

## ความปลอดภัยของหญ้าหวาน

พิมลรัตน์ เกตุสวัสดิ์สมคร

เล็ก รุ่งเรืองยิ่งยศ

หญ้าหวานเป็นพืชที่นำเข้ามาปลูกในประเทศไทย 10 กว่าปีมาแล้ว เนื่องจากหวานกว่าน้ำตาลถึง 300 เท่า โดยชาวญี่ปุ่นเข้ามาส่งเสริมเพื่อจะส่งออกไปยังประเทศญี่ปุ่น เพื่อใช้ปรุงอาหารแทนน้ำตาล โดยเฉพาะปรุงซึ้อวรสต่าง ๆ แต่เมื่อนำไปใช้พบว่ามีรสที่ไม่พึงประสงค์ ตกค้าง หลังจากรับประทานแล้วจึงไม่สามารถทำตลาดได้ ประเทศญี่ปุ่นจึงไม่ซื้อหญ้าหวานที่ส่งเสริมให้ปลูกทางเหนือของประเทศ ทำให้เกษตรกรเสียหายเป็นจำนวนมาก รัฐบาลได้เข้าไปช่วยเหลือ โดยเจรจาระดับรัฐบาลแต่ไม่ได้ผลต่อมามีรายงานในต่างประเทศถึงฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์อย่างแรงของ steviol ซึ่งจะเป็นสารที่เกิดขึ้นหลังจากรับประทานหญ้าหวานเข้าไป โดย stevioside ซึ่งเป็นสารหวานจะถูกน้ำย่อยเปลี่ยนให้เกิดเป็น steviol และน้ำตาล ในต่างประเทศจึงยกเลิกงานวิจัยและพัฒนาหญ้าหวาน ทางสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาจึงไม่อนุญาตให้ใช้ปรุงอาหารหรือยา และรัฐบาลได้ส่งเสริมให้มีการวิจัยเรื่องความปลอดภัยเพิ่มเติมขณะนี้ได้มีการอนุญาตให้ใช้ได้แล้ว โดยให้ใช้เฉพาะผู้ใหญ่และอาหารสำหรับผู้ควบคุมน้ำหนัก ทางสำนักงานจึงได้สืบค้นและวิเคราะห์ข้อมูลความปลอดภัยดังนี้

### ☞ ความเป็นพิษ

มีการทดลองผสมหญ้าหวานทั้งต้นในอาหารที่ให้กับหนูขาว ในขนาด 10% ของอาหาร พบว่าไม่มีพิษ (1) แต่การทดลองป้อนสารสกัดจากใบ (ไม่ทราบชนิดและขนาดของสารสกัด) กับหนูขาว พบว่ามีพิษ (2) ส่วนการทดลองป้อนน้ำตาลจากใบแก่กับผู้ใหญ่ 18 คน อายุ 20-40 ปี ทั้ง 2 เพศ เป็นเวลา 30 วัน (ไม่ทราบขนาดของสารสกัด) พบว่าไม่มีพิษ (3) มีการทดสอบพิษเฉียบพลัน (acute toxicity) ของ stevioside และ steviol ใน หนูขาว หนูถีบจักร และหนู hamster โดยทำการเปรียบเทียบการเกิดพิษจากสารดังกล่าว ในสัตว์ทดลองทั้ง 2 เพศ ทำการทดลองโดยฉีดสารสำคัญทางกระเพาะอาหารแก่สัตว์ทดลองแล้วดูอาการและอาการแสดงของสัตว์ทดลองพบว่า มีสัตว์ทดลองตายใน 14 วัน หลังจากทำการทดลองฉีด stevioside ใน ขนาดเท่ากับ LD<sub>50</sub> โดยพบว่า stevioside ขนาดสูงถึง 15 ก./กก. ก็ไม่มีผลทำให้สัตว์ทดลองทั้ง 3 ชนิดตาย แต่พบว่าหนู hamster เกิดพิษจาก steviol ได้ง่ายกว่าหนูขาวและหนูถีบจักร ค่า LD<sub>50</sub> ของ steviol ในหนู hamster เท่ากับ 5.20 และ 6.10 ก./กก. ตามลำดับ ในเพศผู้และเพศเมีย ส่วนในหนูขาวและหนูถีบจักรมีค่า LD<sub>50</sub> สูงกว่า 15 ก./กก. ในหนูทั้ง 2 เพศและเมื่อตรวจสอบระดับเซลล์พบว่า steviol ทำให้เกิด severe degeneration ของ proximal tubular cells ในไตของหนู hamster โดยการเปลี่ยนแปลงนี้

เกี่ยวข้องกับการเพิ่มขึ้นของ BUN (serum blood urea nitrogen) และ creatinine ดังนั้นสาเหตุที่ทำให้สัตว์ทดลองตายของ steviol อาจเกิด จากการเกิดไตวายเฉียบพลัน (4) และเมื่อศึกษาพิษในหนู hamster ท้องที่ได้รับ steviol ในขนาด 0, 0.25, 0.50, 0.75 และ 1.0 ก./กก. โดยการสอดท่อในวันที่ 6-10 ของการตั้งท้อง steviol ขนาด 0.75 และ 1.0 ก./กก. มีพิษต่อทั้งแม่และตัวอ่อน โดยมีผลลดน้ำหนักของแม่อย่างมีนัยสำคัญในระหว่างการทดลองและทำให้เปอร์เซ็นต์การตายของแม่สูงขึ้น ซึ่งแสดงว่า steviol ทั้ง 2 ขนาด ก่อให้เกิดพิษ จำนวนของตัวอ่อนที่รอดชีวิตและน้ำหนักของตัวอ่อนลดลงในกลุ่มที่ได้รับ steviol ขนาด 0.75 และ 1.0 ก./กก. ในสัตว์ทดลองที่ได้รับ steviol 0.5 ก./กก. มีอาการพิษน้อยกว่า ขนาดที่สูงกว่า และพบตัวอ่อนเกิด craniomeningocele 1 ตัว ในตัวที่แม่ได้รับ steviol 0.75 ก./กก./วัน ไม่ก่อให้เกิดพิษต่อแม่และตัวอ่อนโดย steviol ขนาด 0.25 ก./กก./วัน เทียบได้กับ stevioside 625 มก./กก./วัน ซึ่งสูงกว่าขนาดที่รับประทานประจำวัน ในคนประมาณ 80 เท่า (5)

### ☞ ความเป็นพิษต่อเซลล์

การทดสอบสารสกัดเมทานอลจากใบ ความเข้มข้น 50 มก./มล. กับเซลล์มะเร็งชนิด CA-9KB พบว่าสารสกัดนี้มีฤทธิ์อ่อน (6) มีการทดสอบพิษต่อโครโมโซมของ steviol โดยทดสอบกับ bone marrow micronucleus test ในหนู hamster หนูขาวและหนูถีบจักรทั้ง 2 เพศ ซึ่งการทดสอบแบบ micronucleus เป็นการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของโครโมโซมแบบ in vivo การให้ steviol ขนาด 4 ก./กก. แก่หนู hamster และ 8 ก./กก. แก่หนูขาวและหนูถีบจักร ไม่มีผลต่อความถี่ของการเกิด micronucleus ในเม็ดเลือดแดงของไขกระดูกของสัตว์ทดลองดังกล่าวทั้ง 2 เพศ นอกจากนี้ยังไม่พบการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนของ PCEs:NCEs (polychromatic erythrocytes: normochromatic erythrocytes) ของสัตว์ทดลองเพศผู้ทั้ง 3 species ทุกๆ ช่วงเวลา ของการทดสอบ แต่อย่างไรก็ดี steviol ในขนาดที่ให้สามารถก่อให้เกิดการลดลงของ PCEs:NCEs ในหนู hamster เพศเมียได้ หลังจากได้รับ steviol แล้ว 72 ชั่วโมงและผลนี้เกิดกับหนูขาวและ หนูถีบจักรเพศเมียที่ 48 และ 72 ชั่วโมงหลังจากได้รับ steviol ทางปาก จากผลการทดลองนี้ เชื่อว่า steviol ขนาดที่ใช้ในการทดลอง ทำให้เกิด metabolites ที่เป็นพิษต่อไขกระดูกและเป็นพิษต่อเซลล์เล็กน้อย แต่ไม่มี clastogenic effect ต่อเม็ดเลือดแดงของไขกระดูก (7)

### ☞ ฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์

มีการทดสอบสารสกัดเอทานอล (95%) จากใบ ความเข้มข้น 2 มก./วัน กับ *Bacillus subtilis* H-17 (Rec<sup>+</sup>) และ M-45 (Rec<sup>-</sup>), *Salmonella typhimurium* G-46 และ TA strains, *Escherichia coli* WP-2 พบว่าสารสกัดดังกล่าวไม่มีฤทธิ์ (8) และการทดลองให้สารสกัดจากใบแห้ง (ไม่ทราบชนิดขนาดสารสกัดและชนิดของสัตว์ทดลอง) พบว่าไม่มีฤทธิ์ (9) มีการทดสอบ stevioside จากหญ้าหวานกับ *Drosophila melanogaster* ซึ่งเป็นแมลงชนิดหนึ่ง โดยใช้สายพันธุ์ muller-5

และศึกษาผลการกระตุ้นให้เกิดการติดยา terramycin ใน *Staphylococcus aureus* จากผลการทดลองสรุปว่า stevioside เป็นสารที่ปลอดภัย (10) มีการทดสอบ stevioside กับ *S.typhimurium* TM677 พบว่าสารดังกล่าวไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ทั้งในภาวะที่มีหรือไม่มี metabolic activating system แต่เมื่อนำทำการทดสอบ steviol ซึ่งเป็น aglycone ของ stevioside กลับให้ผลเป็น mutagenic ที่แรง ดังนั้น metabolite ของ stevioside มีฤทธิ์เหนี่ยวนำการก่อกลายพันธุ์ (11) มีการทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของ stevioside ซึ่งเป็นสารสำคัญในหญ้าหวานและ steviol ซึ่งเป็น aglycone ของ stevioside โดยทำการทดสอบแบบ Ames test โดยใช้ *S. typhimurium* TA98 และ TA100 และทำ forward mutation test โดยใช้ *S. typhimurium* TM677 จากผลการศึกษาพบว่า stevioside ความเข้มข้น 20 มก./จานเพาะเชื้อ ไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ต่อทั้ง TA98 และ TA100 ไม่ว่าจะ มีหรือไม่มี liver S9 fractions ของหนูขาว หนูถีบจักร หนู hamster หนูตะเภาและกระต่าย นอกจากนี้ stevioside ขนาดเท่าเดิมนี้อาจไม่มีฤทธิ์เหนี่ยวนำการก่อกลายพันธุ์ ใน forward mutation ของ *S. typhimurium* TM677 อย่างไรก็ตามพบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของ steviol ขนาด 0.1-5 มก./มล. เฉพาะใน forward mutation test ของ *S. typhimurium* TM677 เมื่อมี liver S9 fractions อยู่ด้วยเท่านั้น แต่ไม่พบการก่อกลายพันธุ์ใน Ames test จากการทดลองข้างต้นสรุปได้ว่า steviol ถูกย่อยสลายไปเป็นสารที่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ซึ่งให้ผลเฉพาะใน forward mutation test (12,13) มีการวิเคราะห์ข้อมูลพิษจาก stevioside และสารสกัดจากใบหญ้าหวานสรุปว่า ไม่มีหลักฐานบ่งชี้ความเป็นพิษต่อตับและ intracellular glutathione หรือ malondialdehyde ของทั้ง stevioside และสารสกัดจากใบหญ้าหวาน รวมทั้งยังไม่พบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ใน Ames test ด้วย *S.typhimurium* และการทดสอบ Zimmerman test ด้วย *Saccharomyces cerevisiae* ก็ไม่พบพิษใดๆ รวมทั้งพิษต่อยีสต์ด้วย รายงานฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์และผลทำให้เป็นหมันของหญ้าหวาน อาจเกี่ยวข้องกับ aglycone steviol ก็ได้ (14) มีการทดสอบ stevioside และ steviol กับ *S. typhimurium* TA98 และ TA100 รวมทั้งทำการทดสอบผลของสารสำคัญดังกล่าวต่อโครโมโซมของ human lymphocytes จากผลการศึกษาพบว่า stevioside ไม่มีฤทธิ์เหนี่ยวนำการก่อกลายพันธุ์ ถึงแม้จะใช้ความเข้มข้นถึง 25 มก./จานเพาะเชื้อแล้วก็ตาม แม้เมื่อทดลองใช้ความเข้มข้น 50 มก./จานเพาะเชื้อ พบว่ามีฤทธิ์เหนี่ยวนำการก่อกลายพันธุ์ใน TA100 อย่างไรก็ตาม steviol ไม่มีฤทธิ์เหนี่ยวนำการก่อกลายพันธุ์ ไม่ว่าจะ มีหรือไม่มี metabolic activation และยังพบว่า stevioside และ steviol ไม่มีผลต่อโครโมโซมของ lymphocytes ของอาสาสมัครสุขภาพดี 5 คน จากการศึกษาชี้ว่าทั้ง stevioside และ steviol ไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์และไม่ก่อให้เกิดพิษต่อ โครโมโซมด้วย เมื่อทำการทดลองแบบ in vitro ความเข้มข้นจำกัด อย่างไรก็ตามการศึกษาแบบ in vivo ของพิษต่อยีสต์และพิษจากการใช้ stevioside และ steviol เป็นเวลานาน ยังไม่ได้มีการศึกษา (15) การทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของ stevioside และ steviol โดยใช้แบคทีเรียมาทำการทดสอบ reverse mutation assay, forward

mutation assay, Umu test และ Rec assay ใช้ cultured mammalian cells จากปอดหนู hamster มาทดสอบ chromosomal aberration test และ gene mutation assay นอกจากนี้ยังใช้หนูถีบจักรมาทดสอบ micronucleus test พบว่า stevioside ไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ในการทดสอบใดๆ อย่างไรก็ตามในบางการทดสอบพบว่า steviol ให้ผลบวกแบบ dose dependent ในบางการทดสอบ เช่น forward mutation assay ที่ใช้ *S. typhimurium* TM677 นอกจากนี้ steviol ยังให้ผลบวกเล็กน้อยกับ Umu test ที่ใช้ *S. typhimurium* TA1535/pSK1002 ทั้งในภาวะที่มี หรือไม่มี metabolic activation system ส่วนในการทดสอบอื่นให้ผลลบแม้ว่าจะมี S9 activation system ดังนั้นความเป็นพิษของ steviol ต่อยีนของมนุษย์จะต้องมีการศึกษาต่อไป (16) มีการทดสอบ stevioside และ steviol แบบ in vitro ด้วย Ames test โดยใช้ *S. typhimurium* TA98 และ TA100 ทั้งในภาวะที่มีหรือไม่มี metabolic activating system จาก liver S9 fractions ที่ได้จากสัตว์ทดลองต่างๆ คือ หนูตะเภา หนูขาว หนูถีบจักรและหนู hamster โดยใช้ stevioside และ steviol ความเข้มข้นถึง 50 มก. และ 2 มก./จานเพาะเชื้อตามลำดับ ก็ไม่พบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ ทั้งในภาวะที่มีหรือไม่มี metabolic activating system อย่างไรก็ตามที่ความเข้มข้นสูงๆ ทั้ง stevioside และ steviol มีพิษต่อแบคทีเรีย ดังกล่าวทั้ง 2 สายพันธุ์ แต่พิษจะลดลงถ้ามี metabolic activating system (17)

