth ดังนั้นสารสกัดใบพลูไม่น่าจะส่งผลกระทบต่อการสร้างเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวในหนูกลุ่มทดสอบทั้งสองเพศ

ผลการตรวจทางชีวเคมีในหนูแรพเพศเมียพบว่า หนูกลุ่ม Recovery ที่ได้รับสารสกัดใบพลูขนาด 300 มก./กก./วัน เป็นเวลา 180 วัน พบมีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าระดับเอนไซม์ ALT, Calcium และ Chloride ที่เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม แต่ค่าดังกล่าวยังคงอยู่ในช่วงปกติ ในขณะที่ค่าของ Sodium พบว่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ และสูงกว่าช่วงของค่าปกติ^(39,40) หนูแรพกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลูขนาด 300 มก./กก./วัน มีค่า Cholesterol, Calcium, Phosphorus, Glucose, Total Protein และค่า Albumin ที่สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ยังคงถือว่าอยู่ในช่วงปกติ^(9, 40) ยกเว้นค่าของ Sodium และค่า Chloride ที่สูงกว่ากลุ่มควบคุมและค่าปกติ^(39, 40) ส่วนค่า Uric acid ในหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 300 มก./กก./วัน และกลุ่ม Recovery พบมีค่าที่ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ยังคงอยู่ในช่วงปกติ^(39, 40)

หนูแรพเพศเมียมกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลูขนาด 30 มก./กก./วัน มีค่า Calcium, Phosphorus, Total Protein และค่า Albumin ที่สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ยังคงอยู่ในช่วงปกติ^(39, 40) ในขณะที่ค่าของ Sodium และค่า Chloride พบว่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญและมีค่าที่สูงกว่าปกติ^(39, 40) ส่วนค่า Uric acid ในหนูกลุ่มนี้พบค่าที่ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติแต่ยังคงอยู่ในช่วงปกติ^(39, 40) สำหรับหนูแรพเพศเมียมกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลูขนาด 3 มก./กก./วัน พบเพียงค่า Sodium ที่สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและสูงกว่าช่วงปกติ^(39, 40)

ผลการตรวจทางชีวเคมีในหนูแรพเพศผู้พบว่า หนูกลุ่ม Recovery มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าระดับเอนไซม์ AST, BUN และค่า Creatinine ที่ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ยังคงอยู่ในช่วงของค่าปกติ^(39, 40) หนูแรพกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลูขนาด 30 และ 300 มก./กก./วัน พบค่า Calcium, Total Protein และค่า Albumin ที่สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ยังคงอยู่ในช่วงของค่าปกติ^(39, 40) ในขณะที่ค่าของ Sodium และค่า Chloride พบว่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญและมีค่าที่สูงกว่าช่วงของค่าปกติ^(39, 40) ส่วนค่า Uric acid ของหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 30 และ 300 มก./กก./วัน พบมีค่าที่ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติแต่ยังคงอยู่ในช่วงของค่าปกติ^(39, 40) พบการลดลงของค่าเอนไซม์ AST ในหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 300 มก./กก./วัน แต่ยังคงอยู่ในช่วงของค่าปกติ^(39, 40)

การลดลงของค่า Uric acid ในหนูแรพทั้งสองเพศที่ได้รับสารสกัดใบพลูขนาด 30 ถึง 300 มก./กก./วัน สอดคล้องกับผลการทดลองของ Murata K และคณะ⁽⁴¹⁾ ที่พบว่าพืชในวงศ์ Piperaceae มีฤทธิ์ในการยับยั้ง

การทำงานของเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส (Xanthine oxidase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน ก่อให้เกิดอนุโมลอิสระไปละลายเบสพิวรีน (Purine) ส่งผลให้ไฮโปแซนทีน (Hypoxanthine) เปลี่ยนไปเป็นแซนทีน (Xanthine) และจากแซนทีนเป็นกรดยูริก ซึ่งนำไปสู่การเกิดโรคเกาต์ โดยสารสกัดใบพลูที่ระดับความเข้มข้น 50 และ 200 นาโนกรัม/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งเอนไซม์ดังกล่าวได้ร้อยละ 40.7 และ 77.7 ตามลำดับ นอกจากนี้ Murata K และคณะ⁽⁴¹⁾ ยังได้ทำการแยกสารประกอบจากสารสกัดหยาบของใบพลูให้บริสุทธิ์ขึ้น ซึ่งพบว่าสารอัลลิลไพโรแคทีชอล (Allylpyrocatechol-APC) มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสดีที่สุด โดยให้ค่า IC_{50} ที่ 16.7 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งน้อยกว่ายาอัลโลพูรีนอล (Allopurinol) ที่เป็นกลุ่มควบคุมถึงสองเท่า ส่วนเมทิลยูจีนอล (Methyleugenol) และไดไฮโดรมเมทิลยูจีนอล (Dihydromethyleugenol) ให้ค่า IC_{50} ที่ความเข้มข้นสูงกว่า 500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ดังนั้น ควรมีการพัฒนาแยกสารสกัดใบพลูให้มีความบริสุทธิ์สูงขึ้นและศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาเพิ่มเติม เพื่อที่จะนำมาใช้เป็นยารักษาโรคเกาต์ ซึ่งมีความปลอดภัยมากกว่ายาอัลโลพูรีนอลจากการสังเคราะห์

สำหรับหนูแรพเพคผู้กลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลูขนาด 3 มก./กก./วัน พบค่า Calcium, Sodium และค่า Chloride สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ค่าดังกล่าวถือว่ายังคงอยู่ในช่วงปกติตามที่เคยมีรายงานมา^(39, 40)

การเพิ่มขึ้นของระดับอิเล็กโทรไลต์ในซีรัมของค่า Sodium, Chloride และค่า Calcium ตามขนาดที่เพิ่มขึ้นของสารสกัดใบพลูที่ได้รับในหนูทดสอบทั้งสองเพศ (dose-dependent) แสดงให้เห็นว่าสารสกัดใบพลูนี้จะส่งผลต่อสมดุลของอิเล็กโทรไลต์ดังกล่าวในเลือด (electrolyte imbalance) และระดับอิเล็กโทรไลต์ที่สูงขึ้นดังกล่าวจะมีค่าที่ลดลงหลังหยุดป้อนสารสกัดเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ซึ่งจะเห็นได้อย่างชัดเจนในกลุ่มหนูทดสอบเพศผู้ การตอบสนองที่แตกต่างกันในต่างเพศของระดับอิเล็กโทรไลต์ อาจเกิดจากอิทธิพลของฮอร์โมนเพศที่ส่งผลต่อการควบคุมสมดุลของอิเล็กโทรไลต์ในไต^(42,43,44) ซึ่งส่งผลให้เพศผู้จะมีความเสี่ยงต่อการเกิดความผิดปกติของสมดุลอิเล็กโทรไลต์ได้สูงกว่าเพศเมียจากการได้รับสารสกัดใบพลู ส่วนการเพิ่มขึ้นของระดับ Total protein และ Albumin ตามขนาดที่เพิ่มขึ้นของสารสกัดใบพลูที่ได้รับในหนูทดสอบทั้งสองเพศ และค่าดังกล่าวจะลดลงหลังหยุดป้อนสารสกัดเป็นเวลา 2 สัปดาห์นั้น อาจเกิดจากหนูมีการกินน้ำที่ลดลงและสารสกัดใบพลูอาจส่งผลเพิ่มการสร้าง Albumin จากตับ⁽⁴⁵⁾

การพบค่าของน้ำหนักอวัยวะสัมพันธ์ของกระเพาะอาหารที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในกลุ่มหนูแรพเพคเมียกลุ่ม Recovery เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมโดยที่ไม่พบพยาธิสภาพใดๆ ถือว่าสารสกัดใบพลูในขนาดนี้ไม่ก่อให้เกิดความผิดปกติต่อกระเพาะอาหาร แต่อาจเกิดจากน้ำหนักตัวหนูที่มีแนวโน้มที่ลดลง ซึ่งจะส่งผลให้การคำนวณน้ำหนักสัมพันธ์เพิ่มขึ้นได้

