

ประเทศ จึงจัดความสำคัญของการวิจัยในด้านนี้ไว้เป็นลำดับแรก โดยในเบื้องต้นจะทำการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากตำรับยาเบาหวาน ของหมอทรงพล เดชพันธุ์ จากจังหวัดสกลนคร โดยจะทำการศึกษาด้านต่างๆที่เกี่ยวข้อง คือ ความสามารถลดน้ำตาลในเลือดของผู้ป่วยเบาหวาน โดยจะทำการทดลองในหนูทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ทดสอบความเป็นสารปฏิชีวนะ รวมถึงความเป็นพิษของยาสมุนไพร ในกรณีที่ผลการทดลองสอดคล้องกับสมมติการเป็นยารักษาเบาหวานได้ดี ก็จะเป็นโจทย์ให้ทำวิจัยเชิงลึกในขั้นต่อไป นอกจากนี้ยังสามารถนำรูปแบบของการวิจัยนี้ไปใช้ศึกษาตำรับยาสมุนไพรไทยอื่นๆได้

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. ตรวจสอบฤทธิ์ของสารสกัดตำรับยาต่อระดับน้ำตาลในเลือดของหนูเบาหวาน
2. ศึกษาลักษณะและความผิดปกติของเนื้อเยื่ออวัยวะของหนูเบาหวานที่ได้รับสารสกัด
3. ตรวจสอบฤทธิ์ของสารสกัดต่อ glucose tolerance ของหนูปกติและหนูเบาหวาน
4. ทดสอบสมมติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด
5. ทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดต่อเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรบบางชนิด

การทดลอง

I. การสกัด

1. การสกัดและระเหยน้ำออกโดยวิธี spray dry

นำยาสมุนไพรตำรับยารักษาโรคเบาหวานจำนวน 10 ชุด ชั่งน้ำหนักรวมทั้งหมดได้ 1,583 กรัม แต่ละชุด ประกอบด้วยพืช 12 ชนิด โดยแยก และน้ำหนักของสมุนไพรแต่ละชนิดตามตารางที่ 1 ทำการสกัดสาร และระเหยแห้ง ดังรายละเอียดต่อไปนี้

- 1.1 นำตัวอย่างไปสับเป็นชิ้นเล็กๆ แล้วนำไปต้มด้วยน้ำในอัตราส่วน ตำยา 1 ชุด ต่อ น้ำ 1 ลิตร โดยใช้ เวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นกรองเอาน้ำต้มเก็บไว้
- 1.2 นำกากไปต้มอีกครั้งหนึ่ง โดยใช้ น้ำ 1 ลิตร ตามวิธีในข้อ 1 กรองเอากากออก
- 1.3 นำน้ำที่ต้มได้จากทั้ง 2 ครั้งไปรวมกัน จะได้ปริมาตรของสารสกัด ประมาณ 1.16 ลิตร
- 1.4 ทำการต้มยาชุดที่เหลือตามวิธีข้างต้น ได้น้ำสกัดตำยาทั้งหมด 11.6 ลิตร
- 1.5 นำสารสกัดไประเหยน้ำออกโดยวิธีฉีดพ่นบนแผ่นความร้อน (spray dry) เนื่องจากกระบวนการที่ทำให้แห้งในระบบนี้ หลังจากที่น้ำระเหยออกหมด จะได้สารเหนียวติดอยู่ที่เครื่อง ซึ่งยากต่อการเอาสารออก จึงต้องใช้สาร maltodextrin ผสมเข้าไปด้วย โดยมีอัตราส่วน สาร dextrin 100 กรัม ต่อ น้ำ สารสกัด 1 ลิตร อย่างไรก็ตาม สามารถขูดสารผสมซึ่งอยู่ในรูปผงแห้งเพียง 615 กรัม (ควรได้ 1,156 กรัม) ที่เหลือติดอยู่ในระบบ

ตารางที่ 1 แสดง ชนิดและน้ำหนักของพืชจากตำรับยาเบาหวาน 10 ชุด

ชนิดของพืช	น้ำหนัก (กรัม)/ 10 ชุด	น้ำหนัก (กรัม)/ 1 ชุด
1. ใบชี้หนอน	117	11.7
2. ใบชี้หนอนน้อย	111	11.1
3. ใบชี้หนอนใหญ่	138	13.8
4. เห้ม (เนื้อไม้)	188	18.8
5. ต้นข้าวโพด	118	11.8
6. ดอกข้าวโพด	49	4.9
7. หัวหนอนตายยาก	81	8.1
8. ต้นอ้อยดำ	220	22.0
9. รากเสี้ยวแดง	135	13.5
10. ประดงเลือด (เนื้อไม้)	177	17.7
11. กระท่อมเลือด (เนื้อไม้)	20	2.0
12. ยอป่า (เนื้อไม้)	129	12.9
รวม	1,583	158.3

2. การสกัดการสกัดและระเหยน้ำออกโดยวิธี ลดความดัน

- 2.1 นำตัวอย่างไปสับเป็นชิ้นเล็กๆ แล้วนำไปต้มด้วยน้ำในอัตราส่วน ตำยา 2 ชุด ต่อน้ำ 2 ลิตร จำนวน 10 ชุด โดยใช้เวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นกรองเอาน้ำต้มเก็บไว้
- 2.2 นำกากไปต้มอีกครั้งหนึ่ง โดยใช้ น้ำ 2 ลิตร ตามวิธีในข้อ 1 กรองเอากากออก
- 2.3 นำน้ำที่ต้มได้จากทั้ง 2 ครั้งไปรวมกัน จะได้ปริมาตรของสารสกัด ประมาณ 3 ลิตร (ต่อยา 2 ชุด)
- 2.4 ระเหยน้ำออกด้วยเครื่องแบบลดความดันจนแห้ง ซึ่งน้ำหนักสารที่สกัดได้ทั้งหมด 160 กรัม
- 2.5 นำสารไปทดสอบการต้านเชื้อแบคทีเรียชนิดต่างๆ หาความเป็นพิษในหนูทดลอง สารต้านอนุมูลอิสระ และอื่นๆ

II. การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัด

1. การตรวจสอบฤทธิ์ของสารสกัดต่อระดับน้ำตาลในเลือดของหนูเบาหวานที่เหนียวนำด้วยสาร streptozotocin

มีขั้นตอนการวิจัยดังนี้

- 1.1 การเหนียวนำสัตว์ทดลองให้อยู่ในภาวะเบาหวานชนิดที่ 1 ด้วยสาร streptozotocin ให้นุหนูแรพพันธุ์ Sprague Dawley เพศผู้ น้ำหนัก 200-250 กรัม ฉีดสาร streptozotocin ขนาด 55 mg/kg เข้าบริเวณช่องท้อง สารนี้จะทำลาย β -cell ของตับอ่อน ทำให้ไม่สามารถสร้างอินซูลิน ในวันที่ 5 และ 10

หลังจากฉีด streptozotocin จะเก็บเลือดจากหลอดเลือดดำที่หาง นำมาตรวจวัดระดับ glucose ในเลือดโดยใช้เครื่อง glucometer (Advantages®) หากสัตว์ทดลองมีระดับน้ำตาลในเลือดหลังอดอาหาร 8-12 ชั่วโมง (fasting blood glucose) มากกว่า 180 mg/dl จึงจะนำเข้ากลุ่มการทดลองต่อไป

1.2 แบ่งกลุ่มการทดลอง

สัตว์ทดลองทดลองในแต่ละกลุ่มมีจำนวน 7 ตัว และแบ่งกลุ่มการทดลองดังนี้

1.3 หนูควบคุมปกติ

หนูแรทปกติได้รับการป้อนน้ำกลั่นติดต่อกันเป็นเวลา 1 สัปดาห์

1.4 หนูปกติที่ได้รับสารสกัดของตำรับยาเบาหวาน

หนูแรทปกติได้รับการป้อนสารสกัดตำรับยาเบาหวาน 1 g/kg ติดต่อกันเป็นเวลา 1 สัปดาห์

1.5 กลุ่มควบคุมหนูเบาหวาน

หนูแรทเบาหวานได้รับการป้อนน้ำกลั่นติดต่อกันเป็นเวลา 1 สัปดาห์

1.6 กลุ่มหนูแรทเบาหวานที่ได้รับอินซูลิน (positive control)

หนูแรทเบาหวานจะได้รับการฉีดอินซูลิน 4 U/kg/d (Monotard®) แบ่งฉีด เข้า-เย็น ติดต่อกันเป็นเวลา 1 สัปดาห์

1.7 กลุ่มหนูแรทเบาหวานที่ได้รับสารสกัดตำรับยาเบาหวาน

หนูแรทเบาหวานจะได้รับการป้อนสารสกัดตำรับยาสกลนครขนาด 0.25, 0.5 และ 1.0 g/kg ติดต่อกัน 1 สัปดาห์ เมื่อสัตว์ทดลองได้รับสารทดสอบครบ 1 สัปดาห์ จะนำสัตว์ทดลองมาอดอาหาร 12-14 ชั่วโมง และเก็บเลือดจากหลอดเลือดดำที่หาง ตรวจสอบระดับน้ำตาลในเลือด และทำการทดสอบความทนต่อระดับน้ำตาลที่สูงขึ้นอย่างเฉียบพลัน (oral glucose tolerance test)

2. การทดสอบความทนต่อระดับน้ำตาลที่สูงขึ้นอย่างเฉียบพลัน (oral glucose tolerance test; OGTT)

หนูปกติหรือหนูแรทเบาหวานจะได้รับการป้อนสารสกัดตำรับยาเบาหวานในขนาด 0.25, 0.5 และ 1.0 g/kg/d หรือ ฉีดอินซูลิน 4 U/kg/d (Monotard®) ติดต่อกันเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ นำหนูแรทปกติหรือหนูแรทเบาหวานมาอดอาหารและการให้ยา 12-14 ชั่วโมง เก็บเลือดวัดระดับน้ำตาลที่เวลา 0 จากนั้น ป้อนน้ำตาลกลูโคส 2 g/kg แล้วเจาะเก็บเลือดตรวจวัดระดับน้ำตาลอีกครั้งที่เวลา 0.5, 1 และ 2 ชั่วโมง หลังป้อนน้ำตาล เปรียบเทียบระดับน้ำตาลในเลือดก่อนและ หลังป้อนน้ำตาลในช่วงเวลาต่างๆกัน ตามวิธีการทดลองที่ได้เคยรายงานไว้ (Neowaboot et al. 2009)