

บทความวิจัย (Research Article)

ผลของสารสกัดบอระเพ็ดต่อการลดไข้ ปริมาณเกล็ดเลือด และชีวเคมีของเลือดในหนูวิสตา¹

พงษ์พิทักษ์ ศุภกิจเจริญกุล^{1*}, ศราวุธ ยะมา³, กรวีร์ โพธิชัย⁴, จิรภัทร อรุณรัตน์⁴, รัชชนา ยี่หวา⁵, ศศิธร ศิริลุน², ทรงวุฒิ ยศวิมลวัฒน์², พาณี ศิริสะอาด² และ สุพร จารุมณี²

Effect of *Tinospora crispa* (L.) extracts on anti-pyretic activity, platelet amount and blood biochemistry in wistar rats

Pongpithak Supakitjaroenkul^{1*}, Sarawoot Yama³, Kornravee Photichai⁴, Jirapat Arunorat⁴, Ranchana Yeewa⁵, Sasithorn Sirilun², Songwut Yossawimolwat², Panee Sirisa-ard² and Suporn Charumanee²

¹ Master's Degree Program in Pharmaceutical Science, Department of Pharmaceutical Sciences, Faculty of Pharmacy, Chiang Mai University, Chiang Mai, 50200

² Department of Pharmaceutical Sciences, Faculty of Pharmacy, Chiang Mai University, Chiang Mai, 50200

³ Laboratory Animal Center, Chiang Mai University, Chiang Mai, 50200

⁴ Veterinary Diagnostic Center, Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai, 50200

⁵ Center of Multidisciplinary Technology for Advanced Medicine, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai, 50200

* Corresponding author: zeadragon64@gmail.com

Naresuan Phayao J. 2023;16(1): 15-29.

Received; 18 November 2021; Revised: 20 April 2022; Accepted: 30 December 2022

บทคัดย่อ

บอระเพ็ด (Boraphet: *Tinospora crispa* (L.) Miers ex Hook. f. & Thomson) เป็นพืชที่พบในแถบเอเชียกลางและเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ แพทย์แผนโบราณในหลายประเทศ รวมทั้งประเทศไทย มีการนำส่วนของเถา รากและใบ ใช้ในการบำบัดรักษาโรคหลายอย่าง เช่น ด้านการอักเสบ ลดไข้ ลดระดับน้ำตาลในเลือด กระตุ้นภูมิคุ้มกัน ต้านมาลาเรีย ต้านแบคทีเรีย ต้านมะเร็ง และเจริญอาหาร เป็นต้น การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการลดไข้ของสารสกัดบอระเพ็ดด้วยเอทานอลและน้ำ ผลต่อปริมาณเกล็ดเลือดและค่าชีวเคมีของเลือดในหนูวิสตา โดยเก็บตัวอย่างเลือดก่อนการทดลอง 72 ชั่วโมง ในการทดสอบฤทธิ์ลดไข้ หนูทดลองถูกกระตุ้นให้เกิดไข้ด้วยวัคซีนคอตีบ บาดทะยัก และไอกรน (Diphtheria-tetanus-pertussis: DTP) เมื่อเกิดไข้หนูจะได้รับสารสกัดปริมาณเทียบเท่ากับผงบอระเพ็ด 30, 90 และ 270 มก. ต่อน้ำหนักตัว 1 กก. โดยให้ทางปาก จากนั้นวัดไข้ทางทวารหนักทุก 30 นาที จนครบ 240 นาที แล้ว

¹ นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์เภสัชกรรม ภาควิชาวิทยาศาสตร์เภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50200

² ภาควิชาวิทยาศาสตร์เภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50200

³ ศูนย์สัตว์ทดลอง มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50200

⁴ ศูนย์ชันสูตรโรคสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50200

⁵ ศูนย์บูรณาการเทคโนโลยีการแพทย์ทันสมัย คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50200

เก็บตัวอย่างเลือดอีกครั้งหลังจากครบเวลา ผลการศึกษาวิจัยนี้ พบว่าสารสกัดบอระเพ็ดด้วยเอทานอล ขนาด 30, 90, 270 มก. ต่อน้ำหนักตัว 1 กก. มีค่าเฉลี่ยในการลดไข้เท่ากับ 1.62 ± 0.33 , 1.68 ± 0.51 และ $1.48 \pm 0.32^\circ\text{C}$ ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดบอระเพ็ดด้วยน้ำ ทั้งสามความเข้มข้น มีค่าเฉลี่ยในการลดไข้เท่ากับ 1.18 ± 0.19 , 1.14 ± 0.31 และ $1.32 \pm 0.36^\circ\text{C}$ ตามลำดับ ทั้งนี้ กลุ่มควบคุมบวก ที่ได้รับพาราเซตามอลและไอบูโพรเฟน มีค่าเฉลี่ยในการลดไข้ เท่ากับ 1.62 ± 0.78 และ $1.48 \pm 0.18^\circ\text{C}$ ตามลำดับ และกลุ่มควบคุมลบมีค่าเฉลี่ยในการลดไข้ $0.96 \pm 0.31^\circ\text{C}$ นอกจากนี้ พบว่ากลุ่มหนูวิสตาที่ได้รับสารสกัดบอระเพ็ดมีปริมาณเกล็ดเลือดก่อนและหลังการทดลองไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม และผลวิเคราะห์ชีวเคมีของเลือดไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ โดยพบว่าหนูวิสตาที่ได้รับสารสกัดบอระเพ็ดด้วยน้ำ ขนาด 270 มก. ต่อน้ำหนักตัว 1 กก. มีค่าเอนไซม์ AST เพิ่มขึ้นเล็กน้อย และค่าเอนไซม์ ALT หลังได้รับสารสกัดมีค่าเพิ่มขึ้นแต่ไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุม อย่างมีนัยสำคัญ สามารถสรุปได้ว่าสารสกัดบอระเพ็ดด้วยเอทานอลมีประสิทธิภาพในการลดไข้ได้ดีกว่าสารสกัดด้วยน้ำ และไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุมบวกอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ปริมาณเกล็ดเลือดและค่าชีวเคมีของเลือดในกลุ่มทดลองไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

คำสำคัญ: บอระเพ็ด, ไข้, เกล็ดเลือด, ชีวเคมีของเลือด

Abstract

Boraphet (*Tinospora crispa* (L.) Miers ex Hook. f. & Thomson) is a plant found in central Asia and Southeast Asia. Traditional medicines in many countries including Thailand have used parts of the vine, roots and leaves of boraphet for alleviating and treating many diseases such as anti-inflammatory, anti-pyretic, anti-diabetics, immunomodulatory, anti-malarial, anti-bacterial, anticancer as well as for appetizer, etc. This research aimed to evaluate the anti-pyretic effect, the effect on the platelet amount and the blood clinical chemistry of the boraphet extract in Wistar rats. Meanwhile, the ethanolic and aqueous extract of boraphet on these effects were compared. The blood samples were collected at 72 hours prior to the experiment then the fever was induced by diphtheria-tetanus-pertussis (DTP) vaccine. When the fever was detected, the boraphet extract was administered by oral garvage at the doses equivalent to dried boraphet powder of 30, 90 and 270 mg/kg. The body temperatures were measured rectally every 30 minutes until 240 minutes. The blood samples were then collected once again. The results of this study showed that the mean reduction in body temperature of ethanolic extract (TCE) at 30, 90, 270 mg/kg were 1.62 ± 0.33 , 1.68 ± 0.51 and $1.48 \pm 0.32^\circ\text{C}$, respectively where as those of aqueous extracts (TCW) were 1.18 ± 0.19 , 1.14 ± 0.31 and $1.32 \pm 0.36^\circ\text{C}$, respectively. The positive control groups receiving paracetamol and ibuprofen had the mean temperature reduction of 1.62 ± 0.78 and $1.48 \pm 0.18^\circ\text{C}$, respectively, while the negative control group showed the mean temperature reduction of $0.96 \pm 0.31^\circ\text{C}$. At the end of the experiment, the platelet amount was not affected by the boraphet extracts. Blood biochemistry analyses showed all group values do not difference significantly. However, the rats treated with 270 mg/kg of boraphet aqueous extract had slightly increase in enzyme AST and ALT values, but they were not significantly different from the control groups. It can be concluded that the boraphet ethanolic extracts were more effective in reducing body temperature than aqueous extracts but not significantly different from the positive control groups. The platelet amount and blood biochemistry were not affected by the oral single doses of boraphet extracts significantly. ($p > 0.05$).

Keywords: Boraphet, Fever, Platelet, Blood biochemistry

บทนำ

การรักษาภาวะไข้ [1], [18] ทางกายภาพแผนปัจจุบันในประเทศไทย มีการใช้ยาลดไข้ (antipyretic drugs) ในกลุ่ม para-aminophenol ได้แก่ paracetamol และยาในกลุ่มยาต้านการอักเสบที่ไม่ใช่ สเตียรอยด์ (Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs: NSAIDs) เช่น aspirin ibuprofen และ naproxen เป็นต้น และมีใช้ยาทางการแพทย์แผนไทย การแพทย์ล้านนา หรือการแพทย์แผนจีน เป็นอีกทางเลือกในการรักษา

ทั้งนี้ ปัญหาที่พบในการใช้ยาลดไข้แผนปัจจุบัน คือ อุบัติการณ์ไม่พึงประสงค์ (adverse drug reactions: ADR) จาก paracetamol และยาในกลุ่ม NSAIDs เพิ่มขึ้น ซึ่งทำให้ผู้ป่วย ไม่สามารถรับยาในกลุ่มที่แพ้ หรือใช้ยาทั้งสองกลุ่มได้ จากข้อมูลรายงานขององค์การอนามัยโลก (WHO VigiBase; VigiAccess) [22], [23] ระหว่างปี พ.ศ.2511 – 2561 พบว่ามีการแพ้ยา paracetamol ibuprofen และ aspirin จำนวน 119, 190, 126,629 และ 137,268 ฉบับตามลำดับ และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น อีกปัญหาหนึ่งพบในการใช้ยาลดไข้ คือ สภาวะของโรค หรือสภาวะร่างกายผู้ป่วยที่เป็นข้อจำกัด เช่น โรคไข้เลือดออก (Dengue Hemorrhagic Fever) [2] ภาวะเกล็ดเลือดต่ำ (Thrombocytopenia) ภาวะเลือด ออกง่าย หรือผู้ป่วยที่รับยาต้านการแข็งตัวของเลือด เช่น warfarin หรือ clopidogrel จะมีข้อหลีกเลี่ยงหรือข้อห้ามในการใช้ยาลดไข้ในกลุ่ม NSAIDs ทำให้มีทางเลือกน้อยในการใช้ยาลดไข้ ในประเทศไทย นอกเหนือจากการใช้ยาลดไข้แผนปัจจุบันดังข้างต้นที่กล่าวมา ในทางการแพทย์แผนโบราณ แพทย์แผนไทย แพทย์พื้นบ้าน ยังมีตำรับยาที่ใช้สำหรับลดไข้ ทั้งในรูปแบบตำรับ เช่น ตำรับยาเขียวหอม จันทน์ลีลา ยาหารากประสะจันทร์แดง มหานิลแท่งทอง และในรูปสมุนไพรเดี่ยว เช่น มะระขี้นก บัวบก ฟ้ายางลายโจร และบอระเพ็ด เป็นต้น โดยบอระเพ็ด มีฤทธิ์ลดไข้ ถอนพิษไข้ แก้อาการร้อน และแก้ไข้สูงเพื่อคลั่งได้ [11-16], [20]

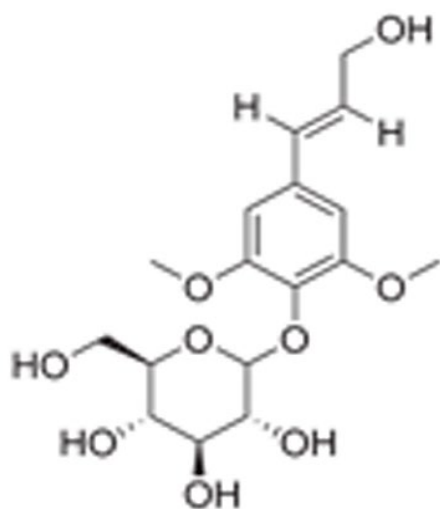
บอระเพ็ด (Boraphet) [3] (*Tinospora crispa* (L.) Miers ex Hook. f. & Thomson) เป็นพืชในตระกูล Menispermaceae ซึ่งพบว่าการเจริญเติบโตในแถบเอเชียกลางและเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ พบมากในเขตแถบร้อนชื้น และป่าฝน ของเอเชีย ได้แก่ ฟิลิปปินส์

อินโดนีเซีย มาเลเซีย ไทย พม่า ลาว จีน ศรีลังกา และอินเดีย ในหลายประเทศได้มีการนำส่วนของเถา ราก และใบของพืชในตระกูลบอระเพ็ด มาใช้ในการบำบัดรักษาโรคหลายอย่างเช่น ด้านการอักเสบ (anti-inflammatory) ลดไข้ (anti-pyretic) ลดระดับน้ำตาลในเลือด (anti-diabetics) กระตุ้นภูมิคุ้มกัน (immunomodulatory) ต้านมาลาเรีย (anti-malarial) ต้านแบคทีเรีย (anti-bacterial) ต้านมะเร็ง (cytotoxic) ตลอดจนช่วยเจริญอาหาร (appetizer) เป็นต้น โดยมีการนำส่วนของบอระเพ็ดมาใช้ในรูปของสมุนไพรสด ดอกแห้ง ตำบดเป็นผง หรือปั้นเป็นเม็ดลูกกลอน สารพิษจากพืชที่พบในบอระเพ็ด มีประมาณ 65 ชนิด ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม alkaloids, flavonoids, flavone glycosides, triterpenes, diterpenes, diterpene glycosides, lactones, sterols, lignans และ nucleosides ซึ่งมีรายงานฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ได้แก่ สารในกลุ่ม diterpenes, diterpene glycosides และ alkaloids อาทิ borapetosides, rumphiosides, syringin, columbin และ higenine เป็นต้น [4-6], [10], [25]

จากการทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้องด้านความปลอดภัย ของบอระเพ็ดในหนูทดลองไม่พบรายงานการเกิดพิษเฉียบพลัน (acute toxicity) จนถึงเสียชีวิตในหนูทดลอง เมื่อได้รับสารสกัดด้วยเอทานอล ในขนาด 4 ก. ต่อน้ำหนักตัว 1 กก. [4], [28] แต่ในมนุษย์มีรายงานการเกิดภาวะตับอักเสบในผู้ที่ได้รับยาสมุนไพรในขนาดสูงและใช้เป็นเวลานาน ซึ่งสามารถฟื้นคืนสภาพเมื่อหยุดใช้ยา [8-9] โดยไม่พบรายการเกิดพิษต่อไตในมนุษย์และสัตว์ทดลอง และไม่พบรายงานปัญหาการรบกวนการเกาะตัวของเกล็ดเลือด (platelet aggregation) และไม่รบกวนการแข็งตัวของเลือดของสารสกัดบอระเพ็ดด้วยเอทานอล [7]

ทั้งนี้ เมื่อพิจารณาปัญหาการรักษาผู้ป่วยที่มีภาวะไข้ที่มีความเสี่ยงจากการเกิดอาการไม่พึงประสงค์ในการใช้ยาลดไข้แผนปัจจุบัน ได้แก่ พาราเซตามอล หรือยาในกลุ่มต้านอาการอักเสบที่ไม่ใช่ สเตียรอยด์ (NSAIDs) รวมถึงปัญหาด้านสุขภาพของผู้ป่วยที่มีปัญหาเกี่ยวกับการแข็งตัวของเลือดที่จำเป็นต้องหลีกเลี่ยงหรือมีข้อห้ามในการใช้ยาลดไข้ แผนปัจจุบันบางกลุ่ม เช่น ผู้ป่วยไข้เลือดออก ผู้ป่วยที่มีปัญหาเลือดออกง่าย หรือผู้ป่วยที่มีภาวะไข้ไม่ทราบ

สาเหตุ บอระเพ็ดจึงเป็นสมุนไพรทางเลือกที่จะนำมาใช้ทดแทน หรือใช้ผสมผสานในการรักษาภาวะไข้ ดังนั้น การศึกษาวิจัยนี้มุ่งเน้นการประเมินประสิทธิภาพในการลดไข้ของสารสกัดบอระเพ็ด [42-45] และผลของสารสกัดบอระเพ็ดต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณเกล็ดเลือด รวมถึงค่าชีวเคมีของเลือด [32-35] เพื่อสนับสนุนประสิทธิภาพและความปลอดภัยในการใช้สมุนไพรบอระเพ็ด สร้างความมั่นใจในการใช้สมุนไพรเป็นทางเลือกสำหรับลดไข้ นำไปสู่การใช้ในขนาดที่ถูกต้อง และปลอดภัย



Syringin (Eleutheroside B), $C_{17}H_{24}O_9$

รูปที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของไซริงจิน (Syringin) [29] ซึ่งเป็นสาระสำคัญที่พบในบอระเพ็ด

ในการศึกษาครั้งนี้ใช้ไซริงจิน เป็นสารบ่งชี้อ้างอิงในการตรวจวิเคราะห์บอระเพ็ด [21], [24], [26] ด้วยวิธีโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography: HPLC) [38-40] ซึ่ง ไซริงจินมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในการต้านการอักเสบ ลดความเจ็บปวด ลดระดับน้ำตาลในเลือด คลายความวิตกกังวล กระตุ้นภูมิคุ้มกันและต้านอนุมูลอิสระ [4] และยังมีคุณสมบัติในการยับยั้งการสังเคราะห์ Prostaglandin E_2 (PGE_2) [17], [27] ซึ่ง PGE_2 กระตุ้นการอักเสบและก่อให้เกิดไข้ได้ ทั้งนี้โครงสร้างทางเคมีของไซริงจิน แสดงดังรูปที่ 1

วัสดุและวิธีการ

การศึกษานี้ มีการออกแบบการศึกษาวิจัยแบบสุ่มสมบูรณ์ (Complete randomize design) เพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการลดไข้ ผลของสารสกัดบอระเพ็ดต่อปริมาณเกล็ดเลือด และค่าชีวเคมีของเลือดในสัตว์ทดลอง [19] ซึ่งขั้นตอนและการใช้สัตว์ทดลอง ได้ผ่านการพิจารณาเห็นชอบจากคณะกรรมการดูแลการเลี้ยงและการใช้สัตว์ทดลอง ศูนย์สัตว์ทดลอง มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ภายใต้ขอบเขตงานการเลี้ยงและใช้สัตว์ทดลองที่ RT012/2562[03/2562-07-22] รหัสดำเนินการที่ 2562/RT-0011

สัตว์ทดลอง ใช้หนูวิสตา (Wistar rat) เพศผู้ อายุ 8-10 สัปดาห์ น้ำหนักเริ่มต้น 250 – 300 กรัม จากบริษัท สยามโนมูระ จำกัด จำนวน 45 ตัว โดยแบ่งสัตว์ทดลองเป็น 9 กลุ่ม กลุ่มละ 5 ตัวดังนี้ กลุ่มควบคุมบวก จำนวน 2 กลุ่ม ได้รับยาพาราเซตามอล และยาไอบูโพรเฟน กลุ่มควบคุมลบจำนวน 1 กลุ่ม ได้รับสารละลาย 0.9% sodium chloride (NSS) และกลุ่มทดลอง จำนวน 3 กลุ่ม ได้รับสารสกัดบอระเพ็ดด้วยเอทานอล ขนาด 30, 90 และ 270 มก. ต่อน้ำหนักตัว 1 กก. และอีกจำนวน 3 กลุ่มได้รับสารสกัดบอระเพ็ดด้วยน้ำ ในขนาดเดียวกัน

การเตรียมสัตว์ทดลอง สถานที่เลี้ยง: ศูนย์สัตว์ทดลอง มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อุณหภูมิ 21 ± 1 °C ความชื้นสัมพัทธ์ $50 \pm 10\%$ RH ความสว่าง 325-350 LUX การถ่ายเทอากาศ 10 ACH dark/light cycle 12:12 ชั่วโมง ให้อาหารสำเร็จรูปที่มีจำหน่าย (commercial feed) แบบไม่จำกัด (ad libitum) และน้ำดื่มผ่านการกรองระบบ reverse osmosis ซึ่งก่อนการทดลองสัตว์ทดลอง จะถูกกักกันเป็นเวลา 2 สัปดาห์ และถูกเก็บตัวอย่างเลือดที่เวลา 72 ชั่วโมง ก่อนการทดลอง เพื่อตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยาและชีวเคมีของเลือด

การเตรียมตัวอย่างบอระเพ็ด เก็บตัวอย่างเถาสด อายุ 2 ปี ขึ้นไป มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางไม่น้อยกว่า 1.5 ซม. จากวิสาหกิจกลุ่มปลูกและแปรรูปสมุนไพร อำเภอแม่ใจ จังหวัดพะเยา นำไปตรวจสอบสารฆ่าแมลงตกค้าง ด้วยชุดทดสอบเอ็ม เจ พี เค (MJPK) ของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จากนั้นแปรรูป อบแห้งบดเป็นผง ณ ศูนย์ผลิตยาสมุนไพร โรงพยาบาลแม่ใจ จังหวัดพะเยา ตรวจเอกลักษณ์และคุณภาพตามมาตรฐาน Thai Herbal Pharmacopoeia [3] ณ ศูนย์นวัตกรรมสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ตรวจวิเคราะห์ HPLC fingerprint และปริมาณไซรินจิน ซึ่งเป็นสารบ่งชี้อ้างอิงในการวิเคราะห์ปริมาณ [24-26] ด้วยวิธีโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ณ ภาควิชาวิทยาศาสตร์เภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

การสกัดบอระเพ็ด นำผงบอระเพ็ดมาสกัดด้วยเอทานอล และน้ำ ดังนี้

สกัดบอระเพ็ดด้วยน้ำด้วยวิธีการต้ม โดยนำผงบอระเพ็ดแห้งโปรยในน้ำปราศจากออกซิเจน ในสัดส่วนผงบอระเพ็ด 1 ส่วน ต่อน้ำ 9 ส่วน ต้มจนเดือด จับเวลาจากเริ่มเดือด และมีอุณหภูมิระหว่าง 95-100°C จนครบ 15 นาที จากนั้นนำไปกรอง และทำให้แห้งด้วยวิธีทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dry) แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20°C

สกัดบอระเพ็ดด้วยเอทานอล โดยนำผงบอระเพ็ดแห้งโปรย ในเอทานอล 95% ในสัดส่วน ผงบอระเพ็ด 1 ส่วน ต่อ เอทานอล 6 ส่วน พร้อมเขย่าเป็นเวลา 6 ชั่วโมง จากนั้นนำไปกรองและระเหยแห้งด้วยเครื่อง rotary evaporator แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20°C

การตรวจวิเคราะห์ไซรินจิน (syringin) ด้วยวิธีโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง พัฒนาจากวิธีวิเคราะห์ของ Ahmad et al. [26] และตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ตาม ASEAN Analytical Validation Guideline [36] และ ICH Q2 (R1) [37] โดยใช้ Reverse phase HPLC, C-18 column (5 μ m, 4.6 i.d x 250 mm, Agilent Poroshell, USA) วัฏภาคเคลื่อนที่ระบบ Isocratic ประกอบด้วย acetonitrile ต่อ 0.05% trifluoroacetic water ในสัดส่วน 10 : 90 อัตราการไหล 1 mL/min ปริมาตรที่ฉีด 10 μ L ตรวจวัดด้วย UV ที่

ความยาวคลื่น 254 nm และใช้ไซรินจิน (Glentham Life Sciences, UK) เป็นสารมาตรฐาน

สารก่อไข้ ใช้วัคซีนป้องกัน คอตีบ บาดทะยัก และไอกรน (Diphtheria, Tetanus, Pertussis: DTP) ชนิด Whole cell pertussis ผลิตโดย Serum Institute of India, Ltd. ประเทศอินเดีย โดยในมนุษย์วัคซีน DTP ทำให้เกิดไข้ และปวด บวม แดง บริเวณที่ฉีด หลังจากได้รับวัคซีนประมาณ 3-4 ชั่วโมง ซึ่งอาจมีอาการอยู่ได้ถึง 2 วัน ในสัตว์ทดลอง พบว่าก่อให้เกิดไข้ในระยะเวลาประมาณ 90-120 นาที [30]

สารทดสอบ และยาแผนปัจจุบัน สำหรับใช้ในการทดลอง มีดังนี้

สารสกัดบอระเพ็ดด้วยเอทานอล (TCE) และสารสกัดด้วยน้ำ (TCW) ที่ใช้เทียบเท่ากับปริมาณผงบอระเพ็ด 30, 90 และ 270 มก. ต่อน้ำหนักตัว 1 กก. ยาแผนปัจจุบันสำหรับกลุ่มควบคุมบวกใช้ยาพาราเซตามอลชนิดน้ำเชื่อม และไอบูโพรเฟน ชนิดน้ำเชื่อม ซึ่งมีจำหน่ายในประเทศไทย โดยใช้ที่ขนาด 93 มก. ต่อน้ำหนักตัว 1 กก. และ 37.2 มก. ต่อน้ำหนักตัว 1 กก. ตามลำดับ สารทดสอบสำหรับกลุ่มควบคุมลบ ใช้สารละลาย 0.9% sodium chloride (NSS) ซึ่งมีจำหน่ายในประเทศไทย

การศึกษาในสัตว์ทดลอง สัตว์ทดลองที่ผ่านการกักกันแล้ว จะถูกเก็บตัวอย่างเลือดทางหลอดเลือดดำที่ขา (saphenous vein) ก่อนการทดลอง 72 ชั่วโมง เพื่อตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยาและชีวเคมีโลหิต เมื่อเริ่มการทดลอง วัดอุณหภูมิร่างกายทางทวารหนัก (rectal temperature) ด้วย rodent thermometer หลังจากนั้น จะถูกกระตุ้นให้เกิดไข้ด้วยการฉีดวัคซีน DTP 0.5 mL เข้าใต้ผิวหนัง แล้ววัดอุณหภูมิร่างกายทุก 30 นาที จนพบว่าไข้ (วัดอุณหภูมิร่างกายทางทวารหนักได้มากกว่า 37.5°C) สัตว์ทดลองจะได้รับสารทดสอบทางปาก (oral gavage) และวัดอุณหภูมิทุก 30 นาที ต่อเนื่องจนครบ 240 นาที หลังจากนั้น จะถูกเก็บตัวอย่างเลือดอีกครั้ง และสังเกตพฤติกรรมต่อเนื่องจนครบ 14 วัน แล้วจะถูกเก็บตัวอย่างเลือด เพื่อตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยา (red blood cell count: RBC, white blood cell count: WBC, hemoglobin: Hb และ platelet count) และค่าชีวเคมีของเลือด (blood urea

nitrogen: BUN, creatinine: Cr, Aspartate transaminase: AST, Alanine transaminase: ALT และ alkaline phosphatase: ALP) ณ ศูนย์ชันสูตรโรคสัตว์ และโรงพยาบาลสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

การวิเคราะห์ข้อมูล และการแปลผลทางสถิติ ดังนี้

วิเคราะห์ข้อมูลพื้นฐานด้วยสถิติพื้นฐาน ได้แก่ ค่าเฉลี่ย (mean) และ ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean $\pm$ standard deviation) ก่อนและหลังการทดลอง และวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อทดสอบสมมุติฐาน ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$) ได้แก่ เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าความเปลี่ยนแปลงทางโลหิตวิทยาและชีวเคมีของเลือดภายในกลุ่มด้วย paired sample t-test และเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มด้วย one-way ANOVA

วิเคราะห์เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการลดไข้ในแต่ละกลุ่มการทดลอง ในแต่ละช่วงเวลาด้วย repeated measure ANOVA และวิเคราะห์ความแตกต่างของอุณหภูมิที่ลดลงระหว่างกลุ่มการทดลองด้วย one-way ANOVA

ผลการศึกษา

การเตรียมบอระเพ็ด ตัวอย่างบอระเพ็ดที่เก็บตัวอย่างและแปรรูป มีลักษณะตามรูปที่ 2

ผลการตรวจวิเคราะห์บอระเพ็ดเทียบกับสารมาตรฐานไซรินจิน ผลของการตรวจวิเคราะห์ของสารสกัดบอระเพ็ด ด้วยเครื่อง HPLC ได้โครมาโตแกรมของไซรินจินที่เวลาหน่วง (retention time) 8.645 นาที ซึ่งใช้เคียงกับสารสกัดบอระเพ็ดด้วยเอทานอลและน้ำ ที่เกิดขึ้นที่ 8.634 และ 8.639 นาที ตามลำดับ ดังแสดง

ในรูปที่ 3 ทั้งนี้ จากการตรวจวิเคราะห์พบว่าสารสกัดบอระเพ็ดด้วยเอทานอลและน้ำ ได้ปริมาณไซรินจินจากผงบอระเพ็ด เท่ากับ 869.99 และ 265.57 $\mu\text{g/g}$ ตามลำดับ

ผลการทดสอบฤทธิ์ลดไข้ของสารสกัดบอระเพ็ด จากการกระตุ้นให้เกิดไข้ด้วยวัคซีน DTP พบว่า สัตว์ทดลองมีอุณหภูมิร่างกายเพิ่มจนมีไข้ ที่เวลา 90 นาที จึงเริ่มให้สารทดสอบทั้งกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดสอบ จากผลการทดสอบพบว่าค่าเฉลี่ยในการลดไข้ของสารสกัดบอระเพ็ดด้วยเอทานอล (TCE) ที่ขนาด 30, 90, 270 มก. ต่อน้ำหนักตัว 1 กก. เท่ากับ 1.62 ± 0.33 , 1.68 ± 0.51 และ $1.48 \pm 0.32^\circ\text{C}$ ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดบอระเพ็ดด้วยน้ำ (TCW) ที่ขนาด 30, 90, 270 มก. ต่อน้ำหนักตัว 1 กก. เท่ากับ 1.18 ± 0.19 , 1.14 ± 0.31 และ $1.32 \pm 0.36^\circ\text{C}$ ตามลำดับ ในขณะที่กลุ่มควบคุมบวก มีค่าเฉลี่ยในการลดไข้ของพาราเซตามอลและไอบูโพรเฟน เท่ากับ 1.62 ± 0.78 และ $1.48 \pm 0.18^\circ\text{C}$ และกลุ่มควบคุมลบ ซึ่งได้รับน้ำเกลือ เท่ากับ $0.96 \pm 0.31^\circ\text{C}$ ตามลำดับ (ผลการทดสอบแสดงตามตารางที่ 1) ทั้งนี้จากการวิเคราะห์ทางสถิติระหว่างกลุ่มการทดลองโดยใช้ repeated measure ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% พบว่ากลุ่มหนูทดลองที่ได้รับสารสกัดบอระเพ็ดด้วยเอทานอลทุกความเข้มข้นและสารสกัดบอระเพ็ดด้วยน้ำ 270 มก. มีค่าเฉลี่ยในการลดอุณหภูมิจากจุดเริ่มมีไข้ ไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุมบวกอย่างมีนัยสำคัญ



รูปที่ 2 ตัวอย่างบอระเพ็ดที่ใช้ในงานวิจัย

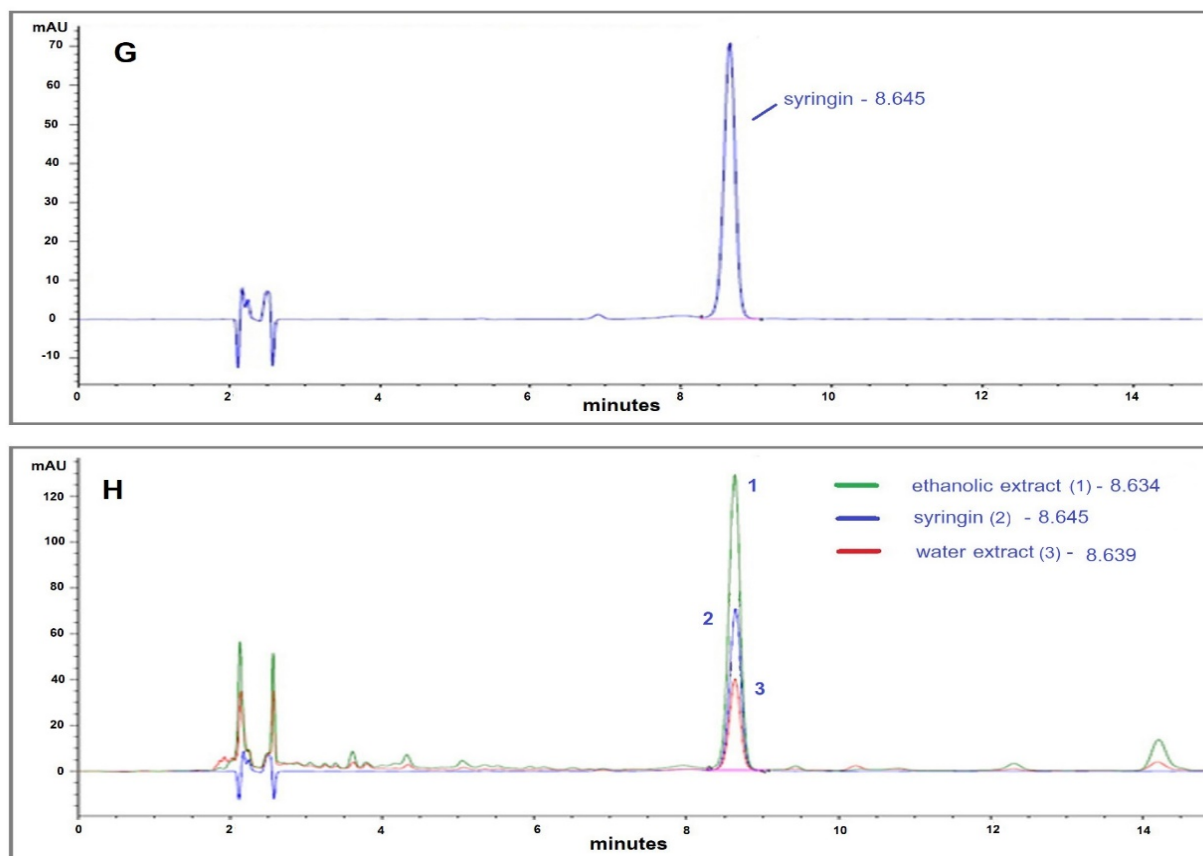
(A-B = ภาพบอระเพ็ดในสถานที่เก็บตัวอย่าง, C = ภาพบอระเพ็ดที่คัดเลือก, D = ภาพตัดตามขวางภาพบอระเพ็ด, E = ภาพบอระเพ็ดอบแห้ง, F = ผงบอระเพ็ดบด)

ตารางที่ 1 การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิร่างกายของหนูทดลอง (Mean±S.D.)

เวลา (นาที)	สารทดสอบที่ได้รับ และอุณหภูมิร่างกายของหนูทดลอง (°C)								
	Paracetamol	Ibuprofen	NSS	สารสกัดเอทานอล (TCE)			สารสกัดน้ำ (TCW)		
				30 มก.	90 มก.	270 มก.	30 มก.	90 มก.	270 มก.
เริ่มต้น	37.26±0.59	37.40±0.60	36.88±0.57	37.36±0.45	36.62±0.43	36.88±0.79	37.44±0.25	36.90±0.34	36.96±0.32
นาทีที่ 0*	38.48±0.29	38.40±0.23	38.60±0.33	39.42±0.34	39.36±0.28	39.30±0.16	39.08±0.31	38.98±0.18	39.22±0.27
นาทีที่ 30	37.98±0.71	37.80±0.19	38.44±0.19	38.88±0.28	38.72±0.42	38.98±0.41	38.80±0.48	38.64±0.23	38.82±0.18
นาทีที่ 60	37.78±0.58	37.78±0.58	38.30±0.16	38.84±0.28	38.62±0.40	38.62±0.40	38.46±0.34	38.68±0.19	38.76±0.49
นาทีที่ 90	37.68±0.55	37.80±0.35	38.34±0.26	38.56±0.19	38.40±0.23	38.40±0.21	38.40±0.14	38.26±0.17	38.50±0.35
นาทีที่ 120	37.52±0.45	37.86±0.26	38.18±0.13	38.52±0.23	38.30±0.29	38.50±0.07	38.24±0.15	38.32±0.28	38.34±0.30
นาทีที่ 150	37.74±0.18	37.62±0.23	38.24±0.23	38.28±0.28	38.36±0.25	38.44±0.26	38.16±0.11	38.46±0.31	38.58±0.32
นาทีที่ 180	37.84±0.11	37.60±0.14	38.40±0.21	38.26±0.36	38.32±0.25	38.26±0.15	38.08±0.22	38.42±0.16	38.48±0.48
นาทีที่ 210	37.82±0.11	37.62±0.36	38.22±0.16	38.28±0.25	38.34±0.43	38.52±0.62	38.06±0.17	38.30±0.23	38.34±0.41
นาทีที่ 240	37.92±0.16	38.00±0.16	38.30±0.25	38.24±0.19	38.38±0.23	38.62±0.43	38.20±0.25	38.22±0.18	38.28±0.43
อุณหภูมิที่ลดลงเฉลี่ย	1.62±0.78	1.48±0.18 ^a	0.96±0.31 ^{ab}	1.62±0.33 ^{bc}	1.68±0.51 ^b	1.48±0.32 ^b	1.18±0.19 ^{ac}	1.14±0.31 ^c	1.32±0.36

หมายเหตุ:

- 1) * นาฬิกาที่ 0 คือ เวลาที่เริ่มให้สารทดสอบและยาลดไข้
- 2) มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อ a เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมบวก (paracetamol, ibuprofen), b เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมลบ (0.9% sodium chloride: NSS) และ c เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับสารสกัดบอระเพ็ด
- 3) อุณหภูมิร่างกายที่เปลี่ยนแปลงภายในกลุ่มทดลองในแต่ละช่วงเวลามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$ เมื่อวิเคราะห์ด้วย repeated measure ANOVA



รูปที่ 3 G: โครมาโตแกรมของสารมาตรฐานไซรินจิน, H: โครมาโตแกรมซ้อนทับของไซรินจิน
ในสารสกัดบอระเพ็ด [1, 3] และสารมาตรฐานไซรินจิน [2]

ผลการตรวจวิเคราะห์ด้านโลหิตวิทยา
(ตารางที่ 2) กลุ่มทดลองที่ได้รับสารสกัดบอระเพ็ดเป็นเวลา 240 นาทีมีปริมาณเกล็ดเลือดใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุมบวกที่ได้รับ พาราเซตามอล แต่น้อยกว่ากลุ่มควบคุมลบที่ได้รับสารละลาย 0.9% sodium chloride ในขณะที่กลุ่มที่ได้รับไอบูโพรเฟน มีค่าเฉลี่ยของปริมาณเกล็ดเลือดต่ำที่สุด แต่พบว่ายังอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน จากการวิเคราะห์เปรียบเทียบความ

เปลี่ยนแปลงก่อนและหลังการทดสอบ ในแต่ละกลุ่มด้วย Paired Samples T-Test พบว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และเมื่อวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณเกล็ดเลือดระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารทดสอบต่างชนิดกัน เป็นเวลา 240 นาที โดยใช้วิธี One-way ANOVA พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 2 การเปลี่ยนแปลงด้านโลหิตวิทยาของสัตว์ทดลอง

รายการตรวจวิเคราะห์ /	ผลการตรวจวิเคราะห์ (Mean±S.D.)			
ชนิดสารทดสอบ	WBC ($\times 10^3$ /uL)	RBC ($\times 10^6$ /uL)	Hb g/dL	PLT ($\times 10^3$ /uL)
ค่ามาตรฐาน	1.90-16.80	5.00-9.80	11.0-17.0	250-1500
ก่อนทดลอง	10.18±2.71	8.98±0.92	17.46±1.62	795.03±201.88
พาราเซตามอล	11.08±3.13	8.00±0.56	16.04±1.07	708.20±146.24
ไอบูโพรเฟน	11.36±2.43	7.64±0.36	15.54±1.19	632.20±220.44
0.9% NSS	10.91±3.07	8.65±1.76	17.20±3.17	878.67±175.72
TCE 30 mg	12.38±2.47	8.31±0.77	15.92±0.74	736.20±158.91
TCE 90 mg	12.99±2.10	8.43±0.33	16.08±0.73	790.25±62.56
TCE 270 mg	13.37±3.64	7.92±0.29	15.26±0.88	734.50±83.96
TCW 30 mg	12.32±2.91	7.98±0.21	15.44±0.63	857.67±274.96
TCW 90 mg	10.76±2.38	8.29±0.52	15.76±1.02	761.00±56.65
TCW 270 mg	12.85±2.18	8.00±0.36	15.32±0.38	783.60±74.25
หลังทดลอง 14 วัน	10.48±2.07	8.76±0.56	16.36±0.96	872.11±170.44

หมายเหตุ: WBC: White Blood Cell, RBC: Red Blood Cell, Hb: Hemoglobin และ PLT: Platelet

ผลการตรวจวิเคราะห์ด้านชีวเคมีของเลือด
ผลของการตรวจวิเคราะห์ทางชีวเคมีของเลือดจากตัวอย่างเลือดของสัตว์ทดลองที่เก็บก่อนการทดลอง ระหว่างการทดลองและหลังการทดลอง 14 วัน แสดงดังในตารางที่ 3 พบว่าค่า BUN และ Creatinine ซึ่งบ่งชี้การทำงานของไต ในกลุ่มควบคุมกับกลุ่มทดลอง มีค่าใกล้เคียงกัน และอยู่ในช่วงมาตรฐาน เมื่อพิจารณาค่าชีวเคมีของเลือดที่บ่งชี้การทำงานของตับ ได้แก่ ระดับเอนไซม์ AST, ALT และ ALP พบว่าระดับเอนไซม์ AST ของกลุ่มควบคุม และกลุ่มทดลองที่ได้รับสารสกัดบอระเพ็ด ด้วยเอทานอล มีค่าใกล้เคียงกันและอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน ในขณะที่กลุ่มทดลองที่ได้รับสารสกัดบอระเพ็ดด้วยน้ำ มีค่า เอนไซม์ AST สูงกว่ากลุ่มอื่น และมีค่าสูงกว่ามาตรฐานเล็กน้อย ในขณะที่ค่าเอนไซม์ ALT และเอนไซม์ ALP จะมีค่าใกล้เคียงกันทุกกลุ่มและอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน ทั้งนี้เมื่อพิจารณาค่าเอนไซม์ ALT พบว่ากลุ่มสัตว์ทดลองที่ได้รับสารสกัดบอระเพ็ดด้วยเอทานอล ในขนาดที่เพิ่มขึ้นจะมีค่าเอนไซม์ ALT เพิ่มขึ้น เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติเปรียบเทียบความเปลี่ยนแปลงภายในกลุ่มทดลอง

ก่อนและหลังได้รับสารทดสอบด้วย Paired samples T-Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% พบว่าค่าเอนไซม์ ALT หลังจากได้รับสารสกัด ภายในกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับสารสกัดมีความแตกต่างระหว่างก่อนและหลังได้รับสารทดสอบอย่างมีนัยสำคัญ และเมื่อพิจารณาค่าเอนไซม์ ALP เฉลี่ยก่อนและหลังการทดสอบ ภายในแต่ละกลุ่มทดลอง พบว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองที่ได้รับสารสกัดบอระเพ็ดด้วยน้ำ มีความแตกต่างภายในกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% แต่ยังคงมีค่าอยู่ในระดับมาตรฐาน ทั้งนี้เมื่อเปรียบเทียบค่า AST, ALT และ ALP ระหว่างกลุ่มพบว่าไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญ จากการสังเกตลักษณะทางกายภาพ พฤติกรรม และน้ำหนักตัว ของหนูทดลองหลังจากได้รับสารสกัดเป็นเวลา 14 วัน ไม่พบความผิดปกติ ด้านกายภาพ พฤติกรรม หรือเสียชีวิตระหว่างสังเกตอาการ

ตารางที่ 4 การเปลี่ยนแปลงด้านชีวเคมีของเลือดในหนูทดลอง

รายการตรวจ วิเคราะห์ / ชนิดสาร ทดสอบ	ผลการตรวจวิเคราะห์ (Mean±S.D.)				
	BUN (mg/dL)	Creatinine (mg/dL)	AST (U/L)	ALT (U/L)	ALP (U/L)
ค่ามาตรฐานอ้างอิง*	15.6-24.8	0.60-0.74	81-196	27-48	82-175
72 ชม. ก่อนทดลอง	25.03±2.22	0.59±0.06	157.00±46.12	36.02±4.57	186.02±41.03
พาราเซตามอล	20.44±1.29	0.54±0.06	181.33±38.28	47.20±8.53	165.20±34.84 [#]
ไอบูโพรเฟน	25.24±3.00	0.57±0.03	204.67±5.13	45.60±6.07	156.80±35.86 [#]
0.9% NSS	21.96±1.71	0.54±0.02	200.00±41.07	47.40±3.97 [#]	142.40±32.85 [#]
TCE 30 mg	22.14±2.48	0.61±0.03	157.40±29.85	45.60±7.92 [#]	139.00±42.85
TCE 90 mg	22.08±2.05	0.61±0.02	165.60±27.56	47.20±6.02 [#]	158.80±20.12
TCE 270 mg	21.60±2.79	0.61±0.09	174.25±13.07	55.00±13.27 [#]	135.60±8.85
TCW 30 mg	24.12±1.29	0.53±0.04	242.60±117.77	50.20±7.89 [#]	129.40±37.39 [#]
TCW 90 mg	21.16±1.73	0.59±0.10	241.80±97.30 [#]	44.80±8.90	153.40±26.19 [#]
TCW 270 mg	22.28±3.21	0.61±0.12	188.20±26.80	46.80±5.31 [#]	144.20±14.55
หลังทดลอง 14 วัน	22.14±2.24	0.65±0.05	115.22±28.00	35.40±5.89	129.87±17.34

หมายเหตุ: BUN: Blood Urea Nitrogen, AST: Aspartate aminotransferase, ALT: Alanine transaminase, ALP: Alkaline Phosphatase, * วรรณิและคณะ, 2545, [#] ค่าความแตกต่างทางสถิติก่อนและหลังได้รับสารทดสอบ ภายในกลุ่มทดลองที่ $p<0.05$

วิจารณ์ผล

การวิจัยนี้แสดงถึงประสิทธิผลในการลดไข้ของสารสกัดบอระเพ็ดด้วยเอทานอล (TCE) และ สารสกัดบอระเพ็ดด้วยน้ำ (TCW) เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมบวกที่ได้รับยาพาราเซตามอล และไอบูโพรเฟน พบว่าสารสกัดบอระเพ็ดทั้งสองชนิดมีประสิทธิผลในการลดไข้ได้ใกล้เคียงกลุ่มควบคุมบวก ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยสารสกัดบอระเพ็ดด้วยเอทานอล ในขนาด 30, 90 และ 270 มก. ต่อน้ำหนักตัว 1 กก. มีค่าเฉลี่ยในการลดไข้ เท่ากับ 1.62 ± 0.33 , 1.68 ± 0.51 และ $1.48\pm0.32^{\circ}\text{C}$ ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดบอระเพ็ดด้วยน้ำในขนาด 30, 90 และ 270 มก. ต่อน้ำหนักตัว 1 กก. มีค่าเฉลี่ยในการลดไข้ เท่ากับ 1.18 ± 0.19 , 1.14 ± 0.31 และ $1.32\pm0.36^{\circ}\text{C}$ ตามลำดับ ทั้งนี้ กลุ่มควบคุมบวกที่ได้รับพาราเซตามอลและไอบูโพรเฟน มีค่าเฉลี่ยในการลดไข้ เท่ากับ 1.62 ± 0.78 และ $1.48\pm0.18^{\circ}\text{C}$ ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับ

การศึกษาของ Widyaningsih W. และคณะ ซึ่งศึกษาฤทธิ์ลดไข้ของสารสกัดบอระเพ็ดด้วยคลอโรฟอร์มในหนูวิสตา [30] และสอดคล้องกับการศึกษาของ Rakib A. และคณะ ซึ่งศึกษาฤทธิ์ลดไข้ของสารสกัดบอระเพ็ดด้วยเมทานอล คลอโรฟอร์ม และอีเทอร์ ในหนูอัลบิโน (Swiss albino mice) [31] ทั้งนี้พบว่าสารสกัดบอระเพ็ดด้วยเอทานอลลดไข้ได้ดีกว่าสารสกัดด้วยบอระเพ็ดด้วยน้ำ ซึ่งอาจมีความสัมพันธ์กับปริมาณไซรินจินที่ตรวจวิเคราะห์ในสารสกัดจากบอระเพ็ด 30, 90 และ 270 มก. ที่สกัดด้วยเอทานอลเท่ากับ 26.10, 78.30 และ 234.90 μg ตามลำดับ และในสารสกัดบอระเพ็ดด้วยน้ำ เท่ากับ 8.00, 23.90 และ 71.70 μg ตามลำดับ แต่ทั้งนี้ในบอระเพ็ดมีพิษเคมีที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาหลายชนิด [4] และยังไม่มีการศึกษาฤทธิ์ลดไข้ของไซรินจิน โดยตรง ไซรินจินจึงอาจจะไม่ใช่สารเพียงชนิดเดียวที่มีฤทธิ์ในการลดไข้ แต่ในการศึกษานี้ใช้ไซรินจินเป็นสารบ่งชี้ในการตรวจวิเคราะห์ [41]

ด้านของผลของการเปลี่ยนแปลงปริมาณเกล็ดเลือด พบว่าสัตว์ทดลองที่ได้รับสารสกัดบอระเพ็ดทั้ง 2 รูปแบบ ในความเข้มข้นที่ต่างกัน 3 ระดับครั้งเดียว ไม่มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่มควบคุม และไม่มีมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญภายในกลุ่มทดลองระหว่างก่อนและหลังได้รับสารทดสอบ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของสุวิทย์ ต้วมมะโน และคณะ [7] ซึ่งได้รายงานการศึกษาว่าสารสกัดบอระเพ็ดด้วยเอทานอลไม่รบกวนการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด (platelet aggregation) และไม่มีรบกวนแข็งตัวของเลือด (blood coagulation) ซึ่งสามารถสร้างความมั่นใจในการใช้ผู้ป่วยที่อาจมีปัญหาด้านการแข็งตัวของเลือด เช่น ไข้เลือดออก ได้ นอกจากนี้เมื่อวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยาอื่น ๆ ได้แก่ เม็ดเลือดขาว (WBC), เม็ดเลือดแดง (RBC) และ ฮีโมโกลบิน (Hb) พบว่าอยู่ในเกณฑ์ปกติ และไม่มีมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างก่อนและหลังการทดลอง ทั้งภายในกลุ่มทดลอง และระหว่างกลุ่มทดลอง

การวิเคราะห์ผลทางชีวเคมีของเลือดในสัตว์ทดลอง ที่แสดงแสดงสภาวะการทำงานของไต ได้แก่ ค่า BUN และ creatinine (Cr) และกลุ่มที่แสดงสภาวะการทำงานของตับ ได้แก่ ระดับเอนไซม์ AST, ALT และ ALP ซึ่งค่า BUN, Cr, AST, ALT และ ALP ที่ได้จากการวิจัยไม่มีความแตกต่างกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งนี้พบว่าค่า ALT, ALP ในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองบางกลุ่มมีค่าเพิ่มขึ้นหลังได้รับสารทดสอบอย่างมีนัยสำคัญ แต่ยังคงอยู่ในระดับปกติและไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างกลุ่ม ซึ่งอาจบ่งชี้ว่าอาจมีปัจจัยอื่นที่ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ในระหว่างการทดลอง เช่น วัคซีนและส่วนประกอบของวัคซีนที่ใช้ในการกระตุ้นให้เกิดไข้ เป็นต้น ซึ่งอาจจำเป็นต้องมีการศึกษาต่อเพิ่มเติมต่อไป

จากผลการศึกษาในภาพรวมจะเห็นได้ว่า สารสกัดบอระเพ็ด ทั้ง 2 รูปแบบ มีประสิทธิภาพในการลดอุณหภูมิร่างกายในสัตว์ทดลอง ไม่มีผลกระทบต่อปริมาณเกล็ดเลือดและการเกาะตัวของเกล็ดเลือด รวมถึงมีความปลอดภัยต่อการทำงานของไตและตับ

เมื่อได้รับสารสกัดครั้งเดียว และในภาพรวมอาจสรุปได้ว่า สารสกัดบอระเพ็ดมีประสิทธิภาพและความปลอดภัยใกล้เคียงกับยาแผนปัจจุบันที่ใช้ในการลดไข้เมื่อใช้ในระยะสั้น และมีข้อดีคือไม่มีผลกระทบต่อการรวมกลุ่มตัวของเกล็ดเลือด[12] การแข็งตัว และไม่กระทบต่อปริมาณเกล็ดเลือด ซึ่งสามารถพิจารณาใช้เป็นทางเลือกในการลดไข้สำหรับกลุ่มผู้ป่วยที่มีปัญหาสุขภาพที่เกี่ยวข้องกับการรวมกลุ่มตัวของเกล็ดเลือด และผู้ป่วยไข้เลือดออก หรือผู้ป่วยที่มีประวัติเกิดอาการไม่พึงประสงค์จากยาลดไข้แผนปัจจุบันได้ โดยทั้งนี้อาจสรุปเบื้องต้นได้ว่าบอระเพ็ด ทั้ง 3 ความเข้มข้น (30 - 270 มก.) มีความปลอดภัยและมีประสิทธิภาพในการลดไข้ ซึ่งสามารถคำนวณขนาดยาจากผลการศึกษาสำหรับใช้ในมนุษย์ ตาม Human equivalent dose ได้ในขนาด 4.84 - 43.55 มก. ต่อน้ำหนักตัว 1 กก. ทั้งนี้อาจต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมในด้านอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ นายคำอ้าย เวียงนาค นางเพชร คำลือ และวิสาห์กิจกลุ่มปลูกและแปรรูปสมุนไพรอำเภอแม่ใจ จังหวัดพะเยา ในการสนับสนุนตัวอย่างบอระเพ็ด ในการศึกษาวิจัย ขอขอบคุณงานผลิตสมุนไพร โรงพยาบาลแม่ใจ ในการสนับสนุนสถานที่ในการแปรรูปและควบคุมคุณภาพสมุนไพรเบื้องต้น

ขอขอบคุณ ผศ.ดร.สุนีย์ จันทรสกา และศูนย์นวัตกรรมสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ให้คำปรึกษาและให้ความอนุเคราะห์ในการตรวจสอบควบคุมคุณภาพสมุนไพรตามมาตรฐาน Thai Herbal Pharmacopoeia ขอขอบคุณศูนย์สัตว์ทดลองมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการสนับสนุน ดูแลด้านการศึกษาวิจัยในสัตว์ทดลอง และขอขอบคุณ ศูนย์ชันสูตรโรคสัตว์และโรงพยาบาลสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ ในความอนุเคราะห์งานการตรวจวิเคราะห์ด้านโลหิตวิทยา และการตรวจวิเคราะห์ด้านชีวเคมีโลหิต

เอกสารอ้างอิง

- [1] Dinarello CA, Porat R. Fever and Hyperthermia. In: Longo DL, ed.; Fauci AS, ed.; Kasper DL, ed.; Hauser SL, ed.; Jameson JL, ed.; Loscalzo J, ed. Harrison's Principles of Internal Medicine 17th Edition. United States: McGraw-Hill Medical; 2008:117-121.
- [2] Bureau of Epidemiology Department of Disease Control. Reporting guidelines of dangerous communicable diseases and communicable diseases that must be monitored. According to the Communicable Disease Act B.E. 2015. Nonthaburi: Ministry of Public Health; 2018. (In Thai)
- [3] Department of medical sciences, Ministry of public health. Bora Phet; Thai Herbal Pharmacopoeia 2018. Nonthaburi; 2018.
- [4] Ahmad W, Yantan I, Bukhari SNA. *Tinospora crispa* (L.) Hook. f. & Thomson: A Review of Its Ethnobotanical, Phytochemical, and Pharmacological Aspects. *Frontiers in Pharmacology* 2016;7:59.
- [5] Maneenoon K, Khuniad C, Teanuan Y, Saedan N, Prom-in S, Rukleng N, et al. Ethnomedicinal plants used by traditional healers in Phatthalung Province, Peninsular Thailand. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 2015;11:43.
- [6] Xu Y, Niu Y, Gao Y, Wang F, Qin W, Lu Y, et al. Borapetoside E, a Clerodane Diterpenoid Extracted from *Tinospora crispa*, Improves Hyperglycemia and Hyperlipidemia in High-Fat-Diet-Induced Type 2 Diabetes Mice. *Journal of Natural Products* 2017;80:2319-2327.
- [7] Duangmano S, WonKngam S, Ladchantha P, Palanan W, Wongtagn O. Inhibitory effect of various Thai natural plants ethanolic extracts on platelet aggregation and blood coagulation *in vitro*. *Journal of Associated Medical Sciences* 2016; 49(1):77-89.
- [8] Langrand J, Regnault H, Cachet X, Bouzidi C, Villa AF, Serfatyet L, et al. Toxic hepatitis induced by a herbal medicine: *Tinospora crispa*. *Phytomedicine* 2014; 21(8-9):1120–1123.
- [9] Denis G, Gerard Y, Sahpaz S, Laporte R, Viget N, Ajana F, et al. Malarial Prophylaxis with Medicinal Plants: Toxic Hepatitis due to *Tinospora crispa*. *Therapie* 2007; 62(3):271–272.
- [10] Fukuda N, Yonemitsu M, Kimura T. Isolation and structure elucidation of the five furanoid diterpene glycosides borapetoside C-G. *Liebigs Ann. Chem* 1993; 12:491–495
- [11] Picheansoonthon C, Chavalit M, Jeerawong W, et al. Description of Phra Narai Medicine textbook Issue in honor of His Majesty the King's 72nd birthday, 5 December 1999, 3rd edition. Bangkok: Amarin Publishing; 2015. p.428-9. (In Thai)
- [12] Sapcharoen P, Deevises K. Tales disease textbooks. Foundation of Thai Traditional Medicine Development. Nonthaburi: Express Transportation Organization of Thailand Printing; 2013. (In Thai)
- [13] Sirithanachote K. Boraphet. In: Sirithanachote K., editor. *Encyclopedia of Thai Local Wisdom: Wisdom of using Thai herbs*. Bangkok: Biodiversity-based Economy Development Office (Public Organization); 2012. p.60. (In Thai)

- [14] Vinicchaikul S, et al. Boraphet. In: Bunyapraphatsara N, editor. Herb. Local plant (2). Bangkok: Prachachon Printing 1998;502-505. (In Thai)
- [15] Premchit S. Textbook of Lanna herbal medicine. Chiang Mai: Social Research Institute Chiang Mai University; 1977. (In Thai)
- [16] National Drug System Development Committee. Announcement of the National Drug System Development Committee on the national list of essential drugs 2018 ed. Food and Drug Administration Ministry of Public Health website; 2018. [cited 2018 October 18] Available from: <http://www.fda.Moph.go.th/sites/drug/Shared%20Documents/New/nlem2561.PDF>. (In Thai)
- [17] Kalinski P. Regulation of Immune Responses by Prostaglandin E2. The Journal of Immunology 2012; 188(1):21-28.
- [18] Ogoia D. Fever, fever patterns and diseases called 'fever'- A review. Journal of Infection and Public Health 2011; 4:108-124
- [19] Institute of Laboratory Animal Research. Guide for the care and use of laboratory animals 8th Edition. Washington D.C.: National Academies Press; 2011.
- [20] Bunjob M, Kun-anake A, Chaiwat J, Sangvaranond B. Developed Process of Drug from *Tinospora crispa*. Bulletin of the department of medical sciences. 1999;41(3): 291-303. (In Thai)
- [21] Poowanna R, Sirisawat C, Mingnan S, Sriwicha W, Prathumtet J, Kaewsoongnern T. et al. Effect of Storage Times on the Syringin Contents in *Tinospora crispa* (L.) Miers ex Hook.f. & Thomson Decoction. Journal of Thai Traditional & Alternative Medicine 2018;16(1):16-21. (In Thai)
- [22] The World Health Organization. VigiAccess: The World Health Organization's global database for ADRs. vigiaccess website. 2018. [Internet]. [cited 2018 October 28]. Available from: <http://www.vigiaccess.org>.
- [23] The World Health Organization. VigiBase: WHO global database of individual case safety reports. who-umc website. [Internet]. [cited 2018 October 28]. Available from: <https://www.who-umc.org/vigibase/services/>.
- [24] Global Information Hub on Integrated Medicine [internet]. Medicinal Herbs & Plant Database: *Tinospora crispa* (L.) Hook.f. & Thomson [Internet]. [cited 2019 September 3] Available from: http://globinmed.com/index.php?option=com_content&view=article&id=104888:tinospora-crispa-l-hook-f-thomson-104888&catid=209&Itemid=143.
- [25] Ismail M, Choudhary MI. Compounds Isolated from *Tinospora crispa*. Chemistry of Natural Compounds 2016; 52(6):1151–1153.
- [26] Ahmad W, Jantan I, Kumolosasi E, Bukhari SNA. Immunostimulatory effects of the standardized extract of *Tinospora crispa* on innate immune responses in Wistar Kyoto rats. Drug Design, Development and Therapy 2015;9:2961–2973.
- [27] Ahmad W, Jantan I, Kumolosasi E, Haque MA, Bukhari SNA. Immunomodulatory effects of *Tinospora crispa* extract and its major compounds on the immune functions of RAW 264.7 macrophages. International Immunopharmacology 2018; 60: 141-151.
- [28] Chavalittumrong P, Attawish A, Chuthaputti A, Chuntapet P. Toxicological study of crude extract of *Tinospora crispa* Mier ex Hook F. & Thoms. Thai Journal of Pharmaceutical Sciences 1997; 21(4):199–210.

- [29] National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 5316860, Syringin. [internet]. [cited 2018 September 12]. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Syringin>.
- [30] Widyaningsih W, Widyarini Y, Agustina A, Sofia V. The antipyretic effect from fractionation of ethanolic extract *Brotowali* stem (*Tinospora Crispa*) on male rats wistar strain. *Media Pharmasi* 2009; 8(1):33-38.
- [31] Rajib A, Ahmed S, Islam MA, Haye A, Uddin SMN, Uddin MMN. Antipyretic and hepatoprotective potential of *Tinospora crispa* and investigation of possible lead compounds through in silico approaches. *Food Science & Nutrition* 2020; 8:547–556.
- [32] Caisey D, King J. Clinical chemical values for some common laboratory animals. *Clinical Chemistry* 1980; 26:1877-1879.
- [33] Prayoonviwat V. Antiplatelet agents [Refresher course]. *Thai journal of hematology and transfusion medicine*. 1999; 9(2): 119-128. (In Thai)
- [34] Patrono C, Andreotti F, Arnesen H, Badimon L, Baigent C, Collet JP, et al. Antiplatelet agents for the treatment and prevention of atherothrombosis. *European Heart Journal* 2011; 32(23):2922–2932.
- [35] Cicmil M, Thomas JM, Leduc M, Bon C, Gibbins JM. Platelet endothelial cell adhesion molecule-1 signaling inhibits the activation of human platelets. *Blood* 2002; 99(1):137–44.
- [36] ASEAN Technical Guidelines to ACTR on Quality: ASEAN Analytical Validation Guideline 2006 [internet]. [cited 2018 November 20]. Available from: <https://asean.org/wp-content/uploads/2012/10/Asean-Analytical-Validation-gl.pdf>.
- [37] ICH harmonised tripartite guideline. Validation of analytical procedures: Text and methodology Q2(R1) 2005 [internet]. [cited 2018 November 20]. Available from: <https://database.ich.org/sites/default/files/Q2%28R1%29%20Guideline.pdf>
- [38] Kazusaki M, Ueda S, Takeuchi N, Ohgami Y. Validation of analytical procedures by high-performance liquid chromatography for pharmaceutical analysis. *Chromatography* 2012; 33(2):65-73.
- [39] Suwannarat K, Kittiphinitnunta K, Sila-on W, Puapermpomsiri U, Onlaor S, Pitchayajittipong C. Method Validation for Vancomycin Analysis in Extemporaneous Suspensions via HPLC. *Isan journal of pharmaceutical sciences* 2018; 14(4):132-141.
- [40] Sa-ngeumrum K, Bungthong S, Sila-on W, Puapermpomsiri U, Onlaor S, Pitchayajittipong C. Method validation for metronidazole analysis by HPLC in extemporaneous suspensions. *Isan journal of pharmaceutical sciences* 2017; 13(1):219-27.

- [41] Haque MA, Jantan I, Harikrishnan H, Ahmad W. Standardized ethanol extract of *Tinospora crispa* upregulates pro-inflammatory mediators release in LPS-primed U937 human macrophages through stimulation of MAPK, NF-KB and PI3K-Akt signaling networks. BMC Complementary Medicine and Therapies 2020; 20:245.
- [42] Abotsi WKM, Lamptey SB, Afrane S, Boakye-Gyasi E, Umoh RU, Woode E. An evaluation of the anti-inflammatory, antipyretic and analgesic effects of hydroethanol leaf extract of *Albizia zygia* animal models. Pharmaceutical Biology 2017; 55(1):338–348
- [43] Ahmad S, Rehman T, Abbasi WM. In vivo evaluation of antipyretic effects of some homeopathic ultra-high dilutions on Baker's yeast-induced fever on Similia principle. Journal of Ayurveda and Integrative Medicine 2018; 9(3):177-182.
- [44] Ashok BK, Ravishankar B, Prajapati PK, Bhat SD. Antipyretic activity of Guduchi Ghrita formulations in albino rats. Ayu 2010; 31(3): 367-370.
- [45] Jongchanapong A, Singharachai C, Palanuvej C, Ruangrunsi N, Towiwat P. Antipyretic and antinociceptive of Ben-cha-lo-ka-wi-chian remedy. Journal of health research 2010; 24(1):15-22.