องค์ประกอบทางเคมีและความเป็นพิษของสารสกัดดอกกระดุมทองเลื้อยในหนูขาว

Chemical Constituents and Toxicity of Flower Extract from *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski. In Wistar Rats.

สุรศักดิ์ ณ อุบล[1],วิลาวัณย์ พร้อมพรม[2], ชูศรี ตลับมุข[2]
Surasak Na Ubon[1], Wilawan Promprom[2], Chusri Talabmook[2],

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีความมุ่งหมายเพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมี และความเป็นพิษของสารสกัดดอกกระดุมทองเลื้อยที่สกัดด้วยเอทานอล 95% ทำการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีโดยใช้วิธี โครมาโตรกราฟฟี่แบบชั้นบาง (Thin-Layer Chromatography) พบองค์ประกอบทางเคมีจำพวกฟลาโวนอยด์ ไตรเทอร์พีน และสารกลุ่มฟีนอล การศึกษาพิษเฉียบพลัน แบบป้อนครั้งเดียว และพิษกึ่งเฉียบพลัน แบบป้อนวันเว้นวัน โดยแบ่งหนูออกเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มละ 6 ตัว ป้อนสารสกัดดอกกระดุมทองเลื้อยขนาด 1,000 1,500 และ 2,000 mg/kg สำหรับพิษกึ่งเรื้อรัง แบ่งหนูออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 8 ตัว โดยป้อนสารสกัดขนาด 250 mg/kg แบบป้อนทุกวันเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า สารสกัดดอกกระดุมทองเลื้อยไม่ทำให้หนูแสดงอาการความเป็นพิษและไม่ทำให้หนูทดลองตาย นอกจากนี้สารสกัดยังทำให้หนูทดลองมีน้ำหนักตัวเฉลี่ยไม่แตกต่างกัน ค่าทางโลหิตวิทยา ได้แก่ Haematocrit (Hct), Hemoglobin (Hb), และ Red blood cell (RBC) ค่าเคมีโลหิต ได้แก่ Blood urea nitrogen (BUN), Creatinin, Albumin, Total Protein (TP) และ Triglyceride (TG) และน้ำหนักสัมพัทธ์ของตับ ไต หัวใจ และปอดของหนูทดลองที่ได้รับสารสกัดมีค่าไม่แตกต่างกันและไม่แตกต่างจากหนูกลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตาม สารสกัดทำให้ White blood cells (WBC) สูงขึ้น แต่ทำให้ Alanine aminotransferase (ALT) และ Aspartate aminotransferase (AST) ลดลง ผลการศึกษาครั้งนี้ แสดงให้เห็นว่า สารสกัดดอกกระดุมทองเลื้อยไม่ก่อให้เกิดพิษทั้งพิษเฉียบพลัน พิษกึ่งเฉียบพลัน และพิษกึ่งเรื้อรังในหนูทดลอง โดยมีค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ทำให้สัตว์ทดลองตายไปครึ่งหนึ่ง (LD50) สูงกว่า 2,000 mg/kg อย่างไรก็ตาม การได้รับสารสกัดติดต่อกันเป็นระยะเวลานาน อาจส่งผลกระทบกับการทำงานของตับ

คำสำคัญ: สารสกัดดอกกระดุมทองเลื้อย องค์ประกอบทางเคมี พิษเฉียบพลัน พิษกึ่งเฉียบพลัน พิษกึ่งเรื้อรัง

Abstract

This research was aimed to determine the chemical constituents and toxicities of 95% ethanolic flower extract from *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski. Chemical constituents of the flower extract was identified using Thin-Layer Chromatography method. The chemicals found in the extract were flavonoid, triterpenes and phenolic compound. Acute and subacute toxicity studies were carried out by oral giving the extract at the doses of 1,000 1,500 and 2,000 mg/kg to the rats which were divided into 4 groups with 6 rats in each. The extract at a dose of 250 mg/kg and 2 groups of rats with 8 rats in each were employed in subchronic toxicity study. The results showed that all the doses of the extract did not produce any signs or symptoms of toxicity. Moreover, the body weight, Haematocrit (Hct), Hemoglobin (Hb) and Red blood cell (RBC), Blood urea nitrogen (BUN), Creatinin, Albumin, Total Protein (TP) and Triglyceride (TG) and relative weight of liver, lung, kidney and heart in all treated groups were not different from those in controls. However, the extracts significantly (p<0.05) increased white blood cell (WBC) but, significantly (p<0.05)

---

[1] *นิสิตปริญญาโท, [2] ผู้ช่วยศาสตราจารย์, ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม 44150*

[1] *Graduate Student, [2] Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Science , Mahasarakham University, Mueang District, Maha Sarahkharm 44150, Thailand.*

decreased Alanine aminotransferase (ALT) and Aspartate aminotransferase (AST) in treated rats compared with those in controls. These results suggest that the flower extract from S. trilobata has no acute, sub-acute and sub-chronic toxicities in rats with LD_{50} higher than 2,000 mg/kg. However, long term administration of the extract should be considered as it can affect liver function.

Keywords: *Sphagneticola trilobata* (L.)Pruski., chemical constituents, acute, subacute, sub-chronic

บทนำ

กระดุมทองเลื้อย (*Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski.) เป็นพืชในวงศ์ Asteraceae มีถิ่นกำเนิดในทวีปอเมริกา เจริญเติบโตเร็วในช่วงที่มีแสงแดด พบมากในเขตอบอุ่นและเขตร้อน รวมถึงในประเทศไทย มีความทนทานต่อดินที่มีความเค็มและแห้งแล้งสูง และป้องกันการเจริญเติบโตของพืชอื่นๆ[1,2] ส่วนใหญ่ใช้ปลูกเพื่อประดับ หรือปลูกเป็นพืชคลุมดิน พืชวงศ์นี้ถูกนำมาใช้เป็นยาสมุนไพรพื้นบ้านเพื่อป้องกันและรักษาโรคต่างๆ หลายชนิด เช่น กระดุมทองเลื้อยใช้รักษาโรคตับอักเสบ โรคอาหารไม่ย่อย และโรคติดเชื้อ ใบนำ มาบดละเอียดใช้เป็นยาพอก บรรเทาอาการไข้หวัด และดอกสีเหลืองนำมาเคี้ยวเป็นยาชาช่วยบรรเทาอาการปวดเหงือกและฟัน[3,4] ยอดอ่อนและใบสามารถนำมาใช้ในการบำรุงร่างกายและรักษาโรค[5] ในทวีปอเมริกาใต้ใช้ในการรักษาอาการโรคไข้หวัด ไข้หวัดใหญ่ และการอักเสบ ในทรินิแดดและโทเบโกใช้สำหรับแก้ปัญหาการสืบพันธุ์[6] นอกจากนี้ยังใช้เป็นไม้ประดับ คลุมดินตามที่ลาดเอียง ป้องกันการพังทลายของดิน และอาจใช้ปลูกแทนหญ้าบนเกาะกลางถนน[7] มีรายงานว่ากระดุมทองเลื้อยมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ent-kaurenic acids[8], lactone, flavonoes, diterpenes และ wedelolactones[9,10] การศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากกระดุมทองเลื้อยต่อจุลินทรีย์ พวกแบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียแกรมลบ ยีสต์ และเชื้อรา พบว่า สารสกัดจากตัวทำละลาย n-hexane แสดงผลการต้านทานแบคทีเรียแกรมบวก Bacillus subtilis, Mycobacterium smegmatis, Staphylococcus aureus และ Staphylococcus epidermidis และ ต้านทานแบคทีเรียแกรมลบ Proteus vulgaris, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella group C, Salmonella paratyphi และ Shigella sonnei[11]. และยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา Collectotrichum gloeosporioides Penz[12] และจากการศึกษาพบว่าดอกกระดุมทองเลื้อยสามารถทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดลดลงและสามารถควบคุมน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นได้[13]

จะเห็นได้ว่า กระดุมทองเลื้อยให้ประโยชน์มากมายทั้งในด้านการรักษาโรค และการต้านเชื้อจุลินทรีย์ แต่อย่างไรก็ตาม การใช้สมุนไพรเพื่อดูแลรักษาโรค แม้จะมีความปลอดภัยในการใช้รักษามากกว่ายาแผนปัจจุบัน แต่การใช้สมุนไพรนั้น ผู้ใช้จะต้องมีความรู้ หรือประสบการณ์ในการใช้สมุนไพรนั้นมาก่อนเพราะสมุนไพรนั้นๆ อาจจะทำให้เกิดการแพ้หรือมีความเป็นพิษกับสิ่งมีชีวิต การทดสอบความเป็นพิษชนิดต่างๆ ในสัตว์ทดลอง ในสภาวะที่คล้ายกับคนที่ได้รับสารพิษนั้นๆ จะทำให้ทราบลักษณะการเกิดพิษและกลไกที่ทำให้เกิดพิษ การทดสอบพิษเป็นวิธีหนึ่งในการวัดศักยภาพ ในการเป็นพิษของสารนั้น ดังนั้นในการวิจัยในครั้งนี้ จึงได้ศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลัน พิษกึ่งเฉียบพลัน และพิษกึ่งเรื้อรังของสารสกัดดอกกระดุมทองเลื้อยในหนูทดลอง ซึ่งผลที่ได้จากการทดลองนี้ จะเป็นข้อมูลเพิ่มเติมในการตัดสินใจเลือกใช้พืชสมุนไพรชนิดนี้ และใช้ได้อย่างปลอดภัยและมีประสิทธิภาพ อีกทั้งยังเป็นแนวทางในการพัฒนาพืชสมุนไพรกระดุมทองเลื้อยในเชิงเศรษฐกิจต่อไป

วิธีการดำเนินงานวิจัย

1. การเตรียมสารสกัดดอกกระดุมทองเลื้อย

ทำการเก็บดอกกระดุมทองเลื้อยจากต้นกระดุมทองเลื้อยที่สมบรูณ์ไม่มีโรคและแมลง โดยเลือกเก็บดอกกระดุมทองเลื้อยจากมหาวิทยาลัยราชภัฏสุรินทร์ ระหว่างเดือนมิถุนายน ถึงเดือนพฤศจิกายน 2556 จากนั้นนามาตรวจเอกลักษณ์พันธุ์พืช โดยผู้เชี่ยวชาญจากภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม แล้วนำดอกกระดุมทองเลื้อยมาล้างทำความสะอาด ปล่อยให้สะเด็ดน้ำ แล้วนำไปอบในตู้อบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50 ˚C จากนั้นบดเป็นผง นำผงสมุนไพรไปสกัดด้วยการหมักใน 95 % Ethanol ในอัตราส่วนผงดอกต่อ 95 % Ethanol ในอัตราส่วน 1:4 โดยหมักทิ้งไว้เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นกรองเอาส่วนที่เป็นกากออกโดยใช้ผ้าขาวบาง แล้วนำมากรองซ้ำด้วยกระดาษกรอง Whatman No. 0 นำส่วนที่กรองได้ ไประเหยเอาตัวทำละลายออก โดยใช้เครื่อง Rotary Evaporator ระเหยที่อุณหภูมิ 50 ˚C จนกระทั่งได้สารที่มีลักษณะเหนียวหนืด และนำไปทำให้แห้งขึ้น โดยใช้เครื่อง Freezed dryer จากนั้นนำสารสกัดที่ได้เก็บไว้ในตู้เย็นเพื่อรอไว้สำหรับใช้ในการทดลองต่อไป

2. การเตรียมสัตว์ทดลอง

สัตว์ทดลองเป็นหนูขาว สายพันธุ์วิสตาร์ เพศผู้ น้ำหนัก 240 g ซื้อมาจากศูนย์สัตว์ทดลอง มหาวิทยาลัยมหิดล จังหวัดนครปฐม นำหนูทดลองมาเลี้ยงในกรง stainless steel ที่มีขนาด 30x50x25 เซนติเมตร ปูรองพื้นด้วยขี้เลื่อยที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้ว เลี้ยงหนูในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 50-55% ได้รับแสงสว่างวันละ 12 ชั่วโมง และให้ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปและน้ำในปริมาณที่เพียงพอ หนูทดลองได้รับการดูแลก่อนดำเนินการทดลองเป็นเวลา 7 วัน ได้รับการอนุมัติวิจัยในสัตว์ทดลองจากคณะกรรมการจริยธรรมในสัตว์ทดลอง มหาวิทยาลัยมหาสารคาม (เลที่ 004/2558)

3. การดำเนินการทดลอง

ชุดการทดลองที่ 1 การหาองค์ประกอบทางเคมี

นำสารสกัดที่ได้มาหาองค์ประกอบทางเคมี ในการวิจัยในครั้งนี้ใช้วิธีโครมาโตรกราฟี่แบบชั้นบาง (TLC) เนื่องจากเป็นเทคนิคการวิเคราะห์องค์ประกอบสารที่รวดเร็ว สะดวก และราคาไม่แพง และสามารถตรวจหาจำนวนองค์ประกอบในของผสม[14] โดยการวิเคราะห์วิเคราะห์สารกลุ่ม flavonoids ภายใต้ UV 254 โดยใช้ quercetin เป็นสารเทียบเทียบ และวิเคราะห์สารกลุ่ม Triterpenes โดยการ spray ด้วย 10% H_2SO_4 นอกจากนี้ทำการวิเคราะห์สารกลุ่ม phenolic ภายใต้ UV 254 โดยใช้ gallic acid, quercetin เป็นสารเปรียบเทียบ

ชุดการทดลองที่ 2 การทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลัน

แบ่งหนูทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม แต่ละกลุ่มมีหนูทดลอง จำนวน 6 ตัว ดังนี้ กลุ่มที่ 1 หนูปกติควบคุมได้รับ 0.5% tween 80 กลุ่มที่ 2, 3 และ 4 หนูปกติที่ได้รับสารสกัดขนาด 1000, 1500 และ 2000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว ตามลำดับ เตรียมสารสกัดดอกกระดุมทองเลื้อยสำหรับป้อนหนูทดลองโดยผสมใน 0.5% tween 80 ป้อนสารสกัดให้หนูทดลองแต่ละกลุ่ม แบบให้ครั้งเดียว ส่วนกลุ่มหนูควบคุมได้รับสารละลาย 0.5% tween 80 แทน หลังป้อนสารสกัดสังเกตอาการหนูทดลองภายใน 24 ชั่วโมง โดยสังเกตอาการแสดงความเป็นพิษ ได้แก่ อาการชัก การถ่ายปัสสาวะ เดินเซ ซึม อาเจียน เบื่ออาหารหรือตาย เป็นต้น บันทึกอาการความเป็นพิษและจำนวนหนูทดลองที่ตาย หลังจากนั้นสังเกตอาการต่อไปอีก 14 วัน เพื่อดูผลความเป็นพิษต่อเนื่อง และชั่งน้ำหนักหนูทดลองในวันที่ 0 , 14 ของการทดลองตามลำดับ พร้อมทั้งสังเกตอาการความเป็นพิษหรือจำนวนหนูทดลองที่ตาย

ชุดการทดลองที่ 3 การทดสอบความเป็นพิษกึ่งเฉียบพลัน

แบ่งหนูทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม แต่ละกลุ่มมีหนูทดลอง จำนวน 6 ตัว ดังนี้

กลุ่มที่ 1 หนูปกติควบคุมได้รับ 0.5% tween 80 กลุ่มที่ 2, 3 และ 4 หนูปกติที่ได้รับสารสกัดขนาด 1000, 1500 และ 2000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว ตามลำดับ ป้อนสารสกัดให้หนูทดลองแต่ละกลุ่ม โดยป้อนสารสกัดทุก 2 วัน หลังป้อนสารสกัดสังเกตอาการหนูทดลอง โดยสังเกตอาการแสดงความเป็นพิษ บันทึกอาการความเป็นพิษและจำนวนหนูทดลองที่ตายทุกวัน เมื่อทำการเลี้ยงหนูทดลองจนครบกำหนด 14 วัน ให้หนูอดอาหารเป็นเวลา 8 ชั่วโมง จากนั้นทำให้หนูตายอย่างสงบด้วยวิธีเคลื่อนกระดูกคอ (Cervical dislocation) เจาะเลือดจากหัวใจ นำไปตรวจหาค่าทางโลหิตวิทยา ได้แก่ Red blood cells (RBC), White blood cells (WBC) และเกล็ดเลือด ตรวจค่าเคมีโลหิตของหนู ได้แก่ ALP, BUN และ creatinine โดยใช้ Automatic blood chemical analyzer (BT 200 plus, Germany) บันทึกค่าโลหิตวิทยา และเคมีโลหิต

ชุดการทดลองที่ 4 การทดสอบความเป็นพิษกึ่งเรื้อรัง

แบ่งหนูทดลองออกเป็น 2 กลุ่ม แต่ละกลุ่มมีหนูทดลอง จำนวน 8 ตัว ดังนี้ กลุ่มที่ 1 หนูปกติควบคุมได้รับ 0.5% tween 80 และกลุ่มที่ 2 หนูปกติที่ได้รับสารสกัดขนาด 250 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว ป้อนสารสกัดให้หนูทดลองแต่ละกลุ่ม แบบป้อนทุกวัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ หลังป้อนสารสกัดสังเกตอาการหนูทดลอง โดยสังเกตอาการแสดงความเป็นพิษ บันทึกอาการความเป็นพิษและจำนวนหนูทดลองที่ตายจนครบ 4 สัปดาห์ ชั่งน้ำหนักและจดบันทึกน้ำหนักตัวหนูทดลองทุกสัปดาห์จนครบ 4 สัปดาห์ ให้หนูอดอาหารเป็นเวลา 8 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำให้ตาย แล้วเก็บตัวอย่างเลือดตรวจค่าเคมีโลหิตและโลหิตวิทยา ตามวิธีที่กล่าวข้างต้น

ผลการทดลอง

1. องค์ประกอบทางเคมี

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดดอกกระดุมทองเลื้อยด้วยวิธีโครมาโตกราฟฟี่แบบชั้นบาง (TCL) ผลปรากฏว่า พบสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ ไตรเทอร์ฟีน และสารกลุ่มฟีนอล ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่ได้มีการศึกษาองค์ประกอบของกระดุมทองเลื้อย ผลปรากฏว่าพบสารประกอบของกลุ่ม เทอร์ปีนอยด์, ฟลาโวนอยด์ และสเตอร์รอยด์[15]

2. ความเป็นพิษเฉียบพลัน

หลังการป้อนสารสกัด ภายใน 24 ชั่วโมง พบว่าหนูทดลองรอดชีวิตทั้งหมด และไม่พบการถ่ายอุจจาระเหลว อาการชัก ตัวสั่น และอาการซึม เมื่อสังเกตอาการต่ออีก 14 วัน ก็ไม่พบหนูตาย และไม่พบอาการถ่ายอุจจาระเหลว อาการชัก ตัวสั่น อาการซึม เช่นกัน และน้ำหนักตัวเฉลี่ยหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดทุกขนาดมีน้ำหนักตัวเฉลี่ยไม่แตกต่างกัน และไม่แตกต่างจากหนูกลุ่มควบคุม (Table 1)

Table 1 Body weight of the rats on the 14th days after receiving extracts from S. trilobata (mean±S.E.M, n=6)

Treatments	Body weight (g)	
	Day 0	Days 14
controls	291.67 ± 9.83	408.33 ± 10.78
1000 mg/kg	293.33 ± 5.16	421.67 ± 5.43
1500 mg/kg	293.33 ± 8.16	410.00 ± 8.94
2000 mg/kg	300.00 ± 7.79	418.33 ± 7.47

ความเป็นพิษแบบกึ่งเฉียบพลัน

หลังการป้อนสารสกัด เป็นระยะเวลา 14 วัน พบว่าหนูทดลองรอดชีวิตทั้งหมด และไม่พบการถ่ายอุจจาระเหลว อาการชัก ตัวสั่น และอาการซึม และน้ำหนักตัวเฉลี่ยหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดมีค่าน้ำหนักตัวเฉลี่ยไม่แตกต่างกัน และไม่แตกต่างจากค่าน้ำหนักตัวเฉลี่ยของหนูกลุ่มควบคุม (Table 2)

Table 2 Body weight of the rats 14 days after receiving extracts from S. trilobata (mean±S.E.M, n=6)

treatments	Body weight (g)	
	Day 0	Days 14
Controls	333.33 ± 15.06	435.00 ± 28.80
1000 mg/kg	338.33 ± 7.52	421.67 ± 11.69
1500 mg/kg	331.67 ± 9.83	408.33 ± 30.60
2000 mg/kg	338.33 ± 7.52	411.67 ± 11.69

ค่าทางโลหิตวิทยา

ค่าของ Hct, Hb, และจำนวน RBC ในหนูทุกกลุ่มมีค่าไม่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตาม จำนวน WBC ของหนูกลุ่มควบคุมมีจำนวน 5,600± 219.09 cell/mm^3 หนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 1000 mg/kg มี WBC จำนวน 4,516± 160.04 cell/mm^3 หนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 1500 mg/kg มี WBC จำนวน 5,433± 80.28 cell/mm^3 และหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 2000 mg/kg มี WBC จำนวน 6,150± 221.74 cell/mm^3 มีค่าแตกต่างกันและมีค่าแตกต่างจากหนูกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) (Table 3)

Table3 Hematological values of the rats 14 days after receiving daily administration of extracts from S. trilobata (mean±S.E.M, n=6)

Parameters	Extracts			
	controls	1000 mg/kg	1500 mg/kg	2000 mg/kg
Hct (%)	49.83± 0.60	16.40± 0.29	7.61± 0.10	48.17± 1.14
Hb(g/dl)	16.40± 0.29	15.97± 0.35	16.27± 0.25	16.52± 0.37
RBC(*10^6/mm^3)	7.61± 0.10	16.27± 0.25	7.99±0.17	8.12± 0.16
WBC(cell/mm^3)	5,600± 219.09^b	4,516± 160.04^a	5,433± 80.28^b	6,150± 221.74^c

Mean value within the same row do not followed by different letters are significantly different, Duncan's Test at P < 0.05. WBC= White Blood Cell Count, Hb= Hemoglobin, RBC= red blood cell, Hct= Hematocrit.

ค่าทางเคมีโลหิต

ค่าของ BUN, Creatinin, Albumin, ALT และ TG ในหนูทุกกลุ่มมีค่าไม่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตามค่า TP ของหนูกลุ่มควบคุมมีค่า 6.20 ± 0.09 g/dlหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 1000 mg/kg มีค่า 6.28 ± 0.04 g/dl หนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 1500 mg/kg มีค่า 6.38 ± 0.03 g/dl และหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 2000 mg/kg มีค่า 6.58 ± 0.03 g/dl มีค่าแตกต่างกันและแตกต่างจากหนูกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ค่า ALP ของหนูกลุ่มควบคุมมีค่า 82.67 ± 2.68 U/L หนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 1000 mg/kg มีค่า 72.00 ± 2.79 U/L หนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 1500 mg/kg มีค่า 69.50 ± 1.48 U/L และหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 2000 mg/kg มีค่า 68.50 ± 1.43 U/L หนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดมีค่าไม่แตกต่างกันแต่มีค่าแตกต่างจากหนูกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) และค่า AST ของหนูกลุ่มควบคุมมีค่า 118.00 ± 3.64 U/L หนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 1000 mg/kg มีค่า 71.00 ± 3.68 U/L หนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 1500 mg/kg มีค่า 84.83 ± 2.00 U/L และหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 2000 mg/kg มีค่า 75.67 ± 2.32 U/L หนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 1000 และ 2000 mg/kg มีค่าไม่แตกต่างกันแต่แตกต่างจากหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 1500 mg/kg และหนูกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) (Table 4)

Table 4 Blood chemistry of the rats 14 days during receiving extracts from S. trilobata (mean±S.E.M, n=6)

Parameters	Extracts			
	controls	1000 mg/kg	1500 mg/kg	2000 mg/kg
BUN (mg/dl)	20.10 ± 0.87	18.62 ± 1.42	18.58 ± 0.38	17.23 ± 0.63
Creatinine(mg/dl)	0.82 ± 0.03	0.90 ± 0.04	0.90 ± 0.04	0.83 ± 0.04
Albumin(g/dl)	3.65 ± 0.04	3.62 ± 0.07	3.62 ± 0.06	3.70 ± 0.04
TP (g/dl)	6.20 ± 0.09^{a}	6.28 ± 0.04^{ab}	6.38 ± 0.03^{b}	6.58 ± 0.03^{c}
ALP (U/L)	82.67 ± 2.68^{a}	72.00 ± 2.79^{b}	69.50 ± 1.48^{b}	68.50 ± 1.43^{b}
AST (U/L)	118.00 ± 3.64^{a}	71.00 ± 3.68^{c}	84.83 ± 2.00^{b}	75.67 ± 2.32^{c}
ALT (U/L)	50.83 ± 5.92	37.83 ± 6.73	42.33 ± 2.68	44.83 ± 1.23
TG (mg/dl)	73.67 ± 2.23	66.83 ± 5.56	70.83 ± 4.03	71.83 ± 0.79

Mean value within the same row do not followed by different letters are significantly different, Duncan's Test at P < 0.05. TP=total protein, Alb=albumin, Glob=globulins, TB=total bilirubin, AST=aspartate aminotransferase, ALT=alanine aminotransferase, ALP=alkaline phosphatase

น้ำหนักสัมพัทธ์ของอวัยวะ

น้ำหนักสัมพัทธ์ของตับ, ไต, หัวใจและปอด ในหนูทุกกลุ่มมีค่าไม่แตกต่างกัน (ไม่ได้แสดงข้อมูล)

ความเป็นพิษแบบกึ่งเรื้อรัง

หนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดมีค่าน้ำหนักตัวเฉลี่ยไม่แตกต่างกัน และไม่แตกต่างจากค่าน้ำหนักตัวเฉลี่ยของหนูกลุ่มควบคุม (ไม่ได้แสดงข้อมูล)

ค่าทางโลหิตวิทยา

ระดับของ Hct, Hb, RBC และ WBC ในหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดและหนูกลุ่มควบคุมมีค่าไม่แตกต่างกัน

ค่าทางเคมีโลหิต

ระดับของ BUN, Creatinin, Albumin, TP, ALP และTG ในหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดและหนูกลุ่มควบคุมมีค่าไม่แตกต่าง อย่างไรก็ตาม AST ของหนูกลุ่มควบคุมมีค่า 158.25± 29.53 U/L หนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 250 mg/kg มีค่า 127.71± 17.75 U/L และ ALT ของหนูกลุ่มควบคุมมีค่า 61.75 ± 5.59 U/L หนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 250 mg/kg มีค่า 68.62 ± 18.16 U/L อย่างไรก็ตาม AST, ALT ของหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดและหนูกลุ่มควบคุมมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) (Table 5)

Table 5 Blood chemistry of the rats 30 days after receiving extracts from S. trilobata (mean±S.E.M, n=6) by every day.

Parameters	Extracts	
	controls	Extract 250 mg/kg
BUN (mg/dl)	18.44 ± 0.50	17.83 ± 0.24
Creatinin(mg/dl)	0.85 ± 0.03	0.80 ± 0.04
Albumin(g/dl)	3.69 ± 0.07	3.73 ± 0.05
TP (g/dl)	6.34 ± 0.14	6.59 ± 0.08
ALP (U/L)	79.00 ± 2.74	82.00 ± 2.93
AST (U/L)	158.25± 29.53[a]	127.71± 17.75[b]
ALT (U/L)	61.75 ± 5.59[b]	68.62 ± 18.16[a]
TG (mg/dl)	111.25 ± 3.54	93.13 ± 3.24

Mean value within the same row do not followed by different letters are significantly different, Duncan's Test at P < 0.05. TP=total protein, Alb=albumin, Glob=globulins, TB=total bilirubin, AST=aspartate aminotransferase, ALT=alanine aminotransferase, ALP=alkaline phosphatase

น้ำหนักสัมพัทธ์ของอวัยวะ

น้ำหนักสัมพัทธ์ของตับ, ไต, หัวใจและปอด ในหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดและหนูกลุ่มควบคุมมีค่าไม่แตกต่างกัน (ข้อมูลไม่ได้แสดง)

สรุปผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลัน พบว่า สารสกัดดอกกระดุมทองเลื้อยไม่ก่อให้เกิดอาการความเป็นพิษเฉียบพลัน กึ่งเฉียบพลัน และกึ่งเรื้อรังแม้จะทำการทดสอบความเป็นพิษที่ขนาดสูงถึง 2000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว ซึ่งเป็นปริมาณที่สูงที่สุดที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ เพราะเมื่อป้อนสารสกัดดอกกระดุมทองเลื้อยให้สัตว์ทดลอง และสัตว์ทดลองรอดชีวิตทั้งหมดทำให้ทราบค่า LD_{50} ของสารสกัดดอกกระดุมทองเลื้อยในหนูมีค่ามากกว่า 2000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว สอดคล้องกับงานวิจัยที่ได้ทำการศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันและกึ่งเฉียบพลันของสารสกัด Wedelia paludosa ซึ่งเป็นพืชในสกุลเดียวกันกับกระดุมทองเลื้อยที่ขนาด 500 1000 2000 และ4000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว ในหนู Swiss mice ทั้งตัวผู้และตัวเมีย มีค่า LD_{50} สูงกว่า 4000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว หนูทดลองที่ได้รับสารสกัดขนาด 4000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว ส่วนการสังเกตอาการพิษกึ่งเฉียบพลันพบว่าไม่พบการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักอวัยวะ[16]

จากการศึกษาครั้งนี้ พบว่า ปริมาณของเม็ดเลือดขาว (WBC) เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อขนาดของสารสกัดดอกกระดุมทองเลื้อยเพิ่มขึ้น ซึ่งสาเหตุของปริมาณเม็ดเลือดขาวที่เพิ่มสูงขึ้นมีความเป็นไปได้ เนื่องจากเม็ดเลือดขาวทำหน้าที่ป้องกัน และเสริมสร้างภูมิคุ้มกันให้กับร่างกาย เมื่อร่างกายได้รับสารสกัดดอกกระดุมทองเลื้อยที่มีปริมาณความเข้มข้นสูงมากขึ้น จึงทำให้ร่างกายต้องมีการป้องกันและสร้างภูมิคุ้มกันมากขึ้น ทำให้เซลล์เม็ดเลือดขาวเพิ่มขึ้น สำหรับ พบว่า มีค่าแตกต่างจากหนูกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) สอดคล้องกับงานวิจัยที่ได้ทำการศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันและกึ่งเฉียบพลันของสารสกัด Wedelia paludosa ขนาด 500 1000 2000 และ 4000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว ในหนู Swiss mice ทั้งตัวผู้และตัวเมีย พบว่า น้ำหนักตับลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนการสังเกตอาการพิษกึ่งเฉียบพลันพบไม่พบการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักอวัยวะและค่าทางโลหิตวิทยา ส่วนปริมาณ ALT, AST และ creatinin ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิต เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ดังนั้นจึงสรุปว่าสารสกัดจาก Wedelia apaludosa ไม่เป็นพิษต่อหนูทดลอง16

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับอุดหนุนการวิจัยเพื่อพัฒนานิสิตระดับบัณฑิตศึกษา (ปริญญาโท) งบประมาณรายได้ ประจำปีงบประมาณ 2558 มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

ขอขอบคุณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่ได้เอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำการวิจัยในครั้งนี้ และนางสาวอัญชัน ไตรธิเลน

เอกสารอ้างอิง

1. Thaman RR . Wedelia trilobata: daisy invader of the pacific Islands. IAS technical report 1999.
2. บุปผา ลาวัลย์ กระดุมทองเลื้อย.วารสารธรรม ชาติและสัตว์เลี้ยง 2534;3:29-30.
3. Scheper Interactives. Wedelia trilobata. Floridata. [Online]. 1997 [cited 3 July 2013]; Available form: HYPERLINK "http://www.streetside.com/plants/floridata/ref/w/wedelia.htm" http://www.streetside.com/plants/floridata/ref/w/wedelia.htm.
4. Watson L. and Dallwitz MJ. The Families of Flowering Plants: Descriptions, illustrations, Identification and Information Retrieval. Ecology & Evolutionary Biology Conservatory 2000 [cited 19 June 2013]; Available form: HYPERLINK "http://florawww.eeb.uconn.edu/acc_num/198500646.html" http://florawww.eeb.uconn.edu/acc_num/198500646.html.
5. อัญชัน ไตรธิเลน. พิษเฉียบพลันของสารสกัดจากกระดุมทองเลื้อยในหนูขาว. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม, 2557
6. Walter IW. Alternative medicine in the United States. Social Science & Medicine April 1994; 38[8]: 1061–1068.
7. เอื้อมพร วีสมหมาย, ศศิยา ศิริพานิช, อลิศรา มีนะกนิษฐ, ณัฏฐ ทิชกรรม. พรรณไม้ในงานภูมิสถาปัตยกรรม. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์; 2540.
8. Fara SF. Elemary NA. Niwa M. Eudea- manlides from Wedelia prostrate. J Chem Pharm Bull 1996;44:661-664.
9. Block LC. Santos ARS. Souza MM. Scheidt C. Yunes RA. Santos MA et al. Chemical and pharmacological examina tion of antinociceptive constituents of Wedelia paludosa. J Ethnopharmacol 1998;61:85-89
10. Bohlmann F, Gerke T, Jakupovic J, Borthakur N, King RM. Diterpene lactones and other constituents from Wedelia and Aspilia species. J Phytochem 1984;23: 1673-1676.
11. Taddei A. and Rosas-Romero AJ. Antimicrobial Activity of WedeliaTrilobata Crude Extracts". Phytomed 1999; 6[2]: 133-134.
12. ประไพพรรณ นำพรรณธุ์วิวัฒน์. ผลของสารสกัดจากกระดุมทองเลื้อย(Wedelia trilobata (L.) A.S. (Hitchcock) ต่อการเจริญเติบโตของพืชและการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืช. กรุงเพทฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์; 2547.
13. Kade IJ, Beabosab NBV, Ibukuna EO, Igbakinc AP, Nogueirab CW, Rocha JBT. Aqueous extracts of Sphagneticola trilobata attenuates streptozotocin-induced hyperglycaemia in rat models by modulating oxidative stress parameter. BioMe. 2010; 2(3): 1-13.
14. ธีรยุทธ วิไลวัลย์. ปฏิบัติการเคมีอินทรีย์. กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย; 2551.
15. Qiang Y., Dub DL., Chenc YJ. and Gao K., ent-Kaurane diterpenes and further constituents from Wedelia trilobata, Hel. Chem. Acta, 2011; 94: 817-823.
16. Bürger C. Acute and subacute toxicity of the hydroalcoholic extract from Wedelia paludosa (Acmelabrasiliensis) (Asteraceae) in mice. J Pharm Pharmac Sci 2005; [cited 28 June 2013]; Available form: http://www.cspscanada.org.