รหัสโครงการ SUT-104-50-24-40

รายงานการวิจัย

การทดสอบความเป็นพิษของฟลาโวนอยด์บางชนิดในสัตว์ทดลอง

(In vivo toxicity test of some flavonoids)

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

รหัสโครงการ SUT-104-50-24-40

รายงานการวิจัย

การทดสอบความเป็นพิษของฟลาโวนอยด์บางชนิดในสัตว์ทดลอง

(In vivo toxicity test of some flavonoids)

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภก. ดร. เกรียงศักดิ์ เอื้อมเก็บ

สาขาวิชาเภสัชวิทยา

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผู้ร่วมวิจัย

นายอภัย ดวงคำ

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2550-2551

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

สิงหาคม 2555

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยเรื่องการทดสอบความเป็นพิษของฟลาโวนอยด์บางชนิดและยาปฏิชีวนะ ในกลุ่ม เบตาแลคแทม ในครั้งนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ 2550-2551 ทำให้งานวิจัยในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี และขอขอบคุณ คุณอภัย ดวงคำ และคุณมนตรี ล่ามละคร ที่ช่วยการทำวิจัยในครั้งนี้ด้วยความทุ่มเท คุณวัชระ วงศ์วิริยะ ที่ช่วยอำนวยความสะดวกเรื่องสัตว์ทดลองและสถานที่ทำการทดลอง สำนักงานสัตว์ทดลองแห่งชาติ ที่กรุณาเป็นแหล่งเตรียมหนูทดลองให้ และมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่อนุเคราะห์ทั้งอุปกรณ์และสถานที่ในการทำวิจัยจนประสบผลสำเร็จ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทคัดย่อภาษาไทย

ฟลาโวนอยด์เป็นสารประกอบในกลุ่มโพลีฟีนอลที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติซึ่งพบได้ในผลไม้และผัก ฟลาโวนอยด์เป็นส่วนประกอบสำคัญของอาหารที่เรารับประทานเป็นประจำและมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่หลากหลายโดยเฉพาะอย่างยิ่งฟลาโวนอยด์สามารถเสริมฤทธิ์กับยาปฏิชีวนะในกลุ่มเบตาแลคแทม ต้านเชื้อแบคทีเรียดื้อยาได้ อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีรายงานการศึกษาความเป็นพิษของฟลาโวนอยด์ในสัตว์ทดลอง ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการวิจัยครั้งนี้ เพื่อศึกษาพิษกึ่งเฉียบพลันและพิษกึ่งเรื้อรังของฟลาโวนอยด์ 4 ตัวคือ เคอร์เซติน ไบคาลิน เอพิจีนิน ลูทีโอลิน เมื่อใช้เดี่ยวและผสมกับยาคลอกซาซิลินหรือเซพทาซิดีนในหนูถีบจักร วิธีการศึกษาพิษกึ่งเฉียบพลันโดยฉีดสารต่อไปนี้เข้าช่องท้องเป็นเวลา 14 วัน ได้แก่ เคอร์เซติน ไบคาลิน เอพิจีนิน และลูทีโอลินเดี่ยวๆ ขนาด (ปกติและสูง) 20 และ 80, 10 และ 40, 20 และ 80, 1 และ 4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักตัว) ต่อวัน ตามลำดับ และฉีดเคอร์เซตินหรือไบคาลิน ผสมกับคลอกซาซิลิน ขนาด (ปกติ, สูง) 20+150, 80+600 และ 10+150, 40+600 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักตัว) ต่อวัน ตามลำดับ ส่วนเอพิจีนิน และลูทีโอลิน ผสมกับเซพทาซีดีน ขนาด (ปกติ, สูง) 20+160, 80+640; 1+160และ 4+640 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักตัว) ต่อวัน ตามลำดับ วิธีการศึกษาพิษกึ่งเรื้อรังโดยฉีดสารต่อไปนี้เข้าช่องท้องเป็นเวลา 90 วัน ได้แก่ เคอร์เซติน ไบคาลิน เอพิจีนิน และลูทีโอลินเดี่ยวๆ ขนาด (ปกติและสูง) 20 และ 40, 10 และ 20, 20 และ 40, 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักตัว) ต่อวัน ตามลำดับ และฉีดเคอร์เซตินหรือไบคาลิน ผสมกับคลอกซาซิลิน ขนาด (ปกติ, สูง) 20+150, 40+300 และ 10+150, 20+300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักตัว) ต่อวัน ตามลำดับ ส่วนเอพิจีนิน หรือลูทีโอลินผสมกับเซพทาซีดีน ขนาด (ปกติ, สูง) 20+160, 40+320 และ 1+160, 2+320 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักตัว) ต่อวัน ตามลำดับ ภายหลังสิ้นสุดการทดลองได้นำอวัยวะที่สำคัญและเลือดมาวิเคราะห์ผลทางชีวเคมีและโลหิตวิทยาทั้งพิษกึ่งเฉียบพลันและพิษกึ่งเรื้อรัง พบว่า น้ำหนักสัมพัทธ์และน้ำหนักของอวัยวะสำคัญ (ต่อน้ำหนักตัว) ได้แก่ หัวใจ ตับ ม้าม ปอด ไต และกระเพาะอาหาร และผลการตรวจสอบชีววิทยาของเนื้อเยื่อของหนูทดลองไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ส่วนผลทางชีวเคมีและโลหิตวิทยาของการทดสอบพิษกึ่งฉับพลันและกึ่งเรื้อรัง พบว่า เคอร์เซติน เอพิจีนิน และลูทีโอลิน ไม่มีพิษต่อพารามิเตอร์เหล่านี้ ยกเว้น และไบคาลินทำให้ค่าเอ็มซีวีลดลงเมื่อให้สารเหล่านี้ในขนาดปกติ เป็นเวลา 14 วัน นอกจากนี้ เอพิจีนินขนาดสูงและให้เป็นเวลานานจะทำให้ค่าเม็ดเลือดขาวและเอ็มซีวีลดลง สิ่งที่น่าสนใจอย่างยิ่งคือ สารฟลาโวนอยด์เหล่านี้สามารถลดคอเลสเตอรอลในเลือดของหนูทดลอง เมื่อให้ในปริมาณสูงและเป็นเวลานาน ค่าคอเลสเตอรอลที่ลดลงในหนูทดลองที่ได้รับไบคาลินนั้นสอดคล้องกับผลจากเอฟทีไอาร์ ที่องค์ประกอบของโครงสร้างทุติยภูมิของเอไมด์วันลดลง ผลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ จะเป็นข้อมูลที่เป็นประโยชน์ในการทดสอบความเป็นพิษในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมชั้นสูงรวมทั้งในคน

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ

Flavonoids are part of a family of naturally occurring polyphenolic compounds and represent one of the most prevalent classes of compounds in vegetables and fruits. Flavonoids are important constituents of normal human diet and also have various pharmacological properties. Especially, flavonoids have synergistic activity with β-lactam antibiotic against drugs resistant bacteria. However, *in vivo* toxicity test of these flavonoids have not been studied. Thus, the purpose of this study was to investigate the subacute and subchronic toxicity of five flavonoids (quercetin, baicalein, apigenin and luteolin) alone and in combination with cloxacillin or ceftazidime antibiotics in mice. In subacute toxicity test, the mice were administered intraperitoneally (i.p.) with the following flavonoids and/or drugs: (normal and high dose) 20 and 80 mg/kg BW/day of both quercetin and apigenin, 10 and 40 mg/kg BW/day of baicalein, 1 and 4 mg/kg BW/day of luteolin, when used singularly. In addition, quercetin plus cloxacillin at 20+150, 80+600; baicalien plus cloxacillin at 10+150, 40+600 mg/kg BW/day, and apigenin; or luteolin; in combination with ceftazidime at 20+160, 80+640; or 1+160, 4+640; mg/kg BW/day, respectively. In the subchronic toxicity test, the mice were injected (i.p.) with the following flavonoids and/or drugs: 20 and 40 mg/kg BW/day of quercetin or apigenin, 10 and 20 mg/kg BW/day of baicalein, and 1 and 2 mg/kg BW/day of luteolin alone. Moreover, the combinations of quercetin or baicalien plus cloxacillin at 20+150, 40+300; or 10+150, 20+300 mg/kg BW/day, respectively. Furthermore, apigenin or luteolin in combination with ceftazidime at 20+160, 40+320; or 1+160, 2+320, respectively. At the end of the experiments, blood and the selected main organs were collected for haematological and histological analyses. The results showed that there were no significant difference in either the relative growth rate of total body weight or weight of the selected main body organs of mice such as heart, liver, spleen, lung, kidney, stomach, and their histology treated with all doses of five flavonoids using singly and in combinations when compared to the control. The blood chemistry and haematological analysis of subacute toxicity and subchronic toxicity showed that quercetin, apigenin and luteolin exhibited no toxicity in these parameters except for baicalein resulted in MCV reduction when these flavonoids were administered at therapeutic dose for 14 days. Moreover, apigenin at high dose and long duration led to WBC and MCV decrease. Interestingly, These flavonoids provide evidence that its can reduce cholesterol in mice blood when administered at high dose and long duration. The lowering of cholesterol in baicalein treated mice are substantial agreement with the result from FTIR that the amide I secondary structure component was decreased. In summary, this study could be useful information for further investigation of toxicity in higher mammal animals, including human beings.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพ	ช
บทที่ 1 บทนำ	
ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
ขอบเขตของการวิจัย	3
ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย	3
บทที่ 2 วิธีดำเนินการวิจัย	
วัสดุอุปกรณ์	4
วิธีการทดลอง	4
วิธีวิเคราะห์ข้อมูล	10
บทที่ 3 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล	
ผลการวิจัย	11
บทที่ 4 บทสรุป	
สรุปผลการวิจัย	45
บรรณานุกรม	48
ภาคผนวก	50
ประวัติผู้วิจัย	52

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญตาราง

ตาราง **หน้า**

3.1 ผลของ quercetin เดี่ยวๆ และผสมกับยา cloxacillin ต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำหนัก อวัยวะภายในของหนูขาวเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม 13

3.2 ค่าเคมีและโลหิตวิทยาของหนูขาวที่ได้รับ quercetin เป็นระยะเวลา 14 วัน ในกลุ่มการทดลองต่างๆ 15

3.3 ผลของ baicalein เดี่ยวๆ และผสมกับยา cloxacillin ต่อการเปลี่ยนแปลง น้ำหนักอวัยวะภายในของหนูขาวเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ในกลุ่มการทดลองต่างๆ 18

3.4 ค่าเคมีและโลหิตวิทยาของหนูขาวที่ได้รับ baicalein เป็นระยะเวลา 14 วัน ในกลุ่มการทดลองต่างๆดังต่อไปนี้ 20

3.5 ผลของ apigenin เดี่ยวๆ และผสมกับยา ceftazidime ต่อการเปลี่ยนแปลง น้ำหนักอวัยวะภายในของหนูขาวเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ในกลุ่มการทดลองต่างๆ 22

3.6 ค่าเคมีและโลหิตวิทยาของหนูขาวที่ได้รับ apigenin เป็นระยะเวลา 14 วัน ในกลุ่มการทดลองต่างๆ 24

3.7 ผลของ luteolin เดี่ยวๆ และผสมกับยา ceftazidime ต่อการเปลี่ยนแปลง น้ำหนักอวัยวะภายในของหนูขาวเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม 26

3.8 ค่าเคมีและโลหิตวิทยาของหนูขาวที่ได้รับ luteolin เป็นระยะเวลา 14 วัน ในกลุ่มการทดลองต่างๆ 28

3.9 ผลของ quercetin เดี่ยวๆ และผสมกับยา cloxacillin ต่อการเปลี่ยนแปลง น้ำหนักอวัยวะภายในของหนูขาวเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม 30

3.10 ค่าเคมีและโลหิตวิทยาของหนูขาวที่ได้รับ luteolin เป็นระยะเวลา 90 วัน ในกลุ่มการทดลองต่างๆ 32

3.11 ผลของ baicelein เดี่ยวๆ และผสมกับยา cloxacillin ต่อการเปลี่ยนแปลง น้ำหนักอวัยวะภายในของหนูขาวเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม 34

3.12 ค่าเคมีและโลหิตวิทยาของหนูขาวที่ได้รับ baicelein เป็นระยะเวลา 90 วัน ในกลุ่มการทดลองต่างๆ 36

3.13 ผลของ apigenin เดี่ยวๆ และผสมกับยา ceftazidime ต่อการเปลี่ยนแปลง น้ำหนักอวัยวะภายในของหนูขาวเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ในกลุ่มการทดลองต่างๆ 38

3.14 ค่าเคมีและโลหิตวิทยาของหนูขาวที่ได้รับ apigenin เป็นระยะเวลา 90 วัน ในกลุ่มการทดลองต่างๆ 40

3.15 ผลของ luteolin เดี่ยวๆ และผสมกับยา ceftazidime ต่อการเปลี่ยนแปลง
น้ำหนักอวัยวะภายในของหนูขาวเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ในกลุ่มการทดลองต่างๆ 42
3.16 ค่าเคมีและโลหิตวิทยาของหนูขาวที่ได้รับ luteolin เป็นระยะเวลา 90 วัน
ในกลุ่มการทดลองต่างๆ 44

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญภาพ

รูปภาพ **หน้า**

2.1 การทดสอบพิษกึ่งเฉียบพลัน โดยฉีด flavonoids เดี่ยวๆ 5
2.2 การทดสอบพิษกึ่งเฉียบพลัน ของหนูที่ได้รับ flavonoids ผสมกับ β-Lactams antibiotics 6
2.3 การทดสอบพิษกึ่งเรื้อรัง โดยฉีด flavonoids เดี่ยวๆ 8
2.4 การทดสอบพิษกึ่งเรื้อรัง ของหนูที่ได้รับ flavonoids ผสมกับ β-Lactams antibiotics 9
3.1 กราฟแสดงน้ำหนักของหนูขาวเมื่อได้รับquercetin เดี่ยวและผสมกับยา cloxacillin เป็น เวลา 14 วันเมื่อเปรียบเทียบกับ negative control 12
3.2 ลักษณะของอวัยวะภายในของหนูขาวหลังจากที่ได้รับ quercetin เดี่ยวๆและผสมกับยา cloxacillin เป็นเวลา 14 วันเมื่อเปรียบเทียบกับ negative control. Control group 14
3.3 กราฟแสดงน้ำหนักของหนูขาวเมื่อได้รับ baicalein เดี่ยวและผสมกับยา cloxacillin เป็น เวลา 14 วันเมื่อเปรียบเทียบกับ negative control 16
3.4 ลักษณะของอวัยวะภายในของหนูขาวหลังจากที่ได้รับ baicalein เดี่ยวๆและผสมกับยา cloxacillin เป็นเวลา 14 วันเมื่อเปรียบเทียบกับ negative control 17
3.5 กราฟแสดงน้ำหนักของหนูขาวเมื่อได้รับ apigenin เดี่ยวและผสมกับยา ceftazidime เป็น เวลา 14 วันเมื่อเปรียบเทียบกับ negative control 21
3.6 ลักษณะของอวัยวะภายในของหนูขาวหลังจากที่ได้รับ apigenin เดี่ยวๆและผสมกับยา ceftazidime เป็นเวลา 14 วันเมื่อเปรียบเทียบกับ negative control 23
3.7 กราฟแสดงน้ำหนักของหนูขาวเมื่อได้รับ luteolin เดี่ยวและผสมกับยา ceftazidime เป็น เวลา 14 วันเมื่อเปรียบเทียบกับ negative control 25
3.8 ลักษณะของอวัยวะภายในของหนูขาวหลังจากที่ได้รับ apigenin เดี่ยวๆและผสมกับยา ceftazidime เป็นเวลา 90 วันเมื่อเปรียบเทียบกับ negative control 27
3.9 กราฟแสดงน้ำหนักของหนูขาวเมื่อได้รับ quercetin เดี่ยวและผสมกับยา cloxacillin เป็น เวลา 90 วันเมื่อเปรียบเทียบกับ negative control 29
3.10 ลักษณะของอวัยวะภายในของหนูขาวหลังจากที่ได้รับ quercetin เดี่ยวๆ และผสมกับยา cloxacillin เป็นเวลา 90 วันเมื่อเปรียบเทียบกับ negative control 30
3.11 กราฟแสดงน้ำหนักของหนูขาวเมื่อได้รับ baicalein เดี่ยวและผสมกับยา cloxacillin เป็น เวลา 90 วันเมื่อเปรียบเทียบกับ negative control 33
3.12 ลักษณะของอวัยวะภายในของหนูขาวหลังจากที่ได้รับ baicelein เดี่ยวๆ และผสมกับยา cloxacillin เป็นเวลา 90 วันเมื่อเปรียบเทียบกับ negative control, 35

รูปภาพ **หน้า**

3.13 กราฟแสดงน้ำหนักของหนูขาวเมื่อได้รับ apigenin เดี่ยวและผสมกับยา ceftazidime เป็น เวลา 90 วันเมื่อเปรียบเทียบกับ negative control 37

3.14 ลักษณะของอวัยวะภายในของหนูขาวหลังจากที่ได้รับ apigenin เดี่ยวๆและผสมกับยา ceftazidime เป็นเวลา 90 วันเมื่อเปรียบเทียบกับ negative control 39

3.15 กราฟแสดงน้ำหนักของหนูขาวเมื่อได้รับ luteolin เดี่ยวและผสมกับยา ceftazidime เป็น เวลา 90 วันเมื่อเปรียบยเทียบกับ negative control 41

3.16 ลักษณะของอวัยวะภายในของหนูขาวหลังจากที่ได้รับ luteolin เดี่ยวๆ และผสมกับยาceftazidime เป็นเวลา 90 วันเมื่อเปรียบเทียบกับ negative control 43

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 1
บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย

จากปัญหาสำคัญเรื่องสถานการณ์การดื้อยาของเชื้อในโรงพยาบาลมหาราชนครราชสีมา เราพบว่า มีเชื้อที่ดื้อต่อยาในกลุ่ม β - lactam antibiotics ซึ่งเป็นยาปฏิชีวนะที่มีการใช้เป็นมูลค่าหลายพันล้านบาทต่อปีในประเทศไทย ตัวอย่างของเชื้อที่ดื้อยาในโรงพยาบาลมหาราชนครราชสีมาที่ทำการทดสอบความไวต่อยาในหน่วยจุลชีววิทยา กลุ่มงานพยาธิวิทยาคลีนิค ได้แก่ เชื้อ Methicillin resistant *Staphylococcus aureus (MRSA)* มีการดื้อยาในตึกผู้ป่วย ไอซียูศัลยกรรม (90%) ไอซียูเด็ก (70 %) Premature (90 %) และ Sepsis (80 %) เชื้อที่ดื้อต่อยา Ceftazidime ซึ่งเป็นยาที่มีราคาแพงมาก และเป็นยาใหม่ ในกลุ่ม Cephalosporin (Third generation) ที่พบได้แก่ Ceftazidime-resistant *Escherichia coli* (CREsC) มีอัตราการดื้อยาเกือบ 100% ในทุกตึกผู้ป่วย เชื้อ Ceftazidime-resistant *Enterobacter cloacae* (CREnC) มีอัตราการดื้อยานี้ถึง 100 % ในหลายตึกผู้ป่วย และเชื้อ Methicillin-resistant *S. epidermidis* มีอัตราการดื้อยานี้มากกว่า 60 % ในหลายตึกผู้ป่วย รวมถึงมีการดื้อยาของเชื้อ *Enterococcus faecium* ในอัตราที่สูงมากขึ้น (ร.พ. มหาราชนครราชสีมา, 2003) เชื้อเหล่านี้ก่อให้เกิดการติดเชื้อกับป่วยที่นอนในโรงพยาบาลในอัตราที่สูงและเป็นจำนวนมาก โดยจะพบได้ในเลือดและสิ่งคัดหลั่งจากผู้ป่วยเช่น เสมหะ, น้ำมูก, น้ำลาย, ปัสสาวะ และอุจจาระ เป็นต้น จากปัญหานี้เอง นับเป็นปัญหาสำคัญของจังหวัดนครราชสีมาและของประเทศ ที่ต้องสูญเสียเงินค่ารักษาพยาบาลไปกับการใช้ยาที่มีราคาแพงเหล่านี้ แต่ใช้ไม่ได้ผล เนื่องจากการดื้อยาของเชื้อ ทำให้คนไข้ต้องสูญเสียเงินเป็นจำนวนมาก และอาจเป็นอันตรายถึงชีวิตจากการดื้อยาที่มากขึ้นของเชื้อเหล่านี้มาก ประเทศไทยของเราต้องสูญเสียเงินตรานำยาเหล่านี้เข้ามาจากต่างประเทศเป็นมูลค่าหลายพันล้านบาทต่อปี

เพื่อที่จะหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สามารถมาทดแทนยาในกลุ่ม β - lactam antibiotics ที่เชื้อเกิดการดื้อยาขึ้นแล้วหรือใช้เพื่อเสริมฤทธิ์กับยาในกลุ่มนี้แล้วทำให้เชื้อไม่ดื้อต่อยาในกลุ่มนี้ ได้มีงานวิจัยบางชิ้นพบว่า สารสกัดจากสมุนไพรไทย ได้แก่ พืชตระกูลข่า [*Alpinia galanga* (L) Willd, *Alpinia nigra* (Gaertn) Burtt.และ *Alpinia officinarum* Hance.] ซึ่งสามารถนำมาสกัดเอาสารกลุ่ม Flavonoids ได้แก่ Galangin, Quercetin (Luo *et al*., 1998; Li and Tian, 2003) สามารถมีฤทธิ์เสริมกับยาบางตัวในกลุ่ม β - lactam antibiotics เพื่อยับยั้งเชื้อที่ดื้อต่อยาในกลุ่มนี้ เช่น MRSA ได้ในเบื้องต้น (Eumkeb and Richards, 2005)

ดังนั้นในการค้นหายาตัวใหม่จากสมุนไพรไทย เพื่อนำมาทดแทนยาในกลุ่ม β - lactam หรือใช้เพื่อเสริมฤทธิ์กับยาในกลุ่มนี้เพื่อให้ยาในกลุ่มนี้สามารถใช้ได้กับเชื้อเหล่านี้ได้อย่างมีประสิทธิภาพโดยเชื้อเกิดการดื้อยาขึ้นแล้วในจังหวัดนครราชสีมาและยังเป็นปัญหาการดื้อยาทั้งในระดับประเทศและระดับนานาชาติ ซึ่งมีข้อมูลว่า เชื้อในกลุ่ม *Staphylococcus aureus*. มากกว่า 90% เกิดการดื้อยาในกลุ่ม β - lactam antibiotics ขึ้นแล้ว ข้าพเจ้ามีทีมงานและศักยภาพที่จะทำงานได้อย่างต่อเนื่อง จากเริ่มต้นจนถึงการจดสิทธิบัตร และพัฒนาสู่อุตสาหกรรมยาที่สามารถทดแทนหรือใช้ร่วมกับยาในกลุ่ม β - lactam antibiotics ที่มีราคาแพงมาก และเชื้อเกิดการดื้อยาขึ้นแล้ว เพื่อเป็นการผลิตยาตัวใหม่หรือยาสูตรผสมใหม่ภายในประเทศ ลดการนำเข้ายามูลค่าแพงเหล่านี้และเป็นยาที่สามารถส่งออกต่างประเทศได้ในที่สุด ซึ่งยังไม่มีนักวิจัยผู้ใดทำการทดสอบพิษของสาร Flavonoids เหล่านี้เมื่อใช้เดี่ยวๆ และผสมกับยาปฏิชีวนะในกลุ่ม β - lactam เหล่านี้ในสัตว์ทดลองมาก่อน จากผลการวิจัยเบื้องต้น พบว่าสารในกลุ่ม Flavonoids ได้แก่ baicalein, galangin, quecertin เมื่อนำมาทดสอบกับยาในกลุ่ม β - lactams ที่เชื้อเกิดการดื้อยาขึ้นแล้วเช่น cloxacillin, ampicillin หรือ ceftazidime สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ MRSA ที่ดื้อยาได้อย่างดี นอกจากนั้นเมื่อนำ ceftazidime มาผสมกับ luteolin หรือ apiginin สามารถยับยั้งเชื้อ Ceftazidime resistant *Enterobacter cloacae* ได้อย่างดี

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อทดสอบความเป็นพิษของสาร Flavonoids ต่อสัตว์ทดลอง(หนูถีบจักร หรือ mouse)
2. เพื่อหาข้อมูลในการจะทำการวิจัยขั้นต่อไป ได้แก่ การทดลองในสัตว์ใหญ่ เช่น กระต่าย ลิง ฯลฯ, การทดลองในคน, การพัฒนาเป็นตำรับยา และการทำเป็นอุตสาหกรรมยาในที่สุด

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ได้มีผู้ทำวิจัยเกี่ยวกับการยับยั้ง fatty-acid synthethase ของสาร Flavonoids บางตัวเช่น galangin พบว่ามีฤทธิ์ยับยั้งเอ็นไซม์นี้ (Li and Tian, 2003) Capasso และ Mascolo (2003) ทำวิจัยพบว่า galangin ยับยั้งการ excitatory transmission of the rat vas deference. นอกจากนั้นยังยับยั้งการหดตัวของ Rat urinary bladder เมื่อ กระตุ้นด้วยไฟฟ้า (Capasso and Tavares, 2002) งานวิจัยของ Imamura et al., (2000) พบว่า Galangin สามารถลดความเป็นพิษต่อหัวใจของ quinones ได้โดยยับยั้ง rabbit heart carbonyl reductase. มีผู้วิจัยพบว่า galangin สามารถป้องกันการเกิดมะเร็งได้โดยยับยั้ง CYP1A2 (Zhai *et al*., 1998) มีผู้วิจัยเกี่ยวกับฤทธิ์ของ galangin ในการเป็นสารป้องกันการเกิดมะเร็ง

ขอบเขตของการวิจัย

หนูถีบจักร (mouse) ที่เป็นเพศผู้และเพศเมีย ซึ่งมีอายุ น้ำหนัก ใกล้เคียงกัน ได้รับจากสำนักงานสัตว์ทดลองแห่งชาติศาลายา จ. นครปฐม

1. สาร Apigenin, Baicalein, Luteolin และ Quercetin ได้จากบริษัท INDOFINE Chemical Company, USA หรือบริษัท Sigma-Aldrich, UK

2. ยา Ceftazidime, Cloxacillin ได้จากบริษัทยาผู้แทนจำหน่ายภายในประเทศไทย เช่น บริษัท Sigma, Glaxo, Wellcome, Bristol- Myers

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

1. จะสามารถจดสิทธิบัตรในการใช้สาร Apigenin, Baicalein, Luteolin, Quercetin ได้ โดย มทส. จะสามารถช่วยเหลือภาคอุตสาหกรรมการผลิตยาซึ่งเป็นการสนับสนุน ภารกิจหลักและยุทธศาสตร์การพัฒนา มทส.

2. จะสามารถเป็นองค์ความรู้ในการวิจัยขั้นต่อไป เช่น การหากลไกการออกฤทธิ์ เพื่อพัฒนาเป็น ยาได้ในที่สุด

3. เป็นประโยชน์ต่อประเทศไทยในแง่การคิดค้นยาใหม่ๆ ที่ปราบเชื้อที่ดื้อต่อยาที่มีราคาแพงได้ และลดการนำเข้ายาจากต่างประเทศ ที่มีราคาแพงได้

4. เป็นประโยชน์ต่อแพทย์และผู้ป่วยทำให้สามารถได้ยาใหม่ๆ มาปราบเชื้อที่ดื้อยา โดยเฉพาะยาในกลุ่ม β-lactam antibiotics

บทที่ 2
วิธีดำเนินการวิจัย

วัสดุและอุปกรณ์

1. หนูทดลอง (mouse) ที่เป็นเพศผู้และเพศเมีย อายุ น้ำหนัก ใกล้เคียงกัน ได้รับจากสำนักงานสัตว์ทดลองแห่งชาติ ศาลายา จ. นครปฐม

2.สาร Apigenin, Baicalein, Luteolin และ Quercetin ได้จากบริษัท INDOFINE Chemical Company, USA หรือบริษัท Sigma-Aldrich, UK

3. ยา Ceftazidime, Cloxacillin ได้จากบริษัทยาผู้แทนจำหน่ายภายในประเทศไทย เช่น บริษัท Sigma, Glaxo, Wellcome, Bristol-Myers.

วิธีการทดลอง

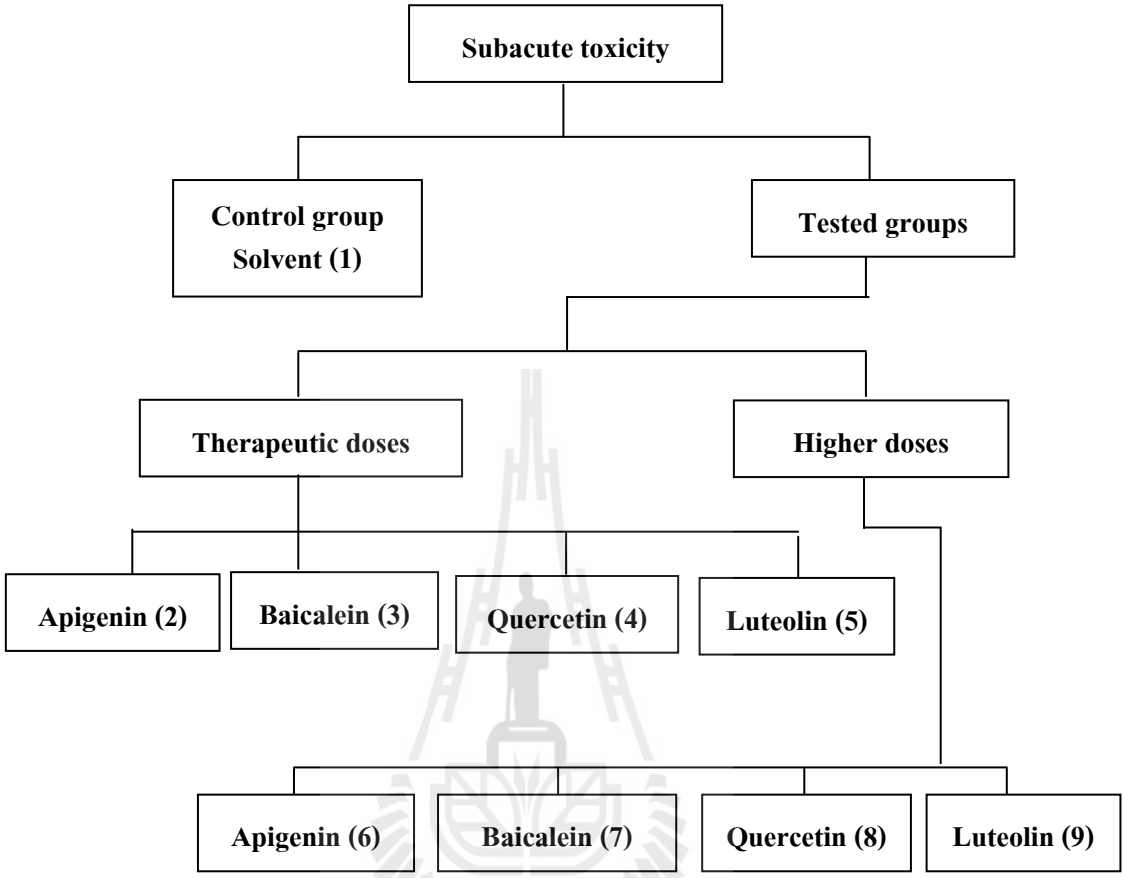
1. การทดสอบความเป็นพิษกึ่งเฉียบพลันในหนูขาว (Subacute toxicity test in mice)

หนูถีบจักร (mice) ที่ใช้ทดสอบถูกแบ่งออกเป็น 20 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่ม 1, 10, 11 และ12 เป็นกลุ่มควบคุม (หนู 10 ตัว) สำหรับกลุ่ม 2 ถึง 9 และ 13 ถึง 20 (หนู 10 ตัว/กลุ่ม) ดังในภาพ 2.1 เป็นกลุ่มที่ได้รับ flavonoids เดี่ยวๆ และ flavonoids ผสมกับยาปฏิชีวนะกลุ่มเบต้าแลคแทม flavonoids ดังกล่าวจะถูกฉีดเข้าภายในช่องท้องของหนูดังต่อไปนี้

1.1 กลุ่ม 2 ถึง 9 จะถูกฉีดเฉพาะ flavonoids (apigenin, baicalein, luteolin, quercetin) เดี่ยวๆ ในขนาดปกติ (Therapeutic dose) และขนาดสูง (ภาพ 2.1)

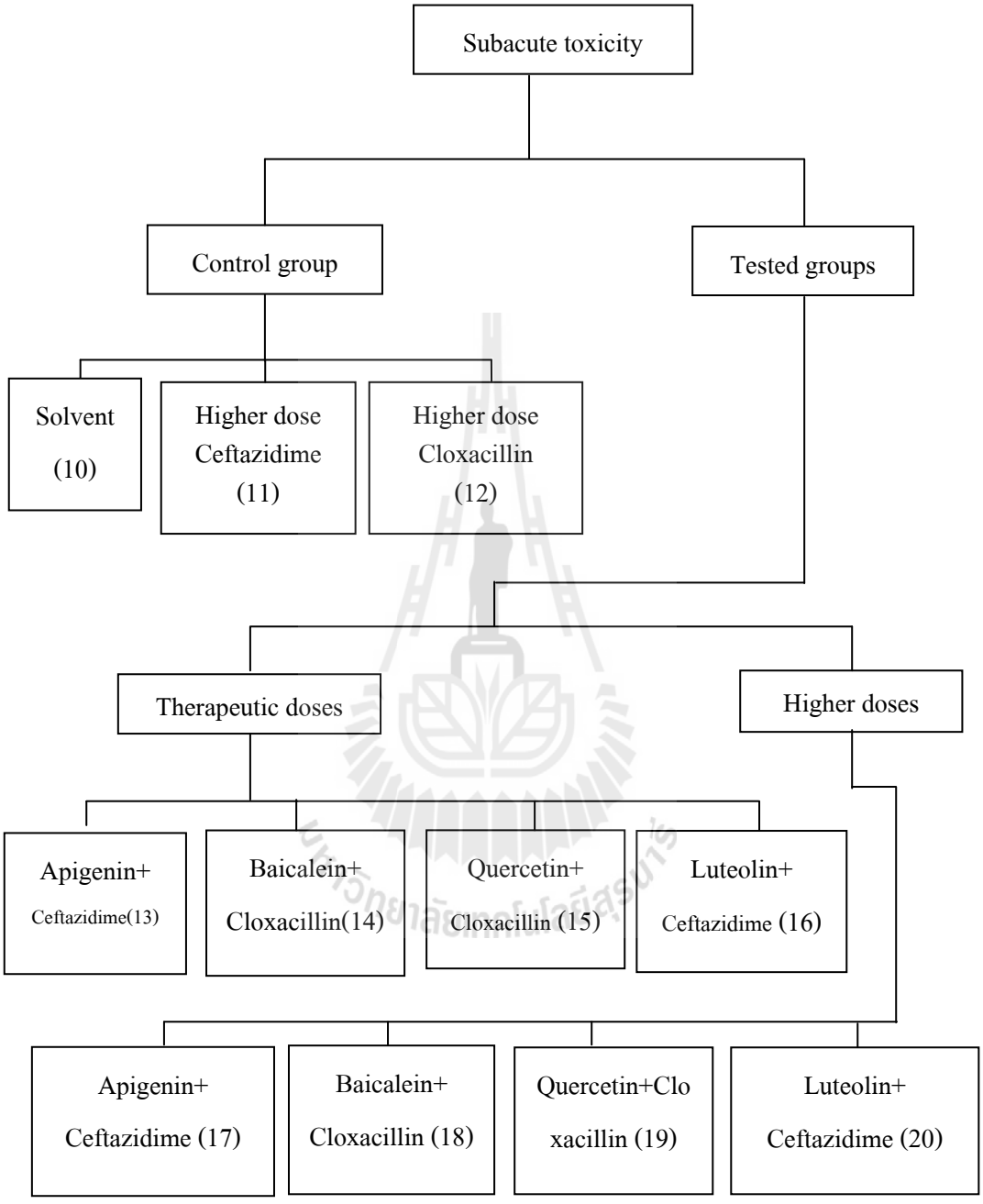
1.2 กลุ่ม 13 และ 20 จะถูกฉีด flavonoids ผสมกับ β-Lactams (baicalein + cloxacillin, quercetin + cloxacillin, apigenin + ceftazidime, luteolin + ceftazidime, galangin + ceftazidime) ในขนาดปกติ (Therapeutic dose) และขนาดสูง (ภาพ 2.2)

ภาพ 2.1 การทดสอบพิษกึ่งเฉียบพลัน โดยฉีด flavonoids เดี่ยวๆ



มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ภาพ 2.2 การทดสอบพิษกึ่งเฉียบพลัน ของหนูที่ได้รับ flavonoids ผสมกับ β-Lactams antibiotics



ทุกกลุ่มที่กล่าวมาจะถูกฉีดสารเข้าทางช่องท้อง (intraperitoneally) จำนวน 2 ครั้งต่อวัน เป็นเวลา 2 สัปดาห์ และหนูทุกตัวจะถูกชั่งน้ำหนักตัวทุกวันจนครบตามกำหนดทดลอง หนูทั้งหมดจะถูกวิเคราะห์ Hematology ได้แก่ Hematocrit (Hct), Red blood cell (RBC), White blood cell (WBC), Mean corpuscular volume (MCV) และค่า Blood chemistry ซึ่งได้แก่ค่า Fasting Blood glucose (FBS), Blood Urea Nitrogen (BUN), Aspartate aminotransferase (AST), Cholesterol และ Uric Acid ก่อนและหลังฉีดสาร ภายหลังการทดลองหนูขาว ทุกตัวจะถูกฆ่าโดยใช้ยาสลบไอโซฟลูเรน รูปแบบในการทดลองได้อ้างอิงตามการเพาะเลี้ยงและการดูแลสัตว์ทดลอง ปี 1998 (ฉบับที่ 1) และ เก็บอวัยวะภายในเช่น ปอด(lung), ตับ (liver), ไต(kidney), ม้าม (spleen), หัวใจ(heart), กระเพาะ (stomach) วิเคราะห์ทางด้านสัณฐานวิทยาและทางพยาธิวิทยา

2. การศึกษาความเป็นพิษกึ่งเรื้อรัง (Subchronic toxicity study)

