

ฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือดและผลต่อการกระตุ้นการหลั่งอินซูลินของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว  
ในหนูขาวปกติและหนูเบาหวานที่ถูกเหนี่ยวนำโดยสเตรปโตโซโตซิน



นางสาวกมลวรรณ ศรีปลั่ง

สถาบันวิทยบริการ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเภสัชวิทยา (สหสาขาวิชา)


บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2546

ISBN 974-17-4872-8

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

HYPOGLYCEMIC AND STIMULATORY EFFECTS OF INSULIN SECRETION OF *ORTHOSIPHON*  
*STAMINEUS* EXTRACT IN NORMAL AND STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETIC RATS



Miss Kamolwan Sriplang

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science in Pharmacology

Inter-Departmental Program in Pharmacology

Graduate School

Chulalongkorn University

Academic Year 2003

ISBN 974-17-4872-8

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือดและผลต่อการกระตุ้นการหลั่งอินซูลินของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมวในหนูขาวปกติและหนูเบาหวานที่เหนี่ยวนำโดยสเตรปโตโซโตซิน
โดย	นางสาวกมลวรรณ ศรีปลั่ง
สาขาวิชา	เภสัชวิทยา
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สพ.ญ.ดร.ศิรินทร หยิบไชคอนันต์

---

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย  
( ศาสตราจารย์ ดร.สุชาดา กีระนันทน์ )

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ  
( รองศาสตราจารย์ ดร.สุพัตรา ศรีไชยรัตน์ )

..... อาจารย์ที่ปรึกษา  
( ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สพ.ญ.ดร.ศิรินทร หยิบไชคอนันต์ )

..... กรรมการ  
( รองศาสตราจารย์ พญ.สุมนา ชมพูทวีป )

..... กรรมการ  
( ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุรีย์ เจียรณมงคล )

กมลวรรณ ศรีปลั่ง : ฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือดและผลต่อการกระตุ้นการหลั่งอินซูลินของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมวในหนูขาวปกติและหนูเบาหวานที่เหนี่ยวนำโดยสเตربتโตไซโตซิน. (HYPOGLYCEMIC AND STIMULATORY EFFECTS OF INSULIN SECRETION OF *ORTHOSIPHON STAMINEUS* EXTRACT IN NORMAL AND STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETIC RATS) อ.ที่ปรึกษา : ผศ.สพ.ญ.ดร.ศิรินทร หยิบโชคอนันต์, 88 หน้า. ISBN 974-17-4872-8

หญ้าหนวดแมว(*Orthosiphon stamineus* Benth.) เป็นพืชสมุนไพรไทยที่มีสรรพคุณลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ ในการศึกษาครั้งนี้จึงได้สนใจศึกษาหาสารประกอบเคมีในสารสกัดด้วยน้ำของใบหญ้าหนวดแมว พบ phenolic compounds  $13.07 \pm 7.50$  มก./ก. และ flavonoids  $1.73 \pm 0.14$  ไมโครกรัม/ก. ซึ่งสารทั้งสองชนิดได้มีรายงานว่าสามารถลดน้ำตาลในเลือดได้ จึงได้นำมาทดสอบฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือดด้วยวิธี oral glucose tolerance test (OGTT) พบว่าในหนูปกติ สารสกัดขนาด 0.2 และ 0.5 ก./กก. มีผลลดระดับน้ำตาลได้เล็กน้อย โดยที่ 1.0 ก./กก. มีผลลดมากที่สุด และมีผลใกล้เคียงกับกลุ่มที่ได้รับ glibenclamide ส่วนในหนูเบาหวานที่ถูกเหนี่ยวนำโดย streptozotocin พบว่าสารสกัดขนาด 0.5 และ 1.0 ก./กก. มีผลลดระดับน้ำตาลอย่างมีนัยสำคัญ และเมื่อให้สารสกัดขนาด 0.5 ก./กก. วันละครั้งทุกวันเป็นเวลา 14 วัน ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของระดับน้ำตาลในวันที่ 8 แต่พบในกลุ่มที่ได้รับ glibenclamide ส่วนในวันที่ 14 พบว่าทั้ง 2 กลุ่ม มีระดับน้ำตาลลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ผลต่อสารเคมีในเลือดส่วนใหญ่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่เวลาเดียวกัน ยกเว้นค่า aspartate aminotransferase (AST) และ high-density lipolipid (HDL) และพบว่าสารสกัดไม่มีผลก่อให้เกิดพยาธิสภาพต่อเนื้อเยื่อต่างๆ

ส่วนผลของสารสกัดต่อการกระตุ้นการหลั่งอินซูลินจากตับอ่อน โดยวิธี *In Situ* Pancreatic Perfusion พบว่าสารสกัดความเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/มล. เมื่อให้ร่วมกับกลูโคสขนาด 10 มิลลิโมลาร์ สามารถเพิ่มการหลั่งอินซูลินได้ 11 เท่า และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

จากผลการทดลองนี้สรุปได้ว่า สารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดของหนูเบาหวาน ได้โดยสามารถกระตุ้นการหลั่งอินซูลินในภาวะที่มีน้ำตาลสูง ดังนั้นสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมวจึงน่าจะมีประโยชน์สำหรับการรักษาผู้ป่วยโรคเบาหวาน

สาขาวิชา เกษัตริศาสตร์

ปีการศึกษา 2546

ลายมือชื่อนิสิต.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

# # 4489054120 : MAJOR PHARMACOLOGY

KEY WORD : HYPOGLYCEMIC ACTIVITY/ *ORTHOSIPHON STAMINEUS* BENTH/  
INSULIN/ STREPTOZOTOCIN

KAMOLWAN SRIPLANG : HYPOGLYCEMIC AND STIMULATORY EFFECTS OF  
INSULIN SECRETION OF *ORTHOSIPHON STAMINEUS* EXTRACT IN NORMAL  
AND STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETIC RATS. THESIS ADVISOR :  
ASST.PROF. SIRITRON YIBCHON-ANUN, DVM, Ph.D., 88 pp. ISBN 974-17-  
4872-8.

The objective of this study was to investigate the hypoglycemic activity of *Orthosiphon stamineus* Benth.(Thai name: Yah nuat maoh) water extract. The chemical compound screening showed phenolic compounds and flavonoids, which were found 13.07±7.5 mg/g and 1.73±0.14 µg/g, respectively. In oral glucose tolerance, the extract at 0.2 and 0.5 g/kg showed a little hypoglycemic effect in normal rats. The extract at 1.0 g/kg was the most effective and response was closed to the result of glibenclamide. In streptozotocin-diabetic rats, the extract at 0.5 and 1.0 g/kg significantly reduce plasma glucose. After repeated daily oral administration of the extract or glibenclamide for 14 days, glibenclamide significantly decreased plasma glucose in diabetic rats at day 8 but not the extract. However, after 14 days, both the extract and glibenclamide significantly reduced the plasma glucose. The blood chemical values were not significantly different from control, except aspartate aminotransferase(AST) and high-density lipolipid(HDL). Histopathological findings showed no evidence of lesions related to the extract toxicity. The extract (100 µg/ml) in the presence of high glucose stimulated insulin release about 11 times over the baseline from perfused rat pancreas.

The results of this study demonstrated that the extract exerted the hypoglycemic effect in diabetic rats and stimulated insulin release in the presence of high glucose. Therefore, the extract should be useful in the treatment of diabetes.

Field of study	Pharmacology	Student's signature.....
Acedemic year	2003	Advisor's signature.....

## กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สพ.ญ.ดร. ศิรินทร หิบบิโชคอนันต์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำตลอดจนข้อคิดเห็นต่างๆ ซึ่งเป็นประโยชน์ในการวิจัยอย่างมากมาโดยตลอด

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ น.สพ.ดร.อนุเทพ รังสีพัฒน์ อาจารย์ประจำ ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษา และอ่านผลทางพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อ

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.สุพัตรา ศรีไชยรัตน์ รองศาสตราจารย์ พญ.สุมนา ชมพูทวีป และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุรีย์ เจียรณมงคล ที่ได้กรุณาให้ทั้งคำแนะนำ เพิ่มเติมและข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์ต่อวิทยานิพนธ์

ขอขอบคุณ นายสิริชัย อติศักดิ์วัฒนา ที่เป็นผู้สกัดสารจากใบหญ้าหนวดแมวโดย น้ำ และตรวจสอบหาสารประกอบทางเคมีของสารสกัด ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ของภาควิชาเภสัชวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ให้ความช่วยเหลือในการดูแลสัตว์ทดลอง และความสะดวกในการดำเนินการวิจัยครั้งนี้

สุดท้ายนี้ ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณบิดามารดา ซึ่งให้การสนับสนุนและเป็นกำลังใจตลอดมา และขอขอบพระคุณทุกท่านที่ได้มีส่วนช่วยเหลือให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฌ
สารบัญภาพ.....	ญ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ.....	ฎ

### บทที่

1. บทนำ.....	1
2. เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
• โรคเบาหวาน.....	3
• Streptozotocin.....	9
• Glibenclamide.....	12
• การควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด.....	15
• หญ้าหนวดแมว ( <i>Orthosiphon stamineus</i> Benth.).....	18
3. อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย	
• วัสดุและอุปกรณ์.....	25
• วิธีดำเนินการวิจัย.....	27
4. ผลการวิเคราะห์ข้อมูล	
• การตรวจหาสารประกอบเคมีในสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว.....	33
• การทดสอบฤทธิ์เฉียบพลันของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว ในการลดระดับน้ำตาลในเลือดของหนูขาว .....	34
• การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมวในการลดระดับน้ำตาล ในเลือดในหนูเบาหวานเมื่อให้วันละ 1 ครั้งติดต่อกัน 14 วัน.....	42

## สารบัญ (ต่อ)

หน้า

● การศึกษาผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว ต่อระดับไขมันในเลือด การทำงานของตับและไต ในหนูเบาหวานภายหลังได้รับติดต่อกัน 14 วัน.....	45
● การศึกษาผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว ต่อเนื้อเยื่อในอวัยวะต่างๆ เปรียบ เทียบระหว่างหนูเบาหวานที่ไม่ได้รับสารทดสอบและหนูเบาหวานที่ ได้รับสารทดสอบติดต่อกัน 14 วัน.....	55
● การทดสอบผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมวต่อการกระตุ้น การหลั่งอินซูลินจากตับอ่อน โดยวิธี <i>In situ</i> pancreatic perfusion.....	60
5. สรุปผลการวิจัยและอภิปรายผล.....	64
รายการอ้างอิง.....	71
ภาคผนวก.....	82
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	88

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



## สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
2-1 แสดงการจำแนกประเภทของโรคเบาหวาน.....	3
2-2 เกณฑ์การวินิจฉัยโรคเบาหวาน .....	8
2-3 ชนิดและหน้าที่ของ glucose transporters.....	16
2-4 สรรพคุณของหญ้าหนวดแมวในประเทศต่างๆ.....	18
2-5 สารประกอบเคมีของหญ้าหนวดแมว.....	20
4-1 ผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว( <i>Orthosiphon stamineus</i> Benth.) ต่อระดับน้ำตาลในเลือดในหนูปกติ โดยการทำให้ oral glucose tolerance test .....	36
4-2 ตารางแสดงเปอร์เซ็นต์ระดับน้ำตาลในเลือดที่ลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ในเวลาเดียวกันของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว( <i>Orthosiphon stamineus</i> Benth.) ในหนูปกติ.....	37
4-3 ผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว( <i>Orthosiphon stamineus</i> Benth.) ต่อระดับน้ำตาลในเลือดในหนูเบาหวาน โดยการทำให้ oral glucose tolerance test.....	40
4-4 ตารางแสดงเปอร์เซ็นต์ระดับน้ำตาลในเลือดที่ลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ในเวลาเดียวกันของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว( <i>Orthosiphon stamineus</i> Benth.) ในหนูเบาหวาน.....	41
4-5 ผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว( <i>Orthosiphon stamineus</i> Benth.) ต่อระดับน้ำตาลในเลือดในหนูเบาหวานภายหลังได้รับสารสกัดวันละครั้ง ทุกวันเป็นเวลา 14 วัน.....	44
4-6 ผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว( <i>Orthosiphon stamineus</i> Benth.) ต่อระดับไขมันในเลือด การทำงานของตับและไต ในหนูเบาหวานภายหลัง ได้รับติดต่อกัน 14 วัน.....	46
4-7 ผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว( <i>Orthosiphon stamineus</i> Benth.) ต่อเนื้อเยื่อในอวัยวะต่างๆ ในหนูเบาหวานภายหลังได้รับสารสกัดวันละครั้ง ทุกวันเป็นเวลา 14 วัน .....	56

## สารบัญญภาพ

ภาพ	หน้า
2-1	สูตรโครงสร้างของ Streptozotocin.....10
2-2	กลไกการเกิด DNA damage จาก Streptozotocin..... 11
2-3	กลไกการออกฤทธิ์ของ Sterptozotocin.....12
2-4	สูตรโครงสร้างของ Gilbenclamide..... 13
2-5	แสดงกลไกการกระตุ้นการหลั่งอินซูลินที่ islet $\beta$ -cell ..... 14
2-6	กลไกการควบคุมกลูโคสโดยเนื้อเยื่อต่างๆ โดยฮอร์โมนอินซูลิน.....17
2-7	หญ้าหนวดแมว <i>Orthosiphon stamineus</i> Benth..... 19
2-8	สูตรโครงสร้างสารประกอบเคมีบางชนิดของหญ้าหนวดแมว..... 22
4-1	ผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว( <i>Orthosiphon stamineus</i> Benth.) ต่อระดับน้ำตาลในเลือด ในหนูปกติ โดยการทำให้ oral glucose tolerance test .....35
4-2	ผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว( <i>Orthosiphon stamineus</i> Benth.) ต่อระดับน้ำตาลในเลือดในหนูเบาหวาน โดยการทำให้ oral glucose tolerance test.....39
4-3	ผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว( <i>Orthosiphon stamineus</i> Benth.) ต่อระดับน้ำตาลในเลือดในหนูเบาหวานภายหลังได้รับสารสกัดวันละครั้ง ทุกวันเป็นเวลา 14 วัน ..... 43
4-4	ผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว( <i>Orthosiphon stamineus</i> Benth.) ต่อระดับ blood urea nitrogen (BUN) ในหนูเบาหวานภายหลังได้รับสารสกัด วันละครั้งทุกวันเป็นเวลา 14วัน.....47
4-5	ผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว( <i>Orthosiphon stamineus</i> Benth.) ต่อระดับ creatinine ในหนูเบาหวานภายหลังได้รับสารสกัดวันละครั้ง ทุกวันเป็นเวลา 14วัน ..... 48
4-6	ผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว( <i>Orthosiphon stamineus</i> Benth.) ต่อระดับ alanine aminotransferase (ALT) ในหนูเบาหวานภายหลังได้รับ สารสกัดวันละครั้งทุกวันเป็นเวลา 14วัน ..... 49
4-7	ผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว( <i>Orthosiphon stamineus</i> Benth.) ต่อระดับ asparate aminotransferase (AST) ในหนูเบาหวานภายหลังได้รับ สารสกัดวันละครั้งทุกวันเป็นเวลา 14 วัน..... 50

## สารบัญญภาพ(ต่อ)

ภาพ	หน้า
4-8 ผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว( <i>Orthosiphon stamineus</i> Benth.) ต่อระดับ cholesterol ในหนูเบาหวานภายหลังจากได้รับสารสกัดวันละครั้ง ทุกวันเป็นเวลา 14วัน.....	52
4-9 ผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว( <i>Orthosiphon stamineus</i> Benth.) ต่อระดับ triglyceride ในหนูเบาหวานภายหลังจากได้รับสารสกัดวันละครั้ง ทุกวันเป็นเวลา 14วัน .....	53
4-10 ผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว( <i>Orthosiphon stamineus</i> Benth.) ต่อระดับ high-density lipoprotein(HDL) ในหนูเบาหวานภายหลังจากได้รับสารสกัดวันละครั้งทุกวันเป็นเวลา 14วัน .....	54
4-11 แสดงพยาธิสภาพของตับอ่อนหลังจากได้รับสารทดสอบติดต่อกัน 14 วัน.....	57
4-12 แสดงพยาธิสภาพของตับหลังจากได้รับสารทดสอบติดต่อกัน 14 วัน.....	58
4-13 แสดงพยาธิสภาพของไตหลังจากได้รับสารทดสอบติดต่อกัน 14 วัน.....	59
4-14 ผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว( <i>Orthosiphon stamineus</i> Benth.) ต่อการกระตุ้นการหลั่งอินซูลินจากตับอ่อนโดยวิธี <i>In Situ</i> Pancreatic Perfusion โดยให้สารสกัดนาน 20 นาที.....	61
4-15 ผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว( <i>Orthosiphon stamineus</i> Benth.) เมื่อให้พร้อมกับกลูโคสขนาด 10 มิลลิโมลาร์ ต่อการกระตุ้นการหลั่งอินซูลิน จากตับอ่อน โดยวิธี <i>In Situ</i> Pancreatic Perfusion โดยให้กลูโคสอย่างเดียว ในช่วงที่ 1 นาน 10 นาที ต่อมาในช่วงที่ 2 ให้กลูโคสร่วมกับสารสกัดที่ความเข้มข้น 10 หรือ 100 ไมโครกรัม/มล. นาน 10 นาที.....	62
4-16 ค่าพื้นที่ใต้กราฟที่ได้จากการคำนวณผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว ( <i>Orthosiphon stamineus</i> Benth.) เมื่อให้พร้อมกับกลูโคส ต่อการกระตุ้นการหลั่งอินซูลิน จากตับอ่อนโดยวิธี <i>In Situ</i> Pancreatic Perfusion โดยให้กลูโคสอย่างเดียว ในช่วงที่ 1 นาน 10 นาที ต่อมาในช่วงที่ 2 ให้กลูโคสร่วมกับสารสกัดที่ความเข้มข้น 10 หรือ 100 ไมโครกรัม/มล. นาน 10 นาที.....	63

## คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

ALT	=	Alanine aminotransferase
AST	=	Asparate aminotransferase
ATP	=	Adenosine triphosphate
BUN	=	Blood urea nitrogen
Ca <sup>2+</sup>	=	Calcium ion
CH <sub>3</sub> <sup>+</sup>	=	Carbonium ion
DNA	=	Deoxyribonucleic acid
FPG	=	Fasting plasma glucose
GDM	=	Gestational diabetes mellitus
GLUT	=	Glucose transporter
HDL	=	High-density lipolipid
HLA	=	Human leukocyte antigen
ip	=	intraperitoneal
iv	=	intravenous
K <sup>+</sup>	=	Potassium ion
LDL	=	Low-density lipolipid
NO	=	Nitric oxide
OGTT	=	Oral glucose tolerance test
SEM	=	Standard error of mean
STZ	=	Streptozotocin
SUR	=	Sulfonylurea receptor
XOD	=	Xanthine oxidase
ก.	=	กรัม
กก.	=	กิโลกรัม
ซม.	=	เซนติเมตร
ดล.	=	เดซิลิตร
ม.	=	เมตร
มก.	=	มิลลิกรัม
มม.	=	มิลลิเมตร

# บทที่ 1

## บทนำ

โรคเบาหวานเป็นโรคทางระบบต่อมไร้ท่อที่เรื้อรัง และเป็นปัญหาทางสาธารณสุขอย่างมาก เพราะนอกจากจะรักษาไม่หายขาดแล้ว ยังมีโรคแทรกซ้อนมากมาย และแนวโน้มของผู้ป่วยโรคเบาหวานมีจำนวนมากขึ้นทุกปี โรคเบาหวานมีลักษณะสำคัญคือ มีระดับน้ำตาลในเลือดสูงกว่าปกติ (hyperglycemia) และร่างกายไม่สามารถควบคุมให้อยู่ในเกณฑ์ปกติได้ และเมื่อสูงมากเกินไป ก็จะถูกขับออกมาทางปัสสาวะ ลักษณะดังกล่าวเกิดจากความผิดปกติของการเผาผลาญคาร์โบไฮเดรต เนื่องจากความไม่สมดุลระหว่างความต้องการและการสร้างฮอร์โมนอินซูลิน โรคเบาหวานแบ่งออกเป็น 2 ชนิดใหญ่ๆ คือ โรคเบาหวานชนิดที่ 1 เกิดเนื่องจากภูมิคุ้มกันของร่างกายทำลาย  $\beta$ -cell ในตับอ่อนทำให้ไม่สามารถสร้างอินซูลินได้ พบผู้ป่วยชนิดนี้ประมาณ 10% ของผู้ป่วยทั้งหมด มักพบในผู้ป่วยที่มีอายุน้อย และโรคเบาหวานอีกชนิด คือ โรคเบาหวานชนิดที่ 2 เกิดจากการหลังอินซูลินผิดปกติ คือ ตับอ่อนสามารถหลังอินซูลินได้แต่ไม่เพียงพอที่จะควบคุมน้ำตาลในเลือดให้อยู่ในเกณฑ์ปกติได้ หรือร่างกายเกิดภาวะดื้ออินซูลิน (insulin resistance) พบผู้ป่วยชนิดนี้ประมาณ 90% ของผู้ป่วยทั้งหมด มักพบในผู้ป่วยที่มีอายุมากกว่า 30 ปี [1] การที่มีระดับน้ำตาลในเลือดสูงก่อให้เกิดภาวะแทรกซ้อนมากมายเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงพยาธิสภาพของหลอดเลือดเล็ก (microvascular) และหลอดเลือดใหญ่ (macrovascular) เช่น โรคหัวใจและหลอดเลือด (atherosclerosis) โรคไต (nephropathy) โรคของจอตา (retinopathy) และอาการชาตามปลายมือปลายเท้า (neuropathy) เป็นต้น [2]

ในปี พ.ศ. 2538 พบว่าอัตราความชุกของโรคเบาหวานเท่ากับร้อยละ 4 ของประชากรโลก ดังนั้นประมาณได้ว่ามีผู้ป่วยเบาหวานทั่วโลกอยู่ประมาณ 135 ล้านคน แบ่งเป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 1 ประมาณ 4 ล้านคน และชนิดที่ 2 ประมาณ 129 ล้านคน ในจำนวนนี้อยู่ในทวีปเอเชียมากที่สุด คือ 66 ล้านคน และคาดว่าจำนวนผู้ป่วยจะมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นทั่วโลก โดยในปี พ.ศ. 2568 จะมีผู้ป่วยโรคเบาหวานในโลกถึงประมาณ 300 ล้านคน ซึ่งอัตราความชุกเพิ่มขึ้นเป็น 5.4% ของประชากรโลก โดยเฉพาะอย่างยิ่งภูมิภาคเอเชียและแอฟริกา ซึ่งอาจเพิ่มขึ้น 2-3 เท่า [3]

สำหรับรายงานในประเทศไทย เมื่อปี พ.ศ. 2538 พบอัตราความชุกของโรคเบาหวานร้อยละ 2.4 ของประชากร หรือประมาณ 863,000 คน และคาดว่าในปี พ.ศ. 2568 อัตราความชุกของโรคเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 3.7 หรือพบผู้ป่วยประมาณ 2 ล้านคน และพบผู้ป่วยโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ร้อยละ 95 ของผู้ป่วยทั้งหมดในประเทศไทย อุบัติการณ์การเกิดโรคพบมากในผู้ที่มีอายุมากกว่า 40 ปี และพบในผู้หญิงมากกว่าผู้ชาย [3] ดังจะเห็นได้ว่าภาวะเบาหวานมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นทุก

ปี และเป็นโรคที่ไม่สามารถรักษาให้หายขาดได้ ดังนั้นเป้าหมายของการรักษา คือ ควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดให้อยู่ในเกณฑ์ปกติ เพื่อชะลอการเกิดภาวะแทรกซ้อนต่างๆ และทำให้ผู้ป่วยมีคุณภาพชีวิตที่ดี มีอายุที่ยืนยาวขึ้น

การควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดให้อยู่ในเกณฑ์ปกติมีอินซูลินเป็นฮอร์โมนหลัก โดยจะทำให้หน้าที่นำกลูโคสเข้าสู่เซลล์ตับและกล้ามเนื้อ (glucose uptake) เพื่อไปสร้างเป็นไกลโคเจน (glycogen synthesis) ขณะเดียวกันก็ลดการปล่อยกลูโคสออกจากตับ (gluconeogenesis) ยาที่ใช้ลดระดับน้ำตาลในเลือด ได้แก่ อินซูลิน และยาเม็ดลดระดับน้ำตาลในเลือด (oral hypoglycemic agent) แต่การให้ยาลดน้ำตาลในเลือด ก็ยังอาจมีผลข้างเคียง และข้อจำกัดของการใช้ยาอยู่มาก[2] ทำให้การใช้สมุนไพรเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่สามารถนำมาใช้ในการควบคุมระดับน้ำตาลในกระแสเลือด สมุนไพรไทยหลายชนิดมีรายงานการวิจัยสรรพคุณลดน้ำตาลในเลือด เช่น *Pandanus odoratus* RIDL.(เตยหอม)[4], *Tinospora crispa*.(บอระเพ็ด) [5], *Averrhoa bilimbi* Linn.(ตะลิงปลิง)[6], *Pluchea indica* L. (ขลุ่ย), *Abutilon indica* Sweet (พินสี), *Terminalia catappa* L.(หูกวาง) [7] และ *Morus alba* Linn.(หม่อน) [8] แต่อย่างไรก็ตามยังมีสมุนไพรหลายชนิดที่พบว่ามีสรรพคุณลดน้ำตาลในเลือดได้ แต่ยังขาดงานวิจัยที่ศึกษาถึงฤทธิ์และกลไกการออกฤทธิ์

ในงานวิจัยนี้ได้สนใจศึกษาสรรพคุณของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมวโดยใช้น้ำที่สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือด โดยศึกษาผลของสารสกัดต่อระดับน้ำตาลในเลือดของหนูปกติและหนูที่เป็นเบาหวาน รวมทั้งผลต่อระดับไขมันในเลือด การทำงานของตับและไตในหนูเบาหวานทั้งก่อนและหลังให้สารสกัด และศึกษาผลของสารสกัดต่อเนื้อเยื่อในอวัยวะต่างๆ รวมทั้งผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมวต่อการกระตุ้นการหลั่งฮอร์โมนอินซูลินจากตับอ่อนโดยใช้เทคนิค *In Situ* Pancreatic Perfusion นอกจากนี้ยังศึกษาหาสารประกอบเคมีที่สกัดออกมาได้จากใบหญ้าหนวดแมว

### วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย(Objective)

เพื่อศึกษาฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือดและผลต่อการกระตุ้นการหลั่งอินซูลินของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมวในหนูขาว รวมทั้งศึกษาผลของสารสกัดที่มีต่อระดับไขมัน การทำงานของตับไต และเนื้อเยื่อของอวัยวะต่างๆ

## บทที่ 2

### เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 1. โรคเบาหวาน

โรคเบาหวานเป็นโรคที่เกิดความผิดปกติในระบบเมตาบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน สาเหตุอาจเกิดจากการขาดอินซูลิน หรือร่างกายเกิดภาวะดื้อต่อฤทธิ์ของอินซูลิน หรือทั้งสองประการทำให้เกิดภาวะแทรกซ้อนทั้งระยะเฉียบพลัน และระยะเรื้อรัง ภาวะเฉียบพลัน ได้แก่ น้ำตาลในเลือดสูง (hyperglycemia) และภาวะเลือดเป็นกรดเนื่องจากคีโตน (ketoacidosis) ส่วนภาวะแทรกซ้อนเรื้อรังมักเกิดขึ้นภายหลังเป็นโรคเบาหวานไปแล้วประมาณ 10-15 ปี ได้แก่ ความผิดปกติของหลอดเลือดขนาดเล็ก (microvascular) ซึ่งทำให้เกิดไตวาย ประสาทตาเสีย ระบบประสาทส่วนปลายเสื่อมสภาพ และความผิดปกติของหลอดเลือดแดงขนาดใหญ่ (macrovascular) ทำให้เกิดโรคหลอดเลือดสมองอุดตัน และกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด เป็นต้น

#### การจำแนกประเภทของโรคเบาหวาน

สมาคมโรคเบาหวานแห่งประเทศไทย (ADA, 1997) [9] และองค์การอนามัยโลก (WHO, 1998) [10] ได้ยกเลิกการใช้คำว่า โรคเบาหวานชนิดพึ่งอินซูลิน (insulin dependent diabetes mellitus, IDDM) และโรคเบาหวานชนิดไม่พึ่งอินซูลิน (non-insulin dependent diabetes mellitus, NIDDM) ซึ่งจะทำให้เข้าใจผิดเกี่ยวกับการใช้อินซูลินในการรักษาโรคเบาหวาน เนื่องจากโรคเบาหวานชนิดไม่พึ่งอินซูลิน อาจต้องใช้อินซูลินในบางระยะของโรค โดยจำแนกชนิดของโรคเบาหวานตามสาเหตุการเกิดโรคและพยาธิสรีรวิทยาของโรค ได้ดังตารางที่ 2-1

#### ตารางที่ 2-1 แสดงการจำแนกประเภทของโรคเบาหวาน [9]

- 
1. โรคเบาหวานชนิดที่ 1 (Type 1 diabetes) :  $\beta$ -cell ถูกทำลาย ขาดอินซูลิน
    - 1.1 โรคเบาหวานที่เกิดจากภูมิคุ้มกันของร่างกาย (immune-mediated diabetes)
    - 1.2 หาสาเหตุไม่ได้ (Idiopathic)
  2. โรคเบาหวานชนิดที่ 2 (Type 2 diabetes) : ฤทธิ์ของอินซูลินต่อเนื้อเยื่อในร่างกายลดลง เนื่องจากการหลังอินซูลินไม่เพียงพอ และ/หรือ เกิดภาวะดื้อต่อฤทธิ์ของอินซูลิน
-

---

### 3. โรคเบาหวานชนิดอื่นๆ (other specific types)

- 3.1 ความผิดปกติทางพันธุกรรมของ  $\beta$ -cell
  - 3.2 ความผิดปกติทางพันธุกรรมของการออกฤทธิ์ของอินซูลิน
  - 3.3 โรคของตับอ่อน
  - 3.4 โรคทางต่อมไร้ท่อ
  - 3.5 เบาหวานที่เกิดจากการเหนี่ยวนำของยาและสารเคมี
  - 3.6 การติดเชื้อ
  - 3.7 โรคที่พบบได้น้อยมากในกลุ่ม immune-mediated diabetes
  - 3.8 โรคทาง genetic syndromes ที่สัมพันธ์กับโรคเบาหวาน
- 

### 4. โรคเบาหวานขณะตั้งครรภ์ (Gestational diabetes mellitus, GDM) : ภาวะ glucose intolerance ที่เกิดขึ้นในช่วงตั้งครรภ์

---

## พยาธิกำเนิดของโรคเบาหวาน

### 1. โรคเบาหวานชนิดที่1

ผู้ป่วยจะมีอาการระดับน้ำตาลในเลือดสูง กระหายน้ำ บัสดวะมากผิดปกติ เหนื่อยง่าย ท้องผูก ติดเชื้อที่ผิวหนัง และน้ำหนักลด มักเกิดภาวะ ketoacidosis ส่วนใหญ่พบในผู้ป่วยที่มีอายุน้อย และพบประมาณร้อยละ10 ของผู้ป่วยทั้งหมด[1] โดยเกิดจาก  $\beta$ -cell ถูกทำลาย ทำให้ขาดอินซูลิน ซึ่งสามารถแบ่งเป็นกลุ่มย่อยตามสาเหตุ คือ

#### 1.1 โรคเบาหวานที่เกิดจากระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย (Immune-mediated diabetes)

เกิดจากการทำลาย  $\beta$ -cell จากระบบ autoimmue ของร่างกาย[11] พบว่า 85-90% ของผู้ป่วยเบาหวานชนิดนี้ตรวจพบ autoantibodies ต่างๆ ภายในกระแสเลือด ซึ่ง autoantibodies ก็คือ แอนติบอดีต่อ  $\beta$ -cell แอนติเจน ได้แก่ islet cell antibody, insulin autoantibody, glutamic acid decarboxylase antibody และ tyrosine phosphatase-like protein antibody[12] นอกจากนี้โรคเบาหวานชนิดนี้ยังมีความสัมพันธ์อย่างมากกับ human leukocyte antigen(HLA) ซึ่งเป็นกลุ่มของยีนส์บนโครโมโซมคู่ที่ 6 HLA ทำหน้าที่สร้างโปรตีนซึ่งจะไปจับกับแอนติเจนที่เป็นโปรตีนแปลกปลอมจากภายนอกหรือภายในร่างกายแล้วนำไปเสนอต่อ T-cell ได้มีการศึกษาพบว่า 95%ของผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานชาวคอเคเซียน มีความสัมพันธ์กับ



HLA-DR<sub>3</sub>, HLA-DR<sub>4</sub> และ HLA-DR<sub>3</sub>/DR<sub>4</sub>[13] ต่อมาได้มีการศึกษาในผู้ป่วยชาวไทยพบว่า HLA-DR<sub>3</sub> และ HLA-DR<sub>3</sub>/DR<sub>4</sub> มีความสัมพันธ์ต่อการเกิดโรคเช่นกัน[14] ซึ่งเป็นปัจจัยทางพันธุกรรม ส่วนปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมจะมีส่วนสำคัญในการแสดงออกของโรคในผู้ที่มีความเสี่ยงทางพันธุกรรม ที่สำคัญได้แก่ การติดเชื้อไวรัส อาหาร สภาพแวดล้อมในครรภ์มารดา ทั้งสองปัจจัยจะส่งเสริมกันทำให้เกิดการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน (cell-mediated immune response) มาทำลาย  $\beta$ -cell

กลไกการทำลาย  $\beta$ -cell นั้นเกิดจากความผิดปกติของ T-cell โดยเริ่มจาก macrophage จับกับ  $\beta$ -cell แอนติเจน และไปจับกับ T-cell ที่มีรีเซพเตอร์จำเพาะกับ  $\beta$ -cell แอนติเจน ไปกระตุ้น T-helper cell ให้หลั่ง cytokine เช่น interferon gamma (IFN- $\gamma$ ) และสามารถกระตุ้น cytotoxic T cell ให้หลั่งสารจำพวก free radical เช่น superoxide, hydrogen peroxide, nitric oxide และ cytokine เช่น interleukin-1 (IL-1), tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) ซึ่งมีฤทธิ์ทำลาย  $\beta$ -cell เมื่อ  $\beta$ -cell ถูกทำลายไปมากกว่า 80% จะเกิดภาวะน้ำตาลในเลือดสูง และการทำลายก็ยังคงดำเนินต่อไป[15]

## 1.2 โรคเบาหวานที่ไม่ทราบสาเหตุ (Idiopathic diabetes mellitus)

เป็นผู้ป่วยที่มีการขาดอินซูลินโดยที่ไม่มีหลักฐานของการเกิด autoimmune ซึ่งเป็นส่วนน้อยที่พบและมักพบในประชากรแถบเอเชียและแอฟริกา ผู้ป่วยจะเกิดภาวะ ketoacidosis เป็นครั้งคราว โดยที่ช่วงคั่นระหว่างการเกิด ketoacidosis จะมีภาวะขาดอินซูลินในระดับแตกต่างกันได้หลากหลาย โรคเบาหวานชนิดนี้ถ่ายทอดทางพันธุกรรมแต่ไม่มีความสัมพันธ์กับ HLA [16]

## 2. โรคเบาหวานชนิดที่ 2

เกิดจากการหลังอินซูลินผิดปกติ คือ ตับอ่อนสามารถหลังอินซูลินได้แต่ไม่เพียงพอที่จะควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดให้อยู่ในเกณฑ์ปกติ และร่างกายเกิดภาวะดื้อต่อฤทธิ์อินซูลิน โรคเบาหวาน ชนิดนี้มักจะไม่เกิดภาวะ ketoacidosis ขึ้นเอง จะเกิดเมื่อมีภาวะเครียดที่ชัดเจน [17] ภาวะน้ำตาลในเลือดสูงจะเกิดอย่างช้าๆ ปัจจัยเสี่ยงในการเกิดโรค ได้แก่ อายุ ความอ้วน และการไม่ออกกำลังกาย นอกจากนี้ยังพบได้บ่อยในหญิงที่มีประวัติเป็น Gestational diabetes mellitus (GDM) ผู้ที่มีความดันโลหิตสูง หรือไขมันในเลือดผิดปกติ ผู้ป่วยโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ส่วนใหญ่อายุมากกว่า 30 ปี และพบ 90% ของผู้ป่วยทั้งหมด[1] ปัจจุบันยังไม่ทราบสาเหตุที่ชัดเจนของโรค ผู้ป่วยส่วนใหญ่มักอ้วน ความผิดปกติที่สำคัญของผู้ป่วยเบาหวานชนิดนี้ คือ ภาวะดื้อต่ออินซูลิน และการหลังอินซูลินที่ผิดปกติ โดยที่ผู้ป่วยส่วนใหญ่จะมีความผิดปกติทั้งสองอย่างร่วมกัน อย่างไรก็ตามจะมีผู้ป่วยจำนวนหนึ่งที่มีความผิดปกติในการหลังอินซูลินเป็นหลัก

## 2.1 ภาวะดื้อต่ออินซูลิน

ภาวะที่ความสามารถของอินซูลินในการทำให้กลูโคสเข้าเซลล์ลดลง โดยเนื้อเยื่อที่เกิดภาวะดื้อต่ออินซูลิน ได้แก่ เนื้อเยื่อที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการ glucose homeostasis ประกอบด้วย กล้ามเนื้อลาย ไขมัน (adipose tissue) และตับ แต่ที่สำคัญที่สุดที่พบว่าเกี่ยวข้องกับพยาธิกำเนิดของโรคเบาหวาน ได้แก่ กล้ามเนื้อลาย ในคนปกติกล้ามเนื้อลายจะมีรีเซพเตอร์ของอินซูลิน เมื่ออินซูลินจับกับรีเซพเตอร์จะกระตุ้นให้เกิด autophosphorylation ของ tyrosine kinase หลังจากนั้นจะไปกระตุ้น phospho-inositide-3 kinase และ kinase อื่นๆ ทำให้มีการเคลื่อนย้ายของ glucose transporter-4 (GLUT4) ไปที่ cell membrane เพื่อให้กลูโคสเข้าเซลล์ได้ แต่ในผู้ป่วยโรคเบาหวานชนิดนี้ที่มีอาการดื้อต่ออินซูลิน อาจเกิดจากความผิดปกติของ โปรตีนที่เกี่ยวข้องกับ insulin signaling pathway ในปัจจุบันพบว่าความผิดปกติหลักคือ กระบวนการเคลื่อนย้าย GLUT4 ไปยัง cell membrane ลดลง ทำให้กลูโคสเข้าเซลล์ลดลง [18] โดยความผิดปกติภายในเซลล์ (post-receptor defect) เป็นสาเหตุสำคัญ ในขณะที่ความผิดปกติของรีเซพเตอร์ของอินซูลินมีบทบาทน้อยมาก ซึ่งปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเกิดภาวะดื้อต่ออินซูลินในผู้ป่วยโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ได้แก่ พันธุกรรม [19] ปริมาณและตำแหน่งของไขมันในร่างกาย [20] อายุ การขาดการออกกำลังกาย และสภาพแวดล้อมในครรภ์มารดา [21]

## 2.2 ความผิดปกติในการหลั่งอินซูลิน

เชื่อว่าพันธุกรรมมีส่วนกำหนดปริมาณและการทำงานของ  $\beta$ -cell หรืออาจเป็นไปได้ว่าความผิดปกติทางพันธุกรรมของ  $\beta$ -cell เป็นตัวกำหนดให้เกิด apoptosis มากขึ้น ซึ่งความผิดปกติของยีนส์ที่เกี่ยวข้องกับการหลั่งอินซูลิน เช่น glucokinase ในผู้ป่วย maturity-onset diabetes in the young (MODY) เป็นต้น หรืออาจเกิดจากการหลั่งอินซูลินที่ลดลงในภาวะดื้อต่ออินซูลินทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดสูง การตอบสนองของ  $\beta$ -cell ต่อกลูโคสจะลดลง คือ มีผลต่อการหลั่งและการทำงานของอินซูลิน โดยพบว่าการนำกลูโคสเข้าเซลล์ลดลงในภาวะดังกล่าว เรียกว่าภาวะนี้ว่า glucotoxicity ความอ้วนอาจเป็นอีกสาเหตุหนึ่ง ซึ่งร่างกายจะมีการสลาย triglyceride ที่สะสมไว้ใน adipocyte เป็น fatty acid ทำให้มี fatty acid ในกระแสเลือดสูงขึ้น โดยสามารถถูกเปลี่ยนเป็น triglyceride ภายใน  $\beta$ -cell ได้ ส่งผลทำให้การทำงานของ  $\beta$ -cell ลดลง เกิดภาวะ lipotoxicity [22] และอีกสาเหตุจะเป็นสารพวกโปรตีนซึ่งพบใน  $\beta$ -cell คือ islet amyloid ได้มีการศึกษาระยะยาวในสัตว์ทดลองที่เป็นเบาหวานพบว่าปริมาณ islet amyloid ที่เพิ่มขึ้นสัมพันธ์กับปริมาณการหลั่งอินซูลินที่ลดลง [23]

### 3. โรคเบาหวานชนิดอื่น [9]

3.1 ความผิดปกติทางพันธุกรรมของ  $\beta$ -cell ซึ่งก่อนหน้านี้เรียกว่า maturity-onset diabetes in the young (MODY) ผู้ป่วยมักมาอายุต่ำกว่า 25 ปี อาการไม่รุนแรง ถ่ายทอดทางพันธุกรรมแบบ autosomal dominant

3.2 ความผิดปกติทางพันธุกรรมของการออกฤทธิ์ของอินซูลินพบได้น้อย เกิด mutation ที่รีเซพเตอร์ของอินซูลิน อาจมีลักษณะผิดปกติของใบหน้า ฟัน เล็บ

3.3 โรคของตับอ่อน การทำลายตับอ่อน ทั้งการอักเสบ การติดเชื้อ การผ่าตัด มะเร็ง ก่อให้เกิดโรคเบาหวานได้

3.4 โรคทางต่อมไร้ท่อ ฮอร์โมนหลายชนิด เช่น growth hormone, cortisol, glucagon, และ epinephrine ต่อด้านการทำงานของอินซูลิน โรคที่มีปริมาณฮอร์โมนเหล่านี้จำนวนมากเกินจะทำให้เกิดโรคเบาหวานได้ เช่น Acromegaly, Cushing's syndrome และ Glucagonoma

3.5 เบาหวานที่เกิดจากการเหนี่ยวของยาและสารเคมี เช่น pentamidine, Vacor และ  $\alpha$ -interferon มีผลทำให้การหลั่งอินซูลินลดลง ส่วน nicotinic acid และ glucocorticoids มีฤทธิ์ต้านอินซูลิน

3.6 โรคติดเชื้อ เช่น congenital rubella, Coxsackievirus B, Cytomegalovirus และ Adenovirus

3.7 โรคที่พบได้น้อยมากในกลุ่ม immune-mediated diabetes เช่น anti-insulin receptor antibodies หรือเดิมคือ type B insulin resistance

3.8 โรคทาง genetic syndromes ที่สัมพันธ์กับโรคเบาหวาน เช่น Down's syndrome, Klinefelter และ Turner's syndrome

### 4. โรคเบาหวานขณะตั้งครรภ์

สตรีที่กำลังตั้งครรภ์อาจตรวจพบว่าเป็นโรคเบาหวานแต่หลังจากคลอดอาจกลับเป็นปกติ หรือเป็นโรคเบาหวานต่อก็ได้ หรืออาจเป็นเพียงความพร่องต่อการทดสอบความทนต่อกลูโคส (impaired glucose tolerance, IGT) ผู้ป่วยเบาหวานกลุ่มนี้มีความเสี่ยงสูงต่อการเกิดโรคแทรกซ้อนขณะตั้งครรภ์ และในระหว่างคลอด พบประมาณ 3% ของสตรีตั้งครรภ์ทั้งหมด ที่มีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคเบาหวานได้ในภายหลัง ควรมีการประเมินผู้ป่วยอีกครั้งหลังคลอดแล้ว 6 สัปดาห์ หรือมากกว่า[24]

## การตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อประเมินการควบคุมกลูโคส[25]

### 1. Fasting Plasma Glucose (FPG)

ค่านี้ใช้วัดความสามารถของอินซูลินในการป้องกันการเกิดน้ำตาลในเลือดสูง ในช่วงอดอาหาร การตรวจนี้ทำตอนเช้าก่อนที่ผู้ป่วยจะรับประทานอาหารเช้าโดยดื่มน้ำอย่างน้อย 10 ชั่วโมงก่อนการตรวจ ทำการเจาะเลือด นำเลือดไปวัดระดับน้ำตาล เปรียบเทียบกับตารางที่ 2-2

### 2. Oral Glucose Tolerance Test (OGTT)

ค่านี้จะวัดความสามารถของตับอ่อนในการหลั่งอินซูลิน หลังได้รับกลูโคสและวัดการตอบสนองของร่างกายต่อการทำงานของอินซูลิน ผู้ป่วยต้องงดอาหารอย่างน้อย 10-12 ชั่วโมงก่อนการตรวจ และต้องทำการตรวจเลือดครั้งแรกก่อน หลังจากนั้นให้ดื่มกลูโคส 75 กรัม ทำการเจาะเลือดที่ 30 นาที, 1, 2 และ 3 ชั่วโมง นำเลือดไปวัดระดับน้ำตาล เปรียบเทียบกับตารางที่ 2-2

ตารางที่ 2-2 เกณฑ์การวินิจฉัยโรคเบาหวาน [9]

Test	Diabetes mellitus	Impaired glucose tolerance(IGT)
Fasting glucose	$\geq 126$ มก./ดล. (70 มิลลิโมล/ลิตร)	110-125 มก./ดล. (61-69 มิลลิโมล/ลิตร)
OGTT (2h plasma glucose)	$\geq 200$ มก./ดล. (111 มิลลิโมล/ลิตร)	140-199 มก./ดล. (78-110 มิลลิโมล/ลิตร)

## การเหนี่ยวนำโรคเบาหวานในสัตว์ทดลอง

การทดลองเพื่อหาสารต้านโรคเบาหวานนั้นจะต้องมีรูปแบบการทำให้สัตว์ทดลองเกิดโรคเบาหวาน โดยที่สัตว์จะมีอาการทางคลินิกที่สำคัญ คือ ระดับน้ำตาลในเลือดสูง ซึ่งการเหนี่ยวนำสัตว์ทดลองให้เกิดโรคเบาหวานมีวิธีการดังนี้ ได้แก่

### 1. การผ่าตัด

วิธีการนี้ คือ การผ่าตัดเอาตับอ่อนออก (pancreatectomy) ทั้งหมดหรือบางส่วนในสัตว์ทดลอง[24]

### 2. การใช้ฮอร์โมน

growth hormone และ corticosteroid สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเบาหวานได้ การให้ growth hormone แก่สุนัขและแมว สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเบาหวานได้ ซึ่งสัตว์จะมีอาการของโรค รวมทั้ง ketonuria และ ketonemia ส่วนภาวะน้ำตาลในเลือดสูงและ glucosuria พบได้ในหนูที่ได้รับ cortisone [26]

### 3. การใช้ไวรัส

การติดเชื้อไวรัสเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคเบาหวานทั้งในคนและสัตว์ ซึ่งมีไวรัสหลายชนิดที่มีรายงานว่าสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเบาหวานได้ เช่น D-variant of encephalomyocarditis virus(EMC-D), M-variant of encephalomyocarditis virus(EMC-M), Coxsackie-B-virus, congenital rubella และ cytomegalovirus[27-31]

### 4. เบาหวานที่เกิดขึ้นเอง

สัตว์หลายชนิดสามารถเกิดโรคเบาหวานขึ้นเอง โดยพยาธิกำเนิดของโรคเบาหวานอาจเกิดจาก ระบบภูมิคุ้มกัน และพันธุกรรม ได้แก่ BB (Bio Breeding) rat, NOD (non-obese diabetic) mouse, db/db(diabetes)mouse และChinese hamster[32]

### 5. การใช้สารเคมี

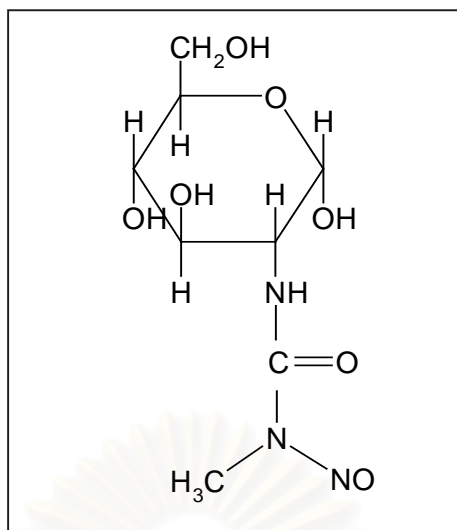
Alloxan สามารถทำให้เกิดโรคเบาหวานได้ แต่อาจทำลายตับ, ไต และpituitary gland โดยที่ Streptozotocin ก็สามารถทำให้เกิดโรคเบาหวานได้เช่นกัน และเฉพาะเจาะจงต่อ $\beta$ -cell [33]

## 2. Streptozotocin

Streptozotocin (STZ, NSC 85998) เป็นยาปฏิชีวนะที่ใช้อย่างกว้างขวาง ซึ่งสังเคราะห์ได้จากเชื้อ *Streptomyces achromogenes* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวกพบได้ในดิน แต่ภายหลังสามารถสังเคราะห์ได้ในห้องปฏิบัติการ[33] STZ ถูกค้นพบว่าสามารถทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดสูงได้ในสัตว์ทดลองทั้งใน rat[34], mice[35], hamster[36], สุนัขและลิง[33] แต่ไม่เกิดใน albino rabbit ถึงแม้จะใช้ STZ ขนาดสูงถึง 200 มก./กก.[37] STZ มีผลจำเพาะเจาะจงที่  $\beta$ -cell ในตับอ่อน และเมื่อสัตว์ถูกเหนี่ยวนำโดย STZ แล้วจะมีอาการเหมือนคนที่เป็นโรคเบาหวาน คือ น้ำตาลในเลือดสูง (hyperglycemia), ปัสสาวะมีน้ำตาลมากผิดปกติ (glucosuria), กระหายน้ำ (polydipsia), เลือดมีไขมันมากเกินไป (hyperlipidemia), ปัสสาวะมีอะซิโตน (ketonuria)[33, 38]

### 2.1 คุณสมบัติทางเคมี

STZ ( $C_8H_{15}N_3O_7$ ) มีสูตรโครงสร้างคือ 2-deoxy-2-(3-methyl-3-nitrosourea)-D-glucopyranose ซึ่งมี methylNitrosourea เกาะอยู่ที่ตำแหน่ง  $C_2$  ของ D-glucose [39, 40] ซึ่งในภาวะปกติ STZ อยู่ในรูป  $\alpha$  และ  $\beta$  anomer อย่างละครึ่งผสมกัน มีลักษณะเป็นผงสีเหลืองอ่อน มีความเสถียรที่อุณหภูมิต่ำ สามารถละลายน้ำได้ ค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลายควรมีค่าประมาณ 4-4.5 [41] (รูปที่ 2-1)



รูปที่ 2-1 สูตรโครงสร้างของ Streptozotocin [41]

## 2.2 เกสัชจลนศาสตร์

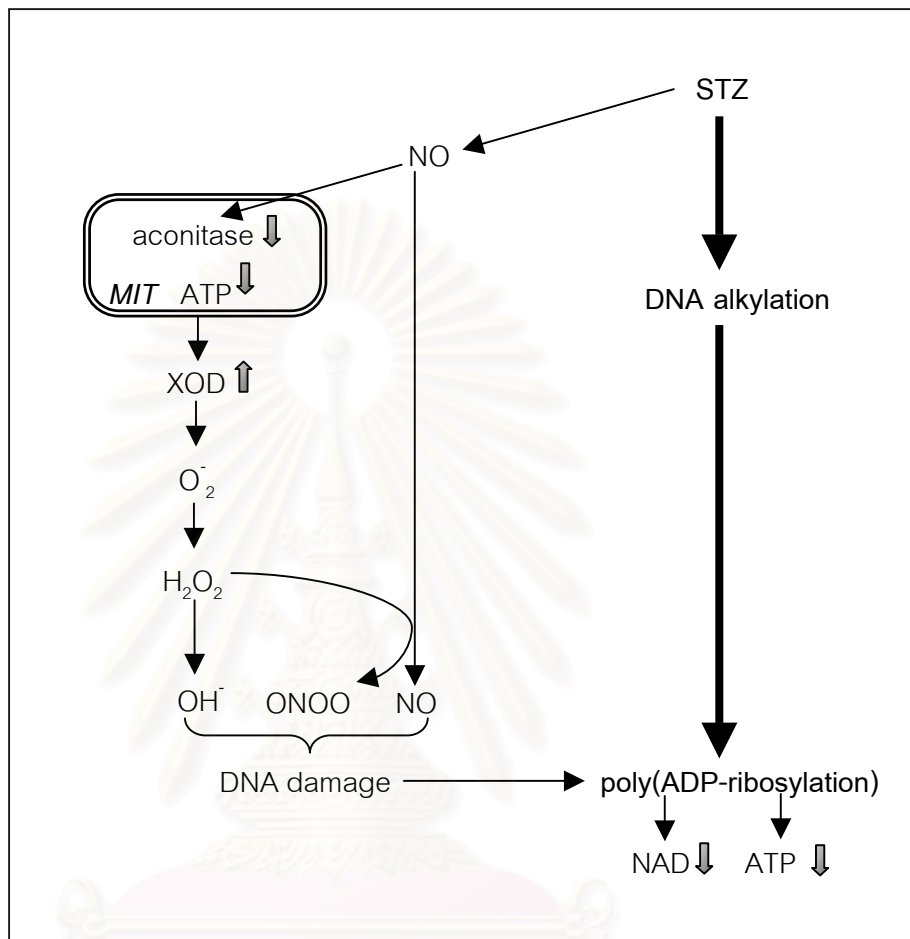
การเหนี่ยวนำสัตว์ให้เกิดโรคเบาหวานทำได้โดยฉีด STZ ผ่านทางหลอดเลือดดำ (intravenous, i.v.) หรือทางช่องท้อง (intraperitoneal, i.p.) ยาจะกระจายไปยังตับอ่อนและลำไส้ โดยไปที่ตับและไตมากที่สุด แต่ไม่เข้าสู่สมอง[42]

## 2.3 กลไกการออกฤทธิ์ของ STZ

กลุ่ม methylnitrosourea ใน STZ นั้นเป็นกลุ่มที่ออกฤทธิ์โดยจะไปจับที่ glucose transporter (GLUT2) และผ่านเข้าไปใน  $\beta$ -cell [43] เกิดการเติมหมู่ alkyl ที่สาย DNA ส่งผลให้สาย DNA เสียหาย[44] นอกจากนี้ STZ ยังทำให้เกิด nitric oxide (NO) ซึ่งก็มีผลในการทำลายที่  $\beta$ -cell ได้[45] อย่างไรก็ตามมีหลายการทดลองแสดงให้เห็นว่าไม่เพียงแค NO เท่านั้นที่ทำให้สาย DNA ถูกทำลายยังมี superoxide radical ( $O_2^-$ ) ที่เกิดจาก STZ ไปยับยั้งการเกิด Krebs cycle ลดการใช้ออกซิเจนที่ ไมโทคอนเดรีย[46] ส่งผลกระตุ้นการทำงานของ xanthine oxidase (XOD) เกิด superoxide radical ( $O_2^-$ ), hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) และ hydroxyl radical ( $OH^\cdot$ ) ตามมา โดย NO และ superoxide radical ( $O_2^-$ ) สามารถทั้งออกฤทธิ์แยกกันและรวมกันเป็น peroxynitrite ( $ONOO^-$ ) ซึ่งออกฤทธิ์ทำลายสาย DNA เสียหายได้เช่นกัน [45] (รูปที่ 2-2)

เมื่อสาย DNA ได้รับความเสียหายจะกระตุ้นให้ poly(ADP-ribose) synthetase ทำงานโดยมี NAD เป็นสารตั้งต้นในการซ่อมแซมสาย DNA (DNA repair) จึงทำให้ NAD ภายใน  $\beta$ -cell ลดลง[47] มีการทดลองยืนยันว่าการลดลงของ NAD เป็นสาเหตุมาจาก STZ โดยให้ nicotinamide และ picolinamide ซึ่งเป็นตัวยับยั้ง poly(ADP-ribose) synthetase สามารถที่จะป้องกันการทำลายของ STZ ต่อสาย DNA ใน in vivo และป้องกันการลดลงของ NAD ใน in vitro [48] การลดลงของ NAD เป็นสาเหตุให้เกิดการตายของเนื้อเยื่อที่  $\beta$ -cell การทำงานของ  $\beta$ -cell

ผิดปกติ มีการสังเคราะห์ proinsulin ลดลง จึงทำให้  $\beta$ -cell หลังอินซูลินน้อยลงเกิดโรคเบาหวานได้[46] อธิบายได้ดัง (รูปที่ 2-3)



รูปที่ 2-2 กลไกการเกิด DNA damage จาก Streptozotocin [45]

## 2.4 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเบาหวานโดย STZ

### 2.4.1 อาหาร

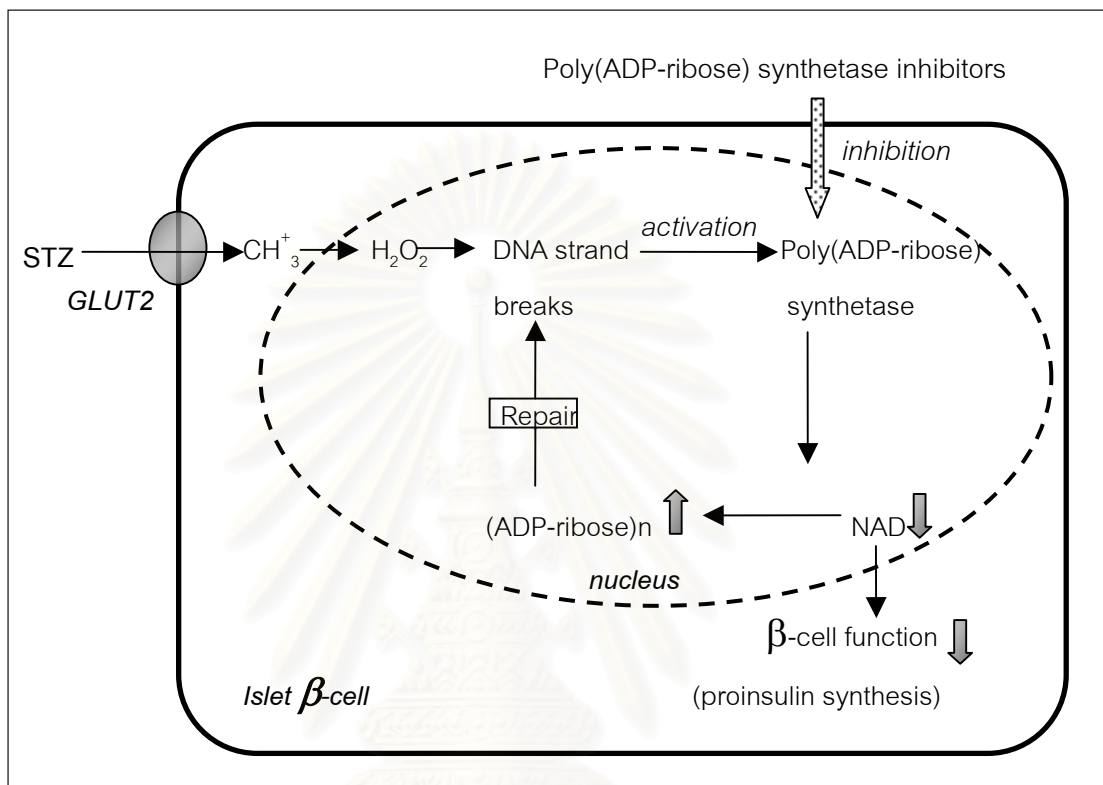
เมื่อหนูได้รับอาหารที่มีโปรตีนสูงและคาร์โบไฮเดรตต่ำ (โปรตีน 63%, คาร์โบไฮเดรต 6%) ก่อนการฉีด STZ จะทำให้โอกาสเกิดโรคเบาหวานลดลง[49]

### 2.4.2 ขนาดของ STZ และชนิดของสัตว์ทดลอง

ความรุนแรงของการเกิดโรคเบาหวานจะขึ้นอยู่กับขนาดที่มากขึ้น ขนาดของ STZ ที่ใช้จะอยู่ระหว่าง 25-200 มก./กก. ตามแต่ชนิดของสัตว์ทดลอง โดยขนาดของ STZ ที่ให้ในหนูขาว ประมาณ 55-65 มก./กก. [42]

2.4.3 อายุ

เมื่อให้ STZ ในสัตว์ทดลองที่อายุน้อย โอกาสเกิดโรคเบาหวานก็จะน้อยลง โดยมีรายงานการทดลองว่าเมื่อให้ STZ ที่ 60 มก./กก. (i.v.) ในหนูอายุ 8 สัปดาห์ ผลการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเบาหวานดีกว่าหนูอายุ 4 และ 6 สัปดาห์ [50]



รูปที่ 2-3 กลไกการออกฤทธิ์ของ Sterptozotocin [46]

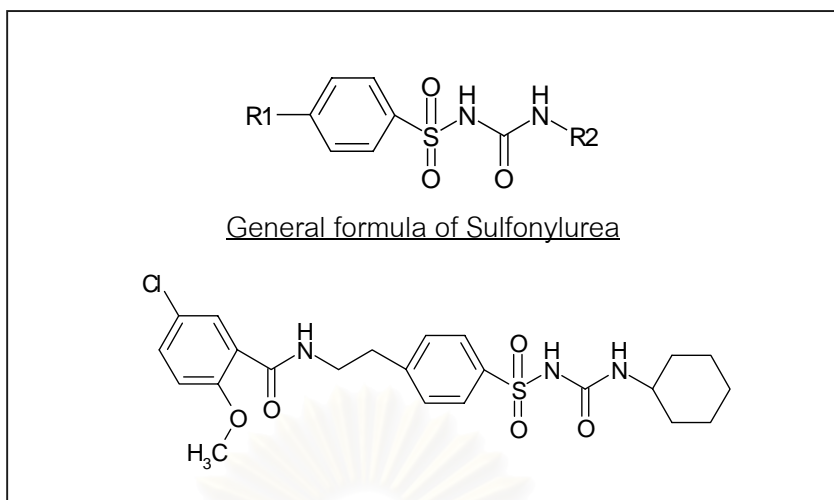
3. Glibenclamide

Glibenclamide เป็นยากลุ่ม second generation sulfonylurea ยากลุ่มนี้เป็นยาเม็ดลดน้ำตาลในเลือดชนิดหลักที่ใช้มาเกือบ 40 ปี และยังใช้กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน เพราะเทียบตามน้ำหนักยาแล้ว จะแรงกว่า first generaton sulfonylurea 50-100เท่า จัดว่าเป็นยาที่ใช้มากที่สุด เพราะมีฤทธิ์แรง และราคาค่อนข้างถูก

3.1 คุณสมบัติทางเคมี

สูตรโครงสร้างคือ 1-[4-[2-(5-Chloro-2-methoxybenzamido)ethyl]benzensulfonyl]-3-cyclohexylurea โดยมีโครงสร้างพื้นฐานของ sulfonylureas ได้แก่ benzene ring, sulfonyl group และurea ซึ่งน้ำหนักโมเลกุลของ glibenclamide เท่ากับ 494[51](รูปที่ 2-4)





รูปที่ 2-4 สูตรโครงสร้างของ Glibenclamide [51]

### 3.2 เกสัชจลนศาสตร์

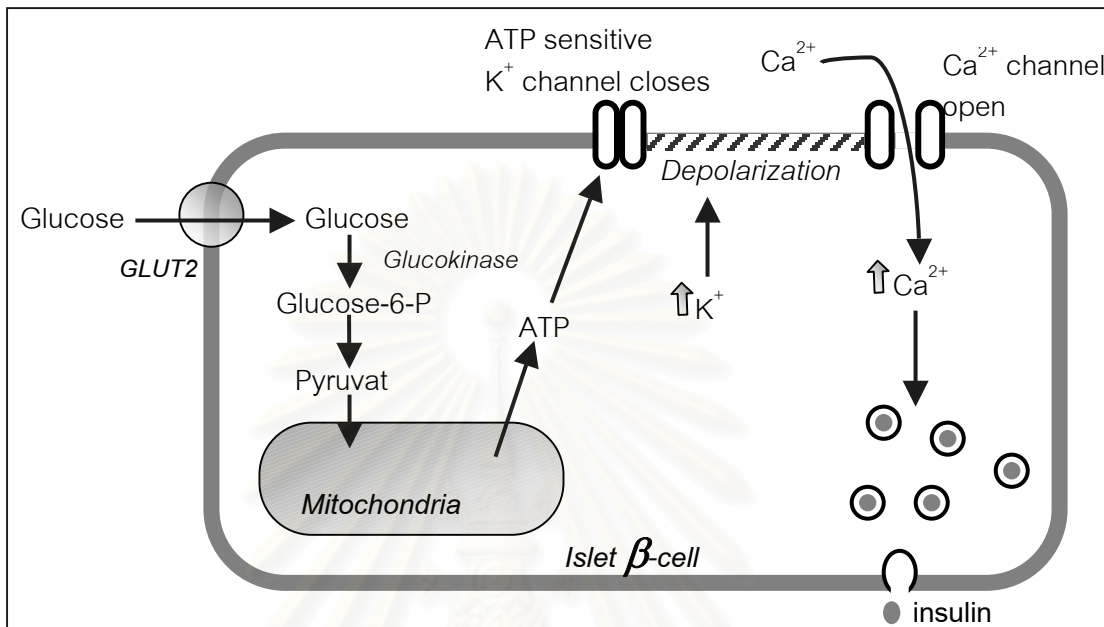
Glibenclamide จัดเป็นกรดอ่อน ถูกดูดซึมได้ดีในทางเดินอาหารประมาณร้อยละ 85 หลังรับประทานยา[52] มีปริมาตรการกระจายตัวประมาณ 10-15 ลิตร สามารถจับกับ พลาสมาโปรตีนได้มากกว่า 99% โดยที่ glibenclamide จะชอบจับกับอัลบูมินมากกว่ายาในกลุ่มอื่น[53] ยาสามารถกระจายไปยังอวัยวะต่างของร่างกาย โดยเฉพาะที่ตับและไต ในตับยาจะถูกเปลี่ยนเป็น 4-trans-hydroxy glibenclamide และ 3-cis-hydroxy glibenclamide โดยมีฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือดได้เพียง 25% ของ glibenclamide และถูกขับออกทางปัสสาวะและอุจจาระ โดยที่ค่าครึ่งชีวิตจะยาวขึ้นในผู้ป่วยโรคตับหรือโรคไต[54]

### 3.3 กลไกการออกฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือด

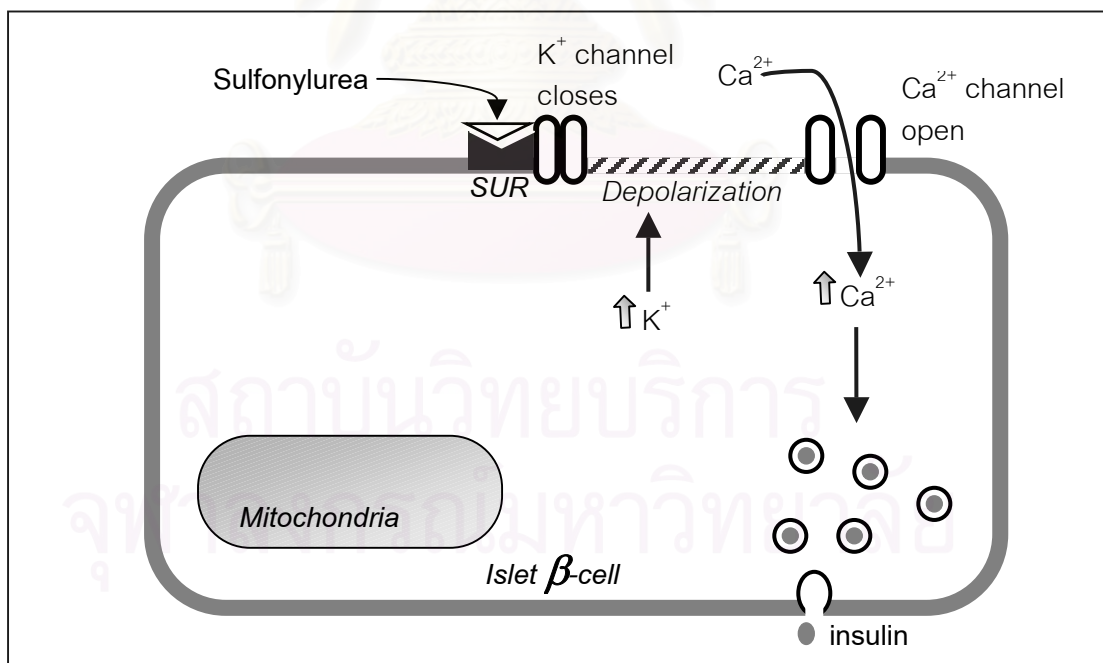
#### 3.3.1 กลไกการออกฤทธิ์ที่ตับอ่อน

ออกฤทธิ์กระตุ้น  $\beta$ -cell ให้หลั่งอินซูลิน แต่ไม่สามารถกระตุ้นให้เกิดการสร้างอินซูลินได้ ยาจะออกฤทธิ์โดยไปจับกับรีเซพเตอร์ที่ผนังเซลล์เรียกว่า sulfonylurea receptor (SUR) และทำให้เกิดการปิดกั้น ATP sensitive potassium channels ที่ผนังเซลล์ของ  $\beta$ -cell เกิด membrane depolarization ทำให้ calcium channels ที่ผนังเปิด แคลเซียมวิ่งจากภายนอกเข้าสู่เซลล์ การเพิ่มขึ้นของแคลเซียมภายในเซลล์ ทำให้มีการเคลื่อนย้าย insulin granule มาที่ผนังเซลล์และหลั่งอินซูลินออกมา การออกฤทธิ์ของยาจะคล้ายคลึงกับฤทธิ์ของกลูโคส กล่าวคือ เมื่อกลูโคสเข้าสู่  $\beta$ -cell โดยผ่านทาง GLUT2 ทำให้เกิดกระบวนการ glycolysis ทำให้ระดับ ATP ภายในเซลล์เพิ่มขึ้น มีผลไปปิดกั้น potassium channels ที่ผนังเซลล์เช่นกัน[55, 56] (รูปที่ 2-5)

ปัจจุบันพบว่า SUR เป็นส่วนหนึ่งของ ATP sensitive potassium channels ซึ่งอยู่บนผนังเซลล์ นอกจากนี้ยังสามารถพบได้ที่ผนังเซลล์ของกล้ามเนื้อหัวใจและหลอดเลือด ซึ่งอาจทำให้ยาามีผลต่อการเต้นและการบีบตัวของหัวใจ[57]



(ก.)



(ข.)

รูปที่ 2-5 แสดงกลไกการกระตุ้นการหลั่งอินซูลินที่ islet β-cell โดย [55]

(ก.) Glucose

(ข.) Sulfonylurea

### 3.3.2 กลไกการออกฤทธิ์นอกตับอ่อน

เมื่อใช้ยานี้รักษาในระยะยาวระดับอินซูลินในเลือดอาจต่ำกว่าตอนก่อนให้ยา แต่ยังสามารถลดระดับน้ำตาลได้ น่าจะเป็นไปได้ว่ายาเพิ่ม insulin sensitive และ insulin receptor binding โดยมีงานวิจัยมากมาย เช่น มีการเพิ่มขึ้นของ insulin receptor ใน monocyte, adipocyte และ erythrocytes ในผู้ป่วยโรคเบาหวานชนิดที่ 2 [58] เพิ่มฤทธิ์ของอินซูลินใน cell culture และกระตุ้นการสังเคราะห์ glucose transporters[59] ลดการสร้างกลูโคสจากตับ ใน culture rat hepatocytes[60] แต่มีบางรายงานที่ขัดแย้ง เช่น ยาไม่มีผลลดระดับน้ำตาลในเลือดในสัตว์ที่ผ่าตัดตับอ่อนออก ไม่มีผลในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 1 [61] และไม่มีผลในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ที่ใช้ somatostatin เพื่อลดการหลั่งอินซูลิน[62] อย่างไรก็ตามคำอธิบายเหล่านี้ยังไม่ชัดเจนในปัจจุบัน

### 3.4 ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

ลดระดับน้ำตาลในเลือดในผู้ป่วยโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ในระยะที่ยังไม่มีภาวะ ketoacidosis และลดระดับ glucagon ในเลือด ซึ่งช่วยลดอุบัติการณ์การเกิดภาวะ ketoacidosis ได้อีกทางหนึ่ง นอกจากนี้ยังลดระดับไขมันในเลือดทั้ง LDL และ triglyceride ช่วยให้เลือดแข็งตัวช้าลง โดยมีฤทธิ์ต้านเกล็ดเลือด[2]

### 3.5 ฤทธิ์ที่ไม่พึงประสงค์

พบได้น้อยมาก ส่วนใหญ่เกิดภาวะน้ำตาลในเลือดต่ำ อาจมีส่วนทำให้อัตราการตายจากโรคหัวใจและหลอดเลือดเพิ่มขึ้น โดยทั่วไปฤทธิ์ยาที่ไม่พึงประสงค์ส่วนใหญ่เกิดในเดือนแรกที่ใช้ยา ได้แก่ ผื่นคัน, คลื่นไส้, อาเจียน, เบื่ออาหาร, ตัวเหลือง, erythema nodosum, purpura photosensitivity, thrombocytopenia, red cell aplasia และ agranulocytosis เป็นต้น [2, 53]

## 4. การควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด

ในภาวะปกติร่างกายจะรักษาระดับน้ำตาลในเลือดให้อยู่ระหว่าง 70-120 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร[63] ร่างกายจึงมีการควบคุมระดับกลูโคสให้อยู่ในระดับปกติ ด้วยความสมดุลของอัตราการผลิต(glucose production) และอัตราการใช้(glucose utilization) การผลิตกลูโคสของร่างกายได้จากระบบทางเดินอาหาร และได้จากตับในภาวะที่ไม่มีการดูดซึมจากระบบทางเดินอาหาร เมื่อร่างกายนำกลูโคสมาใช้จะขึ้นกับอวัยวะ กลุ่มแรกคือ เนื้อเยื่อที่ตอบสนองต่ออินซูลิน ได้แก่ กล้ามเนื้อ และเนื้อเยื่อไขมัน เนื้อเยื่อเหล่านี้นำกลูโคสเข้าเซลล์โดยอาศัยตัวพาซึ่งถูกกระตุ้นด้วยอินซูลิน กลุ่มที่สองคือ เนื้อเยื่อที่ไม่ตอบสนองต่ออินซูลิน ได้แก่ สมอง เม็ดเลือดแดง และไต

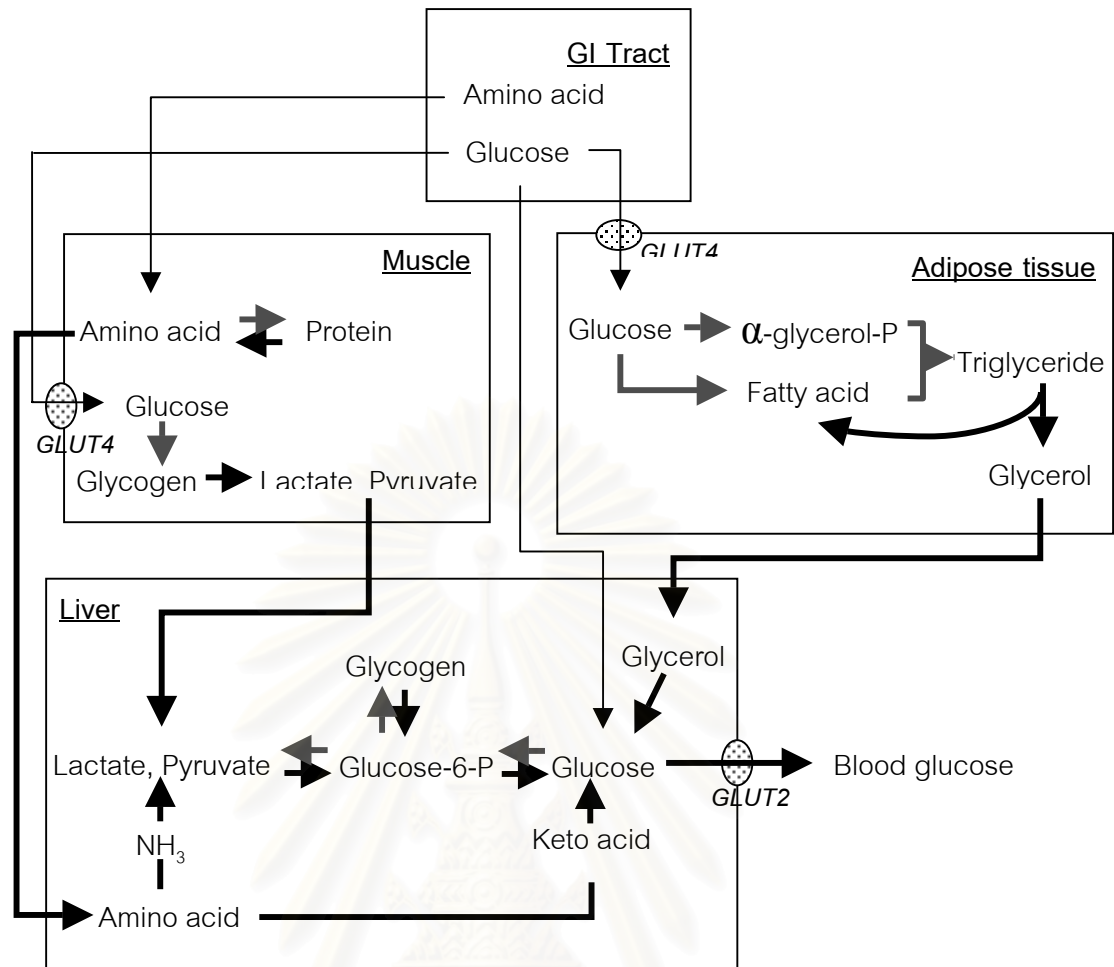
[64] โดยนำกลูโคสเข้าเซลล์โดยการแพร่ ซึ่งไม่ถูกกระตุ้นด้วยอินซูลิน การนำกลูโคสเข้าเซลล์นั้น ต้องอาศัย glucose transporters เนื่องจากเซลล์เมมเบรนไม่ยอมให้โมเลกุลที่เป็น hydrophilic ผ่าน โดยชนิดและหน้าที่ของ glucose transporters[65] แสดงในตารางที่ 2-3

ตารางที่ 2-3 ชนิดและหน้าที่ของ glucose transporters[65, 66]

ชนิด	เนื้อเยื่อ	หน้าที่
GLUT1	เนื้อเยื่อทุกชนิด โดยเฉพาะเม็ดเลือดแดง, สมอง	นำกลูโคสผ่าน blood brain barrier
GLUT2	$\beta$ -cell ของตับอ่อน, ตับ, ไต, ทางเดินอาหาร	ควบคุมการหลังอินซูลิน, glucose homeostasis ในด้านอื่น
GLUT3	สมอง, ไต, รก, เนื้อเยื่ออื่นๆ	นำกลูโคสเข้าเซลล์
GLUT4	กล้ามเนื้อ, เนื้อเยื่อไขมัน	นำกลูโคสเข้าเซลล์ โดยการกระตุ้นของอินซูลิน
GLUT5	ทางเดินอาหาร, ไต	ดูดซึมฟรุคโตส
GLUT7	ตับ, เนื้อเยื่ออื่นที่สร้างกลูโคสได้	ควบคุมการไหลผ่าน endoplasmic reticulum membrane

ร่างกายมีกระบวนการที่ควบคุมให้การสร้างกลูโคสมากพอเหมาะกับอัตราการใช้กลูโคส กลไกที่ควบคุมระดับกลูโคสได้แก่ ควบคุมด้วยระดับสารอาหารเอง, ควบคุมด้วยระบบประสาท และควบคุมด้วยระบบฮอร์โมน ซึ่งในที่นี่จะกล่าวถึงการควบคุมด้วยระบบฮอร์โมน เพราะมีบทบาทสำคัญ[64]

อินซูลินเป็นฮอร์โมนที่สร้างและคัดหลั่งจาก  $\beta$ -cell ของตับอ่อน ถูกกระตุ้นให้หลั่งด้วยภาวะเลือดมีกลูโคสมากเกิน อินซูลินมีฤทธิ์ยับยั้งการสร้างกลูโคสที่ตับ[67] โดยการสร้างกลูโคสที่ตับ มี 2 วิธี การ คือ การสลายไกลโคเจน (glycogenolysis) และ การสร้างกลูโคส (gluconeogenesis) จากสารตั้งต้น เช่น lactate, pyruvate และ amino acid เป็นต้น[68] ทั้งนี้อินซูลินยังมีฤทธิ์เพิ่มการใช้กลูโคสที่กล้ามเนื้อ ด้วยการเพิ่มจำนวนและเพิ่มการทำงานของ GLUT4 เพื่อทำให้การนำกลูโคสเข้าเซลล์เพิ่มขึ้น และยับยั้งการสลายไกลโคเจนที่กล้ามเนื้อ ลดจำนวน amino acid ที่นำไปสร้างกลูโคสที่ตับ ส่วนผลต่อเนื้อเยื่อไขมันเพิ่มการนำกลูโคสเข้าเซลล์ โดยผ่าน GLUT4 ไปสะสมเป็น triglycerides และยับยั้งการสลาย triglycerides เพื่อลดปริมาณ glycerol ที่ตับนำไปสร้างเป็นกลูโคส [66, 67] (รูปที่ 2-6)



รูปภาพที่ 2-6 กลไกการควบคุมกลูโคสที่เนื้อเยื่อต่างๆ โดยฮอร์โมนอินซูลิน  
(▲กระตุ้นโดยอินซูลิน, ▲ยับยั้งโดยอินซูลิน,ภาวะเบาหวาน) [67]

ในกรณีที่ร่างกายอยู่ในภาวะเบาหวาน เนื่องจากขาดอินซูลิน หรือเนื้อเยื่อไม่ตอบสนองต่อฤทธิ์ของอินซูลิน ทำให้การควบคุมระดับกลูโคสโดยอินซูลินผิดปกติ ร่างกายเกิดการสลายของไกลโคเจนที่ตับและกล้ามเนื้อ, สลายโปรตีน (proteolysis), สลายไขมัน (lipolysis) และนำสารที่ได้จากการสลาย เช่น lactate, pyruvate, amino acid และ glycerol มาสร้างกลูโคสที่ตับ ทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดสูง[69] (รูปที่ 2-6)

เพราะฉะนั้นกลไกการออกฤทธิ์ที่เป็นเป้าหมายสำคัญของสารในการลดระดับน้ำตาลในเลือด คือ กระตุ้นการหลั่งอินซูลินจาก  $\beta$ -cell, ลดอัตราการย่อย และการดูดซึม คาร์โบไฮเดรต และไขมันในลำไส้, ลดการสร้างกลูโคสจากตับ, ลดการสลายไกลโคเจนจากตับและกล้ามเนื้อ, เพิ่มการนำกลูโคสเข้าเซลล์, เพิ่มการใช้กลูโคส, เพิ่ม insulin sensitive ที่ peripheral tissue (เพิ่ม insulin receptor activity, เพิ่มจำนวนและฤทธิ์ของ GLUT4)

#### 4. หญ้าหนวดแมว (*Orthosiphon stamineus* Benth.)

หญ้านวดแมวมีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Orthosiphon*(*O*) *stamineus* Benth.(ชื่อเหมือน, *O. aristatus*(Bl.) Miq, *O. grandiflorus* Bold, *O. spicatus*(Thumb) Bak.) ชื่อภาษาอังกฤษคือ Kidney tea หรือ Java tea ชื่อพื้นเมืองในประเทศไทยคือ พยัพเมฆ, บางรักป่า และอีตุ้มง พืชชนิดนี้อยู่ในวงศ์ Labiatae ตระกูลเดียวกับกะเพรา

##### 4.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ลำต้น พืชล้มลุกสูงประมาณ 0.4-2.0 ม. โคนต้นแข็ง มักแตกกิ่งก้านจากโคนต้น ลำต้นเป็นสีเขียว มีขนสั้นๆ ปกคลุม

ใบ เป็นใบเดี่ยว เรียงตรงข้ามกันเป็นคู่ๆ ใบรูปไข่ขอบใบหยัก ปลายใบแหลม กว้าง 1-5 ซม. ยาว 1.5-10 ซม. ตามเส้นใบอาจมีขนเล็กน้อยหรือเกลี้ยง ผิวใบทั้ง 2 ด้านมีต่อมเป็นจุดๆ จำนวนมาก ก้านใบยาวประมาณ 3 ซม.

ดอก ช่อดอกออกที่ปลาย ยาว 7-30 ซม. มีสีม่วงหรือขาว ลักษณะคล้ายฉัตรปกคลุมด้วยขนสั้นตั้งตรง ก้านดอกยาว 1-6 มม. เกสรตัวผู้มี 4 อันมีขนาดยาวโผล่ออกมานอกกลีบดอก ลักษณะคล้ายหนวดแมว อับเรณูมี 2 ช่อเรียงขนานกัน รังไข่มี 4 ใบ [70, 70] (รูปที่ 2-7)

##### 4.2 สรรพคุณของหญ้านวดแมว

หญ้านวดแมวมีการใช้ในการรักษาโรคต่างๆ กันมาเป็นเวลานาน โดยที่มีสรรพคุณมากมายต่างกันไปในแต่ละประเทศ ดังแสดงในตารางที่ 2-4

ตารางที่ 2-4 สรรพคุณของหญ้านวดแมวในประเทศต่างๆ [71-73]

ประเทศ	ส่วนที่ใช้	ใช้ในการรักษา
ไทย	ใบ, ราก, ลำต้น	โรคไต, โรคปวดข้อปวดหลัง, ขับปัสสาวะ, ลดความดันโลหิต, ลดน้ำตาลในเลือด, ขับกรดยูริกจากไต, แก้คลื่นเหียนอาเจียน
พม่า	ใบ	โรคไต, ลดน้ำตาลในเลือด, โรคกระเพาะปัสสาวะ
เวียดนาม	ใบ, ลำต้น	โรคไต, โรคปวดข้อ, ขับปัสสาวะ, ลดความดันโลหิต, ลดน้ำตาลในเลือด, โรคกระเพาะปัสสาวะ, โรคนิ่วน้ำดี, อาการบวมน้ำ, โรคตับอักเสบ, ไข้หวัดใหญ่, โรคดีซ่าน, ผื่นคัน
อินโดนีเซีย	ใบ, ลำต้น	โรคปวดข้อ, ขับปัสสาวะ, ลดความดันโลหิต, ลดน้ำตาลในเลือด, ต่อมทอนซิลอักเสบ, โรคลมบ้าหมู, โรคซีฟิลิส, โรคหนองใน, โรคประจำเดือนผิดปกติ



(ก.)



(ข.)



(ค.)

รูปที่ 2-7 หญ้าหนวดแมว *Orthosiphon stamineus* Benth. ก) ดอก; ข) ใบ; ค) ลำต้น

### 4.3 การศึกษาสารประกอบเคมี

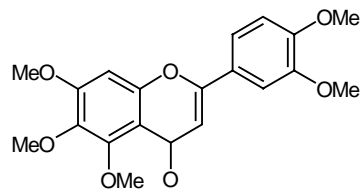
ได้มีการศึกษาถึงสารประกอบทางเคมีของหญ้าหนวดแมวมาเป็นเวลานาน มีการค้นพบสารประกอบมากมายและสารต่างๆ ก็มีโครงสร้างหลากหลาย ดังแสดงในตารางที่ 2-5 และรูปที่ 2-8

ตารางที่ 2-5 สารประกอบเคมีของหญ้าหนวดแมว

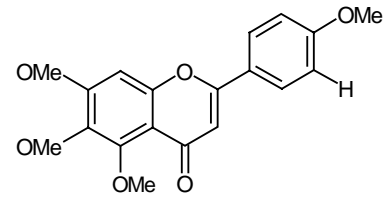
สารประกอบ	เอกสารอ้างอิง
<b>Benzochromene</b>	
1. Acetovanillochromene	74
2. Methyripariochromene A	74
3. Orthochromene A	74
<b>Diterpene</b>	
1. Neoorthosiphol A-B	75
2. Neoorthosiphone A	76
3. Nororthosiphonolide A	77
4. Norstaminol A-C	72
5. Norstaminolactone A	78
6. Norstaminone A	73
7. Orthosiphol A-C	79
8. Orthosiphol D-E	80
9. Orthosiphol F-J	72
10. Orthosiphol K-N	73
11. Orthosiphol O-Q	77
12. Orthosiphol R-T	78
13. Orthosiphol U-Z	81
14. Orthosiphonone A-B	74
15. Secoorthosiphol A-C	78
16. Siphonol A-E	82
17. Staminolactones A-B	72
18. Staminols A-B	72
19. 2-O-deacetylorthosiphol J	83



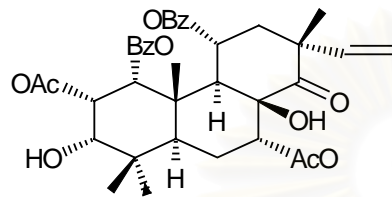
สารประกอบ	เอกสารอ้างอิง
20. 3-O-deacetylorthosiphol I	83
21. 6-hydroxyorthosiphol B	83
22. 7-O-deacetylorthosiphol B	83
<b>Flavonoid</b>	
1. Apigenin trimethyl ether	84
2. Cirmaritin	84
3. Eupatorin	84
4. Ladanein	84
5. Luteolin tetramethyl ether	84
6. Pilloin	84
7. Rhamnazin	84
8. Salvigenin	84
9. Sinesetin	84
10. Tetramethylscutellarein	84
11. 3'-hydroxy-5,6,7,4'-tetramethoxyflavone	84
12. 5-hydroxy-6,7,3',4'-tetramethoxyflavone	84
<b>Phenolic acid</b>	
1. Caffeic acid	85
2. Cichoric acid	85
3. Rosmarinic acid	85
<b>Triterpene</b>	
1. Betulinic acid	72
2. Hederagenin	72
3. Oleanolic acid	72
4. Ursolic acid	72
<b>Steroid</b>	
1. $\beta$ -sitosterol	72



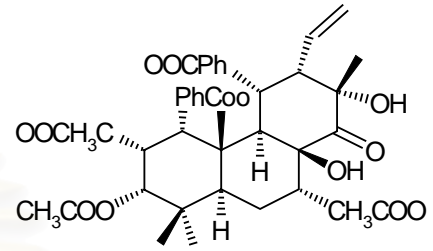
Sinensetin



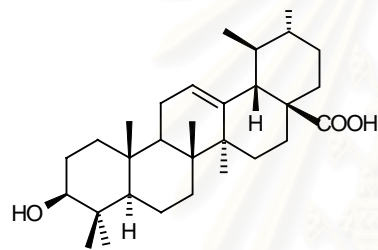
Tetramethylscutellarein



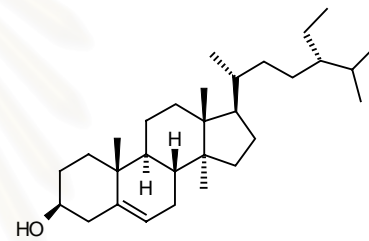
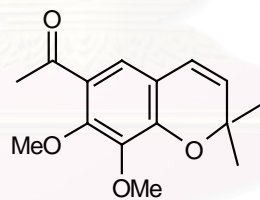
Orthosiphol A



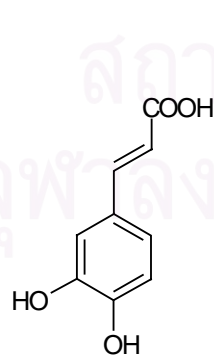
Staminol A



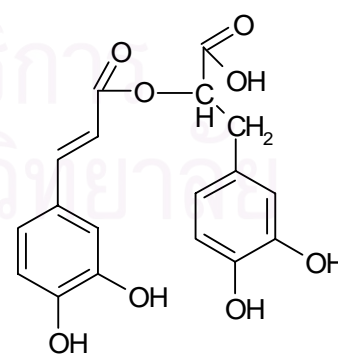
Ursolic acid

 $\beta$ -sitosterol

Methyripariochromene A



Caffeic acid



Rosmarinic acid

รูปที่ 2-8 สูตรโครงสร้างสารประกอบเคมีบางชนิดของหญ้าหนวดแมว

#### 4.4 การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและการทดลองทางคลินิก

สำหรับรายงานการศึกษาฤทธิ์ของหญ้าหนวดแมว พบว่าสารสกัดจากหญ้าหนวดแมวสามารถลดระดับน้ำตาลในผู้ป่วยเบาหวานได้ โดยอาจเร่งให้มีการสร้างไกลโคเจน และอาจเป็นตัวทำลายฤทธิ์ของระบบประสาทซิมพาเทติก(sympatholytic action)[86] ต่อมา มีการศึกษาในผู้ป่วยเบาหวาน พบว่าเมื่อให้สารสกัดแก่ผู้ป่วย 3 ครั้งต่อวันเป็นเวลา 1 สัปดาห์ สามารถลดระดับน้ำตาลได้เช่นกัน[87] และยังมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus mutans* serotypes C และ D[88] สาร flavonoids ที่แยกได้จากใบของหญ้าหนวดแมว พวก sinesetin และ tetramethylscutellarein สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ Ehrlich ascites tumor cells[89] ซึ่ง sinesetin และ 3'-hydroxy-5,6,7,4'-tetramethoxyflavone ยังมีฤทธิ์ขับปัสสาวะได้[90] ต่อมา มีการสกัดสารพวก diterpenes จากใบหญ้าหนวดแมว โดยมีผลด้านการอักเสบที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดโดย tumor promoter 12-O -tetradecanoylphorbol-13-acetate(TPA) ใน mouse ears[91] และยังมีฤทธิ์ยับยั้งการคลายตัวของ thoracic aorta ในหนูขาว[92] และสารพวก benzochromene ได้แก่ methylripariochromene A มีฤทธิ์ลดความดันโลหิต[93] มีการศึกษาต่อมาพบว่า norstaminolactone A ซึ่งเป็น oxygenated diterpene มีผลยับยั้งการแบ่งตัวของ liver metastatic colon 26-L5 carcinoma และ human HT-1080 fibrosarcoma cell lines[77] สารพวก isopimarane-type diterpenes และ staminane-type diterpenes เช่น siphonol A, orthosiphonol X, staminols A และ neoorthosiphonol B ซึ่งสารประกอบเหล่านี้มีฤทธิ์เป็น Nitric Oxide inhibitors ใน Lipopolysaccharide(LPS)-activated macrophage-like J774.1 cells[74, 80, 82, 94]

ในประเทศไทยก็มีการศึกษาโดยให้ผู้ป่วยโรคนี้วในท่อไต 23 คน ดื่มยาขงหญ้าหนวดแมว ทุกวันเป็นเวลา 1-6 เดือน พบว่าผู้ป่วยปัสสาวะคล่องขึ้น มีอาการปวดลดลง[95] และผลต่ออาสาสมัครสุขภาพดี โดยการนำปัสสาวะไปตรวจหลังดื่มยาขงหญ้าหนวดแมว พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่าง เพิ่มขึ้น ดังนั้นอาจมีผลป้องกันการเกิดนิ่วชนิดกรดยูริก แต่ในทางกลับกันอาจทำให้เกิดนิ่ว oxalate เพิ่มขึ้นได้เช่นกัน เนื่องจากยาขงหญ้าหนวดแมวทำให้มีการขับ oxalate ทางปัสสาวะมากขึ้น[96] และมีการศึกษาเปรียบเทียบระหว่างยาขงหญ้าหนวดแมวกับยารักษาโรคนี้วในท่อไต ให้ผลการรักษาที่ไม่ต่างกัน แต่กลุ่มที่ได้รับยาขงนั้นไม่พบอาการเบื่ออาหาร และเหนื่อยง่ายเหมือนในกลุ่มที่ได้รับยารักษาโรคนี้วในท่อไต[97] นอกจากนี้ได้มีการศึกษาถึงผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมวขนาด 0.4 ก./กก.ในหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานด้วย alloxan พบว่าระดับน้ำตาลในเลือดมีแนวโน้มลดลง[98] ด้านพิษวิทยาได้มีการศึกษาถึงพิษกึ่งเฉียบพลันโดยป้อนสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว 2 ก./กก. ในหนูขาว นาน 30 วัน ไม่พบสัตว์ตาย และไม่พบลักษณะหรือพฤติกรรมที่ต่างจากกลุ่มควบคุม[99] นอกจากนี้มีการศึกษาถึงพิษเรื้อรังโดยป้อน

สารสกัด 18 ก./กก. นาน 6 เดือน ไม่พบการเปลี่ยนแปลงที่ผิดปกติ รวมทั้งค่าปริมาณสารในเลือด  
ก็ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม[100]



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## บทที่ 3

### อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

#### วัสดุและอุปกรณ์

##### 1. สัตว์ทดลอง

หนูขาวเพศผู้สายพันธุ์ Sprague-Dawley น้ำหนัก 200-250 กรัม จากสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติมหาวิทยาลัยมหิดล ตำบลศาลายา อำเภอนครชัยศรี จังหวัดนครปฐม นำมาเลี้ยงที่ห้องเลี้ยงสัตว์ทดลอง คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อย่างน้อย 1 สัปดาห์ ก่อนเริ่มการทดลอง

##### 2. สมุนไพรและแหล่งที่มา

น้ำใบแห้งของหญ้าหนวดแมว 1 กิโลกรัม จากเวชพงศ์ไอสภ ต้มกับน้ำประมาณ 2 ลิตรเป็นเวลา 2 ชั่วโมง คั้นต่อไปจนกระทั่งเหลือปริมาตร 500 มิลลิลิตร กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 นำไปทำให้แห้งโดยเครื่อง lyophilizer ได้สารสกัดแห้งประมาณ 40 กรัม จากนั้นแบ่งเก็บ ณ อุณหภูมิ  $-20^{\circ}\text{C}$  จนกระทั่งใช้

##### 3. สารเคมีและแหล่งที่มา

- 2,4-dinitrophenylhydrazine (Ajax Finechem)
- Aluminium chloride (Ajax Finechem)
- Bovine serum albumin (Fisher, U.S.A.)
- Calcium chloride (Merck, Germany)
- Dextran (sigma,U.S.A.)
- Folin-Ciocalteu's phenol reagent (Fluka, Switzerland)
- Gallic acid (Fluka, Switzerland)
- Glibenclamide (Danonil<sup>®</sup>, Hoechst Marion Roussel, Germany)
- Glucose (Merck, Germany)
- Hepes (Sigma, U.S.A.)
- Insulin Radioimmunoassay Kit ( DPC<sup>®</sup>, U.S.A)
- Magnesium sulfate heptahydrate (Merck, Germany)

- Naringenin (Chemical fine)
- O-dianisidine (Sigma, U.S.A.)
- Pentobarbital sodium (Nembutal<sup>®</sup>, Sanofi, France)
- PGO enzyme (Sigma, U.S.A.)
- Potassium acetate (Carla erba)
- Potassium chloride (Merck, Germany)
- Potassium hydroxide (Merck, Germany)
- Potassium phosphate (Merck, Germany)
- Queretin (Chemical Fine)
- Sodium carbonate (Carla erba, Italy)
- Sodium chloride (Merck, Germany)
- Sodium hydrogen carbonate (Merck, Germany)
- Streptozotocin (Sigma, U.S.A.)

#### 4. เครื่องมือ

- Autopipets (Gilson, France)
- Blood glucose monitor (Advantage<sup>®</sup>, Roche Diagnostics Co, Thailand)
- Centrifuge (Heraeus, Biofuge 22R, Germany)
- Cuvettes (Bibby sterilin)
- Gamma Couter (The nucleus, Moel 600)
- Hot plate (Sangi Model4405)
- Lyophilizer
- Microtube (Costar, U.S.A.)
- pH meter (Hanna, Italy)
- Spectrophotometer (Shimadzu UV-160A)
- Tank of carbogen gas (TIG, Thailand)
- Vortex mixer (Gemmy industrial, Taiwan)
- Water bath shaker (Grant, England)
- Water pump (Gilson, France)
- Weighting machine (sartorius, Germany)

## วิธีดำเนินการทดลอง

### 1. การตรวจหาสารประกอบเคมีในสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว

#### 1.1 ตรวจหา Total phenolic compounds [101]

1.1.1 นำสารสกัดมา 0.158 ก. ละลายใน 40% ethanol 6 มล. ได้เป็น 0.0263 ก./มล.

1.1.2 เตรียมสารละลายมาตรฐาน gallic acid ที่ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2, 0.4 และ 0.8 มก./ดล. เพื่อทำเป็น standard curve

1.1.3 นำสารละลายมา 1 มล. เติม Folin-Ciocalteu's phenol reagent 5 มล. ผสมกันใน volumetric flask ทิ้งไว้ 8 นาที เติม 2% sodium carbonate solution (w/v) 15 มล. ปรับปริมาตรสุดท้ายให้เป็น 100 มล. ด้วยน้ำกลั่น ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 2 ชั่วโมง

1.1.4 นำสารละลายไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร

1.1.5 คำนวณหาความเข้มข้นของ total phenol compounds เปรียบเทียบกับ standard curve

#### 1.2 ตรวจหา Flavonoids [102]

##### 1.2.1 Aluminum chloride colorimetric method

1.2.1.1 นำสารมา 50 มก. ละลายใน 80% ethanol 1 มล.

1.2.1.2 เตรียมสารละลายมาตรฐาน quercetin โดยนำมา 10 ก. ละลายใน 80% ethanol ให้ได้ความเข้มข้นที่ 0, 25, 50 และ 100 ไมโครกรัม/มล.

1.2.1.3 นำสารละลายมา 0.5 มล. เติมสารดังต่อไปนี้

- 95% ethanol 1.5 มล.

- 10% aluminum chloride 0.1 มล.

- 1 โมล potassium acetate 0.1 มล.

- Distilled water 2.5 มล.

1.2.1.4 ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที

1.2.1.5 นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร

### 1.2.2 2,4-Dinitrophenylhydrazine colorimetric method

- 1.2.2.1 นำสาร 50 มก. ละลายใน 80% ethanol 1 มล.
- 1.2.2.2 เตรียมสารละลายมาตรฐาน Naringenin 20 มก. ละลายใน methanol ให้ได้ความเข้มข้นที่ 500, 1000 และ 2000 ไมโครกรัม/มล.
- 1.2.2.3 นำสารละลายมา 1 มล. เติม methanol 2 มล. และเติม 1% 2,4-Dinitrophenylhydrazine นาน 2 มล.
- 1.2.2.4 ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 50 °C นาน 50 นาที
- 1.2.2.5 ปล่อยให้เย็น แล้วเติม 1% potassium hydroxide ใน 70% ethanol 5 มล. ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 2 นาที
- 1.2.2.6 นำสารละลายมา 1 มล. ไป centrifuged ที่ 1000 รอบ/นาที
- 1.2.2.7 แยกตะกอนออก นำส่วนใสมาเติมน้ำจนมีปริมาตร 25 มล.
- 1.2.2.8 นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 495 นาโนเมตร

## 2. การทดสอบฤทธิ์เฉียบพลันของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมวในการลดระดับน้ำตาลในเลือดของหนูขาว

โดยศึกษาผลเฉียบพลันของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมวในการทำให้เกิดภาวะน้ำตาลในเลือดต่ำ (hypoglycemia effect) ในหนูปกติ และศึกษาผลลดระดับน้ำตาลในเลือดในหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวาน โดยการทำ oral glucose tolerance test (OGTT)

### 2.1 Oral glucose tolerance test ในหนูปกติ

งดอาหารหนูก่อนทำการทดลอง 12 ชั่วโมง แบ่งหนูเป็น 5 กลุ่ม กลุ่มละ 6-8 ตัว

กลุ่มที่ 1: กลุ่มควบคุม ป้อนน้ำกลั่นขนาด 1 ซีซี/ตัว

กลุ่มที่ 2: ป้อน glibenclamide 5 มก./กก.

กลุ่มที่ 3-5 : ป้อนสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมวที่ 0.2, 0.5, 1.0 ก./กก.

หลังจากนั้น 30 นาที ป้อนกลูโคส 3 ก./กก. ในหนูทุกกลุ่ม เก็บตัวอย่างเลือดเพื่อตรวจ fasting plasma glucose (FPG) ที่เวลา -30, 0, 30, 90, 150 และ 210 นาที ที่เวลา -30 นั้นเป็นเวลาเก็บเลือดก่อนป้อนสารทั้ง 5 กลุ่ม และที่เวลา 0 นั้นเป็นเวลาเก็บเลือดก่อนป้อนกลูโคส



## 2.2 Oral glucose tolerance test ในหนูเบาหวาน

เหนี่ยวนำหนูให้เป็นเบาหวาน โดยการฉีด streptozotocin (STZ) ขนาด 50 มก./กก. ที่ละลายใน citric buffer (pH 4.5) เข้าทางหลอดเลือดดำ (iv) โดยงดให้อาหารหนูก่อนฉีด STZ 24 ชั่วโมง หลังจากฉีด STZ 7 วัน ตรวจเลือดหนูโดยใช้ blood glucose monitor (Advantage<sup>®</sup>) เพื่อคัดเลือกหนูที่มีระดับน้ำตาลสูงกว่า 300 มก./ดล. เข้าทำการทดลอง โดยทำการทดลองเหมือนการทดลองที่ 2.1

### - การเก็บตัวอย่างเลือด

ทำได้โดยการตัดปลายหาง เก็บเลือดไว้ใน microcentrifuge tube ที่มี heparin นำเลือดที่ได้ไปปั่นแยกพลาสมาโดยเครื่อง refrigerated centrifuge (Biofuge 22R) ที่ความเร็ว 3000 รอบ/นาที เป็นเวลา 5 นาที นำพลาสมาที่ได้เก็บไว้ที่ -20 °C เพื่อนำไปวัดระดับน้ำตาลในเลือดต่อไป

### - การวัดระดับน้ำตาลในเลือด

โดยใช้วิธี Glucose Oxidase Test (Sigma, U.S.A.) (ภาคผนวก ค) และนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร โดยเครื่อง spectrophotometer (Shimadzu UV-160A) โดยระดับน้ำตาลมีหน่วยเป็นมิลลิกรัม ในเลือด 100 มล. (มก./ดล.)

## 3. การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมวในการลดระดับน้ำตาลในเลือดในหนูเบาหวานเมื่อให้วันละ 1 ครั้งติดต่อกัน 14 วัน

แบ่งหนูเบาหวานเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มละ 6-8 ตัว

กลุ่มที่ 1: กลุ่มควบคุม ป้อนน้ำกลั่นขนาด 1 ซีซี/ตัว

กลุ่มที่ 2: ป้อน glibenclamide 5 มก./กก.

กลุ่มที่ 3: ป้อน สารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมวที่ 0.5 ก./กก.

ทำการป้อนสารดังกล่าวข้างต้นวันละครั้งติดต่อกันนาน 14 วัน ในหนูทุกกลุ่ม ตรวจ fasting plasma glucose (FPG) โดยใช้ blood glucose monitor (Advantage<sup>®</sup>) ในหนูเบาหวาน ทั้ง 3 กลุ่ม ณ วันที่ 0, 8 และ 14 โดยงดให้อาหารก่อนทำการตรวจเลือดอย่างน้อย 12 ชั่วโมง

#### 4. การศึกษาผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว ต่อระดับไขมันในเลือด การทำงานของตับและไต ในหนูเบาหวานภายหลังได้รับติดต่อกัน 14 วัน

เก็บเลือดเพื่อตรวจสารเคมีในเลือดในหนูทุกกลุ่ม ได้แก่ blood urea nitrogen(BUN), creatinine, cholesterol, triglyceride, high-density lipolipid(HDL), asparate aminotransferase(AST) , alanine aminotransferase(ALT) โดยงดให้อาหารหนูก่อนเก็บเลือด 12 ชั่วโมง หลังจากเก็บเลือดที่ tail vein นับเป็นวันที่ 0 หลังจากนั้นวันที่ 1 จึงทำการป้อนสารทดสอบ ดังต่อไปนี้ คือ

กลุ่มที่ 1: กลุ่มควบคุม ป้อนน้ำกลั่นขนาด 1 ซีซี/ตัว

กลุ่มที่ 2: ป้อน glibenclamide 5 มก./กก.

กลุ่มที่ 3: ป้อน สารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมวที่ 0.5 ก./กก.

ทำการป้อนสารดังกล่าวทุกวันวันละครั้ง ในหนูทุกกลุ่ม จนครบ 14 วัน และในวันที่ 15 ทำการเก็บเลือดเพื่อไปตรวจสารเคมีในเลือดดังกล่าวข้างต้น

#### 5. การศึกษาผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว ต่อเนื้อเยื่อในอวัยวะต่างๆ เปรียบเทียบระหว่างหนูเบาหวานที่ไม่ได้รับสารทดสอบและหนูเบาหวานที่ได้รับสารทดสอบติดต่อกัน 14 วัน

โดยใช้หนูกลุ่มเดียวกับการทดลองที่ 2 และ 3 โดยเมื่อถึงวันที่ 15 ดมสลบด้วย diethyl ether หลังจากนั้นทำการเก็บ หัวใจ ตับ ไต และตับอ่อน โดยแช่ไว้ใน 10% neutral buffered formalin และนำไปผ่านขั้นตอน จนได้เป็นสไลด์เนื้อเยื่อ เพื่อทำการศึกษาพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อ

#### 6. การทดสอบผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมวต่อการกระตุ้นการหลั่งอินซูลินจากตับอ่อน โดยวิธี *In situ* pancreatic perfusion [103]

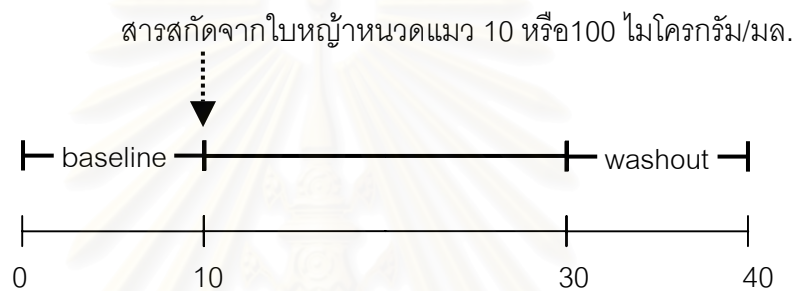
##### - ขั้นตอนการเตรียมตับอ่อน

งดให้อาหารหนูก่อนทำการทดลอง 12 ชั่วโมง ทำให้หนูสลบโดยฉีด pentobarbital sodium 60 มก./กก. เข้าทางช่องท้อง เปิดหน้าท้องหา celiac artery สอดท่อ cannula ชนิด polyvinyl (0.625 มม., ID) ที่มี Krebs-Ringer bicarbonate buffer(KRB) ซึ่งเติม 10 มิลลิโมล HEPES, 1% dextran, 0.2% BSA และ 5.5 มิลลิโมล glucose ปรับ pH เป็น 7.4 และได้รับ 95% O<sub>2</sub> - 5% CO<sub>2</sub> โดยมี flow rate 1 มล./นาที และให้สารทดสอบโดยละลายและ

ผ่านไปพร้อมกับ KRB จากนั้นสอดท่อ cannula ชนิด vinyl (1.12 มม., ID) เข้าไปใน portal vein เพื่อเก็บของเหลวที่หลังจากดับอ่อน โดยให้ 20 นาทีแรกเป็น equilibration period หลังจากนั้นเก็บของเหลวที่ผ่านออกมาจากตับอ่อนทุกนาที และนำไปวิเคราะห์หาระดับอินซูลินโดยวิธี radioimmunoassay

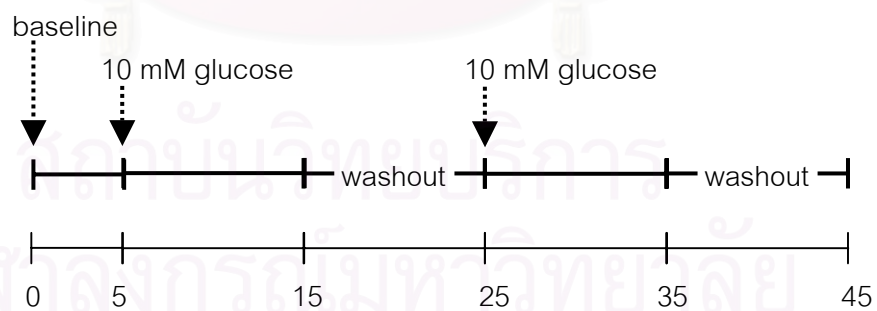
- ขั้นตอนการทดลอง

6.1 ศึกษาผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมวที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการกระตุ้นการหลั่งอินซูลิน

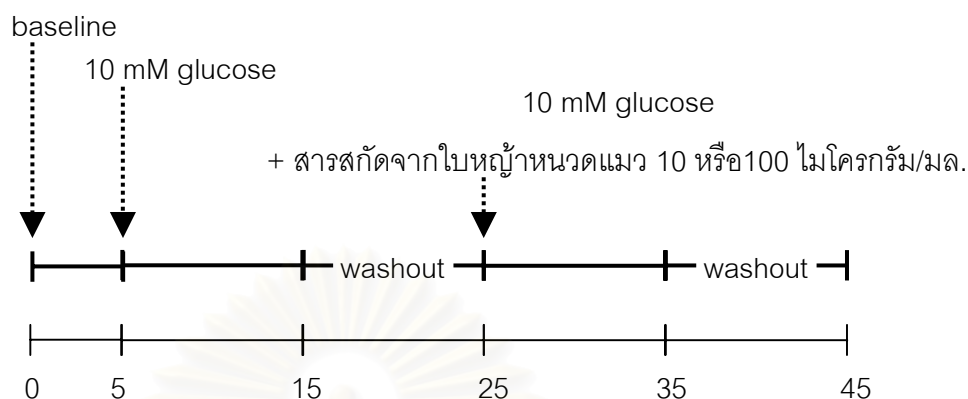


6.2 ศึกษาผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมวต่อการกระตุ้นการหลั่งอินซูลินเมื่อให้พร้อม glucose

- ศึกษาผลของ glucose ต่อการกระตุ้นการหลั่งอินซูลิน



- ศึกษาผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมวเมื่อให้พร้อม glucose



เมื่อจบทุกการทดลองต้อง perfuse 15mM glucose 5 นาที เพื่อยืนยันว่าเนื้อเยื่อยังคงมีการหลั่งอินซูลินตามปกติ (positive control)

#### การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลด้วย one-way analysis of variance (ANOVA) เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มโดยใช้ least significance difference (LSD) และเปรียบเทียบข้อมูลก่อนและหลังด้วย Student's paired- t test ที่ระดับนัยสำคัญ  $P < 0.05$  โดยใช้ Mean  $\pm$  standard error of mean (S.E.M.) ในการนำเสนอข้อมูล

## บทที่ 4

### ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

#### ผลการทดลองที่ 1 การตรวจหาสารประกอบเคมีในสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว

##### 6.1 ปริมาณ Total phenolic compounds

ครั้งที่	ปริมาณ Total phenolic ต่อสารสกัด 1 ก.(มก./ก.)
1	12.452
2	13.487
3	13.793

ปริมาณ Total phenolic compounds โดยทำการตรวจ 3 ครั้งนั้น ในสารสกัดจากหญ้าหนวดแมว ตรวจพบเท่ากับ  $13.07 \pm 7.50$  มก./ก.

##### 6.2 ปริมาณ Flavonoids โดยวิธี Aluminum chloride colorimetric

ครั้งที่	ปริมาณ Flavonoids ต่อสารสกัด 1 ก.(ไมโครกรัม/ก.)
1	1.51
2	1.64
3	2.16
4	1.59

ปริมาณ Flavonoids ที่ตรวจพบในสารสกัดจากหญ้าหนวดแมว โดยวิธี Aluminum chloride colorimetric method 4 ครั้งนั้น เท่ากับ  $1.73 \pm 0.147$  ไมโครกรัม/ก.

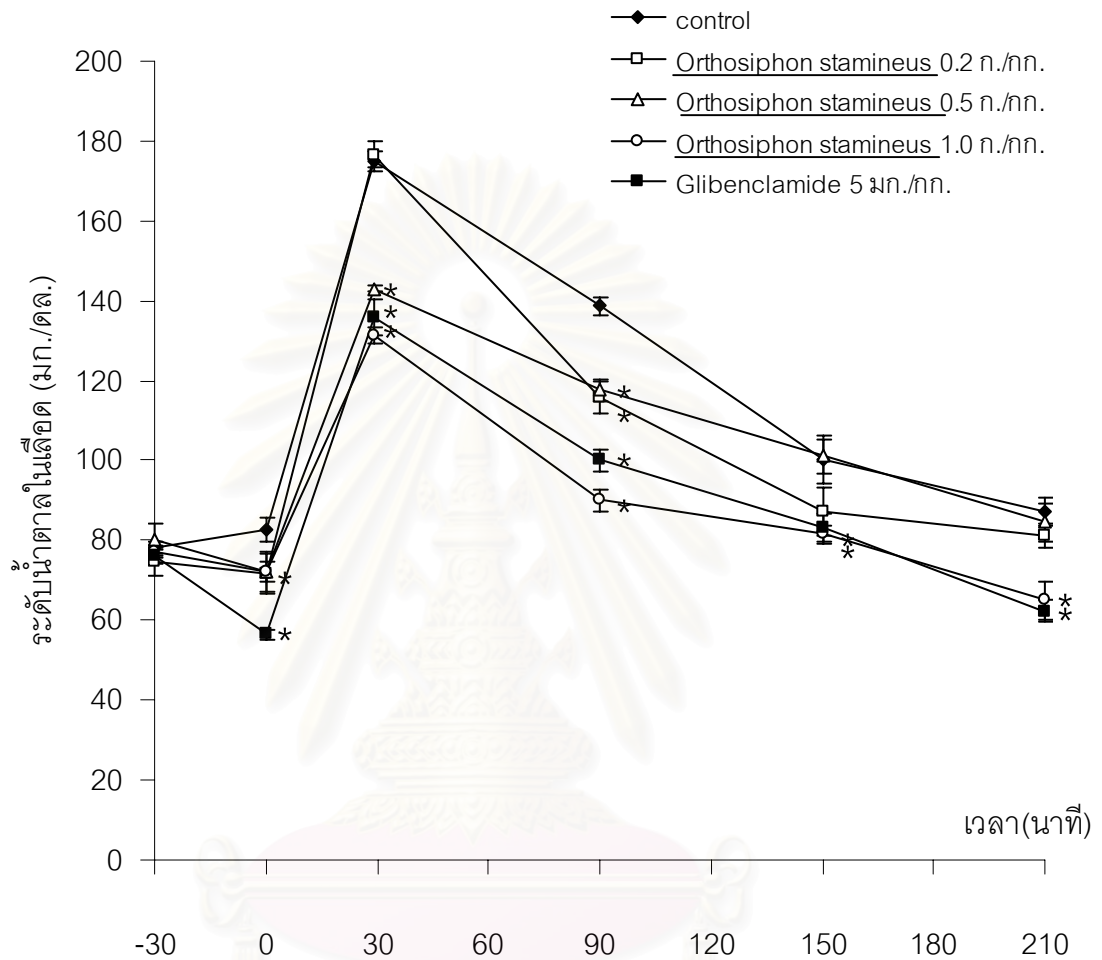
## **ผลการทดลองที่ 2 การทดสอบฤทธิ์เฉียบพลันของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมวในการลดระดับน้ำตาลในเลือดของหนูขาว**

2.1 ผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว ต่อระดับน้ำตาลในเลือดในหนูปกติ โดยการทำการ oral glucose tolerance test (OGTT)

ผลจากการทดลองให้สารสกัดโดยการทำการ OGTT ในหนูปกติแสดงในรูปแบบที่ 4-1 และตารางที่ 4-1 หลังจากให้สารสกัดที่ 0.2, 0.5 และ 1.0 ก./กก. ที่เวลา 0 นาที พบว่าที่ 0.2 ก./กก. มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และที่ 30 นาทีหลังให้กลูโคส พบว่าที่ 0.2 ก./กก. มีระดับน้ำตาลสูงกว่ากลุ่มอื่นที่  $176.57 \pm 3.37$  มก./ดล. ส่วนกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 0.5 และ 1.0 ก./กก. สามารถลดระดับน้ำตาลอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (กลุ่มควบคุม:  $175.06 \pm 2.57$  มก./ดล., สารสกัด 0.5 ก./กก.:  $143.08 \pm 0.75$  มก./ดล. และ สารสกัด 1.0 ก./กก.:  $131.32 \pm 2.13$  มก./ดล.) และหลังจากให้กลูโคสไป 90 นาที พบว่าทั้ง 3 ความเข้มข้นของสารสกัดมีผลลดระดับน้ำตาลอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) โดยสามารถลดได้ 15.67%, 14.37% และ 34.42% ตามลำดับ (ตารางที่ 4-2) ส่วนที่เวลา 150 และ 210 นาที หลังให้กลูโคส พบว่าที่ 1.0 ก./กก. ลดระดับน้ำตาลได้อย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) ซึ่งลดได้ 18.40% และ 25.48% ตามลำดับ (ตารางที่ 4-2) โดยระดับน้ำตาลมีค่า  $81.65 \pm 1.98$  และ  $64.94 \pm 4.56$  มก./ดล. ตามลำดับ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่  $100.06 \pm 6$  และ  $87.14 \pm 3.39$  มก./ดล. ตามลำดับ

ส่วนผลของกลุ่มที่ได้รับ glibenclamide 5 มก./กก. มีผลลดระดับน้ำตาลอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) หลังจากได้รับสารสกัดไป 30 นาที จนถึงเวลาที่ 210 นาที และมีแนวโน้มจะลดลง เมื่อเวลาเพิ่มขึ้น

ดังนั้น สารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมวที่ 1.0 ก./กก. มีผลลดระดับน้ำตาลในเลือดในหนูปกติได้มากที่สุดเมื่อเทียบกับความเข้มข้นอื่น โดยเฉพาะที่เวลา 150 และ 210 นาที



รูปที่ 4-1

ผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว (*Orthosiphon stamineus* Benth.) ต่อระดับน้ำตาลในเลือด (Plasma glucose concentration) ในหนูปกติ โดยการทำ oral glucose tolerance test (OGTT) (n=6)

\*  $p < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม control ในเวลาเดียวกัน

ตารางที่ 4-1 ผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว (*Orthosiphon stamineus* Benth.) ต่อระดับน้ำตาลในเลือดในหนูปกติ โดยการทำให้ oral glucose tolerance test

เวลาก่อน(-) และหลังให้ กลูโคส(นาที)	ระดับน้ำตาลในเลือด(มก./ดล.)				
	Control	Glibenclamide 5 มก./กก.	<i>Orthosiphon stamineus</i> B.(ก./กก.)		
			0.20	0.50	1.00
-30	85.23,81.69,	73.20,73.14,	84.29,80.12,	86.53,88.14,	73.90,74.22,
	63.54,82.56,	71.19,82.34,	61.56,74.23,	72.34,68.54,	76.26,75.30,
	76.50,78.50	78.95,77.03	78.42,69.76	89.42,77.11	83.76,80.21
	MEAN±SEM	78.00±3.15	75.98±1.72	74.73±3.33	80.35±3.63
0	88.55,75.58,	60.33,58.25,	74.95,93.00,	83.24,77.30,	71.03,72.10,
	80.23,87.39,	53.17,52.13,	55.76,70.23,	66.36,52.13,	61.74,74.22,
	71.32,92.06	56.80,58.36	69.76,65.88	85.84,69.11	76.51,78.06
	MEAN±SEM	82.52±3.32	56.51±1.31*	71.60±5.03*	72.33±5.10
30	163.30,178.07,	128.34,132.51,	184.23,182.30,	141.32,141.32,	132.74,130.11,
	173.23,176.01,	146.52,122.44,	161.03,175.36,	142.36,145.66,	125.36,127.08,
	179.54,180.23	134.25,151.18	178.36,178.15	144.95,142.86	132.51,140.11
	MEAN±SEM	175.06±2.57	135.87±4.47*	176.57±3.37	143.08±0.75*
90	129.40,134.59,	98.28,107.62,	129.92,104.51,	120.42,117.47,	96.03,94.93,
	138.22,130.96,	104.66,87.54,	124.23,121.23,	119.66,125.36,	86.63,96.21,
	145.47,145.03	104.82,97.14	106.06,108.66	106.95,115.44	79.37,86.98
	MEAN±SEM	137.28±2.81	100.01±3.00*	115.77±4.37*	117.55±2.52*
150	84.80,86.36,	83.94,88.43,	95.17,66.65,	108.50,96.21,	89.46,77.02,
	119.03,105.32,	85.84,66.65,	72.36,89.47,	105.55,81.69,	81.69,78.06,
	113.84,91.00	81.07,92.06	96.21,103.47	108.84,106.06	78.47,85.20
	MEAN±SEM	100.06±6.00	83.00±3.61*	87.22±5.94	101.14±4.32
210	85.60,82.16,	69.76,56.28,	89.99,75.22,	85.01,73.91,	59.90,71.32,
	92.23,80.66,	71.31,61.24,	84.28,78.06,	86.36,70.22,	64.65,49.02,
	101.55,80.64	56.35,59.44	71.32,87.91	100.88,90.51	62.51,82.23
	MEAN±SEM	87.14±3.39	62.40±2.69*	81.13±3.03	84.48±4.56

\* p< 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม control ในเวลาเดียวกัน



ตารางที่ 4-2 ตารางแสดงเปอร์เซ็นต์ระดับน้ำตาลในเลือดที่ลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมในเวลาเดียวกันของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว (*Orthosiphon stamineus* Benth.) ในหนูปกติ

เวลาก่อน(- )และหลังให้ กลูโคส(นาที)	เปอร์เซ็นต์ระดับน้ำตาลในเลือดที่ลดลงเมื่อเทียบกับ กลุ่มควบคุมในเวลาเดียวกัน (%)			
	Glibenclamide	<i>Orthosiphon stamineus</i> B.(ก./กก.)		
	5 มก./กก.	0.20	0.50	1.00
-30	2.59	4.19	-3.01	0.92
0	31.52	13.23	12.35	12.41
30	22.39	-0.86	18.27	24.99
90	27.15	15.67	14.37	34.42
150	17.05	12.83	-1.08	18.40
210	28.39	6.90	3.05	25.48

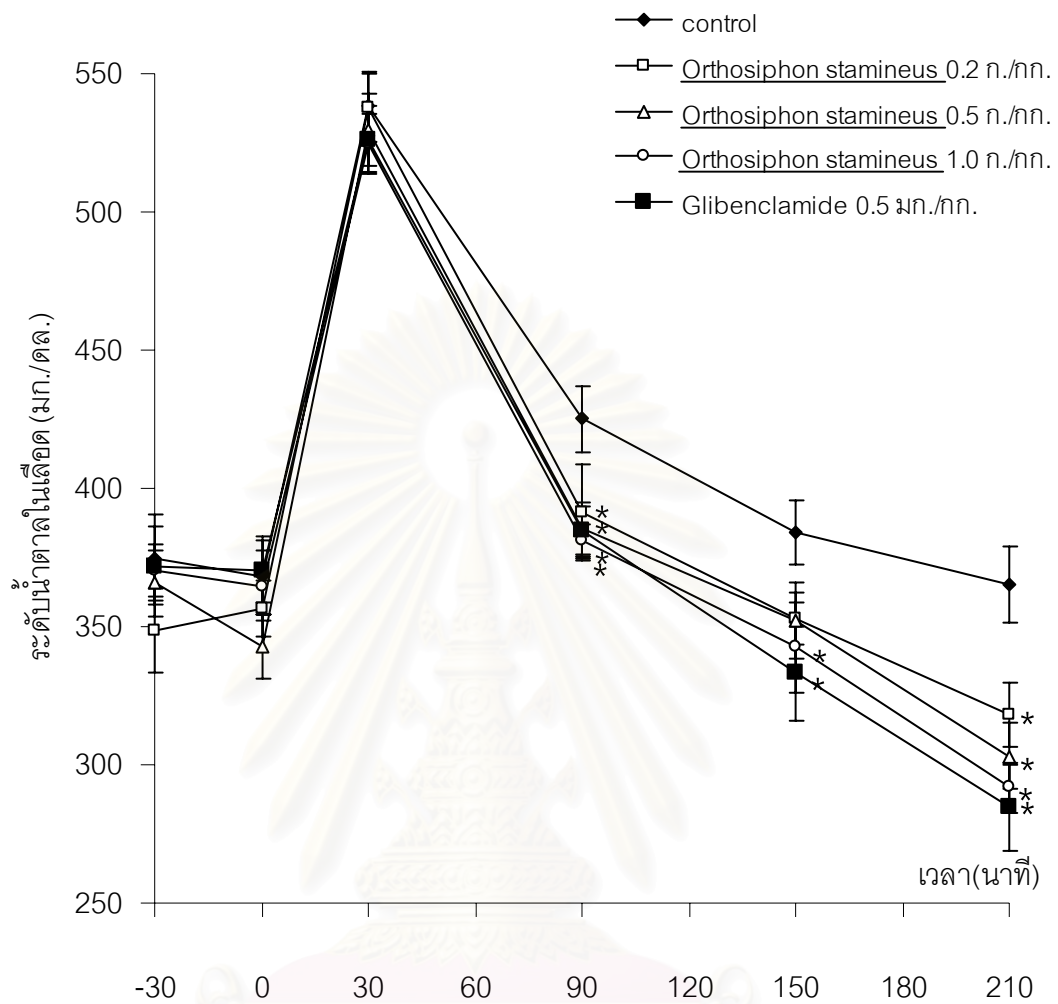
สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1.2 ผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว ต่อดัชนีน้ำตาลในเลือดในหนูเบาหวาน โดยการทำให้ oral glucose tolerance test (OGTT)

ผลจากการทดลองให้สารสกัดโดยการทำให้ OGTT ในหนูเบาหวานแสดงในรูปที่ 4-2 และตารางที่ 4-3 หลังจากให้สารสกัดทั้ง 3 ความเข้มข้นที่ 0.2, 0.5 และ 1.0 ก./กก. เป็นเวลา 30 นาทีแล้ว พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) โดยระดับน้ำตาลมีค่า  $356.42 \pm 10.28$ ,  $342.97 \pm 11.65$  และ  $364.52 \pm 12.71$  มก./ดล. ตามลำดับเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่  $367.83 \pm 13.12$  มก./ดล. และหลังจากให้กลูโคสไป 30 นาที พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P > 0.05$ ) โดยที่ระดับน้ำตาลมีค่า  $537.66 \pm 12.41$ ,  $529.87 \pm 13.02$  และ  $524.82 \pm 10.58$  มก./ดล. ตามลำดับเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่  $534.14 \pm 12.43$  มก./ดล. แต่ที่เวลา 90 นาทีหลังให้กลูโคส ระดับน้ำตาลลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ทั้ง 3 ความเข้มข้น ซึ่งสามารถลดได้ 8.02%, 9.38% และ 10.43% ตามลำดับ (ตารางที่ 4-4) ส่วนที่เวลา 150 นาที พบว่าที่ 1.0 ก./กก. ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (กลุ่มควบคุม:  $384.25 \pm 11.64$  มก./ดล., สารสกัด:  $342.45 \pm 16.08$  มก./ดล.) โดยที่ 0.2 และ 0.5 ก./กก. ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) แต่ระดับน้ำตาลก็มีแนวโน้มลดลง สุดท้ายที่เวลา 210 นาที พบว่าทุกความเข้มข้นมีผลลดระดับน้ำตาลอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) โดยที่ระดับน้ำตาลมีค่า  $318.29 \pm 11.43$ ,  $303.12 \pm 11.88$  และ  $291.75 \pm 9.25$  มก./ดล. ตามลำดับเทียบกับกลุ่มควบคุมที่  $384.15 \pm 14.06$  มก./ดล.

ส่วนผลการให้ glibenclamide 5 มก./กก. พบว่าทำให้ระดับน้ำตาลลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) ที่เวลา 90 ถึง 210 นาทีหลังให้กลูโคส โดยที่ระดับน้ำตาลมีค่า  $343.87 \pm 11.38$ ,  $332.96 \pm 16.97$  และ  $284.44 \pm 15.28$  มก./ดล. เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่เวลาเดียวกัน โดยระดับน้ำตาลมีค่า  $425.30 \pm 11.92$ ,  $384.25 \pm 11.64$  และ  $384.15 \pm 14.06$  มก./ดล. ตามลำดับ

ดังนั้นสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมวทั้ง 3 ความเข้มข้น มีผลลดน้ำตาลในเลือดในหนูเบาหวาน โดยเฉพาะที่ 0.5 และ 1.0 ก./กก. นั้นมีผลลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ดี เมื่อเทียบกับผลของ glibenclamide เพราะฉะนั้นในการทดลองเพื่อศึกษาผลการให้สารสกัดวันละครั้งทุกวันเป็นเวลา 14 วัน จึงเลือกให้สารสกัดที่ความเข้มข้น 0.5 ก./กก. เนื่องจากทั้ง 0.5 และ 1.0 ก./กก. ให้ผลที่ใกล้เคียงกัน จึงได้เลือกความเข้มข้นที่ต่ำกว่ามาใช้ในการศึกษาต่อไป



รูปที่ 4-2 ผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว (*Orthosiphon stamineus* Benth.) ต่อระดับน้ำตาลในเลือด (Plasma glucose concentration) ในหนูเบาหวาน โดยการทำการ oral glucose tolerance test (OGTT) (n=6-8)

\*  $p < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม control ในเวลาเดียวกัน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4-3 ผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว (*Orthosiphon stamineus* Benth.) ต่อระดับน้ำตาลในเลือดในหนูเบาหวาน โดยการทำ oral glucose tolerance test

เวลา ก่อน(-) และ หลัง ให้กลูโคส (นาที)	ระดับน้ำตาลในเลือด (มก./ดล.)				
	Control	Glibenclamide 5 มก./กก.	<i>Orthosiphon stamineus</i> B.(ก./กก.)		
			0.20	0.50	1.00
-30	363.76,312.55, 421.20,364.24, 406.88,380.00	361.15,374.84, 305.23,357.09, 402.00,379.85, 423.14	332.95,333.62, 381.79,300.52, 401.23,340.69	347.75,355.75, 420.11,337.87, 374.12,358.45	381.25,325.14, 353.98,406.08, 355.26,367.33, 405.23,367.55
MEAN±SEM	<b>374.77±15.62</b>	<b>371.90±14.13</b>	<b>348.47±14.96</b>	<b>365.68±11.94</b>	<b>370.23±9.61</b>
0	391.15,308.56 370.83,394.83 384.05,357.54	385.95,361.04, 308.75,394.62, 397.45,358.00, 387.25	325.14,372.49, 325.22,365.87, 365.19,384.61	355.75,315.68, 385.74,308.56, 337.87,354.21	396.52,398.01, 361.47,395.84, 325.66,302.37, 384.11,352.21
MEAN±SEM	<b>367.83±13.12</b>	<b>370.44±11.84</b>	<b>356.42±10.28</b>	<b>342.97±11.65</b>	<b>364.52±12.71</b>
30	501.00,524.40, 558.23,571.23, 565.00,509.00	538.21,587.26, 523.78,512.65, 536.11,487.99, 498.56	500.63,539.72, 562.30,578.32, 506.25,538.74	553.65,534.13, 574.66,523.41, 485.41,507.95	501.52,516.00, 526.35,582.68, 497.55,523.66, 553.21,497.56
MEAN±SEM	<b>534.14±12.43</b>	<b>526.37±12.33</b>	<b>537.66±12.41</b>	<b>529.87±13.02</b>	<b>524.82±10.58</b>
90	421.40,453.79, 403.32,405.90, 468.57,398.80	381.64,344.25, 415.78,391.17, 405.32,386.41, 335.35	325.58,398.04, 372.23,455.56, 394.56,401.25	367.58,387.23, 425.21,389.65, 357.45,385.25	387.54,374.22, 416.56,360.85, 387.25,392.58, 374.25,358.25
MEAN±SEM	<b>425.30±11.92</b>	<b>343.87±11.38*</b>	<b>391.20±17.29*</b>	<b>385.40±9.50*</b>	<b>380.94±6.31*</b>
150	366.11,351.05, 417.44,402.95, 408.25,359.68	342.21,275.32, 408.65,312.75, 365.25,294.16, 322.58	356.84,308.52, 363.31,361.16, 352.86,375.69	318.08,375.67, 401.25,367.15, 325.41,324.65	374.25,328.59, 408.52,302.51, 296.35,354.21, 387.64,287.52
MEAN±SEM	<b>384.25±11.64</b>	<b>332.99±16.97*</b>	<b>353.06±9.45</b>	<b>352.04±13.93</b>	<b>342.45±16.08*</b>
210	356.22,403.79, 354.25,322.32, 408.52,345.25	257.94,249.87, 355.78,245.68, 312.85,268.47, 300.46	272.93,317.14, 311.96,344.24, 311.96,351.51	285.22,271.45, 324.25,350.11, 287.48,300.25	267.28,263.52, 345.28,301.09, 286.07,301.84, 294.57,274.32
MEAN±SEM	<b>384.15±14.06</b>	<b>284.44±15.28*</b>	<b>318.29±11.43*</b>	<b>303.13±11.88*</b>	<b>291.75±9.25*</b>

\* p < 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม control ในเวลาเดียวกัน

ตารางที่ 4- 4 ตารางแสดงเปอร์เซ็นต์ระดับน้ำตาลในเลือดที่ลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมในเวลาเดียวกันของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว(*Orthosiphon stamineus* Benth.) ในหนูเบาหวาน

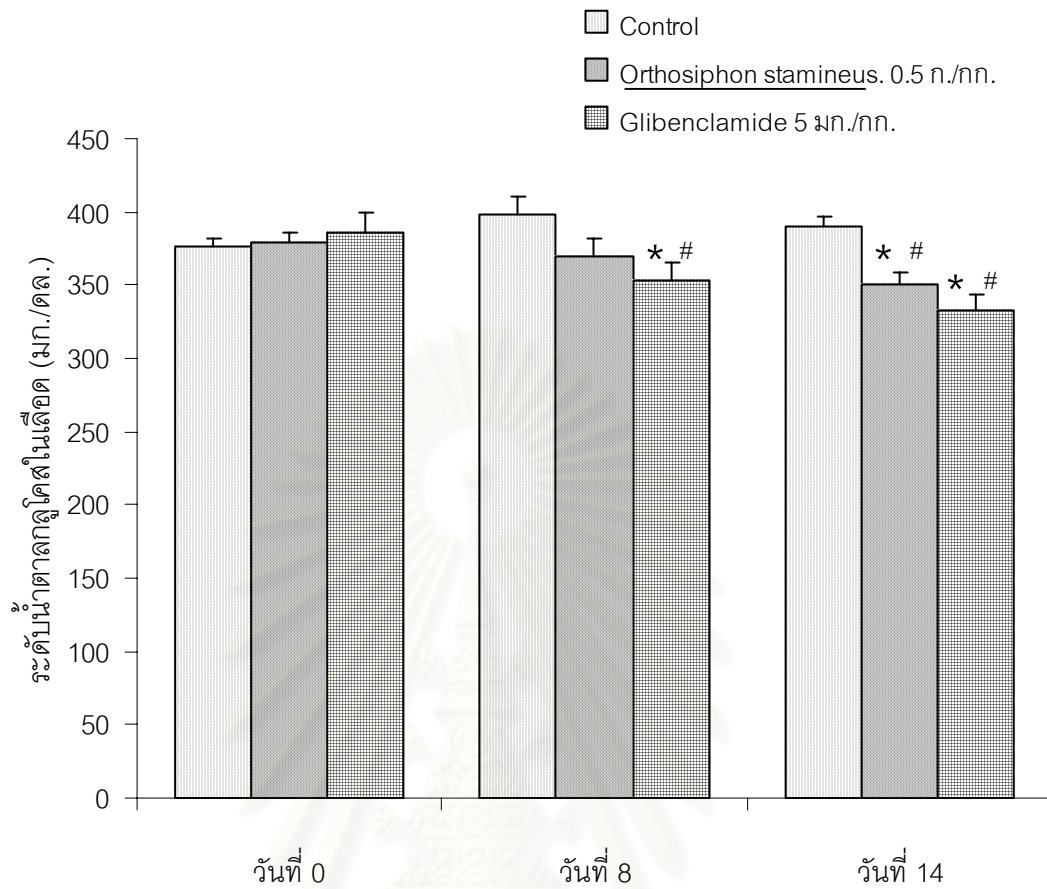
เวลาก่อน(- )และหลังให้ กลูโคส(นาที)	เปอร์เซ็นต์ระดับน้ำตาลในเลือดที่ลดลงเมื่อเทียบกับ กลุ่มควบคุมในเวลาเดียวกัน (%)			
	Glibenclamide	<i>Orthosiphon stamineus</i> B.(ก./กก.)		
	5 มก./กก.	0.20	0.50	1.00
-30	0.77	7.02	2.43	1.21
0	-0.71	3.10	6.76	0.90
30	1.45	-0.66	0.80	1.74
90	19.15	8.02	9.38	10.43
150	13.34	8.12	8.38	10.88
210	25.96	17.14	21.09	24.05

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### **ผลการทดลองที่ 3 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมวในการลดระดับน้ำตาลในเลือดในหนูเบาหวานเมื่อให้วันละ 1 ครั้งติดต่อกัน 14 วัน**

ผลจากการทดลองให้สารสกัดที่ 0.5 ก./กก. ในหนูเบาหวานวันละครั้งทุกวันติดต่อกันเป็นเวลา 14 วัน แสดงในรูปที่ 4-3 และตารางที่ 4-5 โดยที่ระดับน้ำตาลของหนูเบาหวานก่อนได้รับสารสกัด(วันที่ 0) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ( $P>0.05$ ) ในหนูทุกกลุ่ม หลังจากได้รับสารสกัดติดต่อกัน 8 วัน พบว่าระดับน้ำตาลมีแนวโน้มลดลง แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ ) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมในเวลาเดียวกัน(วันที่ 8) และเทียบกับค่าเริ่มต้น (วันที่0) ในกลุ่มเดียวกัน (กลุ่มควบคุมในวันที่ 8:  $398\pm 12.57$  มก./ดล., ค่าเริ่มต้นในวันที่ 0:  $378.5\pm 7.05$  มก./ดล., สารสกัดในวันที่ 8:  $369.38\pm 12.55$  มก./ดล.) และในวันที่ 14 พบว่าระดับน้ำตาลลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ( $P<0.05$ ) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมในเวลาเดียวกัน (วันที่ 14) และเทียบกับค่าเริ่มต้น(วันที่0) ในกลุ่มเดียวกัน (กลุ่มควบคุมในวันที่ 14:  $390.29\pm 6.98$  มก./ดล., ค่าเริ่มต้นในวันที่ 0:  $378.5\pm 7.05$  มก./ดล., สารสกัดในวันที่ 14:  $350.62\pm 23.23$  มก./ดล.)

ในกลุ่มที่ได้รับ glibenclamide 5 มก./กก.ผลในวันที่ 8 พบว่าระดับน้ำตาลลดลงอย่างมีนัยสำคัญ( $P<0.05$ ) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมในเวลาเดียวกัน(วันที่ 8) และเทียบกับค่าเริ่มต้น (วันที่0)ในกลุ่มเดียวกัน (กลุ่มควบคุมในวันที่ 8:  $398\pm 12.57$  มก./ดล., ค่าเริ่มต้นในวันที่ 0:  $386.29\pm 13.51$  มก./ดล., glibenclamideในวันที่ 8:  $353.57\pm 11.89$  มก./ดล.) และผลในวันที่ 14 พบว่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ( $P<0.05$ ) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมในเวลาเดียวกัน (วันที่ 14) และเทียบกับค่าเริ่มต้น(วันที่0)ในกลุ่มเดียวกัน (กลุ่มควบคุมในวันที่ 14:  $390.29\pm 6.98$  มก./ดล., ค่าเริ่มต้นในวันที่ 0:  $386.29\pm 13.51$  มก./ดล., glibenclamideในวันที่ 14:  $332.57\pm 28.49$  มก./ดล.)



รูปที่ 4-3 ผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว (*Orthosiphon stamineus* Benth.) ต่อระดับน้ำตาลในเลือดในหนูเบาหวานภายหลังจากได้รับสารสกัดวันละครั้งทุกวันเป็นเวลา 14 วัน (n=7-8)

\*  $p < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม control ในเวลาเดียวกัน

#  $P < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบกับค่าเริ่มต้นในกลุ่มเดียวกัน

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4-5 ผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว(*Orthosiphon stamineus* Benth.) ต่อระดับน้ำตาลในเลือดในหนูเบาหวานภายหลังได้รับสารสกัดวันละครั้งทุกวันเป็นเวลา 14 วัน

วัน	ระดับน้ำตาลในเลือด(มก./ดล.)		
	Control	Glibenclamide 5 มก./กก.	<i>Orthosiphon stamineus</i> B. 0.5 ก./กก.
0	401,378,380,380, 365,374,355	361,348,374,413, 357,445,406	381,373,395,398, 353,406,355,367
MEAN±SEM	<b>376.14±5.40</b>	<b>386.29±13.51</b>	<b>378.50±7.05</b>
8	441,340,377,417, 401,421,389	337,322,327,378, 335,406,370	305,361,350,360, 407,401,361,410
MEAN±SEM	<b>398.00±12.57</b>	<b>353.57±11.89*<sup>#</sup></b>	<b>369.38±12.55</b>
14	405,407,374,404, 387,358,397	322,280,351,344, 319,367,345	387,336,365,312, 347,371,341,346
MEAN±SEM	<b>390.29±6.98</b>	<b>332.57±28.49*<sup>#</sup></b>	<b>350.62±23.23*<sup>#</sup></b>

\* p < 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม control ในเวลาเดียวกัน

# P < 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับค่าเริ่มต้นในกลุ่มเดียวกัน

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



#### **ผลการทดลองที่ 4 การศึกษาผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว ต่อระดับไขมันในเลือด การทำงานของตับและไต ในหนูเบาหวานภายหลังได้รับติดต่อกัน 14 วัน**

ผลต่อค่าสารเคมีในเลือดเมื่อให้สารสกัดที่ 0.5 ก./กก. วันละครั้งทุกวันเป็นเวลา 14 วัน แสดงใน(ตารางที่ 4-6)

ระดับ blood urea nitrogen(BUN): พบว่าค่า BUN ในหนูเบาหวานกลุ่มควบคุม (46.4±4.2 มก./ดล.), กลุ่มที่ได้รับสารสกัด(51.44±4.8 มก./ดล.) และกลุ่มที่ได้รับ glibenclamide (53.43±1.4 มก./ดล.) มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ(P<0.05) เมื่อเทียบกับค่าเริ่มต้น(วันที่ 0)ในกลุ่มเดียวกัน โดยค่าเริ่มต้นของหนูแต่ละกลุ่ม คือ 21.95±3.6, 20.18±0.9 และ 23.46±2.7 มก./ดล.ตามลำดับ แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ(P>0.05) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมในเวลาเดียวกัน(วันที่ 15)(รูป ที่ 4-4)

ระดับ creatinine: พบว่าค่า creatinine ในหนูเบาหวานกลุ่มควบคุม(0.7±0.02 มก./ดล.), กลุ่มที่ได้รับสารสกัด(0.7±0.04 มก./ดล.) และกลุ่มที่ได้รับ glibenclamide(0.7±0.03 มก./ดล.) มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ(P<0.05) เมื่อเทียบกับค่าเริ่มต้น(วันที่ 0)ในกลุ่มเดียวกัน โดยค่า creatinine เริ่มต้นของหนูแต่ละกลุ่ม คือ 0.43±0.03, 0.33±0.04 และ 0.34±0.06 มก./ดล.ตามลำดับ แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ(P>0.05) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมในเวลาเดียวกัน(วันที่ 15)(รูปที่ 4-5)

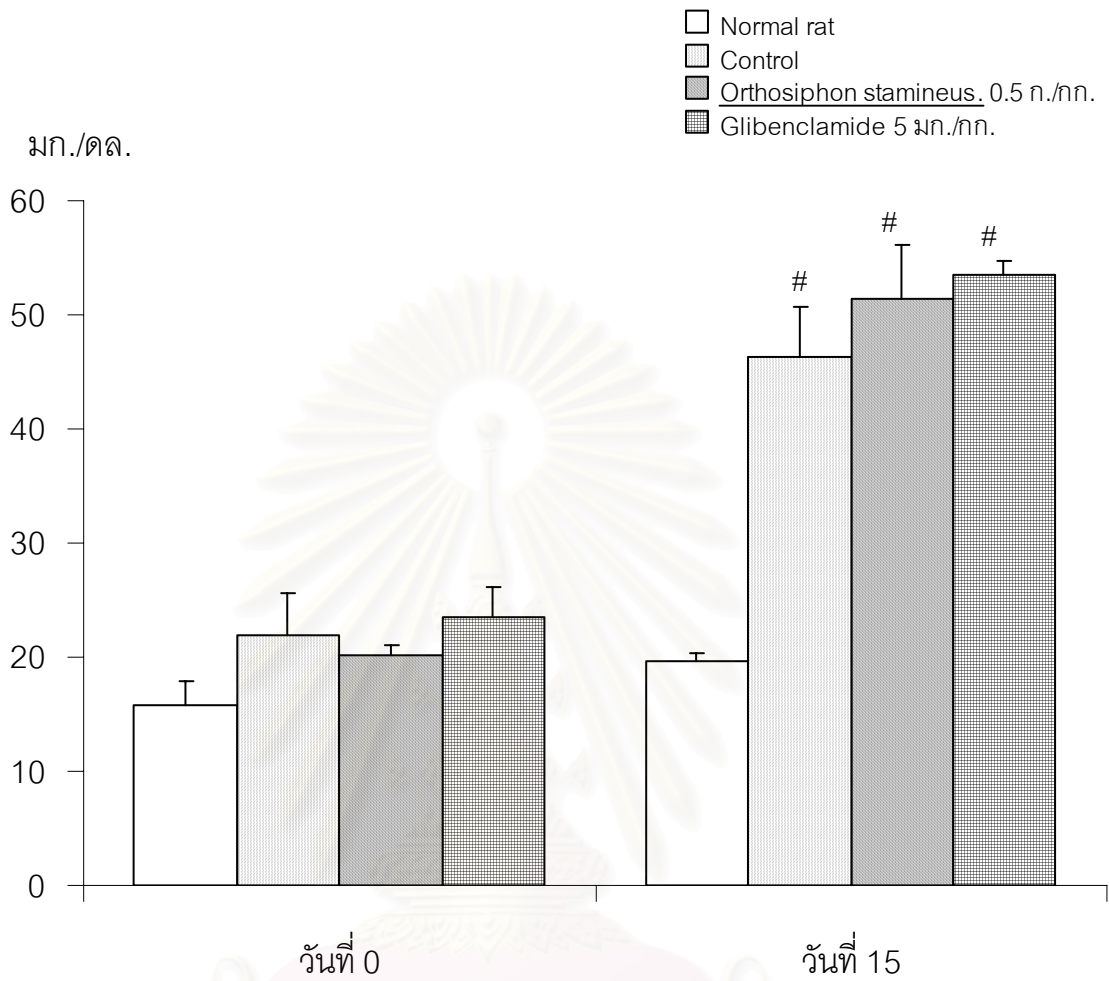
ระดับ alanine aminotransferase(ALT): พบว่าค่า ALT ในหนูเบาหวานกลุ่มควบคุม (198.8±24 ยูนิ ต/ลิ ตร), กลุ่มที่ได้รับ สารสกัด (183.1±24 ยูนิ ต/ลิ ตร) และ กลุ่มที่ได้รับ glibenclamide(219.4±19 ยูนิ ต/ลิ ตร) มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ(P<0.05) เมื่อเทียบกับค่าเริ่มต้น(วันที่ 0)ในกลุ่มเดียวกัน โดยค่า ALT เริ่มต้นของหนูแต่ละกลุ่ม คือ 56.33±6.5, 68.5±7.34 และ 57±4.48 ยูนิ ต/ลิ ตร ตามลำดับ แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ(P>0.05) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมในเวลาเดียวกัน(วันที่ 15)(รูปที่ 4-6)

ระดับ aspartate aminotransferase(AST): พบว่าค่า AST ในหนูเบาหวานกลุ่มควบคุม( 255.83±35 ยูนิ ต/ลิ ตร), กลุ่มที่ได้รับ สารสกัด (287.5±38 ยูนิ ต/ลิ ตร) และ กลุ่มที่ได้รับ glibenclamide(499.38±43 ยูนิ ต/ลิ ตร) มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ(P<0.05) เมื่อเทียบกับค่าเริ่มต้น(วันที่ 0)ในกลุ่มเดียวกัน โดยค่า AST เริ่มต้นของหนูแต่ละกลุ่ม คือ 165.7±12, 171.4±17 และ 163.6±10 ยูนิ ต/ลิ ตร ตามลำดับ และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ(P<0.05) ในกลุ่มที่ได้รับ glibenclamide เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมในเวลาเดียวกัน(วันที่ 15) (กลุ่มควบคุม: 255.8±35 ยูนิ ต/ลิ ตร, glibenclamide: 499.3±43 ยูนิ ต/ลิ ตร ) (รูป ที่ 4-7)

ตารางที่ 4-6 ผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว (*Orthosiphon stamineus* Benth.) ต่อระดับไขมันในเลือด การทำงานของตับและไต ในหนูเบาหวานภายหลังได้รับติดต่อกัน 14 วัน

สารเคมีในเลือด	Normal		Control		Glibenclamide		OS 0.5 ก./กก.	
	วันที่ 0	วันที่ 15	วันที่ 0	วันที่ 15	วันที่ 0	วันที่ 15	วันที่ 0	วันที่ 15
blood urea nitrogen (BUN) (มก./ดล.)	21.9,15.5,	20.4,19.5,	39.1,17,	63.1,48.5,	34.1,33.5,	55.5,47.6,	19.2,19.8,	40.6,32.7,
	12.8,13	17.6,20.9	19.5,13.8,	37.6,41.1,	17.2,17.4,	52.7,55.8,	22,20.2,	55.8,53.8,
			22.5,19.8	52.4,35.7	20.7,21.3,	58.5,53.8,	16.3,18,	54.5,51.8,
MEAN±SEM	15.80±2.1	19.60±0.7	21.95±3.6	46.4±4.2 <sup>#</sup>	23.46±2.7	53.4±1.4 <sup>#</sup>	20.18±0.9	51.4±4.8 <sup>#</sup>
Creatinine (มก./ดล.)	0.5,0.3,	0.7,0.6,	0.3,0.4,	0.6,0.6,	0.5,0.2,	0.7,0.6,	0.3,0.4	0.5,0.8
	0.6,0.5	0.7,0.5	0.5,0.5,	0.7,0.7,	0.4,0.5,	0.6,0.8,	0.5,0.3,	0.7,0.7
			0.4,0.5	0.6,0.7	0.1,0.3,	0.6,0.7,	0.3,0.4	0.7,0.7,
MEAN±SEM	0.48±0.06	0.63±0.05	0.43±0.03	0.7±0.02 <sup>#</sup>	0.34±0.06	0.7±0.03 <sup>#</sup>	0.33±0.04	0.7±0.04 <sup>#</sup>
ALT (ยูนิต/ลิตร)	43,33,	68,58,	39,48,	223,277,	50,51,	205,308,	48,51,	107,115,
	36,85	39,67	70,78,	141,113,	49,42,	249,240,	61,60,	198,199,
			61,42	205,198	64,71,	178,163,	80,58,	307,235,
MEAN±SEM	49.25±12	58±6.72	56.33±6.5	198.8±24 <sup>#</sup>	57±4.48	219.4±19 <sup>#</sup>	68.5±7.34	183.1±24 <sup>#</sup>
AST (ยูนิต/ลิตร)	145,140,	115,102,	111,174,	129,166,	187,159,	485,714,	142,154,	295,271,
	156,153	96,218	171,193,	334,307,	122,142,	581,483,	91,246,	255,383,
			187,158	312,287	207,171,	422,409,	217,191,	118,449,
MEAN±SEM	148.5±37	132.8±29	165.7±12	255.8±35 <sup>#</sup>	163.6±10	499.3±43 <sup>#</sup>	171.4±17	287.5±38 <sup>#</sup>
Cholesterol (มก./ดล.)	110,102,	105,98,	112,85,	105,82,	100,98,	95,62,	78,87,	94,74,
	105,94	97,97	81,74,	71,70,	157,88,	118,82,	122,97,	98,119,
			97,107	75,98	105,101,	83,85,	122,71,	89,84,
MEAN±SEM	102.8±3.4	99.25±1.9	92.7±6.17	83.5±6 <sup>#</sup>	108.7±8.5	89±6.52	110.6±12	91.5±4.7 <sup>#</sup>
Triglyceride (มก./ดล.)	67,54,	28,26,	401,301,	196,98,	169,529,	148,51,	306,301,	53,48,
	58,53	29,25	320,145,	82,94,	464,325,	251,78,	354,315,	203,243,
			274,448	97,98	341,365,	110,101,	498,206,	96,74,
MEAN±SEM	58±3.19	27±0.91 <sup>#</sup>	314.8±43	110.8±17 <sup>#</sup>	356.4±44	126.6±25 <sup>#</sup>	367.1±38	118.4±28 <sup>#</sup>
HDL (มก./ดล.)	29.6,46.3,	32.3,42.3,	30.1,39,	40.2,45.7,	46.3,31.5,	46.8,38.8,	32.6,36.3,	50.8,39.8,
	30.1,37.9	32,40.1	29.3,27.1,	34.6,35.6,	30,30.4,	49.8,47.3,	36.1,35.3,	51.2,51.6,
			36.5,31.8	48.2,42.9	36.4,32.4,	43.9,49.6,	29,29.3,	43.8,46.3,
MEAN±SEM	35.98±3.9	36.68±2.7	32.3±1.86	41.2±2.22	34.43±2.2	47±1.8 <sup>#*</sup>	33.76±1.6	47±1.6 <sup>#*</sup>

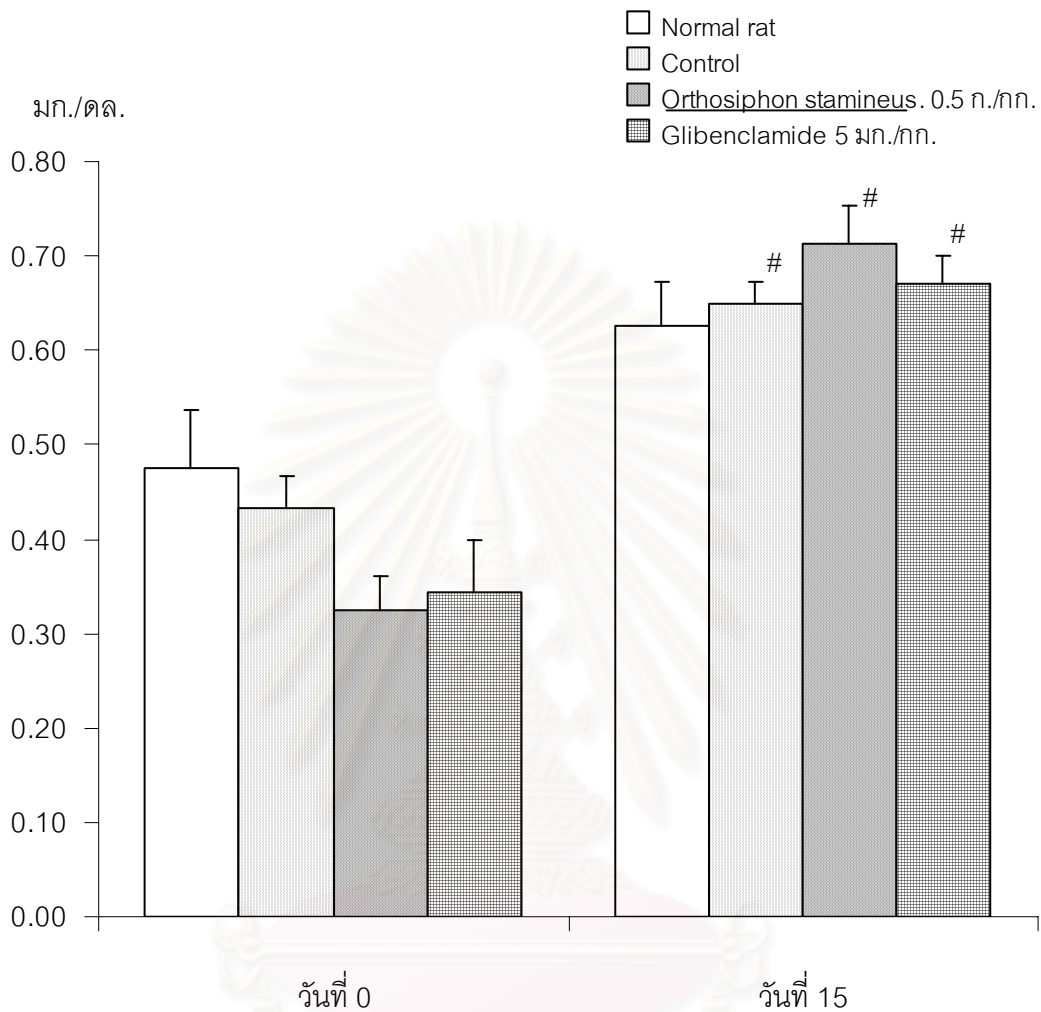
\* p < 0.05 เมื่อเทียบกับกลุ่ม control ในเวลาเดียวกัน , # P < 0.05 เมื่อเทียบกับค่าเริ่มต้นในกลุ่มเดียวกัน



**รูปที่ 4-4** ผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว (*Orthosiphon stamineus* Benth.) ต่อระดับ blood urea nitrogen (BUN) ในหนูเบาหวานภายหลังได้รับสารสกัดวันละครั้งทุกวันเป็นเวลา 14 วัน (n=4-8)

\*  $p < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม control ในเวลาเดียวกัน

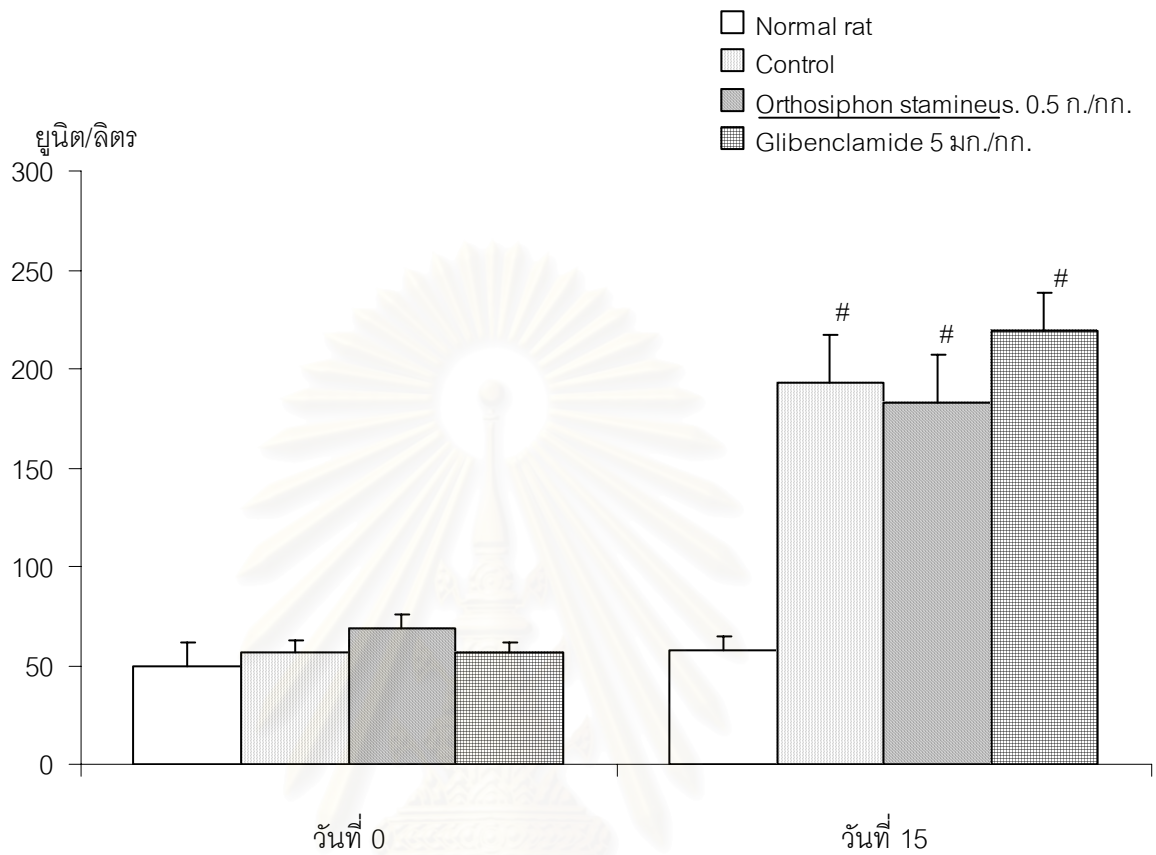
#  $P < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบกับค่าเริ่มต้นในกลุ่มเดียวกัน



รูปที่ 4-5 ผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว (*Orthosiphon stamineus* Benth.) ต่อระดับ creatinine ในหนูเบาหวานภายหลังได้รับสารสกัดวันละครั้งทุกวันเป็นเวลา 14 วัน (n=4-8)

\*  $p < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม control ในเวลาเดียวกัน

#  $P < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบกับค่าเริ่มต้นในกลุ่มเดียวกัน

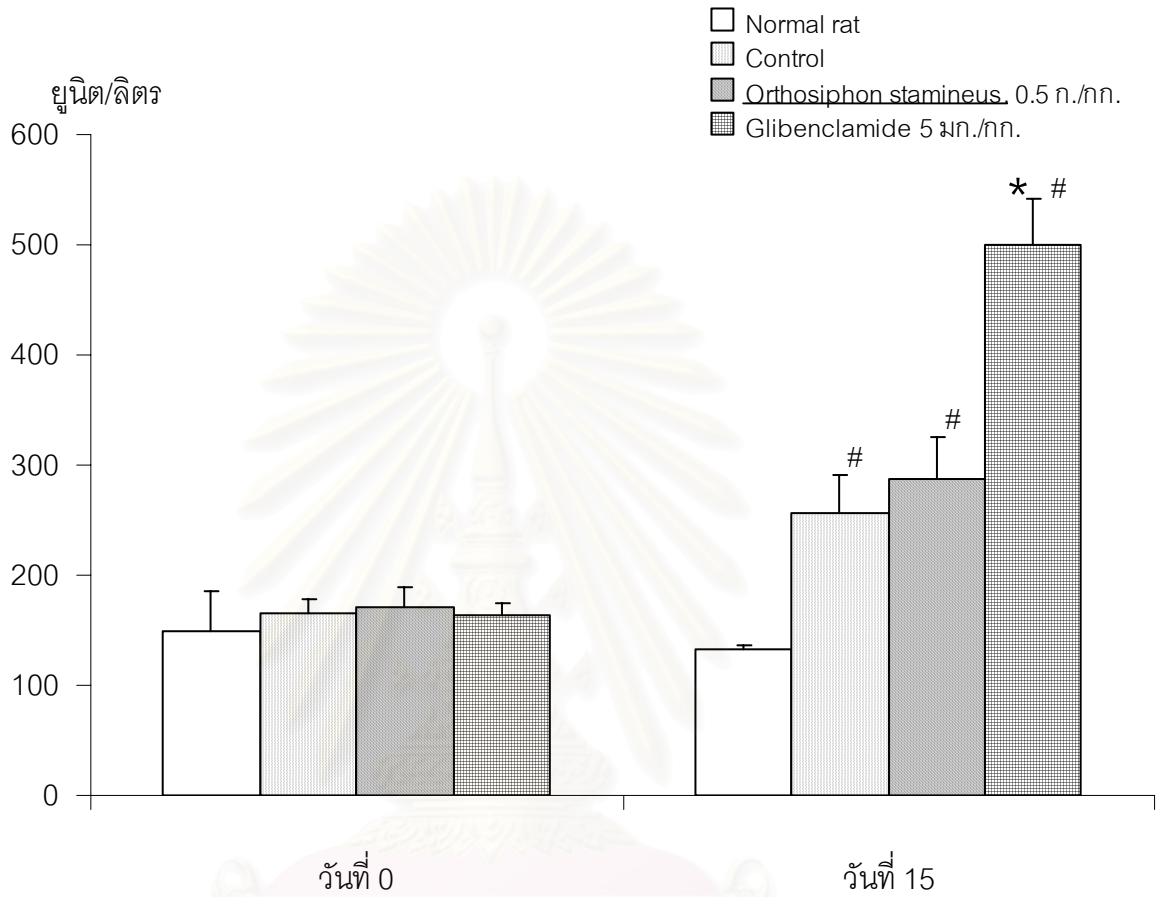


**รูปที่ 4-6** ผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว (*Orthosiphon stamineus* Benth.) ต่อระดับ alanine aminotransferase (ALT) ในหนูเบาหวานภายหลังจากได้รับสารสกัดวันละครั้งทุกวันเป็นเวลา 14 วัน (n=4-8)

\*  $p < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม control ในเวลาเดียวกัน

#  $P < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบกับค่าเริ่มต้นในกลุ่มเดียวกัน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4-7 ผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว (*Orthosiphon stamineus* Benth.) ต่อระดับ aspartate aminotransferase (AST) ในหนูเบาหวานภายหลังจากได้รับสารสกัดวันละครั้งทุกวันเป็นเวลา 14 วัน (n=4-8)

\*  $p < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม control ในเวลาเดียวกัน

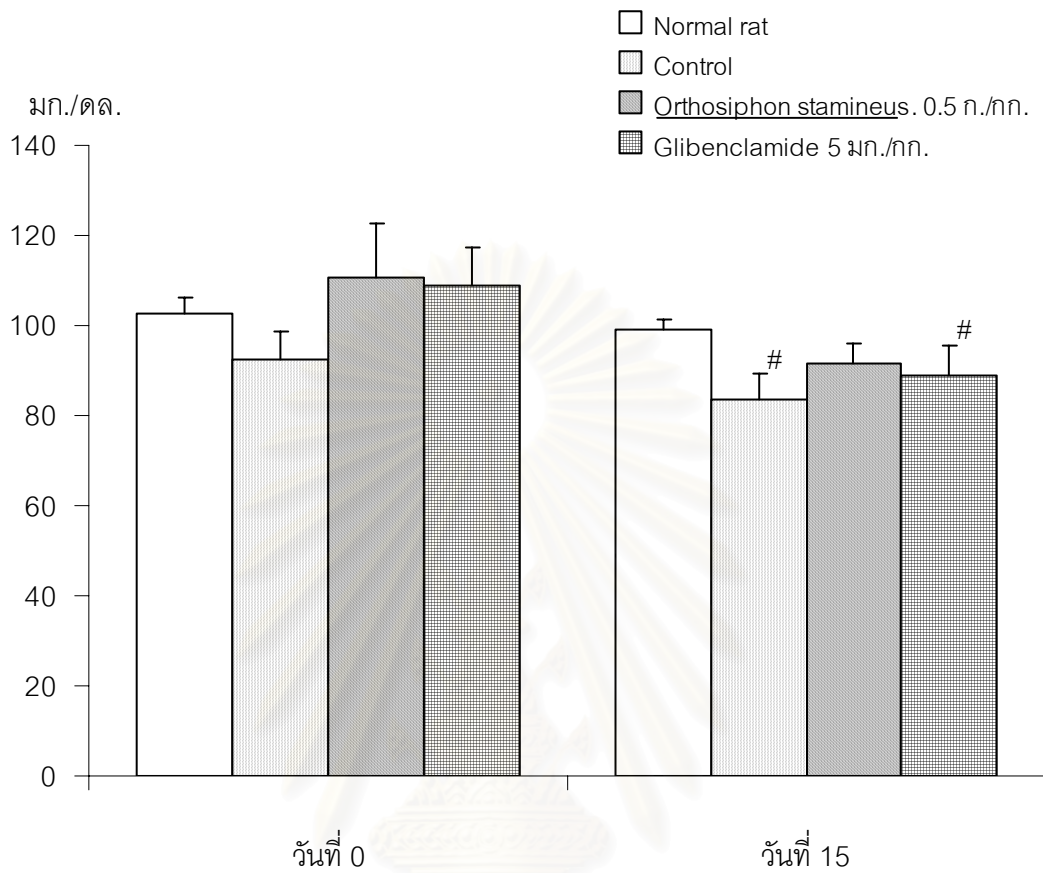
#  $P < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบกับค่าเริ่มต้นในกลุ่มเดียวกัน

ระดับ cholesterol: พบว่าค่า cholesterol ในหนูเบาหวานกลุ่มควบคุม(83.5±6 มก./ดล.), กลุ่มที่ได้รับสารสกัด(91.5±4.7 มก./ดล.) และกลุ่มที่ได้รับ glibenclamide(89±6.52 มก./ดล.) มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ( $P<0.05$ ) เมื่อเทียบกับค่าเริ่มต้น(วันที่ 0)ในกลุ่มเดียวกัน โดยค่า cholesterol เริ่มต้นของหนูแต่ละกลุ่ม คือ 92.7±6.17, 110.6±12 และ 108.7±8.5 มก./ดล.ตามลำดับ แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ( $P>0.05$ ) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมในเวลาเดียวกัน(วันที่ 15)(รูปที่ 4-8)

ระดับ triglycerides: พบว่าค่า triglycerides ในหนูเบาหวานกลุ่มควบคุม(110.8±17 มก./ดล.), กลุ่มที่ได้รับสารสกัด(118.4±28 มก./ดล.) และกลุ่มที่ได้รับ glibenclamide(126.6±25 มก./ดล.) มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ( $P<0.05$ ) เมื่อเทียบกับค่าเริ่มต้น(วันที่ 0)ในกลุ่มเดียวกัน โดยค่า triglycerides เริ่มต้น ของหนูแต่ละกลุ่ม คือ 314.8±43, 367.1±38 และ 356.4±44 มก./ดล.ตามลำดับ แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ( $P>0.05$ ) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมในเวลาเดียวกัน(วันที่ 15)(รูปที่ 4-9)

ระดับ high-density lipoprotein(HDL): พบว่าค่า HDL ในหนูเบาหวานกลุ่มควบคุม(41.2±2.22 มก./ดล.), กลุ่มที่ได้รับสารสกัด (47±1.6 มก./ดล.) และกลุ่มที่ได้รับ glibenclamide(47±1.8 มก./ดล.) มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ( $P<0.05$ ) เมื่อเทียบกับค่าเริ่มต้น(วันที่ 0)ในกลุ่มเดียวกัน โดยค่า HDL เริ่มต้นของหนูแต่ละกลุ่ม คือ 32.3±1.86, 33.76±1.6 และ 34.43±2.2 มก./ดล.ตามลำดับ และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ( $P<0.05$ ) ในกลุ่มที่ได้รับสารสกัด และ glibenclamide เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมในเวลาเดียวกัน(วันที่15)(กลุ่มควบคุม: 41.2±2.22 มก./ดล., glibenclamide: 47±1.8 มก./ดล.)(รูปที่ 4-10)

จะเห็นได้ว่าค่าของสารเคมีในเลือด ส่วนใหญ่เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่เวลาเดียวกัน(วันที่ 15) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ( $P>0.05$ ) ยกเว้นค่า AST และ HDL ที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ( $P<0.05$ ) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมในเวลาเดียวกัน ส่วนผลเปรียบเทียบกับค่าเริ่มต้น(วันที่ 0)ในกลุ่มเดียวกันนั้น ค่าของสารเคมีในเลือดทุกค่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ( $P<0.05$ ) ระหว่างวันที่ 0 และวันที่ 15



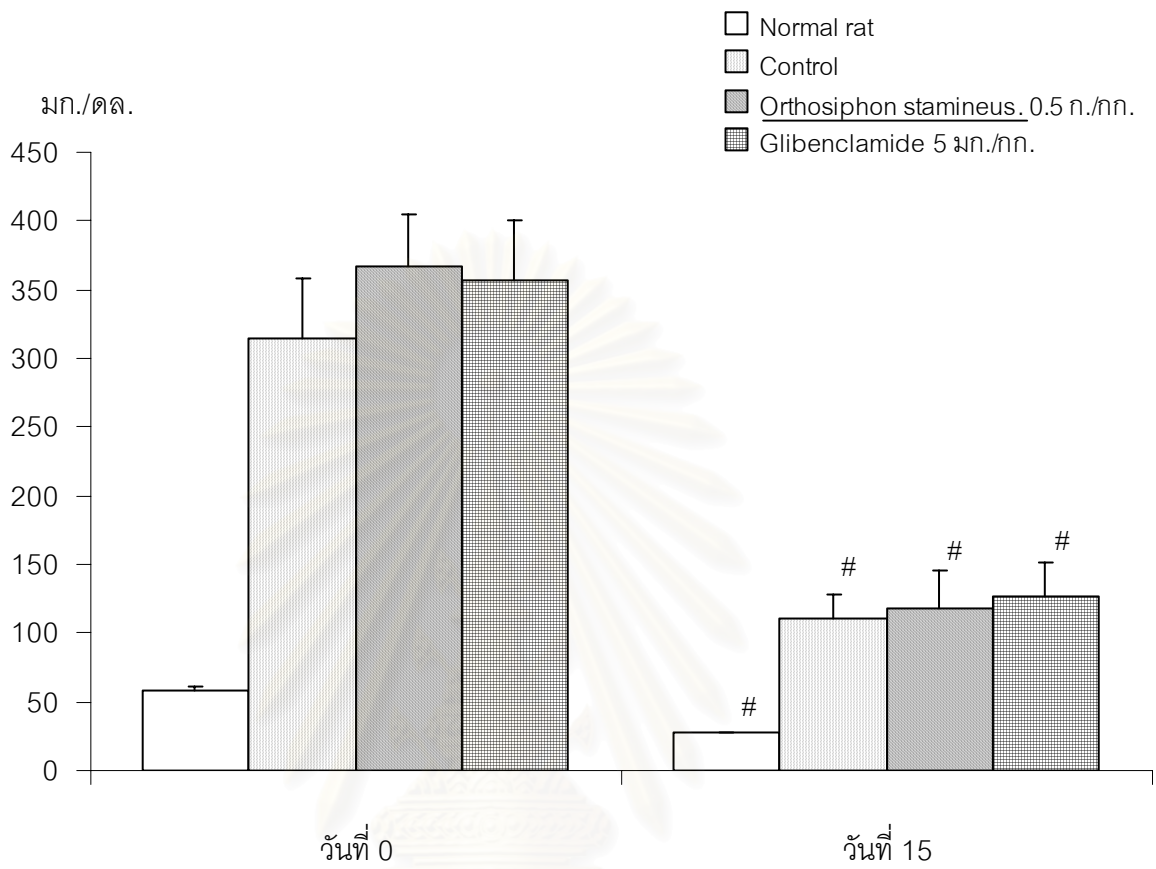
รูปที่ 4-8 ผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว (*Orthosiphon stamineus* Benth.) ต่อระดับ cholesterol ในหนูเบาหวานภายหลังจากได้รับสารสกัดวันละครั้งทุกวันเป็นเวลา 14 วัน (n=4-8)

\*  $p < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม control ในเวลาเดียวกัน

#  $P < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบกับค่าเริ่มต้นในกลุ่มเดียวกัน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



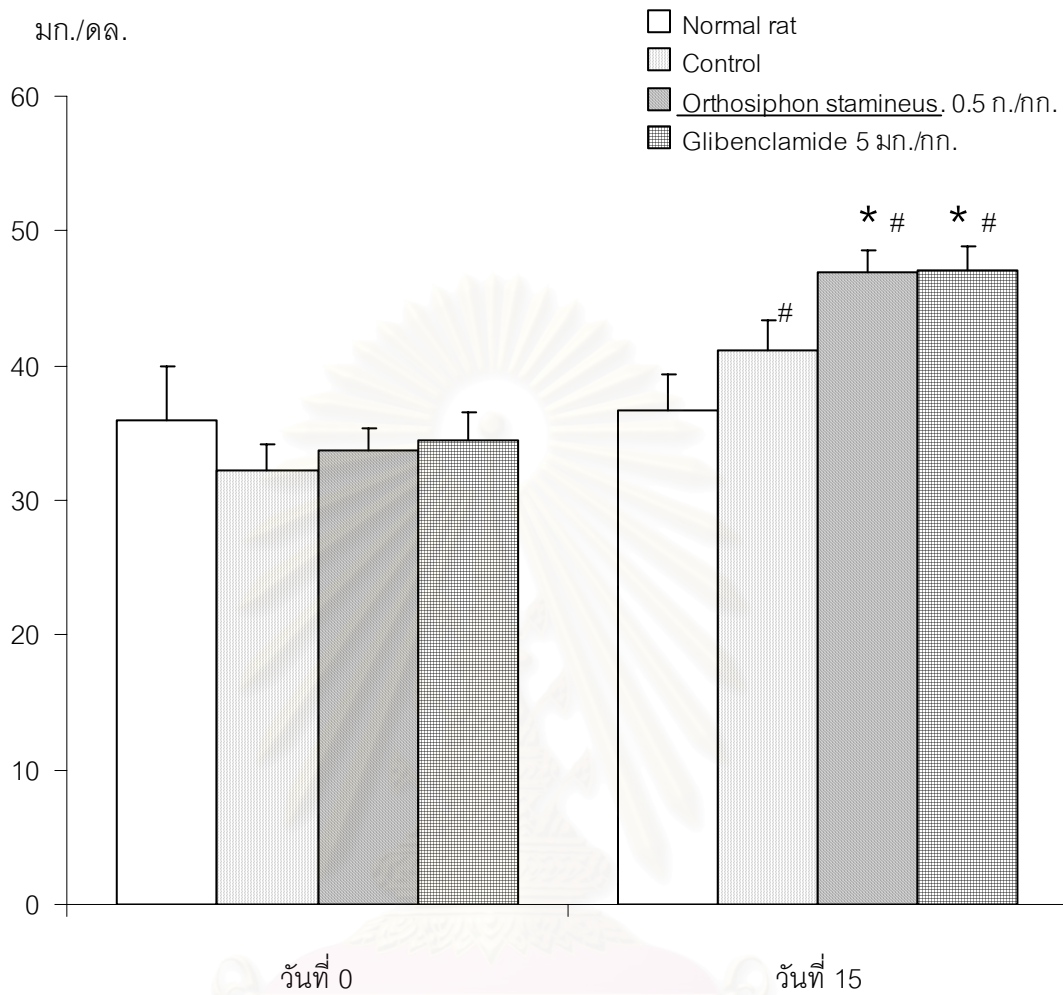


รูปที่ 4-9

ผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว (*Orthosiphon stamineus* Benth.) ต่อระดับ triglyceride ในหนูเบาหวานภายหลังจากได้รับสารสกัดวันละครั้งทุกวันเป็นเวลา 14 วัน (n=4-8)

\*  $p < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม control ในเวลาเดียวกัน

#  $P < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบกับค่าเริ่มต้นในกลุ่มเดียวกัน



รูปที่ 4-10 ผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว (*Orthosiphon stamineus* Benth.) ต่อระดับ high-density lipoprotein (HDL) ในหนูเบาหวานภายหลังจากได้รับสารสกัดวันละครั้งทุกวันเป็นเวลา 14 วัน (n=4-8)

\*  $p < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม control ในเวลาเดียวกัน

#  $P < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบกับค่าเริ่มต้นในกลุ่มเดียวกัน

**ผลการทดลองที่ 4 การศึกษาผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว ต่อเนื้อเยื่อในอวัยวะต่างๆ เปรียบเทียบระหว่างหนูเบาหวานที่ไม่ได้รับสารทดสอบและหนูเบาหวานที่ได้รับสารทดสอบติดต่อกัน 14 วัน**

ผลจากการตรวจทางจุลพยาธิวิทยา ศึกษาผลของสารสกัดที่ให้วันละครั้งทุกวันติดต่อกันเป็นเวลา 14 วัน อวัยวะที่นำไปตรวจพยาธิสภาพได้แก่ ตับ, ไต, หัวใจ และตับอ่อน โดยแสดงในตารางที่ 4-7 ผลต่อหัวใจไม่พบความผิดปกติ จึงไม่ได้แสดงในตาราง

ผลต่อตับอ่อนพบ acinar cell ขยายกว้างขึ้นในหนูเบาหวานกลุ่มควบคุม 16.7% เกิดการรวมที่ islet cell ในกลุ่มที่ได้รับ glibenclamide 12.5% และในเซลล์มี lymphocyte และ mononuclear cells แทรกอยู่ พบ 14.3% ในกลุ่มที่ได้สารสกัด (รูปที่ 4-11)

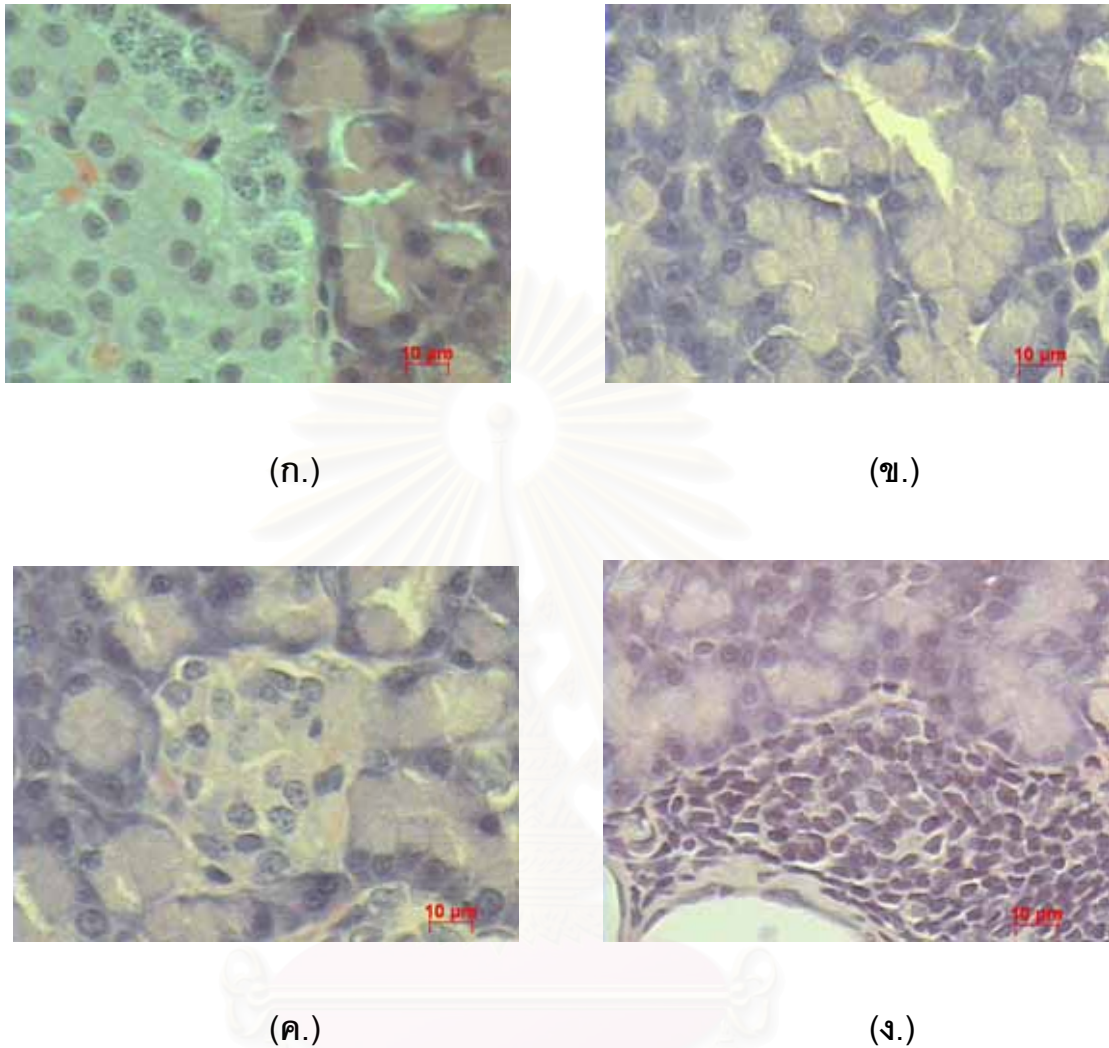
ผลต่อตับในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดเกิด bile duct เพิ่มจำนวนทำให้ portal area ชิดกันพบ 14.3% และในกลุ่มที่ได้รับ glibenclamide เกิด hepatic sinusoid กว้างขึ้น พบ 12.5% ทั้งนี้ยังพบ mononuclear cells แทรกอยู่ใน portal area 25% ในหนูปกติ (รูปที่ 4-12)

ผลต่อไตเกิดภาวะเลือดคั่ง(mild congestion) ในหนูทุกกลุ่ม ทั้งในหนูปกติ, หนูเบาหวาน, หนูเบาหวานที่ได้รับสารสกัด และหนูเบาหวานที่ได้รับ glibenclamide โดยพบ 50%, 50%, 42.9% และ 37.5% ตามลำดับ และเกิด fatty degenerative ในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดและกลุ่มที่ได้ glibenclamide พบ 14.3% และ 12.5% ตามลำดับ (รูปที่ 4-13)

โดยที่พยาธิสภาพส่วนใหญ่ที่พบจะกระจายในหนูทุกกลุ่ม และพบไม่เกิน 50% ยกเว้นภาวะเลือดคั่งที่พบในหนูทุกกลุ่มและพบมากที่สุด คือ 50% จากผลจึงรายงานได้ว่าสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมวไม่มีผลก่อพยาธิสภาพต่อเนื้อเยื่อในอวัยวะต่างๆ

ตารางที่ 4-7 ผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว (*Orthosiphon stamineus* Benth.) ต่อเนื้อเยื่อในอวัยวะต่างๆ ในหนูเบาหวานภายหลังจากได้รับสารสกัดวันละครั้งทุกวันเป็นเวลา 14 วัน (n=4-8)

Lesions	Normal rat	Control	<i>Orthosiphon stamineus</i> 0.5 g/kg	Gilbenclamide 5 mg/kg
<b>Liver</b>				
- Focal mononuclear cells infiltrate ใน portal tract	(1/4) (25%)	(0/6)	(0/7)	(0/8)
- Bile duct เพิ่มจำนวน portal area ชิดกัน	(0/4)	(0/6)	(1/7) (14.3%)	(0/8)
- Mild hepatic sinusoid dilate	(0/4)	(0/6)	(0/7)	(1/8) (12.5%)
<b>Kidney</b>				
- Mild congestion	(2/4) (50%)	(3/6) (50%)	(3/7) (42.9%)	(3/8) (37.5%)
- Fatty degenerative	(0/4)	(0/6)	(1/7) (14.3%)	(1/8) (12.5%)
<b>Pancrea</b>				
- Acinar cell dilate	(0/4)	(1/6) (16.7%)	(0/7)	(0/8)
- Islet cell บวม	(0/4)	(0/6)	(0/7)	(1/8) (12.5%)
- มี Lymphocyte, mononuclear cells แทรกอยู่ใน cells	(0/4)	(0/6)	(1/7) (14.3%)	(0/8)



รูปที่ 4-11

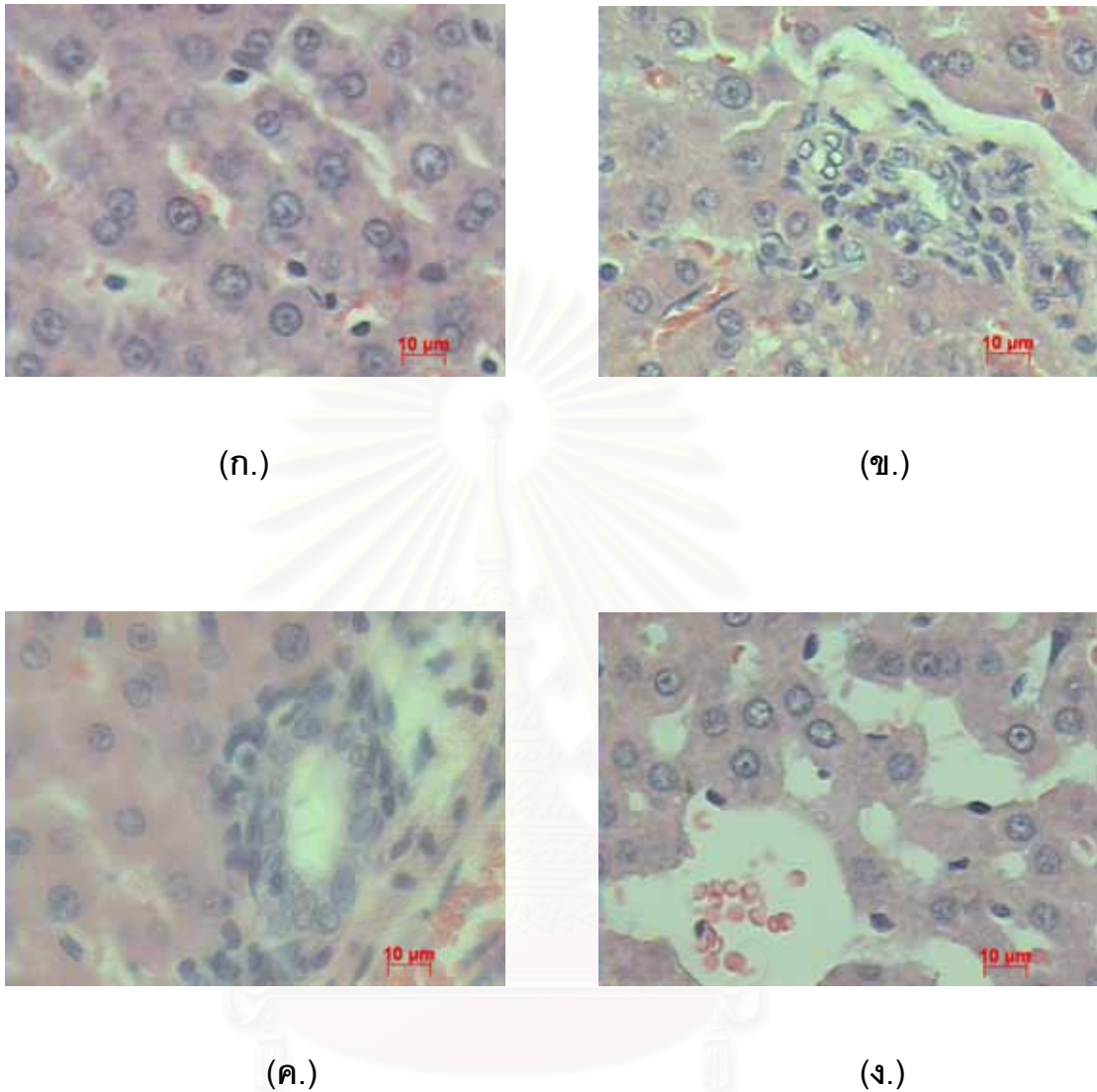
แสดงพยาธิสภาพของตับอ่อนหลังจากได้รับสารทดสอบติดต่อกัน 14 วัน

(ก.) : ตับอ่อนปกติ

(ข.) : Acinar cell กว้างขึ้นในหมู่เบาหวานกลุ่มควบคุม

(ค.) : islet cell บวมในหมู่ที่ได้รับ glibenclamide

(ง.) : ภายในเซลล์มี lymphocyte และ mononuclear cells แทรกอยู่ในกลุ่มที่ได้รับสารสกัด



รูปที่ 4-12

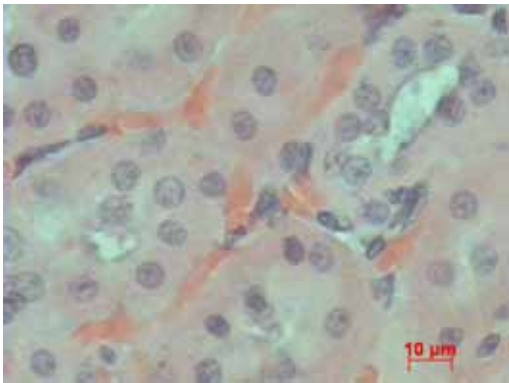
แสดงพยาธิสภาพของตับหลังจากได้รับสารทดสอบติดต่อกัน 14 วัน

(ก.) : ตับปกติ

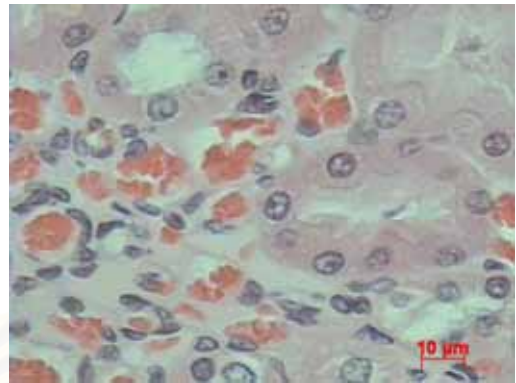
(ข.) : Mononuclear cells แทรกอยู่ใน portal area ในหนูปกติ

(ค.) : Bile duct เพิ่มจำนวนทำให้ portal area ชิดกันในกลุ่มที่ได้รับสารสกัด

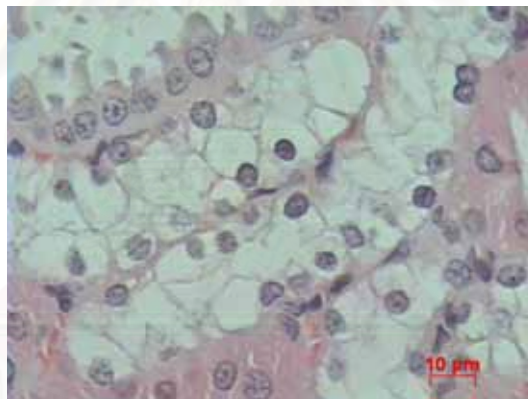
(ง.) : Hepatic sinusoid กว้างขึ้นในกลุ่มที่ได้รับ glibenclamide



(ก.)



(ข.)



(ค.)

รูปที่ 4-13

แสดงพยาธิสภาพของไตหลังจากได้รับสารทดสอบติดต่อกัน 14 วัน

(ก.) : ไตปกติ

(ข.) : ภาวะเลือดคั่งในหนูเบาหวานกลุ่มควบคุม

(ค.) : Fatty degenerative ในกลุ่มที่ได้รับสารสกัด

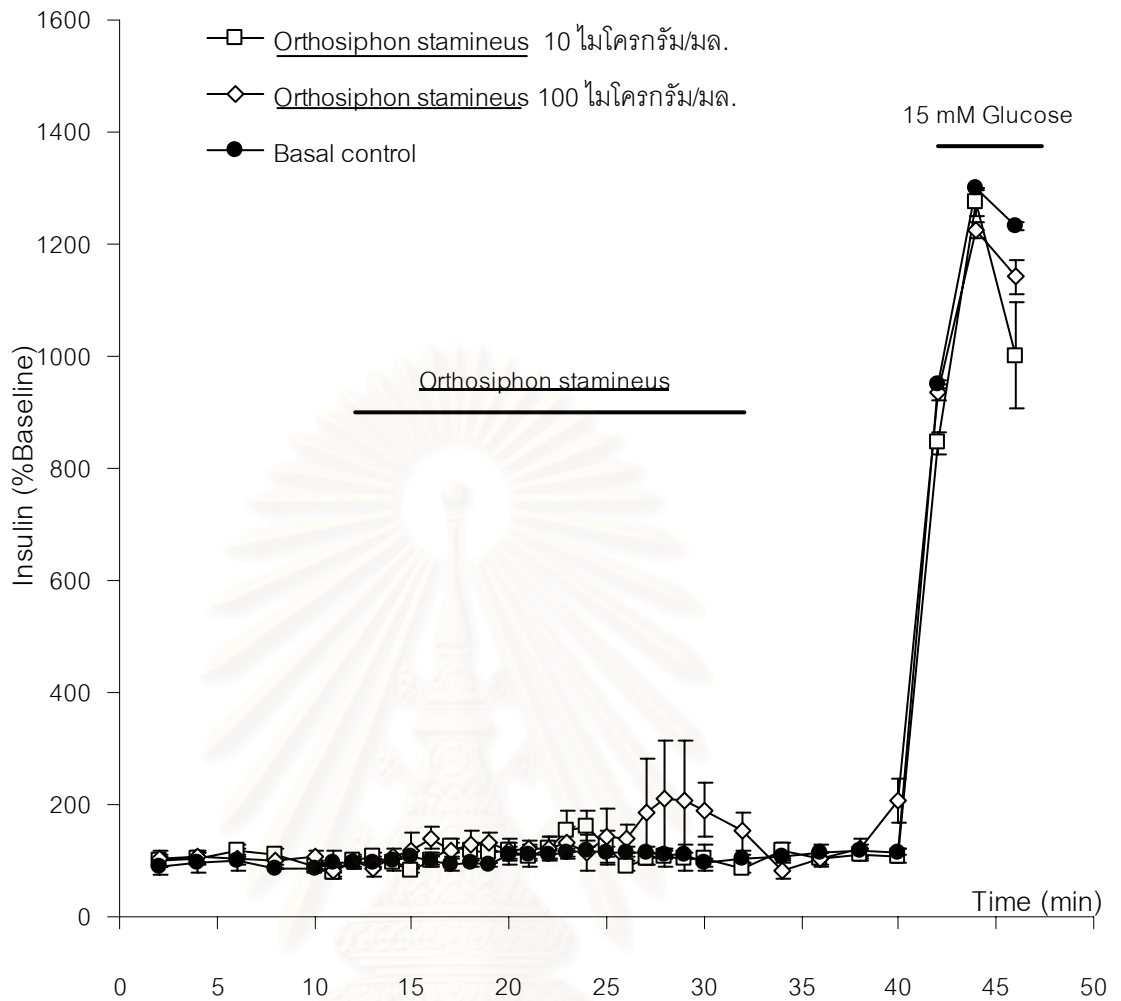
## **ผลการทดลองที่ 6 การศึกษาผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมวต่อการกระตุ้นการหลั่งอินซูลินจากตับอ่อน โดยวิธี *In Situ* Pancreatic Perfusion**

ผลของสารสกัดต่อการกระตุ้นการหลั่งอินซูลินจากตับอ่อน โดยให้สารสกัดที่ความเข้มข้น 10 และ 100 ไมโครกรัม/มล. นาน 20 นาที พบว่าที่ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัม/มล. นั้นไม่มีผลกระตุ้นการหลั่งอินซูลิน แต่ที่ 100 ไมโครกรัม/มล. พบว่าเริ่มกระตุ้นการหลั่งอินซูลินได้ 2 เท่า หลังจากผ่านสารสกัดเข้าตับอ่อนไปแล้ว 15 นาที จากนั้นทำการผ่านกลูโคสขนาด 15 มิลลิโมลาร์(positive control) พบว่าสามารถกระตุ้นการหลั่งได้เพิ่มขึ้น 13 เท่า จึงเป็นการยืนยันได้ว่าตับอ่อนที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ยังคงมีการหลั่งอินซูลินได้ตามปกติ(รูปที่ 4-14)

ส่วนผลของสารสกัดเมื่อให้ร่วมกับกลูโคสขนาด 10 มิลลิโมลาร์ เมื่อให้กลูโคสอย่างเดียวในช่วงที่ 1 นาน 10 นาที พบว่าในทุกกลุ่มมีการเพิ่มการหลั่งอินซูลินได้ประมาณ 6 เท่า และในช่วงที่ 2 ให้กลูโคสร่วมกับสารสกัดที่ความเข้มข้น 10 และ 100 ไมโครกรัม/มล. นาน 10 นาที นั้นพบว่าสารสกัดขนาด 10 ไมโครกรัม/มล. เมื่อให้ร่วมกับกลูโคสนั้นเพิ่มการหลั่งอินซูลินได้ 7.5 เท่า และสารสกัด 100 ไมโครกรัม/มล.เมื่อให้ร่วมกับกลูโคสนั้นเพิ่มการหลั่งอินซูลินได้ 11 เท่าเมื่อเทียบกับกลุ่ม basal ซึ่งผลที่ได้ก็แปรผันตามความเข้มข้นของสารสกัดที่สูงขึ้น (รูปที่ 4-15)

และจากการคำนวณพื้นที่ใต้กราฟในการทดลองให้สารสกัดร่วมกับกลูโคสแสดงผลใน(รูปที่ 4-16) พบว่าสารสกัด 100 ไมโครกรัม/มล. เมื่อให้ร่วมกับกลูโคสสามารถเพิ่มการหลั่งอินซูลินได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่ม glucose control ในช่วงเดียวกัน และเทียบกับช่วงที่ 1 ในกลุ่มเดียวกัน ส่วนที่ 10 ไมโครกรัม/มล. เพิ่มการหลั่งอินซูลินได้ แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่ม glucose control ในช่วงเดียวกัน และเทียบกับช่วงที่ 1 ในกลุ่มเดียวกัน





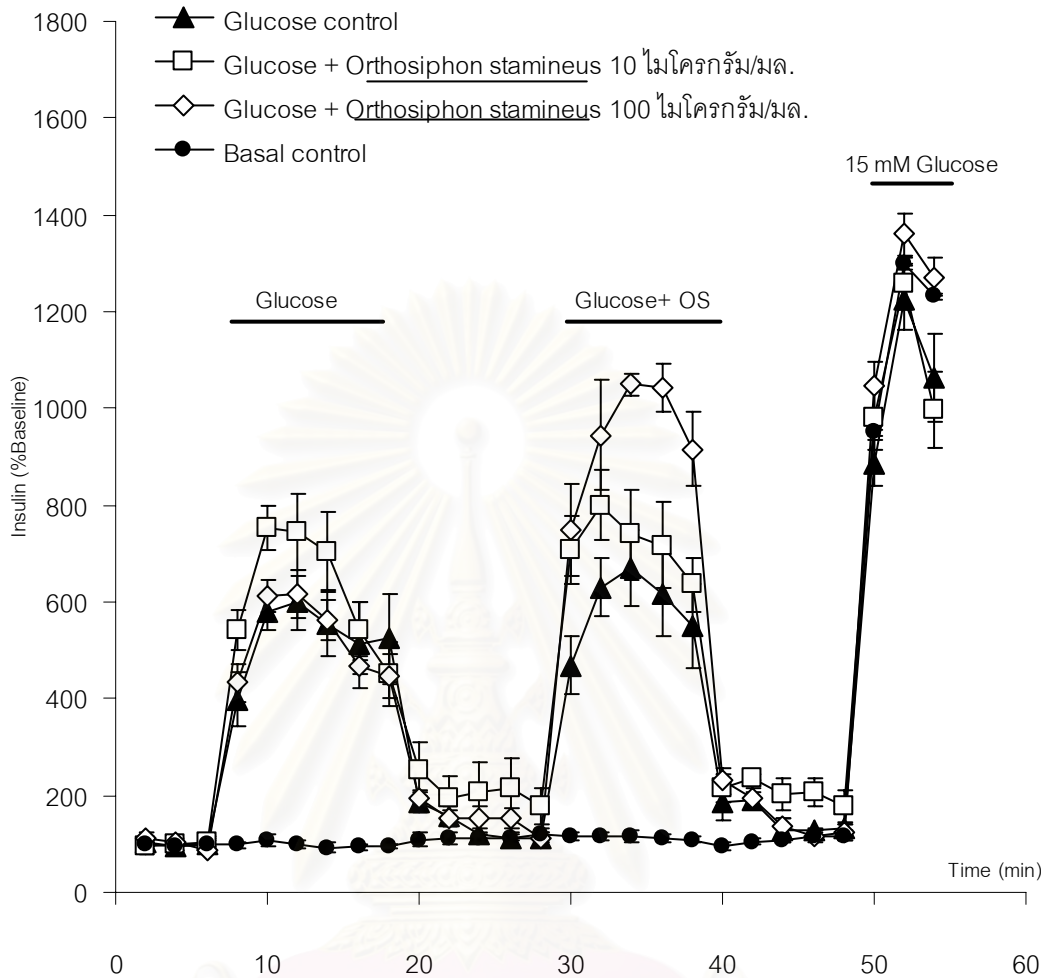
รูปที่ 4-14 ผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว (*Orthosiphon stamineus* Benth.) ต่อการกระตุ้นการหลั่งอินซูลินจากตับอ่อนโดยวิธี *In Situ* Pancreatic Perfusion โดยให้สารสกัดนาน 20 นาที

ค่า baseline ของการหลั่งอินซูลินในแต่ละกลุ่ม

Basal control :  $5.20 \pm 2.37$  นาโนกรัม/มล.

*Orthosiphon stamineus* 10 ไมโครกรัม/มล. :  $4.34 \pm 0.24$  นาโนกรัม/มล.

*Orthosiphon stamineus* 100 ไมโครกรัม/มล. :  $4.28 \pm 0.88$  นาโนกรัม/มล.



รูปที่4-15 ผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว(*Orthosiphon stamineus* Benth.) เมื่อให้พร้อมกับกลูโคสขนาด 10 มิลลิโมลาร์ ต่อการกระตุ้นการหลั่งอินซูลินจากตับอ่อนโดยวิธี *In Situ* Pancreatic Perfusion โดยให้กลูโคสอย่างเดียวนในช่วงที่ 1 นาน 10 นาที ต่อมาในช่วงที่ 2 ให้กลูโคสร่วมกับสารสกัดที่ความเข้มข้น 10 หรือ 100 ไมโครกรัม/มล. นาน 10 นาที

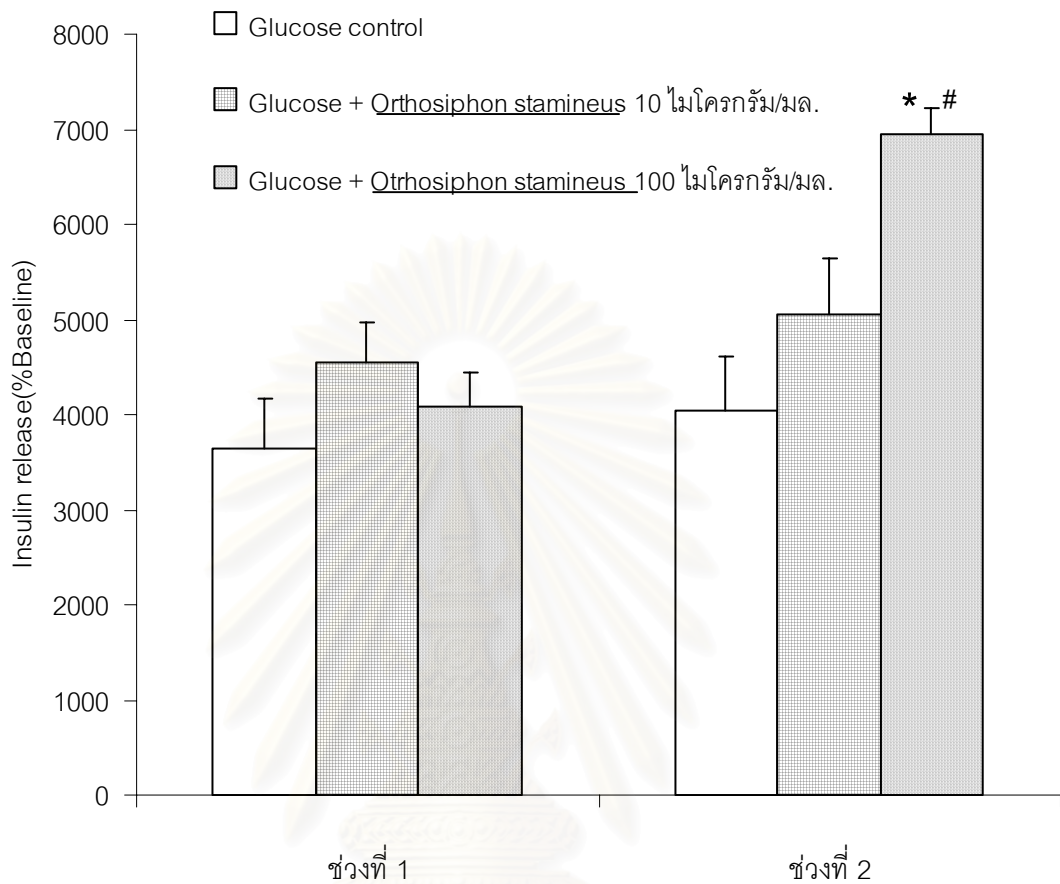
ค่า baseline ของการหลั่งอินซูลินในแต่ละกลุ่ม

Basal control :  $5.20 \pm 2.37$  นาโนกรัม/มล.

Glucose control :  $4.17 \pm 1.50$  นาโนกรัม/มล.

Glucose + *Orthosiphon stamineus* 10 ไมโครกรัม/มล. :  $5.72 \pm 1.36$  นาโนกรัม/มล.

Glucose + *Orthosiphon stamineus* 100 ไมโครกรัม/มล. :  $3.30 \pm 1.39$  นาโนกรัม/มล.



ปที่ 4-16 ค่าพื้นที่ใต้กราฟที่ได้จากการคำนวณผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว (*Orthosiphon stamineus* Benth.) เมื่อให้พร้อมกับกลูโคสขนาด 10 มิลลิโมลาร์ ต่อการกระตุ้นการหลั่งอินซูลินจากตับอ่อนโดยวิธี *In Situ* Pancreatic Perfusion โดยให้กลูโคสอย่างเดียวในช่วงที่ 1 นาน 10 นาที ต่อมาในช่วงที่ 2 ให้กลูโคสร่วมกับสารสกัดที่ความเข้มข้น 10 หรือ 100 ไมโครกรัม/มล. นาน 10 นาที

\*  $p < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม glucose control ในช่วงเดียวกัน

#  $P < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบกับช่วงที่ 1 ในกลุ่มเดียวกัน

## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัยและอภิปรายผล

#### 1. ผลการตรวจสอบสารประกอบเคมีในสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว

ปริมาณ Total phenolic compound ที่ตรวจพบในสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว เท่ากับ  $13.07 \pm 7.50$  มก./ก. ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu's phenol colorimetric[102] และตรวจพบ flavonoids ในสารสกัดจากหญ้าหนวดแมว เท่ากับ  $1.73 \pm 0.147$  ไมโครกรัม/ก. ด้วยวิธี Aluminum chloride colorimetric[103] ซึ่ง flavonoids จัดเป็น phenolic compound เช่นกัน

ได้มีรายงานว่า phenolic compound, terpenoids และสาร antioxidants ที่ได้จากธรรมชาติสามารถที่จะป้องกัน และ/หรือรักษาโรคเรื้อรังต่างๆได้ เช่น โรคหัวใจ, โรคมะเร็ง, โรคเบาหวาน และโรคความดันโลหิตสูง[104] ทั้งนี้ยังได้มีการศึกษาพบว่า phenolic compound เป็น antioxidant และเป็น free radical scavenger[105, 106] ซึ่งในโรคเบาหวานทั้งชนิดที่ 1 และ 2 พบว่ามีความสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของอนุมูลอิสระ[107] ดังนั้น phenolic compound ที่พบในพืชต่างๆ จึงอาจสามารถรักษาโรคเบาหวาน และโรคที่เกี่ยวข้องกับอนุมูลอิสระได้เช่นกัน [108] ต่อมาได้มีรายงานการศึกษาถึงผลของสารสกัดจาก *Aloe arborescens* Miller. ต่อการป้องกันการทำลาย  $\beta$ -cell ในตับอ่อน พบว่าในสารสกัดมี phenolic compound และมีผลลดระดับน้ำตาลในเลือด โดยมีกลไกคล้ายคลึงกับ superoxide dismutase(SOD) [105] ซึ่ง SOD มีผลเป็น antioxidant ทำให้สาร DNA ใน  $\beta$ -cell ไม่โดนทำลายโดย STZ[47] ดังนั้นอาจเป็นไปได้ว่า phenolic compound เป็นสารสำคัญในการลดระดับน้ำตาลในเลือดของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว อย่างไรก็ตาม phenolic compound และ flavonoids ที่ตรวจพบในสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมวนั้นมีปริมาณค่อนข้างต่ำ จึงยังไม่สามารถสรุปได้แน่ชัด

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## 2. ผลการทดสอบฤทธิ์เฉียบพลันของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมวในการลดระดับน้ำตาลในเลือดของหนูขาว และการกระตุ้นการหลั่งอินซูลินจากตับอ่อนโดยวิธี *In Situ* Pancreatic Perfusion

ผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมวที่ความเข้มข้น 0.2, 0.5 และ 1.0 ก./กก. ต่อระดับน้ำตาลในเลือดของหนูปกติ โดยการทำให้ OGTT นั้น สารสกัดมีผลลดระดับน้ำตาลอย่างมีนัยสำคัญ โดยเฉพาะหลังจากให้กลูโคสไป 90 นาที สามารถลดระดับน้ำตาล 15.67, 14.37 และ 34.42% ตามลำดับ และสามารถลดระดับน้ำตาลได้จนถึง 210 นาที (ตารางที่ 4-2) สำหรับกลุ่มที่ได้รับ glibenclamide ซึ่งเป็นยาเม็ดลดน้ำตาลในเลือดกลุ่ม sulfonylureas ที่ออกฤทธิ์ต่อ  $\beta$ -cell ในตับอ่อน โดยกระตุ้นการหลั่งอินซูลินและยับยั้งการหลั่งกลูคากอน[55, 56] ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ได้นำมาเป็นยามาตรฐาน(positive control) สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือด หลังจากได้รับยาไป 30 นาที จนถึง 210 นาที

ผลของสารสกัดต่อระดับน้ำตาลในเลือดของหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวาน โดย STZ ( 50 มก./กก. ,IV) ซึ่ง STZ มีผลเฉพาะเจาะจงที่  $\beta$ -cell ในตับอ่อน ส่งผลให้การทำงานของ  $\beta$ -cell ผิดปกติ และการหลั่งอินซูลินลดลงทำให้เกิดเบาหวานได้[46] ซึ่งผลของสารสกัดที่ 0.2, 0.5 และ 1.0 ก./กก. หลังจากทำให้ OGTT สามารถลดระดับน้ำตาลอย่างมีนัยสำคัญ ตั้งแต่เวลา 90 นาทีจนถึง 210 นาทีหลังให้กลูโคส โดยที่ 0.5 ก./กก. ลดระดับน้ำตาลได้ 9.38, 8.38 และ 21.09% และ 1.0 ก./กก.ลดระดับน้ำตาลได้ 10.43, 10.88 และ 24.08% ที่เวลา 90,180 และ210 นาทีตามลำดับ ส่วนผลจากการให้ glibenclamide นั้นสามารถลดระดับน้ำตาลได้ 19.15, 13.34 และ 25.96% ที่เวลา 90, 180 และ 210 นาทีหลังให้กลูโคส (ตารางที่ 4-4)

จะเห็นได้ว่าสารสกัดที่ 0.5 และ 1.0 ก./กก. มีผลลดระดับน้ำตาลในเลือดทั้งในหนูปกติ ซึ่ง  $\beta$ -cell ไม่โดนทำลาย และหนูเบาหวาน โดยให้ผลใกล้เคียงกับกลุ่มที่ได้รับ glibenclamide สารสกัดอาจมีกลไกกระตุ้นการหลั่งอินซูลินจาก  $\beta$ -cell แต่อย่างไรก็ตามในการศึกษาครั้งนี้ไม่ได้ทำการวัดปริมาณอินซูลินในพลาสมา จึงยังไม่สามารถระบุแน่ชัด แต่ในการศึกษาครั้งนี้ได้มีการทดสอบผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมวต่อการกระตุ้นการหลั่งอินซูลินโดยตรงจากตับอ่อนโดยวิธี *In Situ* Pancreatic Perfusion พบว่าสารสกัดสามารถกระตุ้นการหลั่งอินซูลินจากตับอ่อนได้ในภาวะที่น้ำตาลสูง โดยแปรผันตามขนาดของสารสกัดที่เพิ่มสูงขึ้น โดยสารสกัดที่ 100 ไมโครกรัม/มล. เมื่อให้ร่วมกับกลูโคสทำให้การหลั่งอินซูลินเพิ่มขึ้นถึง 11 เท่า เทียบกับกลุ่ม basal (รูปที่ 4-15) และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่ม glucose control ในช่วงเดียวกัน(ตารางที่ 4-16) ดังนั้นสารสกัดจึงสามารถเพิ่มฤทธิ์ของกลูโคสในการกระตุ้นการหลั่งอินซูลินจากตับอ่อน จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นได้ว่าสารสกัดสามารถออกฤทธิ์กระตุ้นการหลั่งอินซูลินได้ในภาวะที่มีน้ำตาลสูง ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองในหนูขาว คือ

สารสกัดสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดได้หลังจากได้รับกลูโคส(ภาวะน้ำตาลสูง) ทั้งในหนูปกติ และหนูเบาหวาน ดังนั้นจึงสามารถนำสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมวมาช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือดในผู้ป่วยเบาหวานได้ แต่อย่างไรก็ตาม ผลการทดลองนี้ยังไม่สามารถตอบคำถามที่ว่าสารสกัดมีผลข้างเคียงที่จะทำให้เกิดภาวะน้ำตาลต่ำ(hypoglycemia) ได้หรือไม่ เนื่องจากไม่ได้ทำการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดในหนูปกติ และหนูเบาหวานที่ไม่ได้รับการป้อนกลูโคส ดังนั้นจึงควรมีการทำ การทดลองเพิ่มเติมดังกล่าว

นอกจากนี้สารสกัดอาจมีกลไกการออกฤทธิ์อื่นๆ ได้ด้วย เช่น การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ alpha-glucosidase ที่ลำไส้ โดยเอนไซม์นี้มีหน้าที่ในการย่อยคาร์โบไฮเดรตหรือน้ำตาลโมเลกุลคู่ให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว แล้วถึงจะดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือด ซึ่งเมื่อเกิดการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์จะทำให้กลูโคสถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดได้ช้าลง[2, 109] แต่ในการทดลองนี้ไม่สามารถระบุได้แน่ชัด เนื่องจากในการทำ OGTT ในการทดลองนี้ผู้วิจัยได้ป้อนกลูโคสซึ่งเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว โดยที่ไม่ได้ทำการทดลองป้อนน้ำตาลโมเลกุลคู่ เช่น มอลโตส หรือซูโครสให้กับหนูขาว อย่างไรก็ตามทางคณะผู้วิจัยได้ทำการทดลองเบื้องต้นในหลอดทดลองพบว่าสารสกัดสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ alpha-glucosidase ที่สกัดจากยีสต์ได้ 50%(ข้อมูลที่ยังไม่ได้แสดงผล)

### 3. ฤทธิ์ของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมวในการลดระดับน้ำตาลในเลือดในหนูเบาหวานเมื่อให้วันละ 1 ครั้งติดต่อกัน 14 วัน

ในการศึกษานี้ได้ให้สารสกัดวันละครั้งติดต่อกัน 14 วัน โดยให้สารสกัดที่ความเข้มข้น 0.5 ก./กก. ทั้งนี้เพราะจากการทดสอบฤทธิ์เฉียบพลันในหนูเบาหวานโดย OGTT นั้นทั้ง 0.5 และ 1.0 ก./กก. ของสารสกัด ให้ผลลดระดับน้ำตาลในเลือดใกล้เคียงกัน จึงเลือกที่ความเข้มข้นต่ำกว่ามาใช้ในการศึกษา หลังจากป้อนสารสกัดติดต่อกัน 8 วันพบว่าสารสกัดมีผลลดระดับน้ำตาลเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมในเวลาเดียวกันได้ 7.19% แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (กลุ่มควบคุม:  $398.00 \pm 12.57$  มก./ดล., สารสกัด:  $369.38 \pm 12.55$  มก./ดล.) และในวันที่ 14 พบว่าสามารถลดระดับน้ำตาลได้ 10.16% และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมในเวลาเดียวกัน (กลุ่มควบคุม:  $390.29 \pm 6.98$  มก./ดล., สารสกัด:  $350.62 \pm 23.33$  มก./ดล.) และเมื่อเทียบกับค่าเริ่มต้น(วันที่ 0) ในกลุ่มเดียวกัน พบว่าในวันที่ 8 ลดได้ 2.41% และไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ วันที่ 14 ลดได้ 7.37 % มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยที่ระดับน้ำตาลในวันที่ 0 ของกลุ่มที่ได้รับสารสกัดมีค่า  $378.50 \pm 7.05$  มก./ดล. (ตารางที่ 4-5)

ส่วนผลของ glibenclamide ในวันที่ 8 ลดระดับน้ำตาลเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมในเวลาเดียวกันได้ 11.16% และในวันที่ 14 ลดลง 14.79% และเมื่อเทียบกับค่าเริ่มต้น(วันที่ 0) ในกลุ่มเดียวกัน พบว่าวันที่ 8 ลดลง 8.47% และวันที่ 14 ลดลง 13.91% มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้งในวันที่ 8 และ 14 โดยเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมในเวลาเดียวกัน และเทียบกับค่าเริ่มต้น(วันที่ 0) ในกลุ่มเดียวกัน(ตารางที่ 4-5) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการศึกษาถึงผลของ glibenclamide ต่อการลดระดับน้ำตาลในเลือด โดยให้ glibenclamide 10 มก./กก. เป็นเวลา 10 วัน ในหนูเบาหวาน[110] และให้ 5 มก./กก. วันละครั้งติดต่อกัน 8 วันในหนูเบาหวาน[4] นั้นสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

แต่การศึกษาโดย Panee ซึ่งให้ glibenclamide 10 มก./กก. โดยให้วันละครั้งติดต่อกัน 28 วัน ในหนูเบาหวาน พบว่าระดับน้ำตาลในเลือดลดลงในวันที่ 8 แต่เมื่อถึงวันที่ 14 ระดับน้ำตาลกลับสูงขึ้น และไม่ลดลงอีกเลยจนครบ 28 วัน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเมื่อเวลานานขึ้นความรุนแรงของโรคเบาหวานจะเพิ่มขึ้น ทำให้ glibenclamide ไม่สามารถลดระดับน้ำตาลในหนูที่เป็นเบาหวานขั้นรุนแรงได้[8]

Glibenclamide มีผลลดระดับน้ำตาลในหนูที่เป็นเบาหวานที่ไม่รุนแรงถึงปานกลาง โดยที่ในหนูที่เป็นเบาหวานขั้นรุนแรงนั้นจะไม่มีผลลดระดับน้ำตาลในเลือด[111] ทั้งนี้เพราะในขั้นไม่รุนแรงถึงปานกลางนั้น  $\beta$ -cell ของตับอ่อนยังไม่ได้เสียหายทั้งหมด จึงมีพื้นที่ยังสามารถสร้างอินซูลินได้(โรคเบาหวานชนิดที่ 2) ดังนั้น glibenclamide จึงสามารถกระตุ้นให้เกิดการหลั่งอินซูลินได้ แต่ในขั้นรุนแรง คือมีระดับน้ำตาลในเลือดสูงมากนั้น  $\beta$ -cell จะโดนทำลายทั้งหมดหรือเกือบทั้งหมด(โรคเบาหวานชนิดที่ 1) ทำให้ glibenclamide ไม่สามารถออกฤทธิ์ได้ในภาวะดังกล่าว[61]

ในการทดลองนี้พบว่าในวันที่ 14 นั้น glibenclamide ยังสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ อาจเป็นเพราะระดับน้ำตาลเริ่มต้น(วันที่ 0) ของหนูทุกกลุ่ม มีค่าน้อยกว่าการทดลองดังกล่าวข้างต้น ดังนั้นจึงใช้เวลานานกว่าในการดำเนินของโรคจนถึงขั้นรุนแรง ทำให้ในวันที่ 14 ของการทดลอง glibenclamide ยังสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ หรืออาจเป็นไปได้ว่า glibenclamide มีฤทธิ์นอกตับอ่อน (extrapancreatic effect) คือเพิ่มการนำกลูโคสเข้าสู่เซลล์(glucose uptake) และเพิ่มการใช้กลูโคส(glucose utilization) ด้วย [2, 112]

จากการทดลองสารสกัดสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดได้อย่างมีนัยสำคัญในวันที่ 14 ซึ่งช้ากว่า glibenclamide ที่สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดได้อย่างมีนัยสำคัญได้ตั้งแต่วันที่ 8 ดังนั้นหากทำการทดลองโดยป้อนสารสกัดเพิ่มเป็นวันละ 2 ครั้ง ก็อาจมีผลลดระดับน้ำตาลในเลือดได้เพิ่มขึ้น และอาจเห็นผลได้เร็วขึ้น ทั้งนี้ได้มีการศึกษาถึงพิษเรื้อรังของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมวโดยให้สารสกัด 18 ก./กก. นาน 6 เดือนในหนูขาว ไม่พบการเปลี่ยนแปลงที่ผิดปกติ

ปกติ[100] เพราะฉะนั้นการให้สารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมวในระยะเวลาที่นานขึ้น หรือเพิ่มจำนวนครั้งที่ให้ในแต่ละวันก็อาจจะมีผลลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ดีขึ้น และไม่ก่อให้เกิดพิษต่อร่างกายเนื่องจากสารสกัด

#### 4. การศึกษาผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว ต่อระดับไขมันในเลือด การทำงานของตับและไต ในหนูเบาหวานภายหลังได้รับติดต่อกัน 14 วัน

ผลต่อสารเคมีในเลือดของหนูขาวเมื่อให้สารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมวติดต่อกัน 14 วันนั้นพบว่า

BUN เป็นค่าความเข้มข้นของไนโตรเจนในซีรัม ซึ่งค่านี้ใช้ประเมินการทำงานของไต พบว่ามีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับค่าเริ่มต้น(วันที่ 0)ในกลุ่มเดียวกัน ทั้งในหนูเบาหวาน และหนูเบาหวานที่ได้รับสารทดสอบ(รูปที่ 4-4) ค่า BUN ที่เพิ่มขึ้น อาจเนื่องจากได้รับสารอาหารที่มีโปรตีนสูง เพราะว่าการทดลองนี้ไม่ได้ให้อาหารสำหรับหนูเบาหวาน และโดยปกติภาวะเบาหวานจะมีการสลายโปรตีนในกล้ามเนื้อเป็น amino acid มากกว่าปกติ ซึ่งก็เป็นสาเหตุให้ BUN มีค่าสูงขึ้นเช่นกัน[66, 67] ดังจะเห็นได้จากผลการทดลองว่าค่า BUN ที่เพิ่มขึ้นในวันที่ 15 นั้นพบเฉพาะในหนูเบาหวานกลุ่มควบคุม และหนูเบาหวานที่ได้รับสารทดสอบแต่ไม่พบในหนูปกติ

Creatinine เป็นค่าบ่งชี้การทำงานของไต มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับค่าเริ่มต้น(วันที่ 0)ในกลุ่มเดียวกัน ทั้งในหนูเบาหวานกลุ่มควบคุม และหนูเบาหวานที่ได้รับสารทดสอบ(รูปที่ 4-5) สาเหตุที่ค่า creatinine เพิ่มขึ้นอาจเกิดจากภาวะขาดน้ำซึ่งอาจพบในโรคเบาหวาน หรืออาจเป็นเพราะในระยะเริ่มต้นของการเป็นโรคเบาหวาน ไตมีการขับ creatinine ออกจึงพบ creatinine ในเลือดน้อย แต่เมื่อระยะเวลาในการเป็นโรคนานขึ้น การขับ creatinine ออกลดลง จึงพบ creatinine มากในเลือด[113] ดังจะเห็นได้จากผลการทดลองครั้งนี้ว่าค่า creatinine ที่เพิ่มขึ้นในวันที่ 15 นั้นพบเฉพาะในหนูเบาหวานกลุ่มควบคุม และหนูเบาหวานที่ได้รับสารทดสอบ แต่ไม่พบในหนูปกติ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการศึกษาของ Grover และคณะพบว่าค่า creatinine เพิ่มขึ้นทั้งในหนูเบาหวาน และหนูเบาหวานที่ได้รับสารสกัดจาก *Murraya koeingii* และ *Brassica juncea* หลังได้รับสารทดสอบ 60 วัน [114]

ALT นั้นเป็นค่าซึ่งบ่งชี้การทำงานของตับ มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในหนูเบาหวาน หนูเบาหวานที่ได้รับสารสกัด และหนูเบาหวานที่ได้รับ glibenclamide เมื่อเทียบกับค่าเริ่มต้น(วันที่ 0)ในกลุ่มเดียวกัน(รูปที่ 4-6) และ AST มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในหนูเบาหวาน หนูเบาหวานที่ได้รับสารสกัด และหนูเบาหวานที่ได้รับ glibenclamide เมื่อเทียบกับค่าเริ่มต้น(วันที่ 0



)ในกลุ่มเดียวกัน(รูปที่ 4-7) ซึ่ง AST เป็นเอนไซม์ภายในเซลล์พที่ตับเป็นส่วนใหญ่ การที่ค่า AST เพิ่มขึ้น อาจเกิดจากการที่ glibenclamide ไปรบกวนการวิเคราะห์ผลทำให้ค่า AST สูงขึ้นได้[25] ดังจะเห็นจากการทดลอง ซึ่งพบว่าในหนูเบาหวานที่ได้รับ glibenclamide มีค่า AST เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมในวันที่ 15 (รูปที่ 4-7)

Cholesterol และ triglyceride ซึ่งเป็นค่าบ่งชี้ระดับไขมันในเลือด พบว่า cholesterol และ triglyceride มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับค่าเริ่มต้น(วันที่ 0)ในกลุ่มเดียวกัน(รูปที่ 4-8) (รูปที่ 4-9) ซึ่งคาดยปกติหนูที่เป็นเบาหวานจะมีค่า cholesterol และ triglyceride สูง แต่จากผลการทดลองกลับพบว่ามีการลดลงในหนูทุกกลุ่ม ทั้งนี้อาจเกิดจากความคลาดเคลื่อนในการตรวจวัดระดับสารเคมีในเลือดได้

HDL มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับค่าเริ่มต้น(วันที่ 0)ในกลุ่มเดียวกัน โดยเฉพาะในหนูเบาหวานที่ได้รับสารสกัด และที่ได้รับ glibenclamide มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมในวันที่ 15 (รูปที่ 4-10) การที่ HDL มีค่าเพิ่มขึ้นทำให้ระดับ total cholesterol ลดลง คือ ทำให้มีโอกาสเป็นโรคหลอดเลือดลดลง เพราะ HDL เป็นไขมันที่มีความหนาแน่นสูงมีหน้าที่นำ cholesterol ที่สะสมอยู่ตามเนื้อเยื่อไปทำลายที่ตับ

กล่าวโดยสรุป คือค่าสารเคมีในเลือดส่วนใหญ่ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมในวันที่ 15 แล้วไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ แสดงว่าสารสกัดไม่ได้มีผลกระทบต่อการทำงานของ ตับ, ไต และระดับไขมันในเลือดในหนูเบาหวาน

##### 5. ผลของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมว ต่อเนื้อเยื่อในอวัยวะต่างๆ เปรียบเทียบระหว่างหนูเบาหวานที่ไม่ได้รับสารทดสอบและหนูเบาหวานที่ได้รับสารทดสอบติดต่อกัน 14 วัน

ผลจากการตรวจทางจุลพยาธิวิทยา ศึกษาผลของสารสกัดที่ให้วันละครั้งทุกวัน ติดต่อกันเป็นเวลา 14 วัน อวัยวะที่นำไปตรวจพบพยาธิสภาพได้แก่ ตับ, ไต และตับอ่อน โดยแสดงในตารางที่ 4-7 โดยกลุ่มที่ได้รับสารสกัดพบว่า bile duct ในตับเพิ่มจำนวนมากขึ้นทำให้ portal area ชิดกัน ส่วนกลุ่มที่ได้รับ glibenclamide พบ hepatic sinusoid กว้างขึ้น และพบ mononuclear cells แทรกอยู่ใน portal area ในหนูปกติ จะเห็นได้ว่าพยาธิสภาพที่เกิดในตับพบในหนูเกือบทุกกลุ่มรวมทั้งยังพบในหนูปกติด้วย การเกิดพยาธิสภาพดังกล่าวอาจมีสาเหตุจากตับมีการอักเสบเนื่องจากภาวะแทรกซ้อนของโรคเบาหวาน ตลอดจนภาวะเลือดไปเลี้ยงไม่เพียงพอ เป็นต้น [115] ดังนั้นพยาธิสภาพที่พบในการทดลองนี้จึงยังไม่สามารถสรุปได้ว่าเกิดเนื่องจากการได้รับสารสกัด และมีรายงานการศึกษาถึงพิษเรื้อรังของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมวโดยให้สาร

สกัดที่ 18 ก./กก. นาน 6 เดือนพบว่าตับเกิด fatty degenerative ซึ่งลักษณะดังกล่าวพบเพียงเล็กน้อยไม่รุนแรงจนถึงขั้นที่บ่งชี้ว่าเป็นพิษต่อตับเช่นกัน[100]

ผลต่อไตเกิดภาวะเลือดคั่งซึ่งไม่รุนแรงในหนูทุกกลุ่มและเกิด fatty degenerative ในหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัด และ glibenclamide มีการศึกษาถึงพิษกึ่งเฉียบพลันของสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมวโดยให้ 2 ก./กก. นาน 30 วัน พบเกลือแคลเซียมในท่อไต สาเหตุอาจเกี่ยวข้องกับอาหารหรือน้ำดื่ม[99] และการศึกษาถึงพิษเรื้อรังโดยให้สารที่ 18 ก./กก. นาน 6 เดือนพบว่ามีการเกลือแคลเซียมในท่อไต อาจเป็นความผิดปกติที่เกี่ยวข้องกับอายุ และพบกรวยไตโป่งพอง ซึ่งเป็นพยาธิสภาพที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติในหนูขาว โดยที่พยาธิสภาพที่พบไม่อาจสรุปได้ว่าสารสกัดทำให้เกิดความเป็นพิษต่อไต[100]

ผลต่อตับอ่อนพบ acinar cell ขยายกว้างขึ้นในหนูเบาหวานกลุ่มควบคุม มี lymphocyte และ mononuclear cells แทรกอยู่ในเซลล์ และเกิดการรวมที่ islet cell ในกลุ่มที่ได้รับสารสกัด ทั้งนี้อาจเกิดจากภาวะแทรกซ้อนที่พบในโรคเบาหวาน เช่น การติดเชื้อ, การอักเสบ หรือความผิดปกติของการเผาผลาญไขมัน[115] ดังจะเห็นได้ว่าพยาธิสภาพของตับอ่อนที่พบในการทดลองนี้ พบเฉพาะในหนูเบาหวานทั้งกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับสารสกัด จึงยังไม่อาจสรุปได้ว่าพยาธิสภาพที่เกิดขึ้นเป็นผลเนื่องจากสารสกัดเช่นกัน

จะเห็นได้ว่าเกิดพยาธิสภาพในหนูทุกกลุ่ม ภาวะที่ตรวจพบจัดอยู่ในขั้นไม่รุนแรง และบางพยาธิสภาพมีโอกาสเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ หรืออาจเป็นความผิดปกติที่เกี่ยวข้องกับอายุ หรืออาจเกิดเนื่องจากภาวะเบาหวาน เพราะฉะนั้นผลการตรวจทางจุลพยาธิสภาพที่พบครั้งนี้ ยังไม่อาจสรุปได้ว่าสารสกัดจากใบหญ้าหนวดแมวทำให้เกิดพยาธิสภาพต่อเนื้อเยื่อในอวัยวะต่างๆ

## รายการอ้างอิง

1. American Diabetes Association. Screening for diabetes. Diabetes Care 18(Suppl1) (January 1995): 5-7.
2. อรพรรณ มาตังคสมบัติ. ยาที่ใช้ในโรคเบาหวาน. พิมพ์ครั้งที่1. กรุงเทพมหานคร: แสงเทียนการพิมพ์, 2544.
3. King, H., Aubert, R. E., and Herman, W. H. Global burden of diabetes,1995-2025 : prevalence numerical estimates and projects. Diabetes Care 21 (September 1998): 1414-1431.
4. Peungvicha, P., Thirawarapan, S., and Watanabe, H. Hyperglycemic effect of water extract of the root of *Pandanus odor* RIDL. Biol. Pharm. Bull. 19 (March 1996): 364-366.
5. Noor, H., and Ashcroft, S. J. Pharmacological characterisation of the antihyperglycemic properties of *Tinosppora crispera* extract.. J. Ethnopharmacol. 62 (August 1998): 7-13.
6. Pushparaj, P., Tan, C. H., and Tan, B. K. H. Effect of *Averrhoa bilimbi* leaf extract on blood glucose and lipids in streptozotocin-diabetic rats. J. Ethnopharmacol. 72 (September 2000): 69-76.
7. Pravate Thongsiri. Anti-diabetic activity of thai medicinal herbs in normal and streptozotocin-diabetic rats. Master's Thesis, Department of Biopharmaceutical Science, Graduate studies, Mahidol University, 2001.
8. Panee Litthilert. Effect of Mulberry(*Morus Alba* Linn.) leaves extracts on plasma glucose level in streptozotocin-induced diabetic rats. Master's Thesis, Department of Biopharmaceutical Science, Graduate studies, Mahidol University, 2001.
9. American Diabetes Association :Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care 20 (July 1997): 1187-1197.

10. Alberti, K. G., and Zimmet, P. Z. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provision report of a WHO consultation. Diabetic Med. 15 (July 1998): 539-553.
11. Zimmet, P. Z. The pathogenesis and prevention of diabetes in adults: genes, autoimmunity and dermatography. Diabetes Care 18 (July 1995): 1050-64.
12. Myers, M. A., Rabin, D. U., and Rowley, M. J. Pancreatic islet cell cytoplasmic antibody in diabetes is represented by antibodies to islet cell antigen 512 and glutamic acid decarboxylase. Diabetes 44 (November 1995): 1290-1295.
13. Nepom, G. T., and Kwok, W. W. Molecular basis for HLA-DQ associations with IDDM. Diabetes 47 (August 1998): 1177-1184.
14. Sujirachato, K., et.al. HLA class II polymorphism in Thai insulin-dependent diabetes mellitus. Tokai J. Exp. Clin. Med. 19 (September 1994): 73-81.
15. Pietropaolo, M., and Eisenbarth, G. S. Molecular targets of the autoimmunity of type I diabetes. In B. Draznin, and D. LeRoith (eds.), Molecular biology of diabetes Part 1, pp.1-33. New Jersey: Human Press, 1994.
16. Banerji, M., and Lebovitz, H. Insulin sensitive and insulin resistant variants in IDDM. Diabetes 38 (June 1989): 784-792.
17. Umpierrez, G. E., Casals, M. M., Gebhart, S. P., Mixon, P. S., Clark, W. S., and Phillips, L. S. Diabetic ketoacidosis in obese African-Americans. Diabetes 44 (July 1995): 790-795.
18. Shepherd, P. R., and Kahn, B. B. Glucose transporters and insulin action. Implications for insulin resistance and diabetes mellitus. N. Eng. J. Med. 341 (July 1999): 248-257.
19. Moller, D. E., Bjorbaek, C., and Vidal-Puig, A. Candidate genes for insulin resistance. Diabetes Care 19 (April 1996): 396-400.
20. Boden, G. Role of fatty acid in the pathogenesis of insulin resistance and NIDDM. Diabetes 46 (January 1997): 3-10.

21. Phillips, D. I. W. Birth weight and the future development of diabetes. A review of the evidence. Diabetes Care 21 (August 1998)(Suppl 2): B150-155.
22. Kahn, B., and Flier, J. S. Obesity and insulin resistance. J. Clin. Invest. 106 (August 2000): 473-481.
23. Kahn, S., Andrikopovos, S., and Verchere, C. B. Islet amyloid:along-recognized but underappreciated pathological feature of type 2 diabetes. Diabetes 48 (February 1999): 241-253.
24. Sherwin, R. S. Diabetes mellitus. In J. C. Bennett, and F. Plum (eds.), Cecil textbook of medicine, pp. 1258-1277. Philadelphia: W.B. Saunder, 1996.
25. สุชาติพิทย์ พิชญ์ไพญ์. การแปลผลทางห้องปฏิบัติการสำหรับเภสัชกร. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2542.
26. Vogel, H. G., and Vogel, W. H. Antidiabetic activity. In H. G. Vodel, and W. H. Vogel (eds.), Drug discovery and evaluation:pharmacological assays, pp.535-546. Berlin: Springer-Verlag, 1997.
27. Yoon, J. W., McClintock, P. R., Onodera, T., and Notkins, A. L. Virus-induced diabetes mellitus. XVII. Inhibition by a non-diabetogenic variant of encephalomyocarditis virus. J. Exp. Med. 152 (October 1980): 878-892.
28. Ozturk, Y., Altan, V. M., and Yitdizoglu-Ari, N. Effect on experimental diabetes and insulin on smooth muscle funtions. Pharmacol. Rev. 48 (March1996): 69-112.
29. King, m. L., Bidwell, D. Shaikh, A., Voller, A., and Banatvala, J. E. Coxackie-B-virus-specific IgM responses in children with insulin-dependent(juvenile-onset;type1)diabetes mellitus. Lancet i (1971): 1397-1399.
30. Forrest, I. A., Menser,M. a., and Burgess, J. A. High frequency of diabetes mellitus in young patients with congenital rubella. Lancet ii (1971): 332-334.
31. Pak, C. Y., Eun, H., McArthur, R. G., and Yoon, J. Association of cytomegalovirus infection with autoimmune type1 diabetes. Lancet ii (1988): 1-4.
32. Verspol, E. J. Recommended testing in diabetes research. Planta Med. 68 (July 2002): 581-590.

33. Rerup, C. C. Drug producing diabetes through damage of the insulin secreting cells. Pharm. Rev. 22 (December 1970): 485-518.
34. Chawalit, K., Sretarugsa, P., and Thithapondha, A. Comparative effects of diabetogenic agents on hepatic drug metabolism. Drug Metab. Disbpos. 10 (1982): 81-86.
35. Broadsky, G., and Logothetopoulos, J. Streptozotocin diabetes in the mouse and guinea pig. Diabetes 18 (September 1969): 606-611.
36. Change, A. Y., Noble, R. E., and Wyse, B. M. Streptozotocin-induced diabetes in the Chinese hamster. Diabetologia 13 (December 1977): 595-602.
37. Lazarus, S. S., and Shapiro, S. H. Streptozotocin-induced diabetes and islet cell alterations in rabbits. Diabetes 21 (May 1972): 129-137.
38. Junod, A., Lambert, A. E., Stauffacher, W., and Renold, A. E. Diabetogenic action of streptozotocin: Relationship of the dose to metabolic response. J. Clin. Invest. 48 (November 1969): 2122-2139.
39. Herr, R. R., Jahnke, J. K., and Argoudelis, A. D. The structure of streptozotocin. J. Am. Chem. Soc. 87 (August 1967): 4808-4809.
40. Bolzan, A. D., and Bianchi, M. S. Genotoxicity of streptozotocin. Mutat. Res. 512 (December 2002): 121-134.
41. Elias D., Prigozin, H., Polak, N., Rapoport, M., Lohse, A. W., and Cohen, I. R. Autoimmune diabetes induced by the beta-cell toxic STZ:immunity to the 60-kDa hest shock protein and to insulin. Diabetes 43 (August 1994): 992-998.
42. Karunanayake, E. K., Hearse, D. J., and Mellows, G. The synthesis of [<sup>14</sup>C] streptozotocin and its distribution and excretion in the rat. Biochem. J. 142 (September 1974): 673-683.
43. Schnedl, W. J., Ferbes, S., Johnson, J. H., and Newgard, C. B. STZ transport and cytotoxicity:specific enhancement in GLUT2-expressing cells. Diabetes 43 (November 1994): 1326-1333.
44. Elsner, M., Guldbakke, B., Tiedge, M., Munday, R., and Lenzen, S. Relative importance of transport and alkylation for pancreatic beta-cell toxicity of streptozotocin. Diabetologia 43 (December 2000): 1528-1533.

45. Szkudelski, T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in  $\beta$ -cell of the rat pancreas. Physiol. Res. 50 (2001): 536-546.
46. Nakatsuka, M., Yoshimura, Y., Nishida, M., and Kawada, J. Importance of the concentration of ATP in rat pancreatic beta cells in the mechanism of streptozotocin-induced cytotoxicity. J. Endocrinol. 127 (October 1990): 161-165.
47. Uchigata, Y., Yamamoto, H., Kawamura, A., and Okamoto, H. Protection by superoxide dismutase, catalase and poly(ADP-ribose)synthetase inhibitors against alloxan and streptozotocin induced islet DNA strand breaks and against the inhibition of proinsulin synthesis. J. Biol. Chem. 257 (June 1982): 6084-6088.
48. Venditti, P., and Meo, S. D. Antioxidants, tissue damage and endurance in trained and untrained young male rats. Arch. Biochem. Biophys. 331 (July 1996): 63-68.
49. Schmidt, F. H., Siegel, E. G., and Trapp, V. E. Metabolic and hormonal investigations in long-term streptozotocin diabetic rats on different dietary regimens. Diabetologia 18 (1980):161-168.
50. Wong, K. K., Wu, H. M. Effect of age and streptozotocin concentration on the induction by streptozotocin of hyperglycemia in fasting rats. Biochem. Mol. Biol. Int. 33 (1994):131-136.
51. Davis, S. N., and Gramer, D. K. Insulin, oral hypoglycemic agents and the pharmacology of the endocrine pancreas. In J. G. Hardmon, and L. E. Limbird (eds.), Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics, pp. 1487-1518. New York: McGraw-Hill companies,1996.
52. Ferner, R. E., and Neil, H. A. Sulfonylureas and hypoglycemia. Br. Med. J. 246(1988 ): 949-950.
53. Harrigan, R. A., Nathan, M. S., and Beattie, P. Oral agents for the treatment of type 2 diabetes mellitus: pharmacology, toxicity and treatment. Ann. Emerg. Med. 38 (July 2001): 68-78.
54. อรรถวรรณ มาตั้งคสมบัติ. ขาดน้ำตาลในเลือด. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: เทพรัตน์ การพิมพ์, 2528.

55. Schmid-Antomarchi, H., De Weille J., Fosset, M., and Lazdunski, M. The receptor for antidiabetic sulfonylureas controls the activity of the ATP-modulated K<sup>+</sup> channel in insulin-secreting cells. J. Biol. Chem. 262 (November 1987): 15840-15844.
56. Luzi, L., and Pozza, G. Gilbenclamide : an old drug with a novel mechanism of action. Acta. Diabetol. 34 (December 1997): 239-244.
57. Ashcroft, F. M., and Gribble, F. M. ATP-sensitivity K<sup>+</sup> channels and insulin secretion: their role in health and disease. Diabetologia 42 (August 1999): 903-919.
58. Olefsky, J. M., and Reaven, G. M. Effect of sulfonylurea therapy on insulin binding to mononuclear leukocytes of diabetic patients. Am. J. Med. 60 (January 1976): 89-95.
59. Jacobs, D. B., Hayes, G. R., and Lockwood, D. H. In vitro effect of sulfonylurea on glucose transport and translocation of glucose transporters in adipocytes from streptozotocin-induced diabetic rats. Diabetes 38 (February 1989): 205-211.
60. Davison, M. B., and Sladen, G. Effect of glyburide on glycogen metabolism in cultured rat hepatocytes. Metabolism 36 (October 1987): 925-930.
61. Ratzman, K. P., Schulz, B., Heinke, P., and Besch, W. Tobutamide does not alter insulin requirement in type 1 (insulin-dependent) diabetes. Diabetologia 27 (July 1984): 8-12.
62. Beck-Nielsen, H., Hother-Nielsen, O., and Pedersen, O. Mechanism of action of sulfonylureas with special reference to the extrapancreatic effect : an overview. Diabetic Med. 5 (October 1988): 613-620.
63. Kahn, C. R. Glucose homeostasis and insulin action. In C. R. Kahn, and L. B. Kenneth (eds.), Principles and practice of endocrinology and metabolism, pp.1303-1306. Philadelphia: Lippincott williams&Wilkins, 2000.
64. สัญญา ร้อยสมมุติ. ตับอ่อนและการควบคุมกลูโคส. พิมพ์ครั้งที่ 1. ภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 2539.
65. Mueckler, M. Facilitative glucose transporters. Eur. J. Biochem. 219 (1994): 713-725.



66. Sherwood, L. The peripheral endocrine glands. In L. Sherwood (ed.), Human physiology :from cell to system, pp. 668-713. USA: Brooks/Cole, 2001.
67. Vender, A., Sherman, J., and Luciano, D. Regulation of organic metabolism, growth and energy balance. In A. vender, J. Sherman, and D. Luciano (eds.), Human physiology: the mechanisms of body function, pp. 591-609. Boston: McGraw-Hill Companies, 1998.
68. Gerich, J. E. Control of glycaemia. Baillieres Clin. Endocrinol. Metab. 7 (July 1993): 551-586.
69. Shulman, G. I., Barret, E. J. and Sherwin, R. S. Integrated fuel metabolism. In D. Porte, and R. S. Sherwin (eds.), Ellenberg & Rifkin's diabetes mellitus, pp. 1-17. Stamford: Appleton&Large, 1997.
70. โภภาส เภฏฐากุล และ พัชรี ตั้งตุลยางกูร. โครงการสมุนไพรเพื่อการพึ่งตนเอง. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: ปาปิรุส พับลิเคชั่น, 2540.
71. นันทวัน บุญยะประภัศร. ก้าวไปกับสมุนไพร เล่ม 2. กรุงเทพมหานคร: ธรรมกมลการพิมพ์, 2528.
72. Tezuka, Y., et al. Constituents of the Vietnamese medicinal plant *Orthosiphon stamineus*. Chem. Pharm. Bull. 48 (November 2000): 1711-1719.
73. Awale, S., Tezuka, Y., Banskota, A. H., Kouda, K., Tun, K. M., and Kadota, S. Five novel highly oxygenated diterpenes of *Orthosiphon stamineus* from Myanmar. J. Nat. Prod. 64 (May 2001): 592-596.
74. Shibuya, H., Bohgaki, T., Matsubara, T., Watarai, M., Ohashi, K., and Kitagawa, I. Indonesian medical plants XXII. Chemical structures of two new isopimarane-type diterpenes, orthosiphones A and B and a new benzochromene, orthochromene A from the leaves of *Orthosiphon aristatus* (Lamiaceae). Chem. Pharm. Bull. 47 (May 1999): 695-698.
75. Shibuya, H., Bohgaki, T., and Ohashi, K. Two new migrated pimarane-type diterpenes, neoorthosiphols A and B from the leaves of *Orthosiphon aristatus* (Lamiaceae). Chem. Pharm. Bull. 47 (June 1999): 911-912.

76. Awale, S., Tezuka, Y., Kobayashi, M., Ueda, J., and Kadota, S. Neoorthosiphone A; nitric oxide(NO) inhibitory diterpene with new carbon skeleton from *Orthosiphon stamineus*. Tetrahedron Lett. 45 (February 2004): 1359-1362.
77. Awale, S., Tezuka, Y., Banskota, A. H., Kouda, K., Tun, K. M., and Kadota, S. Four highly oxygenated isopimarane-type diterpenes of *Orthosiphon stamineus*. Planta Med. 68 (March 2002): 286-288.
78. Awale, S., Tezuka, Y., Banskota, A. H., Shimoji, S., Taira, K., and Kadota, S. Norstaminane-and isopimarane-type diterpenes of *Orthosiphon stamineus* from Okinawa. Tetrahedron 58 (July 2002): 5503-5512.
79. Masuda, T., Masuda, K., and Nakatani, N. Orthosiphol A, a highly oxygenated diterpene from the leaves of *Orthosiphon stamineus*. Tetrahedron 33 (February 1992): 945-946.
80. Takeda, Y., et al. Orthosiphol D and E minor diterpenes from *Orthosiphon stamineus*. Phytochemistry 33 (1993): 411-415.
81. Awale, S., Tezuka, Y., Banskota, A. H., Adnyana, I. K., and Kadota, S. Nitric oxide inhibitory isopimarane-type diterpenes from *Orthosiphon stamineus* of Indonesia. J. Nat. Prod. 66 (February 2003): 255-258.
82. Awale, S., Tezuka, Y., Banskota, A. H., and Kadota, S. Siphonols A-E :novel nitric oxide inhibitors from *Orthosiphon stamineus* of Indonesia. Bioorg. Med. Chem. Lett. 13 (January 2003): 31-35.
83. Awale, S., Tezuka, Y., Banskota, A. H., Adnyana, I. K., and Kadota, S. Highly-oxygenated isopimarane-type diterpenes from *Orthosiphon stamineus* of Indonesia and their nitric oxide inhibitory activity. Chem. Pharm. Bull. 51 (March 2003): 268-275.
84. Malterud, K. E., Hanche-Olswan, I. M., and Smith-Kielland, I. Flavonoids from *Orthosiphon spicatus*. Planta Med. 55 (December 1989): 569-570.
85. Sumaryono, W., Proksch, P., Wray, V., Witte, L., and Hartmann, T. Qualitative and quantitative analysis of the phenolic constituents from *Orthosiphon aristatus*. Planta Med. 57 (January 1991): 176-180.

86. Seidel, W. Glycogen-accumulating effect of the extract of *Orthosiphon stamineus* leaves. Med. Monatsschr. 8 (August 1954): 535-543.
87. Cheah, J. S., and Tan, B. Y. The anti-diabetic action of the herb *Orthosiphon stamineus*. Fareastern Med. J. 6 (1970): 353.
88. Chen, C. P., Lin, C. C., and Namba, T. Screening of Taiwanese crude drugs for antibacterial activity against *Streptococcus mutans*. J. Ethnopharmacol. 27 (1989): 285-295.
89. Edwards, J. M., Raffauf, R. F., and Quesne, P. W. Antineoplastic activity and cytotoxicity of flavones, isoflavones and flavanones. J. Nat. Prod. 42 (1979): 85-91.
90. Guerin, J. C., and Reveillere, H. P. *Orthosiphon stamineus* as potent source of methylripariochromene A. J. Nat. Prod. 52 (1989): 171-175.
91. Masuda, T., Masuda, K., Shiragami, S., Jitoe, A., and Nakatani, N. Orthosiphol A and B novel diterpenoid inhibitors of 12-O -tetradecanoylphorbol-13-acetate(TPA)-induced inflammation from *Orthosiphon stamineus*. Tetrahedron 48 (August 1992): 6787-6792.
92. Ohashi, K., Bohgaki, T., Matsubara, T., and Shibuya, H. Indonesian medical plants XXII. Chemical structures of two new migrated pimarane-type diterpenes, neoorthosiphols A and B and suppressive effects on rat thoracic aorta of chemical constituents isolated from the leaves of *Orthosiphon aristatus* (Lamiaceae). Chem. Pharm. Bull. 48 (March 2000): 433-435.
93. Matsubara, T., Bongaki, T., Watarai, M., Suzuki, H., Ohashi, K., and Shibuya, H. Antihypertensive actions of methylripariochromene A of *Orthosiphon aristates*, an Indonesian traditional medicinal plant. Biol. Pharm. Bull. 22 (October 1999): 1083-1088.
94. Awale, S., Tezuka, Y., Banskota, A. H., Adnyana, I. K., and Kadota, S. Inhibition of NO producton by highly-oxygenated diterpenes of *Orthosiphon stamineus* and their structure-activity relationship. Biol. Pharm. Bull. 26 (April 2003): 468-473.

95. วีระสิงห์ เมืองมัน และ กฤษณา รัตนโอฬาร. การใช้สมุนไพรรักษาโรคระบบปัสสาวะ. วารสารยูโรแห่งประเทศไทย 8 (2527): 7-12.
96. Nirdnoy, M., and Muangman, V. Effect of folia orthosiphonis on urinary stone promoters and inhibitors. J. Med. Assoc. Thai. 74 (1991): 318-321.
97. Premgamone, A., Sriboonlve, P., Disatapornjaroen, W., Maskasem, S., Sinsupan, N., and Apinives, C. A long-term study on the efficacy of a herbal plant, *Orthosiphon grandiflorus*, and sodium potassium citrate in renal calculi treatment. Southeast. Asian. J. Trop. Med. Public. Health. 32 (2001): 654-660.
98. Chanaral, N., Amatrat, A., Apisariyakul, A., Fujihara, M., and Naguma, T. Effect of *Orthosiphon aristatus* hot-water extract as hypoglycemic agent. Bull. Chiang Mai Assoa. Med. Sci. 30 (1997)(Suppl 1): S32-S39.
99. ยุกดี วงษ์กระจ่าง, ถนอมศรี วงศ์รัตนาสถิตย์, คณิต อธิสุข, ปราณีย์ ใจอาจ และ เพ็ญโฉม พิ้งวิชา. พิษวิทยาของหญ้าหนวดแมว. วารสารเภสัชวิทยา 12 (2533): 63-69.
100. ทรงพล ชีวะพัฒน์, เอมันัส หวังหมัด, พิช รัชชามัน, วิสุทธิ์ อ่อนเถื่อน และ ปราณีย์ จันทรเพ็ชร. พิษเว็ร้งของหญ้าหนวดแมว. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 35 (ตุลาคม 2536): 213-225.
101. Asami, D. K., Hong, Y. J., Barrett, D. M., and Mitchell, A. E. Comparison of the total phenolic and ascorbic acid content of freeze-dried and air-dried marionberry, strawberry, and corn grown using conventional, organic, and sustainable agricultural practices. J. Agric. Food Chem. 51 (2003): 1237-1241.
102. Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., and Chern, J. C. Estimation of total flavonoids content in propolis by two complementary colorimetric methods. J. Food Drug Anal. 10 (2002): 178-182.
103. Yibchok-anun, S., Cheng, H., Heine, P. A., and Hsu, W. H. Characterization of receptor mediating AVP-and OT-induced glucagon release from the rat pancreas. Am. J. Physiol. 277 (Endocrinol. Metab. 40)(1999): E56-E62.
104. Craig, W. J. Phytochemicals: Guardians of our health. J. Am. Diet. Assoc. 97(1997)(Suppl2): S199-S204.

105. Beppu, H., et al. Radical-scavenging effects of *Aloe arborescens* Miller on prevention of pancreatic islet  $\beta$ -cell destruction in rats. J. Ethnopharmacol. 89 (November 2003): 37-45.
106. Yogi, A., Kabash, A., Haraguchi, H., Moustafa, S. M., and Khalifa, T. I. Antioxidant, free radical scavenging and anti-inflammatory effects of aloesin derivatives in *Aloe vera*. Planta Med. 68 (2002): 957-960.
107. Droge, W. Free radical in the physiological control of cell function. Physiol. Rev. 85 (2002): 47-95.
108. Shetty, K. Role of proline-linked pentose phosphate pathway in biosynthesis of plants phenolics for functional food and environmental applications: a review. Process Biochem. In press (2003): 1-16.
109. Vats, V., Grover, J. K., and Rathi, S. S. evaluation of anti-hyperglycemic and hypoglycemic effect of *Trigonella foenum-graecum* Linn, *Ocimum sanctum* Linn and *Pterocarpus marsupium* Linn in normal and alloxanized diabetic rats. J. Ethnopharmacol. 79 (2002): 95-100.
110. Sharma, S. R., Dwivedi, S. K., Varshney, V. P., and Swarup, D. Antihyperglycemic and insulin release effects of *Aloe marmelos* leaves in streptozotocin-diabetic rats. Phytother. Res. 10(1996): 426-428.
111. Sharma, S. R., Dwivedi, S. K., and Swarup, D. Hypoglycemic, anti hyperglycemic and hypolipidemic activities of *Cesalpinia bonducella* seeds in rats. J. Ethnopharmacol. 58 (1997): 39-44.
112. Ojewole, J. A. O. Hypoglycemic effect of *Clausena anisata* (Willd) Hook methanolic root extract in rats. J. Ethnopharmacol. 81 (2002): 231-237.
113. Katoh, M., Ohmachi, Y., Kurosawa, Y., Yoneda, H, and Narita, H. Effects of imidapril and captopril on streptozotocin-induced diabetic nephropathy in mice. Eur. J. Pharm. 398 (2002): 381-387.
114. Grover, J. K., Yadav, S. P., and Vats, V. Effect of feeding *Murraya Koeingii* and *Brassica juncea* diet kidney functions and glucose levels in streptozotocin diabetic mice. J. Ethnopharmacol. 85 (2003): 1-5.
115. พงษ์ศักดิ์ วรรณไกรโรจน์ และ พิเชฐ สัมปทานุกุล. ตำราภาพจุลพยาธิวิทยา. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: Year Book Publisher, 2541.



ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ภาคผนวก ก

### การวัดระดับน้ำตาลในเลือดโดย Glucose oxidase test

#### สาร

1. เตรียม Peroxidase-glucose oxidase enzyme (PGO enzyme) solution  
โดยนำ PGO enzyme (Sigma Co, Catalog No.510-6) 1 แคปซูล มาละลายในน้ำกลั่น 100 มล. ในขวดสีชา
2. เตรียม Colour reagent solution  
นำ o-dianisidine dihydrochloride (Sigma Co, Catalog No.510-50) 1 ขวด (50 มก.) มาละลายในน้ำกลั่น 20 มล.
3. นำ Colour reagent solution มา 1.6 มล. ผสมกับ PGO enzyme solution 100 มล. เขย่าให้เข้ากัน เก็บในขวดสีชา
4. เตรียม glucose standards ที่ 50, 100 , 200, 300, 400, 500 และ 600 มก./มล.

#### วิธีการวิเคราะห์

1. นำตัวอย่างพลาสมา มา 10 ไมโครลิตร เติม PGO colour reagent 2 มล. ลงในหลอดทดลองผสมให้เข้ากัน
2. นำไป incubate ใน water bath ที่อุณหภูมิ 37°C นาน 30 นาที
3. นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร โดยเครื่อง Spectrophotometer (Shimadzu UV-160A)
4. สร้าง standard curve ของ glucose standard จากค่าดูดกลืนแสง
5. คำนวณหาค่าความเข้มข้นของกลูโคสจาก standard curve

## ภาคผนวก ข

### เทคนิคทางเนื้อเยื่อวิทยา

#### สาร

เตรียม 10% neutral buffered formalin

- 37%-40% formalin 100 มล.
- Distilled water 900 มล.
- Sodium phosphate monobasic 4 ก.
- Sodium phosphate dibasic(anhydrous) 6.5 ก.

#### ขั้นตอนการเตรียมเนื้อเยื่อ และขบวนการผ่านชิ้นเนื้อในสารละลายต่างๆ

1. นำเนื้อเยื่อแช่ใน 10% neutral buffered formalin(pH 7.4)
2. นำเนื้อเยื่อมาตัดให้ได้ขนาดตามที่ต้องการ
3. นำเนื้อเยื่อที่ตัดแต่งแล้วมา dehydrated, cleared และ embeded โดยแช่เนื้อเยื่อในสารละลายต่างๆ ตามขั้นตอน ดังนี้
  - 3.1 70% ethanol, 30 นาที , 2 ครั้ง
  - 3.2 80% ethanol, 30 นาที
  - 3.3 90% ethanol, 30 นาที
  - 3.4 100% ethanol, 30 นาที
  - 3.5 70% ethanol และ xylene(1:1,v:v), 30 นาที
  - 3.6 xylene, 30 นาที และ 1 ชั่วโมง ตามลำดับ
  - 3.7 soft, medium hard และ hard paraffins อย่างละ 30 นาที ตามลำดับ ที่ 58°C ภายใต้สูญญากาศ
  - 3.8 embeded เนื้อเยื่อ โดยเท paraffin ลงในพิมพ์ที่มีเนื้อเยื่ออยู่
4. นำเนื้อเยื่อที่อยู่ในพิมพ์ paraffin มาตัด โดยให้มีความหนา 5ไมครอน
5. นำเนื้อเยื่อมาติดบน glass slide โดยใช้ standard warm water technique และรอให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง 1 คืน
  6. ย้อมสี slides ด้วย Hematoxylin&Eosin โดยแช่เนื้อเยื่อ ตามขั้นตอน ดังนี้
    - 6.1 100% ethanol, 2 นาที
    - 6.2 95% ethanol, 2 นาที



- 6.3 80% ethanol, 2 นาที
- 6.4 70% ethanol, 2 นาที
- 6.5 Distilled water, 2 นาที
- 6.6 Harris hematoxylin, 8 นาที
- 6.7 80% ethanol, 2 นาที
- 6.8 Eosin, 2 นาที
- 6.9 95% ethanol, 2 นาที
- 6.10 100% ethanol, 2 นาที
- 6.11 xylene, 2 นาที, 2 ครั้ง

7. นำ slides ที่ผ่านการย้อมสีแล้ว มาปิดด้วย cover slips โดยใช้น้ำยา Permount หยดก่อน 1-2 หยด รอให้แห้ง โดยทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 1 คืน



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ภาคผนวก ค

## Krebs-Ringer bicarbonate buffer(KRB)

Stock solution 1:

- NaCl	27.7	กรัม/ลิตร
--------	------	-----------

Stock solution 2:

- CaCl <sub>2</sub>	1.494	กรัม/ลิตร
---------------------	-------	-----------

Stock solution 3:

- KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.648	กรัม/ลิตร
-----------------------------------	-------	-----------

Stock solution 4:

- KCL	1.413	กรัม/ลิตร
-------	-------	-----------

- NaHCO <sub>3</sub>	8.401	กรัม/ลิตร
----------------------	-------	-----------

- MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	1.173	กรัม/ลิตร
--	-------	-----------

นำ stock solution ทั้ง 4 มาผสมกันในบีกเกอร์อย่างละ 50 มล. ถ้าต้องการ KRB 200 มล.

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ภาคผนวก ง

### การวัดระดับอินซูลินโดย Radioimmunoassay

#### สาร

1. เตรียม  $^{125}\text{I}$  insulin  
โดยนำ  $^{125}\text{I}$  insulin (DPC<sup>®</sup>) 1 ขวดมาเติมน้ำกลั่นไปประมาณ 45 มล. เขย่าให้เข้ากัน
2. เตรียม rat insulin ที่ 5, 12.5, 50, 75, 100 และ 1000 นาโนกรัม/มล.

#### วิธีวิเคราะห์

1. นำตัวอย่างมา 100 มล. ใส่ลงในหลอดที่ถูกฉาบด้วย antibodies ของ insulin (Insulin Ab-Coated Tubes)(DPC<sup>®</sup>)
2. เติม  $^{125}\text{I}$  insulin 0.5 มล. ลงไปในหลอดที่มีตัวอย่าง เขย่าให้เข้ากัน
3. ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 15-28°C ประมาณ 18-24 ชั่วโมง
4. เทของเหลวภายในหลอดทิ้ง
5. นำไปเข้าเครื่อง Gamma counter (The nucleus, Model 600) นาน 2 นาที อ่านค่าที่ได้
6. สร้าง standard curve ของ rat insulin
7. คำนวณหาความเข้มข้นของอินซูลินจากค่า counts per minute (CPM) และ standard curve ของ rat insulin

## ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวกมลวรรณ ศรีปลั่ง เกิดเมื่อวันที่ 9 เมษายน พ.ศ.2522 ที่จังหวัด เพชรบูรณ์ สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมที่โรงเรียนวิทยานุกูลนารี อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์ เข้า ศึกษาที่ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล สำเร็จการศึกษาปริญญาตรี วิทยาศาสตร์บัณฑิต เมื่อปีการศึกษา 2543 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรเภสัชวิทยา สาขาวิชา เภสัชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2544 ถึง 2546



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย