พิษเฉียบพลันและพิษกึ่งเรื้อรังของสารสกัดจากใบมะม่วงกะล่อน

Acute and Subchronic Toxicities of Leaf Extract from *Mangifera caloneura* Kurz

อภิญญา สุวรรณพงศ์[1], ธีรพร กทิศาสตร์[2], ชูศรี ตลับมุข[3]
Apinya Suwannapong[1], Theeraporn Katisart[2], Chusri Talubmook[3]

บทคัดย่อ

มะม่วง เป็นพืชสมุนไพรที่ถูกนำมาใช้ในการรักษาโรคมากมาย อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานการศึกษาความเป็นพิษของสมุนไพรมะม่วงมาก่อน การวิจัยครั้งนี้จึงได้ศึกษาพิษเฉียบพลัน และพิษกึ่งเรื้อรังของสารสกัดจากใบมะม่วงกะล่อนในหนูขาว การศึกษาพิษเฉียบพลันของสารสกัดจากใบมะม่วงกะล่อน โดยการป้อนสารสกัดในขนาด 1,000, 1,500 และ 2,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แก่หนูครั้งเดียว พบว่า สารสกัดทุกขนาด ไม่ทำให้หนูทดลองตาย และหนูไม่แสดงอาการเป็นพิษหลังจากได้รับสารสกัดภายใน 24 ชั่วโมง และเมื่อสังเกตอาการต่อเนื่อง 14 วัน ก็ไม่พบหนูทดลองตาย และไม่ส่งผลกระทบกับน้ำหนักตัวและน้ำหนักสัมพัทธ์ของอวัยวะ ยกเว้นค่าเคมีโลหิต คือ ทำให้ค่า AST และ ALT เพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุม สำหรับการศึกษาพิษกึ่งเรื้อรังของสารสกัดจากใบมะม่วงกะล่อน โดยการป้อนสารสกัดขนาด 250 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แก่หนูทุกวัน เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า สารสกัดไม่ทำให้หนูทดลองตาย ไม่ส่งผลกระทบกับน้ำหนักตัวและน้ำหนักสัมพัทธ์ของอวัยวะ และไม่ส่งผลกระทบต่อค่าเคมีโลหิต และค่าโลหิตวิทยา

ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า สารสกัดจากใบมะม่วงกะล่อนไม่ก่อให้เกิดพิษเฉียบพลันและพิษกึ่งเรื้อรัง อย่างไรก็ตาม พึงระวังในการใช้สารสกัดเพราะอาจส่งผลกระทบต่อการทำงานของตับ

คำสำคัญ : มะม่วงกะล่อน พิษเฉียบพลัน พิษกึ่งเรื้อรัง ค่าเคมีโลหิต ค่าโลหิตวิทยา

Abstract

Mango, (*Mangifera indica* Linn.) is a medicinal plant used for the treatment of many diseases. However, the toxicity of mango has not been reported. The objective of this study was to determine the acute and subchronic toxicities of leaf extract from *Mangifera caloneura* in Wistar rats. The acute toxicity study by a single oral administration of various doses of the extract (1000, 1500, and 2000 mg/kg) revealed that all the doses of extract did not produce any sign or symptom of toxicity. And also, the mortal rat was not observed during a period of observation within 24 h and

[1]นิสิตระดับปริญญาโท, [2] อาจารย์, [3]ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม, 44150

[1]M.Sc. Student, [2] Lecturer, [3]Assistant Professor, Faculty of Science, Mahasarakham University, 44150, Thailand.

E-mail: pool_kubkiff@hotmail.com

a further period for 14 days. Furthemore, the extract had no effect on body weight and relative organ weight. However, it exerted a significant alteration of blood chemistry including an increase AST and ALT compared to controls. The study on the subchronic toxicity by daily oral administration the extract at a dose of 250 mg/kg to the rats for 6 weeks. The results showed that the extract did not produce any sign or symptom of toxicity. And again, the extract had no effect on body weight and relative organ weight. Moreover, a significant alteration of blood chemistry and hematological values were not found.

The results indicate that the leaf extract from *Mangifera caloneura* kurz has no acute and subchronic toxicities. However, administration of the extract can affect on hepatic function.

Keyword: *Mangifera caloneura* Kurz, acute toxicity, subchronic toxicity, blood chemistry, hematological values

บทนำ

มะม่วง (*Mangifera indica* Linn.) เป็นพืชที่รู้จักกันโดยทั่วไปในประเทศไทย เป็นพืชสมุนไพรที่มีในท้องถิ่น หาง่าย และมีราคาถูก มีการนำมะม่วงมาใช้ประโยชน์มากมายรวมทั้งในด้านการรักษาโรค เช่น ผลสดแก่ ใช้รักษาอาการคลื่นไส้อาเจียน วิงเวียน กระหายน้ำ ผลสุก ใช้รักษาอาการท้องอืดแน่น ขับพยาธิ ป้องกันโรคลมแดด เมล็ด ใช้รักษาโรคหอบหืด เป็นยาสมานแผล ใช้ขับพยาธิ ใบ ใช้รักษาโรคในลำคอ แก้ลำคออักเสบ แก้อาการสะอึก เป็นยาสมานแผล และป้องกันบาททะยัก ส่วนเปลือกต้น ใช้รักษาอาการไข้ สมานแผล แก้โรคคอตีบ แก้โรคไขข้อ และเป็นยาชูกำลัง[1]

ใบมะม่วง (*Mangifera indica*) มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ Alkaloids, Flavonoids, Saponins, Cardiac glycosides, Resins, Sterols, Benzenoids, Lactones, Terpenes, Balsam และ Tannin[2,3] มีสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ Polyphenols, Flavonoids[4], Terpenoids, Steroids, Fatty acids และมี Mangiferin เป็นส่วนประกอบหลัก[5] และมีสารสำคัญที่ให้กลิ่น ได้แก่ Terpene และ Limonene[6] มีรายงานการศึกษาความสามารถในการลดระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดของสารสกัดจากใบและเมล็ดมะม่วง (*Mangifera indica*) ที่สกัดด้วย Ethanol พบว่า สามารถลดระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดได้ เพิ่มขึ้นของระดับอินซูลินอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.01$)[7] และมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียทั้งแกรมบวก ได้แก่ *Streptococcus pneumonia*, *Bacillus cereus* และแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *Salmonella typhi, Pseudomonas aerugenosa* และ *Escherichia coli*[8] อย่างไรก็ตาม แม้ว่ามะม่วงจะมีสารออกฤทธิ์ที่สามารถนำไปรักษาโรคได้ แต่การนำมาใช้อาจก่อให้เกิดพิษได้ ฉะนั้นจึงต้องมีการศึกษาความเป็นพิษ เพื่อให้รู้ลักษณะการเกิดพิษ และกลไกที่ทำให้เกิดพิษ การทดสอบพิษเฉียบพลัน (Acute toxicity) เป็นวิธีที่ได้รับการนิยม เนื่องจากเป็นการทดสอบสารพิษในปริมาณที่มากภายในระยะเวลาที่สั้น คือ ประมาณ 24 ชั่วโมง แต่โดยทั่วไปมนุษย์มีโอกาสได้รับสารพิษในปริมาณน้อย และได้รับบ่อยๆ แม้ไม่เกิดอาการความเป็นพิษอย่างทันทีทันใด แต่ควรมีการทดสอบพิษกึ่งเรื้อรัง (Subchronic toxicity) เนื่องจากเป็นการทดสอบสารพิษในปริมาณที่น้อยติดต่อกันเป็นเวลานาน คือ ประมาณ 1-3 เดือน[9]

มะม่วงกะล่อน (*Mangifera caloneura* Kurz) เป็นพืชสมุนไพรที่มีในท้องถิ่น หาง่าย ราคาถูก และมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา แต่ข้อมูลงานวิจัยเกี่ยวกับความเป็นพิษของมะม่วงกะล่อนยังไม่มีรายงานการศึกษา ดังนั้นการวิจัยในครั้งนี้จึงได้ศึกษาพิษเฉียบพลัน และพิษกึ่งเรื้อรังของสารสกัดจากใบมะม่วงกะล่อนในหนูขาว ผลที่ได้จากการทดลองนี้ จะเป็นข้อมูลเพิ่มเติมในการตัดสินใจเลือกใช้พืชสมุนไพรชนิดนี้ได้อย่างปลอดภัยและมีประสิทธิภาพ อีกทั้งยังใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาพืชสมุนไพรใบมะม่วงกะล่อนในเชิงเศรษฐกิจต่อไป

วิธีการดำเนินงานวิจัย

ทำการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันและพิษกึ่งเรื้อรังในวันที่ 6 เดือน ธันวาคม พ.ศ. 2556 โดยดำเนินการทดลองดังนี้

1. การเตรียมตัวอย่างพืช

พืชที่ใช้ในการทดลองในครั้งนี้ คือ มะม่วงกะล่อน (*Mangifera caloneura* Kurz) ได้มาจากอำเภอค้อวัง จังหวัดยโสธร และทำการพิสูจน์เอกลักษณ์โดย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สนอง จอมเกาะ และตัวอย่างของพรรณไม้อ้างอิงงานวิจัย (SCMSU/BI/MC001) ได้ถูกเก็บไว้ที่ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

2. การเตรียมสารสกัดจากใบมะม่วงกะล่อน

นำใบมะม่วงกะล่อนที่ไม่อ่อนหรือแก่จนเกินไปมาล้างทำความสะอาด ผึ่งลม และนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จากนั้นบดเป็นผง นำผงสมุนไพรไปสกัดโดยการหมักด้วยเอทานอล 85 % โดยใช้อัตราส่วนของ ใบมะม่วงกะล่อน : เอทานอล เท่ากับ 1 : 4 หมักทิ้งไว้เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นกรองเอาส่วนที่เป็นกากออกโดยใช้ผ้าขาวบาง แล้วกรองซ้ำด้วยกระดาษกรอง Whatman No. 0 นำส่วนที่กรองได้ไประเหยเอาเอทานอลออก โดยใช้เครื่อง Rotary Evaporator ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนกระทั่งได้สารที่มีลักษณะเหนียวหนืด และนำไปทำให้แห้งขึ้นโดยใช้เครื่อง Freeze Dryer นำสารสกัดที่ได้เก็บไว้ในตู้เย็น ที่อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส เพื่อรอใช้ในการทดลอง

3. การเตรียมสัตว์ทดลอง

สัตว์ที่ใช้ในการทดลอง คือ หนูขาวสายพันธุ์วิสตาร์ (Wistar rats) คละเพศ น้ำหนัก 200-250 กรัม ก่อนการทดลองนำหนูมาพักเพื่อให้หนูสามารถปรับตัวเข้ากับสภาพของห้องทดลอง ซึ่งควบคุมอุณหภูมิประมาณ 25±2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 40-60% ให้แสงสว่างวันละ 12 ชั่วโมง ประมาณ 1 สัปดาห์ และให้หนูได้รับอาหารและน้ำดื่มตลอดเวลา การปฏิบัติและดูแลสัตว์ทดลอง ได้รับการอนุมัติวิจัยในสัตว์ทดลองจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในสัตว์ทดลอง มหาวิทยาลัยมหาสารคาม (เลขที่ 0005 / 2556)

4. การศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลัน

1. แบ่งหนูทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม แต่ละกลุ่มมีหนูทดลอง 8 ตัว ดังนี้

กลุ่มที่ 1 หนูที่ได้รับ 0.5% Tween 80 (ควบคุม)
กลุ่มที่ 2 หนูที่ได้รับสารสกัดขนาด 1,000 mg/kg
กลุ่มที่ 3 หนูที่ได้รับสารสกัดขนาด 1,500 mg/kg
กลุ่มที่ 4 หนูที่ได้รับสารสกัดขนาด 2,000 mg/kg

2. ป้อนสารสกัดแก่หนูทดลอง แบบป้อนครั้งเดียว ก่อนป้อนนำสารสกัดมาผสม 0.5% Tween 80 แล้วป้อนในขนาด 10 ml/kg หลังจากการป้อน สังเกตอาการความเป็นพิษ ได้แก่ การหายใจ การขับถ่าย การกินอาหาร การเคลื่อนไหว อาการชัก เดินเซ ซึมเศร้า อาเจียน และเบื่ออาหาร และนับจำนวนหนูทดลองที่ตาย

โดยสังเกตอย่างละเอียดใน 2 ชั่วโมงแรก หลังจากนั้นสังเกตทุกๆ 2 ชั่วโมง จนครบ 24 ชั่วโมง เนื่องจากไม่พบหนูที่ตายจึงสังเกตอาการต่อเนื่องอีก 14 วัน พร้อมทั้งชั่งน้ำหนักตัวหนูทดลอง ในวันที่ 0, 7 และ 14 ตามลำดับ

3. เมื่อครบ 14 วัน ทำให้หนูสลบด้วยคลอโรฟอร์ม แล้วทำการผ่าตัด จากนั้นดูดเลือดจากหัวใจ นำเลือดที่ได้ไปตรวจหาค่าเคมีโลหิต ซึ่งได้แก่ Blood urea nitrogen (BUN), Creatinine (Crea), total protein (TP), Albumin (Alb), Aspartate aminotransferase (AST), Alanine aminotransferase (ALT) และ Alkaline phosphatase (ALP) โดยใช้เครื่องวิเคราะห์หาค่าเคมีในเลือดอัตโนมัติ ที่ศูนย์การแพทย์ คณะแพทย์ศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม นอกจากนี้ ทำการสังเกตรูปร่างลักษณะ และพยาธิสภาพ พร้อมทั้งชั่งน้ำหนักอวัยวะภายใน ได้แก่ ตับ (Liver) ไต (Kidney) หัวใจ (Heart) และปอด (Lung) เพื่อคำนวณหาน้ำหนักสัมพัทธ์ของอวัยวะ

5. การศึกษาความเป็นพิษกึ่งเรื้อรัง

1. แบ่งหนูทดลองออกเป็น 2 กลุ่ม แต่ละกลุ่มมีหนูทดลอง 8 ตัว ดังนี้

กลุ่มที่ 1 หนูที่ได้รับ 0.5% Tween 80 (ควบคุม)
กลุ่มที่ 2 หนูที่ได้รับสารสกัดขนาด 250 mg/kg

2. ป้อนสารสกัดแก่หนูทดลอง ก่อนป้อนนำสารสกัดมาผสม 0.5% Tween 80 แล้วป้อนในขนาด 10 ml/kg โดยป้อนสารสกัดทุกวัน เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ หลังจากการป้อน สังเกตอาการความเป็นพิษ ได้แก่ การหายใจ การขับถ่าย การกินอาหาร การเคลื่อนไหว อาการชัก เดินเซ ซึมเศร้า อาเจียน และเบื่ออาหาร และนับจำนวนหนูทดลองที่ตายพร้อมทั้งชั่งน้ำหนักตัวหนูทดลองทุกสัปดาห์ จนครบ 6 สัปดาห์

3. เมื่อครบ 6 สัปดาห์ ทำการอดอาหารหนูเป็นเวลา 8 ชั่วโมง จากนั้นทำให้หนูสลบด้วยคลอโรฟอร์ม (Chloroform) ดูดเลือดจากหัวใจ นำเลือดที่ได้ไปตรวจหาค่าเคมีโลหิต ซึ่งได้แก่ Blood urea nitrogen (BUN), Creatinine (Crea), Total protein (TP), (Alb) Albumin, Aspartate aminotransferase (AST), Alanine aminotransferase (ALT) และ Alkaline phosphatase (ALP) และค่าโลหิตวิทยา ซึ่งได้แก่ White blood cells (WBC), Red blood cell (RBC), Hemoglobin (Hb), Hematocrit (Hct), Mean cell volume mean cell hemoglobin (MCV), Mean corpuscular hemoglobin concentration (MCH), Mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC), Lymphocyte (Lym), Monocyte (Mono), Eosinophils (Eo) และ Platelets (Plt) โดยใช้เครื่องวิเคราะห์หาค่าเคมีในเลือดอัตโนมัติ ที่ศูนย์การแพทย์ คณะแพทย์ศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม นอกจากนี้ ทำการสังเกตรูปร่างลักษณะ และพยาธิสภาพ พร้อมทั้งชั่งน้ำหนักอวัยวะภายใน ได้แก่ ตับ (Liver) ไต (Kidney) หัวใจ (Heart) และปอด (Lung) เพื่อคำนวณหาน้ำหนักสัมพัทธ์ของอวัยวะ

6. การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้มาหาค่าเฉลี่ย ค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ย สถิติที่ใช้ในการทดสอบสมมุติฐาน ได้แก่ One - Way ANOVA และ t – Test เมื่อพบว่าผลการตรวจสอบสมมติฐานแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยเป็นรายคู่

ตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (p<0.05)

ผลการทดลอง

1.การศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลัน

1.1 อาการความเป็นพิษ

หนูที่ได้รับสารสกัดใบมะม่วงกะล่อน ขนาด 1,000, 1,500 และ 2,000 mg/kg มีการหายใจปกติ ขับถ่ายปัสสาวะ อุจจาระปกติ ลักษณะการเคลื่อนไหวเป็นปกติ และไม่พบอาการชัก อาการซึมเศร้า อาเจียน เบื่ออาหาร นอกจากนี้ ยังไม่พบหนูทดลองตาย และเมื่อสังเกตอาการต่อไปอีก 14 วัน ก็ไม่พบหนูทดลองตาย และไม่พบอาการเป็นพิษใด ๆ

สารสกัดจากใบมะม่วงกะล่อนทั้ง 3 ขนาด แม้จะป้อนในขนาดสูงที่สุด คือ 2000 mg/kg ก็ไม่ก่อให้เกิดอาการความเป็นพิษใด ๆ และสัตว์ทดลองรอดชีวิตทั้งหมด แสดงให้เห็นว่าขนาดของสารสกัดที่ทำให้สัตว์ทดลองตายไปครึ่งหนึ่ง (LD_{50}) มีค่ามากกว่า 2,000 mg/kg ซึ่งวิเคราะห์ผลตามเกณฑ์การทดสอบความเป็นพิษแบบ Fixed dose[10]

1.2 น้ำหนักตัวเฉลี่ย

หนูที่ได้รับสารสกัดใบมะม่วงกะล่อน ขนาดแตกต่างกัน มีน้ำหนักตัวเฉลี่ยไม่แตกต่างกัน และไม่แตกต่างจากหนูกลุ่มควบคุม แสดงให้เห็นว่า สารสกัดใบมะม่วงกะล่อน ทุกขนาดที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ ไม่มีผลต่อน้ำหนักตัวของหนูทดลอง (Table 1)

Table 1 Body weight of the rats after 14 days receiving extracts from *Mangifera caloneura* Kurz (mean±SEM., n=8)

Groups	Body weight (g)		
	day 0	day 7	day 14
1. Control	224.37±4.76	245.62±7.87	296.87±18.82
2. Dose 1,000 mg/kg	225.01±6.30	235.00±4.72	306.87±21.19
3. Dose 1,500 mg/kg	226.25±3.50	233.75±6.03	283.12±12.31
4. Dose 2,000 mg/kg	226.37±3.16	236.25±7.30	281.87±14.26

[a, b] Means with different superscripts among treatment are significantly different (p< 0.05).

1.3 ค่าทางเคมีโลหิต

สารสกัดจากใบมะม่วงกะล่อนทั้ง 3 ขนาด มีผลต่อค่าเคมีโลหิตของหนูทดลอง โดยทำให้ค่า BUN, Crea, TP, และ Alb ลดลง แต่ค่า AST และ ALT เพิ่มขึ้น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุม ยกเว้น ค่า ALP ไม่แตกต่างกัน และไม่แตกต่างจากหนูกลุ่มควบคุม (Table 2)

Table 2 Blood chemistry of the rats 14 day after receiving extracts from *Mangifera caloneura* Kurz (mean±SEM., n=8)

Blood chemistry	Groups			
	Control	1,000 mg/kg	1,500 mg/kg	2,000 mg/kg
BUN	33.01±0.86[a]	28.73±0.63[b]	26.23±0.22[c]	28.62±0.46[b]
Crea	1.08±0.02[a]	0.93±0.02[b]	0.83±0.01[c]	0.91±0.02[b]
TP	6.90±0.19[a]	6.03±0.15[b]	5.80±0.05[b]	6.05±0.06[a]
Alb	3.91±0.07[a]	3.62±0.07[b]	3.51±0.06[b]	3.63±0.03[b]
AST	102.00±0.00[b]	166.12±17.43[a]	168.50±11.17[a]	170.50±10.0[a]
ALT	27.00±0.00[b]	31.00±1.61[a]	30.50±0.58[a]	32.25±1.24[a]
ALP	99.00±2.64	103.50±8.99	106.72±6.38	110.75±3.23

หมายเหตุ- BUN= Blood urea nitrogen (mg/dl), Crea = creatinine (mg/dl), TP = Total protein (g/dl), Alb = Albumin (g/dl), AST= Asparate aminotransferase (U/L), ALT = Alanine aminotransferase (U/L) และ ALP= Alkaline phosphatase (U/L)

[a, b] Means with different superscripts among treatment are significantly different ($p< 0.05$).

1.4 น้ำหนักสัมพัทธ์ของอวัยวะ

น้ำหนักสัมพัทธ์ของ ไต หัวใจ และ ปอด ของหนูที่ได้รับสารสกัดจากใบมะม่วงกะล่อน ขนาดต่างกัน ไม่แตกต่างกัน และไม่แตกต่างจากหนูกลุ่มควบคุม ยกเว้น น้ำหนักสัมพัทธ์ของตับในหนูทดลองที่ได้รับสารสกัดขนาด 1,000 และ 2,000 mg/kg มีค่าลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุม (Table 3)

Table 3 Relative organs weight of the rats 14 days after receiving extracts from *Mangifera caloneura* Kurz (mean±SEM., n=8)

Organs	Relative organs weight (%)			
	Control	1,000 mg/kg	1,500 mg/kg	2,000 mg/kg
Liver	4.82±0.21[a]	4.13±0.14[b]	3.94±0.22[b]	4.38±0.10[a]
Kidney	0.77±0.02	0.71±0.03	0.71±0.03	0.71±0.03
Heart	0.39±0.01	0.36±0.01	0.42±0.01	0.41±0.03
Lung	0.61±0.05	0.64±0.05	0.55±0.03	0.58±0.02

[a, b] Means with different superscripts among treatment are significantly different ($p< 0.05$).

2. การศึกษาพิษกึ่งเรื้อรัง

2.1 อาการความเป็นพิษเรื้อรัง

หนูที่ได้รับสารสกัดจากใบมะม่วงกะล่อน ขนาด 250 mg/kg ทุกวัน เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ มีการหายใจปกติ ขับถ่ายปัสสาวะอุจจาระปกติ ลักษณะการเคลื่อนไหวเป็นปกติ และไม่พบอาการชัก อาการซึมเศร้า อาเจียน เบื่ออาหาร นอกจากนี้ยังไม่พบหนูทดลองตาย และไม่พบอาการเป็นพิษใดๆ

2.2 ค่าทางเคมีโลหิต

สารสกัดจากใบมะม่วงกะล่อนไม่มีผลต่อค่าเคมีโลหิตของหนูทดลอง ได้แก่ ค่า BUN, TP, Alb, AST และ ALT ไม่แตกต่างจากหนูกลุ่มควบคุม ยกเว้น ค่า ALP ที่ลดลง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุม (Table 4)

Table 4 Blood chemistry of the rats 6 weeks after receiving extracts from *Mangifera caloneura* Kurz (mean±SEM., n=8)

Blood chemistry	Groups	
	Control	250 mg/kg
BUN	23.12±0.53	23.95±1.54
Crea	0.90±0.02	0.90±0.02
TP	6.80±0.08	6.81±0.12
Albumin	3.82±0.05	3.82±0.05
AST	113.87±2.93	130.87±8.01
ALT	36.87±1.20	39.75±3.25
ALP	102.87±8.03[a]	81.00±7.68[b]

หมายเหตุ- BUN= Blood urea nitrogen (mg/dl), Crea = creatinine (mg/dl), TP= Total protein (g/dl), Alb = Albumin (g/dl), AST= Asparate aminotransferase (U/L), ALT = Alanine aminotransferase (U/L) และ ALP= Alkaline phosphatase (U/L)

[a, b] Means with different superscripts among treatment are significantly different ($p< 0.05$).

2.3 ค่าโลหิตวิทยา

สารสกัดจากใบมะม่วงกะล่อนไม่มีผลต่อค่าโลหิตวิทยาของหนูทดลอง ได้แก่ ค่า WBC, RBC, Hb, MCV, Lym, Eo และ Plt ไม่แตกต่างจากหนูกลุ่มควบคุม ยกเว้น ค่า MCH, MCHC ที่เพิ่มขึ้น และค่า Mono ที่ลดลง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุม (Table 5)

Table 5 Hematological values from Subchronic toxicity study of the rats treated with the leaf extract of *Mangifera caloneura* Kurz (250 mg/kg) for 6 weeks and the vehicle controls. (mean±SEM., n=8)

Hematological values	Groups	
	Control	250 mg/kg
RBC	7.81±0.06	7.33±0.57
WBC	44.25±314.71	39.00±281.41
Hb	15.02±0.09	15.51±0.40
Hct	49.00±0.00	48.12±1.10
MCV	58.25±0.16	62.00±2.59
MCH	19.22±0.04^{b}	22.90±2.14^{a}
MCHC	32.71±0.10^{b}	36.25±1.60^{a}
Lym	85.87±1.09	78.87±1.88
Mono	4.00±0.18^{a}	2.12±0.29^{b}
Eo	1.12±0.44	0.87±0.83
Plt	76.25±20,651.2	67.00±35,886.2

หมายเหตุ- WBC= White blood cells(cell/m^{3}), RBC= Red blood cell(×10^{6}cell/mm^{3}), Hb= Hemoglobin(g/dl), Hct= Hematocrit(%), MCV= Mean cell volume mean cell hemoglobin(fl), MCH= Mean corpuscular hemoglobin concentration(p/g), MCHC= Mean corpuscular hemoglobin concentration(g/g ct), Lym= Lymphocyte(%), Mono= Monocyte(%), Eo= Eosinophils(%) และ Plt= Platelets(×10^{6}cell/mm^{3})

$^{a, b}$ Means with different superscripts among treatment are significantly different (p< 0.05).

2.4 น้ำหนักสัมพัทธ์ของอวัยวะ

น้ำหนักสัมพัทธ์ของตับ ไต และหัวใจ ของหนูทดลองที่ได้รับสารสกัดจากใบมะม่วงกะล่อนขนาด 250 mg/kg ไม่แตกต่างจากหนูกลุ่มควบคุม ยกเว้น น้ำหนักสัมพัทธ์ของปอดที่มีค่าลดลง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุม (Table 6)

Table 6 Relative organs weight of the rats 6 weeks after receiving extracts from *Mangifera caloneura* Kurz (mean±SEM., n=8)

Organs	Relative organs weight (%)	
	Control	250 mg/kg
Liver	3.15±0. 08	3.19±0.11
Kidney	0.51±0.01	0.54±0.01
Heart	0.27±0.00	0.33±0.01
Lung	0.46±0.00^{b}	0.56±0.07^{a}

$^{a, b}$ Means with different superscripts among treatment are significantly different (p<0.05).

สรุปผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของสารสกัดจากใบมะม่วงกะล่อน ในหนูทดลองที่ได้รับสารสกัด ขนาด 1,000, 1,500 และ 2,000 mg/kg ครั้งเดียว ไม่ก่อให้เกิดอาการความเป็นพิษเฉียบพลัน ทั้งนี้เนื่องจากแม้จะป้อนในขนาดที่สูงที่สุด คือ 2,000 mg/kg ก็ไม่แสดงอาการความเป็นพิษใดๆ และสัตว์ทดลองรอดชีวิตทั้งหมด แสดงให้เห็นว่า ขนาดของสารสกัดที่ทำให้สัตว์ทดลองตายไปครึ่งหนึ่ง มีค่ามากกว่า 2,000 mg/kg (LD_{50} > 2,000 mg/kg) ซึ่งวิเคราะห์ผลตามเกณฑ์การทดสอบความเป็นพิษแบบ Fixed dose[10] และสาร

สกัดจากใบมะม่วงกะล่อนยังไม่มีผลต่อน้ำหนักตัว และน้ำหนักสัมพัทธ์ของไต หัวใจ และปอด แต่มีผลต่อทำให้น้ำหนักสัมพัทธ์ของตับ โดยทำให้น้ำหนักสัมพัทธ์ของตับลดลง

เมื่อพิจารณาจากการตรวจค่าเคมีโลหิตของหนูทดลองที่ได้รับสารสกัดจากใบมะม่วงกะล่อน เพื่อศึกษาว่าสารสกัดมีผลกระทบต่อการทำงานของตับ และไต หรือไม่ พบว่า สารสกัดจากใบมะม่วงกะล่อนมีผลทำให้ค่าเคมีโลหิตของหนูทดลองมีการเปลี่ยนแปลง ได้แก่ ค่า AST และ ALT เพิ่มขึ้น BUN, Crea, TP, และ Alb ลดลง แต่สารสกัดไม่มีผลต่อค่า ALP เนื่องจากค่า AST, ALT และ ALP เป็นค่าที่ใช้บ่งบอกถึงการทำงานของตับ[11] ส่วนค่า BUN และ Crea เป็นค่าที่ใช้บ่งบอกถึงการทำงานของไต[12] ค่า AST และ ALT เป็นเอนไซม์ที่อยู่ในเซลล์ตับ เมื่อเกิดการอักเสบของตับ มีการตายของเซลล์ ถ้าเซลล์ตับถูกทำลายมาก จะมีปริมาณ AST และ ALT จากตับออกมาที่ระบบเลือดปริมาณมากขึ้น ผลจากการทดลองครั้งนี้ หนูที่ได้สารสกัดจากใบมะม่วงกะล่อน มีค่า AST และ ALT เพิ่มสูงขึ้นตามขนาดที่ใช้ แสดงให้เห็นว่า สารสกัดส่งผลกระทบต่อการทำงานของตับ อย่างไรก็ตามหนูที่ได้รับสารสกัดจากใบมะม่วงกะล่อน ขนาด 1,000 และ 1,500 มีปริมาณ TP ลดลง และหนูที่ได้รับสารสกัดจากใบมะม่วงกะล่อนทั้ง 3 ขนาด มีปริมาณ TP ลดลงเช่นกัน ทั้งนี้อาจกล่าวได้ว่าสารสกัดจากใบมะม่วงกะล่อนส่งผลกระทบต่อการสร้างโปรตีนในตับ เนื่องจากปริมาณ TP เป็นค่าที่ใช้บ่งบอกปริมาณโปรตีน ถ้าหากความสามารถในการสร้างโปรตีนลดลง จะพบปริมาณ Alb, Globulin ต่ำลงเช่นเดียวกัน[11] ส่วนค่า BUN หรือปริมาณ Urea ในเลือด เป็นค่าที่ใช้เพื่อตรวจกรองการทำงานของไต ซึ่งจะพิจารณาร่วมกับค่า Crea ในเลือด เนื่องจากทั้งสองค่านี้จะบ่งบอกการทำงานของไตในการขับสารพิษออกจากร่างกาย ถ้าร่างกายมีปริมาณ BUN สูงขึ้น แสดงว่าการทำงานของไตบกพร่องหรือไตทำงานหนัก จึงทำให้มีสารยูเรีย หรือไนโตรเจนคั่งค้างอยู่ในกระแสเลือด หรืออาจเนื่องมาจากภาวะตกเลือด ภาวะช็อค การขาดสารน้ำ โรคหัวใจล้มเหลว โรคตับแข็ง และกลุ่มอาการโรคไตเนื่องจากโรคตับ ซึ่งทั้งหมดนี้มีผลต่อการไหลของเลือดที่ไปเลี้ยงไตและการกรองเลือดผ่านไต ทำให้ความสามารถในการขับของเสียลดลงอย่างมาก[12] แต่ผลจากการทดลองครั้งนี้ หนูที่ได้สารสกัดจากใบมะม่วงกะล่อน มีผลทำให้ค่า BUN และ Crea ลดลง แสดงให้เห็นว่า สารสกัดไม่มีผลกระทบต่อการทำงานของไต

การทดสอบความเป็นพิษกึ่งเรื้อรัง ของสกัดจากใบมะม่วงกะล่อน ในหนูทดลองที่ได้รับสารสกัด ขนาด 250 mg/kg ทุกวัน เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ ไม่แสดงอาการความเป็นพิษใด ๆ และไม่พบหนูทดลองตาย และไม่มีผลต่อน้ำหนักสัมพัทธ์ของตับ ไต และหัวใจ แต่มีผลทำให้น้ำหนักสัมพัทธ์ของปอด เพิ่มขึ้น และยังพบว่าน้ำหนักสัมพัทธ์ของ ตับ มีแนวโน้มสูงขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของสารสกัดจากดอกกระดุมทองเลื้อยที่พบว่าน้ำหนักสัมพัทธ์ของตับ สูงขึ้นในหนูที่ได้รับสารสกัด[13] อาจเป็นไปได้ว่าสารสกัดทำให้การทำงานของตับสูงขึ้น

เมื่อพิจารณาการตรวจค่าทางเคมีโลหิตของหนูทดลอง ที่ได้รับสารสกัดจากใบมะม่วงกะล่อน ขนาด 250 mg/kg มีค่า BUN, Crea, TP, Alb, AST และ ALT ไม่แตกต่างจากหนูกลุ่มควบคุม ยกเว้นค่า ALP ที่ลดลง เนื่องจากค่า ALP เป็นเอนไซม์ที่พบในเนื้อเยื่อหลายแห่งในร่างกาย เช่น ตับ กระดูก ลำไส้เล็ก ไต รก และเม็ดเลือดขาว การตรวจหาระดับ ALP ซึ่งเป็นสารเคมีจากกระดูก และถูกขับถ่ายทางตับผ่านทางน้ำดี ถ้าสารนี้คั่งค้างก็จะบอกได้ว่าการทำงานของตับผิดปกติ เช่น มีการอุดกั้นทางเดินน้ำดี หรืออาจเกิดจากการทำงานของตับลดลง[14] จากผลการทดลองครั้งนี้หนูที่ได้รับสารสกัดจากใบมะม่วง

กะล่อน มีค่า ALP ลดลง แสดงให้เห็นว่า สารสกัดไม่ส่งผลกระทบต่อการทำงานของตับ อย่างไรก็ตามมีรายงานการศึกษาที่พบว่า เมื่อหนูที่ได้รับสารสกัดใบมะม่วง (*Mangifera indica*) ขนาด 400 mg/kg ไม่มีผลต่อระดับเอนไซม์ ALP, AST และ ALT แสดงให้เห็นว่าสารสกัดไม่เป็นพิษต่อตับ[3]

การตรวจค่าโลหิตวิทยาของหนูทดลองที่ได้รับสารสกัดจากใบมะม่วงกะล่อน ขนาด 250 mg/kg ไม่มีผลต่อจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาว (WBC), จำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดง (RBC), ค่าฮีโมโกลบิน (Hb), ค่าฮีมาโทคริต (Hct), ปริมาตรของเม็ดเลือดแดงโดยเฉลี่ย (MCV), จำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ (Lym), จำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดอีโอซิโนฟิล (Eo) และจำนวนเกล็ดเลือด (Plt) ยกเว้น ผลต่อค่าความเข้มข้นเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง (MCHC) ปริมาณเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง (MCH) เพิ่มสูงขึ้นจากหนูกลุ่มควบคุม แต่ยังจัดว่าอยู่ในเกณฑ์ปกติ[15] สำหรับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดโมโนไซต์ (Mono) ที่ลดลงจากหนูกลุ่มควบคุม ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสารสกัดจากใบมะม่วงกะล่อน มีผลในการส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกันในร่างกายของหนูทดลองแทนเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดโมโนไซต์ (Mono) จึงทำให้หนูทดลองที่ได้รับสารสกัดมีการสร้างเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดโมโนไซต์ (Mono) น้อยลง ทั้งนี้มีรายงานว่าในสารสกัดจากใบมะม่วง (*Mangifera indica*) มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพมากมาย เช่น Mangiferin, C-glucosylxanthone[1], Flavonoids, Lactone[2,5] และ Pholyphenols ซึ่งช่วยเสริมระบบภูมิคุ้มกัน[16]

สรุปผล

สารสกัดจากใบมะม่วงกะล่อนไม่ก่อให้เกิดพิษเฉียบพลันและพิษกึ่งเรื้อรัง จึงสามารถนำสารสกัดจากใบมะม่วงไปใช้ในการรักษาโรค หรือเป็นยาบำรุงร่างกายได้ แต่การนำสารสกัดจากใบมะม่วงกะล่อนไปใช้ควรใช้ในขนาดที่เหมาะสม เพราะการใช้สารสกัดในขนาดที่สูงอาจส่งผลกระทบต่อการทำงานของตับ

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยสำหรับนิสิตระดับบัณฑิตศึกษา (ปริญญาโท) ประจำปีงบประมาณ 2557 มหาวิทยาลัยมหาสารคาม และโครงการพัฒนากำลังคนด้านวิทยาศาสตร์ (ทุนเรียนดีวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทย) ที่สนับสนุนค่าใช้จ่ายในการทำวิจัย ผู้วิจัยขอขอบคุณ ภาควิชาชีววิทยา ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้สถานที่ในการทำวิจัย และขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สนอง จอมเกาะ ที่ช่วยกรุณาตรวจสอบความถูกต้องของลักษณะพืช

เอกสารอ้างอิง

1. Shah, K.A., Patel, M.B., Patel R.J. and Parmar P.K. *Mangifera Indica* (Mango). Journal of Pharmacognosy Review, 2010; 4(7): 42-48.
2. เฉลิมศรี สถิรสุทธิพงศ์. ปริมาณ mangiferin ในใบ เปลือกต้น และกิ่ง ของมะม่วงสายพันธุ์ต่างๆ ของประเทศไทย. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิตสาขาเภสัชเวท คณะเภสัชศาสตร์, มหาวิทยาลัยมหิดล, 2552.
3. Luka, C.D. and Mohammed, A. Evaluation of the antidiabetic property of aqueous extract of *Mangifera indica* leaf on normal

and alloxan-induced diabetic rats. Journal of Natural Product and Plant Resource, 2012; 2(2): 239-243.

4. Morsi, M.Y., EL-Tahan, N.R. and El-Hadad, M.A. Effect of aqueous extract *Mangifera indica* leaves, as functional foods. Journal of Applied Sciences Research, 2010; 6(6): 712-721.
5. Bhusari, S., Patil, A., Kandangire, P., Gite, S., Shinde, D. and Wakte, P. Antioxidant compound from leaves of *Mangifera indica* Linn. Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 2012; 4(4): 112-116.
6. Pino, J.A., Mesa, J., Munoz, Y., Marti, M.P. and Marbot, R. Volatile components from mango (*Mangifera indica* L.) cultivars. Journal of Agricultural Food Chemistry, 2005; 53(6): 2213-2223.
7. Petchi, R., Parasuraman, S., Vijaya, C. and Devika, GS. Antidiabetic effect of leaves and kernel seeds extract of *Mangifera indica*. Journal of Pharmacy and Biological Sciences, 2011; 2(1): 385-392.
8. Doughari, J.H. and Manzara, S. In vitro antibacterial activity of crude leaf extracts of (*Mangifera indica* L.). African Journal of Microbiology Research, 2008; 2(2): 067-072.
9. Ballantyne, B. Repeated Exposure Toxicity. Two edition. New York: Macmillan Reference USA, 2000; 2: 55-66.
10. วงศ์วิวัฒน์ ทัศณียกุล, สุดา วรรณประสาท และสุพัตรา ปรศุพัฒนา. สารพิษวิทยา: จากพื้นฐานสู่ขาเตียงผู้ป่วย**.** ขอนแก่น: มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 2546; 23-37.
11. สถาบันธัญญารักษ์. การตรวจการทำงานของตับ. กลุ่มงานเภสัชกรรม [Serial online] (2007) Mar 30. Available from: http://www.gotoknow.org/posts/87500. Accessed June 18, 2013.
12. ยุทธนา สุดเจริญ. การเปรียบเทียบระดับสารชีวเคมีที่ใช้ทดสอบการทำงานของไต. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา. 2554; 69-71.
13. อันชัญ ไตรธิเลน, ชูศรี ตลับมุข. พิษเฉียบพลันของสารสกัดจากกระดุมทองเลื้อยในหนูขาว.วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม. 2556; 11-18.
14. สุธาทิพย์ พิชญไพบูลย์. การแปลผลตรวจห้องปฏิบัติการสำหรับเภสัชกร. กรุงเทพฯ: เท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล. 2554; 57-58.
15. Douglas, J.W. and Warbrop K.J. Schalm's veterinary hematology. Sixth edition USA: Blackwell, 2010; 6: 852-853.
16. Masibo, M. and He Q. Mango bioactive compounds and related nutraceutical properties. Journal of Food Reviews International, 2009; 25(4): 346-370.