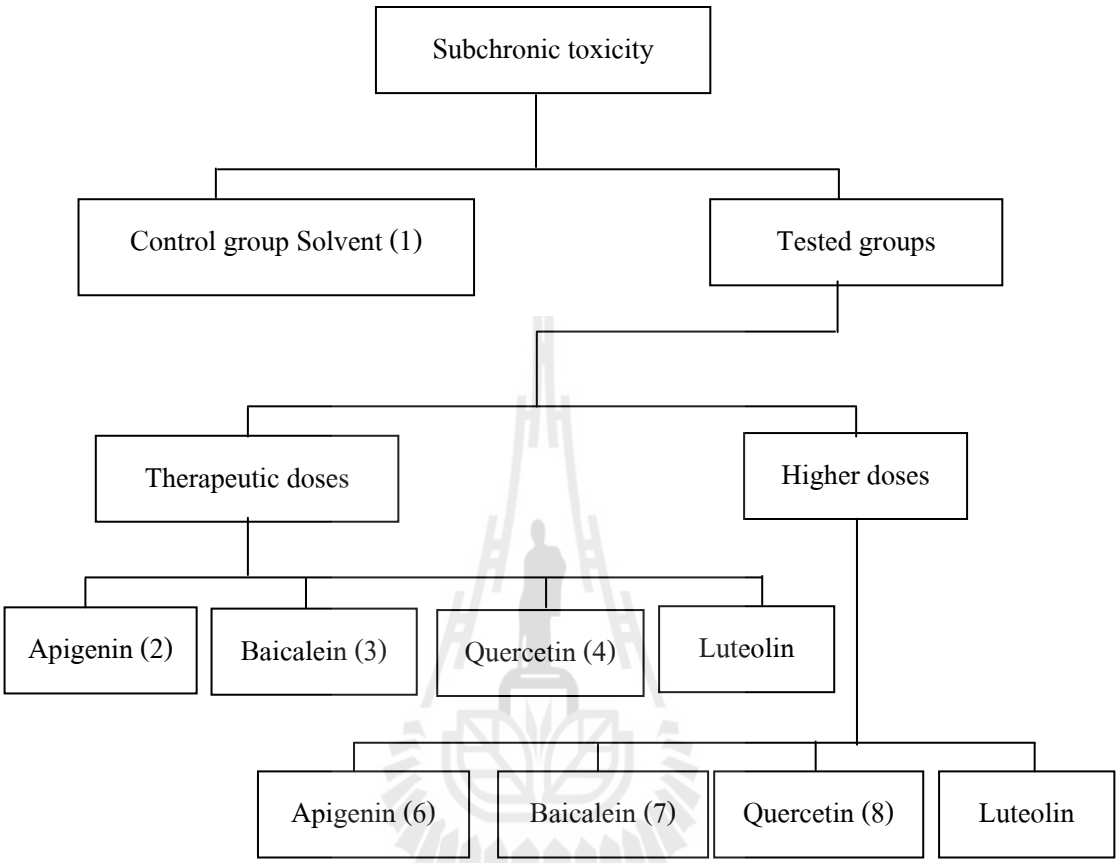
หนูขาว (mice) ที่ใช้ทดสอบถูกแบ่งออกเป็น 20 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่ม 1, 10, 11 และ12 เป็นกลุ่มควบคุม (หนู 10 ตัว) สำหรับกลุ่ม 2 ถึง 9 และ 13 ถึง 20 (หนู 10 ตัว/กลุ่ม) ดังในภาพ 2.3 เป็นกลุ่มที่ได้รับ flavonoids เดี่ยวๆ และ flavonoidsผสมกับยาปฏิชีวนะกลุ่มเบต้าแลคแทม flavonoids ดังกล่าวจะถูกฉีดเข้าภายในช่องท้องของหนูดังต่อไปนี้

2.1 กลุ่ม 2 ถึง 9 จะถูกฉีดเฉพาะ flavonoids (apigenin, baicalein, luteolin, quercetin) เดี่ยวๆ ในขนาดปกติ (Therapeutic dose) และขนาดสูง (ภาพ 2.1)

2.2 กลุ่ม 13 และ 20 จะถูกฉีด flavonoids ผสมกับ β-Lactams (baicalein + cloxacillin, quercetin + cloxacillin, apigenin + ceftazidime, luteolin + ceftazidime, galangin + ceftazidime)ในขนาดปกติ (Therapeutic dose) และขนาดสูง (ภาพ 2.4)

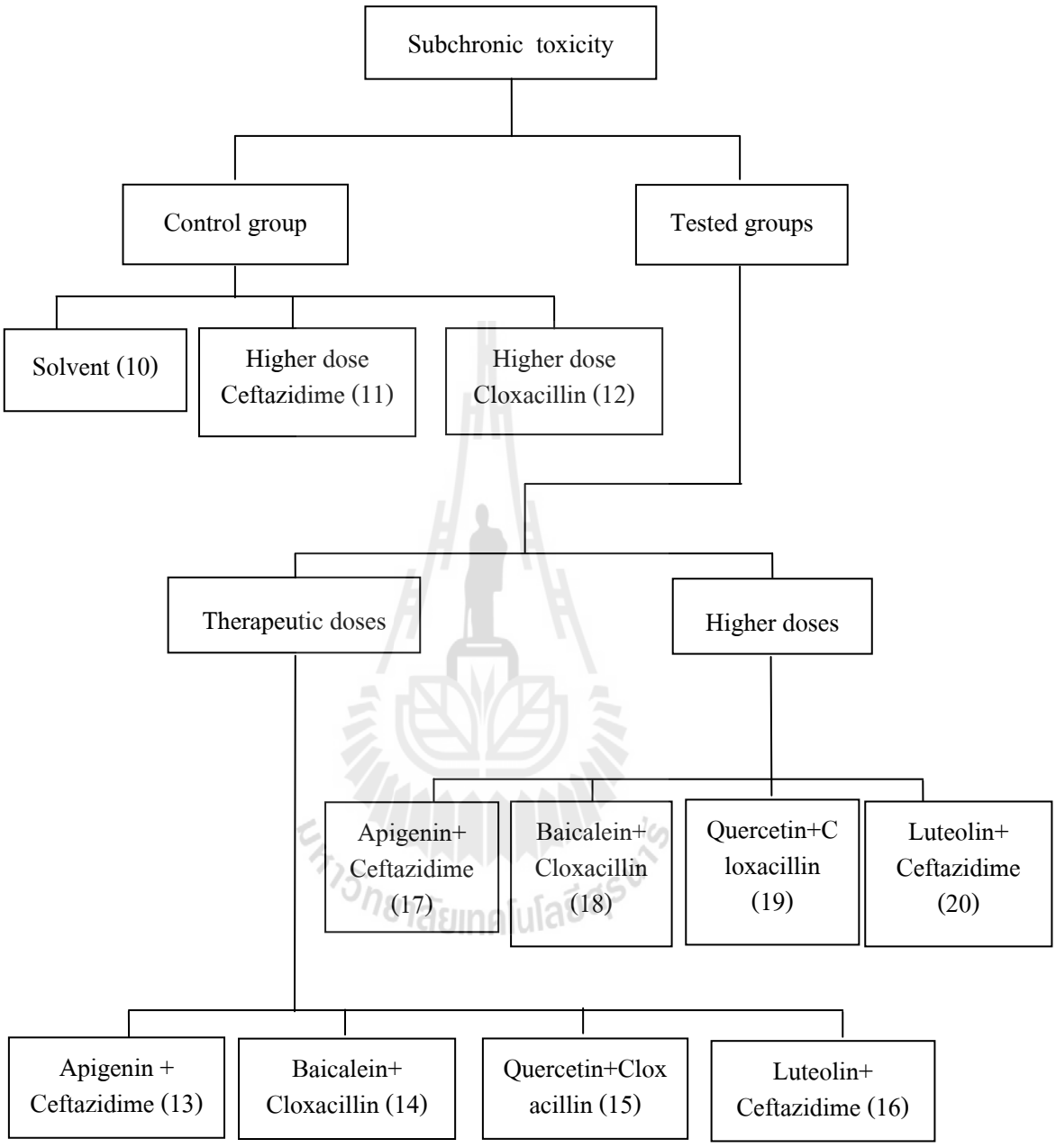
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ภาพ 2.3 การทดสอบพิษกึ่งเรื้อรัง โดยฉีด flavonoids เดี่ยวๆ



มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ภาพ 2.4 การทดสอบพิษกึ่งเรื้อรัง ของหนูที่ได้รับ flavonoids ผสมกับ β-Lactams antibiotics



ทุกกลุ่มที่กล่าวมาจะถูกฉีดสารเข้าทางช่องท้อง (intraperitoneally) จำนวน 2 ครั้งต่อวัน เป็นเวลา 2 สัปดาห์ และหนูทุกตัวจะถูกชั่งน้ำหนักตัวทุกวันจนครบตามกำหนดทดลอง หนูทั้งหมดจะถูกวิเคราะห์ Hematology ได้แก่ Hematocrit (Hct), Red blood cell (RBC), White blood cell (WBC), Mean corpuscular volume (MCV) และค่า Blood chemistry ซึ่งได้แก่ค่า Fasting Blood glucose (FBS), Blood Urea Nitrogen (BUN), Aspartate aminotransferase (AST), Cholesterol และ Uric Acid ก่อนและหลังฉีดสาร ภายหลังการทดลองหนูขาว ทุกตัวจะถูกฆ่าโดยใช้ยาสลบไอโซฟลูเรน รูปแบบในการทดลองได้อ้างอิงตามการเพาะเลี้ยงและการดูแลสัตว์ทดลอง ปี 1998 (ฉบับที่ 1) และ เก็บอวัยวะภายในเช่น ปอด(lung), ตับ (liver), ไต(kidney), ม้าม (spleen), หัวใจ(heart), กระเพาะ (stomach) วิเคราะห์ทางด้านสัณฐานวิทยาและทางพยาธิวิทยา

สถานที่ที่ใช้ทำการวิจัย

สถานที่ที่ใช้ทำการวิจัย ได้แก่ ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี, อาคารสัตว์ทดลองมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี และห้องโลหิตวิทยา กลุ่มงานพยาธิวิทยาคลินิก โรงพยาบาลมหาราชนครราชสีมา

วิธีวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ผลการทดลอง ใช้หลักสถิติตามวิธีของ ANOVA และการประเมินผลตามวิธีของ Ecobichon (1997).

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 3
ผลการวิจัย

ผลการศึกษาวิจัยออกเป็น 2 ส่วน ตามลำดับดังนี้

1. การทดสอบพิษกึ่งเฉียบพลันในหนูขาว (subacute toxicity) ของฟลาโวนอยด์ (flavonods) เดี่ยวๆ และฟลาโวนอยด์ผสมกับ ยาปฏิชีวนะในกลุ่ม เบตาแลคแทม (β-Lactams antibiotics) เป็นเวลา 14 วัน ดังต่อไปนี้

    1) เคอร์เซติน (quercetin) และ quercetin + cloxacillin
    2) ไบคาลิน (baicalein) และ baicalein + cloxacillin
    3) เอพิจีนิน (apigenin) และ apigenin + ceftazidime
    4) ลูทีโอลิน(luteolin) และ luteolin + ceftazidime

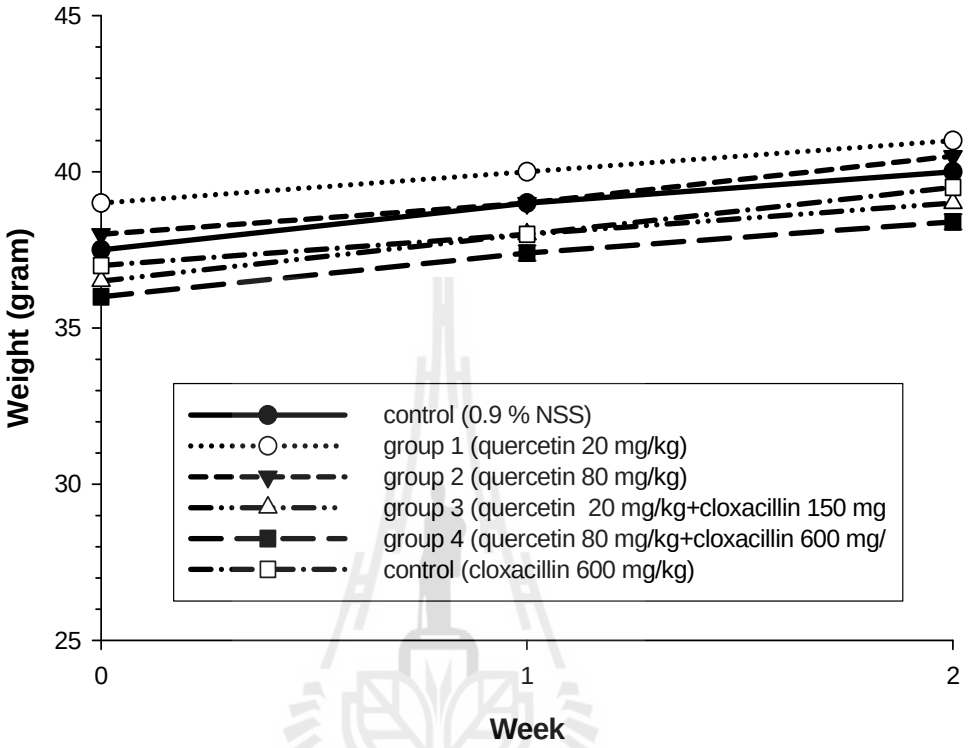
2. การทดสอบพิษกึ่งเรื้อรังในหนูขาว (subchronic toxicity) ของฟลาโวนอยด์(flavonods) เดี่ยวๆ และฟลาโวนอยด์ผสมกับ ยาปฏิชีวนะในกลุ่ม เบตาแลคแทม (β-Lactams antibiotics) เป็นเวลา 90 วัน ดังต่อไปนี้

    1) เคอร์เซติน (quercetin) และ quercetin + cloxacillin
    2) ไบคาลิน (baicalein) และ baicalein + cloxacillin
    3) เอพิจีนิน (apigenin) และ apigenin + ceftazidime
    4) ลูทีโอลิน(luteolin) และ luteolin + ceftazidime

1. การทดสอบพิษกึ่งเฉียบพลันในหนูขาว **(subacute toxicity)** ของฟลาโวนอยด์

การศึกษาความเป็นพิษกึงเฉียบพลันของ quercetin และ quercetin + cloxacillin การทดสอบการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักและน้ำหนักอวัยวะในหนูขาว (mice) ผลการทดลองพบว่าไม่มีหนูขาวตัวใดในทุกกลุ่มการทดลองที่มีพฤติกรรมและน้ำหนักตัวและน้ำหนักอวัยวะภายในได้แก่ หัวใจ (heart) ตับ (liver) ม้าม (spleen) ปอด (lung) ไต (kidney) และกระเพาะอาหาร(stomach) ที่ผิดปกติไปเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมในระยะเวลา 14 วัน เมื่อฉีดสารเคอร์เซติน ดังในภาพที่ 3.1และตารางที่ 3.1 และผลทางพยาธิวิทยาและสัณฐานวิทยาของชิ้นเนื้ออวัยวะภายในของหนูขาวพบว่าปกติทุกกลุ่มและไม่มีลักษณะเปลี่ยนแปลงสำคัญที่แสดงให้เห็นถึงการทำลายของเซลล์เนื้อเยื่อต่างๆในทุกกลุ่มการทดลองเมือเทียบกับกลุ่มควบุมดังภาพที่ 3.2

ภาพที่ 3.1 กราฟแสดงน้ำหนักของหนูขาวเมื่อได้รับquercetin เดี่ยวและผสมกับยา cloxacillin เป็นเวลา 14 วันเมื่อเปรียบเทียบกับ negative control



มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

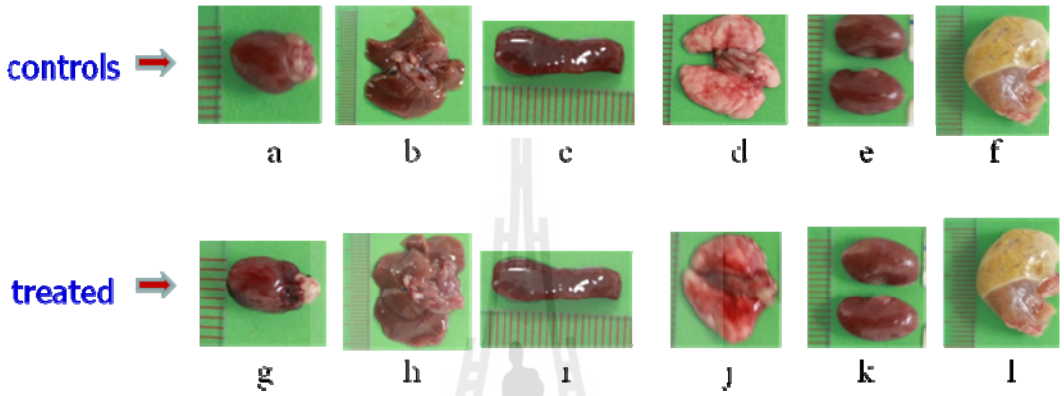
ตารางที่ 3.1 ผลของ quercetin เดี่ยวๆ และผสมกับยา cloxacillin ต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักอวัยวะภายในของหนูขาวเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ในกลุ่มการทดลองต่างๆต่อไปนี้ (per 100g body weight) ,Group 1 = quercetin 20 mg/kg BW/day, Group 2 = quercetin 80 mg/kg BW/day, Group 3 = quercetin 20 mg/kg BW/day plus cloxacillin 150 mg/kg BW/day, Group 4 = quercetin 80 mg/kg BW/day plus cloxacillin 600 mg/kg BW/day, Cloxa = Cloxacillin (600 mg/kg BW).

Organ (g)	**Control (NSS)**	**Control Cloxa**	**Group 1**	**Group 2**	**Group 3**	**Group 4**
Heart	0.0019 ± 0.0001	0.0018±0.0002	0.0022 ± 0.0001	0.0025 ± 0.0004	0.0017 ± 0.0003	0.0017 ± 0.0001
Liver	0.0230 ± 0.0036	0.0185±0.0015	0.0239 ± 0.0018	0.0212 ± 0.0026	0.0196 ± 0.0011	0.0208 ± 0.0025
Spleen	0.0053 ± 0.0017	0.0034±0.0001	0.0045 ± 0.0030	0.0020 ± 0.0001	0.0047 ± 0.0008	0.0049 ± 0.0008
Lung	0.0029 ± 0.0002	0.0029±0.0003	0.0035 ± 0.0002	0.0030 ± 0.0003	0.0025 ± 0.0003	0.0024 ± 0.0003
Kidney	0.0070 ± 0.0016	0.0064±0.0037	0.0079 ± 0.0008	0.0068 ±0.0013	0.0067 ± 0.0017	0.0059 ± 0.0002
Stomach	0.0092 ± 0.0010	0.0097±0.0012	0.0107 ± 0.0018	0.0069 ± 0.0004	0.0127 ± 0.0036	0.0148 ± 0.0066

ภาพที่ 3.2 ลักษณะของอวัยวะภายในของหนูขาวหลังจากที่ได้รับ quercetin เดี่ยวๆและผสมกับยา cloxacillin เป็นเวลา 14 วันเมื่อเปรียบเทียบกับ negative control. Control group ; a = heart; b = liver; c = spleen; d = lung; e = kidney; f = stomach

14

d group ; g = heart; h = liver; i = spleen; j = lung; k = kidney; l = stomach.



ผลทางเคมีคลินิกและโลหิตวิทยาในหนูขาว (mice)

ผลการตรวจค่าเคมีโลหิตของหนูขาวหลังจากการให้ quercetin เป็นเวลา 14 วัน พบว่าระดับของ AST, BUN, FBS, และ cholesterol ในแต่ละกลุ่มการทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมนัยสำคัญ (P <0.05) เมื่อเทียบกับกลุ่ม pre-treatment ดังในตาราง 3.2 ส่วนค่าโลหิตวิทยาพบว่าระดับของ WBC และ Hct ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่ม pre-treatment ส่วนระดับของ RBC และ Hb จะลดลงอย่างมีนัยสำคัญ(P <0.05) เมื่อหนูขาวได้รับ quercetin ขนาด 80 mg/kg BW/day เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และค่า MCV ลดลงเมื่อได้รับ quercetin ขนาด 20 mg/kg BW/day ผสมกับยา cloxacillin 150 mg/kg BW/day เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

ตารางที่ 3.2 ค่าเคมีและโลหิตวิทยาของหนูขาวที่ได้รับ quercetin เป็นระยะเวลา 14 วัน ในกลุ่มการทดลองต่างๆดังต่อไปนี้, Group 1 = quercetin 20 mg/kg BW/day, Group 2 = quercetin 80 mg/kg BW/day, Group 3 = quercetin 20 mg/kg BW/day plus cloxacillin 150 mg/kg BW/day, Group 4 = quercetin 80 mg/kg BW/day plus cloxacillin 600 mg/kg BW/day, Cloxa = Cloxacillin (600 mg/kg BW).

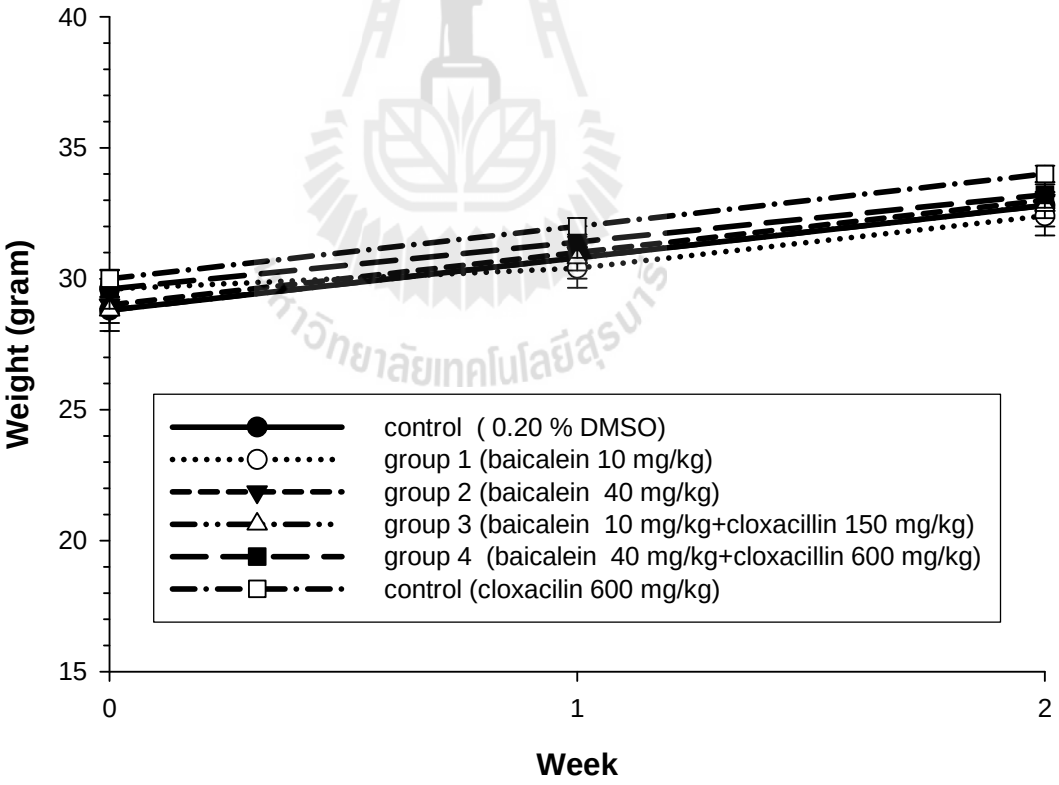
Parameter	Control (NSS)		Control Cloxa.		Group 1		Group 2		Group 3		Group 4	
	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post
AST (U/L)	207.2±33.6	209.2±33.7	300.5±34.7	415.5±49.3	178.7±49.2	129.7±17.9	159.2±20.0	235.0±99.3	255.0±71.3	80.6±19.5	169.3±42.3	207.0±11.3
BUN (mg/dl)	23.5±0.6	23.7±1.1	25.0±1.6	25.8±4.5	32.5±3.2	34.0±4.9	15.7±1.7	23.6±7.7	25.3±2.9	44.2±17.9	47.9±14.7	29.7±1.6
FBS(mg/dl)	137.5±9.8	176.7±22.4	160.0±3.6	182.2±18.1	115.00±19.9	150.75±15.9	163.0±6.1	155.7±16.1	180.3±59.3	155.3±5.6	180.0±8.3	213.6±26.0
Cholesterol(mg/dl)	85.2±2.7	92.0±4.1	129.0±8.0	116.5±13.7	100.0±4.5	162.2±54.6	105.0±7.0	151.0±49.8	134.6±20.1	84.6±19.6	106.6±38.6	78.6±07.5
WBC ($x10^3$//μ L)	9.6±0.6	9.7±0.7	9.6±0.6	24.3±16.5	5.9±1.4	4.9±0.5	3.1±1.2	3.8±1.5	6.6±0.9	5.4±1.2	9.3±1.6	9.7±01.5
RBC ($x10^6$ /μL)	9.0±0.1	8.9±0.4	9.05±0.1	8.9±0.4	7.8±0.4	8.2±0.1	8.7±0.3	6.7±0.0*	7.7±0.3	5.3±1.6	8.2±0.2	6.7±01.40
Hb (g/dl)	15.5±0.2	14.5±0.2	15.5±0.2	14.5±0.2	13.3±0.9	14.2±0.5	15.1±0.3	10.5±1.0*	14.1±0.7	9.6±1.8	14.3±1.1	11.3±01.7
Hct (%)	44.7±1.2	44.0±0.9	49.2±1.3	44.0±0.9	37.2±1.5	40.3±0.5	40.3±5.4	34.9±3.7	40.5±1.8	25.3±8.2	41.6±2.0	35.6±05.4
MCV (fL)	54.5±0.8	54.2±0.7	54.5±0.8	52.9±0.7	48.2±0.4	49.2±0.4	51.0±0.5	45.3±2.3	52.0±2.0	**47.1±0.6***	51.5±1.3	54.8±4.2

การศึกษาความเป็นพิษกึ่งเฉียบพลันของ baicalein และ baicalin + cloxacillin

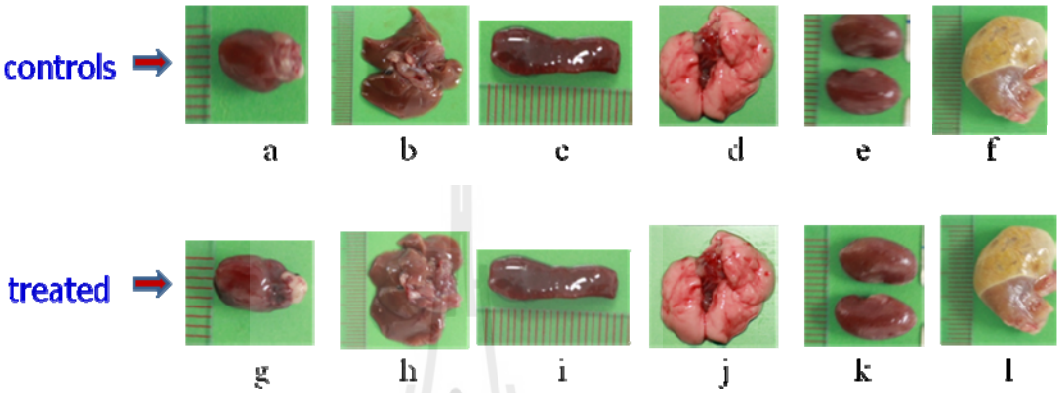
การทดสอบการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักและน้ำหนักอวัยวะในหนูขาว **(mice)**

ผลการทดลองพบว่าไม่มีหนูขาวตัวใดในทุกกลุ่มการทดลองที่มีพฤติกรรมและน้ำหนักตัวและน้ำหนักอวัยวะภายในได้แก่ หัวใจ (heart) ตับ (liver) ม้าม (spleen) ปอด (lung) ไต (kidney) และกระเพาะอาหาร(stomach) ที่ผิดปกติไปเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมในระยะเวลา 14 วัน เมื่อฉีด baicalein ดังในภาพที่ 3.3 และตารางที่ 3.3 และผลทางพยาธิวิทยาและสัณฐานวิทยาของชิ้นเนื้ออวัยวะภายในของหนูขาวพบว่าปกติทุกกลุ่มและไม่มีลักษณะเปลี่ยนแปลงสำคัญที่แสดงให้เห็นถึงการทำลายของเซลล์เนื้อเยื่อต่างๆในทุกกลุ่มการทดลองเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมดังภาพที่ 3.4

ภาพ 3.3 กราฟแสดงน้ำหนักของหนูขาวเมื่อได้รับ baicalein เดี่ยวและผสมกับยา cloxacillin เป็นเวลา 14 วันเมื่อเปรียบเทียบกับ negative control



ภาพ **3.4** ลักษณะของอวัยวะภายในของหนูขาวหลังจากที่ได้รับ baicalein เดี่ยวๆและผสมกับยา cloxacillin เป็นเวลา 14 วันเมื่อเปรียบเทียบกับ negative control,Control group ; a = heart; b = liver; c = spleen; d = lung; e = kidney; f = stomach. Treated group ; g = heart; h = liver; i = spleen; j = lung; k = kidney; l = stomach.



มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตาราง **3.3** ผลของ baicalein เดี่ยวๆ และผสมกับยา cloxacillin ต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักอวัยวะภายในของหนูขาวเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ในกลุ่มการทดลองต่างๆต่อไปนี้ (per 100g body weight), Group 1 = baicalein 10 mg/kg BW/day, Group 2 = baicalein 40 mg/kg BW/day, Group 3 = baicalein 10 mg/kg BW/day plus cloxacillin 150 mg/kg BW/day, Group 4 = baicalein 40 mg/kg BW/day plus cloxacillin 600 mg/kg BW/day, Cloxa = Cloxacillin (600 mg/kg BW).

Organ (g)	Control (0.2%DMSO)	Control Cloxa	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4
Heart	0.0019 ± 0.0001	0.0018±0.0001	0.0021 ± 0.0001	0.0019 ± 0.0001	0.0015 ± 0.0001	0.0018 ± 0.0001
Liver	0.0193 ± 0.0011	0.0178±0.0010	0.0208 ± 0.0017	0.0185 ± 0.0013	0.0169 ± 0.0011	0.0198 ± 0.0008
Spleen	0.0014 ± 0.0001	0.0014±0.0000	0.0017 ± 0.0001	0.0017 ± 0.0002	0.0013 ± 0.0001	0.0036 ± 0.0016
Lung	0.0025 ± 0.0001	0.0025±0.0001	0.0025 ± 0.0001	0.0022 ± 0.0001	0.0028 ± 0.0003	0.0027 ± 0.0002
Kidney	0.0072± 0.0010	0.0060±0.0006	0.0069 ± 0.0008	0.0062 ± 0.0005	0.0056 ± 0.0008	0.0057 ± 0.0007
Stomach	0.0121 ± 0.0022	0.0069±0.0012	0.0179 ± 0.0025	0.0107 ±0.0021	0.0088 ± 0.0022	0.0112 ± 0.0020

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลทางเคมีคลีนิกและโลหิตวิทยาในหนูขาว (mice)

ผลการตรวจค่าเคมีโลหิตของหนูขาวหลังจากการให้ baicalein เป็นเวลา 14 วัน พบว่าระดับของ AST, BUN และFBS ในแต่ละกลุ่มการทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมนัยสำคัญ(P <0.05) เมื่อเทียบกับกลุ่ม pre-treatment ดังในตาราง 3.3 ส่วนค่าโลหิตวิทยาพบว่าระดับของ WBC , RBC และ Hct ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ(P <0.05) เมื่อเทียบกับกลุ่ม pre-treatment ส่วนระดับของ Hb จะลดลงอย่างมีนัยสำคัญ(P <0.05) เมื่อหนูขาวได้รับ baicalein ขนาด 40 mg/kg BW/day ผสมกับยา cloxacillin 600 mg/kg BW/day เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และค่า MCV ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ(P <0.05) เมื่อได้รับ baicalein ขนาด 10 และ 40 mg/kg BW/day เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ดังในตารางที่ 3.4

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 3.4 ค่าเคมีและโลหิตวิทยาของหนูขาวที่ได้รับ baicalein เป็นระยะเวลา 14 วัน ในกลุ่มการทดลองต่างๆดังต่อไปนี้, Group 1 = baicalein 10 mg/kg BW/day, Group 2 = baicalein 40 mg/kg BW/day, Group 3 = baicalein 10 mg/kg BW/day plus cloxacillin 150 mg/kg BW/day, Group 4 = baicalein 40 mg/kg BW/day plus cloxacillin 600 mg/kg BW/day, Cloxa = Cloxacillin (600 mg/kg BW).

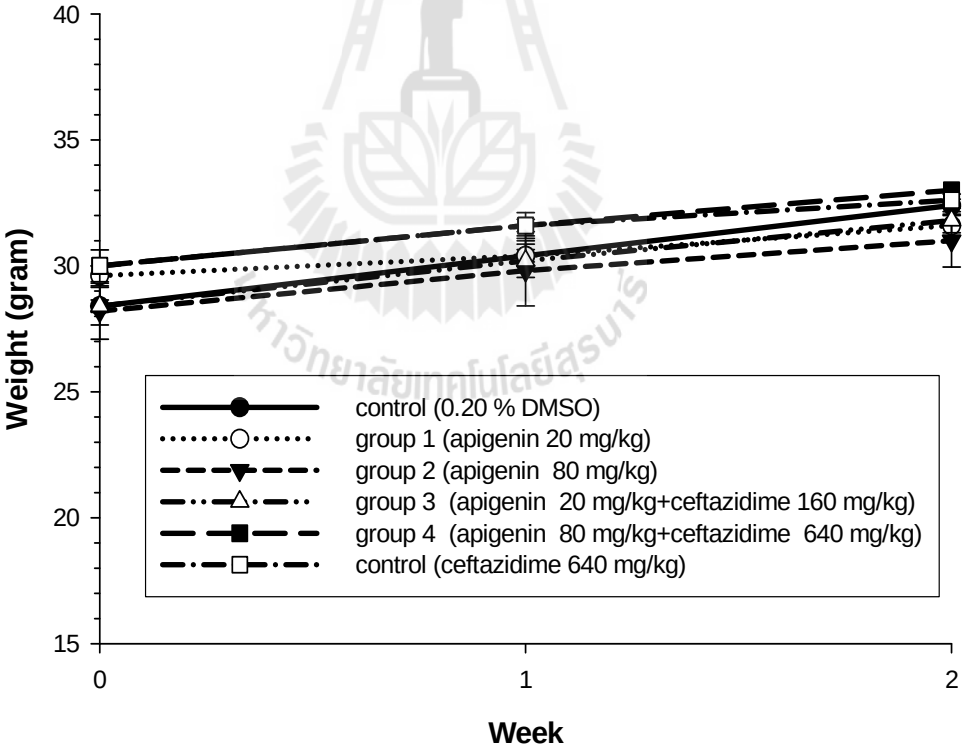
Parameter	Control (0.20%DMSO)		Control Cloxa.		Group 1		Group 2		Group 3		Group 4	
	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post
AST (U/L)	312.5±80.0	615.1±189.1	276.0±36.3	301.0±48.9	156.8±19.9	478.6±155.2	222.0±35.6	256.6±47.3	271.4±47.4	271.0±47.3	400.2±85.0	608.4±152.9
BUN (mg/dl)	27.2±3.2	22.5±1.6	26.2±1.8	25.7±3.4	21.0±2.8	20.5±3.5	29.1±2.6	27.52±2.53	21.8±3.0	19.82±1.16	21.48±3.20	22.26±1.36
FBS(mg/dl)	160.7±6.6	191.4±15.7	160.4±2.8	181.2±14.0	158.4±20.6	180.8±15.7	153.2±12.0	185.6±11.0	168.6±13.5	175.2±13.6	171.00±18.3	166.20±7.2
Cholesterol(mg/dl	140.3±21.6	135.7±22.3	**141.0±13.5**	**105.0±9.7***	102.6±21.8	102.6±21.6	103.0±14.4	103.0±6.9	119.0±15.0	114.8±10.6	**138.60±15.6**	**100.80±12.***
WBC ($x10^3$//μ L)	9.6±0.8	5.0±1.7	**9.7±0.7**	**4.5±0.64***	10.5±1.3	11.9±2.2	9.8±1.0	13.0±2.3	11.58±1.88	6.8±0.9	**12.92±0.9**	**6.0±0.7***
RBC ($x10^6$ /μL)	7.5±1.1	7.2±1.1	8.8±0.2	8.2±0.2	7.7±0.6	8.6±0.6	8.1±0.5	8.2±0.8	8.50±0.26	8.3±0.3	8.72±0.11	6.9±1.16
Hb (g/dl)	15.5±0.5	13.0±1.7	15.5±0.2	14.5±0.2	14.0±0.7	14.4±1.0	14.8±0.5	14.2±1.3	15.0±0.31	14.8±0.3	**15.60±0.50**	**12.0±1.5***
Hct (%)	48.0±1.7	37.2±5.8	49.2±1.3	44.0±0.9	39.4±3.2	42.3±3.3	44.1±2.8	41.4±4.0	44.8±1.06	43.4±1.3	45.80±0.91	37.4±4.6
MCV (fL)	51.5±0.2	50.7±1.0	54.5±0.8	53.0±0.9	**50.8±0.7**	**48.7±0.5***	**54.46±0.5**	**49.9±0.6***	52.9±1.38	51.9±0.4	52.50±0.78	51.1±6.0

1.3 **การศึกษาความเป็นพิษกึ่งเฉียบพลันของ** apigenin **และ** apigenin + ceftazidime

การทดสอบการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักและน้ำหนักอวัยวะในหนูขาว **(mice)**

ผลการทดลองพบว่าไม่พบความผิดปกติหรือการเปลี่ยนแปลงของพฤติกรรมน้ำหนักตัวดังแสดงภาพที่ 3.5 และผลทางพยาธิวิทยาและสัณฐานวิทยาของชิ้นเนื้ออวัยวะภายในและน้ำหนักอวัยวะภายในของหนูขาวได้แก่ หัวใจ (heart) ตับ (liver) ม้าม (spleen) ปอด (lung) ไต (kidney) และกระเพาะอาหาร(stomach) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ในระยะเวลา 14 วัน เมื่อฉีดสาร apigenin ดังในตารางที่ 3.5พบว่าปกติทุกกลุ่มและไม่มีลักษณะเปลี่ยนแปลงสำคัญที่แสดงให้เห็นถึงการทำลายของเซลล์เนื้อเยื่อต่างๆในทุกกลุ่มการทดลองเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมดังภาพที่ 3.6

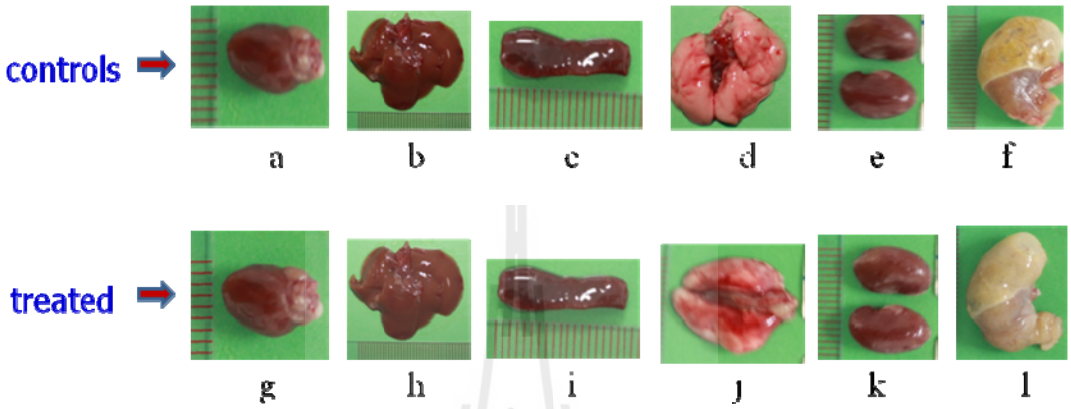
ภาพ **3.**5 กราฟแสดงน้ำหนักของหนูขาวเมื่อได้รับ apigenin เดี่ยวและผสมกับยา ceftazidime เป็นเวลา 14 วันเมื่อเปรียบเทียบกับ negative control



ตาราง **3.5** ผลของ apigenin เดี่ยวๆ และผสมกับยา ceftazidime ต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักอวัยวะภายในของหนูขาวเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ในกลุ่มการทดลองต่างๆต่อไปนี้ (per 100g body weight), Group 1 = apigenin 20 mg/kg BW/day, Group 2 =apigenin 80 mg/kg BW/day, Group 3 = apigenin 20 mg/kg BW/day plus ceftazidime 160 mg/kg BW/day, Group 4 = apigenin 80 mg/kg BW/day plus ceftazidime 640 mg/kg BW/day, Cefta = Ceftazidime (640 mg/kg BW).

Organ (g)	Control (0.2%DMSO)	Control Cefta	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4
Heart	0.0019 ± 0.0001	0.0018±0.0001	0.0019 ± 0.0001	0.0017 ± 0.0001	0.0017 ± 0.0001	0.0094± 0.0049
Liver	0.0179 ± 0.0014	0.0152±0.0016	0.0176 ± 0.0003	0.0187 ± 0.0006	0.0179 ± 0.0014	0.0176 ± 0.0005
Spleen	0.0015 ± 0.0001	0.0021±0.0007	0.0026 ± 0.0008	0.0024 ± 0.0006	0.0020 ± 0.0005	0.0019 ± 0.0002
Lung	0.0026 ± 0.0001	0.0027±0.0001	0.0028 ± 0.0003	0.0024 ± 0.0003	0.0026 ± 0.0001	0.0027 ± 0.0002
Kidney	0.0065± 0.0007	0.0054±0.0008	0.0060 ± 0.0008	0.0064 ± 0.0006	0.0061 ± 0.0004	0.0062 ± 0.0007
Stomach	0.0084 ± 0.0016	0.0089±0.0036	0.0139 ± 0.0047	0.0081 ±0.0010	0.0083 ± 0.0012	0.0081 ± 0.0012

ภาพ **3.6** ลักษณะของอวัยวะภายในของหนูขาวหลังจากที่ได้รับ apigenin เดี่ยวๆและผสมกับยา ceftazidime เป็นเวลา 14 วันเมื่อเปรียบเทียบกับ negative control, Control group ; a = heart; b = liver; c = spleen; d = lung; e = kidney; f = stomach. Treated group ; g = heart; h = liver; i = spleen; j = lung; k = kidney; l = stomach.



ผลทางเคมีคลีนิกและโลหิตวิทยาในหนูขาว (mice)

ผลการตรวจค่าเคมีโลหิตของหนูขาวหลังจากการให้ apigenin เป็นเวลา 14 วัน พบว่าระดับของ AST, BUN ,FBS และ Cholesterol ในแต่ละกลุ่มการทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมนัยสำคัญ (P <0.05) เมื่อเทียบกับกลุ่ม pre-treatment ดังในตาราง 3.4 ส่วนค่าโลหิตวิทยาพบว่าระดับของ WBC , RBC, Hb, Hct และMCV ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ(P <0.05) เมื่อเทียบกับกลุ่ม pre-treatment ดังในตารางที่ 3.6

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตาราง **3.6** ค่าเคมีและโลหิตวิทยาของหนูขาวที่ได้รับ apigenin เป็นระยะเวลา 14 วัน ในกลุ่มการทดลองต่างๆดังต่อไปนี้, Group 1 = apigenin 20 mg/kg BW/day, Group 2 = apigenin 80 mg/kg BW/day, Group 3 = apigenin 20 mg/kg BW/day plus ceftazidime 160 mg/kg BW/day, Group 4 = apigenin 80 mg/kg BW/day plus ceftazidime 640 mg/kg BW/day, Cefta = Ceftazidime (640 mg/kg BW).

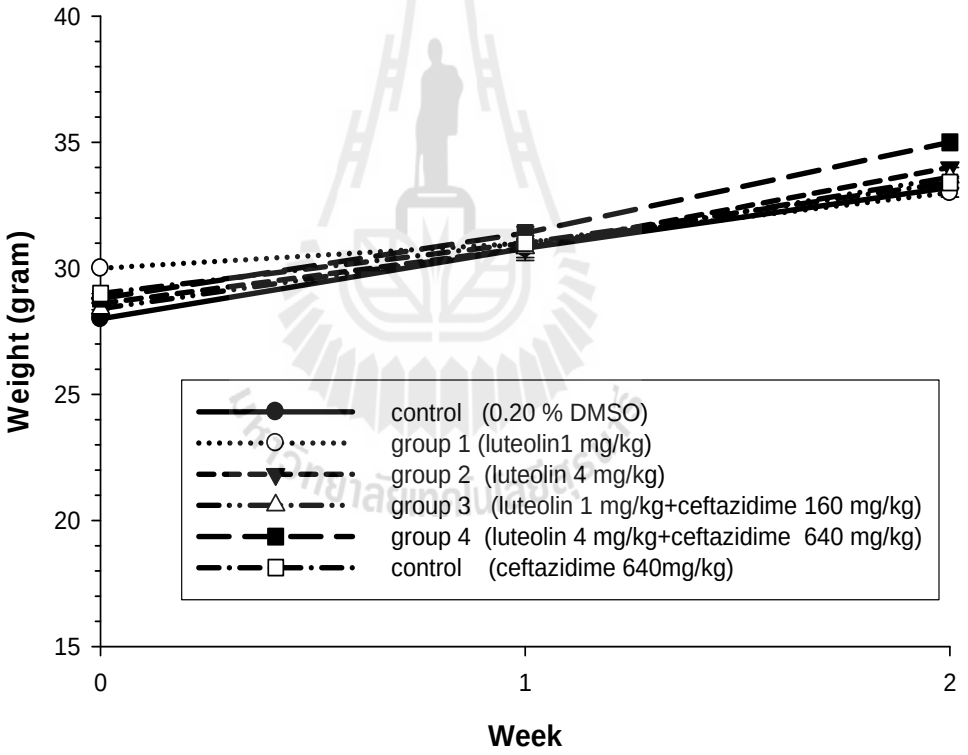
Parameter	Control (0.20%DMSO)		Control Cefta.		Group 1		Group 2		Group 3		Group 4	
	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post
AST (U/L)	312.5±80.0	615.1±189.1	335.0±107.0	438.7±169.0	261.0±112.5	572.0±234.7	307.2±88.3	373.2±124.5	598.0±124.5	620.0±176.4	384.0±102	525.0±100
BUN (mg/dl)	27.2±3.2	22.5±1.6	17.0±2.5	18.2±7.1	25.3±2.6	24.0±1.9	29.0±2.1	21.3±2.8	25.9±2.9	18.9±5.6	18.6±3.0	14.2±2.4
FBS(mg/dl)	160.7±6.6	191.4±15.7	138.7±20.2	193.7±5.1	138.0±9.1	230.0±31.4	144.0±13.5	165.2±15.0	173.0±16.0	179.0±16.9	144.0±16.6	169.8±18.6
Cholesterol(mg/dl)	140.3±21.6	135.7±22.3	212.5±7.5	276.2±40.2	105.0±31.3	118.0±7.0	115.8±27.9	88.6±8.5	178.0±30.0	236.2±45.0	164.0±30.4	229.0±9.1
WBC ($x10^3$//µ L)	9.6±0.8	8.0±1.7	9.6±0.9	4.8±1.8	10.4±0.63	5.7±1.8	12.6±1.2	12.5±1.3	9.8±0.7	8.0±0.7	7.5±0.9	5.9±0.9
RBC ($x10^6$ /µL)	7.5±1.1	7.2±1.1	7.7±1.2	7.2±1.1	8.5±0.0	7.3±0.5	8.4±0.5	7.8±0.1	8.0±0.6	7.9±0.6	8.9±0.3	6.6±1.0
Hb (g/dl)	15.5±0.5	13.0±1.7	16.0±0.5	11.0±2.4	14.3±0.3	12.0±1.5	14.4±0.9	13.2±0.3	16.8±0.3	14.8±0.7	16.0±0.31	14.9±0.8
Hct (%)	48.0±1.7	37.2±5.8	50.0±1.8	31.8±6.8	43.6±1.3	38.6±4.0	44.0±3.1	40.6±0.6	52.2±1.2	43.8±2.8	49.6±1.9	47.2±3.1
MCV (fL)	51.5±0.2	50.7±1.0	51.0±0.3	51.0±1.2	50.5±1.4	50.4±1.6	51.1±1.1	51.2±0.6	52.7±0.7	54.3±1.9	52.1±0.5	51.0±0.3

Mean ± SEM (n=5), **p* < 0.05 (Student's *t*–test). Significant relative to pre-treatment value. 1.4 **การศึกษาความเป็นพิษกึ่งเฉียบพลันของ** luteolin **และ** luteolin + ceftazidime

การทดสอบการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักและน้ำหนักอวัยวะในหนูขาว (mice)

ผลการทดลองพบว่าไม่พบความผิดปกติหรือการเปลี่ยนแปลงของพฤติกรรมน้ำหนักตัว ดังแสดงภาพที่ 3.7 และผลทางพยาธิวิทยาและสัณฐานวิทยาของชิ้นเนื้ออวัยวะภายในและน้ำหนักอวัยวะภายในของหนูขาวได้แก่ หัวใจ (heart) ตับ (liver) ม้าม (spleen) ปอด (lung) ไต (kidney) และกระเพาะอาหาร(stomach) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ในระยะเวลา 14 วัน เมื่อฉีดสาร luteolin ดังในตารางที่ 3.7 พบว่าปกติทุกกลุ่มและไม่มีลักษณะเปลี่ยนแปลงสำคัญที่แสดงให้เห็นถึงการทำลายของเซลล์เนื้อเยื่อต่างๆในทุกกลุ่มการทดลองเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมดังภาพที่ 3.8

ภาพ **3.7** กราฟแสดงน้ำหนักของหนูขาวเมื่อได้รับ luteolin เดี่ยวและผสมกับยา ceftazidime เป็นเวลา 14 วันเมื่อเปรียบเทียบกับ negative control

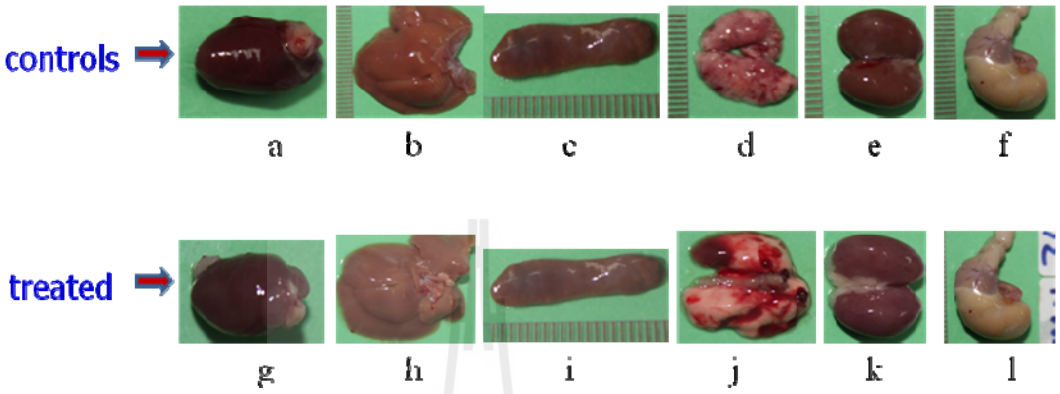


ตาราง **3.7** ผลของ luteolin เดี่ยวๆ และผสมกับยา ceftazidime ต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักอวัยวะภายในของหนูขาวเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ในกลุ่มการทดลองต่างๆต่อไปนี้ Group 1 = luteolin 1 mg/kg BW/day, Group 2 = luteolin 4 mg/kg BW/day, Group 3 = luteolin 1 mg/kg BW/day plus ceftazidime 160 mg/kg BW/day, Group 4 = luteolin 4 mg/kg BW/day plus ceftazidime 640 mg/kg BW/day, Cefta = Ceftazidime (640 mg/kg BW).

Organ (g)	Control (0.2% DMSO)	Control Cefta	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4
Heart	0.0014 ± 0.0001	0.0014±0.0000	0.0016 ± 0.0001	0.0014 ± 0.0001	0.0015 ± 0.0001	0.0015 ± 0.0002
Liver	0.0169 ± 0.0017	0.0159±0.0012	0.0199 ± 0.0005	0.0182 ± 0.0012	0.0180 ± 0.0012	0.0168 ± 0.0017
Spleen	0.0011 ± 0.0001	0.0012±0.0001	0.0013 ± 0.0001	0.0012 ± 0.0002	0.0027 ± 0.0006	0.0013 ± 0.0000
Lung	0.0029 ± 0.0001	0.0027±0.0001	0.0025 ± 0.0001	0.0026 ± 0.0001	0.0025 ± 0.0001	0.0026 ± 0.0001
Kidney	0.0046 ± 0.0014	0.0040±0.0009	0.0054 ± 0.0004	0.0054 ± 0.0006	0.0053 ± 0.0011	0.0050 ± 0.0011
Stomach	0.0060 ± 0.0006	0.0063±0.0010	0.0209 ± 0.0059	0.0050 ±0.0004	0.0047 ± 0.0004	0.0046 ± 0.0005

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ภาพ **3.8** ลักษณะของอวัยวะภายในของหนูขาวหลังจากที่ได้รับ apigenin เดี่ยวๆและผสมกับยา ceftazidime เป็นเวลา 90 วันเมื่อเปรียบเทียบกับ negative control, Control group ; a = heart; b = liver; c = spleen; d = lung; e = kidney; f = stomach. Treated group ; g = heart; h = liver; i = spleen; j = lung; k = kidney; l = stomach.



ผลทางเคมีคลีนิกและโลหิตวิทยาในหนูขาว (mice)

ผลการตรวจค่าเคมีโลหิตของหนูขาวหลังจากการให้ luteolin เป็นเวลา 14 วัน พบว่าระดับของ AST, BUN ,FBS และ Cholesterol ในแต่ละกลุ่มการทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมนัยสำคัญ (P <0.05) เมื่อเทียบกับกลุ่ม pre-treatment ดังในตาราง 3.4 ส่วนค่าโลหิตวิทยาพบว่าระดับของ WBC , RBC, Hb, Hct และMCV ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ(P <0.05) เมื่อเทียบกับกลุ่ม pre-treatment ดังในตารางที่ 3.8

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตาราง **3.8** ค่าเคมีและโลหิตวิทยาของหนูขาวที่ได้รับ luteolin เป็นระยะเวลา 14 วัน ในกลุ่มการทดลองต่างๆดังต่อไปนี้, Group 1 = luteolin 1 mg/kg BW/day, Group 2 = luteolin 4 mg/kg BW/day, Group 3 = luteolin 1 mg/kg BW/day plus ceftazidime 160 mg/kg BW/day, Group 4 = luteolin 4 mg/kg BW/day plus ceftazidime 640 mg/kg BW/day, Cefta = Ceftazidime (640 mg/kg BW).

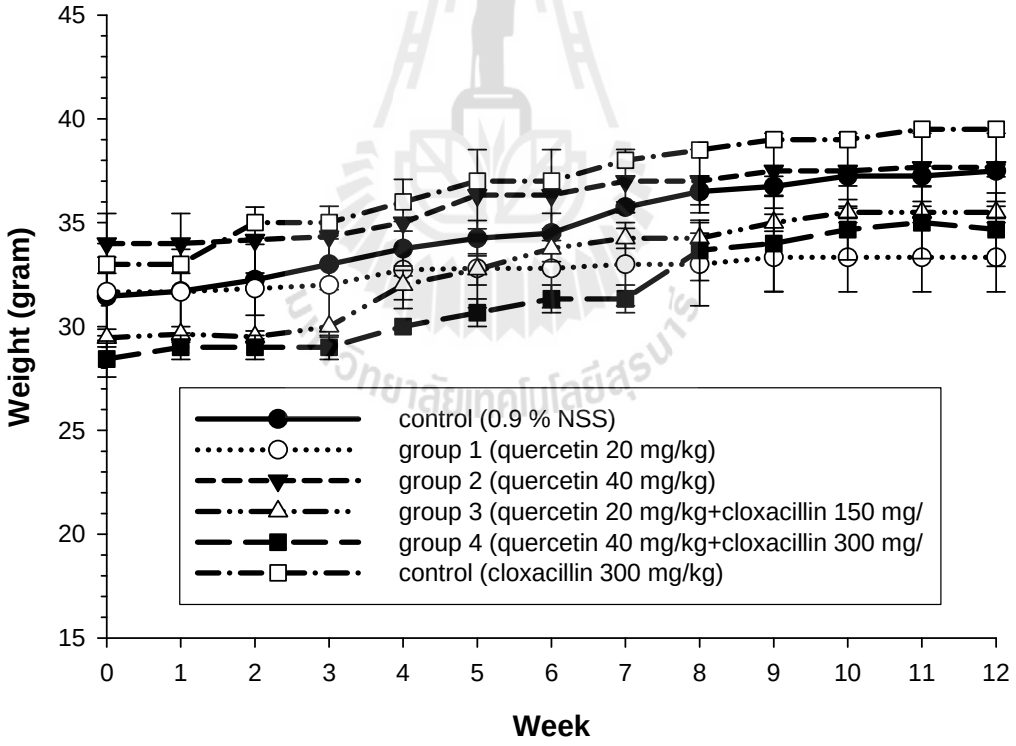
Parameter	Control (0.2%DMSO)		Control Cefta.		Group 1		Group 2		Group 3		Group 4	
	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post
AST (U/L)	207.2±33.6	209.2±33.7	207.3±18.4	209.0±19.8	369.6±108.4	452.0±61.3	349.8±77.2	731.0±377	272.0±154	703.3±109	207.3±18.4	249.3±48.4
BUN (mg/dl)	23.5±0.6	23.7±1.1	22.0±2.5	21.0±2.0	20.3±1.2	23.4±2.5	23.8±1.7	22.0±2.78	18.2±1.3	23.8±1.7	22.0±2.54	25.6±4.0
FBS(mg/dl)	137.5±9.8	176.7±22.4	175.6±3.7	176.6±4.4	157.2±9.1	175.2±15.8	194.4±7.1	199.8±4.4	133.3±50.9	190.0±8.6	154.0±11.0	176.6±4.4
Cholesterol(mg/dl)	85.2±2.7	92.0±4.1	106.6±8.8	112.3±7.2	183.6±27.1	218.4±28.0	171.0±34.1	201.8±33.9	146.6±13.7	115.0±8.6	134.0±26.6	105.0±7.6
WBC ($x10^3$//μ L)	9.6±0.6	9.7±0.7	9.6±0.8	5.0±1.7	14.5±1.8	13.9±1.7	12.4±0.5	10.70±1.1	9.9±0.1	6.3±1.2	10.3±0.7	8.0±2.2
RBC ($x10^6$ /μL)	9.0±0.1	8.9±0.4	7.5±1.2	7.2±1.1	9.0±0.2	8.4±0.3	8.7±0.1	8.0±0.2	7.8±0.7	6.6±0.8	8.5±0.7	7.1±0.6
Hb (g/dl)	15.5±0.2	14.5±0.2	15.5±0.5	13.0±1.7	15.4±0.4	14.8±0.3	15.4±0.2	13.8±0.5	15.6±1.2	12.0±1.1	15.6±0.6	12.6±1.2
Hct (%)	44.7±1.2	44.0±0.9	48.0±1.7	37.3±5.8	45.4±1.5	39.0±2.6	46.6±0.8	41.8±1.5	48.6±4.4	39.0±4.0	50.3±2.4	39.3±3.1
MCV (fL)	54.5±0.8	54.2±0.7	51.5±0.2	50.7±1.0	49.8±0.3	50.4±0.5	53.2±1.3	51.9±1.1	52.9±1.3	60.6±1.8	52.0±0.6	55.0±0.6

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

2. การทดสอบพิษกึ่งเรื้อรังในหนูขาว **(subchronic toxicity)** ของฟลาโวนอยด์

การศึกษาความเป็นพิษกึงเรื้อรังของ quercetin และ quercetin + cloxacillin การทดสอบการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักและน้ำหนักอวัยวะในหนูขาว (mice) ผลการทดลองพบว่าไม่พบความผิดปกติหรือการเปลี่ยนแปลงของพฤติกรรมน้ำหนักตัวดังแสดงภาพที่ 3.9 และผลทางพยาธิวิทยาและสัณฐานวิทยาของชิ้นเนื้ออวัยวะภายในและน้ำหนักอวัยวะภายในของหนูขาวได้แก่ หัวใจ (heart) ตับ (liver) ม้าม (spleen) ปอด (lung) ไต (kidney) และกระเพาะอาหาร(stomach) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ในระยะเวลา 90 วัน เมื่อฉีดสาร quercetin ดังในตารางที่ 3.9 พบว่าปกติทุกกลุ่มและไม่มีลักษณะเปลี่ยนแปลงสำคัญที่แสดงให้เห็นถึงการทำลายของเซลล์เนื้อเยื่อต่างๆในทุกกลุ่มการทดลองเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมดังภาพที่ 3.10

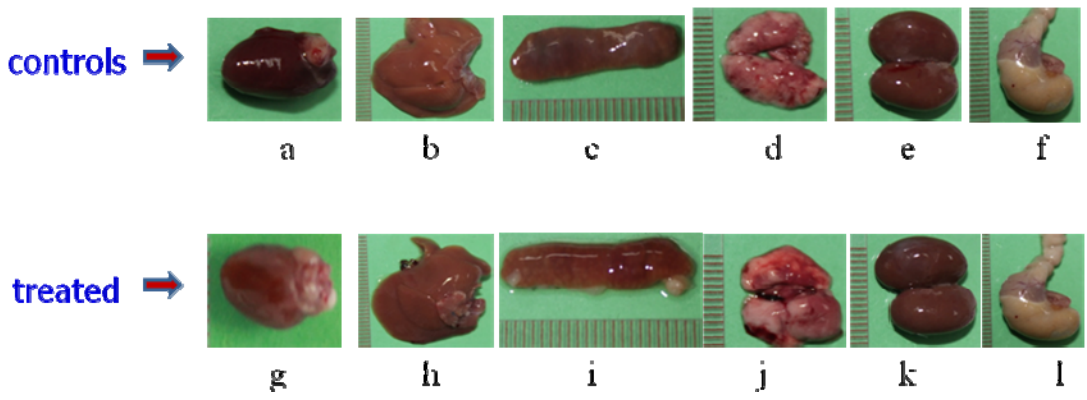
ภาพ **3.9** กราฟแสดงน้ำหนักของหนูขาวเมื่อได้รับ quercetin เดี่ยวและผสมกับยา cloxacillin เป็น เวลา 90 วันเมื่อเปรียบเทียบกับ negative control



ตาราง **3.9** ผลของ quercetin เดี่ยวๆ และผสมกับยา cloxacillin ต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักอวัยวะภายในของหนูขาวเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ในกลุ่มการทดลองต่างๆต่อไปนี้ Group 1 = quercetin 20 mg/kg BW/day, Group 2 = quercetin 40 mg/kg BW/day, Group 3 = quercetin 20 mg/kg BW/day plus cloxacillin 150 mg/kg BW/day, Group 4 = quercetin 40 mg/kg BW/day plus cloxacillin 300 mg/kg BW/day, Cloxa = Cloxacillin (300 mg/kg BW).

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

ภาพ **3.10** ลักษณะของอวัยวะภายในของหนูขาวหลังจากที่ได้รับ quercetin เดี่ยวๆและผสมกับยา cloxacillin เป็นเวลา 90 วันเมื่อเปรียบเทียบกับ negative control, Control group ; a = heart; b = liver; c = spleen; d = lung; e = kidney; f = stomach. Treated group ; g = heart; h = liver; i = spleen; j = lung; k = kidney; l = stomach.



ผลทางเคมีคลีนิกและโลหิตวิทยาในหนูขาว (mice)

ผลการตรวจค่าเคมีโลหิตของหนูขาวหลังจากการให้ quercetin เป็นเวลา 90 วัน พบว่าระดับของ AST และ BUN ลดลง ยกเว้นกลุ่มที่ได้รับ quercetin ขนาด 40 mg/kg BW/day ผสมกับยา cloxacillin 300 mg/kg BW/day แต่ในทางตรงกันข้ามพบว่าระดับ FBS จะลดลงทุกกลุ่มการทดลองหลังจากให้ quercetin (post-treatment) แต่อย่างไรก็ตามการลดลงของค่าทางเคมีคลินิกไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ(P <0.05) ระหว่างกลุ่มpre-treatment กับ post-treatment ในทุกกลุ่มการทดลอง แต่ระดับ Cholesterolในกลุ่มpost-treatment จะลดลงอย่างมีนัยสำคัญ(P <0.05) ในกลุ่มที่ได้รับquercetin ขนาด 20 mg/kg BW/day ผสมกับยา Cloxacillin 150 mg/kg BW/day ดังในตารางที่ 3.10

ผลการตรวจทางโลหิตวิทยา พบว่าค่า Hb ในกลุ่มpost-treatment ลดลงมาอย่างมีนัยสำคัญ(P <0.05) ในกลุ่มที่ 1 และ 2 และค่า Hct ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ(P <0.05) ในกลุ่มที่ 2 และ 3 เมื่อเทียบกับกลุ่ม pre-treatment ส่วนค่า RBC, WBC และMCV ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ(P <0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับ pre-treatment ในทุกกลุ่มการทดลอง ดังในตาราง 3.11

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตาราง 3.10 ค่าเคมีและโลหิตวิทยาของหนูขาวที่ได้รับ luteolin เป็นระยะเวลา 90 วัน ในกลุ่มการทดลองต่างๆดังต่อไปนี้. Group 1 = quercetin 20 mg/kg BW/day, Group 2 = quercetin 40 mg/kg BW/day, Group 3 = quercetin 20 mg/kg BW/day plus cloxacillin 150 mg/kg BW/day, Group 4 = quercetin 40 mg/kg BW/day plus cloxacillin 300 mg/kg BW/day.BW/day, Cloxa = Cloxacillin (300 mg/kg BW).

Parameter	Control (NSS)		Control Cloxa.		Group 1		Group 2		Group 3		Group 4	
	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post
AST (U/L)	235.2±2.9	235.5±3.3	133.5±7.3	173.2±31.8	190.2±49.2	128.5±7.5	181.7±29.2	147.0±16.6	257.7±92.0	249.0±45.4	185.6±52.2	361.3±118
BUN (mg/dl)	23.5±0.6	23.7±0.6	26.5±3.3	25.5±1.0	33.7±2.5	33.0±2.6	33.0±1.9	27.9±1.9	37.2±10.8	20.4±2.9	19.0±1.8	23.5±3.1
FBS(mg/dl)	138.0±9.3	142.2±7.6	186.0±13.6	216.7±3.0	151.7±7.1	153.0±9.1	180.0±22.4	180.5±40.9	168.5±4.9	224.2±22.2	195.3±27.1	224.3±41.3
Cholesterol(mg/dl)	86.5±4.8	91.5±4.6	111.7±9.5	93.2±9.9	100.7±5.0	85.5±6.1	101.2±6.3	88.0±11.5	**110.2±8.8**	**90.7±7.9***	107.0±20.8	100.0±5.2
WBC ($x10^3$//μ L)	9.0±0.8	9.2±0.2	7.9±0.5	5.9±1.2	5.60±0.4	6.3±0.9	4.6±0.1	5.8±0.6	5.5±1.4	6.8±0.4	8.2±0.3	8.4±0.2
RBC ($x10^6$ /μL)	9.0±0.1	9.2±0.2	7.3±0.3	6.2±0.4	5.6±04	6.3±0.9	5.8±04	6.0±0.9	5.5±1.4	6.8±0.4	8.2±0.3	7.9±2.0
Hb (g/dl)	15.5±0.2	15.5±0.6	12.5±0.6	11.7±1.3	**15.5±0.7**	**12.7±0.6***	**13.5±0.5**	**11.0±0.0***	11.5±0.9	11.7±0.6	12.0±1.0	12.3±1.6
Hct (%)	44.7±1.2	44.0±0.8	37.7±1.3	30.0±0.5	43.6±2.0	43.7±2.4	**40.2±1.9**	**34.2±1.0***	**38.2±1.7**	**34.0±2.6***	37.3±1.7	35.6±6.3
MCV (fL)	53.2±0.4	53.5±0.2	51.5±1.1	47.5±0.6	50.5±0.6	50.0±1.0	49.9±0.3	53.6±3.2	47.4±1.9	48.9±0.5	51.4±0.4	49.2±1.5

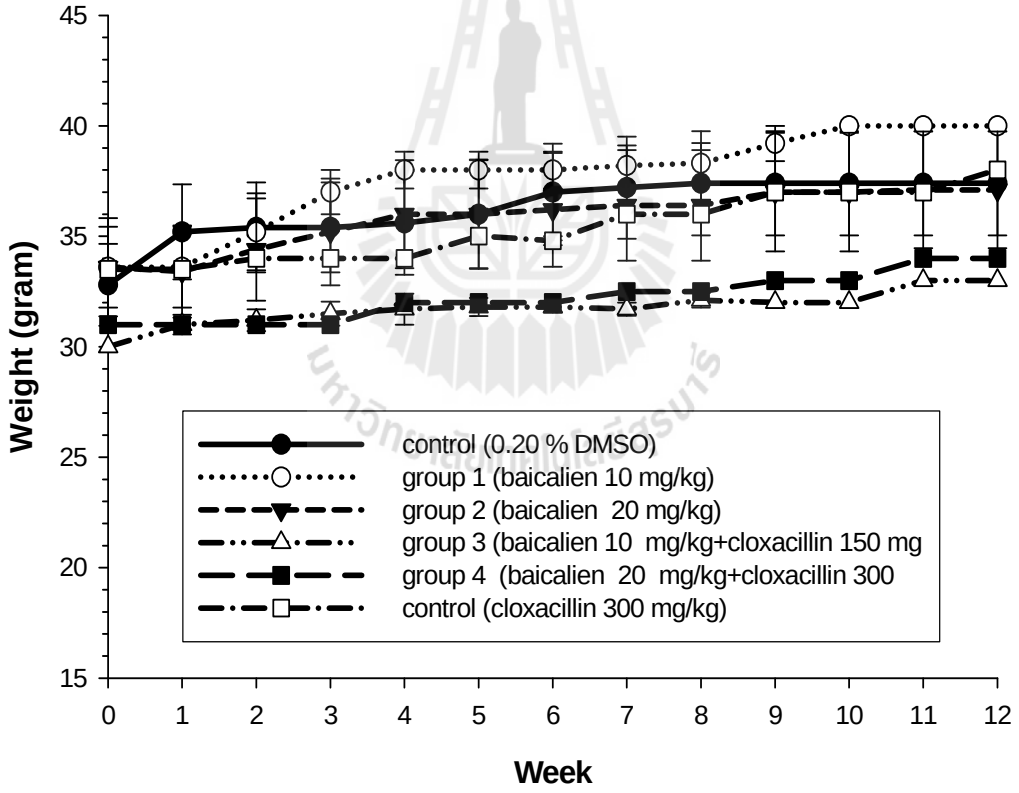
Mean ± SEM (n=5), *$p < 0.05$ (Student's *t*–test). Significant relative to pre-treatment value.

2.2 **การศึกษาความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังของ** baicalein **และ** baicalein + cloxacillin

การทดสอบการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักและน้ำหนักอวัยวะในหนูขาว **(mice)**

ผลการทดลองพบว่าไม่พบความผิดปกติหรือการเปลี่ยนแปลงของพฤติกรรมน้ำหนักตัวดังแสดงภาพที่ 3.11 และผลทางพยาธิวิทยาและสัณฐานวิทยาของชิ้นเนื้ออวัยวะภายในและน้ำหนักอวัยวะภายในของหนูขาวได้แก่ หัวใจ (heart) ตับ (liver) ม้าม (spleen) ปอด (lung) ไต (kidney) และกระเพาะอาหาร(stomach) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ในระยะเวลา 90 วัน เมื่อฉีดสาร quercetin ดังในตารางที่ 3.11 พบว่าปกติทุกกลุ่มและไม่มีลักษณะเปลี่ยนแปลงสำคัญที่แสดงให้เห็นถึงการทำลายของเซลล์เนื้อเยื่อต่างๆในทุกกลุ่มการทดลองเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมดังภาพที่ 3.12

ภาพ **3.11** กราฟแสดงน้ำหนักของหนูขาวเมื่อได้รับ baicalein เดี่ยวและผสมกับยา cloxacillin เป็นเวลา 90 วันเมื่อเปรียบเทียบกับ negative control

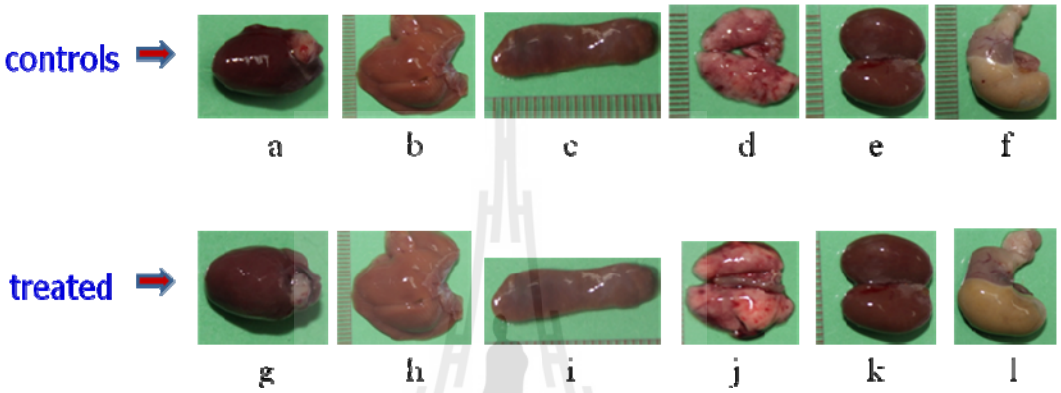


ตาราง 3.11 ผลของ baicelein เดี่ยวๆ และผสมกับยา cloxacillin ต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักอวัยวะภายในของหนูขาวเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ในกลุ่มการทดลองต่างๆต่อไปนี้ Group 1 = baicalein 10 mg/kg BW/day, Group 2 = baicalein 20 mg/kg BW/day, Group 3 = baicalein 10 mg/kg BW/day plus cloxacillin 150 mg/kg BW/day, Group 4 = baicalein 20 mg/kg BW/day plus cloxacillin 300 mg/kg BW/day, Cloxa = Cloxacillin (300 mg/kg BW).

Organ (g)	Control (0.2%DMSO)	Control Cloxa	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4
Heart	0.0017 ± 0.0001	0.0017±0.0000	0.0016 ± 0.0001	0.0018 ± 0.0001	0.0018 ± 0.0003	0.0016 ± 0.0001
Liver	0.0187 ± 0.0007	0.0207±0.0021	0.0203 ± 0.0021	0.0200 ± 0.0018	0.0193 ± 0.0026	0.0160 ± 0.0017
Spleen	0.0016 ± 0.0001	0.0046±0.0029	0.0046 ± 0.0029	0.0019 ± 0.0001	0.0022 ± 0.0005	0.0019 ± 0.0001
Lung	0.0029 ± 0.0001	0.0033±0.0002	0.0033 ± 0.0002	0.0032 ± 0.0002	0.0029 ± 0.0004	0.0026 ± 0.0003
Kidney	0.0060± 0.0005	0.0058±0.0007	0.0060 ± 0.0006	0.0062 ± 0.0011	0.0047 ± 0.0003	0.0055 ± 0.0006
Stomach	0.0130 ± 0.0012	0.0138±0.0019	0.0135 ± 0.0022	0.0121 ±0.0015	0.0137 ± 0.0017	0.0146 ± 0.0023

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ภาพ 3.12 ลักษณะของอวัยวะภายในของหนูขาวหลังจากที่ได้รับ baicelein เดี่ยวๆและผสมกับยา cloxacillin เป็นเวลา 90 วันเมื่อเปรียบเทียบกับ negative control, Control group ; a = heart; b = liver; c = spleen; d = lung; e = kidney; f = stomach. Treated group ; g = heart; h = liver; i = spleen; j = lung; k = kidney; l = stomach.



ผลทางเคมีคลีนิกและโลหิตวิทยาในหนูขาว (mice)

ผลการตรวจค่าเคมีโลหิตของหนูขาวหลังจากการให้ baicalein เป็นเวลา 90 วัน พบว่าระดับของ BUN ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ($P < 0.05$)ในกลุ่มที่ได้รับ baicalein ขนาด 20 mg/kg BW/day เดี่ยวและผสมกับยา cloxacillin 300 mg/kg BW/day และกลุ่มที่ได้รับ baicalein เดี่ยวๆ20 mg/kg BW/day และผสมกับยา cloxacillin 300 mg/kg BW/day จะไปลดระดับ Choresterol อย่างมีนัยสำคัญ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มPre-treatment

ผลการตรวจทางโลหิตวิทยา พบว่าระดับ WBC และ Hb ในกลุ่มที่ได้รับ baicalein 20 mg/kg BW/day และผสมกับยา cloxacillin 300 mg/kg BW/day จะมีค่าต่ำกว่ากลุ่ม Pretreatment ส่วนค่า RBCจะลดลงในทุกๆ กลุ่ม ยกเว้นกลุ่มที่ได้รับยา Cloxacillin เดี่ยวๆ300 mg/kg BW/day และกลุ่มที่ได้รับ baicalein 10 mg/kg BW/day ผสมกับยา cloxacillin 150 mg/kg BW/dayเมื่อเปรียบเทียบกับ Pre-treatment ดังในตาราง 3.12

ตาราง **3.12** ค่าเคมีและโลหิตวิทยาของหนูขาวที่ได้รับ baicelein เป็นระยะเวลา 90 วัน ในกลุ่มการทดลองต่างๆดังต่อไปนี้, Group1=baicalein10mg/kgBW/day,Group2= baicalein 20 mg/kg BW/day, Group 3 = baicalein 10 mg/kg BW/day plus cloxacillin 150 mg/kg BW/day, Group 4 = baicalein 20 mg/kg BW/day plus cloxacillin 300 mg/kg BW/day, Cloxa = Cloxacillin (300 mg/kg BW).

Parameter	Control (0.20%DMSO)		Control Cloxa.		Group 1		Group 2		Group 3		Group 4	
	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post
AST (U/L)	411.8±86.0	552.4±73.7	300.5±34.7	415.5±49.3	416.5±61.5	416.0±61.6	509.8±86.4	525.0±89.0	513.3±35.2	528.6±8.8	528.0±113.9	583.2±66.4
BUN (mg/dl)	28.4±2.1	23.1±3.2	25.0±1.6	25.8±4.5	24.2±2.6	40.25±7.6	**22.8±2.0**	**27.0±2.6***	12.6±1.2	13.0±1.0	**15.6±2.2**	**28.5±2.4***
FBS(mg/dl)	162.2±9.4	157.2±10.2	160.0±3.6	182.2±18.1	118.0±10.5	136.2±13.9	176.8±19.8	165.0±12.9	210.0±10.0	144.3±8.7	172.0±18.5	146.4±13.4
Cholesterol(mg/dl)	140.1±20.6	96.0±11.9	129.0±8.0	116.5±13.7	110.5±19.9	100.0±27.1	**200.2±28.5**	**95.0±4.7***	190.0±15.2	190.3±15.0	**156.0±19.3**	**92.8±9.3***
WBC ($x10^3$//μ L)	9.7±0.9	9.0±0.8	9.6±0.6	24.3±16.5	8.55±1.33	10.2±2.8	7.8±1.4	6.5±1.7	4.8±1.0	4.8±1.0	**12.9±1.9**	**7.8±1.7***
RBC ($x10^6$ /μL)	**9.2±0.1**	**7.8±0.2***	9.05±0.1	8.9±0.4	**7.4±1.0**	**5.5±0.9***	**8.8±0.1**	**7.6±0.2***	8.5±0.1	7.7±0.3	**9.0±0.2**	**6.7±0.1***
Hb (g/dl)	16.2±0.2	15.4±0.3	15.5±0.2	14.5±0.2	15.2±0.8	10.2±1.2	13.7±0.6	13.8±0.3	15.0±0.0	14.6±0.3	**16.0±0.5**	**13.2±0.4***
Hct (%)	**49.1±1.6**	**39.9±1.1***	49.2±1.3	44.0±0.9	45.0±2.1	45.0±2.0	**44.4±0.3**	**40.2±1.0***	46.0±1.0	39.6±4.2	**47.6±1.2**	**36.2±1.6***
MCV (fL)	52.0±0.6	51.7±0.3	54.5±0.8	52.9±0.7	**49.9±0.5**	**52.1±0.8***	**49.8±0.7**	**52.2±0.3***	53.8±0.7	53.6±1.2	53.0±1.1	53.3±1.5

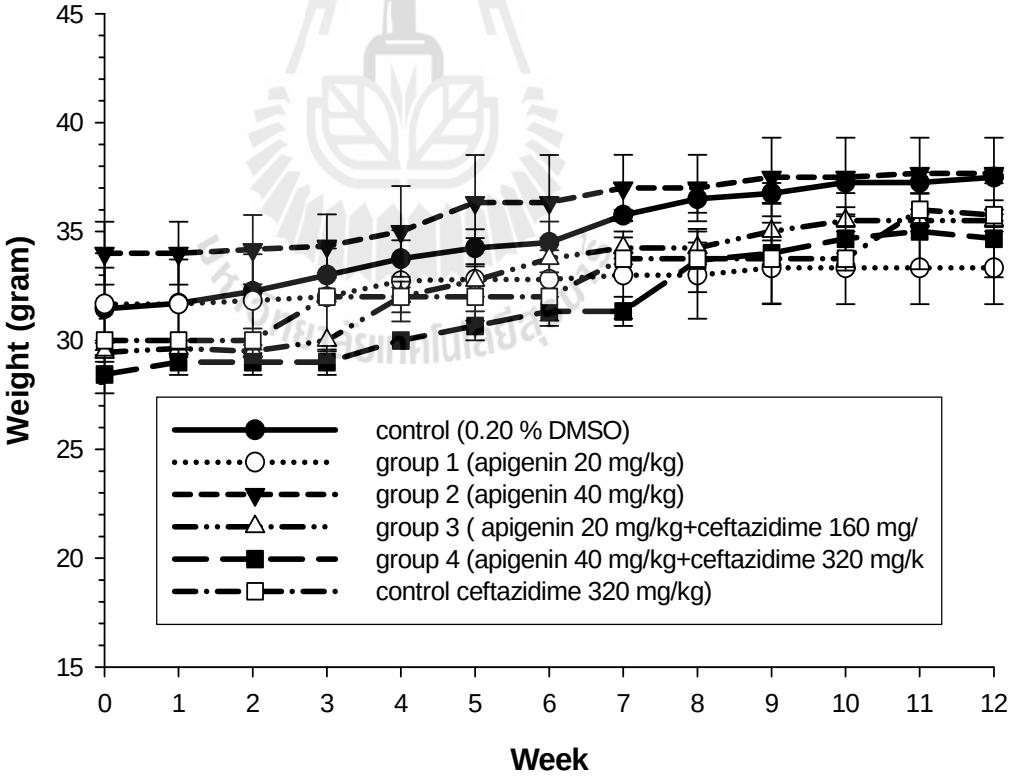
Mean ± SEM (n=5), *****p < 0.05 (Student's *t*–test). Significant relative to pre-treatment value.

2.3 การศึกษาความเป็นพิษกึงเรื้อรังของ **apigenin** และ **apigenin + ceftazidime**

การทดสอบการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักและน้ำหนักอวัยวะในหนูขาว **(mice)**

ผลการทดลองพบว่าไม่พบความผิดปกติหรือการเปลี่ยนแปลงของพฤติกรรมน้ำหนักตัวดังแสดงภาพที่ 3.13 และผลทางพยาธิวิทยาและสัณฐานวิทยาของชิ้นเนื้ออวัยวะภายในและน้ำหนักอวัยวะภายในของหนูขาวได้แก่ หัวใจ (heart) ตับ (liver) ม้าม (spleen) ปอด (lung) ไต (kidney) และกระเพาะอาหาร(stomach) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ในระยะเวลา 90 วัน เมื่อฉีดสาร quercetin ดังในตารางที่ 3.13 พบว่าปกติทุกกลุ่มและไม่มีลักษณะเปลี่ยนแปลงสำคัญที่แสดงให้เห็นถึงการทำลายของเซลล์เนื้อเยื่อต่างๆในทุกกลุ่มการทดลองเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมดังภาพที่ 3.8

ภาพ **3.13** กราฟแสดงน้ำหนักของหนูขาวเมื่อได้รับ apigenin เดี่ยวและผสมกับยา ceftazidime เป็นเวลา 90 วันเมื่อเปรียบเทียบกับ negative control

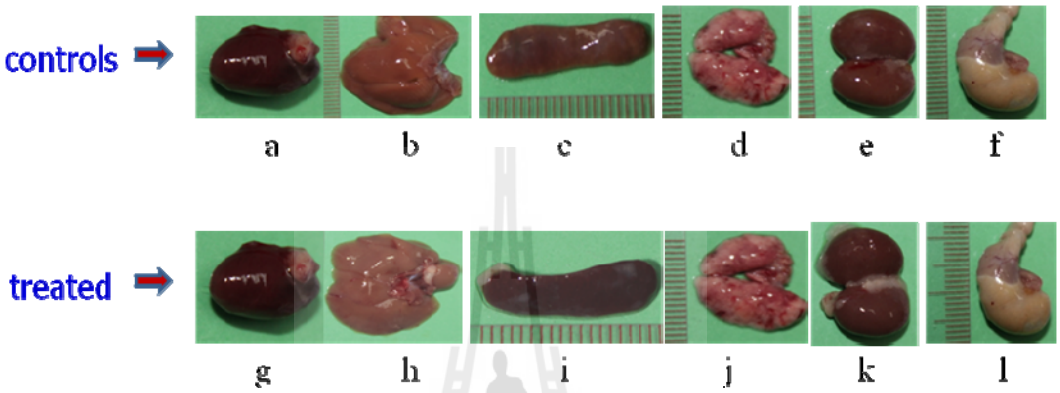


ตาราง **3.13** ผลของ apigenin เดี่ยวๆ และผสมกับยา ceftazidime ต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักอวัยวะภายในของหนูขาวเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ในกลุ่มการทดลองต่างๆต่อไปนี้ Group 1 = apigenin 20 mg/kg BW/day, Group 2 = apigenin 40 mg/kg BW/day, Group 3 = apigenin 20 mg/kg BW/day plus ceftazidime 160 mg/kg BW/day, Group 4 = apigenin 40 mg/kg BW/day plus ceftazidime 320 mg/kg BW/day, Cefta = Ceftazidime (320 mg/kg BW).

Organ (g)	Control (0.2%DMSO)	Control Cefta	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4
Heart	0.0017 ± 0.0001	0.0018±0.0001	0.0017 ± 0.0001	0.0018 ± 0.0002	0.0015 ± 0.0001	0.0016 ± 0.0001
Liver	0.0207 ± 0.0005	0.0202±0.0012	0.0188 ± 0.0017	0.0232 ± 0.0013	0.0207 ± 0.0002	0.0217 ± 0.0018
Spleen	0.0015 ± 0.0001	0.0020±0.0003	0.0020 ± 0.0002	0.0019 ± 0.0001	0.0015 ± 0.0002	0.0018 ± 0.0001
Lung	0.0027 ± 0.0001	0.0027±0.0002	0.0023 ± 0.0001	0.0030 ± 0.0002	0.0030 ± 0.0001	0.0028 ± 0.0002
Kidney	0.0077± 0.0007	0.0072±0.0008	0.0060 ± 0.0009	0.0068 ± 0.0007	0.0062 ± 0.0000	0.0080 ± 0.0006
Stomach	0.0150 ± 0.0025	0.0164±0.0049	0.0205 ± 0.0032	0.0114 ±0.0023	0.0078 ± 0.0021	0.0116 ± 0.0020

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ภาพ **3.14** ลักษณะของอวัยวะภายในของหนูขาวหลังจากที่ได้รับ apigenin เดี่ยวๆและผสมกับยา ceftazidime เป็นเวลา 90 วันเมื่อเปรียบเทียบกับ negative control, Control group ; a = heart; b = liver; c = spleen; d = lung; e = kidney; f = stomach. Treated group ; g = heart; h = liver; i = spleen; j = lung; k = kidney; l = stomach.



ผลทางเคมีคลีนิกและโลหิตวิทยาในหนูขาว (mice)

ผลการตรวจค่าเคมีโลหิตของหนูขาวหลังจากการให้ apigenin เป็นเวลา 90 วัน พบว่าในกลุ่มการทดลองที่ 2 และที่ 3 ที่ได้รับ apigenin ขนาด 40 mg/kg BW/day เดี่ยวๆ และ 40 mg//kg BW/day ผสมยา ceftazidime ขนาด 320 mg//kg BW/day จะไปทำให้ ระดับของ AST เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (P <0.05)เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มPre-treatment และในขณะเดียวกันในกลุ่มการทดลองที่ 2 จะไปทำให้ระดับ Cholesterol ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ(P <0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มPre-treatment

ผลการตรวจทางโลหิตวิทยา พบว่า ในกลุ่มการทดลองที่ 2 ซึ่งได้รับapigenin เดียวๆ 40 mg/kg BW/day จะไปทำให้ระดับ WBC, RBC, และ MCV ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ(P <0.05)เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มPre-treatment และในกลุ่มการทดลองที่ 4 คือ กลุ่มที่ได้รับ apigenin ขนาด 40 mg/kg BW/day ผสมกับยา ceftazidime 320 mg/kg BW/day พบว่าจะไปทำให้ระดับ WBC, RBC, Hb และHct ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (P <0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับ Pre-treatment ดังในตาราง 3.9

ตารางที่ **3.14** ค่าเคมีและโลหิตวิทยาของหนูขาวที่ได้รับ apigenin เป็นระยะเวลา 90 วัน ในกลุ่มการทดลองต่างๆดังต่อไปนี้, Group 1 = apigenin 20 mg/kg BW/day, Group 2 = apigenin 40 mg/kg BW/day, Group 3 = apigenin 20 mg/kg BW/day plus ceftazidime 160 mg/kg BW/day, Group 4 = apigenin 40 mg/kg BW/day plus ceftazidime 320 mg/kg BW/day, Cefta = Ceftazidime (320 mg/kg BW).

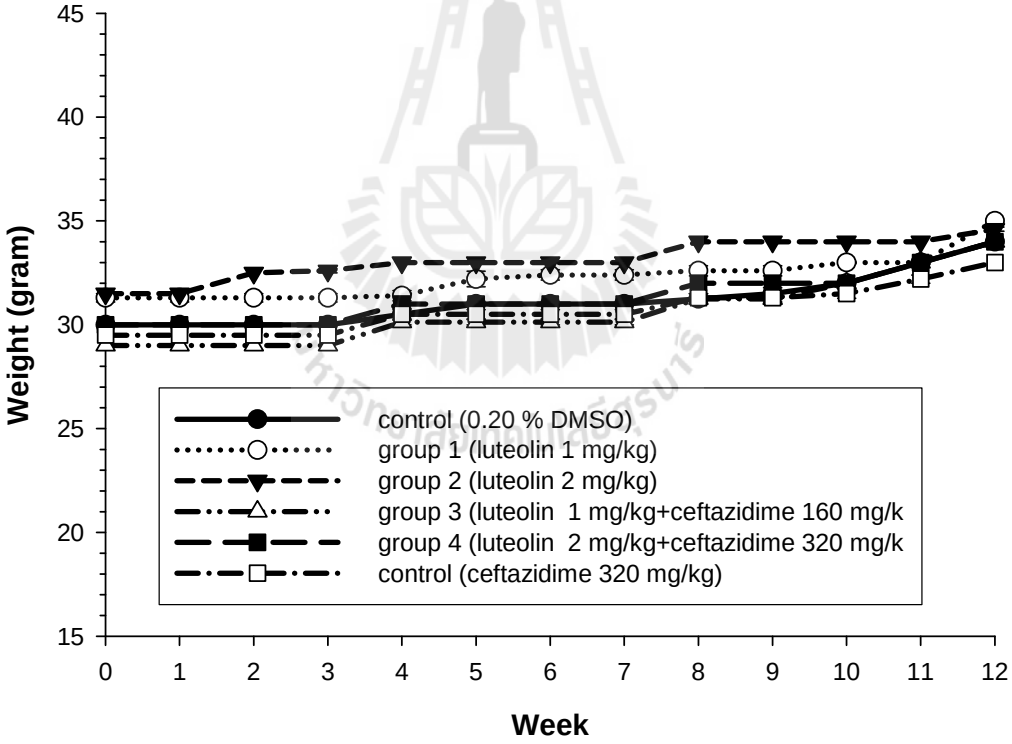
Parameter	Control (0.20%DMSO)		Control Cefta.		Group 1		Group 2		Group 3		Group 4	
	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post
AST (U/L)	411.8±86.0	552.4±73.7	**248.7±43.6**	**450.0±63.5***	385.0±82.8	581.6±89.3	**268.2±44.5**	**669.0±59.1***	450.0±80.1	532.8±80.9	**301.0±33.5**	**526.8±53.5***
BUN (mg/dl)	28.4±2.1	23.1±3.2	30.6±5.5	26.3±4.8	19.4±3.0	35.4±3.9	26.8±2.0	28.5±2.1	25.4±3.7	21.6±2.3	24.7±2.6	24.5±2.4
FBS(mg/dl)	162.2±9.4	157.2±10.2	105.0±2.8	149.7±21.1	165.0±7.5	158.6±11.7	141.6±6.3	147.6±8.7	182.0±16.0	165.2±20.7	137.0±9.0	147.6±6.8
Cholesterol(mg/dl)	140.1±20.6	96.0±11.9	141.3±33.9	169.7±40.9	177.0±26.7	147.2±36.5	**282.2±29.4**	**86.0±5.9***	127.0±18.3	120.4±17.0	91.0±9.2	85.4±4.4
WBC ($x10^3$//μ L)	9.7±0.9	9.0±0.8	8.1±1.9	5.4±0.5	16.0±1.3	16.0±1.2	**8.4±0.9**	**3.7±0.6***	14.9±2.7	12.5±3.4	**9.2±1.0**	**4.2±0.8***
RBC ($x10^6$ /μL)	**9.2±0.1**	**7.8±0.2***	8.8±0.4	7.2±0.5	9.0±0.3	7.6±0.7	**7.95±1.0**	**6.5±1.1***	9.0±0.2	7.7±0.8	**8.8±0.2**	**7.3±0.3***
Hb (g/dl)	16.2±0.2	15.4±0.3	15.5±0.8	13.3±0.6	16.0±0.3	15.7±0.3	15.4±0.5	11.2±1.5	16.0±0.5	15.0±0.9	**15.6±0.5**	**13.4±0.6***
Hct (%)	**49.1±1.6**	**39.9±1.1***	**49.5±1.4**	**39.3±1.5***	49.2±0.9	48.7±0.9	47.4±1.6	32.8±5.5	48.8±2.1	41.5±4.8	**45.6±1.5**	**38.2±2.1***
MCV (fL)	52.0±0.6	51.7±0.3	55.9±1.2	54.5±1.5	51.7±0.3	49.6±0.6	**51.3±0.2**	**49.7±0.3***	54.0±1.0	53.2±0.8	51.4±0.5	51.4±0.4

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

2.4 **การศึกษาความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังของ** luteolin **และ** luteolin + ceftazidime **การทดสอบการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักและน้ำหนักอวัยวะในหนูขาว** (mice)

ผลการทดลองพบว่าไม่พบความผิดปกติหรือการเปลี่ยนแปลงของพฤติกรรมน้ำหนักตัวดังแสดงภาพที่ 3.9 และผลทางพยาธิวิทยาและสัณฐานวิทยาของชิ้นเนื้ออวัยวะภายในและน้ำหนักอวัยวะภายในของหนูขาวได้แก่ หัวใจ (heart) ตับ (liver) ม้าม (spleen) ปอด (lung) ไต (kidney) และกระเพาะอาหาร(stomach) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ในระยะเวลา 90 วัน เมื่อฉีดสาร luteolin ดังในตารางที่ 3.9 พบว่าปกติทุกกลุ่มและไม่มีลักษณะเปลี่ยนแปลงสำคัญที่แสดงให้เห็นถึงการทำลายของเซลล์เนื้อเยื่อต่างๆในทุกกลุ่มการทดลองเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมดังภาพที่ 3.10

ภาพที่ **3.15** กราฟแสดงน้ำหนักของหนูขาวเมื่อได้รับ luteolin เดี่ยวและผสมกับยา ceftazidime เป็นเวลา 90 วันเมื่อเปรียบเทียบกับ negative control

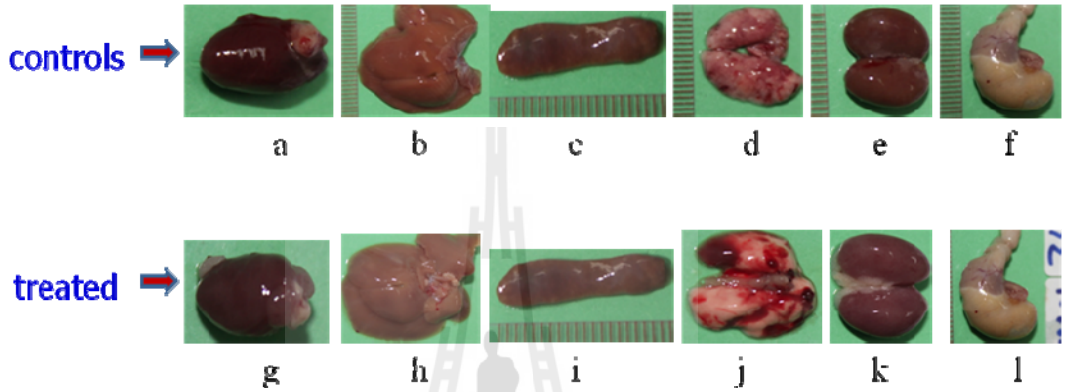


ตารางที่ **3.15** ผลของ luteolin เดี่ยวๆ และผสมกับยา ceftazidime ต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักอวัยวะภายในของหนูขาวเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ในกลุ่มการทดลองต่างๆต่อไปนี้ (per 100g body weight) Group 1 = luteolin 1 mg/kg BW/day, Group 2 = luteolin 2 mg/kg BW/day, Group 3 = luteolin 1 mg/kg BW/day plus ceftazidime 160 mg/kg BW/day, Group 4 = luteolin 2 mg/kg BW/day plus ceftazidime 320 mg/kg BW/day, Cefta = Ceftazidime (320 mg/kg BW).

Organ (g)	Control (0.2%DMSO)	Control Cefta	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4
Heart	0.0017 ± 0.0001	0.0018±0.0001	0.0015 ± 0.0001	0.0016 ± 0.0001	0.0015 ± 0.0001	0.0016 ± 0.0001
Liver	0.0154 ± 0.0012	0.0202±0.0012	0.0195 ± 0.0021	0.0186 ± 0.0011	0.0187 ± 0.0018	0.0185 ± 0.0011
Spleen	0.0012 ± 0.0001	0.0012±0.0001	0.0014 ± 0.0001	0.0013 ± 0.001	0.0013 ± 0.0001	0.0014 ± 0.0001
Lung	0.0027 ± 0.0001	0.0027±0.0002	0.0028 ± 0.0001	0.0026 ± 0.0001	0.0028 ± 0.0001	0.0026 ± 0.0001
Kidney	0.0066 ± 0.0006	0.0072±0.0008	0.0061 ± 0.0007	0.059 ±0.0007	0.0061 ± 0.0007	0.0059 ± 0.0008
Stomach	0.0151 ± 0.0025	0.0164±0.0049	0.0172 ± 0.0115	0.0057 ± 0.006	0.0056 ± 0.0004	0.0059 ± 0.0006

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ภาพที่ **3.16** ลักษณะของอวัยวะภายในของหนูขาวหลังจากที่ได้รับ luteolin เดี่ยวๆและผสมกับยา ceftazidime เป็นเวลา 90 วันเมื่อเปรียบเทียบกับ negative control. Control group ; a = heart; b = liver; c = spleen; d = lung; e = kidney; f = stomach. Treated group ; g = heart; h = liver; i = spleen; j = lung; k = kidney; l = stomach.



ผลทางเคมีคลีนิกและโลหิตวิทยาในหนูขาว **(mice)**

ผลการตรวจค่าเคมีโลหิตของหนูขาวหลังจากการให้ luteolin เป็นเวลา 90 วัน พบว่าในกลุ่มการทดลองที่ 3 และที่ 4 ที่ได้รับ luteolin ขนาด 1 mg/kg BW/day เดี่ยวๆ และ 2 mg//kg BW/day ผสมยา ceftazidime ขนาด 320 mg//kg BW/day จะไปทำให้ ระดับของ cholesterol ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (P <0.05)เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มPre-treatment และในขณะเดียวกันในกลุ่มการทดลองที่ 4 จะไปทำให้ระดับ BUN ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ

(P <0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มPre-treatment

ผลการตรวจทางโลหิตวิทยา พบว่า ในกลุ่มการทดลองที่ 3 และกลุ่มการทดลองที่ 4 ระดับ WBC, Hb, Hct และ MCV ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ(P <0.05)เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มPre-treatment ส่วนในกลุ่มการทดลองที่ 3 ระดับ RBC ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (P <0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับ Pre-treatment ดังในตาราง 3.16

ตารางที่ **3.16** ค่าเคมีและโลหิตวิทยาของหนูขาวที่ได้รับ luteolin เป็นระยะเวลา 90 วัน ในกลุ่มการทดลองต่างๆดังต่อไปนี้, Group 1 = luteolin 1 mg/kg BW/day, Group 2 = luteolin 2 mg/kg BW/day, Group 3 = luteolin 1 mg/kg BW/day plus ceftazidime 160 mg/kg BW/day, Group 4 = luteolin 2 mg/kg BW/day plus ceftazidime 320 mg/kg BW/day, Cefta = Ceftazidime (320 mg/kg BW).

Parameter	Control (0.20%DMSO)		Control Cefta.		Group 1		Group 2		Group 3		Group 4	
	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post
AST (U/L)	411.8±86.0	552.4±73.7	253.7±16.3	375.0±98.3	358.6±81.9	360.0±81.4	467.0±85.0	469.4±86.3	284.0±24.4	284.0±20.7	296.0±76.0	296.0±75.0
BUN (mg/dl)	28.4±2.1	23.1±3.2	31.3±8.8	18.0±2.6	21.6±1.9	20.8±1.9	15.4±1.0	15.6±1.0	32.2±1.3	23.7±2.6	27.4±1.4	15.4±1.0*
FBS(mg/dl)	162.2±9.4	157.2±10.2	126.0±21.2	161.0±12.1	177.0±8.6	177.0±7.4	156.0±11.3	156.8±11.4	314.0±16.3	178.0±8.4	332.0±12.4	156.0±11.3
Cholesterol(mg/dl)	140.1±20.6	96.0±11.9	191.6±109.2	93.0±16.5	130.0±20.3	128.6±20.6	100.0±9.6	99.0±9.2	414.0±13.6	190.0±12.9*	424.0±12.8	100.0±9.6*
WBC (x103//µ L)	9.7±0.9	9.0±0.8	6.9±2.2	6.9±1.8	4.1±0.5	4.4±0.5	4.6±0.6	4.4±0.5	12.3±1.1	4.7±1.3*	13.5±1.0	4.4±0.7*
RBC (x106 /µL)	9.2±0.1	7.8±0.2*	8.8±0.3	7.3±0.7	8.1±0.3	7.9±0.5	7.8±0.2	8.0±0.3	9.0±0.1	8.0±0.3*	8.7±0.2	7.7±0.1
Hb (g/dl)	16.2±0.2	15.4±0.3	14.6±0.3	14.3±1.2	13.4±0.6	13.0±0.8	12.8±0.2	12.2±0.2	16.2±0.3	13.6±0.9*	15.6±0.6	12.8±0.2*
Hct (%)	49.1±1.6	39.9±1.1*	47.6±0.8	40.3±2.7	41.4±1.5	41.6±1.6	40.2±0.5	40.4±0.2	48.8±0.9	42.0±2.2*	48.6±1.5	40.0±0.6*
MCV (fL)	52.0±0.6	51.7±0.3	53.4±0.8	54.9±1.9	51.8±0.2	51.8±0.1	51.8±0.6	51.6±0.6	54.1±0.5	52.2±1.0*	55.7±0.9	51.7±0.7*

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

บทที่ 4
สรุปผลการวิจัย

การศึกษาครั้งนี้ได้ตรวจสอบความเป็นพิษของฟลาโวนอยด์ที่ส่งผลกระทบต่อหนูเมื่อใช้เดี่ยวๆ หรือใช้ร่วมกันกับยาปฏิชีวนะกลุ่มเบต้าแลคแทม ได้แก่ Cloxacillin และCeftazidime ฟลาโวนอยด์ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้แบ่งเป็น 2 กลุ่มย่อย หลักๆ (Flavone และFlavonol) Flavone ประกอบด้วย Apigenin, Baicalein และ Luteolin ขณะที่ Quercetin อยู่ในกลุ่มฟลาโวนอล (Moon *et al.,*2006)

การทดสอบความเป็นพิษประกอบด้วยพิษกึ่งเฉียบพลัน และพิษกึ่งเรื้อรัง ผลการทดสอบแสดงให้ เห็นอย่างชัดเจนว่าน้ำหนักตัวหรือน้ำหนักอวัยวะของหนูที่ได้รับการรักษาด้วย Flavonoids เดี่ยวๆ หรือร่วมกับยาปฏิชีวนะกลุ่มเบต้าแลคแทม ที่ dose ต่างๆ จำนวน 14 วันและ 90 วัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม สำหรับการทดสอบพิษกึ่งเฉียบพลัน Quercetin ได้แสดงการลดลงอย่างมีนัยสำคัญของ RBC และ Hb (P<0.05) ในกลุ่มหนูที่ได้ฉีดเข้าช่องท้องด้วย dose 80 mg/kg BW/day ขณะเดียวกัน Quercetin ที่ dose 20 mg/kg BW/day รวมกับ Cloxacilin 150 mg/kg BW/day ทำให้มีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญของระดับ MCV เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มก่อนได้รับการรักษา จากการศึกษาที่ผ่านไม่ไม่พบอาการความเป็นพิษในกระต่ายที่ได้รับ Quercetin ทางหลอดเลือดดำครั้งเดียว ที่ dose 100-500 mg/kg BW หรือฉีดสองครั้งด้วย dose 136 mg/kg BW (Harwood *et al*., 2007) อีกทั้งระดับ MCV ลดลงอย่างมีนัยสำคัญหลังจากได้รับ Baicalein ที่ dose 10 และ 40 mg/kg BW/day เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มก่อนรักษา ยิ่งไปกว่าหลังจากฉีดสารผสม Baicalein ที่ dose 40 mg/kg BW กับ Cloxacilin ที่ dose 600 mg/kg BW พบว่ามีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญของ ระดับ Cholesterol, WBC และ Hb ซึ่งผลดังกล่าวสามารถอธิบายได้ว่ามีการเสริมฤทธิ์ระหว่าง Baicalein และ Cloxacilin เกิดขึ้น อย่างไรก็ตามผลของ Baicalein ที่ dose 10 mg/kg BW ผสมกับ Cloxacilin ที่ dose 150 mg/kg BW ไม่ได้มีการเปลี่ยนแปลงของเคมีในเลือดและทางโลหิตวิทยาในหนูที่ได้รับการรักษา นอกจากนั้นยังพบว่า Apigenin และ Luteolin ผสมกับ Ceftazidime ที่ dose ต่างๆ ไม่มีความเป็นพิษต่ออวัยวะที่ได้เลือก และตัวแปรต่างๆ ของเลือด ในหนูเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มก่อนได้รับการรักษา สิ่งที่น่าสนใจคือ Luteolin เป็นตัวยับยั้งเอ็นไซม์ Aromatase และ β-hydroxysteriod oxidoreductase ซึ่งเป็นเอ็นไซม์ที่เกี่ยวข้องใน Estrogen metabolism (Skibola and Smith 2000) อีกทั้งยังพบว่า Luteolin ทำให้เกิด Cytotoxicity ในเซลล์ตับหนูซึ่งสัมพันธ์กับเยื่อหุ้มไมโตคอนเดรีย และมีพิษมากกว่า polyphenol chrysin ต่อ Hela tumor cells

ในการทดสอบความเป็นพิษกึ่งเรื้อรัง ผลการทดสอบทางโลหิตวิทยาแสดงให้เห็นว่ามีการลดลงของค่า Hb อย่างมีนัยสำคัญในหนูหลังจากที่รับ Quercetin 20 และ 40 mg/kgBW/day โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ระดับ Hct มีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญหลังจากได้รับ Quercetin 40 mg/kgBW/day เมื่อเปรียบเทียบกับก่อนได้รับ Quercetin ผลที่ได้ดังกล่าวบ่งชี้ให้เห็นว่าหนูที่ได้รับ Quercetin จะให้เกิดเกิดโรคโลหิตจางและมีการลดลงของระดับ Cholesterol และ Hematocrit อย่างมีนัยสำคัญในกลุ่มที่ได้รับ Quercetin 20 mg/kgBW/day ร่วมกับ Cloxacilin 150 mg/kgBW/day ซึ่งผลดังกล่าวสอดคล้องกับการศึกษาของ Ruiz *et al.* (2006) ที่พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงของตัวแปรทางพิษวิทยา ได้แก่ น้ำหนักตัว การบริโภคน้ำและอาหาร สารเคมีทางคลินิก และน้ำหนักของอวัยวะต่างๆ ในหนูตัวผู้และตัวเมียที่ได้รับ Quercetin ในอาหาร dose 30, 300 หรือ 3,000 mg/kgBW/day เป็นเวลา 28 วัน โดยเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม แต่การศึกษาครั้งนี้ใช้ 90 วัน ซึ่งอาจส่งผลต่อตัวแปรทางด้านพิษวิทยาต่อหนูที่ได้รักษา

Apigenin มีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรีย ต้านมะเร็ง และต้านสารอนุมูลอิสระ ในหลอดทดลอง แต่สำหรับการศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่ามีการอักเสบของหลอดลมโดยการสร้าง Th2 cytokline เพิ่มขึ้นและมีการสร้าง Th1 cytokline (Choi *et al*., 2009) ผลจากการทดสอบความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังของ Apigenin แสดงให้เห็นว่ามีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญของระดับ Cholesterol, WBC, RBC และ MCV แต่มีค่า AST เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในหนูหลังจากที่ได้รับ Apigenin ที่ dose 40 mg/kgBW/day เมื่อเปรียบเทียบกับก่อนได้รับ Apigenin นอกจากนั้นยังพบว่าหนูที่ได้รับ Apigenin ที่ dose 40 mg/kgBW/day ร่วมกับ Ceftazidime 320 mg/kgBW/day มีการลดลงของ RBC, WBC, Hb และHct ขณะที่ AST เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ การลดลงของระดับ Cholesterol, WBC และ MCV หลังจากได้รับ Apigenin ที่ dose 40 mg/kgBW อาจมีสาเหตุมาจากได้รับ dose สูงและระยะเวลานาน นอกจากนั้นยังพบว่า Baicalein มีประโยชน์ในการต้าน benzo[alpha]pyrene-, aflatoxin(AF)-ที่ทำให้เกิดความเป็นพิษต่อตับ และมีคุณสมบัติในการป้องกัน cytotoxicity และ genotoxicity ในเซลล์ตับของหนู ที่ถูกทำให้เกิดโดย *tert*-butyl hydroperoxide (*t*-BHP) เนื่องจากมันมีความสามารถในการกำจัดสารอนุมูลอิสระ (Hwang *et al.* 2005)

ในการทดสอบความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังของ พบว่ามีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญของระดับ Cholesterol ในหนูที่ได้รับ Quercetin 20 mg/kgBW/day ร่วมกับ Cloxacillin 150 mg/kgBW/day , Baicalein เดี่ยวๆ ที่ dose 20 mg/kgBW/day, Baicalein ร่วมกับ Cloxacillin ที่ dose 20 และ 300 mg/kgBW/day, Apigenin เดี่ยวๆ ที่ dose 40 mg/kgBW/day, Luteolin ร่วมกับ Ceftazidime ที่ dose 1 และ 160 mg/kgBW/day, 2 และ 300 mg/kgBW/day

สารฟลาโวนอยด์เหล่านี้สามารถลดคอเลสเตอรอลในเลือดของหนูทดลอง เมื่อให้ในปริมาณสูงและเป็นเวลานาน ค่าคอเลสเตอรอลที่ลดลงในหนูทดลองที่ได้รับไบคาลินนั้นสอดคล้องกับผลจากเอฟทีไออาร์ ที่องค์ประกอบของโครงสร้างทุติยภูมิของเอไมด์วันลดลง (ไม่ได้แสดงผลการทดลองไว้ ณ ที่นี้) ผลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ จะเป็นข้อมูลที่เป็นประโยชน์ในการทดสอบความเป็นพิษในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมชั้นสูงรวมทั้งในคน

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บรรณานุกรม

Afolayan, A.J. and Meyer, J.J.M. (1997) The antimicrobial activity of 3,5,7-trihydroxy flavone isolated from the shoots of *Helichrysum aureonitens*. *J. Ethnopharmaco.* 57 : 177-181.

Boumendjel, A., Bois, F., Beney, C., Mariotte, A. M., Conseil, G. and Pietro, A.D. (2001) B-ring Substituted 5,7-Dihydroxyflavonols with High-Affinity Binding to P- Glycoprotein Responsible for cell Multidrug Resistance. *Bioorganic & Medicinal Chem Letter*. 11 : 75-77.

Capasso, R. and Mascolo, N. (2003). Inhibitory effect of the flavonoid galangin on rat vas deferens in vitro. *Life Sci*. 72(26):2993-3001.

Capasso, R. and Tavares, I.A. (2002). Effect of the flavonoid galangin on urinary bladder rat contractility in-vitro. *J Pharm Pharmacol*. 54(8):1147-50.

Choi, J.-R., Lee, C.-M., Jung, I. D., Lee, J. S., Jeong, Y.-I., Chang, J. H., Park, H.-J., Choi, I.-W., Kim, J.-S., Shin, Y. K., Park, S. N. and Park, Y.-M. (2009). Apigenin protects ovalbumin-induced asthma through the regulation of GATA-3 gene. International Immunopharmacology. 9: 918-924.

Cipak, L., Ravko, P., Miadokova, E., Cipakova, I. And Novotny, L. (2003) Effects of flavonoids on cisplatin-induced apoptosis of HL-60 and L1210 leukemia cells. *Leukemia Research*. 27 : 65-72.

Eumkeb, G., Richards, R.M.E. (2005) Reversing β-lactam antibiotic resistance with flavonoids in Gram-positive bacteria. *Acta Horticulture.* 678 : 171-178

Harwood, M., Danielewska-Nikiel, B., Borzelleca, J. F., Flamm, G. W., Williams, G. M. and Lines, T. C. (2007). A critical review of the data related to the safety of quercetin and lack of evidence of *in vivo* toxicity, including lack of genotoxic/carcinogenic properties. Food and Chemical Toxicology. 45: 2179-2205.

Hwang, J. M., Tseng, T. H., Tsai, Y. Y., Lee, H. J., Chou, F. P., Wang, C. J. and Chu, C. Y. (2005). Protective effects of baicalein on tert-butyl hydroperoxide-induced hepatic toxicity in rat hepatocytes. **Journal of Biomedical Science**. 12: 389-397.

Heijnen, C.G.M., Haenen, G.R.M.M., van Acker, F.A.A., van der Vijgh, W.J.F. and Bast, A.(2001) Flavonoids as peroxynitrite scavengers : the role of the hydroxy groups. *Toxicology in vitro*. 15 : 3-6.

Heo, M.Y., Jae, L.H., Jung, S.S. and Au, W.W. (1996). Anticlastogenic effectd of galangin against mitomycin C-induced micronuclei in reticulocytes of mice. *Muta Res*. 360 (1) : 37-41.

Heo, M.Y., Sohn, S.J. and Au, W.W. (2001) Review : Anti-genotoxicity of galangin as a cancer chemopreventive agent candidate. *Mutation Research.* 488 : 135-150.

Imamura, Y., Migita, T., Uriu, Y., Otagiri, M. and Okawara, T. (2000). Inhibitory effects of flavonoids on rabbit heart carbonyl reductase. *J Biochem (tokyo).* 127(4):653-8

Kotanidou, A., Xagorari, A., Bagli, E., Kitsnta, P., Fotsis, T., Papapetropoulos, A. and Roussos, C. (2002). Luteolin reduces lipopolysaccharide-induced lethal toxicity and expression of proinflammatory molecules in mice. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. 165: 818-823.

Li, B.H. and Tian, W.X. (2003). Presence of fatty acid synthase inhibitors in the rhizome of *Alpinia officinarun* Hance. *J Enzyme Inhib Med Chem.* 18(4):349-56

Liu, I.X., Durham, D.G. and Richards, R.M.E. (2000) Baicalin Synergy with β-Lactam Antibiotics Against Methicillin-resistant Strains *Staphylococcus aureus.* and Other β-Lactam-resistant Strains of *S. aureus*. *J. Pharm. Pharmacol.* 52: 361-366.

Maharat Nakhonratchasima Hospital (2003) Microbiology Report: *Antibiotic Resistance Profile and Prevalence of Isolated Organisms by Site*, Department of Clinical Pathology, Maharat Nakhonratchasima Hospital, Nakhonratchasima.

Meyer, J.J.M., Afolayan, A.J., Taylor, M.B. and Erasmus, D. (1997) Antiviral activity of galangin isolated from the aerial parts of *Helichrysum aureonitens*. *J Ethnopharmacol*. 56 : 165-169.

Moon, Y. J., Wang, X. and Morris, M. E. (2006). Dietary flavonoids: Effects on xenobiotic and carcinogen metabolism. Toxicology in Vitro. 20: 187-210.

Ruiz, M. J., Fernandez, M., Estela, J. M., Asensi, M. A., Maaes, J. and Pico, Y. (2006). Short-term oral toxicity of quercetin and pterostibene in Swiss mice. **Toxicology Letters**. 164: 275-276.

Skibola, C. F. and Smith, M. T. (2000). Potential health impacts of excessive flavonoid intake. Free Radical Biology and Medicine. 29: 375-383.

Smitinand, T. (2001) Thai Plant names. The Forest Herbarium. Royal Forest Department, Bangkok.

Zhai, S., Dai, R., Friedman, F.K. and Vestal, R.E. (1998). Comparative inhibition of cytochromes P450 1A1 and 1A2 by flavonoids. *Drug Metab Dispos*. 26(10):989-92.

เต็มศิริฤกษ์กุล, รุ่งระวี., ฉั่วกุล, วงศ์สถิตย์., ประธานธุรารักษ์, สมภพ., ศรลัมพ์, พร้อมจิต., เปานิล, วิชิต. และ สุนทรเจริญนนท์, นพมาศ (2544) *สมุนไพร : ยาไทยที่ควรรู้*. ศักดิ์โสภาการ พิมพ์ กรุงเทพฯ.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ภาคผนวก

Output ที่ได้จากโครงการ

Referred articles:

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

Conference Proceedings:

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

Conference Abstracts:

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

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ประวัติผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการวิจัย

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

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

5. **Experiences**:

5.1 Administration Experience:

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

6. **Current Professional Field Registration**:

Pharmacology and toxicology, Medicinal plant, Clinical Pharmacy

7. **Members**:

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

8. Research Grants Awarded:

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

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

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

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

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

9. **Award** :

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

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

2008 : Outstanding alumnus, Nonkipittakom school, Burirum, Thailand

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

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

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

10. Scientific Publications :

Referred articles:

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

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

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

(IF 2011 = 2.545)

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

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

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

(Impact Factor 2011 = 3.268)

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

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

(Impact Factor 2011 = 2.337)

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

(Impact Factor 2011 = 2.444)

Eumkeb, G., Siriwong, S., Thumanu, K., 2012. Synergistic activity of luteolin and amoxicillin combination against amoxicillin-resistant *Escherichia coli* and mode of action. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology. 117, 247-253.

(Impact Factor 2011 = 2.814).

Eumkeb, G., Chukrathok, S., 2012. Synergistic activity and mechanism of action of ceftazidime and apigenin combination against ceftazidime-resistant *Enterobacter cloacae* Phytomedicine. is accepted,

(Impact Factor 2011 = 3.268).

Patent

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

Conference Proceedings:

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

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

Research reports:

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

Conference Abstracts:

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

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

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

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

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

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

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

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

ผลงานตีพิมพ์ทางหนังสือพิมพ์และสื่ออินเตอร์เนต (บางส่วน)

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

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

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

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

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

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

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

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ประวัตินักวิจัย

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

Publications

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

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

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี