

การประเมินความเป็นพิษทางพันธุกรรมของสารสกัดผักแพวด้วยวิธี *in vitro* alkaline comet

พราว ศุภจริยาวัตร^{1*} สุจิต อุ่นกาศ¹ วิจิตรา สุดห่วง¹ เสกษัตกร บัวเบา¹ พรชัย สีนเจริญโกไคย¹

¹ห้องปฏิบัติการพิษวิทยา สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ อำเภอเมือง จังหวัดนนทบุรี 11000

²ศูนย์ตรวจสอบและรับรองคุณภาพสมุนไพร สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ อำเภอเมือง จังหวัดนนทบุรี 11000

บทคัดย่อ

ผักแพว (*Persicaria odorata* Lour.) เป็นพืชที่ใช้บริโภคและมีสรรพคุณทางยาพื้นบ้าน อย่างไรก็ตาม ข้อมูลด้านความปลอดภัยและความเป็นพิษทางพันธุกรรมยังมีจำกัด การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความเป็นพิษทางพันธุกรรมของสารสกัด 80% เอทานอลของผักแพว โดยใช้วิธี *in vitro* alkaline comet assay เซลล์ลิมโฟบลาสต์ของมนุษย์ (TK-6) ถูกบ่มด้วยสารสกัดผักแพวที่ความเข้มข้นต่างๆ (78.13, 156.25, 312.5, 625 และ 1,250 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) โดยใช้ ethyl methane sulfonate (EMS) ที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เป็นกลุ่มควบคุมบวก และ 1% DMSO เป็นกลุ่มควบคุมลบ พารามิเตอร์ที่ใช้ในการประเมินความเสียหายของ DNA ได้แก่ เปอร์เซ็นต์ DNA ส่วนหาง (% DNA in tail), ความยาวส่วนหัว (head length), ความยาวส่วนหาง (tail length), เทลโมเมนต์ (tail moment) และ โอลิฟโมเมนต์ (olive moment) ผลการทดลองพบว่ากลุ่มควบคุมบวก (EMS) ก่อให้เกิดความเสียหายต่อ DNA อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมลบ เซลล์ที่บ่มด้วยสารสกัดผักแพวที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 312.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ขึ้นไป แสดงค่า % DNA in tail, tail length, tail moment และ olive moment เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยค่าความเสียหายของ DNA ดังกล่าวแปรผันตามความเข้มข้น (dose-dependent response) แต่ที่ความเข้มข้นต่ำ (78.13 และ 156.25 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ไม่พบความเสียหายของ DNA แตกต่างจากกลุ่มควบคุมลบอย่างมีนัยสำคัญ สรุปได้ว่า สารสกัด 80% เอทานอลของผักแพวสามารถก่อให้เกิดการแตกหักของสาย DNA ในเซลล์ TK-6 ที่ขนาดทดสอบ อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในสัตว์ทดลองและกลไกเชิงลึกเพื่อประเมินความปลอดภัยในการบริโภคต่อไป

คำสำคัญ: สารสกัดผักแพว ความเป็นพิษทางพันธุกรรม การแตกหักของ DNA วิธีอัลคาไลน์คอมเมท

รับบทความ: 4 มิถุนายน 2568 แก้ไข: 17 กรกฎาคม 2568 ตอบรับ: 24 กรกฎาคม 2568

*ผู้รับผิดชอบบทความ

พราว ศุภจริยาวัตร

ห้องปฏิบัติการพิษวิทยา สถาบันวิจัยสมุนไพร 88/7 กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

ต.ตลาดขวัญ อ.เมือง จ.นนทบุรี 11000

อีเมล: praw.s@dmsc.mail.go.th

Evaluation of Genotoxicity of *Persicaria odorata* Lour. Extract Using the *In Vitro* Alkaline Comet Assay

Praw Suppajariyawat^{1,*} Sutjarit Aunkat¹ Wijittra Sudhong¹ Sekrachatakorn Buabao²
Pornchai Sincharoenpokai¹

¹Toxicology Laboratory, Medicinal Plant Research Institute, Department of Medical Sciences, Tiwanond Road, Mueang, Nonthaburi 11000, Thailand

²Herbal Quality Assurance Center, Medicinal Plant Research Institute, Department of Medical Sciences, Tiwanond Road, Mueang, Nonthaburi 11000, Thailand

Abstract

Persicaria odorata Lour. is extensively consumed and utilized in traditional medicine. However, comprehensive data regarding its safety and genotoxicity remain limited. This study aimed to evaluate the genotoxic potential of an 80% ethanolic extract of *P. odorata* using the *in vitro* alkaline comet assay in human lymphoblastoid (TK6) cells. The TK6 cells were treated with the extract at various concentrations (78.13, 156.25, 312.5, 625, and 1,250 µg/mL). Ethyl methane sulfonate (EMS) at 1,000 µg/mL served as the positive control, while 1% DMSO was used as the negative control. DNA damage was assessed using parameters including % DNA in tail, head length, tail length, tail moment, and olive tail moment. The results demonstrated that the positive control (EMS) induced significant DNA damage. The extract, at concentrations of 312.5 µg/mL and above, exhibited a significant ($p < 0.05$) increase in % DNA in tail, tail length, tail moment, and olive tail moment in a dose-dependent manner compared to the negative control. Conversely, at lower concentrations (78.13 and 156.25 µg/mL), the extract did not induce DNA damage. It was concluded that, the 80% ethanolic extract of *P. odorata* possessed the potential to induce DNA strand breaks in TK6 cells at high concentrations. Further *in vivo* studies and investigations into the underlying mechanisms are imperative to comprehensively assess its safety for human consumption.

Keywords: *Persicaria odorata* Lour., Genotoxicity, DNA damage, Alkaline comet assay

Received: 4 June 2025, **Revised:** 17 July 2025, **Accepted:** 24 July 2025

*Corresponding author

Praw Suppajariyawat

Toxicology Laboratory, Medicinal Plant Research Institute

88/7 Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health Taladkwan, Muang Nonthaburi 11000

Email: praw.s@dmisc.mail.go.th

บทนำ

ประเทศไทยมีการนำเข้าสมุนไพรเพื่อใช้ในการผลิตและบริโภคผลิตภัณฑ์สมุนไพรเป็นหลัก ในช่วงปี พ.ศ. 2559 ถึง พ.ศ. 2563 ปริมาณการส่งออกวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์สมุนไพรของประเทศไทยเฉลี่ยอยู่ที่ประมาณ 2,237 ล้านบาทต่อปี ขณะที่การนำเข้าวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์สมุนไพรมีแนวโน้มขยายตัวอย่างต่อเนื่อง ซึ่งสะท้อนถึงความต้องการบริโภคที่เพิ่มขึ้น โดยเฉพาะการนำเข้าผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร วัตถุดิบ และสารสกัดจากต่างประเทศที่มีการเติบโตอย่างต่อเนื่อง ในปี พ.ศ. 2563 ประเทศไทยมีอัตราการนำเข้าสมุนไพรสูงสุดในรอบ 5 ปี ที่ประมาณ 12,606 ล้านบาท¹ จะเห็นได้ว่าอนาคตของสมุนไพรไทยมีแนวโน้มที่ดี หากมีการผสมภูมิปัญญาดั้งเดิมเข้ากับวิทยาศาสตร์สมัยใหม่อย่างจริงจัง ก็จะสามารถนำไปสู่การพัฒนาทางเลือกในการดูแลสุขภาพที่ปลอดภัย ผักแพวได้รับการยอมรับว่าเป็นหนึ่งในสมุนไพรที่ใช้บ่อยที่สุดในประเทศไทย² ซึ่งเน้นย้ำถึงความสำคัญทางวัฒนธรรมและเศรษฐกิจในท้องถิ่น รวมถึงผักแพวมีสรรพคุณที่ดีและถูกนำมาใช้ตามแบบแผนโบราณเพื่อรักษาปัญหาทางเดินอาหาร เช่น ท้องอืด ท้องเฟ้อ ปวดท้อง อาหารไม่ย่อย และท้องเสีย ใช้เป็นยาขับปัสสาวะ ลดไข้ และรักษาหวัด ไอ และหอบหืด³ ใบที่บดแล้วใช้ทาแก้กลากเกลื้อน แผลเปื่อย⁴ น้ำคั้นจากใบที่บดแล้วใช้เป็นยาถอนพิษงู และป้องกันโรคหัวใจและมะเร็ง⁵ ความสนใจที่เพิ่มขึ้นในผักแพวสร้างแรงจูงใจทางเศรษฐกิจที่แข็งแกร่ง ทั้งนี้ ข้อมูลความปลอดภัยรวมถึงการประเมินความ

เป็นพิษทางพันธุกรรม จะมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการยอมรับของตลาดสมุนไพร และการปลดล็อกศักยภาพเชิงพาณิชย์ในวงกว้าง ในทางกลับกัน หากพบผลเสียใดๆ ก็จำเป็นต้องมีแนวทางที่ชัดเจนสำหรับการใช้งาน หากผักแพวจะถูกนำไปใช้ในเชิงพาณิชย์หรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร ผู้ผลิตและหน่วยงานกำกับดูแลจะต้องใช้ข้อมูลความปลอดภัยที่เชื่อถือได้

ผักแพว (*Persicaria odoratum* Lour.) จัดอยู่ในวงศ์ polygonaceae ชื่อสามัญ Vietnamese coriander⁶ โดยมีชื่อพ้องคือ *Polygonum odoratum* Lour.⁷ ชื่อท้องถิ่นอื่น ๆ คือ พริกม้า พริกม้า (นครราชสีมา) หอมจันทร์ (อยุธยา) ผักไผ่ (ภาคเหนือ) ผักแพว (ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ) จันทน์โสม จันทน์แดง ผักไผ่น้ำ ผักแพ้ว ผักแพรว ผักแจว พริกบ้า และหอมจันทร์ เป็นต้น ชอบขึ้นตามที่ชื้นแฉะ ดินร่วนซุย ระบายน้ำดี แสงแดดส่องถึง⁸ ผักแพวเป็นพืชล้มลุกอายุหลายปี โดยทั่วไปมีความสูงและการแผ่กระจายประมาณ 0.5 ถึง 1.5 ฟุต (15-45 เซนติเมตร) มีการเจริญเติบโตที่แข็งแรงสามารถแตกกอได้ จะเห็นได้จากผักแพวสามารถขึ้นได้ทั่วทุกภาคของประเทศไทย ผักแพวมักกลิ่นฉุนคล้ายผักชีและมีรสเผ็ดร้อนคล้ายพริกไทย ทำให้ผักแพวเป็นเครื่องปรุงรสที่หลากหลายแต่มีเอกลักษณ์เฉพาะตัว "รสเผ็ดร้อน" องค์ประกอบทางพฤกษเคมีที่สำคัญของผักแพว เป็นสารกลุ่มอัลดีไฮด์ที่มีกลิ่นหอม เช่น เดคานาล (decanal) และโดเดคานาล (dodecanal) และสารประกอบกลุ่มเทอร์พีน เช่น แคริโอฟิลลิน (caryophyllene) อีเรโมฟิลลิน (eremophilene) และอัลฟา-เคอร์คิวมิน (alpha-curcumene) โดยพบว่ามีสารโดเดคานาลเป็นองค์ประกอบหลัก⁹

องค์ประกอบทางโภชนาการ ประกอบด้วย โปรตีนดิบ (3.5%) ไขมันดิบ (0.83%) เส้นใยดิบ (10.66%) และเถ้า (1.83%)¹⁰ นอกจากนี้ยังเป็นแหล่งของวิตามินเอ วิตามินซี แคลเซียม และธาตุเหล็ก¹¹ ผักแพวมีสรรพคุณที่มีคุณค่าอย่างมากอุดมไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ มีวิตามินเอสูงถึง 8,112 หน่วยสากล ช่วยบำรุงรักษาสายตาได้เป็นอย่างดี เป็นผักที่ติดอันดับ 8 ของผักที่มีวิตามินซีสูงสุด รวมถึงติดอันดับ 5 ของผักที่มีธาตุเหล็กสูงที่สุด¹² สรรพคุณของผักแพวมีหลากหลาย เช่นฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ¹³ ฤทธิ์ต้านจุลชีพ (ต้านแบคทีเรียและเชื้อรา) ฤทธิ์ด้านการอักเสบ ซึ่งเชื่อมโยงกับสารประกอบ เช่น เควอซิทิน และ scutellarein-7-glucoside และความสามารถในการลดการหลั่ง IL-6 หรือการผลิตไนตริกออกไซด์¹⁴ ฤทธิ์ต้านมะเร็ง/ด้านการเพิ่มจำนวนเซลล์ สารสกัดแสดงผลด้านการเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งต่างๆ (เช่น เซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7, เซลล์มะเร็งช่องปากชนิดสความัส) ซึ่งอาจผ่านการยับยั้งวิถีทางชีวภาพ เช่น Akt/mTOR และการลดระดับโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการเกิดเนื้องอก¹⁵ ฤทธิ์ปกป้องตับและปรับภูมิคุ้มกัน¹⁵

ความเป็นพิษทางพันธุกรรมเป็นส่วนสำคัญ หากไม่มีข้อมูลดังกล่าว การลงทุนในการเพาะปลูกขนาดใหญ่หรือการพัฒนาผลิตภัณฑ์จะมีความเสี่ยง การทดสอบความเป็นพิษทางพันธุกรรมเป็นองค์ประกอบสำคัญของการตรวจสอบความปลอดภัยนี้สำหรับผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติใดๆ ที่มีไว้สำหรับการบริโภคหรือการประยุกต์ใช้ในวงกว้าง การศึกษาเพื่อประเมินความเป็นพิษทางพันธุกรรมของสารสกัดผักแพวโดยใช้ชุดการทดสอบมาตรฐานตามแนวทางของ

OECD เพื่อให้ได้ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ที่เชื่อถือได้เกี่ยวกับความปลอดภัยในการบริโภคและการนำไปใช้ประโยชน์ในวงกว้าง ผลการศึกษาดังกล่าวจะเป็นประโยชน์ต่อการคุ้มครองผู้บริโภค การกำหนดนโยบายด้านสาธารณสุข และการส่งเสริมการใช้ประโยชน์จากทรัพยากรพืชสมุนไพรอย่างยั่งยืนและมีหลักฐานทางวิทยาศาสตร์รองรับ ซึ่งจะช่วยให้การพัฒนาผลิตภัณฑ์จากผักแพวเป็นไปอย่างมีความรับผิดชอบและสอดคล้องกับมาตรฐานความปลอดภัยสากล รวมถึงเป็นแนวทางในการพัฒนาต่อยอดการพัฒนาผลิตภัณฑ์สมุนไพรต่อไป

วัสดุสารเคมี และวิธีดำเนินการวิจัย

วัสดุอุปกรณ์

ชุดวิเคราะห์ความผิดปกติของเซลล์แบบอัตโนมัติด้วยความละเอียดสูง (MetaSystems) กล้องจุลทรรศน์ชนิดหัวกลับ (inverted microscope) ตู้ชีวนิรภัย (biosafety cabinet class II) ตู้บ่มเลี้ยงเซลล์แบบใช้คาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂ incubator) เครื่องปั่นเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิ (refrigerated centrifuge) เครื่องนับจำนวนเซลล์แบบอัตโนมัติ (cell counter) เครื่องควบคุมการดูดจ่ายสารละลาย (pipette controller) และ Serological pipette เครื่องดูดของเหลวสุญญากาศ (laboratory aspirator) ปิเปตอัตโนมัติ (autopipette) พร้อมไมโครปิเปตต์ทิป (micropipette tip) ขนาด 10, 200, 1,000 5,000 ไมโครลิตร ภาชนะปลอดเชื้อ เช่น จานเพาะเลี้ยงเซลล์ชนิด 6 หลุมพร้อมฝาปิด (6-well plate), ขวดเลี้ยงเซลล์ขนาดพื้นที่ 75 ตารางเซนติเมตร (cell culture flask), หลอดเซนตริฟิวจ์ (centrifuge tube)

ขนาด 0.2, 0.5, 1.5, 2, 5 และ 15 มิลลิลิตร และ ภาชนะสำหรับเตรียมเซลล์ (tray) สไลด์และ กระจกปิดสไลด์ (slides and cover slip) ภาชนะ สำหรับแช่สไลด์ (glass chamber) ภาชนะสำหรับ ทิ้งของเหลวและขยะปนเปื้อน (waste container) เครื่องรันเจลแบบสไลด์ (comet assay electrophoresis tank) ขวดแก้วใส่สารขนาด 100, 250, 500, 1,000 มิลลิลิตร กระดาษทิชชู ผ้าก๊อช ปากกาเคมี

สารเคมี

อาหารเพาะเลี้ยงเซลล์ ประกอบด้วย RPMI-1640 + 10% (v/v) Fetal bovine serum + 1% (v/v) penicillin/streptomycin (Gibco, Grand Island USA) , 1X PBS (Product No. P3813) , Normal melting temperature agarose (CAS No. 9012-36-6), Low melting temperature agarose (CAS NO. 39346-81-1) , Lysis buffer (pH 10) , Alkaline electrophoresis buffer (AES) pH >13 , Neutral electrophoresis solution (NES) (pH 7.5), สีย้อม SYBR Green I (Catalog number S7563), Dimethyl sulfoxide (DMSO) (CAS No. 67-68-5), สีย้อมเซลล์ 0.4% Trypan blue (CAS No. 72- 57- 1) , 95% เอทานอล (v/v) และ Ethyl methane sulfonate (CAS No. 62-50-0)

การเตรียมวัตถุดิบ

ตัวอย่างสมุนไพรผักแพว (หมายเลข พรรณไม้อ้างอิง DMSC 5344) เก็บจากจังหวัด นครปฐมและนนทบุรี ตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์ ตามหลักอนุกรมวิธานโดยนักพฤกษศาสตร์ ตัวอย่าง ถูกเก็บไว้ที่พิพิธภัณฑ์พืช สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ในการเตรียม

สมุนไพรผักแพวดำเนินการโดยล้างสมุนไพรให้ สะอาด นำมาผึ่ง (air-dry) จากนั้นนำเข้าอบที่ อุณหภูมิ 50 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นบดด้วยเครื่องบดสมุนไพรจนเป็น ผง และเก็บผงสมุนไพรในตู้เย็นเก็บตัวอย่าง อุณหภูมิ 4 ± 3 องศาเซลเซียส

การสกัดผักแพว

นำผงหยาบของผักแพวจำนวน 25 กรัม มา สกัดด้วย 80% เอทานอล ปริมาตร 125 มิลลิลิตร (อัตราส่วน 1:5) เขย่าสารที่อุณหภูมิห้อง เป็น ระยะเวลา 8 ชั่วโมง โดยทำการสกัด 2 ครั้ง การสกัด ครั้งที่ 2 ใช้อัตราส่วน สมุนไพร:สารละลาย (1:3) จากนั้นกรองด้วยตัวกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร จากนั้นทำให้สารเข้มข้นขึ้นด้วยเครื่องกลั่นระเหย สารแบบหมุน (rotary evaporator) และทำให้สาร ตัวอย่างแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze Dry) จากนั้น บดเป็นผง และผ่านตะแกรงเบอร์ 100 ให้รหัสสาร สกัดผักแพวเป็น POE สารสกัดเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 ถึง -40 องศาเซลเซียส

การตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

ควบคุมคุณภาพทางเคมีโดย ตรวจ วิเคราะห์หาปริมาณความชื้น อ้างอิงตามวิธี: TP Vol.2 Part 3, 2003¹⁶ วิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ รวม ใช้วิธี aluminum chloride colorimetry¹⁷ และ ตรวจวิเคราะห์ปริมาณ Quercitrin¹⁸

เซลล์เพาะเลี้ยง

เซลล์ลิมโฟบลาสต์ของมนุษย์ (TK-6) สั่งซื้อจาก ATCC (หมายเลขแค็ตตาล็อก ATCC CRL-8015) เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ RPMI 1640 ที่

เติมด้วย Fetal Bovine Serum, FBS 10% และ 1% (v/v) penicillin/streptomycin เซลล์ถูกเลี้ยงในตู้บ่มที่มีความชื้นและควบคุมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่อุณหภูมิ 37 ± 2 องศาเซลเซียสในสภาวะความชื้นและมีคาร์บอนไดออกไซด์ 5% เซลล์ TK-6 มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์ลิมโฟบลาสต์และมีจำนวนโครโมโซม (modal chromosome number) เท่ากับ 47 การทดสอบการปนเปื้อนไม่พบเชื้อไมโคพลาสมา (mycoplasma) ระยะเวลาเฉลี่ยที่เซลล์ TK-6 ใช้ในการเพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (average population doubling time) คือ 13 ± 1.47 ชั่วโมง

ขั้นตอนการทดสอบความเป็นพิษทางพันธุกรรมของสารสกัดผักแพว ด้วยวิธี *in vitro* alkaline comet (ประยุกต์และดัดแปลงวิธี จาก OECD test guideline No. 489¹⁹)

การทดสอบความเป็นพิษทางพันธุกรรมโดยศึกษาผลกระทบของการแตกหักของ DNA ที่อาจเกิดขึ้นได้โดยวิธี alkaline comet ในเซลล์ลิมโฟบลาสต์ของมนุษย์ (TK-6) มีขั้นตอนการดำเนินการทดสอบ ดังนี้

1. ขั้นตอนการเตรียม base สไลด์

โดยละลาย 1% normal melting point agarose (NMPA) ใน 1X PBS จากนั้นนำสไลด์จุ่มลงใน 1% NMPA แล้วหงายขึ้นเพื่อให้ผิวเจลเรียบสม่ำเสมอ แล้วเช็ดเจลที่เคลือบอีกด้านของสไลด์ออก วางสไลด์ไว้ข้ามคืน เตรียมสไลด์ 3 แผ่นต่อความเข้มข้น

2. ขั้นตอนการเตรียมเซลล์ TK-6

นำเซลล์ TK-6 มาเพาะเลี้ยงใน 6 well plate ที่ความหนาแน่น 1.2×10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 ± 2 องศาเซลเซียส 5% CO₂ เป็น

ระยะเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเซลล์ถูกบ่มกับสารสกัดผักแพวซึ่งทำละลายด้วย DMSO และเมื่อทำการเจือจางแล้วความเข้มข้นของ DMSO ต้องไม่เกิน 1% โดยความเข้มข้นของสารสกัดผักแพวได้แก่ 1,250, 625, 312.5, 156.25 และ 78.13 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร Ethyl methane sulfonate ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ถูกใช้เป็นกลุ่มควบคุมบวก และ 1% DMSO ถูกใช้เป็นตัวควบคุมลบ เป็นระยะเวลา 4 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาเก็บเกี่ยวเซลล์แล้วนำไปแขวนลอยใน 1X PBS สารแขวนลอยเซลล์ปริมาตร 40 ไมโครลิตร ผสมกับ 0.7% low melting temperature agarose (LMA) ปริมาตร 360 ไมโครลิตร ปิเปตส่วนผสมปริมาตร 85 ไมโครลิตร หยดลงบน base slide ที่เตรียมไว้แล้วปิดด้วย cover slip นำแผ่นสไลด์เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 ± 3 องศาเซลเซียส (ที่มีด) เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำ cover slip ออก แล้วเติม 0.7% LMA ปริมาตร 85 ไมโครลิตร แล้วปิดด้วย cover slip อีกครั้ง เก็บสไลด์ที่อุณหภูมิ 4 ± 3 องศาเซลเซียส นานประมาณ 10 นาที แล้วเอา cover slip ออก

3. ขั้นตอนการไลซิส (cell lysis solution)

นำสไลด์ลงไปแช่สารละลาย lysing solution pH 10 ที่เตรียมไว้ เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 ± 3 องศาเซลเซียส (ที่มีด) เป็นเวลา 60 นาที เมื่อครบเวลาที่กำหนดให้ล้างด้วยน้ำ DI ปราศจากเชื้อแช่เย็น

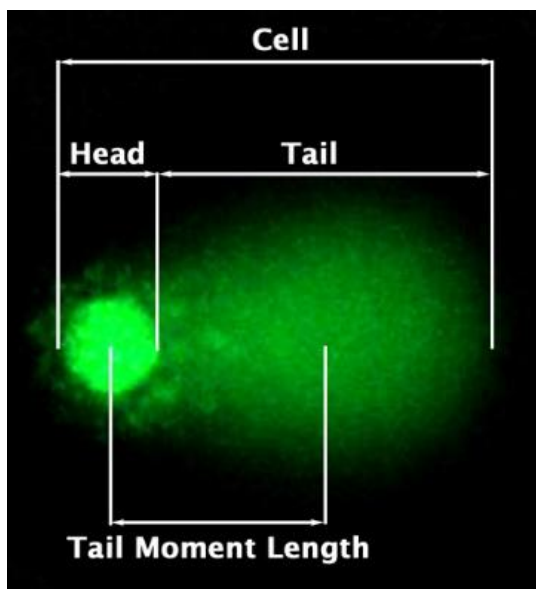
4. ขั้นตอนการอิเล็กโตรโฟรีซิส (Electrophoresis)

นำสไลด์แช่ใน alkaline electrophoresis buffer (AES), pH >13 เป็นระยะเวลา 20 นาที ค่อยๆ ย้ายสไลด์วางเรียงบนเครื่องรันเจลแบบสไลด์ เติมสาร AES, pH >13 (working solution) ลง

เครื่องรันเจลแบบสไลด์ (30 นาที, 0.52 โวลต์/เซนติเมตร) เมื่อครบเวลานำสไลด์ออกมาล้างด้วย neutral electrophoresis solution (NES) เป็นเวลา 5 นาที และล้างสไลด์ด้วย 95% เอทานอล ผ่านสไลด์เป็นเวลา 5 นาที

5. ขั้นตอนการย้อมสี (Staining)

หลังจาก lysis ฮิสโตนและนิวคลีโอโซมถูกกำจัดออก เหลือไว้เพียง DNA ที่เป็น supercoil ความเสียหายของ DNA ส่งผลให้เกิดชิ้นส่วน DNA ที่แตกหักและ loops ซึ่งจะคลายตัวและเคลื่อนที่ในเจลอะกาโรส เกิดเป็นรูปร่างคล้ายดาวหาง (comet-like figure) รูปที่ 1 ซึ่งสามารถมองเห็นได้หลังจากการย้อมด้วยสีย้อมเรืองแสง ซึ่งจะย้อมสีด้วย SYBR Green I ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงบนสไลด์ และปิดด้วย cover slip



รูปที่ 1. เส้นระยะวัดความยาวของเซลล์ซึ่งแสดงระดับความเสียหายของ DNA ที่มีลักษณะคล้ายดาวหาง²⁰

เป็นระยะเวลา 15 นาที จากนั้นเอา cover slip ออก แล้วล้างด้วยน้ำ DI ตากสไลด์ให้แห้ง

6. ขั้นตอนการวิเคราะห์ผล

สไลด์ถูกวิเคราะห์ด้วยชุดวิเคราะห์ความผิดปกติของเซลล์แบบอัตโนมัติด้วยความละเอียดสูง (MetaSystems) วัดเซลล์ทั้งหมด 300 เซลล์ (DNA comets) (100 เซลล์ต่อสไลด์) หาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean±SD) ของ % DNA in tail, head length, tail length, tail moment และ olive moment จากนั้นวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างกลุ่ม ข้อมูลถูกวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 19 โดยใช้วิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวน one-way ANOVA แล้วเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้ Turkey ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ($p < 0.05$)

ผลการวิจัย

การสกัดสารและการตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีของสารสกัดผักแพว

สารสกัดผักแพวด้วย 80% เอทานอล มีลักษณะผงหยาบสีน้ำตาล (yield = 14.259%) การตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี ผลการทดลองพบว่า ผักแพวมีปริมาณความชื้นเฉลี่ยเท่ากับ 6.51% w/w มีปริมาณ ฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ 208.54 มิลลิกรัมต่อกรัม และมีปริมาณ quercitrin เท่ากับ 0.87 %w/w

การทดสอบความเป็นพิษทางพันธุกรรมของสารสกัดผักแพว ด้วยวิธี *in vitro* alkaline comet

ค่าเฉลี่ยของความยาวส่วนหัว (Head length) ที่บ่มด้วยตัวทำละลาย 1% DMSO (กลุ่ม

ควบคุมลบ) มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $29.56 \pm 0.59 \mu\text{m}$ บ่มด้วยสาร EMS (กลุ่มควบคุมบวก) ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $27.13 \pm 0.98 \mu\text{m}$ ซึ่งต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) สารสกัดผักแพวที่ความเข้มข้น 78.13, 156.25, 312.5, 625 และ 1,250 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีค่าเฉลี่ยส่วนใหญ่ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมลบ ยกเว้นที่ความเข้มข้น 625 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ($28.85 \pm 0.48 \mu\text{m}$) และ 78.13 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ($28.95 \pm 0.56 \mu\text{m}$) ที่มีค่าต่ำกว่าเล็กน้อย (ตารางที่ 1, รูปที่ 2A และรูปที่ 3)

ค่าเฉลี่ยความยาวส่วนหาง (Tail length) ที่บ่มด้วยตัวทำละลายกลุ่มควบคุมลบ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $18.74 \pm 1.37 \mu\text{m}$ บ่มด้วยสาร EMS (กลุ่มควบคุมบวก) ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร แสดงค่าเฉลี่ยที่สูงมากเท่ากับ $48.04 \pm 1.25 \mu\text{m}$ ซึ่งบ่งชี้ถึงการแตกหักของ DNA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมลบ สารสกัดผักแพวแสดงแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของความยาวหางตามความเข้มข้นที่สูงขึ้น โดยที่ความเข้มข้น 1,250 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ($24.20 \pm 4.05 \mu\text{m}$) และ 625 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ($28.31 \pm 3.38 \mu\text{m}$) มีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ที่ความเข้มข้น 312.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ($22.37 \pm 1.88 \mu\text{m}$) ก็มีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมเล็กน้อย ส่วนความเข้มข้นต่ำ (156.25 และ 78.13 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ไม่แสดงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมลบ (ตารางที่ 1, รูปที่ 2B และรูปที่ 3)

ระยะทางระหว่างจุดศูนย์กลางของหัวกับจุดศูนย์กลางของหาง (Tail moment) กลุ่มควบคุมลบมีค่าเฉลี่ย $3.64 \pm 0.68 \mu\text{m}$ กลุ่มควบคุมบวก

(EMS) มีค่าสูงมากที่สุด $30.53 \pm 1.69 \mu\text{m}$ สารสกัดผักแพวที่ความเข้มข้น 1,250 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ($9.79 \pm 0.81 \mu\text{m}$) และ 625 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ($8.10 \pm 1.93 \mu\text{m}$) แสดงค่า Tail Moment สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ที่ความเข้มข้น 312.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ($4.93 \pm 0.49 \mu\text{m}$) ก็เริ่มแสดงค่าที่สูงขึ้นเล็กน้อยแต่ยังคงใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุมลบ ความเข้มข้นต่ำสุดสองระดับไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมลบ (ตารางที่ 1, รูปที่ 2C และรูปที่ 3)

ผลคูณระหว่างเปอร์เซ็นต์ DNA ในส่วนหางกับระยะทางระหว่างจุดกึ่งกลางมวลของส่วนหัวและจุดกึ่งกลางมวลของส่วนหาง (Olive moment) กลุ่มควบคุมลบมีค่าเฉลี่ย $3.10 \pm 0.36 \mu\text{m}$ กลุ่มควบคุมบวก (EMS) มีค่าสูงมากที่สุด $17.41 \pm 0.70 \mu\text{m}$ สารสกัดผักแพวแสดงการเพิ่มขึ้นของ Olive Moment อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมลบ ที่ความเข้มข้น 1,250 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ($7.45 \pm 0.39 \mu\text{m}$), 625 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ($5.53 \pm 1.14 \mu\text{m}$) และ 312.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ($4.33 \pm 0.33 \mu\text{m}$) ความเข้มข้นต่ำสุดสองระดับไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมลบ (ตารางที่ 1, รูปที่ 2D และรูปที่ 3)

เปอร์เซ็นต์ DNA ในส่วนหาง (% DNA in tail) กลุ่มควบคุมลบมีค่าเฉลี่ย $15.02 \pm 1.97\%$ กลุ่มควบคุมบวก (EMS) มีค่าสูงมากที่สุด $62.27 \pm 2.38\%$ สารสกัดผักแพวที่ความเข้มข้น 1,250 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ($34.13 \pm 1.87\%$), 625 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ($23.00 \pm 3.43\%$) และ 312.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ($19.11 \pm 0.84\%$) แสดงค่า % DNA in tail สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และมีลักษณะสัมพันธ์กับความเข้มข้น

แบบแปรผันตรง ส่วนความเข้มข้นต่ำสุดสองระดับ (156.25 และ 78.13 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ไม่แสดงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมลบ (ตารางที่ 1, รูปที่ 2E และรูปที่ 3)

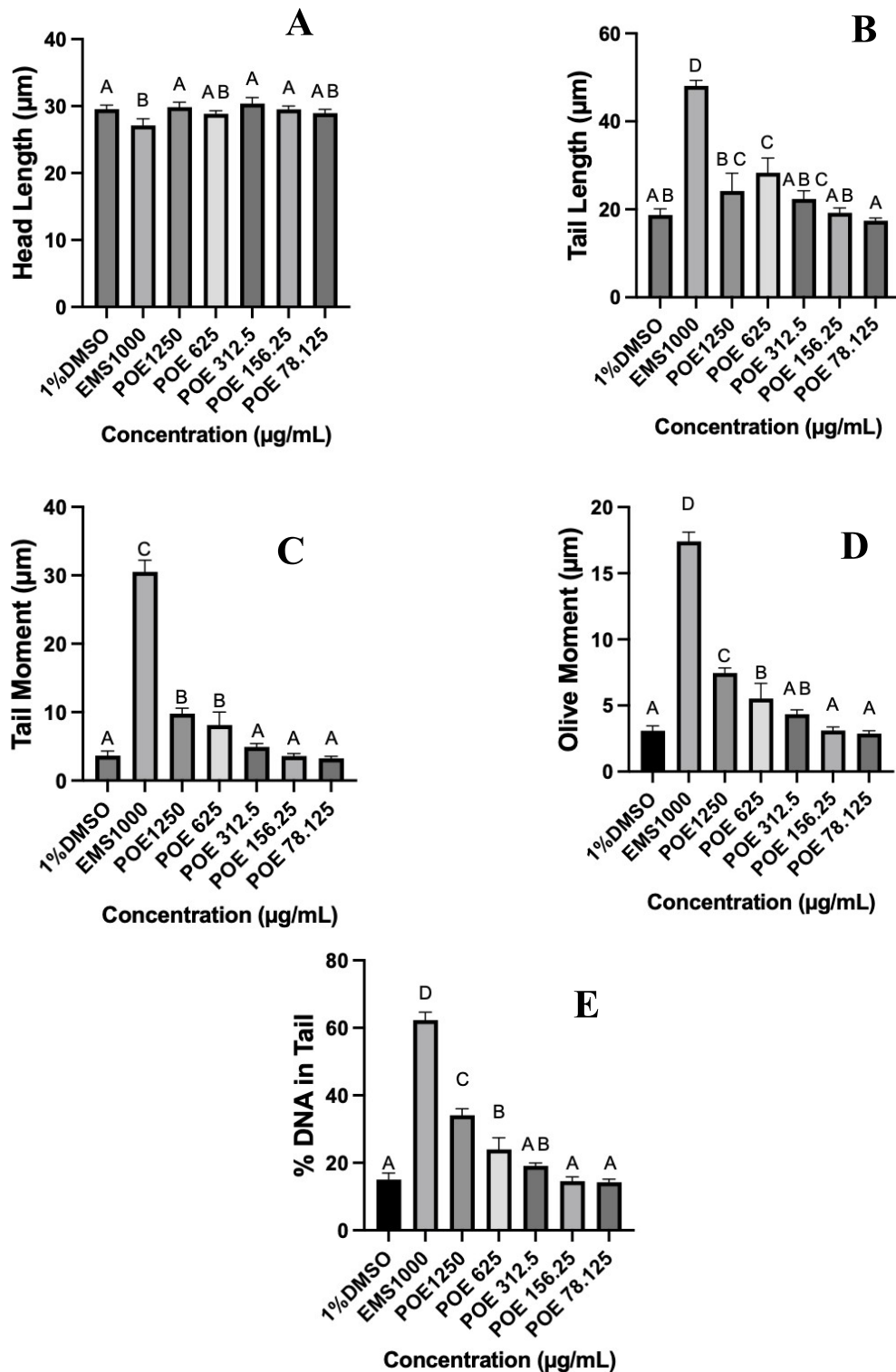
โดยสรุปจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ comet ที่ปรากฏในรูปที่ 3C ถึงรูปที่ 3G สารสกัดผักแพว (POE) ที่ความเข้มข้นสูง (โดยเฉพาะตั้งแต่ 312.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตรขึ้นไป และชัดเจนที่ 625 และ 1,250 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) มีแนวโน้มที่จะก่อให้เกิดความเป็นพิษทางพันธุกรรมโดยทำให้เกิด

การแตกหักของสาย DNA ในเซลล์ TK-6 ผลกระทบนี้น่าจะมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของสารสกัด (dose-dependent effect) ซึ่งแสดงลักษณะ comet ที่มีส่วนหางยาวขึ้นและมีความเข้มของ DNA ในส่วนหางเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัดเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมลบซึ่งเซลล์ส่วนใหญ่มีลักษณะหัวกลม (ส่วนของ DNA หลัก) และมีส่วนหาง (ส่วนของ DNA ที่เสียหายและเคลื่อนที่ออกไป) น้อยมากหรือแทบไม่มี ลักษณะนี้บ่งชี้ว่าเซลล์ในกลุ่มควบคุมลบมีการแตกหักของ DNA ในระดับต่ำมาก

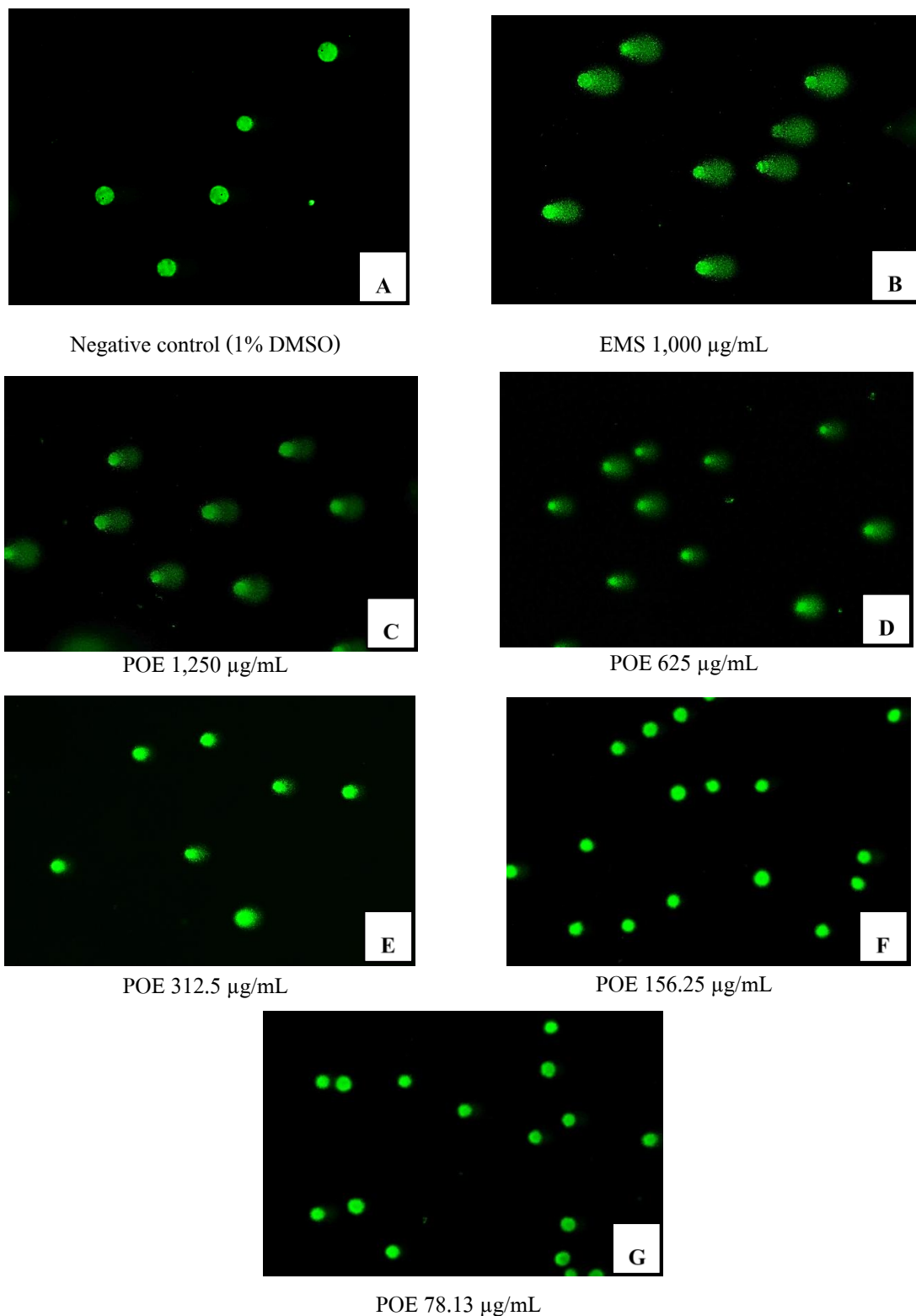
ตารางที่ 1. ระดับความเสียหายของดีเอ็นเอ (ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน) ที่ตรวจพบตาม parameters ต่างๆ

Concentration (µg/mL)	Data parameters (Mean±SD.)				
	Head Length (µm)	Tail Length (µm)	Tail Moment (µm)	Olive Moment (µm)	%DNA in Tail
Negative control (1% DMSO)	29.56±0.59 ^A	18.74±1.37 ^{AB}	3.64±0.68 ^A	3.10±0.36 ^A	15.02±1.97 ^A
Positive control (EMS 1,000 µg/mL)	27.13±0.98 ^B	48.04±1.25 ^D	30.53±1.69 ^C	17.41±0.70 ^D	62.27±2.38 ^D
POE 1,250	29.87±0.73 ^A	24.20±4.05 ^{BC}	9.79±0.81 ^B	7.45±0.39 ^C	34.13±1.87 ^C
POE 625	28.85±0.48 ^{AB}	28.31±3.38 ^C	8.10±1.93 ^B	5.53±1.14 ^B	23.00±3.43 ^B
POE 312.5	30.39±0.88 ^A	22.37±1.88 ^{ABC}	4.93±0.49 ^A	4.33±0.33 ^{AB}	19.11±0.84 ^{AB}
POE 156.25	29.52±0.50 ^A	19.25±1.06 ^{AB}	3.58±0.37 ^A	3.11±0.26 ^A	14.56±1.28 ^A
POE 78.13	28.95±0.56 ^{AB}	17.44±0.60 ^A	3.24±0.31 ^A	2.88±0.21 ^A	14.24±0.95 ^A

หมายเหตุ: ตัวอักษร A, B, C, D เป็นสัญลักษณ์ที่ใช้แทนการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติระหว่างกลุ่มทดลอง ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกัน หมายความว่า ค่าเฉลี่ยมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $p < 0.05$ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมลบ



รูปที่ 2. กราฟระดับความเสียหายของดีเอ็นเอ (ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน) ที่ตรวจพบตามพารามิเตอร์ Head Length (2A) Tail Length (2B) Tail Moment (2C) Olive Moment (2D) และ %DNA in Tail (2E) ตัวอักษร A, B, C, D เป็นสัญลักษณ์ที่ใช้แทนการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติระหว่างกลุ่มทดลอง ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกัน หมายความว่า ค่าเฉลี่ยมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $p < 0.05$ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม



รูปที่ 3. ความเสียหายของดีเอ็นเอในเซลล์ลิมโฟบลาสต์ของมนุษย์ (TK-6) ที่ได้รับสารสกัดผักแพวความเข้มข้นต่างๆ (C-G), กลุ่มควบคุมลบ (1% DMSO) (A) และกลุ่มควบคุมบวก (EMS 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) (B) ทำการย้อมด้วยสี SYBR Green I ส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ Nikon Ti2-E กำลังขยาย 20 เท่า

วิจารณ์ผลการวิจัย

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความเป็นพิษทางพันธุกรรมของสารสกัด 80% เอทานอลของผักแพว (*P. odorata* Lour.) โดยใช้วิธี *in vitro* alkaline comet assay ในเซลล์ลิมโฟบลาสต์ของมนุษย์ (TK-6) ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัดผักแพวที่ความเข้มข้นสูง (312.5, 625 และ 1,250 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) สามารถชักนำให้เกิดการแตกหักของสาย DNA ในเซลล์ TK-6 ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมลบ (1% DMSO) โดยสังเกตได้จากค่า % DNA in tail, tail length, tail moment และ olive tail moment ที่เพิ่มสูงขึ้น ผลกระทบนี้มีลักษณะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารสกัดที่ใช้ในการทดสอบ ในขณะที่ความเข้มข้นต่ำ (78.13 และ 156.25 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ไม่พบการก่อให้เกิดความเสียหายต่อ DNA กลุ่มควบคุมบวก (EMS 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) แสดงฤทธิ์ความเป็นพิษต่อพันธุกรรมอย่างชัดเจน ยืนยันความไวของระบบทดสอบ ผลการศึกษาด้วยวิธี *in vitro* alkaline comet assay นี้บ่งชี้ว่าสารสกัดผักแพวอาจมีองค์ประกอบบางชนิดที่สามารถทำให้เกิดการแตกหักของ DNA ได้โดยตรงหรือโดยอ้อมในสภาวะที่ความเข้มข้นสูง

จากการทบทวนวรรณกรรม ไม่พบข้อมูลการศึกษาความเป็นพิษทางพันธุกรรมในระดับ DNA ของสารสกัดผักแพว เป็นไปได้ว่าผักแพวเป็นพืชที่มีองค์ประกอบทางพฤกษเคมีที่หลากหลาย พบว่ามีปริมาณสารประกอบกลุ่มฟีนอลและฟลาโวนอยด์สูง ในส่วนของน้ำมันหอมระเหย (essential oil) พบสารประกอบ

กลุ่มอัลดีไฮด์ (aldehydes) เช่น decanal และ dodecanal เป็นองค์ประกอบหลัก โดยทั่วไปแล้ว สารกลุ่มอัลดีไฮด์สามารถก่อให้เกิดความเป็นพิษทางพันธุกรรมได้ที่มีความเข้มข้นสูง โดยการทำปฏิกิริยาแบบไม่ย้อนกลับกับโมเลกุลขนาดใหญ่ที่สำคัญในเซลล์ เช่น กรดนิวคลีอิก มีข้อสังเกตว่าแนวโน้มการทำปฏิกิริยาจะลดลงเมื่อความยาวสายคาร์บอนของอัลดีไฮด์เพิ่มขึ้น โดยในการศึกษาหนึ่งพบว่า decanal ไม่ได้ทำให้เกิดการดัดแปลง aa-tRNAs อย่างมีนัยสำคัญ²¹ การที่ dodecanal เป็นองค์ประกอบหลักในน้ำมันหอมระเหยของผักแพว และสารกลุ่มอัลดีไฮด์ โดยทั่วไปเป็นที่ทราบกันว่าสามารถทำปฏิกิริยากับ DNA และอาจเป็นพิษต่อสารพันธุกรรมที่ความเข้มข้นสูง ทำให้สารประกอบกลุ่มนี้เป็นเป้าหมายหลักที่อาจมีส่วนทำให้เกิดความเป็นพิษทางพันธุกรรมของสารสกัด ข้อมูลจากเอกสารการขึ้นทะเบียนของ European Chemicals Agency (ECHA) พบว่า decanal (CAS 112-31-2) ระบุว่า decanal เป็นพิษต่อเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA1537 และ TA1538 ที่ความเข้มข้น ≥ 0.01 ไมโครลิตร/จานเพาะเชื้อ และต่อสายพันธุ์ TA98 ที่ความเข้มข้น ≥ 1.0 ไมโครลิตร/จานเพาะเชื้อ ในการทดสอบซ้ำในช่วงความเข้มข้น 0.0001 ถึง 0.01 ไมโครลิตร/จานเพาะเชื้อ พบว่าเป็นพิษต่อทุกสายพันธุ์ยกเว้น TA98 และ TA100 ที่ความเข้มข้น 0.01 ไมโครลิตร²²

จากรายงานวิจัยการประเมินการก่อกลายพันธุ์ระดับยีน ทดสอบด้วยวิธีแอมส์ (Ames test) พบว่าในระบบที่ไม่มีเอนไซม์ S9 สารสกัดผักแพวก่อให้เกิดโคโลนีกลายพันธุ์เพิ่มขึ้นมากกว่า 2 เท่าในเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 และ

TA1537 ที่ความเข้มข้น 5,000 ไมโครกรัม/เพลท และในระบบที่มีเอนไซม์ S9 ก็พบผลบวกในสายพันธุ์ TA98 (ที่ 1,500 และ 5,000 ไมโครกรัม/เพลท) และ TA1537 (ที่ 5,000 ไมโครกรัม/เพลท) ผลบวกจากทั้ง Ames test (การกลายพันธุ์ระดับยีน) และ comet assay (การแตกหักของ DNA) จึงให้เห็นถึงศักยภาพความเป็นพิษทางพันธุกรรมของสารสกัดผักแพวในระดับความเข้มข้นที่ค่อนข้างสูง การแตกหักของ DNA ที่ตรวจพบใน comet assay อาจเป็นหนึ่งในกลไกที่นำไปสู่การกลายพันธุ์ของยีนที่ตรวจพบใน Ames test²³

สารประกอบทางพฤกษเคมีที่พบในผักแพว เช่น อัลดีไฮด์ (decanal, dodecanal) และ เทอร์พีน (caryophyllene, eremophilene, alpha-curcumene) รวมถึงฟลาโวนอยด์รวมและเคออสิทรีน (quercitrin) ที่ตรวจพบในการควบคุมคุณภาพสารสกัดในการศึกษานี้ อาจมีส่วนเกี่ยวข้องกับผลกระทบที่สังเกตได้ สารประกอบบางชนิดในกลุ่มเหล่านี้ แม้ว่าจะมีประโยชน์ทางชีวภาพอื่นๆ เช่นฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระหรือด้านการอักเสบ แต่ในความเข้มข้นที่สูงหรือภายใต้สภาวะบางอย่าง อาจแสดงความเป็นพิษได้ ตัวอย่างเช่น อัลดีไฮด์บางชนิดเป็นที่ทราบกันว่ามีปฏิกิริยากับ DNA และโปรตีนได้ แม้ว่าการศึกษานี้จะแสดงผลกระทบทางพันธุกรรมในสภาวะที่ความเข้มข้นสูง แต่ควรพิจารณาด้วยความระมัดระวังในการอนุมานถึงความเสี่ยงต่อมนุษย์จากการบริโภคผักแพวในรูปแบบปกติ เนื่องจากความ

เข้มข้นที่ใช้ในการทดลอง *in vitro* อาจสูงกว่าความเข้มข้นที่พบในร่างกายหลังจากการบริโภคตามปกติอย่างมาก จากข้อมูลการศึกษาทางคลินิกในมนุษย์ภายหลังจากบริโภคเคออสิทรีนขนาด 100 มิลลิกรัม พบว่า ระดับความเข้มข้นสูงสุดในพลาสมา (C_{max}) ของเมแทบอลิต์คอนจูเกตทั้งหมดในพลาสมาอยู่ที่ $1.16 \mu M^{24}$ เมื่อพิจารณาถึงความเข้มข้นที่ใช้ในการทดสอบให้เป็นหน่วยโมลาร์ (258 – 4136 μM) เพื่อเปรียบเทียบกับข้อมูลทางเภสัชจลนศาสตร์ โดยใช้มวลโมเลกุลของเคออสิทรีนประมาณ 302.24 กรัม/โมล พบว่าสูงกว่าระดับความเข้มข้นสูงสุดของเมแทบอลิต์ทั้งหมดในพลาสมาที่วัดได้หลังการบริโภคเคออสิทรีน 100 มิลลิกรัม มากกว่า 200-4000 เท่า

นอกจากนี้ การตอบสนองของเซลล์ในงานเพาะเลี้ยงอาจแตกต่างจากในสิ่งมีชีวิตจริงซึ่งมีระบบเมแทบอลิซึมและการซ่อมแซม DNA ที่ซับซ้อนกว่า ดังที่ระบุในบทคัดย่อว่าการเกิดการก่อกลายพันธุ์นี้อาจทำให้เกิดความผิดปกติของยีนและสารก่อกลายพันธุ์ส่วนมากมีคุณสมบัติเป็นสารก่อมะเร็งด้วย ดังนั้นสารสกัดจึงควรมีการทดสอบยืนยันด้านความปลอดภัยในสัตว์ทดลองหรือกลไกเชิงลึกเพิ่มเติมรวมถึงสารสกัดผักแพว ยังไม่มีความชัดเจนว่าสารออกฤทธิ์ใดที่เป็นตัวก่อพิษโดยตรง อาจมีการพิสูจน์เชิงกลไกเพิ่มเติม เช่น การแยกส่วนเพื่อค้นหาสารออกฤทธิ์หรือสารที่ทำให้เกิดพิษต่อไป

สรุป

ภายใต้สภาวะการทดลองในหลอดทดลอง ด้วยวิธี alkaline comet assay สารสกัด 80% เอทานอลจากผักแพว (*P. odorata* Lour.) แสดงให้เห็นศักยภาพในการก่อให้เกิดการแตกหักของสาย DNA ในเซลล์ลิมโฟบลาสต์ของมนุษย์ (TK-6) ที่ความเข้มข้นสูง (312.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ขึ้นไป) โดยมีลักษณะขึ้นกับความเข้มข้น ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับผลบวกที่ได้จากการทดสอบ Ames test ที่รายงานในวิจารณ์ผลการวิจัย ซึ่งบ่งชี้ถึงความเป็นพิษทางพันธุกรรมของสารสกัดผักแพวในระดับความเข้มข้นที่สูง อย่างไรก็ตาม จำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมในสัตว์ทดลอง (*in vivo*) และการศึกษาเกี่ยวกับกลไกการออกฤทธิ์เชิงลึก เพื่อประเมินความเสี่ยงที่แท้จริงต่อมนุษย์จากการบริโภคผักแพวหรือผลิตภัณฑ์จากผักแพว โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีที่มีการใช้ในปริมาณมาก หรือใช้เป็นระยะเวลาสั้น เพื่อสร้างความมั่นใจในความปลอดภัยและสนับสนุนการใช้ประโยชน์จากผักแพวอย่างยั่งยืน

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนเงินงบประมาณจากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ขอขอบพระคุณ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการพิพิธภัณฑพืชในการเก็บวัตถุดิบสมุนไพร คุณเดชมนตรี วชิสุนทร ในการหาปริมาณ quercitrin ของสมุนไพรผักแพว และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการพิษวิทยาทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือในการทำงานวิจัยเป็นอย่างดี

ผลประโยชน์ทับซ้อน

คณะผู้วิจัยขอยืนยันว่าไม่มีผลประโยชน์ทับซ้อนใดๆ

เอกสารอ้างอิง

1. The Second National Herbal Development Plan, 2023-2027, Division of herb for economy, Department of Thai Traditional and Alternative Medicine, Available at <https://nph.dtam.moph.go.th/publications/2561/>, accessed on June 15, 2024.
2. Inta A, Panyadee P, Suksathan R, et al. Culinary and medicinal wonders of the wild: An ethnobotanical review of native herbs and spices in Thailand. *Heliyon* 2025; 6;11(4):e42470.
3. *Persicaria odorata* - Plant Finder - Missouri Botanical Garden. Available at <https://www.missouribotanicalgarden.org/PlantFinder/PlantFinderDetails.aspx?taxonid=293779>, accessed on May 26, 2025.
4. *Persicaria odorata* Vietnamese coriander, Asian mint PFAF Plant Database. Available at <https://pfaf.org/user/Plant.aspx?LatinName=Persicaria%20odorata>, accessed on May 10, 2025.
5. ผักแพว หรือ ผักไผ่ ชื่อวิทยาศาสตร์. JWF company Limited. Available at http://jwf-com.com/blog_details.php?id=6, accessed on May 1, 2025.
6. Botanical characteristics of *Persicaria odorata* (Lour.), Herbarium Laboratory, Medicinal Plant Research Institute, 2023.
7. *Persicaria odorata* (Lour.) Sojak. National Parks Board (NParks). Available at <https://www.nparks.gov.sg/florafaunaweb/flora/3/2/3207>, accessed on May 25, 2025.

8. Smitinand, T. Thai Plant Names (Botanical and Common Names, Royal Forest Department, 1980. p.379.
9. Persicaria. Eflora.info. Available at <https://eflora-neocities.org/Persicaria>, accessed on May 27, 2025.
10. Abdul Basit M, Abdul Kadir A, Loh TC, et al. Effects of inclusion of different doses of *Persicaria odorata* leaf meal (POLM) in broiler chicken feed on biochemical and haematological blood indicators and liver histomorphological changes. *Animals (Basel)* 2020; 10(7): 1209.
11. สถานีสุขภาพ. ผักแพว ประโยชน์ผักพื้นบ้านกลิ่นหอมฉุน วิตามินสูง มีสารต้านอนุมูลอิสระ. Available at https://www.pptvhd36.com/health/food/5969#google_vignette, accessed on May 23, 2025.
12. A nutritional guide to Thai cuisine, Division of Nutrition, Department of Health, Ministry of Public Health. Available at <https://nutrition2.anamai.moph.go.th>, accessed on May 12, 2025.
13. Aziz SA, Lestari DA, Al Ashani FA, et al. The growth and yield of Vietnamese coriander (*Persicaria odorata*) with NPK and goat manure. *BIO Web Conf* 2025; 171: 02003.
14. Plant Profile: *Vietnamese Coriander (Persicaria odorata)* - Savour Soil Permaculture. Available at <https://www.missouribotanicalgarden.org/PlantFinder/PlantFinderDetails.aspx?taxonid=293779>, accessed on May 27, 2025.
15. Honghirun A, Thongdon AR, Aeksiri N, et al. Effect of Vietnamese coriander powder on growth, body composition, hematology, and immune-related gene expression in Nile Tilapia. *Vet Med Int* 2025; 26: 1253764.
16. Thai Pharmacopoeia. Ministry of Public Health; Department of Medical Sciences. Nonthaburi. 2003; 2: part 3.
17. Ondua M, Njoya EM, Abdalla MA, et al. Anti-inflammatory and antioxidant properties of leaf extracts of eleven South African medicinal plants used traditionally to treat inflammation. *J. Ethnopharmacol* 234: 27-35.
18. Pawlowska KA, Strawa J, Tomczyk M, et al. Changes in the phenolic contents and composition of *Persicaria odorata* fresh. *J Food Compos Anal* 2020; 91: 1-9.
19. OECD. Test No. 489: *In Vivo* Mammalian Alkaline Comet Assay. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4. Paris: OECD Publishing; 2016.
20. Comet Assay Kits, 96-Well. Cell Biolabs, Inc, Available at <https://www.cellbiolabs.com/comet-assay-kits-96-well>, accessed on July 10, 2025.
21. Kumar P, Roy A, Mukul SJ, et al. A translation proofreader of archaeal origin imparts multi-aldehyde stress tolerance to land plants 2023;12(12): 1-45.
22. Registration Dossier. ECHA. Available at <https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/13619/7/7/2/?documentUUID=adfffa1a-6c73-4905-8a99-425388aeaa92>, accessed on May 27, 2025.
23. Suppajariyawat P, Aunkat S, Sudhong W, et al. Evaluation of the mutagenic activity of *Persicaria odorata* (Lour.) extract using the Ames test. *TJST* 2025; 33(3): 52-9.
24. Terao J, Murota K, Kawai Y. Conjugated quercetin glucuronides as bioactive metabolites and precursors of aglycone *in vivo*. *Food Funct* 2011; 2(1): 11-7.