ผลทางจุลพยาธิวิทยาในกลุ่มหนูทดสอบเพศเมียทุกกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลู พบพยาธิสภาพที่หัวใจและไตที่ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม อีกทั้งค่าระดับเอนไซม์ AST ที่จำเพาะกับหัวใจและค่า Creatinine หรือค่า BUN ที่จำเพาะกับการทำงานของไตยังคงอยู่ในช่วงปกติตามที่มียารายงานมา^(39,40) แสดงว่าสารสกัดใบพลูขนาด 3 ถึง 300 มก./กก./วัน ไม่น่ามีผลกระทบต่อความเป็นพิษต่อหัวใจและไตในหนูแรพเพคเมีย ส่วนการพบเซลล์ตับที่มีการเสื่อมแบบ lobular vacuolar degeneration ที่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ยกเว้นลักษณะของการเกิดการอักเสบเป็นหย่อมๆ ที่ตับ (small foci of hepatitis and large area of hepatitis) อย่างมีนัยสำคัญในกลุ่มหนูที่ได้รับสารสกัดขนาด 300 มก./กก./วัน และกลุ่ม recovery เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ประกอบกับการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญของระดับเอนไซม์ ALT ที่จำเพาะต่อการทำงานของตับแต่ยังไม่สูงมากเมื่อเทียบกับช่วงของค่าปกติ²³ แสดงว่าสารสกัดใบพลูในขนาด 300 มก./กก./วัน อาจก่อให้เกิดผลกระทบต่อตับในระดับเล็กน้อยในหนูเพศเมีย

ผลทางจุลพยาธิวิทยาในหนูแรพเพคผู้ทั้งสามกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลู พบการอักเสบระดับเล็กน้อยของหัวใจและตับ ในลักษณะ focal myocarditis และ small foci hepatitis ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ประกอบกับค่าระดับเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับหัวใจและตับ ได้แก่ AST, ALT และ ALP ยังคงอยู่ในช่วงปกติ แสดงว่าสารสกัดใบพลูขนาด 3 ถึง 300 มก./กก./วัน ไม่น่าส่งผลกระทบต่อความเป็นพิษที่หัวใจและตับในหนูแรพเพค ส่วนการอักเสบเล็กน้อยของไตในลักษณะ nephritis ที่พบในหนูทั้งสามกลุ่ม มีอัตราการเกิดที่ต่ำและไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ อีกทั้งค่า BUN และ Creatinine ยังคงอยู่ในช่วงปกติ จึงบ่งชี้ได้ว่าสารสกัดใบพลูขนาด 3 ถึง 300 มก./กก./วัน ไม่น่าส่งผลกระทบต่อความเป็นพิษต่อไตในหนูแรพเพค

สรุป

จากการศึกษาพิษเฉียบพลันของสารสกัดใบพลูในหนูไม่ซีโดยป้อนสารสกัดใบพลูครั้งเดียวที่ขนาด 300 ถึง 2,000 มก./กก. ไม่พบอาการพิษแบบเฉียบพลันใดๆ ซึ่งประเมินได้ว่าสารสกัดใบพลูนี้มีช่วงของค่าขนาดสารสกัดที่ทำให้หนูไม่ซีตายร้อยละ 50 (LD_{50}) ที่มากกว่า 2,000 ถึง 5,000 มก./กก. ซึ่งถือว่ามีความเป็นพิษต่ำ ส่วนผลของการศึกษาความเป็นพิษเรื้อรัง 180 วัน ของสารสกัดใบพลูที่ป้อนในหนูแรพเพคทั้งสองเพศที่ขนาด 3, 30 และ 300 มก./กก./วัน ไม่พบทำให้เกิดอาการป่วยจากพิษสะสม ไม่ส่งผลต่อการเจริญเติบโต ไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าทางโลหิตวิทยาตามขนาดของสารสกัดใบพลูที่เพิ่มขึ้น แต่พบผลต่อค่าการเปลี่ยนแปลงของค่าซีรัมชีวเคมีที่เพิ่มขึ้นในระดับเล็กน้อยของค่า Total Protein, Albumin, Cholesterol, Glucose และการเปลี่ยนแปลงที่ลดลงในระดับเล็กน้อยของค่า Uric acid, BUN, Creatinine โดยค่าดังกล่าวยังอยู่ในช่วงปกติของหนูแรพเพค ประกอบกับการที่ไม่พบความผิดปกติทางพยาธิสภาพอย่างมีนัยสำคัญของไตเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม แสดงได้ว่าสารสกัดใบพลูไม่น่าจะเป็นพิษต่อไต ส่วนการพบการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญของระดับเอนไซม์ ALT ในหนูเพศเมียกลุ่ม recovery (แต่ยังไม่สูงมากเมื่อเทียบกับช่วงของค่าปกติ) พร้อมกับการพบลักษณะการอักเสบที่ตับโดยรวม (hepatitis) อย่างมีนัยสำคัญในหนูเพศเมียที่ได้รับสารสกัดขนาด 300 มก./กก./วัน และในกลุ่ม recovery เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม แสดงให้เห็นว่าสารสกัดใบพลูอาจก่อให้เกิดผลกระทบต่อตับเล็กน้อย นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงของระดับอิเล็กโทรไลต์ในซีรัม ได้แก่ Sodium, Chloride และ Calcium เพิ่มขึ้นตามขนาดของสารสกัดใบพลูที่ได้รับในหนูทดสอบทั้งสองเพศ ช่วยบ่งชี้ว่าสารสกัดใบพลูน่าจะส่งผลกระทบต่อสมดุลของอิเล็กโทรไลต์ดังกล่าวในเลือด ดังนั้นสรุปผลจากการศึกษาความเป็นพิษเรื้อรังของสารสกัดใบพลูในครั้งนี้ได้ว่า ในหนูแรพเพคเมียที่ทดสอบนี้มีค่าขนาดต่ำสุดของสารสกัดที่ทำให้เกิดผลข้างเคียงหรือค่า LOAEL (the lowest observed adverse effect level) เท่ากับ 3 มก./กก./วัน ซึ่งพิจารณาจากผลกระทบต่อระดับ Sodium ในเลือดที่สูงกว่าช่วงปกติ ส่วนในหนูแรพเพคผู้มีค่า LOAEL เท่ากับ 3 มก./กก./วัน โดยพิจารณาจากผลกระทบต่อค่า Chloride ในเลือดที่สูงกว่าช่วงปกติ ดังนั้นการพัฒนานำสารสกัดใบพลูไปใช้เป็นผลิตภัณฑ์อาหารหรือยารักษาโรคตามฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในระยะเวลาติดต่อกัน ควรคำนึงถึงผลกระทบที่อาจเกิดขึ้นที่ตับและประเมินค่าของอิเล็กโทรไลต์ในซีรัมเป็นระยะโดยเฉพาะอย่างยิ่งค่า Sodium และ Chloride

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ผ่านมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2554 และขอขอบคุณ รศ. น.สพ. ดร.ทวีศักดิ์ ส่งเสริม คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ที่กรุณาตรวจสอบผลสไลด์ของเนื้อเยื่อสัตว์ทดลอง

เอกสารอ้างอิง

1. เพียงทอง นรากร. เจลพลูกับโรคผิวหนังอักเสบเรื้อรัง. องค์การเภสัชกรรม [ออนไลน์]. [สืบค้น 22 พ.ย. 2556]; [2 หน้า]. เข้าถึงได้จาก : URL: <http://www.gpo.or.th/rdi/html/pieng.html>.
2. Alam B, Akter F, Parvin N, Pia RS, Akter S, Chowdhury J, et al. Antioxidant, analgesic and anti-inflammatory activities of the methanolic extract of *Piper betle* leaves. *Avicenna J Phytomed* 2013; 3(2): 112-25.
3. Nalina T, Rahim ZHA. The crude aqueous extract of *Piper betle* L. and its antibacterial effect towards *Streptococcus mutans*. *Am J Biochem & Biotech* 2007; 3: 10-5.
4. วันทนีย์ สว่างอารมณ์ และพาณิ จันทร์เล็ก. การเปรียบเทียบผลของสารสกัดจากสมุนไพรต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli*. *ก้าวหน้าโลกวิทยาศาสตร์* 2555; 12(2): 47-57.
5. Arambewela L, Kumaratunga KGA, Dias K. Studies on *Piper betle* of Sri Lanka. *J Natn Sci Foundation Sri Lanka* 2005; 33(2): 133-9.
6. Trakranrungsie N, Chatchawanchonteera A, Khunkitti W. Ethnoveterinary study for antidermatophytic activity of *Piper betle*, *Alpinia galanga* and *Allium ascalonicum* extracts *in vitro*. *Res Vet Sci* 2008; 84: 80-4.
7. Patel RM, Jasrai YT. Evaluation of fungitoxic potency of *Piper betel* L. (mysore variety) leaf extracts against eleven phyto-pathogenic fungal strains. *CJBP* 2013; 2(2): 21-8.
8. Al-Adhroey AH, Nor ZM, Al-Mekhlafi HM, Amran AA, Mahmud R. Antimalarial activity of methanolic leaf extract of *Piper betle* L. *Molecules* 2011; 16: 107-18.
9. Jawale NM, Shewale AB, Nerkar GS, Patil VR. Evaluation of antihistaminic activity of leaves of *Piper betel* Linn. *Pharmacologyonline* 2009; 3: 966-77.
10. Swapna NL, Ammani K, Saripalli P. Antioxidant activity of Makkathotapapada leaves of *Piper betel* L. Cv. Kapoori. *Free Rad Antiox* 2012; 2(4): 68-72.
11. Ganguly S, Mula S, Chattopadhyay S, Chatterjee M. An ethanol extract of *Piper betle* Linn. mediates its anti-inflammatory activity via down-regulation of nitric oxide. *J Pharm Pharmacol* 2007; 59(5): 711-8.
12. Arambewela L, Arawawala M, Rajapaksa D. *Piper betle*: a potential natural antioxidant. *Int Food Sci Technol* 2006, 41 (Suppl 1): 10-4.
13. อุไรวรรณ ดิลกคุณานันท์, ยูพา มงคลสุข, งามผ่อง คงคาทิพย์, อุดมลักษณ์ สุขอิตตะ, วิภารัตน์ รัตนะ และประภัสสร รักถาวร. การออกฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดพลูในประเทศไทย. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ [ออนไลน์]. [สืบค้น 1 ส.ค. 2557]; [6 หน้า]. เข้าถึงได้จาก : URL: <http://www.lib.ku.ac.th/KUCONF/KC4205035.pdf>.
15. Chang MC, Uang BJ, Tsai CY, Wu HL, Lin BR, Lee CS, et al. Hydroxychavicol, a novel betel leaf component, inhibits platelet aggregation by suppression of cyclooxygenase, thromboxane production and calcium mobilization. *Br J Pharmacol* 2007, 152: 73-82.
16. Misra P, Kumar A, Khare P, Gupta S, Kumar N, Dube A. Pro-apoptotic effect of the landrace Bangla Mahoba of *Piper betle* on *Leishmania donovani* may be due to the high content of eugenol. *J Med Microbiol* 2009; 58: 1058-66.

17. Venkadeswaran K, Muralidharan AR, Annadurai T, Ruban VV, Sundararajan M, Anandhi R, et al. Antihypercholesterolemic and antioxidative potential of an extract of the Plant, *Piper betle*, and its active constituent, eugenol, in Triton WR-1339-induced hypercholesterolemia in experimental Rats. Evid Based Complement Alternat med [online]. 2014; [cited 2014 Aug 1]; [11 screens]. Available from: URL: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/478973>.
18. Majumdar B, Sinha AK, Yadav SC, Niroula DR. Upregulation of cyclooxygenase system and growth factors as plausible mechanism of antinuclear activity of leaf of *Piper Betle* Linn: a molecular insight. J Nobel Med Coll 2012; 1(2): 14-24. J Nobel Medical College.
19. Bhattacharya S, Banerjee D, Bauri AK, Chattopadhyay S, Bandyopadhyay SK. Healing property of the *Piper betel* phenol, allylpyrocatechol against indomethacin-induced stomach ulceration and mechanism of action. World J Gastroenterol 2007; 13(27): 3705-13.
20. Bhattacharya S, Subramanian M, Roychowdhury S, Bauri AK, Kamat JP, Chattopadhyay S, et al. Radioprotective property of the ethanolic extract of *Piper betel* Leaf. J Radiat Res 2005; 46(2): 165-71.
21. Paranjpe R1, Gundala SR, Lakshminarayana N, Sagwal A, Asif G, Pandey A, et al. Piper betel leaf extract: anticancer benefits and bio-guided fractionation to identify active principles for prostate cancer management. Carcinogenesis 2013; 34(7): 1558-66.
22. Nagabhushan M, Amonkar AJ, D'Souza AV, Bhide SV. Nonmutagenicity of betel leaf and its antimutagenic action against environmental mutagens. Neoplasma 1987; 34(2): 159-67.
23. Chughtai SR, Mohmand AS, Siddiqi BA. Assessment of possible mutagenicity of betel leaf in *Saccharomyces cerevisiae*. Pak J Bot 1988; 20(2): 265-72.
24. Ratnasooriya WD, Premakumara GAS. *Piper betle* leaves reversibly inhibits fertility of male rats. Vidyodaya J of Sci 1997; 7: 15-21.
25. Sengupta A, Adhikary P, Basak BK. Pre-clinical toxicity evaluation of leaf-stalk extractive of *Piper betle* Linn. in rodents. Indian J Exp Biol 2000; 38(4): 338-42.
26. บัญชียาหลักแห่งชาติ พ.ศ. 2556. [ออนไลน์]. 2556; [สืบค้น 1 ส.ค. 2557]. เข้าถึงได้จาก : URL: <http://www.nlem.in.th/medicine/essential/list>.
27. องค์การเภสัชกรรม. สมุนไพรรักษาอาการกลากเกลื้อน. [ออนไลน์]. [สืบค้น 1 ส.ค. 2557]. เข้าถึงได้จาก : URL: <http://www.gpo.or.th/rdi/TotalherThai/Eleven/plu.html>.
28. โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี พืชสมุนไพรแก้กลากเกลื้อน. [ออนไลน์]. [สืบค้น 1 ส.ค. 2557]. เข้าถึงได้จาก : URL: http://www.rspg.or.th/plants_data/use/herbs16.5.html.
29. Datta A, Ghoshdastidar S, Singh M. Antimicrobial property of *Piper betle* leaf against clinical isolates of bacteria. IJPSR 2011; 2(3): 104-9.
30. ปิยะวดี เจริญวัฒนา. ประสิทธิภาพของสารสกัดพลูในการยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus flavus*. ว วิทยาศาสตร์เกษตร 2550; 38(6) (พิเศษ): 50-3.
31. วรณกนก สอนแก้วมณี. ผลของสารสกัดจากใบพลูต่อความคงตัวของน้ำมันที่ใช้ปรุงอาหาร. [วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต] สาขาวิชาการพัฒนาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร, คณะอุตสาหกรรมเกษตร. เชียงใหม่ : มหาวิทยาลัยเชียงใหม่; 2554.

32. สุมณฑา วัฒนสินธุ์, จิรดา สิงขรัตน์ และสมโภช พจนพิมล. การค้นหาสารต้านจุลินทรีย์ธรรมชาติจากพืชสมุนไพรไทย : รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. ปทุมธานี : สำนักวิจัย มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์; 2549.
 33. เบญจมาศ เกตุบท, आयुวัฒน์ เล้าหิ่วพานิช และสุมณฑา วัฒนสินธุ์. เอกสารการประชุมนิทรรศการแสดงผลงานพัฒนาเทคโนโลยีทุนปัญญาตรี สกว. ครั้งที่ 6 เรื่อง การพัฒนาวัตถุเจือปนอาหารสัตว์ต้านจุลชีพจากพืชสมุนไพรไทย. วันที่ 28-30 มีนาคม 2551. กรุงเทพฯ : สยามพารากอน; 2551.
 34. Organization for Economic Cooperation & Development. OECD guidelines for testing of chemicals. Test no. 423: acute oral toxicity–acute toxic class method; French: OECD; 2002.
 35. Organization for Economic Cooperation & Development. OECD guidelines for the testing of chemicals. Test no. 452: chronic toxicity studies. French: OECD; 2009.
-

Acute and Chronic Toxicity Study of *Piper betle* L. Leaf Extract

Maskiet Boonyareth* Sumontha Vadhanasin** Raywadee Butraporn*
Navakanit Sachanonta* Waridtha Sa-Nguanruang* Ticomporn Yamsaad*
and Somchai Sangkitporn*

*Department of Medical Sciences, Tiwanond Road, Nonthaburi 11000

**Thammasat University, Klong Luang District, Pathumthani 12121, Thailand.

ABSTRACT *Piper betle* leaf extract (*Piper betle* L.) is widely used in human and animal products. To determine the safety of the extract in terms of acute and chronic toxicity (6 months). The crude extract was prepared via the supercritical fluid extraction (SFE), using carbon dioxide and ethanol as a cosolvent. The oral administration was then performed in female ICR mice and both sexes of Wistar rats, respectively. The acute toxicity results revealed that the extract produced no acute toxicity in ICR mice when orally given at individual doses of 300 and 2,000 mg/kg. The chronic toxicity study at doses 3, 30 and 300 mg/kg/day showed that there were no effects on cumulative clinical signs, body weights, food consumption, relative organ weights and hematological values. The electrolyte imbalance showed significant increase in sodium, chloride, calcium and phosphorus in a dose-dependent manner in both sexes. In addition, there were a slight increase in serum ALT of female recovery group (300 mg/kg/day) and a remarkable mild hepatitis lesion in female rats receiving 300 mg/kg/day and in recovery group. Thus, the application of the so-called extract in food and drug should be surveillance on the electrolyte system as well as the hepatic function.

Key words: *Piper betle* L., acute and chronic toxicity, ICR mice, Wistar rat