

การศึกษาความเป็นพิษของสมุนไพรบัวบก

Toxicity study of *Centella asiatica* (L.) Urban

| | |
|-----------------------|---------------------|
| ทรงพล ชีวะพัฒน์* | จารีย์ บันสิทธิ์* |
| Songpol Chivapat | Jaree Bansiddhi |
| ปราณี ชาลิตธำรง* | ทรงพล ผดุงพัฒน์* |
| Pranee Chavalittumrog | Songphol Phadungpat |
| เอมมนัส อัดตวิษณ์* | สมเกียรติ ปัญญามัง* |
| Aimmanas Attawish | Somkiat Punyamong |
| ธิดารัตน์ บุญรอด* | จิรานุช มิ่งเมือง* |
| Thidarat Boonruad | Jiranuch Mingmuang |

บทคัดย่อ

ได้ศึกษาพิษเฉียบพลันของบัวบกในหนูถีบจักร พบว่า ขนาดของผงบัวบกที่ทำให้หนูถีบจักรตายร้อยละ 50 (LD_{50}) มีค่ามากกว่า 8 ก./กก. และไม่พบความผิดปกติทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่ออวัยวะภายในที่เกิดจากบัวบก ผลการศึกษาพิษเรื้อรังในหนูแรทพันธุ์วิสตาร์ที่แบ่งออกเป็น 6 กลุ่มๆละ 30 ตัว (เพศละ 15 ตัว) โดยกลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุมด้วยน้ำ กลุ่มที่ 2 ถึง 5 เป็นกลุ่มทดลองที่ได้รับผงบัวบกโดยวิธีการกรอกทางปากในขนาด 20, 200, 600 และ 1200 มก./กก./วัน เป็นระยะเวลา 6 เดือน และกลุ่มที่ 6 เป็นกลุ่มศึกษา recovery โดยได้รับบัวบก 1200 มก./กก.นาน 6 เดือนเช่นกันแล้วหยุดให้บัวบกเป็นเวลา 2 สัปดาห์ก่อนเจาะเลือด พบว่า หนูที่ได้รับผงบัวบกทุกขนาดมีน้ำหนักตัว การกินอาหารและสุขภาพไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม หนูเพศผู้ที่ได้รับบัวบกขนาด 600 และ 1200 มก./กก. มีจำนวนเม็ดเลือดขาวต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) อย่างไรก็ตามจำนวนเม็ดเลือดขาวเพิ่มขึ้นเมื่อหยุดให้บัวบกขนาดสูงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ การตรวจค่าเคมีคลินิกของซีรัมพบว่า หนูเพศผู้ที่ได้รับบัวบกขนาด 600 มก./กก.ขึ้นไปมีระดับโซเดียมและคลอไรด์สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และหนูเพศเมียที่ได้รับผงบัวบก 1200 มก./กก. มีระดับโซเดียมสูงกว่า กลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญเช่นกัน ($p < 0.05$) แต่การเปลี่ยนแปลงเหล่านี้ยังคงอยู่ในช่วงค่าปกติ ผลการตรวจเนื้อเยื่ออวัยวะต่างๆทางจุลพยาธิวิทยาไม่พบการเปลี่ยนแปลงที่บ่งชี้จำเพาะถึงความเป็นพิษของบัวบก ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่า ผงบัวบกไม่ทำให้เกิดความเป็นพิษต่อหนูแรทพันธุ์วิสตาร์

* สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

ABSTRACT

Oral acute toxicity of *Centella asiatica* (L.) Urban powder (CA) in mice revealed that median lethal dose (LD_{50}) of CA was more than 8 g/kg body weight. Histopathological study revealed no abnormality contributed to CA. Chronic toxicity has been investigated in six groups of Wistar rats, each of 30 rats (15 of each sex). Group 1 was the water control group while group 2 to 5 received CA by oral administration at the doses of 20, 200, 600 and 1200 mg/kg/day respectively for six months. Group 6, a recovery group, received 2000 mg/kg CA and the administration was withdrawn two weeks before sacrificed. The result revealed that average body weight and food consumption in all CA-treated groups were not different from those of the control groups. Male rats receiving CA at 600 and 1200 mg/kg had significantly less white blood cell counts than the control group ($p < 0.05$); however the number of white blood cell increased after CA discontinuation for 2 weeks. Male rats receiving 600 mg/kg CA and more had significantly higher levels of sodium and chloride than control group ($p < 0.05$) and female rats treated with 1200 mg/kg CA had significantly higher sodium level ($p < 0.05$) as well. However, these alterations were trivial and within normal range. Histopathological study of various visceral organs did not show any pathognomonic lesions caused by CA. Therefore, it may be concluded that CA produces no toxicity in Wistar rats.

Keywords : *Centella asiatica* (L.) Urban, Toxicity

บทนำ

บัวบก *Centella asiatica* (L.) Urban วงศ์ Umbelliferae^(1,2) เป็นไม้ล้มลุกอายุหลายปี ลำต้นสั้น มีไหลหรือส่วนของลำต้นที่แตกแขนงทอดนอนไปตามพื้นดินแล้วออกราก และใบเจริญเติบโตเป็นต้นใหม่ๆได้อย่างต่อเนื่อง ใบเดี่ยว ออกเวียนหรือสลับถี่ แผ่นใบรูปไข่หรือค่อนข้างกลม กว้าง 1-7 ซม. ยาว 1-4 ซม. ขอบใบหยัก เส้นใบออกที่โคนใบ 5-7 เส้น ก้านใบยาว ช่อดอกเล็ก แบบช่อซี่ร่ม ออกตามง่ามใบหรือซอกใบ ดอกเล็กมาก มีกลีบดอก 5 กลีบ สีม่วงแดง เกสรเพศผู้ 5 อัน เกสรเพศเมียมีรังไข่แบน 2 ห้อง และก้านชูยอดเกสรค่อนข้างสั้น ผลเล็กมากและแบน กว้าง 2-4 มม. เปลือกมีสันตามยาว 7-9 เส้น⁽²⁻⁴⁾ บัวบกมีเขตการกระจายพันธุ์ทั่วไปทั้งในเขตร้อนและเขตอบอุ่นทั่วโลก ซึ่งรวมถึงเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ด้วย ขึ้นได้ดีในที่ชุ่มชื้น ทั้งที่โล่งแจ้ง ที่มีแสงรำไร และในร่ม ตั้งแต่พื้นที่ราบต่ำจนถึงที่สูง 3,480 ม. เหนือระดับน้ำทะเล⁽²⁻⁵⁾

ในตำรายาแผนโบราณของไทยได้กล่าวถึงบัวบกว่า ใบใช้รับประทานเป็นอาหารได้ ส่วนประโยชน์ทางยานั้น เป็นยาบำรุง รักษาโรคผิวหนัง โรคเส้นประสาท ขับปัสสาวะ ดันและใบเป็นยาบำรุงหัวใจ แก้อ่อนเพลีย เมื่อยล้า แก้อ่อนเสีย อากาการบิด⁽⁶⁾ และยังมีสรรพคุณต้านอักเสบอีกด้วย⁽⁷⁾ คนจีนใช้บัวบกตำละเอียดชงน้ำและน้ำตาลเป็นน้ำทุบาย แก้อ่อนในแก้อ่อนในแก้อ่อนเพลียได้ดี⁽⁶⁾ ส่วนในตำรายาอายุรเวทของประเทศอินเดียนั้นใช้บัวบกเป็นยาบำรุงทั่วไป ยาสงบประสาทและคลายกังวล (sedative and anxiolytic)⁽⁸⁾ และบำรุงสมอง (brain tonic)⁽⁹⁾ การศึกษาถึงองค์ประกอบทางเคมีของบัวบก พบว่ามีสารสำคัญกลุ่ม triterpene saponins ได้แก่ asiaticoside ซึ่งมี sapogenin คือ asiatic acid โดยส่วนของน้ำตาลเป็น rhamnose ต่อกับ glucose 2 โมเลกุล, asiaticoside A และ asiaticoside B มี sapogenin คือ 6-b-hydroxyasiatic acid และ teminolic acid ตามลำดับโดยส่วนของน้ำตาลเหมือนกับ asiaticoside ทุกประการ⁽¹⁰⁾ Triterpene glycosides อื่นๆ ได้แก่ madecassoside⁽¹¹⁾, centellasaponins B ,C และ D⁽¹²⁾ เป็นต้น นอกจากนี้มีรายงานว่า essential oil ในส่วน aerial part ของบัวบกมีสารกลุ่ม sesquiterpenoids อยู่ปริมาณมาก เช่น b-caryophyllene a-humulene, germacrene-D ฯลฯ⁽¹³⁾

จากรายงานการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาต่างๆของสมุนไพรบัวบกนั้น พบว่า สาร asiatic acid, madecassic acid และ asiaticoside ของบัวบกทำให้ human fibroblast มีการสังเคราะห์ collagen I เพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการใช้ตามแผนโบราณที่ช่วยให้แผลหายดีขึ้น⁽¹⁴⁾ สารสกัดด้วยเฮกเซน ไดคอลลอโรมีเทน และเอธานอลของบัวบกทั้งต้นมีฤทธิ์ลดความดันเลือดในหนูขาวที่เหนียวนำให้มีความดันเลือดสูงได้โดยกลไกการออกฤทธิ์น่าจะเกิดจากการขยายหลอดเลือด⁽¹⁵⁾ สารสกัดด้วยเอธานอลของบัวบกขนาด 100 มก./กก. มีฤทธิ์ต้านความเครียดเทียบเท่ากับ diazepam 2.5 มก./กก.⁽¹⁶⁾ สารสกัดด้วย 50% เอธานอลของบัวบกมีฤทธิ์กระบบประสาทส่วนกลางและยังมีฤทธิ์ต้านภาวะซึมเศร้า (antidepressant) เช่นเดียวกับ imipramine และ d-amphetamine โดยผ่านทาง D2 receptor และ cholinomimetic action ซึ่งถูก block ด้วย atropine และ chlorpromazine⁽¹⁷⁾ สารสกัดด้วย 95% แอลกอฮอล์ของรากบัวบกสามารถป้องกันการเกิดแผลในกระเพาะของหนูขาวที่เหนียวนำโดยวิธี restraint stress ได้อย่างมีนัยสำคัญ⁽¹⁸⁾ ฤทธิ์ที่น่าสนใจอีกประการหนึ่ง คือสารสกัดด้วยเอธานอลของบัวบกสามารถการยับยั้งเกิดเนื้องอกที่กระตุ้นโดย Epsteinbar virus ในหลอดทดลองได้ดี⁽¹⁹⁾ จากรายงานการศึกษาทางคลินิกพบว่า ขี้ผึ้งหรือผงยาที่มีส่วนผสมของสารสกัดบัวบกช่วยเร่งการหายของแผลได้ ยาเตรียมที่ผสมบัวบกสามารถรักษาแผลเรื้อรังได้ดี สารสกัดบัวบกทำให้แผลไฟไหม้ในระดับ 2 และ 3 หายเร็วขึ้น และป้องกันการหดตัวหรือการบวมที่เกิดจากการติดเชื้อได้ อีกทั้งยังยับยั้งการสร้างแผลเป็นที่เกินกว่าระดับปกติได้⁽¹¹⁾ ในการทดลองใช้ total triterpene fraction จากบัวบกในผู้ที่มีภาวะ venous hypertension ที่มีอาการบวมของข้อเท้าและฝ่าเท้า นั้น พบว่าสารดังกล่าวช่วยลดการเพิ่มความสามารถในการซึมผ่านของหลอดเลือดฝอยและช่วยให้การไหลเวียนของเลือดในหลอดเลือดขนาดเล็กดีขึ้นด้วย⁽²⁰⁾ ผู้ป่วยที่มีแผล ulcer ในกระเพาะอาหารและลำไส้เมื่อได้รับประทาน titrated extract

ของบับกนั้น พบว่าร้อยละ 93 มีอาการดีขึ้นและมีการหายของแผลร้อยละ 70⁽¹⁰⁾ นอกจากนี้มีรายงานว่า เมื่อให้บับกเป็นเวลา 12 สัปดาห์แก่เด็กที่มีปัญหาทางสมองพบว่า เด็กเหล่านี้มีความจำและรูปแบบพฤติกรรมดีขึ้น⁽⁹⁾

จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้นจะเห็นได้ว่าบับกเป็นสมุนไพรที่มีสรรพคุณดีเด่นหลายด้านเหมาะที่จะนำมาพัฒนาเป็นยารักษาโรคอื่น ๆ นอกเหนือไปจากการใช้รักษาแผลที่ผิวหนัง เช่น ยาลดความดันโลหิต ยารักษาแผลในกระเพาะ ยาลดความเครียดลดความวิตกกังวล เป็นต้น ปัจจุบันโรงพยาบาลศูนย์เจ้าพระยาอภัยภูเบศรได้นำผงใบบับกแห้งมาเตรียมเป็นผลิตภัณฑ์รูปแบบแคปซูล โดยมีมุ่งหวังสรรพคุณบำรุงสมอง ช่วยให้เลือดไปเลี้ยงสมองได้ดีขึ้น อย่างไรก็ตามถึงแม้ว่าบับกจะถูกนำมารับประทานเป็นอาหารเป็นเวลานานแล้วก็ตาม แต่ในกระบวนการพัฒนาสมุนไพรบับกเพื่อใช้เป็นยาหรือผลิตภัณฑ์เสริมสุขภาพนั้นจำเป็นต้องผ่านการศึกษาทางพิษวิทยาในสัตว์ทดลอง เนื่องจากข้อมูลทางพิษวิทยาของ สมุนไพรชนิดนี้ยังมีรายงานค่อนข้างน้อย ดังเช่น การศึกษาพิษเฉียบพลันของสารสกัดบับกต่อหนูถีบจักร⁽²¹⁾ และ brine shrimp⁽²²⁾ ที่ไม่พบพิษ แต่มีรายงานบ่งชี้ว่า ส่วนสกัดแอลกอฮอล์จากบับกแสดงฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์แบบ frameshift ต่อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 และ TA 100⁽²³⁾ ดังนั้นกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์โดยความสนับสนุนของกรมพัฒนาการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือกจึงได้ศึกษาพิษเฉียบพลันและพิษเรื้อรังของผงใบบับกเพื่อให้ได้ข้อมูลทางพิษวิทยาเพิ่มขึ้นอันจะเป็นประโยชน์สำหรับใช้เป็นแนวทางในการประเมินความปลอดภัย อีกทั้งยังเป็นการคุ้มครองผู้บริโภคอีกทางหนึ่งด้วย

วัสดุและวิธีการ

สมุนไพรบับก

สำรวจและรวบรวมตัวอย่างบับกจากแหล่งปลูกในพื้นที่จังหวัดนครปฐม นำมาตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์ตามหลักพฤกษอนุกรมวิธาน คือ *Cantella asiatica* (L.) Urban (วงศ์ Umbelliferae) โดยใช้เอกสารจำแนกพรรณพืช^(2,3) และเปรียบเทียบกับตัวอย่างพืชแห่งหมายเลข Maxwell 71-410 ซึ่งจัดเก็บไว้ที่พิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพฯ (BK) อาคารสิรินธร กรมวิชาการเกษตร และได้จัดทำตัวอย่างพืชแห่งในการศึกษา หมายเลข Bansiddhi 46-1 เก็บไว้ที่ห้องปฏิบัติการพฤกษศาสตร์ สถาบันวิจัยสมุนไพร คัดเลือกส่วนที่ใช้ คือ ใบบับกสด

สัตว์ทดลอง

หนูถีบจักรพันธุ์ ICR น้ำหนักตัวระหว่าง 18-22 ก. จำนวน 20 ตัว (เพศละ 10 ตัว) และหนูแรทพันธุ์วิสตาร์ จำนวน 180 ตัว (เพศละ 90 ตัว) เพศผู้ น้ำหนักตัว 200-220 ก. เพศเมีย น้ำหนักตัว 180 -200 ก. ชื่อจากสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ ศาเลา มหาวิทยาลัยมหิดล นำมาเลี้ยงไว้ในห้องสัตว์ทดลองที่ควบคุมสภาวะแวดล้อม (Hygienic conventional room) ของศูนย์สัตว์ทดลอง

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ โดยใช้อาหารสำเร็จรูปของบริษัท เจริญโภคภัณฑ์อาหารสัตว์ จำกัด และให้น้ำกรองที่สะอาดโดยไม่จำกัดปริมาณ

วิธีการศึกษา

การเตรียมสมุนไพรสำหรับการทดสอบพิษ

นำสมุนไพรบับกมาล้างให้สะอาด อบให้แห้งที่อุณหภูมิ 45-50 องศาเซลเซียส บดให้เป็นผงแล้วร่งผ่านตะแกรงเบอร์ 100 เพื่อให้ละเอียดสำหรับใช้ในการเตรียมน้ำยาแขวนตะกอนสำหรับการทดสอบพิษเฉียบพลันและพิษเรื้อรังต่อไป

การตรวจคุณภาพทางเคมีและปริมาณของสารสำคัญ

นำตัวอย่างผงบับกแห้งที่ใช้ทดสอบพิษมาตรวจหาคุณภาพทางเคมี ได้แก่ ปริมาณของความชื้น เถ้ารวม เถ้าที่ไม่ละลายในกรด ปริมาณของสารสกัดด้วยเอทานอล สารสกัดด้วยน้ำ โดยใช้วิธีที่กำหนดไว้ใน Thai Herbal Pharmacopoeia Vol. 1 และตรวจหาสารสำคัญกลุ่ม triterpenes โดยใช้ HPLC ชนิด multisolvent ของ Water รุ่น 600 E และ HPLC column ของ Phenomenex C18 Hyperclone ODS ขนาด (5 μ m, 250x 4.6 mm)

การศึกษาพิษเฉียบพลัน

กรอกน้ำยาแขวนตะกอนผงบับกที่มีความเข้มข้น 1:5 ทางปากให้แก่หนูถีบจักร โดยกลุ่มทดลองจำนวน 10 ตัว (เพศละ 5 ตัว) ได้รับผงบับกขนาด 4 ก./น้ำหนักตัว 1 กก. กรอก 2 ครั้งเช้าและบ่าย ภายใน 1 วัน คิดเป็นขนาดบับกที่ได้รับ 8 ก./กก. ส่วนกลุ่มควบคุมจำนวน 10 ตัวได้รับน้ำกลั่นในปริมาตร 20 มล./กก. 2 ครั้งเช่นกัน จากนั้นสังเกตอาการอย่างใกล้ชิดทุกวัน พร้อมบันทึกจำนวนหนูตาย เมื่อครบกำหนด 14 วันผ่าซากชันสูตรตรวจอวัยวะภายใน จากนั้นเก็บอวัยวะภายใน ได้แก่ สมอง หัวใจ ปอด ตับ ไตและระบบสืบพันธุ์แล้วนำไปเตรียมสไลด์เนื้อเยื่อย้อมด้วยสี H&E เพื่อตรวจหาความผิดปกติทางจุลพยาธิวิทยาโดยพยาธิสัตวแพทย์

การศึกษาพิษเรื้อรัง

แบ่งหนูโดยวิธีสุ่มออกเป็น 6 กลุ่ม แต่ละกลุ่มประกอบด้วยหนูเพศผู้ 15 ตัว และ เพศเมีย 15 ตัว ดังนี้ กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุมกรอกน้ำกลั่นปริมาตร 10 มล./กก./วัน กลุ่มที่ 2 ถึง 5 เป็นกลุ่มทดลอง กรอกผงบับกในน้ำที่ขนาด 20, 200, 600 และ 1200 มก./กก./วัน ตามลำดับ จนครบ 6 เดือน กลุ่มที่ 6 เป็นกลุ่ม recovery (R) ที่ได้รับผงบับกขนาด 1200 มก./กก./วัน จนครบ 6 เดือนเช่นกัน แล้วหยุดยาเป็นเวลา 2 สัปดาห์ เพื่อตรวจดูว่าการเปลี่ยนแปลงหรือความผิดปกติที่เกิดขึ้นจะกลับสู่ปกติหรือไม่ ระหว่างการทดลองสังเกตอาการเปลี่ยนแปลงของหนูทุกวัน บันทึกน้ำหนักตัวและอาหารที่กินสัปดาห์ละ 1 ครั้ง หากมีหนูตายระหว่างทดลอง จะนำมาผ่าซากชันสูตรทันที

เมื่อครบกำหนด 6 เดือนจะเลือกเพื่อตรวจค่าทางโลหิตวิทยา โดยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ รุ่น Cell-Dyn 3500 ของ Abbot® และแยกซีรัมเพื่อตรวจค่าพารามิเตอร์ ทางเคมีคลินิกโดยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Hitachi® รุ่น 912

จากนั้นผ่าซากชั้นสูตรตรวจหาความผิดปกติของอวัยวะภายในทางมหกายวิภาค (gross lesions) ซึ่งนำหน้ากอวัยวะที่สามารถชั่งได้แล้วคำนวณค่าน้ำหนักอวัยวะสัมพันธ์กับอวัยวะตองในน้ำยา 10% บัฟเฟอร์ฟอร์มาลิน นำไปผ่านกระบวนการเตรียมสไลด์ทางจุลกายวิภาคศาสตร์ เพื่อตรวจหาความผิดปกติทางจุลพยาธิวิทยา

ข้อมูลค่าสังเกตที่ได้จากการทดลองวิเคราะห์ด้วยสถิติ one-way ANOVA โดยโปรแกรม SPSS/PC version 9.0 และเปรียบเทียบความแตกต่างด้วย Bonferroni test ส่วนปฏิบัติการของการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยา ใช้ Fisher exact ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ผล

การตรวจคุณภาพและสารกลุ่ม triterpenes ของบัวบก

สมุนไพรบัวบกที่ใช้ในการศึกษาพืชครั้งนี้มีคุณภาพผ่านเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดไว้ใน Thai Herbal Pharmacopoeia (THP) ส่วนปริมาณสารกลุ่ม Triterpenes ซึ่งเป็นสารสำคัญในบัวบกนั้น ยังไม่มีข้อกำหนดใน THP ผลการตรวจคุณภาพทางเคมีและ triterpenes แสดงไว้ในตารางที่ 1

การศึกษาพิษเฉียบพลัน

ผลการศึกษาพิษเฉียบพลันของผงบัวบก โดยกรอกน้ำยาแขวนตะกอนของผงบัวบกให้แก่หนูถีบจักร ในขนาด 4 ก./กก.(เป็นขนาดที่สามารถให้ได้สูงสุดใน 1 ครั้ง) โดยกรอก 2 ครั้ง ใน 1 วัน พบว่า หนูถีบจักรไม่แสดงอาการผิดปกติใดๆ เมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับน้ำกลั่น และเมื่อครบกำหนด 14 วัน ไม่มีหนูตาย ดังนั้นขนาดที่ทำให้หนูถีบจักรตายร้อยละ 50 หรือ LD₅₀ ควรมีค่ามากกว่า 8 ก./กก. จากการผ่าซากชั้นสูตรก็ไม่พบความผิดปกติของอวัยวะภายในทางมหกายวิภาค ผลการตรวจอวัยวะภายในทางจุลพยาธิวิทยาพบการเปลี่ยนแปลงในบางอวัยวะได้ทั้งหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองอย่างไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 2) ดังนั้นจึงไม่อาจกล่าวว่าเป็นการเปลี่ยนแปลงที่เกิดจากสมุนไพรบัวบก

การทดสอบพิษเรื้อรัง

ผลต่อน้ำหนักอวัยวะสัมพันธ์ น้ำหนักตัว การกินอาหาร และสุขภาพทั่วไป

หนูทุกกลุ่มที่ได้รับผงบัวบกมีน้ำหนักอวัยวะสัมพันธ์ น้ำหนักตัวเมื่อเริ่มต้นและสิ้นสุดการทดลองไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 3 และ 4) ในระหว่างการทดลองพบว่า หนูทุกกลุ่มที่ได้รับบัวบกมีค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัวและปริมาณอาหารที่กินไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญในทุกสัปดาห์ (ไม่ได้แสดงผล) นอกจากนี้ไม่พบอาการผิดปกติใดๆ ที่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ส่วนหนูที่ตายระหว่างทดลองเมื่อผ่าซากพบว่า กรอกยาพลาดเข้าสู่ปอด

ผลต่อค่าทางโลหิตวิทยา

หนูกลุ่มที่ได้รับผงบัวบกทั้งหมดมีค่าทางโลหิตวิทยาส่วนใหญ่ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ยกเว้นหนูเพศผู้ที่ได้รับผงบัวบกขนาด 600 และ 1200 มก./กก. มีจำนวนเม็ดเลือดขาวต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) ดังแสดงไว้ในตารางที่ 5 และ 6

ผลต่อค่าทางเคมีคลินิก

หนูเพศผู้ที่ได้รับผงบัวบก 600 มก./กก.ขึ้นไป รวมทั้งกลุ่ม recovery มีระดับโซเดียมและคลอไรด์สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ส่วนในหนูเพศเมียนั้นพบว่า กลุ่มที่ได้รับผงบัวบก 1200 มก./กก. มีระดับโซเดียมสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 7 และ 8)

ผลต่อการเปลี่ยนแปลงอวัยวะทางจุลพยาธิวิทยา

หนูเพศผู้ที่ได้รับผงบัวบกขนาด 200 และ 1200 ก./กก. มีอุบัติการณ์พบหย่อม lymphoid cells รอบหลอดลมเล็กลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$). หนูเพศผู้กลุ่มที่ได้รับผงบัวบก 600 และ 1200 มก./กก. มีอุบัติการณ์ของการสะสม protein cast ปริมาณเล็กน้อยที่ sinusoid ของตับอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ส่วนเพศเมียกลุ่มที่ได้รับผงบัวบก 200 และ 1200 มก./กก. นั้นพบ protein cast ได้กลุ่มละ 2 ตัว หนูเพศผู้ที่ได้รับผงบัวบกขนาด 200 มก./กก.ขึ้นไปมีอุบัติการณ์ของการสะสมไขมันจำนวนเล็กน้อยที่ต่อมหมวกไตส่วนนอกสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 9 และ 10)

วิจารณ์

จากการศึกษาพิษเฉียบพลันโดยกรอกผงบัวบกขนาด 8 ก./กก. ภายใน 1 วัน แก่หนูถีบจักรพบว่า สมุนไพรวัวบกไม่ทำให้เกิดอาการพิษใดๆ และสัตว์ทดลองไม่ตาย นอกจากนี้ไม่พบว่ามีก่อให้เกิดพยาธิสภาพของอวัยวะภายใน ดังนั้นขนาดของบัวบกที่ใช้ในการศึกษาค้างนี้มีค่า LD₅₀ มากกว่า 8 ก./กก. หรือคิดเป็น 400 เท่าของขนาดที่ใช้ในคน

ผลการศึกษาพิษเรื้อรังโดยกรอกผงบัวบกทางปากแก่หนูแรทในขนาด 20, 200, 600 และ 1200 มก./กก. หรือคิดเป็น 1, 10, 30 และ 60 เท่าของขนาดที่ใช้ในคน แสดงให้เห็นว่า บัวบกไม่มีผลกระทบต่อน้ำหนักตัว การกินอาหาร และน้ำหนักอวัยวะสัมพันธ์ของหนูแรท หนูที่ได้รับบัวบกมีค่าทางโลหิตวิทยาเกือบทั้งหมดไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ยกเว้นหนูเพศผู้ที่ได้รับบัวบกขนาด 600 และ 1200 มก./กก. มีค่าเฉลี่ยของจำนวนเม็ดเลือดขาวต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงนี้ในหนูเพศเมียที่ได้รับผงบัวบกขนาดเท่ากัน ซึ่งอาจเป็นการตอบสนองที่แตกต่างเนื่องจากเพศ (gender difference) แต่เมื่อหยุดให้บัวบก 2 สัปดาห์พบว่า กลุ่ม recovery มีจำนวนเม็ดเลือดขาวสูงขึ้นและไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากกลุ่มควบคุม จากการตรวจเคมีคลินิกในเลือดหนูแรทที่ได้รับผงบัวบกพบว่า มีระดับน้ำตาลกลูโคสและโคเลสเตอรอลไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม แต่ในคนมีรายงานว่า asiaticoside ทำให้เกิดภาวะน้ำตาลและไขมันในเลือดสูงซึ่งเป็นข้อควรระวังเมื่อใช้บัวบกร่วมกับยาลดน้ำตาลและยาลดไขมัน⁽²⁴⁾ ระดับโซเดียมและคลอไรด์ที่สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในหนูเพศผู้กลุ่มที่ได้รับผงบัวบก 600 และ 1200 มก./กก. และระดับโซเดียมที่สูงขึ้นในเพศเมียที่ได้รับผงบัวบกขนาด 1200 มก./กก. นั้นจัดเป็นการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยและอยู่ในช่วงค่าปกติของหนูแรทวิสตาร์⁽²⁵⁾

การเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาของหัวใจ ปอด กระเพาะอาหาร และ ลำไส้ มีอุบัติการณ์อย่างไม่สัมพันธ์กับขนาดของบับวกที่ให้ จึงไม่อาจกล่าวได้ว่าเกิดจากผงบับวก การสะสมของ protein cast ปริมาณเล็กน้อยใน sinusoids ที่ตับของหนูเพศผู้ที่ได้รับบับวก 600 และ 1200 มก./กก. มีอุบัติการณ์สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ อาจจะเป็นองค์ประกอบทางเคมีบางอย่างของบับวกที่ถูกดูดซึมผ่านทางเดินอาหารทาง portal vessel มายัง sinusoids ที่ตับ ผลการตรวจค่าเคมีคลินิกที่เกี่ยวข้องกับตับช่วยบ่งชี้ว่า บับวกไม่ก่อให้เกิดความเสียหายต่อการทำหน้าที่ของเซลล์ตับแต่อย่างใด อีกทั้งอุบัติการณ์และความรุนแรงของการเสื่อมของเซลล์ตับแบบ fatty degeneration ในหนูเพศผู้ที่ได้รับผงบับวกก็ไม่แตกต่างจากหนูกลุ่มควบคุมแต่อย่างใดและหนูเพศเมียกลุ่มที่ได้รับผงบับวกก็ไม่พบการเสื่อมของเซลล์ตับแต่อย่างใด ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่า บับวกไม่ทำให้เกิดพิษต่อตับ การสะสมของไขมันปริมาณเล็กน้อย ที่ต่อมหมวกไตส่วนนอกมีอุบัติการณ์สูงขึ้นไปในหนูเพศผู้ที่ได้รับผงบับวกขนาดตั้งแต่ 200 มก./กก. ขึ้นไป อาจเกิดจากการสะสมของฮอร์โมนสเตอรอยด์เนื่องจากบับวกมีผลทำให้เกิด corti-costeroid-sparing effect ในหนูแรทภายใต้สภาวะเครียด⁽²⁶⁾ อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนแปลงนี้ไม่ได้มีความรุนแรงที่เพิ่มขึ้นตามขนาดบับวกที่ได้รับ ส่วนในหนูเพศเมียไม่พบว่ามี การสะสมของไขมันที่ต่อมหมวกไตซึ่งอาจเนื่องจากการตอบสนองที่แตกต่างกันระหว่างเพศ (gender-difference)

สรุป

การศึกษาพิษเฉียบพลันของสมุนไพรวบวักในหนูถีบจักรโดยกรอกผงบับวกทางปากในขนาด 4 ก./กก. เข้าและบ่าย คิดเป็นขนาดที่ได้รับใน 1 วัน คือ 8 ก./กก. พบว่า ไม่ทำให้เกิดอาการผิดปกติใดๆ ไม่ทำให้หนูตาย และไม่ทำให้เกิดความผิดปกติทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่ออวัยวะภายในขนาดของบับวกที่ทำให้หนูถีบจักรตายร้อยละ 50 มีค่ามากกว่า 8 ก./กก

ผลการศึกษาพิษเรื้อรังของบับวกโดยกรอกผงบับวกทางปากให้แก่หนูแรทวิสตาร์ 6 กลุ่ม เป็นระยะเวลา 6 เดือน โดยกลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุมด้วยน้ำ กลุ่มที่ 2 ถึง 5 ได้รับบับวกขนาด 20, 200, 600 และ 1200 มก./กก./วัน และกลุ่มที่ 6 เป็นกลุ่ม high recovery ที่ขนาด 1200 มก./กก. พบว่า สมุนไพรวบวักไม่มีผลต่อค่าเฉลี่ยของน้ำหนักตัว ปริมาณอาหารที่หนูกิน และสุขภาพทั่วไป หนูกลุ่มทดลองบับวกมีค่าทางโลหิตวิทยาเกือบทั้งหมดไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ยกเว้นหนูเพศผู้ที่ได้รับบับวกขนาด 600 และ 1200 มก./กก. มีจำนวนเม็ดเลือดขาวต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญและเมื่อหยุดให้บับวก 2 สัปดาห์พบว่า มีจำนวนเม็ดเลือดขาวเพิ่มขึ้น หนูเพศผู้ที่ได้รับบับวกขนาด 600 มก./กก. ขึ้นไปมีระดับโซเดียมและคลอไรด์เพิ่มขึ้นเล็กน้อย ส่วนเพศเมียที่ได้รับบับวกขนาด 1200 มก./กก. มีโซเดียมสูงขึ้นเล็กน้อยเช่นกัน อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนแปลงนี้ยังคงอยู่ในภาวะปกติ ผลการตรวจทางจุลพยาธิวิทยาของอวัยวะภายใน ไม่อาจกล่าวได้ว่า บับวกทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่ผิดปกติใดๆ อย่างไรก็ตามการรับประทานใบบับวกเป็นเวลานานต่อเนื่องควรมีการตรวจเลือดทางโลหิตวิทยาและเคมีคลินิกร่วมด้วยเป็นระยะเพื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงที่อาจเกิดขึ้นได้

กิติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ สถาบันการแพทย์แผนไทย กรมพัฒนาการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือกกระทรวงสาธารณสุข ที่ให้ทุนสนับสนุนโครงการวิจัยความเป็นพิษของสมุนไพรบัวบก ประจําปีงบประมาณ 2546 และขอขอบคุณ นางสาวรุ่งตะวัน อัครมันคง นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ ที่ช่วยสังเกตอาการสัตว์ทดลองและช่วยวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ รวมทั้งเจ้าหน้าที่กลุ่มสัตว์ทดลอง สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุขที่ช่วยเตรียมห้องสัตว์ทดลองและอุปกรณ์ที่จำเป็น

ตารางที่ 1 ผลการตรวจคุณภาพทางเคมีและปริมาณสารกลุ่ม Triterpenes ของผงบัวบก

| ปริมาณ | % (w/w) |
|----------------------|---------|
| ความชื้น | 9.3 |
| เถ้ารวม | 11.89 |
| เถ้าที่ไม่ละลายในกรด | 0.12 |
| สารสกัดด้วยเอทานอล | 16.60 |
| สารสกัดด้วยน้ำ | 29.16 |
| Asiaticoside | 0.0147 |
| Asiatic acid | 0.0110 |
| Madecassoside | 0.0792 |
| Madecassic acid | 0.0182 |

ตารางที่ 2 ผลการตรวจเนื้อเยื่ออวัยวะทางจุลพยาธิวิทยาของหนูถีบจักรที่ทดสอบพิษเฉียบพลันของผงบัวบก

| อวัยวะ | การเปลี่ยนแปลงที่พบ | หนูถีบจักร | | |
|---------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|----|
| | | กลุ่มควบคุม (n=10) | กลุ่มทดลอง (n=10) | |
| สมอง | NRL | | | |
| หัวใจ | NRL | | | |
| ปอด | Hemorrhage | 1/10 | 3/10 | NS |
| | Congestion | 1/10 | 1/10 | NS |
| ตับ | Hydropic degeneration | 3/10 | 6/10 | NS |
| ไต | Congestion | 6/10 | 6/10 | NS |
| ระบบสืบพันธุ์ | NRL | | | |

NRL= No remarkable lesions

NS = Not statistically significant from control group(p≥0.05)

ตารางที่ 3 น้ำหนักตัว (กรัม) และน้ำหนักอวัยวะสัมพันธ์ (%) ของหนูแรทเพศผู้ที่ได้รับผงบัวบกเป็นเวลา 6 เดือน

| | กลุ่มหนูที่ได้รับผงบัวบก (มก./กก./วัน) | | | | | |
|--------------------|----------------------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | 0 | 20 | 200 | 600 | 1200 | 1200-R |
| | n=15 | n=15 | n=15 | n=15 | n=14 | n=14 |
| น้ำหนักตัวเริ่มต้น | 205.26±11.54 | 203.13±11.66 | 203.86±15.11 | 205.10±10.00 | 205.34±10.10 | 199.14±6.16 |
| น้ำหนักตัวสุดท้าย | 622.39±57.65 | 616.10±48.99 | 611.56±68.97 | 598.71±55.28 | 647.65±78.98 | 576.04±63.66 |
| สมอง | 0.35±0.03 | 0.35±0.04 | 0.35±0.03 | 0.36±0.03 | 0.34±0.04 | 0.35±0.10 |
| หัวใจ | 0.24±0.02 | 0.24±0.02 | 0.24±0.01 | 0.24±0.02 | 0.23±0.01 | 0.25±0.03 |
| ปอด | 0.28±0.02 | 0.27±0.04 | 0.28±0.03 | 0.28±0.02 | 0.27±0.03 | 0.29±0.03 |
| กระเพาะอาหาร | 0.36±0.03 | 0.36±0.03 | 0.35±0.03 | 0.36±0.03 | 0.36±0.02 | 0.37±0.03 |
| ตับ | 2.38±0.16 | 2.42±0.16 | 2.35±0.16 | 2.30±0.18 | 2.34±0.23 | 2.44±0.16 |
| ไตซ้าย | 0.21±0.01 | 0.20±0.02 | 0.20±0.02 | 0.20±0.02 | 0.19±0.02 | 0.21±0.02 |
| ไตขวา | 0.21±0.02 | 0.21±0.02 | 0.21±0.02 | 0.21±0.02 | 0.20±0.02 | 0.22±0.02 |
| ม้าม | 0.17±0.01 | 0.17±0.03 | 0.17±0.02 | 0.17±0.02 | 0.16±0.02 | 0.17±0.01 |
| กระเพาะปัสสาวะ | 0.029±0.006 | 0.030±0.004 | 0.031±0.005 | 0.029±0.005 | 0.029±0.005 | 0.031±0.007 |
| อวัยวะซ้าย | 0.52 ± 0.05 | 0.51 ± 0.08 | 0.53 ± 0.06 | 0.52 ± 0.07 | 0.51 ± 0.06 | 0.52 ± 0.09 |
| อวัยวะขวา | 0.52±0.05 | 0.52±0.05 | 0.53±0.05 | 0.52±0.06 | 0.50±0.05 | 0.51±0.09 |

ค่าในตารางแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

*แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

ตารางที่ 4 น้ำหนักตัว (กรัม) และน้ำหนักอวัยวะสัมพันธ์ (%) ของหนูแรทเพศเมียที่ได้รับผงบัวบกเป็นเวลา 6 เดือน

| | กลุ่มหนูที่ได้รับผงบัวบก (มก./กก./วัน) | | | | | |
|--------------------|----------------------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | 0 | 20 | 200 | 600 | 1200 | 1200-R |
| | n=15 | n=15 | n=15 | n=13 | n=14 | n=14 |
| น้ำหนักตัวเริ่มต้น | 162.74±9.32 | 163.89±6.44 | 160.87±8.40 | 161.50±7.17 | 159.52±9.57 | 163.01±10.45 |
| น้ำหนักตัวสุดท้าย | 324.44±42.33 | 329.53±22.21 | 311.37±31.47 | 310.61±24.44 | 320.87±29.94 | 311.85±19.84 |
| สมอง | 0.62±0.07 | 0.62±0.05 | 0.64±0.05 | 0.64±0.05 | 0.62±0.11 | 0.62±0.10 |
| หัวใจ | 0.29±0.03 | 0.29±0.03 | 0.28±0.03 | 0.29±0.03 | 0.30±0.02 | 0.28±0.02 |
| ปอด | 0.38±0.05 | 0.40±0.02 | 0.37±0.03 | 0.39±0.03 | 0.39±0.04 | 0.38±0.04 |
| กระเพาะอาหาร | 0.48±0.05 | 0.49±0.02 | 0.47±0.03 | 0.51±0.06 | 0.53±0.13 | 0.48±0.04 |
| ตับ | 2.26±0.21 | 2.39±0.28 | 2.19±0.18 | 2.30±0.20 | 2.40±0.23 | 2.26±0.14 |
| ไตซ้าย | 0.23±0.02 | 0.24±0.02 | 0.23±0.02 | 0.24±0.02 | 0.24±0.01 | 0.24±0.02 |
| ไตขวา | 0.25±0.03 | 0.26±0.02 | 0.25±0.02 | 0.25±0.02 | 0.25±0.02 | 0.25±0.01 |
| ม้าม | 0.21±0.03 | 0.22±0.03 | 0.20±0.03 | 0.22±0.03 | 0.21±0.03 | 0.19±0.02 |
| กระเพาะปัสสาวะ | 0.027±0.004 | 0.030±0.005 | 0.027±0.004 | 0.027±0.005 | 0.026±0.003 | 0.025±0.005 |
| มดลูก | 0.23±0.09 | 0.21±0.06 | 0.23±0.07 | 0.21±0.08 | 0.22±0.06 | 0.21±0.04 |
| รังไข่ซ้าย | 0.018±0.006 | 0.016±0.005 | 0.018±0.004 | 0.019±0.005 | 0.018±0.005 | 0.018±0.004 |
| รังไข่ขวา | 0.017±0.006 | 0.017±0.005 | 0.019±0.005 | 0.017±0.004 | 0.018±0.007 | 0.017±0.005 |

ค่าในตารางแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

*แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

ตารางที่ 5 ผลการตรวจค่าทางโลหิตวิทยาของหนูแรทเพศผู้ที่ได้รับผงบัวบกเป็นเวลา 6 เดือน

| พารามิเตอร์ | กลุ่มหนูที่ได้รับผงบัวบก (มก./กก./วัน) | | | | | |
|---------------------------------------|----------------------------------------|--------------|---------------|--------------|---------------|---------------|
| | 0 | 20 | 200 | 600 | 1200 | 1200-R |
| | n=15 | n=15 | n=15 | n=15 | n=14 | n=14 |
| Hematocrit(%) | 48.00±1.73 | 47.17±4.07 | 43.92±12.30 | 46.68±1.45 | 44.28±12.31 | 45.55±12.69 |
| Hemoglobin (g/dl) | 15.65±0.48 | 15.76±0.34 | 14.43±4.03 | 15.38±0.39 | 14.47±4.01 | 14.64±4.09 |
| RBC (x10 ⁶ cells/ μ L) | 9.07±0.36 | 9.00±0.26 | 8.23±2.31 | 8.85±0.31 | 8.37±2.33 | 8.55±2.41 |
| MCV (fl/red cell) | 52.95±1.17 | 53.54±1.63 | 49.87±13.89 | 52.79±1.62 | 49.37±13.70 | 49.75±13.87 |
| MCH (pg/red cell) | 17.29±0.58 | 17.52±0.44 | 16.38±4.57 | 17.40±0.54 | 16.13±4.47 | 16.00±4.47 |
| MCHC (g/dl RBC) | 32.63±0.68 | 32.73±0.34 | 30.66±8.49 | 32.97±0.41 | 30.51±8.46 | 30.02±8.32 |
| WBC (K/ μ L) | 5.39±1.35 | 4.07±1.18 | 4.05±1.35 | 3.89±1.16* | 3.78±1.39*± | 4.36±1.57* |
| Neutrophil (%) | 14.19±3.70 | 15.94±5.54 | 19.12±8.39 | 19.62±4.52 | 20.58±9.81 | 18.87±8.18 |
| Eosinophil (%) | 1.34±0.13 | 1.53±0.88 | 1.37±0.59 | 1.43±0.64 | 1.60±0.81 | 1.56±0.73 |
| Lymphocyte (%) | 77.67±5.36 | 74.02±9.69 | 66.40±20.15 | 72.39±5.75 | 63.67±19.53 | 63.58±20.65 |
| Monocyte (%) | 5.10±2.34 | 6.50±3.99 | 5.02±2.40 | 4.95±2.02 | 5.75±2.69 | 6.31±5.58 |
| Basophil (%) | 1.71±0.77 | 2.01±0.93 | 1.49±1.26 | 1.60±0.85 | 1.73±1.04 | 2.32±2.40 |
| Platelet (K/ μ L) | 1003.10±47.72 | 971.37±62.62 | 857.80±252.25 | 955.60±67.64 | 930.43±265.89 | 920.73±265.36 |

ค่าในตารางแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

*แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

ตารางที่ 6 ผลการตรวจค่าทางโลหิตวิทยาของหนูแรทเพศเมียที่ได้รับผงบัวบกเป็นเวลา 6 เดือน

| พารามิเตอร์ | กลุ่มหนูที่ได้รับผงบัวบก (มก./กก./วัน) | | | | | |
|---------------------------------------|----------------------------------------|--------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| | 0 | 20 | 200 | 600 | 1200 | 1200-R |
| | n=14 [#] | n=15 | n=15 | n=13 | n=14 | n=14 |
| Hematocrit(%) | 43.29±12.15 | 46.61±2.10 | 44.90±1.94 | 39.96±16.30 | 42.28±11.89 | 43.04±11.99 |
| Hemoglobin (g/dl) | 14.26±3.99 | 15.32±0.62 | 14.86±0.57 | 13.19±5.38 | 13.96±3.92 | 14.16±3.96 |
| RBC (x10 ⁶ cells/ μ L) | 7.43±2.07 | 7.99±0.48 | 7.94±0.46 | 6.90±2.82 | 7.23±2.04 | 7.40±2.07 |
| MCV (fl/red cell) | 54.34±15.16 | 58.44±2.43 | 56.65±1.37 | 50.28±20.52 | 54.64±15.26 | 54.30±15.09 |
| MCH (pg/red cell) | 17.92±5.00 | 19.22±0.79 | 18.76±0.58 | 16.61±6.78 | 18.06±5.03 | 17.86±4.97 |
| MCHC (g/dl RBC) | 30.76±8.53 | 32.89±0.42 | 33.11±0.45 | 28.63±11.63 | 30.85±8.54 | 30.70±8.50 |
| WBC (K/ μ L) | 1.75±1.02 | 2.16±0.75 | 1.96±0.77 | 2.10±1.23 | 2.91±2.16 | 1.83±0.67 |
| Neutrophil (%) | 18.05±10.39 | 18.49±10.03 | 17.57±4.94 | 16.20±10.58 | 19.16±16.24 | 15.36±5.66 |
| Eosinophil (%) | 1.55±0.87 | 1.59±0.67 | 1.28±0.45 | 1.21±0.75 | 0.90±0.56 | 1.25±0.70 |
| Lymphocyte (%) | 68.63±21.73 | 73.38±12.37 | 76.13±6.83 | 65.65±27.90 | 69.27±24.97 | 70.96±20.33 |
| Monocyte (%) | 3.97±2.27 | 5.10±2.51 | 3.83±2.19 | 2.73±1.78 | 3.11±1.58 | 4.36±2.37 |
| Basophil (%) | 1.13±0.88 | 1.45±0.87 | 1.19±0.69 | 0.89±0.58 | 0.90±0.59 | 1.40±0.66 |
| Platelet (K/ μ L) | 794.23±246.66 | 943.20±89.09 | 968.70±132.12 | 786.10±327.97 | 861.17±252.81 | 827.33±260.86 |

ค่าในตารางแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

*แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

เจาะเลือดไม่ได้ 1 ตัว

ตารางที่ 7 ผลการตรวจค่าทางเคมีคลินิกของหนูแรทเพศผู้ที่ได้รับผงบัวบกเป็นเวลา 6 เดือน

| พารามิเตอร์ | กลุ่มหนูที่ได้รับผงบัวบก (มก./กก./วัน) | | | | | |
|----------------------|----------------------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | 0 | 20 | 200 | 600 | 1200 | 1200-R |
| | n=15 | n=15 | n=15 | n=13 | n=14 | n=14 |
| AST (U/L) | 80.20±13.09 | 77.53±9.23 | 74.40±12.52 | 77.40±11.70 | 78.35±7.97 | 75.86±7.66 |
| ALT (U/L) | 34.40±8.34 | 32.67±4.29 | 28.67±5.00 | 33.27±5.26 | 31.07±4.57 | 34.50±4.03 |
| ALP (U/L) | 53.60±7.74 | 52.87±10.71 | 52.27±9.67 | 55.53±11.66 | 53.93±9.36 | 53.78±8.63 |
| Total protein (g/dl) | 6.65±0.20 | 6.61±0.24 | 6.50±0.21 | 6.53±0.21 | 6.67±0.25 | 6.81±0.30 |
| Albumin (g/dl) | 4.29±0.11 | 4.30±0.10 | 4.34±0.11 | 4.31±0.11 | 4.41±0.15 | 4.37±0.16 |
| Globulin (g/dl) | 2.36±0.22 | 2.32±0.21 | 2.16±0.18 | 2.21±0.18 | 2.26±0.16 | 2.43±0.20 |
| Bilirubin (mg/dl) | 0.043±0.023 | 0.047±0.020 | 0.047±0.025 | 0.045±0.026 | 0.048±0.021 | 0.057±0.029 |
| BUN (mg/dl) | 18.64±2.20 | 18.42±2.67 | 17.75±2.05 | 17.11±2.21 | 17.68±1.59 | 19.31±2.28 |
| Creatinine (mg/dl) | 0.73±0.05 | 0.73±0.06 | 0.71±0.06 | 0.69±0.04 | 0.70±0.06 | 0.73±0.04 |
| Glucose (mg/dl) | 195.75±49.63 | 185.54±40.21 | 174.33±34.30 | 172.64±22.33 | 183.70±23.07 | 192.82±30.64 |
| Uric acid (g/dl) | 2.04±1.78 | 1.81±1.13 | 1.96±1.46 | 1.49±0.53 | 1.56±0.76 | 1.96±1.12 |
| Triglyceride (mg/dl) | 142.84±31.65 | 143.24±50.03 | 129.44±27.25 | 113.78±24.80 | 128.37±22.55 | 130.18±45.79 |
| Cholesterol (mg/dl) | 79.98±11.69 | 74.96±11.20 | 68.56±10.04 | 66.58±13.25 | 69.83±13.19 | 72.91±18.01 |
| Sodium (mmol/l) | 146.33±1.54 | 146.87±1.13 | 147.07±1.10 | 147.80±1.32* | 148.29±1.14* | 148.14±1.29* |
| Potassium (mmol/l) | 5.56±0.97 | 5.27±0.85 | 5.31±1.03 | 4.95±0.68 | 4.86±0.68 | 5.08±0.77 |
| Chloride (mmol/l) | 108.93±1.58 | 109.33±0.98 | 110.00±1.13 | 110.67±1.50* | 110.50±1.02* | 111.07±1.33* |

ค่าในตารางแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

*แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

ตารางที่ 8 ผลการตรวจค่าทางเคมีคลินิกของหนูแรทเพศเมียที่ได้รับผงบัวบกเป็นเวลา 6 เดือน

| พารามิเตอร์ | กลุ่มหนูที่ได้รับผงบัวบก (มก./กก./วัน) | | | | | |
|----------------------|----------------------------------------|--------------|--------------|---------------|--------------|--------------|
| | 0 | 20 | 200 | 600 | 1200 | 1200-R |
| | n=14 [#] | n=15 | n=15 | n=13 | n=14 | n=14 |
| AST (U/L) | 79.85±13.20 | 71.80±16.33 | 76.87±13.62 | 75.38±10.97 | 80.43±18.35 | 78.50±12.51 |
| ALT (U/L) | 29.79±10.52 | 24.87±8.47 | 27.07±7.95 | 26.85±5.93.48 | 30.21±11.00 | 27.21±7.96 |
| ALP (U/L) | 21.07±4.65 | 19.87±3.79 | 20.67±5.73 | 20.38±6.23 | 22.36±5.60 | 20.79±4.98 |
| Total protein (g/dl) | 6.80±0.30 | 6.93±0.30 | 6.83±0.30 | 6.75±0.25 | 6.87±0.55 | 6.97±0.33 |
| Albumin (g/dl) | 4.90±0.22 | 4.92±0.24 | 4.94±0.19 | 4.88±0.24 | 4.99±0.64 | 4.99±0.32 |
| Globulin (g/dl) | 1.90±0.20 | 2.02±0.15 | 1.89±0.18 | 1.86±0.20 | 1.94±0.12 | 1.97±0.08 |
| Bilirubin (mg/dl) | 0.09±0.04 | 0.08±0.03 | 0.09±0.05 | 0.07±0.03 | 0.07±0.05 | 0.08±0.03 |
| BUN (mg/dl) | 18.48±2.62 | 19.27±2.09 | 20.60±4.08 | 20.03±2.11 | 21.59±3.95 | 18.86±2.35 |
| Creatinine (mg/dl) | 0.75±0.04 | 0.75±0.07 | 0.79±0.09 | 0.77±0.05 | 0.79±0.09 | 0.75±0.05 |
| Glucose (mg/dl) | 142.24±23.46 | 146.22±16.57 | 134.82±13.69 | 135.29±20.28 | 144.93±24.22 | 144.23±19.44 |
| Uric acid (g/dl) | 0.93±0.57 | 1.29±1.04 | 0.88±0.39 | 0.75±0.32 | 0.92±0.39 | 0.81±0.27 |
| Triglyceride (mg/dl) | 58.50±29.04 | 64.39±23.51 | 48.93±13.00 | 47.57±13.62 | 61.24±25.49 | 75.92±50.06 |
| Cholesterol (mg/dl) | 60.53±14.89 | 70.11±15.66 | 54.81±11.56 | 57.85±12.61 | 64.92±13.45 | 60.63±16.95 |
| Sodium (mmol/l) | 145.57±1.65 | 145.73±1.62 | 146.53±1.13 | 146.85±1.46 | 147.36±1.50* | 147.07±0.73 |
| Potassium (mmol/l) | 4.74±0.60 | 5.02±1.19 | 4.41±0.67 | 4.40±0.50 | 4.36±0.67 | 4.10±0.60 |
| Chloride (mmol/l) | 111.71±1.94 | 111.20±1.52 | 112.13±1.64 | 112.46±1.33 | 111.93±1.33 | 112.29±0.83 |

ค่าในตารางแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

*แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

เจาะเลือดไม่ได้ 1 ตัว

ตารางที่ 9 ผลการตรวจเนื้อเยื่ออวัยวะทางจุลพยาธิวิทยาของหนูแรทเพศผู้ที่ได้รับผงบัวบกเป็นเวลา 6 เดือน

| อวัยวะ | การเปลี่ยนแปลงที่พบ | ขนาดของผงบัวบก(มก./กก./วัน) | | | | | |
|--------------|-----------------------------------------|-----------------------------|------------|-------------|-------------|--------------|----------------|
| | | 0 n=15 | 20 n=15 | 200 n=15 | 600 n=15 | 1200 n=14 | 1200-R n=14 |
| ปอด | Lymphoid proliferated peribronchioles | 13/15 | 11/15 | 7/15* | 11/15 | 7/14* | 11/14 |
| หัวใจ | Focal myocardiosis (+1) | 0/15 | 0/15 | 2/15 | 4/15 | 2/14 | 0/14 |
| ตับ | Hepatocyte fatty degeneration | 5/15 | 9/15 | 10/15 | 8/15 | 8/14 | 6/14 |
| | Protein cast deposited in sinusoids(+1) | 0/15 | 0/15 | 0/15 | 6/15* | 7/14* | 0/14 |
| กระเพาะอาหาร | Submucosal edema with PMN infiltration | 0/15 | 0/15 | 1/15 | 0/15 | 0/14 | 0/14 |
| ลำไส้เล็ก | Lymphoid aggregated in submucosa | 1/15 | 2/15 | 2/15 | 1/15 | 1/14 | 5/14 |
| ลำไส้ใหญ่ | | 4/15 | 5/15 | 2/15 | 3/15 | 1/14 | 1/14 |
| อวัยวะ | No remarkable lesion | | | | | | |
| ต่อมหมวกไต | Cortical fatty degeneration (+1) | 1/15 | 3/15 | 8/15* | 6/15* | 12/14* | 4/14 |

ตัวเลขในตารางแสดงในรูปของ จำนวนหนูที่ตรวจพบพยาธิสภาพ / จำนวนหนูทั้งหมดในกลุ่ม

* แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ p<0.05

+1 หมายถึง การเปลี่ยนแปลงพบเพียงเล็กน้อย (mild degree)

ตารางที่ 10 ผลการตรวจเนื้อเยื่ออวัยวะทางจุลพยาธิวิทยาของหนูแรทเพศเมียที่ได้รับผงบัวบกเป็นเวลา 6 เดือน

| อวัยวะ | การเปลี่ยนแปลงที่พบ | ขนาดของผงบัวบก(มก./กก./วัน) | | | | | |
|-----------|-------------------------------------------|-----------------------------|------------|-------------|-------------|--------------|----------------|
| | | 0 n=15 | 20 n=15 | 200 n=15 | 600 n=13 | 1200 n=14 | 1200-R n=14 |
| ปอด | Lymphoid proliferated peribronchioles | 8/15 | 9/15 | 3/15 | 8/13 | 7/14 | 3/14 |
| กระเพาะ | Chronic gastritis and mucosal hyperplasia | 0/15 | 0/15 | 0/15 | 0/13 | 1/14 | 0/14 |
| ตับ | Protein cast deposited in sinusoids(+1) | 0/15 | 0/15 | 2/15 | 0/13 | 2/14 | 0/14 |
| ไต | Chronic pyelitis | 0/15 | 0/15 | 0/15 | 1/13 | 0/14 | 0/14 |
| | Pelvic dilatation | 0/15 | 0/15 | 1/15 | 1/13 | 0/14 | 0/14 |
| ลำไส้เล็ก | Lymphoid aggregated in submucosa | 2/15 | 2/15 | 4/15 | 0/13 | 2/14 | 5/14 |
| ลำไส้ใหญ่ | | 5/15 | 3/15 | 0/15 | 5/13 | 3/14 | 3/14 |

ตัวเลขในตารางแสดงในรูปของ จำนวนหนูที่ตรวจพบพยาธิสภาพ / จำนวนหนูทั้งหมดในกลุ่ม

* แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ p<0.05

+1 การเปลี่ยนแปลงพบเพียงเล็กน้อย (mild degree)

เอกสารอ้างอิง

1. ลีนา ผู้พัฒนาพงศ์ ก่องกานดา ชยามฤต และ ชีรวัดน์ บุญทวีคุณ (บรรณาธิการ) ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย (เต็ม สมิตินันท์ ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม พ.ศ. 2544) ส่วนพฤกษศาสตร์ป่าไม้ กรมป่าไม้ บริษัทประชาชน จำกัด กรุงเทพฯ 2544. หน้า 118.
2. Hedge IC, Lamond JM. Umbelliferae. Flora of Thailand ;1992;5 (4): 442-448.
3. Buwalda P. Umbelliferae. Flora Malesiana; 1949; 4(2): 116-117.
4. Krahulik JL, Theobald WL. Umbelliferae. A Revised Handbook to the Flora of Ceylon. Vol.3. AA. Balkema, Rotterdam, 1981; p.483-485.
5. Townsend CC. Umbelliferae. Flora of Tropical East Africa. AA Balkema.1989; p.15-17.
6. สมาคมโรงเรียนแผนโบราณ สำนักวัดพระเชตุพนฯ ประมวลสรรพคุณยาไทย (ภาคสอง) ว่าด้วยพฤกษชาติ วัตถุประสงค์และสัตววัตถุนานาชาติ. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์อำพลพิทยา, 2510; 221-222
7. Panthong A, Kanjanapothi D, Taylor WC. Ethnobotanical review of medicinal plants from Thai traditional books. Part I : Plants with anti-inflammatory, anti-asthmatic and antihypertensive properties. J of Ethnopharmacol 1986; (18): 213-228.
8. National Institute of Ayurvedic Medicine. Medicinal Plants. Available from: <http://www.niam.com/corp-web/mediplnt.htm>.
9. National Institute of Ayurvedic Medicine. *Centella asiatica*. Available from: <http://www.niam.com/corp-web/centella.htm>.
10. Pramongkit K. Active constituents of *Centella asiatica*. (L) Urban in Thailand [Thesis]. Mahidol University; 1995.
11. WHO. Herba centellae. In : WHO monographs on selected medicinal plants Vol. 1.1999; p.77-85.
12. Matsuda H, Morikawa T, Ueda H, Yoshikawa M. Saponin constituents of Gotu Kola (2): Structures of new ursane and oleanane type triterpene oligoglycosides, centella saponins B, C, and D from *Centella asiatica* cultivated in Srilanka. Chem Pharm Bull 2001; 49: 1368-1371.
13. Wong KC and Tan GL. Essential oil of *Centella asiatica* (L.) Urb. J Essent Oil Res 1994; 6: 307-309.

14. Bonte F, Dumas M, Chaudagne C, Meybeck A. Influence of asiatic acid, madecassic acid and asiaticoside on human collagen synthesis. *Planta Med* 1994; 60 :133-135.
15. Leaudnakrob N. Antihypertensive effect of compounds from *Centella asiatica* (L.) Urban. In experimentally induced hypertensive rats. [Thesis]. Khon Khaen University; 1999.
16. Sarma DNK, Khosa RL, Chansauria DPN, Sahai M. Antistress activity of *Tinospora cordifolia* and *Centella asiatica* extracts. *Phytother Res* 1996; 10: 181-183.
17. Sakina MR, Dandiya PC. A psycho-neuropharmacological profile of *Centella asiatica* extract. *Filotherapia* 1990; 61(4): 291-296.
18. Sarma DNK, Khosa RL, Chansauria JPN, Sahai M. Antiulcer activity of *Tinospora cordifolia* Miers and *Centella asiatica* Linn. Extracts. *Phytother Res* 1995; 9 : 589-590.
19. Murakami A, Jiuajinda S, Koshimiza K, Ohigashi H. Screening for *in vitro* anti-tumour promoting activities of edible plants from Thailand. *Cancer Letters* 1995; 95 : 139-149.
20. Belcaro GV, Grimaldi R, Guidi G. Improvement of capillary permeability in patients with venous hypertension after treatment with TTFCA. *J of Vascular Diseases* 1990; 533-540.
21. มงคล โมกขะสมิต กมล สวัสดิ์มงคล ประยูทธ สาดราราหะ การศึกษาพิษของสมุนไพรไทย. ว กรรมวิทย์ พ 2513; 13(1) : 36-66.
22. Padmaja R, Arun PC, Prashanth D, Deepak M, Amit A, Anjana M. Brine shrimp lethality bioassay of selected Indian medicinal plants. *Fitoterapia* 2002; 73 : 508-510.
23. Iaemworapong C. Effect of a food preservative nitrite on mutagenicity of Thai medicinal plants using the Ames test [Thesis]. Mahidol University, 1990.
24. Coldecott T. Mandukaparni, 'frog-leaved'. Available from : <http://www.wrc.net/phyto/Mandukaparni.html>, 2004.
25. Gad SC. The Rat: Pathology. In: Gad SC and Chengelis CP, ed. *Animal Model in Toxicology*. New York: Marcel Dekker, 1992; p.78-81,95.
26. Crouse LV, Reiley JS. *Centella asiatica* (Gota kola)- Natural Medical Protocols for Doctors. Available from : www.naturalopinion.com/nmp/nmp4/Centell.htm, 2004.