



ใบรับรองการขออนุญาตใช้สัตว์ทดลอง
จากคณะกรรมการจริยธรรมการใช้สัตว์ทดลอง คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
หมายเลข 49/2559 วันที่ 16 ธันวาคม 2559 ถึง 16 ธันวาคม 2562


หนังสือขออนุญาตใช้สัตว์
คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

หมายเลขโครงการ	รศ / ๒๕๕๙
ชื่อโครงการวิจัย	การวิจัยและพัฒนา ค่ายชุมชนปัญญาท้องถิ่นจากพืชสมุนไพร
ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัย	สำนักงานการพิเศษพิเศษด้านจิตและความคิด
สังกัด	รองศาสตราจารย์สิริวรรณ สิริวรรณ ภาควิชาเคมีวิทยา คณะแพทยศาสตร์

คณะแพทยศาสตร์ โดยความเห็นชอบของคณะกรรมการจริยธรรมการใช้สัตว์
ใช้สำหรับโครงการวิจัย แล้ว เห็นว่าไม่ขัดต่อแนวพหุศาสตร์และประเทศในการปฏิบัติเกี่ยวกับ
คุณธรรมใช้สัตว์

จึงอนุญาตให้ดำเนินการภายในเขตของโครงการวิจัยที่เสนอมาได้ ทั้งนี้มีผลตั้งแต่วันที่ ๑๖ ธันวาคม ๒๕๕๙


นางสาวจรรยาพร อุดมสุข (หัวหน้าโครงการวิจัย) (นางสาวจรรยาพร อุดมสุข) (นางสาวจรรยาพร อุดมสุข)
ประธานคณะกรรมการ
รองศาสตราจารย์สิริวรรณ สิริวรรณ
วันที่ ๑๖.๑๒.๕๙


คณบดี

วันที่ ๑๖.๑๒.๕๙

Table 30 Hematological values of female Sprague Dawley rat in the Facility of National Laboratory Animal Centre, Mahidol University

Parameter	4 wks	6 wks	8 wks	10 wks	12 wks	Retired breeder
Red blood cell ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	5.2 - 6.4	6.0 - 7.1	7.1 - 7.7	7.2 - 8.3	7.8 - 8.7	7.4 - 8.7
Hemoglobin (g/dl)	11.4 - 13.9	13.0 - 14.7	14.7 - 15.6	14.7 - 16.2	15.2 - 16.9	15.1 - 16.8
Hematocrit (%)	33.8 - 41.2	37.7 - 41.2	42.0 - 44.2	39.8 - 45.2	41.0 - 46.2	41.2 - 45.4
Mean corpuscular volume (fl)	61.0 - 68.0	56.9 - 63.8	56.2 - 59.4	52.1 - 57.0	51.1 - 53.7	50.7 - 57.7
Mean corpuscular hemoglobin (pg)	20.8 - 23.4	20.2 - 22.5	19.8 - 21.2	19.2 - 20.9	18.4 - 19.9	18.5 - 20.5
Mean corpuscular hemoglobin concentration (g/dl)	33.0 - 35.5	33.8 - 37.1	34.8 - 36.1	35.3 - 37.7	35.7 - 37.7	35.5 - 38.6
Platelet ($\times 10^5/\mu\text{L}$)	7.51 - 11.79	7.03 - 13.85	7.39 - 12.14	8.06 - 13.91	6.39 - 13.46	7.10 - 11.50
White blood cell ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	1.6 - 6.0	4.3 - 9.9	5.2 - 12.5	5.4 - 11.6	4.6 - 10.9	2.9 - 8.3
Neutrophil (%)	5.0 - 22.0	3.0 - 16.0	3.0 - 15.0	5.0 - 26.0	8.0 - 25.0	14.0 - 31.0
Lymphocyte (%)	78.0 - 95.0	81.0 - 95.0	83.0 - 96.0	71.0 - 94.0	72.0 - 92.0	66.0 - 85.0
Monocyte (%)	0.0 - 2.0	0.0 - 3.0	0.0 - 2.0	0.0 - 4.0	0.0 - 4.0	0.0 - 3.0
Eosinophil (%)	0.0 - 1.0	0.0 - 2.0	0.0 - 1.0	0.0 - 2.0	0.0 - 2.0	0.0 - 1.0
Basophil (%)	0	0	0	0	0	0

Table 31 Hematological values of male Sprague Dawley rat in the Facility of National Laboratory Animal Centre, Mahidol University

Parameter	4 wks	6 wks	8 wks	10 wks	12 wks	Retired breeder
Red blood cell ($\times 10^6/\mu\text{l}$)	5.6 - 6.7	6.5 - 7.1	6.8 - 7.8	7.2 - 7.7	7.2 - 8.2	7.2 - 8.9
Hemoglobin (g/dl)	11.7 - 13.9	13.7 - 15.1	14.4 - 17.1	14.6 - 15.7	14.6 - 16.0	15.7 - 18.3
Hematocrit (%)	35.9 - 40.4	37.8 - 41.6	37.6 - 43.0	38.0 - 41.7	37.2 - 42.0	42.5 - 51.9
Mean corpuscular volume (fl)	59.7 - 66.7	56.9 - 59.8	53.8 - 57.8	51.7 - 55.0	50.6 - 53.3	55.6 - 61.5
Mean corpuscular hemoglobin (pg)	19.8 - 23.0	20.4 - 21.9	8.9 - 22.9	19.5 - 21.3	19.3 - 21.1	20.1 - 22.1
Mean corpuscular hemoglobin concentration (g/dl)	32.4 - 35.5	35.4 - 37.5	34.2 - 40.5	36.5 - 39.4	36.9 - 39.8	35.1 - 37.4
Platelet ($\times 10^5/\mu\text{l}$)	6.00 - 9.88	6.54 - 12.73	7.07 - 11.89	6.84 - 10.22	6.39 - 9.66	6.01 - 10.11
White blood cell ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	2.0 - 5.3	4.1 - 9.4	2.9 - 11.1	3.7 - 8.5	3.2 - 9.0	3.1 - 12.4
Neutrophil (%)	4.0 - 18.0	2.0 - 19.0	3.0 - 16.0	5.0 - 19.0	3.0 - 33.0	4.0 - 60.0
Lymphocyte (%)	82.0 - 96.0	79.0 - 98.0	82.0 - 96.0	79.0 - 94.0	66.0 - 97.0	38.0 - 90.0
Monocyte (%)	0.0 - 3.0	0.0 - 7.0	0.0 - 6.0	0.0 - 4.0	0.0 - 7.0	0.0 - 10.0
Eosinophil (%)	0.0 - 2.0	0.0 - 1.0	0.0 - 3.0	0.0 - 3.0	0.0 - 3.0	0.0 - 20
Basophil (%)	0	0	0	0	0	0

Table 32 Hematological references values of female Sprague Dawley rat

Reference	1		2					
Parameter	11 wks	18 wks	3-5 wks	7-11 wks	12 wks	16-24 wks	49-84 wks	91-105 wks
Red blood cell ($\times 10^6/\mu\text{l}$)	7.79 $\pm$ 0.33	8.09 $\pm$ 0.43	5.19 $\pm$ 0.61	7.05 $\pm$ 0.38	7.14 $\pm$ 0.63	7.60 $\pm$ 0.34	7.46 $\pm$ 0.43	7.27 $\pm$ 0.40
Hemoglobin (g/dl)	16.5 $\pm$ 0.5	15.7 $\pm$ 0.5	11.0 $\pm$ 0.8	14.8 $\pm$ 0.6	14.7 $\pm$ 0.7	15.2 $\pm$ 0.7	14.5 $\pm$ 0.7	14.5 $\pm$ 0.8
Hematocrit (%)	41.8 $\pm$ 0.16	41.2 $\pm$ 0.19	37.4 $\pm$ 2.0	45.6 $\pm$ 1.6	45.3 $\pm$ 2.0	46.0 $\pm$ 1.5	45.1 $\pm$ 1.8	44.7 $\pm$ 2.2
Mean corpuscular volume (fl)	54 $\pm$ 1.3	51 $\pm$ 1.2	72.5 $\pm$ 5.3	64.9 $\pm$ 3.5	63.8 $\pm$ 4.8	60.4 $\pm$ 2.3	60.4 $\pm$ 2.4	61.5 $\pm$ 2.4
Mean corpuscular hemoglobin (pg)	21.1 $\pm$ 0.8	19.4 $\pm$ 0.7	21.4 $\pm$ 1.7	21.0 $\pm$ 1.4	20.7 $\pm$ 1.7	19.9 $\pm$ 0.9	19.5 $\pm$ 0.9	20.0 $\pm$ 0.9
Mean corpuscular hemoglobin concentration (g/dl)	39.2 $\pm$ 1.3	38.2 $\pm$ 1.2	29.5 $\pm$ 1.3	32.3 $\pm$ 0.9	32.4 $\pm$ 1.0	33.0 $\pm$ 1.1	32.1 $\pm$ 0.9	32.5 $\pm$ 0.8
Platelet ($\times 10^5/\mu\text{l}$)	10.60 $\pm$ 1.60	8.97 $\pm$ 1.42	10.38 $\pm$ 2.54	11.35 $\pm$ 2.02	11.12 $\pm$ 1.35	11.39 $\pm$ 2.58	9.80 $\pm$ 1.87	11.20 $\pm$ 2.20
White blood cell ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	11.9 $\pm$ 4.6	11.4 $\pm$ 3.8	7.43 $\pm$ 2.96	12.48 $\pm$ 2.69	11.46 $\pm$ 2.57	9.81 $\pm$ 1.79	8.37 $\pm$ 2.01	7.42 $\pm$ 1.62
Neutrophil (%)	9.2 $\pm$ 4.3	10.7 $\pm$ 7.9	14.2 $\pm$ 4.9	15.4 $\pm$ 6.0	12.1 $\pm$ 6.8	15.4 $\pm$ 4.5	23.6 $\pm$ 8.6	28.4 $\pm$ 7.2
Lymphocyte (%)	87.6 $\pm$ 5.4	86.7 $\pm$ 8.0	82.3 $\pm$ 5.4	82.0 $\pm$ 6.6	84.8 $\pm$ 8.3	81.3 $\pm$ 5.1	71.6 $\pm$ 9.3	66.4 $\pm$ 7.5
Monocyte (%)	2.2 $\pm$ 2.0	1.3 $\pm$ 1.3	3.2 $\pm$ 3.2	1.5 $\pm$ 1.4	2.0 $\pm$ 2.5	2.3 $\pm$ 1.6	2.8 $\pm$ 2.1	3.0 $\pm$ 1.5
Eosinophil (%)	1.0 $\pm$ 1.1	1.3 $\pm$ 1.3	0.3 $\pm$ 0.5	0.9 $\pm$ 0.5	1.1 $\pm$ 0.9	1.2 $\pm$ 1.1	1.8 $\pm$ 1.4	1.9 $\pm$ 1.5
Basophil (%)	0	0.07 $\pm$ 0.26	0	0.06 $\pm$ 0.17	0	0.08 $\pm$ 0.19	0.05 $\pm$ 0.23	0.17 $\pm$ 0.35

Reference:

1) Leonard R, Ruben Z. Hematology Reference Values for Peripherat Blood of Laboratory Rats. Lab Ani Sci. 1986; 36(3): 277-281.

2) Feldman BV, Zinkl JG, Jain NC. Schalm's veterinary hematology. 5th ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 2000. 1277p.

Table 33 Hematological references values of male Sprague Dawley rat

Parameter	Reference 1		Reference 2					
	11 wks	18 wks	3-5 wks	7-11 wks	12 wks	16-24 wks	49-84 wks	91-105 wks
Red blood cell ($\times 10^6/\mu\text{l}$)	7.99 $\pm$ 0.36	8.54 $\pm$ 0.51	5.19 $\pm$ 0.61	7.05 $\pm$ 0.38	7.14 $\pm$ 0.63	7.60 $\pm$ 0.34	7.46 $\pm$ 0.43	7.27 $\pm$ 0.40
Hemoglobin (g/dl)	16.3 $\pm$ 0.6	15.9 $\pm$ 0.8	10.8 $\pm$ 0.8	14.6 $\pm$ 0.6	15.4 $\pm$ 1.1	15.3 $\pm$ 0.6	15.0 $\pm$ 0.9	15.1 $\pm$ 1.0
Hematocrit (%)	42.5 $\pm$ 0.17	41.2 $\pm$ 0.20	36.6 $\pm$ 2.4	46.6 $\pm$ 1.8	48.7 $\pm$ 2.2	48.1 $\pm$ 1.9	47.1 $\pm$ 2.6	46.5 $\pm$ 1.6
Mean corpuscular volume (fl)	54 $\pm$ 1.6	50 $\pm$ 1.7	72.2 $\pm$ 3.8	66.6 $\pm$ 5.0	61.3 $\pm$ 2.3	56.4 $\pm$ 2.4	57.6 $\pm$ 3.4	56.3 $\pm$ 3.3
Mean corpuscular hemoglobin (pg)	20.3 $\pm$ 0.9	18.7 $\pm$ 1.1	20.9 $\pm$ 1.1	20.9 $\pm$ 1.6	19.4 $\pm$ 1.2	17.9 $\pm$ 1.0	18.3 $\pm$ 1.1	18.3 $\pm$ 1.6
Mean corpuscular hemoglobin concentration (g/dl)	39.2 $\pm$ 1.3	38.2 $\pm$ 1.2	29.4 $\pm$ 0.9	31.3 $\pm$ 0.9	31.6 $\pm$ 1.5	31.8 $\pm$ 0.9	31.9 $\pm$ 1.2	32.4 $\pm$ 1.6
Platelet ($\times 10^5/\mu\text{l}$)	10.66 $\pm$ 0.71	8.78 $\pm$ 1.10	11.73 $\pm$ 2.61	10.51 $\pm$ 2.78	0.98 $\pm$ 1.83	10.31 $\pm$ 2.01	11.08 $\pm$ 1.93	11.79 $\pm$ 2.57
White blood cell ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	14.8 $\pm$ 3.5	12.1 $\pm$ 2.9	8.34 $\pm$ 2.90	12.46 $\pm$ 3.51	15.26 $\pm$ 3.54	11.98 $\pm$ 3.11	11.59 $\pm$ 2.27	15.08 $\pm$ 13.3
Neutrophil (%)	12.0 $\pm$ 3.6	9.6 $\pm$ 4.8	14.4 $\pm$ 4.5	13.7 $\pm$ 3.9	16.0 $\pm$ 5.6	20.1 $\pm$ 5.6	25.3 $\pm$ 7.3	31.3 $\pm$ 6.4
Lymphocyte (%)	83.6 $\pm$ 5.6	88.2 $\pm$ 5.4	81.9 $\pm$ 5.5	83.6 $\pm$ 4.1	81.5 $\pm$ 5.7	77.3 $\pm$ 6.0	70.6 $\pm$ 8.0	61.9 $\pm$ 6.9
Monocyte (%)	3.9 $\pm$ 2.4	1.5 $\pm$ 1.6	2.9 $\pm$ 1.7	2.0 $\pm$ 1.3	1.5 $\pm$ 1.4	1.4 $\pm$ 1.0	2.3 $\pm$ 1.8	5.0 $\pm$ 2.7
Eosinophil (%)	0.5 $\pm$ 0.8	0.6 $\pm$ 1.2	0.4 $\pm$ 0.7	0.7 $\pm$ 0.7	0.8 $\pm$ 0.7	1.0 $\pm$ 0.9	1.6 $\pm$ 1.2	1.3 $\pm$ 0.9
Basophil (%)	0	0	0.02 $\pm$ 0.10	0.04 $\pm$ 0.13	0.05 $\pm$ 0.15	0.13 $\pm$ 0.24	0.10 $\pm$ 0.31	0.04 $\pm$ 0.13

Reference:

1) Leonard R, Ruben Z. Hematology Reference Values for Peripheral Blood of Laboratory Rats. Lab Ani Sci. 1986; 36(3): 277-281.

2) Feldman BV, Zinkl JG, Jain NC. Schalm's veterinary hematology, 5th ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 2000. 1277p

ตารางสรุปเปรียบเทียบแผนงานวิจัยกับผลงานวิจัย

วัตถุประสงค์	กิจกรรมที่ทำ	ผลการดำเนินงาน
1. เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากส่วนต่างๆของสิ่งหู ปีที่ 1	1.1 ศึกษาองค์ประกอบทางเคมี ปีที่ 1	เก็บตัวอย่างส่วนต่าง ๆ ของสิ่งหูทั้งสองชนิด นำมาสกัดได้ 15 ตัวอย่าง เพื่อนำไปทดสอบการทดสอบฤทธิ์การแยกและการทำให้บริสุทธิ์ควบคู่กับการตรวจสอบฤทธิ์ - แยกส่วนสกัดจากสารสกัดหยาบ 95 % ethanol ด้วย partition technique ด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ เพื่อทดสอบฤทธิ์ และติดตามสารสำคัญ - การทำ TLC chromatogram ส่วนรากปมและใบพบว่า ส่วนสกัดมีรูปแบบองค์ประกอบที่แตกต่างกันอย่างชัดเจน
2. เพื่อศึกษาฤทธิ์ต่อการเกิดออกซิเดชันและฤทธิ์ต่อเซลล์ตับเพาะเลี้ยง (in vitro) จากส่วนต่างๆ ของสิ่งหู	2.1 การศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน	ได้ดำเนินการทดลองฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน เสร็จเรียบร้อยแล้ว - ได้สารสกัดส่วนที่น่าสนใจที่จะนำไปศึกษาต่อคือ fraction 5.1 สิ่งหูเขียว(รากปม) Ethyl acetate fraction สารสกัด 5.2 สิ่งหูเขียว(รากปม) Butanol fraction สารสกัด 11.1 สิ่งหูเขียว(ใบ) Ethyl acetate fraction สารสกัด 11.2 สิ่งหูเขียว(ใบ) Butanol fraction
	2.2 การศึกษาผลของสารทดสอบต่อเซลล์ตับเพาะเลี้ยง	ได้ดำเนินการทดลอง Cell proliferation assay และ apoptosis assay เสร็จเรียบร้อยแล้ว โดยพบว่า - สารสกัดที่ 9 สิ่งหูใบเขียว (เปลือก) และสารสกัดที่ 15 สิ่งหูใบแดง (เปลือก) ให้ผลดีในการทดลอง apoptosis assay - สารสกัดส่วนที่น่าสนใจนอกเหนือจากสารสกัดที่ 9 สิ่งหูใบเขียว (เปลือก) และสารสกัดที่ 15 สิ่งหูใบแดง (เปลือก) คือ สารสกัด 11.1 สิ่งหูเขียว(ใบ) Ethyl acetate fraction สารสกัด 11.2 สิ่งหูเขียว (ใบ) Butanol fraction และสารสกัด 11.3 สิ่งหูเขียว(ใบ) water fraction เพื่อศึกษาต่อควบคู่กับ สารสกัด 5.1 สิ่งหูเขียว (รากปม) Ethyl acetate fraction สารสกัด 5.2 สิ่งหูเขียว(รากปม) Butanol fraction
	2.3 ศึกษาฤทธิ์ต้านพิษสารเคมีฆ่าแมลงของสมุนไพรกลุ่มขับสารพิษใน	ไม่ได้ดำเนินการศึกษาฤทธิ์ต้านพิษสารเคมีฆ่าแมลงในสัตว์ทดลองในปี เนื่องจากผลการศึกษาฤทธิ์ต่อการเกิดออกซิเดชันและฤทธิ์ต่อเซลล์ตับเพาะเลี้ยง เพื่อยืนยันฤทธิ์

วัตถุประสงค์	กิจกรรมที่ทำ	ผลการดำเนินงาน
	สัตว์ทดลอง (in vivo)	ที่ดีจากส่วนใบหรือเปลือกที่สามารถใช้ทดแทนส่วนรากปมได้ยังไม่ชัดเจน และด้วยข้อจำกัดด้านจริยธรรมการวิจัยจึงไม่สามารถการศึกษาฤทธิ์ต้านพิษสารเคมีฆ่าแมลงในสัตว์ทดลองได้
3. เพื่อศึกษาความเป็นพิษระยะยาว (180 วัน) ของสิ่งพื้ในสัตว์ทดลอง	3.1 ศึกษาความเป็นพิษระยะยาว (180 วัน) ในสัตว์ทดลองของสารสกัดสิ่งพื้ใบเขียว	- ทราบผลความเป็นพิษระยะยาว (เรื้อรัง) พบว่าการป้อนสารสกัดรากใหญ่สิ่งพื้ใบเขียว 3 แบบคือ แบบที่ 1 ขนาด 150 และ 50 mg/kg แบบที่ 2 ขนาด 750 และ 250 mg/kg แบบที่ 3 ขนาด 3750 และ 1250 mg/kg ไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษระยะยาว

