

การศึกษาพิษวิทยาของ 2-bromo-2-nitropropane-1, 3-diol เมื่อใช้เป็นยากันเสียในวัสดุว่านหางจระเข้

จุฑามาศ สัตยวิวัฒน์ และ นันทวัน บุญยะประภัศร*

ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

*ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

บทคัดย่อ

ผลการทดลองของคณะวิจัยกลุ่มนี้พบว่าว่านหางจระเข้มีประสิทธิภาพในการลดการอักเสบเมื่อทดสอบในสัตว์ทดลอง แต่ฤทธิ์นี้ไม่คงตัวโดยประสิทธิภาพจะลดลง คณะผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาเพื่อหาว่านหางจระเข้ที่เสถียรและปลอดภัย โดยทำการทดสอบยากันเสียหลายชนิดด้วยกัน ในที่นี้จะกล่าวถึงเฉพาะ 2-bromo-2-nitropropane -1, 3-diol (BND) จากการทดลองพบว่าสารนี้มีประสิทธิภาพดีในการป้องกันการเสียของว่านหางจระเข้สด แต่ก็ต้องระมัดระวังในการใช้โดยเฉพาะเมื่อใช้ในขนาดสูง แผลเปิดกว้าง และใช้เป็นระยะเวลานาน เพราะเมื่อให้สารนี้ในขนาดสูง ๆ ฉีดเข้าช่องท้องหนูถีบจักรเป็นเวลา 15 วัน จะทำให้น้ำหนักตัวหนูถีบจักรลดลงอย่างมีนัยสำคัญ และเมื่อผ่าดูอวัยวะภายในโดยเฉพาะลำไส้เล็กจะเกาะกันเป็นก้อนแยกไม่ออก ลักษณะเช่นนี้จะไม่พบเมื่อให้ว่านสด หรือเมื่อให้สารนี้เพียงอย่างเดียวอย่างใดอย่างหนึ่ง แต่จะพบเมื่อตรวจสอบว่านจากว่านหางจระเข้ที่มีสาร BND เป็นยากันเสีย

บทนำ

ว่านสดว่านหางจระเข้มีผู้นำมาใช้เป็นยาอย่างแพร่หลาย (1) ที่ใช้กันมากคือ รักษาแผลไฟไหม้ น้ำร้อนลวก จากการศึกษาของคณะนักวิจัยกลุ่มนี้พบว่าว่านสดไม่คงตัว จึงได้พยายามศึกษาหาว่านหางจระเข้ที่มีประสิทธิภาพเพื่อทำให้ยามีฤทธิ์อยู่นาน 2-bromo-2-nitropropane-1, 3-diol (BND) เป็นยากันเสียซึ่งมีจำหน่ายในท้องตลาดชื่อ Bronopol สารนี้ไม่มีสี ไม่มีกลิ่น มีจุดหลอมเหลวที่ 121 องศาเซลเซียส มีคุณสมบัติดูดน้ำเล็กน้อย ละลายได้ดีในน้ำ เมื่ออยู่ในรูปสารละลายจะมี pH อยู่ระหว่าง 5.1-5.5 ทั้งนี้ขึ้น

อยู่กับปริมาณของสารที่ใช้ หากเก็บไว้ที่อุณหภูมิสูงหรือเก็บไว้นาน pH ก็จะมีค่าต่ำลง BND มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียทั้งกรัมบวกและลบรา และยีสต์ นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ฆ่า *Pseudomonas aeruginosa* ด้วย ในด้านความเป็นพิษนั้น มีผู้มีรายงานขนาดที่ทำให้หนูถีบจักรตายครึ่งหนึ่งของจำนวนที่ทดลอง (LD50) คือ 350 มก./กก. เมื่อให้กิน และ 20 มก./กก. เมื่อให้โดยฉีดเข้าช่องท้อง สำหรับในหนูขาวค่า LD50 มีค่า 400 มก./กก. เมื่อกิน และ 200 มก./กก. เมื่อให้โดยฉีดเข้าใต้ผิวหนัง การทดลองผลสมยาในอาหารในขนาด 100 และ 1,000 ppm เป็นเวลา 12 สัปดาห์ (คำนวณขนาดยาต่อวันจะเป็น

ปริมาณ 1/40 และ 1/4 ของขนาด LD50) โดยหนูขาวกลุ่มเปรียบเทียบจะได้รับอาหารปกติ พบว่า BND ทั้ง 2 ขนาดไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสัตว์ ปริมาณของอาหารที่รับประทาน ชีวเคมีของเลือด น้ำหนักของตับและไตหรือการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่ออวัยวะต่างๆ (2)

เมื่อทดสอบอาการระคายเคืองต่อผิวหนัง กระต่ายและเยื่อเมือกของตากระต่ายของ BND ในขนาด 0.5 และ 2.0% ใน emulsion base และในสารละลาย พบว่าขนาดยา 2.0% จะทำให้ระคายเคืองผิวหนังและตา แต่ไม่พบอาการระคายเคือง เมื่อใช้ในขนาด 0.5% (2)

BND มีความคงตัวในสารละลายที่เป็นน้ำจึงเหมาะที่จะนำมาใช้ผสมในยาสระผม (3) และใช้เป็นยากันเสียในผลิตภัณฑ์ยาเนื่องจากมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย กรัมนบวกและลบ รา ยีสต์ และ *Pseudomonas aeruginosa* สำหรับกลไกการออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อ *E. coli*, *Staphylococcus aureus* และ *Pseudomonas aeruginosa* เชื่อว่าเนื่องจากยานี้ทำให้เกิด oxidation ของ thiol group ของ cysteine และ glutathione ซึ่งอาจเป็นส่วนหนึ่งของเอนไซม์ที่จำเป็นของแบคทีเรีย (3)

BND ขนาด 0.01-0.1% เป็นขนาดที่ผู้ผลิตแนะนำให้ใช้ในผลิตภัณฑ์ยา ซึ่งใช้ทั้งภายในและภายนอก และยังแนะนำให้ใช้ขนาดยาดังกล่าวในการป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียในเครื่องสำอาง สบู่ และแชมพู

ในการทดลองนี้ใช้ BND ในขนาด 0.1% ซึ่งค่อนข้างสูง เพื่อประเมินค่าความเป็นพิษของสารนี้เมื่อใช้ตามฉลากและเมื่อผสมในสูตรว่านหางจระเข้

วิธีการ

การศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันของ BND

ในการหาค่า LD50 ของ BND ในหนูถีบจักร ใช้หนูกลุ่มละ 10 ตัว แบ่งเป็น 4 กลุ่ม โดยฉีดยาดังแต่ 10-150 มก./กก. เข้าช่องท้องแล้วสังเกตพฤติกรรม

สัตว์ทดลองและดูจำนวนสัตว์ที่ตายภายใน 48 ชั่วโมง การศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลัน

1. การศึกษาความเป็นพิษของ BND ในหนูถีบจักร

แบ่งสัตว์ทดลองเป็น 4 กลุ่ม ใช้น้ำกลั่นในกลุ่มเปรียบเทียบ ขนาดยา BND ที่ใช้คือ 10, 20 และ 30 มก./กก. ฉีดเข้าช่องท้องวันละครั้งติดต่อกัน 15 วัน

2. การศึกษาความเป็นพิษของว่านหางจระเข้เมื่อผสม BND เป็นยากันเสีย

ในการทดลองแบ่งสัตว์เป็น 4 กลุ่ม แต่ละกลุ่มใช้สัตว์ทดลอง 10 ตัว เพศผู้และเมียอย่างละ 5 ตัว ให้นำว่านหางจระเข้ซึ่งผสม BND ขนาดต่าง ๆ กัน ฉีดเข้าช่องท้องวันละครั้งติดต่อกันเป็นเวลา 15 วัน

กลุ่มที่ 1 กลุ่มเปรียบเทียบ ฉีดว่านหางขนาด 0.3 มล. ต่อน้ำหนักตัว 10 กรัม

กลุ่มที่ 2 ฉีดว่านหางซึ่งมี BND ผสมอยู่ 0.1% ในขนาด 0.1 มล. ต่อน้ำหนักตัว 10 กรัม (ขนาดยา BND 10 มก./กก.)

กลุ่มที่ 3 เหมือนกลุ่มที่ 2 แต่ใช้ว่านหางผสม BND 0.2 มล. (BND 20 มก./กก.)

กลุ่มที่ 4 เหมือนกลุ่มที่ 2 แต่ใช้ว่านหางผสม BND 0.3 มล. (BND 30 มก./กก.)

ระหว่างการทดลองจะทำการชั่งน้ำหนักสัตว์ทุกวันเว้นวัน ดูพฤติกรรมทั่ว ๆ ไปและเมื่อครบ 15 วันจะผ่าหน้าท้องเพื่อสังเกตอวัยวะภายใน การทดสอบการระคายเคืองต่อผิวหนังกระต่าย

การทดลองใช้กระต่าย 6 ตัว แต่ละตัวจะกำหนดบริเวณทดสอบ 6 แห่ง ด้านซ้าย 3 แห่ง ด้านขวา 3 แห่ง บริเวณเหล่านี้ได้แก่ ต้นคอ บริเวณเสี้ยวติดขาหน้า และติดขาหลัง จะทำการโกนขนออกจากรอบบริเวณดังกล่าวให้หมดเป็นพื้นที่กว้างพอจะทายาได้อย่างสะดวก

น้ำยาที่ใช้ทดลองคือว่านหางจระเข้ ว่านหางจระเข้ที่มี BND ผสมอยู่ 0.1% และ BND 0.1% บริเวณที่ทายาจะเป็นวงกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 นิ้ว

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบค่า LD50 ของ BND

Animal	Sex	Route	LD50 (mg/kg)	Reference
mice	male	orally	374	2
	female	orally	327	
rat	male	orally	307	2
	female	orally	342	
mice	—	orally	350	4
	—	ip.	20	
rat	—	orally	400	
	—	sc.	200	
mice	—	ip.	25	present study

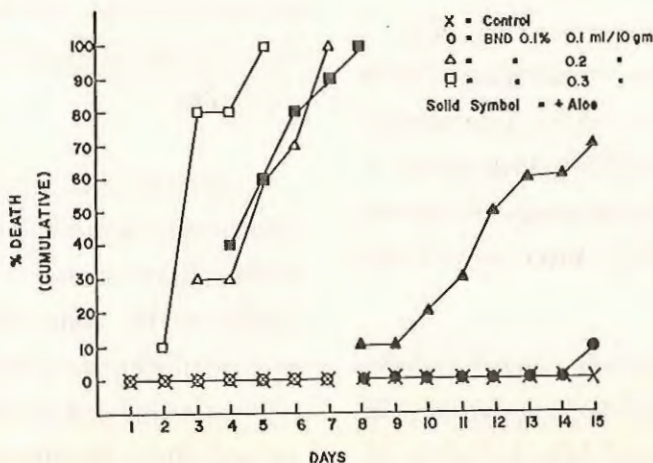
ผลการศึกษาและวิจารณ์ ความเป็นพิษเฉียบพลันของ BND

จากการศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันของ BND พบว่าเมื่อฉีด BND 10, 30, 50 และ 150 มก./กก. เข้าช่องท้องหนูถีบจักร LD50 มีค่า 25 มก./กก. ซึ่งใกล้เคียงกับที่มีรายงานไว้ (ตารางที่ 1) ในขนาดยาต่ำ ๆ ภายใน 3 ชั่วโมงแรกหนูถีบจักรจะซึม ในขนาด 50 มก./กก. สัตว์จะเกิด ataxia และ clonic convulsion สัตว์ทั้งหมดจะตายภายใน 24 ชั่วโมง ในขนาด 150 มก./กก. สัตว์ทั้งหมดจะตายภายใน 12 ชั่วโมง อาการที่เห็นเด่นชัดคือ ataxia และ clonic convulsion

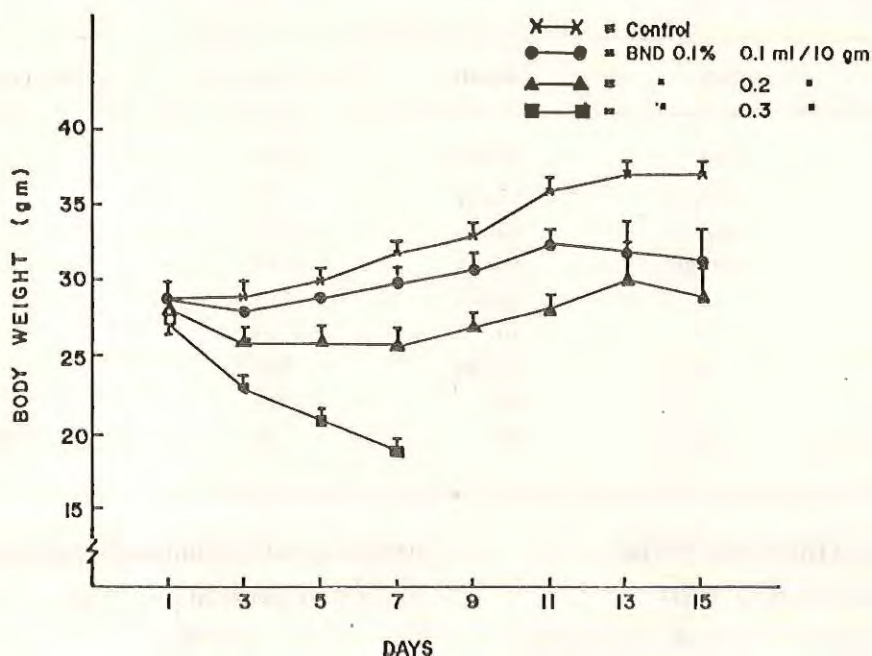
การศึกษาความเป็นพิษเกือบเฉียบพลันของ BND เมื่อใช้เป็นยาแก้พิษในรุ่นสดว่านหางจระเข้

1. จำนวนสัตว์ที่ตาย

เมื่อฉีด BND 0.1% เข้าช่องท้องหนูถีบจักร ในขนาด 0.1, 0.2 และ 0.3 มล. (10, 20 และ 30 มก./กก. ตามลำดับ) พบว่าในขนาดต่ำ (10 มก./กก.) จะไม่มีสัตว์ตาย แต่เมื่อเพิ่มขนาดเป็น 2 เท่า (20 มก./กก.) สัตว์จะตายทั้งหมดใน 15 วัน และเมื่อเพิ่มขนาดยาเป็น 3 เท่า (30 มก./กก.) สัตว์จะตายหมดภายใน 7 วัน ส่วนรุ่นสดว่านหางจระเข้ที่ผสม BND จะทำให้การตายของสัตว์ล่าช้าลงอย่างเห็นได้ชัด (รูปที่ 1)



รูปที่ 1 เปรียบเทียบจำนวนสัตว์ทดลองที่ตายเมื่อได้รับ BND อย่างเดียว กับ เมื่อได้รับรุ่นสดว่านหางจระเข้ที่ผสม BND



รูปที่ 2 เปรียบเทียบน้ำหนักของสัตว์ทดลองที่ได้รับวันสวดซึ่งมี BND เป็นยารักษาขนาดต่าง ๆ กันเป็นเวลา 15 วัน

2. น้ำหนักตัว

น้ำหนักตัวของสัตว์กลุ่มที่ได้รับวันสวดว่านหางจระเข้ที่มี BND จะลดลงในทุกความเข้มข้น แต่จะมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเฉพาะเมื่อใช้ BND ขนาด 20 และ 30 มก./กก. (รูปที่ 2)

3. การศึกษาลักษณะของอวัยวะภายใน

จากการเปิดหน้าท้องของสัตว์ที่ตายหรือสัตว์ที่ครบกำหนดการให้ยาแล้ว พบว่าอวัยวะภายในของสัตว์กลุ่มเปรียบเทียบและที่ได้รับ BND ขนาด 10, 20 และ 30 มก./กก. ไม่แตกต่างกันอย่างชัดเจน นอกจากสีของตับในกลุ่มที่ได้รับ BND จะซีดกว่ากลุ่มเปรียบเทียบ

ส่วนกลุ่มที่ได้รับวันสวดซึ่งมี BND เป็นยารักษาแล้ว พบว่าสัตว์ที่ตายหรือสัตว์ที่ครบกำหนดให้ยาแล้ว เมื่อผ่าหน้าท้องจะเห็นส่วนของลำไส้ติดกันเป็นก้อน ไม่สามารถแยกให้ลำไส้เคลื่อนที่ได้เหมือนกลุ่มเปรียบเทียบ

เทียบ หรือกลุ่มที่ได้รับ BND เพียงอย่างเดียว อวัยวะภายในทั้งหมดจะติดกันเป็นก้อนมีเมือกและพังผืดหุ้ม และติดแน่นกับผนังช่องท้อง ซึ่งจะเห็นได้ชัดเจนเมื่อใช้วันสวดซึ่งมี BND เป็นยารักษาขนาด 30 มก./กก. ส่วนในขนาด 10 มก./กก. ตับจะซีดเล็กน้อย พบการจับของลำไส้ติดกับผนังช่องท้อง 70% (7 ใน 10 ตัว) แต่ลำไส้ยังแยกออกจากกันได้เหมือนกลุ่มเปรียบเทียบ

ในการทดลองนี้สิ่งที่สำคัญคือการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะภายในช่องท้องที่เกิดขึ้น ซึ่งเกิดเฉพาะในกรณีที่ใช้วันสวดว่านหางจระเข้ซึ่งผสม BND เป็นยารักษา การใช้ BND หรือวันสวดว่านหางจระเข้ขนาดเท่ากันเพียงอย่างเดียวจะไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงดังที่ได้กล่าวมาแล้ว ดังนั้นจึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจศึกษาเพิ่มเติมถึงสาเหตุการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวเมื่อผสม BND ในวันสวดว่านหางจระเข้

บริษัทผู้ผลิตแนะนำให้ใช้ BND 0.01-0.1% ในผลิตภัณฑ์ยาและเครื่องสำอาง คณะผู้วิจัยเลือก 0.1% ซึ่งเป็นปริมาณสูงสุดที่แนะนำเพราะหวังฤทธิ์ต้านแบคทีเรียในแผลของยากันเสียนี้ด้วย ในการศึกษาความเป็นพิษเลือกใช้วิธีฉีดเข้าช่องท้องเพราะสะดวกกว่าการกรอกปาก เป็นที่น่าสังเกตว่าเมื่อให้ BND อย่างเดียว สัตว์จะตายเร็วกว่าเมื่อให้วันสต่วนหางจะเข้ซึ่งมี BND ผสม แต่ผลต่อการเปลี่ยนแปลงอวัยวะภายใน กลุ่มที่ได้รับวันสต่วนซึ่งมี BND จะมีพิษมากกว่า งานวิจัยนี้ไม่สามารถอธิบายได้ว่าทำไมเมื่อมีวันสต่วนอยู่ด้วยสัตว์จึงตายช้าลง จำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไปอีก

การทดสอบการระคายเคืองต่อผิวหนังกระต่าย

จากการทดลองพบว่าวันสต่วนหางจะเข้ไม่ทำให้เกิดการระคายเคืองบริเวณที่ทาเลยไม่ว่าจะเป็นส่วนใดของกระต่าย เช่นเดียวกับ BND ขนาด 0.1% เมื่อใช้เดี่ยว ๆ ก็ไม่ทำให้เกิดการระคายเคือง แต่เมื่อใช้วันสต่วนหางจะเข้ซึ่งมี BND 0.1% เป็นยากันเสียพบว่าบริเวณสี่ข้างที่ช่วงขาหน้าและขาหลังมีอาการปกติ ตรงกันข้ามกับบริเวณต้นคอจะพบว่ามีอาการระคายเคืองเกิดขึ้น โดยบริเวณดังกล่าวจะมีเส้นเลือดขยายแดงและบวมเล็กน้อย กระต่าย 6 ตัวที่นำมาใช้ทดลองพบว่าเกิดอาการเหล่านี้ทุกตัวภายใน 36 ชั่วโมง เมื่อทิ้งไว้ 48 ชั่วโมงอาการจะหายไปเอง 1 ตัว

เป็นที่น่าสนใจว่าขนของกระต่ายบริเวณที่ได้รับวันสต่วนหางจะเข้จะงอกเร็วกว่าบริเวณเปรียบเทียบกับทา BND 0.1% เพียงอย่างเดียว

สรุป

1. การหา LD50 ของ BND ในหนูถีบจักร โดยวิธีฉีดเข้าช่องท้อง ได้ค่า LD50 ใกล้เคียงกับที่มีผู้รายงานไว้แล้ว
2. การศึกษาพบว่า BND ในขนาดสูงสุดที่

บริษัทแนะนำให้ใช้ไม่เกิดอาการพิษแต่อย่างใดเมื่อใช้เพียงอย่างเดียว แต่ถ้าใช้ร่วมกับวันสต่วนหางจะเข้อาการข้างเคียงจะปรากฏชัดเจนเช่น เกิดการระคายเคืองผิวหนังกระต่าย เมื่อให้ระยะนาน 15 วันอวัยวะภายในเริ่มมีพังผืดเกาะลำไส้ให้ติดกับผนังช่องท้องเป็นต้น เมื่อใช้ BND ขนาดสูงกว่าที่แนะนำ 2 ถึง 3 เท่า (20 - 30 มก./กก.) พบว่าเมื่อให้ระยะนาน 15 วันเกิดการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะภายในบริเวณช่องท้องอย่างมาก มีการจับตัวเป็นก้อนของอวัยวะและมีพังผืดหุ้ม

3. จากการศึกษาวิจัยนี้ทำให้ต้องระมัดระวังในการใช้ยากันเสีย ในวันสต่วนหางจะเข้โดยเฉพาะ BND หากจำเป็นต้องใช้จะต้องใช้ขนาดต่ำ ๆ และควรจะต้องทำการศึกษาริวิจัยเพิ่มเติมเนื่องจาก BND เป็นยากันเสียที่นิยมใช้กันมากในเครื่องสำอาง สบู่ แชมพู การใช้ BND เป็นยากันเสียในแชมพูที่ผสมวันสต่วนหางจะเข้ น่าจะมีการศึกษาริวิจัยอย่างละเอียดเพิ่มเติม เพราะข้อมูลที่ได้จากกริวิจัยนี้ชี้แนะว่าสารนี้ไม่น่าจะปลอดภัยกับนักหากใช้ในขนาดสูงสุดที่บริษัทแนะนำและใช้ติดต่อกันเป็นระยะเวลานาน

4. ผลงานวิจัยนี้เป็นตัวอย่างของปฏิกิริยาต่อกันระหว่างยาหรือสารเคมี ซึ่งทำให้เกิดความเป็นพิษเพิ่มขึ้นเมื่อใช้ร่วมกัน เพราะ BND หรือวันสต่วนหางจะเข้เพียงอย่างเดียวไม่ทำให้เกิดอาการข้างเคียง แต่เมื่อใช้ร่วมกันอาจทำให้เกิดอาการพิษได้

คำขอบคุณ

ผู้วิจัยใคร่ขอขอบคุณ GTZ และ UNICEF สำหรับงบประมาณบางส่วนในการวิจัย ขอขอบคุณคุณเพ็ญยา ขำคง คุณวัลยา จันทรัสระแก้ว คุณรัตนาคงขึ้นสิน สำหรับความช่วยเหลือในการทดลอง และท้ายสุดขอขอบคุณเจ้าหน้าที่โครงการศูนย์ข้อมูลสมุนไพร ในการช่วยเตรียมบทความนี้

เอกสารอ้างอิง

1. นันทวัน มุทธะประภัตร และคณะ. ว่านหางจระเข้. ใน : ก้าวไปกับสมุนไพร เล่ม 1. ศูนย์ข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล : 209-22.
2. Boots Biocides Group. The Boots Company Limited, Nottingham NG 2 3AA, Bronopol-Boots-Information Sheet.
3. Bryce DM, Smart R. The preservation of shampoos. J Soc Cosmet Chem 1965;16:187.
4. Croshaw B, Groves MJ, Lessel B. Some properties of bronopol, a new antimicrobial agent active against *Pseudomonas aeruginosa*. J Pharm Pharmacol 1964;16 Suppl :127T-30T.
5. Stretton RJ, Manson TW. Some aspects of the mode of action of the antibacterial compound bronopol (2-bromo-2-nitropropane-1, 3-diol). J Appl Bact 1973;36:61-76.

Toxicological Evaluation of 2-Bromo-2-nitropropane-1, 3-diol as a Preservative in Fresh Aloe Gel

Jutamaad Satayavivad and Nantavan Bunyapraphatsara*

Department of Pharmacology, Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok 10400

*Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Mahidol University, Bangkok 10400

Abstract

Toxicological studies of 2-bromo-2-nitropropane-1, 3-diol (BND) as a preservative in fresh aloe gel has been conducted. The results of these studies revealed that BND at the recommended dose when used alone is effective and safe as reported by the manufacturer. The LD₅₀ of BND when it was given intraperitoneally is in the same range as previously reported by the other investigators. However, the aloe gel containing BND exhibited higher toxicity than BND or fresh aloe gel itself. The toxic effects are as follow: the irritation of rabbit skin and the abnormal formation of ligament in the peritoneal cavity leading to the attachment of internal organs to the peritoneal wall. It is interesting to find out that neither BND nor fresh aloe gel produces the above toxic effects. The mechanisms underlied these toxic effects need further studies.