### ☞ ก่อมะเร็ง

มีการศึกษาถึงฤทธิ์ก่อมะเร็งของ steviol ในหนู hamster ทั้ง 2 เพศ เพศละ 55 ตัว ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย steviol ขนาด 0, 100 และ 500 มก./กก. ของอาหารเป็นเวลา 22 เดือนในเพศผู้ และ 18 เดือนในเพศเมีย ทำการศึกษาในระดับเซลล์และระดับชีวเคมี ในสัตว์ทดลองที่ 6, 12 และ 22 เดือนของเพศผู้และที่ 18 เดือนของเพศเมีย พบว่า การเจริญเติบโต การใช้และบริโภคอาหาร ลักษณะต่างๆ ไป และการตายไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ค่าเฉลี่ยของอายุขัยของหนู hamster ที่ได้รับ steviol ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม และไม่พบการเกิด neoplastic และ non-neoplastic ในกลุ่มที่ได้รับ steviol ขนาดสูงสุดของ steviol ที่ใช้ผสมอาหารที่ให้แก่หนู hamster แล้วไม่ก่อให้เกิดผลใดๆ ในการทดลองนี้คือ 500 มก./กก. ของอาหาร (18)

### ☞ ความเป็นพิษต่อไต

มีการศึกษาผลของ stevioside ต่อค่าทางเคมีของเลือดและปริมาตรของปัสสาวะในหนูขาวและหนู hamster จากผลการทดสอบพบว่า ที่ชั่วโมงที่ 6 หลังจากให้ stevioside แก่สัตว์ทดลองพบว่า stevioside (4.1 ก./กก.) มีผลเพิ่ม BUN, uric acid, PGPT, PGOT และ hematocrit และมีผลลดการขับปัสสาวะในหนู hamster อย่างชัดเจน นอกจากนี้ยังพบการเปลี่ยนแปลงระดับเซลล์โดยเฉพาะในไต พบการเกิด necrosis ของ epithelial cells และ dilatation ของ

convoluted tubules เป็นผลให้เกิดโปรตีนรั่วในปัสสาวะ (protein cast) และจากการศึกษาพบพิษจาก stevioside ในหนู hamster มากกว่า (19, 20) และมีการทดสอบ stevioside จากใบหญ้าหวานซึ่งมีฤทธิ์ขยายหลอดเลือดและผลของ stevioside ต่อการทำงานของไตในหนูขาวที่มีความดันเลือดที่ไตปกติและสูงโดยใช้ clearance technique พบว่า stevioside กระตุ้นให้เกิดความดันเลือดต่ำ เพิ่มการขับปัสสาวะและการขับโซเดียม ในหนูทดลองทั้ง 2 กลุ่ม หนูขาวที่มีความดันปกติมี RPF สูงขึ้นในขณะที่ GFR คงที่ หลังจากให้ stevioside แก่สัตว์ทดลองซึ่งผลนี้อาจเกี่ยวข้องกับการขยายหลอดเลือดทั้ง afferent และ efferent arteriols นอกจากนี้การฉีด stevioside ในหนูขาวที่มีความดันโลหิตสูงทำให้ RPF และ GFR สูงขึ้น (21) การศึกษาการขับออกของ stevioside ทางไตและผลของ stevioside ต่อการขับออกของสารอื่นโดยทำการวัดผลการทดลองจาก clearance technique ในหนู wistar โดยใช้ stevioside ความเข้มข้นต่างๆ กัน 4 ความเข้มข้นคือ 4, 8, 12 และ 16 มก./กก.ทางหลอดเลือดดำ ในระหว่างการทดลองพบความเปลี่ยนแปลงของ inulin clearance ( $C_{IN}$ ) เล็กน้อย นอกจากนี้การให้ stevioside infusion เหนียวน้ำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของ *p*-aminohippuric acid clearance ( $C_{PHA}$ ), สัดส่วนการขับออกของโซเดียม, urinary flow ซึ่งขึ้นกับ glomerular filtration rate และ glucose clearance ( $C_G$ ) แต่ผลเหล่านี้จะหายไปเมื่อใช้ในขนาด 4 มก./กก. stevioside clearance มีค่าสูงกว่า  $C_{IN}$  แต่ต่ำกว่า  $C_{PHA}$  ในทุกๆ ขนาดของการทดลอง จากผลการทดลองนี้สรุปได้ว่า steviosides ถูกขับออกด้วย renal tubular epithelium และกระตุ้นให้เกิดการเพิ่มการขับปัสสาวะและโซเดียม และมีผลลดการดูดกลับของ glucose ที่ renal tubular ด้วย (22) จากการศึกษาผลของ stevioside และ steviol กับการเกิดพิษต่อไต โดยทำให้เกิดการสะสมของ *p*-aminohippurate (PAH) ใน renal cortical tissue ของหนูขาว ทำการทดลองโดยฉีด stevioside ขนาด 1.5 ก./กก. เข้าใต้ผิวหนังให้กับหนูขาว พบว่าเมื่อเวลาผ่านไป 9 ชั่วโมงหลังจากฉีดสารดังกล่าวให้แก่สัตว์ทดลอง ความสามารถในการสะสม PAH ของ renal cortex ลดลง 63.4% ซึ่งการทดลองนี้เป็นการทดลองแบบ in vitro แต่ stevioside ไม่มีผลต่อ lipid peroxidation ใน plasma และ renal cortical slices นอกจากนี้เมื่อใส่ stevioside (6.25-100  $\mu$ M) หรือ steviol (1.56-100  $\mu$ M) ลงใน incubation medium มีผลยับยั้งการสะสม PAH ใน renal cortical slices ในหนูขาวได้ หลังจากทำการ incubate เป็นเวลา 30 นาที จากการศึกษาพบว่าผลการยับยั้งนี้เป็นแบบ dose dependent และผลการยับยั้งสูงสุดอยู่ที่ 25  $\mu$ M และยังพบอีกว่า steviol มีฤทธิ์ยับยั้ง PAH uptake แรงกว่า stevioside นอกจากนี้ stevioside และ steviol ความเข้มข้น 100  $\mu$ M ไม่มีผลต่อ lipid peroxidation ใน renal cortical slices ของหนูขาวที่ incubate เป็นเวลานาน 30 นาที (in vitro) จากผลการศึกษาครั้งนี้ชี้ว่า พิษต่อไตของ stevioside และ steviol ในหนูขาวไม่ได้เกี่ยวข้องกับ lipid peroxidation (23) การศึกษาผลของ stevioside ในหนูขาวต่อระดับ urinary enzyme และการเปลี่ยนแปลงของ BUN, ระดับของ plasma creatinine

และการเปลี่ยนแปลงของไต จากการทดลองพบว่า หลังจากฉีด stevioside ขนาด 1.5 ก./กก. เข้าใต้ผิวหนังให้กับหนูขาวแล้ว พบว่าระดับของ BUN เพิ่มขึ้นในชั่วโมงที่ 3 โดย BUN และ creatinine เพิ่มขึ้นสูงสุด 180% และ 132% ตามลำดับที่ชั่วโมงที่ 9 หลังจากฉีด stevioside นอกจากนี้ stevioside มีผลเพิ่ม glucouria, alkaline phosphatase (AP) และ  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase ( $\gamma$ -GTP) แต่ไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ proteinuria, N-acetyl- $\beta$ -D-glucuronidase (NAG) หรือ glutathione-S-transferase (GSH-S-TF) มากนัก นอกจากนี้ยังพบการเปลี่ยนแปลงระดับเซลล์ของไต ซึ่งเกิดการ degerate ของ proximal convoluted tubular cells และยังพบอีกว่า stevioside เหนียวนำไปเกิดพิษต่อไตที่ proximal convoluted tubules มากกว่าที่ glomeruli และที่ tubule อื่นๆ โดยเชื่อว่ากลไกเกิดจากความผิดปกติของการควบคุม cell volume ซึ่งอาจเกี่ยวข้องกับ การลดลงของ intracellular ATP, การขัดขวาง microvilli รวมทั้งการเกิด nuclear dysfunction (24) การทดลองความเป็นพิษต่อไตของ stevioside ในหนู hamster โดยการให้ stevioside ในขนาด 1.025, 2.05 และ 4.1 ก./กก. ทางกระเพาะอาหารที่เวลา 3, 6 และ 12 ชั่วโมงตามลำดับ พบว่า stevioside ขนาด 2.05 และ 4.1 ก./กก. มีผลเพิ่ม blood urea nitrogen ส่วนค่า serum creatinine และ serum uric acid เพิ่มขึ้นตลอดการทดลอง นอกจากนี้ stevioside ขนาด 1.025 ก./กก. ให้ผลเช่นเดียวกันที่เวลาหลังจาก 12 ชั่วโมงและ stevioside ขนาด 2.05 และ 4.1 ก./กก. มีผลลดการทำงานของระบบประสาทตลอดการทดสอบ แต่ผลนี้ไม่พบในการใช้ stevioside 1.025 ก./กก. ส่วนการศึกษาทาง morphology พบว่า หลังจาก 6 และ 12 ชั่วโมง stevioside ขนาด 1.025 และ 2.05 ก./กก. ไม่มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่ไต แต่ stevioside ขนาด 4.1 ก./กก. มีผลทำลาย morphology ของไตที่เวลา 6 และ 12 ชั่วโมง หลังจากให้ stevioside โดยพบการเปลี่ยนแปลงของไตมากที่สุดที่ proximal tubules ซึ่งการเปลี่ยนแปลงเหล่านี้ ได้แก่ การเกิดช่องว่างภายใน tubular cells, mitochondria swelling และการหายไปของ brush border นอกจากนี้ยังพบเซลล์ตายและการเกิด tubular necrosis จากผลการ ศึกษาสรุปได้ว่า stevioside มีผลต่อไตของหนู hamster ทั้งทางด้าน function และ morphology โดยพิษของ stevioside เป็นแบบ dose dependent แต่ไม่ขึ้นกับเวลา (25, 20) การศึกษาผลของการให้น้ำสกัดหญ้าหวาน แก่หนูขาว wistar เป็นเวลา 20, 40 และ 60 วัน ต่อการทำงานของไตและค่าเฉลี่ยของ arterial pressure พบว่าหนูขาวที่ได้รับสารสกัดดังกล่าวเป็นเวลา 20 วัน ไม่มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมแต่ การให้สารสกัดดังกล่าวเป็นเวลานาน 40 และ 60 วัน สามารถเหนียวนำไปเกิดความดันโลหิตต่ำ เพิ่มการขับปัสสาวะและการขับโซเดียม ในขณะที่ GFR คงที่ นอกจากนี้ในกลุ่มที่ได้รับสารสกัด ดังกล่าวเป็นเวลา 60 วัน มี RPF เพิ่มขึ้น จากผลการทดลองชี้ว่า การป้อนน้ำสกัดจากใบหญ้าหวาน แห่งนี้เหนียวนำไปเกิดการขยายหลอดเลือดต่างๆ รวมทั้งที่ไตด้วย ซึ่งทำให้ความดันโลหิตต่ำ เพิ่ม การขับปัสสาวะและโซเดียมตามมา (26) จากการทดสอบสารสกัดหญ้าหวานในหนู wistar เพศผู้ เพื่อดูการทำงานของไต ทำการทดลองทั้งในหนูที่มีความดันเลือดปกติและถูกเหนียวนำไปเกิด

ความดันสูงในระหว่างทำการทดลอง และวัดผลโดย clearance technique สัตว์ทดลองมีน้ำหนัก 300-330 กรัม (10ตัว/กลุ่ม) ทำการทดลองโดยป้อนสารสกัดจากหญ้าหวานขนาด 2.67 กรัมของ น้ำหนักโบแห้ง/วัน เป็นเวลา 30 วัน พบว่าสารสกัดดังกล่าวมีฤทธิ์ลดความดันของหลอดเลือดแดง ทั้งในหนูปกติและหนูที่มีความดันเลือดสูง ในขณะที่ glomerular filtration rate (GFR) คงที่ในหนูปกติ และ GFR สูงขึ้นในหนูที่มีความดันเลือดสูง พบการเพิ่มขึ้นของ renal plasma flow (RPF) ในหนู ทั้งในกลุ่มปกติและหนูที่มีความดันเลือดสูง นอกจากนี้สารสกัดดังกล่าวมีฤทธิ์เพิ่มการขับปัสสาวะ และเพิ่มการขับโซเดียมทางปัสสาวะในหนูทั้ง 2 กลุ่ม จากผลการทดลองแสดงว่า สารสกัดจาก หญ้าหวานในขนาดที่สูงกว่าขนาดที่ใช้เป็นสารเพิ่มความหวาน มีฤทธิ์ขยายหลอดเลือดทั้งในหนู ปกติและหนูที่มีความดันเลือดสูง (27) การศึกษาผลของ steviol ต่อการทำงานของไตในหนูขาว พบว่าไม่มีผลเปลี่ยนแปลงค่า mean arterial pressure, GFR, renal effective blood plasma flow แต่ไปเพิ่มสัดส่วนการขับโซเดียมและโพแทสเซียม และ urinary flow ซึ่งแสดงในรูป GFR ดังนั้นการศึกษานี้สรุปได้ว่า steviol มีผลต่อการ transport ของเกลือและน้ำใน renal tube (28) การศึกษาผลของสารสกัดจากหญ้าหวานต่อการขับน้ำ โซเดียม โพแทสเซียม ในหนูขาว wistar เพศผู้ (250-300 กรัม) ภายใต้สภาวะยับยั้งปัสสาวะ (antidiuresis) และให้น้ำเพื่อให้ปัสสาวะ (water diuresis) เมื่อให้สารสกัดจากหญ้าหวานทางหลอดเลือดดำในอัตรา 0.05 มก./นาที่/100 กรัม ไม่พบ การเปลี่ยนแปลงของ mean arterial pressure หรือ renal hemodynamics parameters ในทาง ตรงกันข้าม ส่วนของการขับน้ำและโซเดียมรวมทั้งสารละลายอื่นๆ เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในสัตว์ ทดลองทั้ง 2 กลุ่ม ในกลุ่มที่อยู่ในสภาวะยับยั้งปัสสาวะ (antidiuresis) พบว่าสารสกัดหญ้าหวาน ไปเพิ่มการดูดกลับของน้ำที่ collecting duct และในกลุ่มที่อยู่ในสภาวะให้น้ำเพื่อให้ปัสสาวะ (water diuresis) สารสกัดหญ้าหวานมีผลเพิ่มการขับน้ำ จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าสารสกัดจาก หญ้าหวานมีกลไกการออกฤทธิ์ที่ proximal tubule cells โดยเกี่ยวข้องกับกลไกการขนย้ายของ เกลือ (salt transport) (29) การศึกษาผลโดยตรงของ stevioside ต่อ transepithelial transport ของ *p*-aminohippurate (PAH) ทำการศึกษาแบบ in vitro microperfusion ใน proximal renal tubule ของกระต่าย โดยใช้ stevioside ความเข้มข้น 0.45 mM ทั้งใน tubular lumen และ bathing medium หรือทั้ง 2 พบว่า stevioside ความเข้มข้นดังกล่าว ไม่มีผลต่อ transepithelial transport ของ PAH และ เมื่อให้ stevioside ความเข้มข้น 0.70 mM เข้าไปใน lumen พบว่าไม่มีผล ต่อ PAH transport เช่นกัน แต่ถ้าเปลี่ยนเอา stevioside ความเข้มข้นนี้ผสมลงใน bathing medium พบว่ามีผลยับยั้ง PAH transport ประมาณ 25-35% แต่ผลนี้จะหมดลงเมื่อนำ stevioside ออกจาก bath และเมื่อทดลองให้ stevioside 0.70 mM ทั้งใน lumen และ bathing medium ในเวลาเดียวกัน ก็ไม่ก่อให้เกิดผลยับยั้ง PAH transport เพิ่มขึ้นและ stevioside ที่ความเข้มข้น 0.70 mM ไม่มีผลต่อ  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase activity และ ATP ในเซลล์แต่อย่างใด จากการศึกษาชี้ให้เห็นว่า stevioside ความเข้มข้น 0.70 mM มีผลยับยั้ง transepithelial transport ของ PAH โดยมีกลไก คือ ไปรบกวน

rate-limiting step จากการ ศึกษาพบว่า stevioside ไม่ได้ไปเปลี่ยนแปลง PAH transport แบบถาวร และไม่เป็นอันตรายต่อ renal tubular ถ้ารับประทานในขนาดปกติ (30) ทดสอบฤทธิ์ยับยั้ง transepithelial transport PAH ( $J_{PAH}$ ) ของ steviol โดยทำการศึกษาใน S2 segment ของ rabbit renal proximal tubules ที่แยกออกมา ซึ่งเป็นการทดสอบแบบ in vitro microperfusion พบว่า steviol ขนาด 0.01-0.25 mM ใน bathing medium ให้ผลลด  $J_{PAH}$  ประมาณ 50-90% โดยผลการยับยั้งเป็นแบบ dose dependent และความเข้มข้นสูงสุด ที่ทำให้เกิดผลการยับยั้งสูงสุดคือ 0.05 mM แล้วทำการทดสอบต่อโดยใช้ steviol ความเข้มข้น 0.01 mM ซึ่งให้ผลยับยั้ง  $J_{PAH}$  50% ใส่ลงใน bathing medium ผลปรากฏว่าให้ผลลด  $J_{PAH}$  ประมาณ 50-60% และเมื่อใส่ steviol ขนาด 0.01 mM นี้เข้าไปใน tubule lumen พบว่าไม่มีผลใดๆ ต่อ  $J_{PAH}$  แต่เมื่อใส่ steviol ความเข้มข้นเดิมลงในทั้ง lumen และ bathing medium bath พร้อมๆ กัน กลับให้ผลลด  $J_{PAH}$  เพียงเล็กน้อยเมื่อเทียบกับการใส่เฉพาะใน bath และเมื่อเปลี่ยนมาใช้ steviol ความเข้มข้นสูงขึ้นเป็น 0.05 mM (ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ให้ผลสูงสุดเมื่อให้ใน basolateral side) พบว่าจะต้องให้ steviol แก่ luminal side ด้วยความเข้มข้นที่สูงกว่าใน basolateral side จึงจะเห็นผลการยับยั้ง  $J_{PAH}$  การศึกษากลไกการยับยั้ง  $J_{PAH}$  ของสารในหญ้าหวานน่าจะเกี่ยวข้องกับ  $Na^+-K^+$  ATPase activity และ ATP content โดย steviol ความเข้มข้น 0.01 และ 0.05 mM ไม่มีผลต่อ  $Na^+-K^+$  ATPase activity และ ATP content การศึกษาคุณสมบัติทางจุลศาสตร์ พบว่า steviol สามารถยับยั้ง PAH transport ที่ basolateral membrane ซึ่งเป็นการชี้ว่า steviol มีผลยับยั้งโดยตรงที่ renal tubular transport โดยกลไกเกิดจากการแข่งขันการจับที่ organic anion transporter (31)

### ☞ พืชต่อระบบสืบพันธุ์

มีการทดลองป้อนน้ำต้มจากใบ (ไม่ทราบขนาด) ให้กับหนูขาวเพศเมียพบว่า ไม่มีฤทธิ์ลด fertility ในหนูขาวเพศเมีย (32) และเมื่อทำการทดลองให้สารสกัดเมทานอลจากใบแห้งทางกระเพาะอาหารหนูขาวเพศเมีย (ในขนาดต่างๆกัน) กลับพบว่าผลต่อ fertility ไม่แน่นอน (32) แต่เมื่อทดลองป้อนน้ำสกัดจากใบและลำต้น ขนาด 10 มล./ตัว แก่หนูขาวเพศเมีย พบว่าสารสกัดนี้มีผลต่อ fertility (33) ส่วนฤทธิ์คุมกำเนิดของน้ำต้มจากใบ เมื่อป้อนให้กับหนูขาวเพศเมีย (ไม่ทราบขนาดที่ให้) พบว่าไม่มีฤทธิ์ (2) จากการทดลองฉีดสารสกัดเอทานอล (95%) จากใบ (ไม่ทราบขนาดที่ใช้) ให้กับหนูขาวเพศเมีย พบว่าสารสกัดดังกล่าว ไม่มีฤทธิ์ด้านการฝังตัวของตัวอ่อน (34) มีการศึกษาผลของสารสำคัญในหญ้าหวานต่อค่าพารามิเตอร์ของต่อมไร้ท่อของหนูขาวเพศผู้ เมื่อให้สารสกัดเข้มข้นจากใบเป็นเวลานาน 60 วันและศึกษาระดับน้ำตาลในเลือด ระดับ T3 และ T4 ในเลือด, thyroid hormone binding proteins, binding ของ [ $^3H$ ]R 1881, ปริมาณ Zn ใน prostate, testis, submandibular salivary gland (SMG) และ pancreas, ปริมาณน้ำใน testis และ prostate, น้ำหนักตัวและน้ำหนักสุดท้ายของ testis, prostate, seminal



vesicle, SMG และ adrenal จากผลการศึกษาพบว่า สัตว์ทดลองกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากหญ้าหวาน ไม่มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม ยกเว้นน้ำหนักของ seminal vesicle ซึ่งลดลงประมาณ 60% ในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากหญ้าหวาน สรุปได้ว่า ถ้าสารสกัดจากหญ้าหวานมีผลลดความสามารถในการสืบพันธุ์ของหนูขาว ผลนี้ก็ไม่เกิดขึ้นมากนัก (35) มีการศึกษาผลของ stevioside ต่อการเจริญเติบโตและการสืบพันธุ์ในหนู hamster โดยทำการทดลองในหนู hamster 20 ตัว ซึ่งจะได้รับ stevioside ทุกวัน ในขนาดแตกต่างกันคือ 0, 0.5, 1.0 และ 2.5 ก./กก./วัน พบว่าไม่พบความผิดปกติใดๆ ของการเจริญเติบโตและการเจริญพันธุ์ในหนูทั้ง 2 เพศ การผสมพันธุ์, oestrus cycles ในหนูเพศเมีย, การตั้งท้องยังคงเป็นปกติ รวมทั้งระยะเวลาการตั้งครรภ์ จำนวนตัวอ่อน จำนวนลูกที่ออกมาแต่ละครั้ง ไม่มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม หลังคลอดตัวอ่อนยังได้รับ stevioside ต่ออีก พบว่าสัตว์ทดลองยังคงมีการเจริญเติบโตและการเจริญพันธุ์เป็นปกติ และเมื่อทำการตรวจสอบระดับเซลล์ของกล้ามเนื้อเยื่อในอวัยวะเจริญพันธุ์ พบว่าไม่มีความผิดปกติใดๆ จากผลการทดลองครั้งนี้สรุปได้ว่าแม้จะใช้ stevioside ขนาดสูงถึง 2.5 ก./กก./วัน ก็ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการสืบพันธุ์ของหนู hamster (36) จากการศึกษาพิษต่อระบบสืบพันธุ์ในหนูขาวเพศผู้ที่ได้รับน้ำสกัดจากหญ้าหวานเป็นเวลานาน 60 วัน พบว่าสัตว์ทดลองมีน้ำหนัก testis, seminal vesicle และ cauda epididymis ลดลง นอกจากนี้ความเข้มข้นของน้ำตาล fructose ใน sex glands และใน epididymal sperm ลดลง และยังพบว่า การใช้หญ้าหวานมีแนวโน้มลดปริมาณ plasma testosterone แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของระดับ luteinizing hormone จากผลการทดลองสรุปได้ว่าสารสกัดจากหญ้าหวานมีผลลด fertility ในหนูขาวเพศผู้ (37) การทดสอบพิษของน้ำสกัดใบหญ้าหวานในหนูทดลองโดยวิธี dominant lethal dose โดยทำการทดลอง เป็นเวลานาน 8 สัปดาห์ จากผลการทดลองพบว่า สารสกัดดังกล่าวไม่มีผลใดๆ ต่อน้ำหนักของ สัตว์ทดลองเพศผู้รวมทั้ง น้ำหนักของลูกอ๊อดขณะ จำนวน cauda epididymal sperm ก็ไม่มีการ เปลี่ยนแปลงใดๆ รูปร่างและการเคลื่อนที่ของ sperm ก็ไม่เปลี่ยนแปลง ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของ จำนวนแหล่งฝังตัวของตัวอ่อน จำนวนตัวอ่อนและจำนวนตัวอ่อนที่ตาย จากผลการทดลองสรุปได้ว่าสารสกัดจากหญ้าหวานไม่มีพิษต่อระบบสืบพันธุ์ และไม่พิษต่อตัวอ่อนที่เกิดจากสัตว์ทดลอง เพศผู้ที่ได้รับหญ้าหวานด้วย (38)

จากการศึกษาข้างต้นชี้ให้เห็นว่าหญ้าหวานไม่ได้ก่อภาวะเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งเนื่องจากฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ที่ทดลองในช่วงหลังไม่เหมือนการทดลองในช่วงปี 45 นอกจากนี้แล้วสารที่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ไม่จำเป็นต้องก่อมะเร็งขึ้นอยู่กับขนาดใช้ อย่างไรก็ตามมีรายงานพิษต่อไต จึงต้องระมัดระวังการใช้ในขนาดสูงและต่อเนื่องนานด้วย

เอกสารอ้างอิง ติดต่อได้ที่สำนักงานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล