

ผลของสารสกัดดอกบัวหลวงต่อหนูขาวสายพันธุ์ GK/Jcl

Effects of *Nelumbo nucifera* Flower Extract on GK/Jcl Ratsเทพพิทักษ์ จิวกว้าง¹, นพรัตน์ พุทธกาล^{2*}Theppituk Jewkrang¹, Nopparat Buddhakala^{2*}

Received: 28 January 2019 ; Revised: 10 June 2019 ; Accepted: 25 June 2019

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดดอกบัวหลวงต่อการต้านอนุมูลอิสระ การลดระดับน้ำตาลในเลือด ค่าเคมีโลหิต และระดับฮอร์โมนอินซูลินในหนูขาวสายพันธุ์ GK/Jcl ทำการสกัดสารจากดอกบัวหลวงด้วยเอทานอล 95 % วิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีด้วยเครื่อง GC-MS ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และทดสอบฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือดโดยการแบ่งหนูทดลองออกเป็น 5 กลุ่ม ๆ ละ 6 ตัว กลุ่มที่ 1 หนูควบคุมที่ได้รับน้ำกลั่น กลุ่มที่ 2 หนูที่ได้รับยาไกลเบนคลาไมด์ขนาด 0.25 mg/kg กลุ่มที่ 3, 4 และ 5 หนูที่ได้รับสารสกัดดอกบัวหลวงขนาด 100, 250 และ 500 mg/kg ตามลำดับ บันทึกระดับน้ำตาลในเลือดหนูทดลองวันที่ 1 วันที่ 4 และวันที่ 8 เมื่อทดลองครบ 8 วัน เก็บตัวอย่างเลือดจากหัวใจหนูเพื่อตรวจวิเคราะห์ค่าเคมีโลหิต และระดับฮอร์โมนอินซูลิน ผลการทดลองพบสารเคมีที่เป็นองค์ประกอบของสารสกัดจำนวน 87 ชนิดเป็นสารที่พบในปริมาณมาก 5 ชนิด คือ Nonacosan-10-ol (26.89%), *n*-Hexadecanoic acid (14.51 %), 9, 12-Octadecadienoic acid (Z,Z)- (9.47 %), 9, 12, 15-Octadecatrienoic acid, (Z,Z,Z)- (6.47 %) และ 6 α -beta-Aporphine, 1, 2-dimethoxy- (3.02 %) และสารปริมาณน้อย 82 ชนิด สารสกัดดอกบัวหลวงที่มีความเข้มข้น 400 μ g/ml มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสาร BHT โดยมีเปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูลอิสระเป็น 87.25 \pm 1.05% และ 49.57 \pm 1.22% ตามลำดับ นอกจากนี้สารสกัดดอกบัวหลวงที่ขนาด 100, 250 และ 500 mg/kg ทำให้หนูกลุ่มที่ 3 กลุ่มที่ 4 และกลุ่มที่ 5 มีระดับน้ำตาลในเลือดลดลงมาใกล้เคียงกับหนูกลุ่มที่ 2 แต่หนูที่ได้รับสารทดสอบทุกกลุ่มมีระดับฮอร์โมนอินซูลินในซีรัมไม่แตกต่างกันและไม่แตกต่างจากหนูกลุ่มควบคุม การศึกษาครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าสารสกัดดอกบัวหลวงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือดฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือดส่วนหนึ่งเกิดจากสารออกฤทธิ์ที่เป็นองค์ประกอบของสารสกัด โดยไม่เกี่ยวข้องกับฮอร์โมนอินซูลินในซีรัม สารสกัดดอกบัวหลวงจึงเหมาะในการนำมารักษาผู้ป่วยที่มีระดับน้ำตาลในเลือดสูง หรือเริ่มเป็นเบาหวาน

คำสำคัญ: สารสกัดดอกบัวหลวง องค์ประกอบทางเคมี ฤทธิ์ทางชีวภาพ หนูขาวสายพันธุ์ GK/Jcl

Abstract

The aims of this research were to analyze the chemical components and to determine the biological activities of *Nelumbo nucifera* flower extract on antioxidant activity, hypoglycemic activity, blood chemistry and serum insulin levels in GK/Jcl rats. The *N. nucifera* flower extract was prepared by macerating *N. nucifera* flower powder in 95% ethanol. The chemical components of the extract were analysed using GC-MS. The antioxidant activity was tested using DPPH assay. To determine the hypoglycemic activity of the extract, the rats were equally divided into 5 groups with 6 rats in each; groups 1: control rats received distilled water, group 2: rats received 0.25 mg/kg Glibenclamide, groups 3, 4 and 5: rats received 100, 250 and 500 mg/kg *N. nucifera* flower extract, respectively. Blood glucose levels were recorded on day 1, 4, and 8. On day 8, the blood was collected by cardiac puncture and serum was separated for analysis of blood chemistry

¹ นักศึกษาปริญญาโท, ² ผู้ช่วยศาสตราจารย์, สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี อำเภอธัญบุรี จังหวัดปทุมธานี 12110

¹ Master of Science Student, Program in Biology, ² Assist. Prof. Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Thanyaburi, Thanyaburi District, Pathum Thani 12110, Thailand

* Corresponding author: E-mail: nopparat_b@rmutt.ac.th

and serum insulin levels. The results revealed that 87 chemical components were found in the extract with 5 main compounds; Nonacosan-10-ol (26.89 %), *n*-Hexadecanoic acid (14.51 %), 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)- (9.47 %), 9, 12, 15-Octadecatrienoic acid, (Z,Z,Z)- (6.74 %) and 6a-beta-Aporphine, 1, 2-dimethoxy- (3.02 %), and 82 trace components. At a concentration of 400 µg/ml, the extract showed a higher antioxidant activity than BHT with a percentage radical scavenging of $87.25 \pm 1.05\%$ and $49.57 \pm 1.22\%$, respectively. The extract at doses of 100, 250 and 500 mg/kg lowered the blood glucose level of the rats in group 3, group 4 and group 5 closely to those in group 2. However, the serum insulin levels of all experimental groups and the control group were not significantly different. The results of this study indicate that *N. nucifera* flower extract possesses antioxidant and hypoglycemic activity. The underlying mechanism of hypoglycemic activity is partially due to the active compounds found in the extract excluding the responsibility of serum insulin. *N. nucifera* flower extract is feasible for treating people with high blood glucose levels or at an initial stage of diabetes.

Keywords: *Nelumbo nucifera* flower extract, Chemical components, Biological activity, GK/Jcl rat

บทนำ

ผู้ป่วยเบาหวานเรื้อรังพบได้ในทุกเพศ ทุกวัย แต่พบได้มากในผู้สูงอายุที่มีข้อมูลรายงานจากสหพันธ์เบาหวานนานาชาติ (International Diabetes- Federation, IDF) ว่าในปี พ.ศ.2558 มีผู้ป่วยเบาหวานทั่วโลก (อายุ 20-79 ปี) จำนวน 415 ล้านคน และคาดว่าในปี พ.ศ. 2583 จะมีผู้ป่วยเบาหวานสูงถึง 642 ล้านคน ประมาณร้อยละ 90 ของผู้สูงอายุป่วยเป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 2 มักมีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคแทรกซ้อน เช่น โรคหัวใจ โรคหลอดเลือดสมอง โรคไตวาย และโรคความดันโลหิตสูง เป็นต้น โรคดังกล่าวเป็นอันตรายต่อชีวิตและทำให้ผู้ป่วยมีคุณภาพชีวิตเสื่อมลงอายุสั้นลง และมีค่าใช้จ่ายในการรักษาสูง จึงเป็นปัญหาด้านสาธารณสุข¹ การรักษาเบาหวานโดยแพทย์แผนปัจจุบันต้องคอยควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดของผู้ป่วยให้มีค่าใกล้เคียงกับค่าปกติ (70-99 mg/dl) ด้วยการรับประทานยาเม็ด เช่น ยาอะคาร์โบส (Acarbose) เมทฟอร์มิน (Metformine) ไกลเบนคลาไมด์ (Glibenclamide) หรือฉีดฮอร์โมนอินซูลินโดยต่อเนื่องเนื่องจากยาเหล่านี้ก่อให้เกิดผลข้างเคียงต่อผู้ป่วยเบาหวาน เช่น ทำให้เกิดอาการท้องอืด ท้องเฟ้อ ท้องร่วง กระเพาะอาหารอักเสบ และเกิดบาดแผลในกระเพาะอาหาร² มีรายงานว่าร้อยละ 67 ของผู้ป่วยเบาหวานได้ใช้สมุนไพรในการรักษาควบคู่กับยาแผนปัจจุบัน การควบคุมอาหาร และการออกกำลังกาย ซึ่งทำให้ผู้ป่วยเบาหวานมีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้นอายุยืนมากขึ้น และลดค่าใช้จ่ายในการรักษาโรคเบาหวาน หรือลดโรคแทรกซ้อนจากเบาหวานได้ดีขึ้น สมุนไพรที่นิยมใช้ในการลดระดับน้ำตาลในเลือดผู้ป่วยเบาหวาน ได้แก่ บอระเพ็ด ขิง ใบชะพลู กระเทียม มะระ กระเจี๊ยบแดง ดอกคำฝอย พริก และบัวหลวง เป็นต้น³

บัวหลวง (*Nelumbo nucifera* Gaerth ; Sacred lotus) พบได้ในภูมิภาคเขตอบอุ่นและเขตร้อน บริเวณที่ราบลุ่มบ่อน้ำ

และหนองน้ำ โดยพบมากในประเทศแถบทวีปเอเชีย เช่น จีน ทิเบต อินเดียไทยและในประเทศออสเตรเลีย⁴ บัวหลวงถูกนำมาใช้ในการรักษาอาการของโรคต่าง ๆ ดังนี้

ดอกบัวหลวงใช้รักษาโรคความดันโลหิตสูง โรคเมเร็ง เพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของไต มีฤทธิ์ต้านจุลชีพ ขยายหลอดเลือด เพิ่มสมรรถภาพทางเพศ ป้องกันโรคหลอดเลือดหัวใจ ปรับสมดุลของอุณหภูมิในร่างกาย ลดระดับน้ำตาลในเลือด ลดระดับไขมันในเลือด และต้านอนุมูลอิสระ⁵

ใบบัวหลวง ใช้รักษาอาการท้องร่วง อาการไข้สูง รักษาโรคติดเชื้อทางเดินหายใจ โรคผิวหนังอักเสบ ป้องกันโรคอ้วน รักษาโรคหลอดเลือดหัวใจ ลดระดับไขมันในเลือด และต้านอนุมูลอิสระ⁶

รากบัวหลวง ใช้ในการรักษาอาการไข้สูง มีฤทธิ์ขับปัสสาวะ รักษาโรคอ้วน ลดระดับน้ำตาลในเลือด และต้านอนุมูลอิสระ¹⁰

เมล็ดบัวหลวง ใช้บำรุงม้าม แก้ไอ รักษาความผิดปกติของระบบประสาท อาการนอนไม่หลับ รักษาโรคความดันโลหิตสูง ต้านอักเสบ ต้านไวรัส ป้องกันโรคอ้วน และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ¹¹ เนื่องจากบัวหลวงมีองค์ประกอบของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น อัลคาลอยด์ (Alkaloids) สเตียรอยด์ (Steroids) ไตรเทอร์ปีนอยด์ (Triterpenoids) ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) ไกลโคไซด์ (Glycosides) และพอลิฟีนอล (Polyphenol) เป็นต้น^{12,13} ชาริณีได้ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของกลีบดอกบัวหลวงที่สกัดด้วยเอทานอล 95 % ด้วยวิธี DPPH assay โดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัดเป็น 0.03125, 0.0625, 0.125, 0.25, 0.5, 1 และ 2mg/ml พบว่าสารสกัดทั้งสองชนิดของกลีบดอกบัวหลวงสีขาวและสีชมพูมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดที่ความเข้มข้น 0.25mg/ml โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระเท่ากับ $94.95 \pm 0.00\%$ และ $95.44 \pm 0.22\%$

ตามลำดับ¹⁴ มีรายงานการศึกษาฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือดพบว่าสารสกัดดอกบัวหลวงขนาด 250 mg/kg สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดของหนูเบาหวานที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย Streptozotocin ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับหนูเบาหวานกลุ่มควบคุม¹⁵

งานวิจัยครั้งนี้ได้ใช้หนูขาวสายพันธุ์ GK/Jcl ซึ่งเป็นหนูที่พัฒนามาจากหนูขาวสายพันธุ์วิสตา (Wistar rats) ให้เป็นหนูกลุ่มโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ที่พัฒนาจากหนูขาวต่างสายเลือดกันจำนวน 30 รุ่น โดยโยชิโอะ โกโตะ และมาซาเอะ คาชิซากิ จากมหาวิทยาลัยโตโฮคุ ในปีค.ศ. 1975 ได้ผสมพันธุ์หนูขาวสายพันธุ์นี้เพื่อผลิตเป็นหนูเบาหวานชนิดที่ 2 ตั้งแต่อายุ 4 สัปดาห์ มีค่าระดับน้ำตาลในเลือดสูงถึง 200 mg/dl และระดับฮอร์โมนอินซูลินในเลือดต่ำ (Hypoinsulinemia)¹⁶ แต่มีระดับไขมันในเลือดปกติ (Normalipidemia) มีความต้านทานน้ำตาลกลูโคสบกพร่อง (Impaired glucose tolerance) และเริ่มมีอาการของโรคแทรกซ้อนเบาหวานเกิดขึ้น เช่น โรคแทรกซ้อนทางตา (Retinopathy) โรคแทรกซ้อนทางไต (Nephropathy) โรคเส้นประสาท (Neuropathy) โรคกล้ามเนื้อหัวใจเสื่อม (Cardiomyopathy) และการทำงานของตับบกพร่อง (Hepatic impairment)¹⁷ นอกจากนี้ Porthaet *al.* ได้รายงานเกี่ยวกับการลดลงของมวลตับอ่อน และการทำงานที่ผิดปกติของเบต้าเซลล์ มีสาเหตุมาจากพันธุกรรม ส่งผลให้ยีนควบคุมการหลั่งฮอร์โมนอินซูลินบกพร่องและสารตัวรับน้ำตาลกลูโคส (GLUT4)¹⁸ มีการทำงานลดลง เนื่องจากเมแทบอลิซึมที่ผิดปกติทำให้เกิดภาวะของระดับน้ำตาลในเลือดสูง เบต้าเซลล์ในตับอ่อนลดจำนวนลงอย่างต่อเนื่องทำให้อินซูลินที่ผลิตขึ้นไม่สามารถควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดให้อยู่ในภาวะปกติได้¹⁹

วัตถุประสงค์ของการทดลอง

1. เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดดอกบัวหลวง
2. เพื่อทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดดอกบัวหลวงต่อการต้านอนุมูลอิสระการลดระดับน้ำตาลในเลือด ค่าเคมีโลหิต และระดับฮอร์โมนอินซูลินในหนูขาวสายพันธุ์ GK/Jcl

วิธีการทดลอง

1. การเตรียมสารสกัดดอกบัวหลวง
เลือกเก็บดอกบัวหลวงที่เจริญเติบโตเต็มที่ มีลักษณะดอกสมบูรณ์ไม่เป็นโรค และพร้อมที่จะบานจากบ่อน้ำสาธารณะบริเวณตำบลคลองหกอำเภอรัญบุรีจังหวัดปทุมธานี นำดอกบัวหลวงมาล้างให้สะอาด จากนั้นหั่นทุกส่วนของ

ดอกบัวเป็นชิ้นเล็กๆ นำมาอบที่อุณหภูมิ 50°C จนแห้ง แล้วบดเป็นผงจากนั้นนำไปหมักในตัวทำละลายเอทานอล 95 % ในอัตราส่วนผงดอกบัว 400 กรัม ต่อเอทานอล 1 ลิตร หมักส่วนผสมทิ้งไว้เป็นเวลา 1 สัปดาห์แล้วกรองเอาส่วนที่เป็นกากออกด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 นำส่วนที่กรองได้มาระเหยเพื่อกำจัดตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง Rotary evaporator จนกระทั่งได้ส่วนที่เป็นสารสกัดหยาบ (Crude extract) แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C¹⁵ เพื่อรอการนำไปทดลอง

2. วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

นำสารสกัดที่ได้ไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีด้วยเครื่อง GC-MS (Gas Chromatograph-Mass Spectrometer) การตรวจวัดด้วยเครื่อง GC-MS ในครั้งนี้ใช้แก๊สฮีเลียม 99.99 % เป็นตัวพาคอลัมน์ที่ใช้คือ Agilent- CP9205 VF-WAXms (30 mx 0.25 ml x 0.25 ml) ที่มีอัตราการไหลเท่ากับ 1 ml/min โดยมีอุณหภูมิเริ่มต้นของคอลัมน์เท่ากับ 45 °C เป็นเวลา 2 min จากนั้นจึงเพิ่มอุณหภูมิในอัตรา 4.5 °C/min จนถึง 250°C แล้วฉีดสารทดสอบในส่วนของ Mass Spectrometer มีอุณหภูมิของแหล่งกำเนิดอิเล็กตรอนเท่ากับ 230 °C และอุณหภูมิส่วนตัดแยกเท่ากับ 150 °C โดยพลังงานของอิเล็กตรอนที่วิ่งชนโมเลกุลของสารเท่ากับ 70 eV จากนั้นนำข้อมูลที่ได้มาเปรียบเทียบกับข้อมูลใน Mass Hunter Software โดยส่งตรวจวิเคราะห์หาค่า ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ จังหวัดสงขลา

3. ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

ได้ประยุกต์จากวิธีการของสาวิตรีโดยเตรียมสารละลาย DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ความเข้มข้น 60 µg/ml ในเอทานอล 99% จากนั้นเตรียมสารทดสอบ (สารสกัดดอกบัวหลวง และสาร BHT) ความเข้มข้น 25, 50, 100, 200 และ 400 µg/ml ในตัวทำละลายเอทานอล 99% นำสารทดสอบแต่ละความเข้มข้น ปริมาตร 750 µl เติลงในหลอดทดลองแล้วเติมสารละลาย DPPH ปริมาตร 750 µl ลงในหลอดทดลองตั้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 20 นาที หลังจากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 517 nm²⁰ และคำนวณเปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูลอิสระจากสูตร

$$\% \text{ Radical scavenging} = \frac{A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}}} \times 100$$

A_{control} = ค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุม

A_{sample} = ค่าการดูดกลืนแสงของชุดทดสอบ

4. การเตรียมสัตว์ทดลอง

4.1 ใช้หนูขาวสายพันธุ์ GK/Jcl (ประเทศญี่ปุ่น) เพศผู้ อายุ 11 สัปดาห์ จำนวน 30 ตัวน้ำหนัก 200-250 g นำมาเลี้ยงที่ห้องปฏิบัติการสัตว์ทดลอง สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) ซึ่งผ่านการรับรองจริยธรรมในสัตว์เพื่อการวิจัยเลขที่ PS-59004 โดยควบคุมอุณหภูมิ $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ให้ได้รับแสงสว่าง 12 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์และให้หนูได้รับอาหารและน้ำตลอดการทดลอง

4.2 วางแผนการทดลองแบบ CRD โดยแบ่งหนูทดลองออกเป็น 5 กลุ่ม ๆ ละ 6 ตัวโดยประยุกต์วิธีการจากงานวิจัยที่สัมพันธ์กับงานวิจัยครั้งนี้^{21, 22, 23} ดังนี้

กลุ่มที่ 1 หนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับน้ำกลั่น

กลุ่มที่ 2 หนูที่ได้รับยาไกลเบนคลาไมด์ขนาด 0.25mg/kg

กลุ่มที่ 3 หนูที่ได้รับสารสกัดดอกบัวหลวงขนาด 100mg/kg

กลุ่มที่ 4 หนูที่ได้รับสารสกัดดอกบัวหลวงขนาด 250mg/kg

กลุ่มที่ 5 หนูที่ได้รับสารสกัดดอกบัวหลวงขนาด 500mg/kg

บันทึกข้อมูลระดับน้ำตาลในเลือดในภาวะอดอาหารของหนูทุกตัวในวันที่ 1 วันที่ 4 และวันที่ 8 ของการทดลอง ทำให้หนูอดอาหารเป็นเวลา 8-12 ชั่วโมงก่อนทำการเจาะเลือด การตรวจวัดระดับน้ำตาลในเลือดกระทำหลังจากให้สารสกัดแก่หนูทดลองแล้ว 2 ชั่วโมง โดยเจาะเลือดบริเวณปลายหางของหนูทุกตัวแล้วนำไปตรวจวัดระดับน้ำตาลในเลือดด้วย Glucose meter และเมื่อสิ้นสุดการทดลองเก็บรวบรวมตัวอย่างเลือดจากหัวใจของหนูทดลองเพื่อศึกษาค่าเคมีโลหิตและระดับฮอร์โมนอินซูลินในซีรัม ค่าเคมีโลหิตที่ทำการตรวจวิเคราะห์ ได้แก่ ALP (Alkaline phosphatase), ALT (SGPT; Alanineaminotransferase), AST (SGOT; Aspartate transaminase), TP (Total protein), ALB (Albumin), GLO (Globulin), BUN (Blood urea nitrogen), Cr (Creatinine), CHOL (Cholesterol), HDL (High density lipoprotein) และ LDL (Low density lipoprotein) โดยส่งตรวจวิเคราะห์ที่ศูนย์สัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล ส่วนระดับฮอร์โมนอินซูลินในซีรัม ใช้วิธีตรวจวัดด้วยเครื่อง Radio immunoassay kit และอ่านค่าโดยใช้เครื่อง Automatic gamma counter ณ โรงพยาบาลศรีนครินทร์ จังหวัดขอนแก่น

5. สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

- นำข้อมูลที่ได้ไปคำนวณหาค่าสถิติพื้นฐาน ได้แก่ ค่าเฉลี่ย และค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ย
- ทดสอบสมมุติฐานโดยวิธีวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-Way analysis of Variance)
- เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test โดยกำหนดค่าความเชื่อมั่นทางสถิติที่ระดับ 95 เปอร์เซ็นต์ ($p < 0.05$)

ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

1. องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดดอกบัวหลวง

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดดอกบัวหลวงด้วยเครื่อง GC-MS พบสารทั้งหมด 87 ชนิด โดยจัดเรียงลำดับสารปริมาณมากจำนวน 5 ชนิด ได้แก่ Nonacosan-10-ol (26.89 %), *n*-Hexadecanoic acid (14.51 %), 9, 12-Octadecadienoic acid (Z,Z)- (9.47 %), 9, 12, 15-Octadecatrienoic acid, (Z,Z,Z)- (6.74 %) และ 6 α -beta-Aporphine, 1, 2-dimethoxy- (3.02%) ดังแสดงใน Figure 1 และสารปริมาณน้อยจำนวน 82 ชนิด (Table 1)

ซึ่งชนิดของสารที่พบเป็นองค์ประกอบในสารสกัด ดอกบัวหลวงจากงานวิจัยในครั้งนี้ ส่วนใหญ่เป็นจำพวก สารระเหย (Essential oil) ทั้งนี้เนื่องมาจากวิธีการที่ใช้ในการวิเคราะห์เป็นการวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง GC-MS นอกจากนี้ยังพบว่าสารเคมีสำคัญที่พบเป็นองค์ประกอบของสารสกัดดอกบัวหลวงจากการวิจัยในครั้งนี้ มีบางชนิดที่เคยมีรายงานวิจัยการพบสารสำคัญในส่วนอื่น ๆ ของบัวหลวง เช่น พบสาร Nonacosan-10-ol ในสารสกัดจากขี้ผึ้งที่ผิวใบของบัวหลวง²⁴ *n*-Hexadecanoic acid ในเมล็ดบัวหลวงซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์²⁵ และ 9, 12-Octadecadienoic acid ในสารสกัดดอกบัวหลวงที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 70 % ซึ่งมีฤทธิ์ในการลดระดับคอเลสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์²⁶ นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า สาร 9, 12-Octadecadienoic acid และ *n*-Hexadecanoic acid มีคุณสมบัติสำคัญในการช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือด (Hypoglycemia) ลดระดับไขมันในเลือด (Hypolipidemia) และลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด (Hypocholesterolemia) ได้ด้วย²⁷ อย่างไรก็ตาม การพบสารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบในพืช ขึ้นอยู่กับส่วนของพืชที่นำมาวิเคราะห์ ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดรวมทั้งวิธีการที่ใช้ในการวิเคราะห์ขององค์ประกอบทางเคมี²⁸

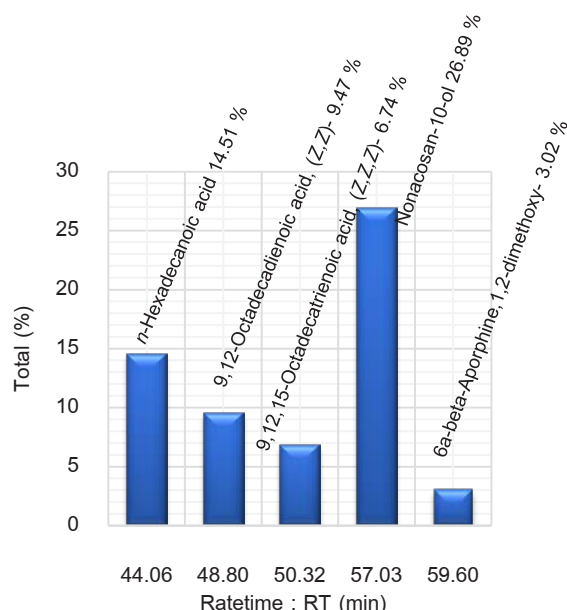


Figure 1 Main chemical components found in *N. nucifera* flower extract

Table 1 The lists of 82 trace chemical components found in *N. nucifera* flower extract (GC-MS)

No.	RT (min)	Name of the compound	Molecular formula	w/w (%)
1	5.0826	2-Butyl-(2-methylbutylidene)-amine	C ₉ H ₁₉ N	0.01
2	5.1270	N-ethylpyrrolidine	C ₆ H ₁₃ N	0.02
3	6.8133	1-Butanamine, 2-methyl-N-(2-methylbutylidene)-	C ₁₀ H ₂₁ N	0.03
4	7.3203	Alpha-Humulene	C ₁₅ H ₂₄	0.03
5	7.3603	1-Butanamine, 3-methyl-N-(3-methylbutylidene)-	C ₁₀ H ₂₁ N	0.04
6	13.6725	Tetradecane	C ₁₄ H ₃₀	0.06
7	15.1810	Acetic acid	C ₂ H ₄ O ₂	0.05
8	16.3103	Pentadecane	C ₁₅ H ₃₂	0.04
9	17.0491	1-Pentadecene	C ₁₅ H ₃₀	0.01
10	18.1598	2-Butanol, 3-methyl-, (S)-	C ₅ H ₁₂ O	0.02
11	18.8658	Hexadecane	C ₁₆ H ₃₄	0.08
12	19.2270	1-Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 2,6,6-trimethyl-	C ₁₀ H ₁₆ O	0.02
13	20.6359	3-Methylbutanoic Acid	C ₅ H ₁₀ O ₂	0.03
14	21.3181	Heptadecane	C ₁₇ H ₃₆	0.05
15	21.5887	1-Cyclohexene-1-methanol, 2,6,6-trimethyl-	C ₁₀ H ₁₈ O	0.04
16	21.7139	8-Heptadecene	C ₁₇ H ₃₄	0.03
17	22.0138	3-Heptadecene, (Z)-	C ₁₇ H ₃₄	0.04
18	22.6504	6(E),8(E)-Heptadecadiene	C ₁₇ H ₃₂	0.05
19	23.3885	2-methylbutylidene 2-phenylethyl amine	C ₁₃ H ₁₉ N	0.02
20	23.6612	Octadecane	C ₁₈ H ₃₈	0.07
21	25.9049	Nonadecane	C ₁₉ H ₄₀	0.28
22	25.9934	Benzeneethanol	C ₈ H ₁₀ O	0.11
23	26.1179	2,6-Bis (1,1-dimethylethyl)-4-methyl-phenol	C ₁₅ H ₂₄ O	0.04
24	26.5805	Z-5-Nonadecene	C ₁₉ H ₃₈	0.05

Table 1 The lists of 82 trace chemical components found in *N. nucifera* flower extract (GC-MS) (Cont.)

No.	RT (min)	Name of the compound	Molecular formula	w/w (%)
25	27.2562	1-Tetradecanol	C ₁₄ H ₃₀ O	0.01
26	28.0435	Eicosane	C ₂₀ H ₄₂	0.08
27	28.4987	2-Pyrrolidinone	C ₄ H ₇ NO	0.04
28	28.5864	2(3H)-Furanone, dihydro-3-hydroxy-4,4-dimethyl-	C ₆ H ₁₀ O ₃	0.05
29	28.9903	Tetradecanoic acid, ethyl ester	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	0.04
30	29.6652	Benzenemethanol	C ₇ H ₈ O	0.50
31	29.7501	1,2 Benzene dicarboxylic acid diethyl ester	C ₁₂ H ₁₄ O ₄	0.01
32	29.9561	<i>n</i> -Tridecan-1-ol	C ₁₃ H ₂₈ O	0.03
33	30.1136	Heneicosane	C ₂₁ H ₄₄	0.86
34	30.5022	2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl	C ₁₈ H ₃₆ O	0.06
35	30.7724	Henicos-1-ene	C ₂₁ H ₄₂	0.03
36	31.0543	Pentadecanoic acid, ethyl ester	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	0.05
37	31.8602	4 - vinyl - guaiacol	C ₉ H ₁₀ O ₂	0.01
38	32.0683	Docosane	C ₂₂ H ₄₆	0.10
39	32.3249	Hexadecanoic acid, methyl ester	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	0.07
40	33.0541	Hexadecanoic acid, ethyl ester	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	2.15
41	33.2026	4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-	C ₆ H ₈ O ₄	0.04
42	33.3953	Benzenemethanol, 4-methoxy-	C ₈ H ₁₀ O ₂	0.03
43	33.7614	Ethyl 9-hexadecenoate	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	0.18
44	33.9774	Tricosane	C ₂₃ H ₄₈	1.34
45	34.1374	Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-	C ₁₄ H ₂₂ O	0.06
46	34.6257	9-Tricosene, (Z)-	C ₂₃ H ₄₆	0.10
47	34.9405	Heptadecanoic acid, ethyl ester	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	0.04
48	35.5715	4-Vinylphenol	C ₈ H ₈ O	0.03
49	35.7782	Tetracosane	C ₂₄ H ₅₀	0.16
50	36.7723	Octadecanoic acid, ethyl ester	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	0.13
51	37.0911	(E)-9-Octadecenoic acid ethyl ester	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	0.33
52	37.5488	Pentacosane	C ₂₅ H ₅₂	1.21
53	37.9162	Linoleic acid ethyl ester	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	1.46
54	38.1998	1-Pentacosanol	C ₂₅ H ₅₂ O	0.24
55	38.4458	Acetic acid, phenyl-	C ₈ H ₈ O ₂	0.07
56	39.0345	9,12,15-Octadecatrienoic acid, ethyl ester, (Z,Z,Z)-	C ₂₀ H ₃₄ O ₂	1.04
57	39.2307	Hexacosane	C ₂₆ H ₅₄	0.15
58	39.3225	Phytol	C ₂₀ H ₄₀ O	0.21
59	40.2348	Eicosanoic acid, ethyl ester	C ₂₂ H ₄₄ O ₂	0.09
60	40.7100	Tetradecanoic acid	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	0.23
61	40.8832	Heptacosane	C ₂₇ H ₅₆	1.47
62	41.5286	1-Heptacosanol	C ₂₇ H ₅₆ O	0.59
63	42.3761	Pentadecanoic acid	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	0.64
64	43.3103	(2E,6E,10E)-3,7,11,15-Tetramethylhexadeca-2,6,10,14-tetraen-1-ylformate	C ₂₁ H ₃₄ O ₂	0.07
65	43.4900	Docosanoic acid, ethyl ester	C ₂₄ H ₄₈ O ₂	0.24

Table 1 The lists of 82 trace chemical components found in *N. nucifera* flower extract (GC-MS) (Cont.)

No.	RT (min)	Name of the compound	Molecular formula	w/w (%)
66	44.7086	Palmitoleic acid	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	1.91
67	45.1378	Nonacosan-10-one	C ₂₉ H ₅₈ O	0.17
68	45.3375	Behenic alcohol	C ₂₂ H ₄₆ O	0.18
69	45.4612	Benzeneethanol, 4-hydroxy-	C ₈ H ₁₀ O ₂	0.22
70	45.5416	Heptadecanoic acid	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	0.44
71	46.3456	Squalene	C ₃₀ H ₅₀	0.58
72	46.5224	2-(4-Methylcyclohex-3-en-1-yl)propan-2-yl-2-methylbutanoate	C ₁₅ H ₂₆ O ₂	0.80
73	47.2028	1-Heptadecanecarboxylic acid	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	1.20
74	47.7354	Heptadecene-(8)-carbonic acid-(1)	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	2.36
75	48.0783	9-Octadecenoic acid, (E)-	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	1.33
76	50.6422	6-Tridecanol, 3,9-diethyl-	C ₁₇ H ₃₆ O	0.56
77	51.6179	Eicosanoic acid	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	0.86
78	52.6977	Z-14-Nonacosane	C ₂₉ H ₅₈	1.20
79	53.2191	Nonacosan-10-one	C ₂₉ H ₅₈ O	2.03
80	58.5181	Docosanoic acid	C ₂₂ H ₄₄ O ₂	1.82
81	65.9122	1,9-Decadiene, 4,4,7,7-tetramethyl-	C ₁₄ H ₂₆	0.42
82	69.3211	Tetracosanoic acid	C ₂₄ H ₄₈ O ₂	2.43

2. ผลของสารสกัดดอกบัวหลวงต่อการต้านอนุมูลอิสระ

จากการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดดอกบัวหลวงด้วยวิธี DPPH assay พบว่า สารสกัดดอกบัวหลวงสามารถกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ได้เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นโดยความเข้มข้นสูงสุดที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ คือ 400 µg/ml มีเปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูลอิสระสูงถึง 87.25 ± 1.05 % ในขณะที่สาร BHT ที่ความเข้มข้นเดียวกัน มีเปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูลอิสระเพียง 49.57 ± 1.22 % (Table 2)

Table 2 Antioxidant activity of *N. nucifera* flower extract

Samples	Concentrations (µg/ml)	% Radical scavenging	n
<i>N. nucifera</i> flower extract	25	7.10 ± 0.43 ^a	3
	50	19.77 ± 1.94 ^b	3
	100	25.61 ± 1.19 ^c	3
	200	64.52 ± 0.65 ^d	3
	400	87.25 ± 1.05 ^e	3
BHT	25	8.38 ± 0.88 ^a	3
	50	14.85 ± 1.67 ^b	3
	100	21.48 ± 0.17 ^c	3
	200	32.16 ± 1.07 ^d	3
	400	49.57 ± 1.22 ^e	3

Mean values in the same column with the different superscripts were significantly different ($p < 0.05$)

มีรายงานการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดบัวหลวง 5 ส่วนได้แก่ฝักอ่อน เกสร กลีบดอก ก้านดอก และใบที่สกัดด้วยการแช่ในตัวทำละลายเอทานอล 95% เป็นระยะเวลา 7 วันเมื่อนำมาทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay พบว่าสารสกัดหยาบจากส่วนดังกล่าวของบัวหลวงทั้ง 5 ส่วน สามารถต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ที่ความเข้มข้น 250 µg/ml โดยสารสกัดจากกลีบดอกมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระสูงสุด เท่ากับ 95.44±0.22% รองลงมาได้แก่ เกสรฝักอ่อน ใบ และก้านดอกมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 94.37±0.23 , 91.29±0.82 , 39.00±0.46 และ 20.16±0.65% ตามลำดับ¹⁴ จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า สารสกัดจากส่วนต่างๆของบัวหลวงมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกัน และจะเห็นได้ว่าสารสกัดจากกลีบดอกที่ความเข้มข้นเพียง 250 µg/ml มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดดอกบัวหลวงทั้งดอกจากงานวิจัยในครั้งนี้ ซึ่งใช้ความเข้มข้นสูงถึง 400µg/ml แต่มีเปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูลอิสระเพียง 87.25±1.05% แม้ว่าจะใช้ตัวทำละลายชนิดเดียวกัน และใช้ระยะเวลาในการสกัดเท่ากันก็ตาม ทั้งนี้อาจเป็นเพราะส่วนประกอบอื่นๆของดอกบัวหลวงได้แก่ เกสร และฝักอ่อนมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่าส่วนกลีบดอก¹⁴ จึงส่งผลให้สารสกัดจากดอกบัวหลวงทั้งดอกมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่าสารสกัดจากเฉพาะส่วนกลีบดอก ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของส่วนต่างๆของพืชที่แตกต่างกันอาจขึ้นอยู่กับชนิด และ

ปริมาณสารเคมีที่เป็นองค์ประกอบในส่วนนั้นๆ ของพืชที่มีความแตกต่างกัน²⁹ มีรายงานเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีที่พบในสารสกัดเมล็ดบัวหลวงที่สกัดด้วยเอทานอล 75 % คือพบว่ามีสาร 9, 12- Octadecadienoic acid หรือกรดไขมันไลโนเลอิกซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ และปกป้องเซลล์ตับจากอนุมูลอิสระ³⁰ และ 9, 12, 15-Octadecatrienoic acid หรือกรดไขมันแอลฟา-ไลโนเลนิกซึ่งสามารถช่วยลดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันจากอนุมูลอิสระ³¹ Heptadecane, Tetradecanoic acid และ Squalene ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเป็นต้น³² สารสกัดดอกบัวหลวงที่นำมาใช้ในงานวิจัยครั้งนี้ก็พบสาร 9,12- Octadecadienoic acid และ 9,12,15-Octadecatrienoic acid (Figure1), Heptadecane, Tetradecanoic acid และ Squalene (Table 1) ด้วยเช่นกัน ดังนั้นฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดดอกบัวหลวงที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ ส่วนหนึ่งจึงเกิดจากการมีสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระประกอบในสารสกัดดอกบัวหลวง

3. ผลของสารสกัดดอกบัวหลวงต่อระดับน้ำตาลในเลือดหนูขาวสายพันธุ์ GK/Jcl

Table 3 แสดงค่าระดับน้ำตาลในเลือดและ Table 4 แสดงเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลง(การลดลง)ระดับน้ำตาลในเลือดของหนูขาวสายพันธุ์ GK/Jcl เมื่อเริ่มต้นการทดลอง (day 0) หนูทุกกลุ่มมีระดับน้ำตาลในเลือดไม่แตกต่างกันหลังจากการให้สารสกัดแก่หนูทดลองแล้ว พบว่า สารสกัดทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดของหนูทดลองกลุ่มที่ 3,4 และ 5 มีค่าลดลงทั้งในวันที่ 1, 4 และ 8 ของการทดลอง ยกเว้นหนูกลุ่มที่ 5 ซึ่งในวันที่ 8 ของการทดลองไม่มีการลดลงของระดับน้ำตาลในเลือด แต่กลับมีระดับน้ำตาลในเลือดเพิ่มสูงขึ้นและใกล้เคียงกับระดับน้ำตาลในเลือดเมื่อเริ่มต้นการทดลอง อย่างไรก็ตามตลอดการทดลอง พบว่า สารสกัดทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดของหนูกลุ่มที่ 3 ลดลงได้มากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) จากหนูกลุ่มที่ 4 และ 5 เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการลดระดับน้ำตาลในเลือดของสารสกัดดอกบัวหลวงกับยาลดระดับน้ำตาลในเลือด ไกลเบนคลาไมด์ 0.25 mg/kg พบว่า ในวันที่ 1 และ 4 ของการทดลอง สารสกัดทุกขนาดสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดได้น้อยกว่ายาไกลเบนคลาไมด์ 0.25 mg/kg อย่างไรก็ตาม ในวันที่ 8 ของการทดลอง สารสกัดกลับสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดในหนูกลุ่มที่ 3 และ 4 ได้มากกว่ายาไกลเบนคลาไมด์ 0.25 mg/kg เมื่อเปรียบเทียบในด้านขนาดของสารสกัด พบว่า ขนาดของสารสกัดจะแปรผกผันกับความสามารถในการลดระดับน้ำตาลในเลือด ตลอดการทดลอง พบว่า สารสกัดขนาด 100 mg/kg ทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดของหนูลดลงได้มากกว่าและแตกต่าง

ต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) จากสารสกัดขนาด 250 และ 500mg/kg โดยมีเปอร์เซ็นต์การลดลงของระดับน้ำตาลในเลือดเป็น 23.35, 13.39 และ 11.11 % ในหนูที่ได้รับสารสกัดขนาด 100 mg/kg เทียบกับ 20.63, 12.62 และ 5.83 % และ 14.14, 11.76 และ +1.24 % ในหนูที่ได้รับสารสกัด 250 และ 500 mg/kg ในวันที่ 1, 4 และ 8 ของการทดลองตามลำดับการที่สารสกัดดอกบัวหลวงขนาด 100mg/kg สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดของหนูได้มากกว่าขนาด 250 และ 500 mg/kg แสดงให้เห็นว่า สารสกัดขนาด 100mg/kg เป็นขนาดที่พอเหมาะ (Optimum dose) สำหรับการทดลองครั้งนี้ ทั้งนี้อาจมีปริมาณของสารออกฤทธิ์ในการลดระดับน้ำตาลในเลือดที่เหมาะสม แต่เมื่อเพิ่มขนาดของสารสกัดมากขึ้นอาจทำให้มีสารซึ่งไม่มีฤทธิ์ หรือต้านการลดระดับน้ำตาลในเลือดเพิ่มมากขึ้นด้วย Gao *et al.* ได้ศึกษาระดับน้ำตาลในเลือดของหนูขาวสายพันธุ์ GK ตั้งแต่หนูอายุ 4, 8, 12, 18 และ 20 สัปดาห์ ตามลำดับ พบว่าหนูขาวสายพันธุ์ GK อายุ 8 สัปดาห์ เริ่มมีระดับน้ำตาลในเลือดสูงขึ้น และในสัปดาห์ที่ 12-18 พบว่า เบต้าเซลล์ของเนื้อเยื่อ Islet of Langerhans ภายในตับอ่อนเกิดการทำงานล้มเหลว และลดจำนวนลงทำให้ระดับฮอร์โมนอินซูลินในซีรัมลดลงต่ำกว่าปกติ จึงทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดสูงขึ้น³³ การทดลองในครั้งนี้ยังพบว่า ความสามารถของสารสกัดในการลดระดับน้ำตาลในเลือดของหนูทดลองแปรผกผันกับระยะเวลาที่ใช้ในการทดลอง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากหนูขาวสายพันธุ์ GK เมื่อมีอายุมากขึ้นระดับน้ำตาลในเลือดของหนูจะยิ่งสูงขึ้น³⁴ ทำให้สารสกัดขนาดดังกล่าวไม่สามารถเอาชนะหรือแข่งขันกับระดับน้ำตาลที่เพิ่มสูงขึ้นเรื่อยๆ นี้ได้จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดดอกบัวหลวงในงานวิจัยครั้งนี้พบสาร 9, 12-Octadecadienoic acid และ *n*-Hexadecanoic acid ซึ่งมีคุณสมบัติสำคัญในการช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือด (Hypoglycemia)²⁷ ดังนั้นจึงสามารถกล่าวได้ว่า การลดระดับน้ำตาลในเลือดของสารสกัดดอกบัวหลวง ส่วนหนึ่งเกิดจากสารออกฤทธิ์ (Active compounds) ที่มีอยู่ในสารสกัดสำหรับกลไกที่ ทำให้เกิดการลดลงของระดับน้ำตาลในเลือดนั้นอาจเกิดจากการกระตุ้นการหลั่งอินซูลิน การเพิ่มประสิทธิภาพในการทำงานของอินซูลิน การทำหน้าที่เหมือนอินซูลิน การลดการดูดซึมน้ำตาลจากระบบทางเดินอาหารเข้าสู่กระแสเลือด การเร่งการนำน้ำตาลไปใช้เป็นพลังงาน และการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส เป็นต้น เทพพิทักษ์ และคณะ พบว่า สารสกัดดอกบัวหลวงที่สกัดด้วยเอทานอล 95 % สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้ ส่งผลให้ร่างกายลดการสวมน้ำตาลลงได้³⁵ ดังนั้น จึงสามารถสรุปได้ว่า สารสกัดดอกบัว

หลวงออกฤทธิ์ในการลดระดับน้ำตาลในเลือดจากการทดลอง ในครั้งนี้เกิดจากสารเคมีที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัดซึ่งไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส

4. ผลของสารสกัดดอกบัวหลวงต่อค่าเคมีโลหิต

จากการวิเคราะห์ค่าเคมีโลหิตของหนูขาวสายพันธุ์ GK/Jcl พบว่า ส่วนใหญ่มีค่าแตกต่างไปจากเกณฑ์ปกติของหนูขาวทั่วไป โดยค่า HDL, AST, ALT, และ ALP มีค่าสูงกว่าเกณฑ์ปกติ แต่ Cr และ GLO ต่ำกว่าเกณฑ์ปกติ ส่วน BUN, CHOL, LDL, TP และ ALB เท่านั้นที่มีค่าอยู่ในเกณฑ์ปกติ ภายหลังการให้สารสกัดแก่หนูทดลอง พบว่า สารสกัดทำให้ BUN, Cr และ LDL ในหนูกลุ่มที่ 5 มีค่าลดลง ทำให้ AST ในหนูกลุ่มที่ 3 มีค่าลดลง แต่ทำให้ AST ในหนูกลุ่มที่ 4 และ ALP ในหนูกลุ่มที่ 5 มีค่าเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มที่ 1 ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุม (Table 5)

BUN เป็นค่าซึ่งใช้บ่งบอกการทำงานของไต พบว่า หนูกลุ่มที่ 5 มีค่า BUN ต่ำกว่าหนูทุกกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แสดงให้เห็นว่า สารสกัดดอกบัวหลวงส่งเสริมการทำงานของไต โดยช่วยกำจัดของเสียที่เกิดจากร่างกายย่อยสลายโปรตีนของตับจึงขับออกทางไตในรูปของยูเรียที่มีองค์ประกอบของไนโตรเจน (N) ดังนั้นเมื่อไตสามารถกำจัดของเสียได้เป็นปกติย่อมพบปริมาณไนโตรเจนในเลือดลดลง ในทางตรงกันข้ามการพบปริมาณ BUN ในเลือดสูงอาจมีสาเหตุมาจากร่างกายขาดน้ำภาวะหัวใจล้มเหลว หรืออาจได้รับสารอาหารประเภทโปรตีนสูง เป็นต้น³⁶

Cr ของหนูได้รับสารสกัดดอกบัวหลวงทุกกลุ่มมีค่า Cr ใกล้เคียงกันแต่หนูกลุ่มที่ 5 มีค่า Cr ต่ำกว่าหนูทุกกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และหนูทุกกลุ่มมีค่า Cr ต่ำกว่าเกณฑ์ปกติ (0.6-1.2 mg/dl) ครีเอตินิน (Cr) เป็นของเสียจากครีเอติน (Creatine) และฟอสโฟครีเอติน (Phosphocreatine) ในกล้ามเนื้อลายหากยังใช้กล้ามเนื้อมากย่อมส่งผลให้ค่า Cr ในเลือดสูงขึ้นทำให้ไตต้องขับครีเอตินินมากขึ้น ค่า Cr จึงบ่งชี้การทำงานของไตโดยสะท้อนถึงอัตราการระหว่างการสร้าง และการกรองซึ่งปกติแล้วการขับครีเอตินินทางไตในแต่ละวันค่อนข้างคงที่จากผลการทดลองพบว่าหนูทุกกลุ่มมีค่า Cr ต่ำกว่าเกณฑ์ปกติซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากภาวะทุพโภชนาการเนื่องจากกินอาหารน้อย มวลกล้ามเนื้อมีน้อยจึงส่งผลให้ค่า Cr ในเลือดต่ำกว่าเกณฑ์ปกติ³⁶

AST ของหนูขาวสายพันธุ์ GK/Jcl ที่ได้รับสารสกัดดอกบัวหลวงกลุ่มที่ 4 และกลุ่มที่ 5 มีค่าสูงกว่าหนูกลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 2 แต่หนูกลุ่มที่ 3 ที่ได้รับสารสกัดดอกบัวหลวงขนาด 100 mg/kg มีค่า AST ต่ำกว่าหนูกลุ่มที่ 1 แต่หนูทุกกลุ่มมีค่า AST สูงกว่าเกณฑ์ปกติ (10-35 U/l) แสดงให้เห็นว่า

สารสกัดดอกบัวหลวงที่ขนาดที่สูงขึ้น ทำให้เอนไซม์ที่แสดงถึงการทำงานของตับเพิ่มขึ้น ซึ่งโดยปกติมักไม่พบเอนไซม์ AST ในกระแสเลือดหากตรวจพบเอนไซม์ชนิดนี้มากในเลือด ย่อมแสดงถึงเซลล์ตับกำลังได้รับความเสียหาย โดยมีสาเหตุมาจากอาการตับอักเสบจากการติดเชื้อ ไชมันแทรกบริเวณเนื้อเยื่อตับ หรือได้รับสารพิษ เป็นต้น³⁷ มีรายงานเกี่ยวกับการศึกษาความเป็นพิษในสารสกัดดอกบัวหลวงที่สกัดด้วยเอทานอล 95 % โดยป้อนสารสกัดขนาด 2,000mg/kg ให้แก่หนูขาวสายพันธุ์ Albino แล้วสังเกตอาการของหนูเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าหนูไม่แสดงอาการผิดปกติ³⁸

ALP ของหนูขาวสายพันธุ์ GK/Jcl ในกลุ่มที่ 1 กลุ่มที่ 3 และกลุ่มที่ 4 มีค่า ALP อยู่ในเกณฑ์ปกติ (20-140U/l) แต่หนูกลุ่มที่ 5 มีค่า ALP สูงกว่าเกณฑ์ปกติ จะเห็นว่าสารสกัดดอกบัวหลวงที่ขนาด 100 และ 250 mg/kg ไม่ทำให้ค่า ALP เพิ่มขึ้นหากมีค่า ALP สูงกว่าเกณฑ์ปกติ ย่อมแสดงถึงความผิดปกติที่อาจเกิดขึ้น บริเวณท่อน้ำดี อาการที่เกิดขึ้นบริเวณกระดูก เช่น โรคไขข้อเสื่อม และอาการผิดปกติของเนื้อเยื่อตับได้แก่ โรคมะเร็งตับ และโรคตับแข็ง เป็นต้น ดังนั้นสารสกัดดอกบัวหลวงขนาดที่เหมาะสมไม่ควรเกิน 250 mg/kg³⁹

ALT ของหนูขาวสายพันธุ์ GK/Jcl ทุกกลุ่มมีค่า ALT ไม่แตกต่างกันแต่มีค่าสูงกว่าเกณฑ์ปกติ(10-40 U/l) ซึ่งค่า ALT มีความจำเพาะต่อตับมากกว่าค่า AST หากพบค่า ALT ในเลือดสูงย่อมบ่งชี้ถึงการผิดปกติในตับ เช่นเซลล์ตับตาย มีอาการตับแข็ง ตับอักเสบและตับขาดเลือด เป็นต้น หรือแม้แต่การรับประทานยา และสมุนไพรบางชนิดเข้าไปย่อมมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของค่า ALT³⁹

TP, ALB และ GLO ของหนูทุกกลุ่มมีค่าไม่แตกต่างกันและมีค่า TP และ ALB อยู่ในเกณฑ์ปกติซึ่งปริมาณของ ALB ในเลือดบ่งชี้ถึงการรักษาสสมดุลของน้ำในร่างกายหากค่า ALB ต่ำอาจมีสาเหตุมาจากสภาวะร่างกายขาดน้ำและอาหารการดูดซึมสารอาหารบริเวณลำไส้ผิดปกติ และเกิดโรคตับ ในส่วนของค่า GLO ในเลือดของหนูทุกกลุ่มต่ำกว่าเกณฑ์ปกติเล็กน้อย อาจแสดงถึงความผิดปกติที่เกิดขึ้นในตับ ไต และโรคลำไส้อักเสบ เป็นต้น³⁹

HDL, LDL และ CHOL, ของหนูขาวสายพันธุ์ GK/Jcl ที่ได้รับสารสกัดดอกบัวหลวงทุกขนาดมีค่าไม่แตกต่างกันหนูทุกกลุ่มมีค่า HDL สูงกว่าเกณฑ์ปกติ (40-59 mg/dl) แต่หนูทุกกลุ่มมีค่า LDL อยู่ในเกณฑ์ปกติ (<100 mg/dl) แต่เมื่อพิจารณาจากค่า CHOL ของหนูทุกกลุ่มอยู่ในเกณฑ์ปกติ (<200 mg/dl)ค่า HDL ที่สูงเกินเกณฑ์ปกติอาจเกิดจากความผิดปกติทางพันธุกรรมและอาจเพิ่มความเสี่ยงต่อการเป็น

โรคหัวใจโรคหลอดเลือดได้³⁶ แสดงให้เห็นว่าสารสกัดดอกบัวหลวงที่ขนาดต่างๆซึ่งใช้ในการทดลองครั้งนี้ ไม่ส่งผลกระทบต่อค่า HDL, LDL และ CHOL ในเลือดของหนูขาวสายพันธุ์ GK/Jcl

5. ผลของสารสกัดดอกบัวหลวงต่อระดับฮอร์โมนอินซูลิน

จาก Table 6 พบว่าระดับฮอร์โมนอินซูลินในซีรัมของหนูขาวสายพันธุ์ GK/Jcl ในทุกกลุ่มมีระดับฮอร์โมนอินซูลินในซีรัมต่ำกว่าหนูขาวทั่วๆ ไป (1-15 $\mu\text{U/ml}$) และหลังจากให้สารสกัดแก่หนูทดลองแล้ว ระดับฮอร์โมนอินซูลินในซีรัมของหนูขาวสายพันธุ์ GK/Jcl ทุกกลุ่มไม่แตกต่างกัน และยังคงต่ำกว่าระดับฮอร์โมนอินซูลินในซีรัมของหนูขาวทั่วๆ ไป หนูขาวสายพันธุ์ GK/Jcl ได้รับการพัฒนาให้ป่วยเป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 2 โดยมีลักษณะของระดับน้ำตาลในเลือดสูง แต่มีระดับฮอร์โมนอินซูลินต่ำ และเริ่มมีอาการของโรคแทรกซ้อนเบาหวานเกิดขึ้นภาวะระดับน้ำตาลในเลือดสูงกระตุ้นให้ร่างกายมีการสร้าง Superoxide anion และ Hydrogen peroxide ซึ่งเป็นสารอนุมูลอิสระ นอกจากนี้ยังทำให้กลไกการต้านอนุมูลอิสระลดลง⁴⁰ การเพิ่มขึ้นของอนุมูลอิสระย่อมนำไปสู่ภาวะเครียดออกซิเดชัน (Oxidative stress) ซึ่งเป็นภาวะที่อนุมูลอิสระมีปริมาณมากกว่าสารต้านอนุมูลอิสระนั้นทำให้สารชีวโมเลกุลในสิ่งมีชีวิตถูกทำลาย เกิดการตายของเซลล์ (Apoptosis) หากเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันในโรคเบาหวานย่อมเป็นสาเหตุสำคัญทำให้เกิดโรคแทรกซ้อนขึ้น⁴¹ ระดับน้ำตาลในเลือดที่สูงขึ้น และภาวะเครียดออกซิเดชัน ส่งผลให้มวลตับอ่อน และเบต้าเซลล์ที่ทำหน้าที่ผลิตและหลั่งฮอร์โมนอินซูลินมีจำนวนลดลง³⁴ Koyama *et al.* ได้ศึกษาระดับฮอร์โมนอินซูลินในซีรัมของหนูขาวสายพันธุ์ GK ที่อายุ 8 และ 12 สัปดาห์ พบว่าระดับฮอร์โมนอินซูลินในซีรัมของหนูทั้ง 2 ช่วงอายุมีค่าเท่ากับ 0.15 $\mu\text{U/ml}$ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุม (Wistar rat) ที่ช่วงอายุเดียวกันพบว่ามีระดับฮอร์โมนอินซูลินในซีรัมใกล้เคียงกัน³⁴ Johnson *et al.* ได้รายงานความสัมพันธ์ของระดับของฮอร์โมนอินซูลินต่อการป่วยเป็นโรคเบาหวานในระยะแรกพบว่ามีค่าระดับฮอร์โมนอินซูลินในซีรัมที่ตรวจวัดหลังจากอดอาหาร 8-12 ชั่วโมงเฉลี่ยเท่ากับ 9.0 $\mu\text{U/ml}$ ⁴² โดยระดับฮอร์โมนอินซูลินในซีรัมที่ต่ำกว่าค่าปกติ (1-15 $\mu\text{U/ml}$) เป็นผลมาจากการลดลงของเบต้าเซลล์ในเนื้อเยื่อตับอ่อน⁴³

ผลจากการทดลองครั้งนี้ ชี้ให้เห็นว่า สารสกัดดอกบัวหลวงไม่มีผลต่อระดับฮอร์โมนอินซูลินในซีรัม ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดดอกบัวหลวงต่อการต้านอนุมูลอิสระ การลดระดับน้ำตาลในเลือด ค่าเคมีโลหิต และระดับฮอร์โมนอินซูลินในซีรัมของหนูขาวสายพันธุ์ GK/Jcl อาจเกี่ยวข้องกับองค์ประกอบทางเคมีที่พบ ได้แก่กรดไขมันไลโนเลอิก และกรดไขมันแอลฟา-ไลโนเลนิกซึ่งสามารถป้องกันการเกิดโรคเบาหวานชนิดที่ 2 เนื่องจากกรดไขมันไลโนเลอิกเป็นกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวจัดอยู่ในกลุ่มโอเมก้า 6 (Omega 6) มีส่วนช่วยลดโอกาสเสี่ยงต่อการเกิดโรคเบาหวานชนิดที่ 2 โดยช่วยเพิ่มความทนทานต่อน้ำตาลในเลือด และลดการเกิดภาวะดื้อต่อฮอร์โมนอินซูลินได้อีกด้วย⁴⁴ ไม่เพียงแต่กรดไขมันไลโนเลอิกเท่านั้นที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพต่อหนูขาวสายพันธุ์ GK/Jcl มีรายงานเกี่ยวกับกรดไขมันแอลฟา-ไลโนเลนิก ซึ่งเป็นกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวจัดอยู่ในกลุ่มโอเมก้า 3 (Omega 3) ซึ่งมีบทบาทป้องกันการกระบวนกรเกิดเมแทบอลิซึมซินโดรม (Metabolism syndrome) หรือภาวะอ้วนลงพุงในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ลดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันจากอนุมูลอิสระลดความดันโลหิต ลดระดับไขมัน และระดับน้ำตาลในเลือด อีกทั้งยังลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดแข็งตัว และหลอดเลือดตีบ แสดงให้เห็นว่าองค์ประกอบทางเคมีซึ่งเป็นสารเคมีหลักที่พบในสารสกัดดอกบัวหลวงมีประโยชน์ ในการรักษาป้องกันการเกิดโรคเบาหวานและโรคแทรกซ้อนอันเนื่องมาจากเบาหวานได้^{31,45} เนื่องจากการทดลองในครั้งนี้ ใช้ระยะเวลาในการทดลองที่ค่อนข้างสั้นจึงทำให้เห็นผลของสารสกัดต่อค่าเคมีโลหิต และระดับฮอร์โมนอินซูลินไม่ชัดเจน อย่างไรก็ตามพึงควรระวังในการใช้สารสกัดดอกบัวหลวงในขนาดสูง (500 mg/kg) เนื่องจากมีผลทำให้ปริมาณของเอนไซม์ ALP ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่บ่งชี้การทำงานของตับมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นอันอาจมีผลต่อตับได้

ผลการวิจัยในครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าสารสกัดดอกบัวหลวงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือด ได้จึงเป็นองค์ความรู้สำคัญที่สามารถศึกษาต่อยอด เพื่อนำสารสกัดดอกบัวหลวงไปใช้ประโยชน์ในการรักษาผู้ป่วยเบาหวานในระยะแรกๆ หรือผู้ที่มีระดับน้ำตาลในเลือดสูง

Table 3 Effect of *N. nucifera* flower extract on fasting blood glucose levels in Gk/Jcl rats

Groups	Fasting blood glucose levels inGK/Jcl (Mean ± S.E.)			
	Day 0	Day1	Day4	Day8
1. Control (Distilled water)	133.00 ± 0.58 ^a	133.00 ± 0.58 ^d	134.00 ± 0.58 ^b	133.67 ± 0.88 ^b
2. Glibenclamide 0.25 mg/kg	134.00 ± 4.51 ^a	75.67 ± 1.45 ^a	112.00 ± 6.00 ^a	126.67 ± 2.73 ^{ab}
3. <i>N. nucifera</i> flower extract 100 mg/kg	131.33 ± 3.38 ^a	100.67 ± 4.84 ^b	113.00 ± 4.04 ^a	113.00 ± 3.79 ^a
4. <i>N. nucifera</i> flower extract 250 mg/kg	137.33 ± 3.17 ^a	109.00 ± 3.78 ^{bc}	120.00 ± 2.31 ^a	129.33 ± 8.74 ^{ab}
5. <i>N. nucifera</i> flower extract 500 mg/kg	134.33 ± 2.33 ^a	115.33 ± 1.76 ^c	118.53 ± 2.58 ^a	136.00 ± 9.00 ^b

Mean values in the same column with the different superscripts were significantly different ($p < 0.05$)

Table 4 Effect of *N. nucifera* flower extract on percentage change of blood glucose levels in Gk/Jcl rats

Groups	Day 0	Percentage change of blood glucose levels (%)		
		Day1	Day 4	Day8
1. Control (Distilled water)	133.00 ± 0.58 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a
2. Glibenclamide 0.25 mg/kg	134.00 ± 4.51 ^a	43.53 ^e	16.42 ^e	5.47 ^b
3. <i>N. nucifera</i> flower extract 100 mg/kg	131.33 ± 3.38 ^a	23.35 ^d	13.96 ^d	11.11 ^d
4. <i>N. nucifera</i> flower extract 250 mg/kg	137.33 ± 3.17 ^a	20.63 ^c	12.62 ^c	5.83 ^c
5. <i>N. nucifera</i> flower extract 500 mg/kg	134.33 ± 2.33 ^a	14.14 ^b	11.76 ^b	+1.24 ^e

Mean values in the same column with the different superscripts were significantly different ($p < 0.05$)

Table 5 Effect of *N. nucifera* flower extract on blood chemistry in Gk/Jcl rats

Groups	BUN (mg/dl)	Cr (mg/dl)	CHOL (mg/dl)	HDL (mg/dl)	LDL (mg/dl)	AST (U/l)	ALT (U/l)	ALP (U/l)	TP (g/dl)	ALB (g/dl)	GLO (g/dl)
1. Control (Distilled water)	13.02 ± 0.32 ^b	0.26 ± 0.00 ^{bc}	87.35 ± 2.37 ^a	82.97 ± 2.04 ^a	12.25 ± 0.39 ^{ab}	82.18 ± 3.86 ^{ab}	67.65 ± 7.22 ^a	133.75 ± 4.80 ^a	6.50 ± 0.77 ^a	4.76 ± 0.04 ^a	1.75 ± 0.04 ^a
2. Glibenclamide 0.25 mg/kg	13.40 ± 0.6 ^b	0.26 ± 0.00 ^c	87.93 ± 1.08 ^a	83.57 ± 0.79 ^a	13.47 ± 0.33 ^b	79.43 ± 5.80 ^{ab}	63.28 ± 5.87 ^a	143.00 ± 1.10 ^b	6.63 ± 0.20 ^a	4.73 ± 0.06 ^a	1.90 ± 0.17 ^a
3. <i>N. nucifera</i> flower extract 100 mg/kg	12.00 ± 0.57 ^a	0.23 ± 0.00 ^{ab}	86.57 ± 3.04 ^a	82.80 ± 2.72 ^a	12.77 ± 0.71 ^{bc}	74.30 ± 7.09 ^a	52.15 ± 5.90 ^a	129.67 ± 1.90 ^{ab}	6.58 ± 0.09 ^a	4.80 ± 0.07 ^a	1.78 ± 0.06 ^a
4. <i>N. nucifera</i> flower extract 250 mg/kg	12.58 ± 0.2 ^b	0.25 ± 0.01 ^a	91.47 ± 4.18 ^a	86.45 ± 3.36 ^a	11.72 ± 0.35 ^a	109.12 ± 10.86 ^b	77.73 ± 4.41 ^a	132.00 ± 4.79 ^{ab}	6.76 ± 0.16 ^a	4.89 ± 0.09 ^a	1.87 ± 0.09 ^a
5. <i>N. nucifera</i> flower extract 500 mg/kg	10.57 ± 0.52 ^a	0.22 ± 0.01 ^a	84.65 ± 2.47 ^a	79.90 ± 1.98 ^a	11.12 ± 0.54 ^a	96.00 ± 14.80 ^{ab}	63.22 ± 15.62 ^a	144.75 ± 2.76 ^{ab}	6.56 ± 0.74 ^a	4.71 ± 0.07 ^a	1.86 ± 0.04 ^a

Mean values in the same column with the different superscripts were significantly different ($p < 0.05$)

ค่าปกติของเคมีโลหิต

BUN (Blood urea nitrogen = 5-20 mg/dl), Cr (Creatinine = 0.6-1.2 mg/dl), CHOL (Cholesterol <200 mg/dl), HDL (High density lipoprotein = 40-59 mg/dl), LDL (Low density lipoprotein <100 mg/dl) AST (Aspartate

Transaminase = 10-35 U/l), ALT (Alanine aminotransferase = 10-40 U/l), ALP (Alkaline phosphatase = 20-140 U/l), TP (Total Protein = 6.4-8.3 g/dl), ALB (Albumin = 3.5-5.3 g/dl), และ GLO (Globulin = 2.6-4.6 g/dl)

Table 6 Effect of *N. nucifera* flower extract on serum insulin levels in GK/Jcl rats

Groups	Serum insulin (µU/ml)	n
1. Control (Distilled water)	0.10 ± 0.04 ^a	6
2. Glibenclamide 0.25 mg/kg	0.08 ± 0.05 ^a	6
3. <i>N. nucifera</i> flower extract 100 mg/kg	0.07 ± 0.01 ^a	6
4. <i>N. nucifera</i> flower extract 250 mg/kg	0.08 ± 0.02 ^a	6
5. <i>N. nucifera</i> flower extract 500 mg/kg	0.10 ± 0.01 ^a	6

Mean values in the same column with the different superscripts were significantly different ($p < 0.05$)

*Serum insulin in normal rat (1-15 µU/ml)

สรุปผลการทดลอง

สารสกัดดอกบัวหลวงที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ มีองค์ประกอบทางเคมี และมีฤทธิ์ทางชีวภาพต่อหนูขาวสายพันธุ์ GK/Jcl ดังนี้

1. พบสาร 87 ชนิดเป็นสารที่มีปริมาณมาก 5 ชนิด และสารที่มีปริมาณน้อย 82 ชนิด
2. มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ความเข้มข้น 400 µg/ml สารสกัดดอกบัวหลวงมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสาร BHT
3. มีฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือด
4. มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือดเนื่องจากมีสารออกฤทธิ์ (Active compounds) เป็นองค์ประกอบ
5. ไม่มีผลต่อค่าเคมีโลหิต และระดับฮอร์โมนอินซูลิน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณอาจารย์ที่ทดลองสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) และห้องปฏิบัติการสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

เอกสารอ้างอิง

1. Ogurtsova K, da Rocha Fernandes JD, Huang Y, Linnenkamp U, Guariguata L, Cho NH, Cavan D, Shaw JE, Makaroff LE. IDF Diabetes atlas: global estimates for the prevalence of diabetes for 2015 and 2040. *Diabetes Res Clin Pract* 2017; 128: 40–50.
2. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes-2006. *Diabetes Care* 2006; 29: 4-42.
3. Hex N, Bartlett C, Wright D, Taylor M, Varley D. Estimating the current and future costs of type 1 and type 2 diabetes in the UK, including direct health costs and indirect societal and productivity costs. *Diabet Med* 2012; 29: 855–862.
4. สถาบันวิจัยและพัฒนาาระบบสาธารณสุขการจัดการเบาหวานแบบบูรณาการ. นนทบุรี : สถาบันวิจัยและพัฒนาาระบบสาธารณสุขชุมชน. 2552. 104 หน้า.
5. Su CH, Lai MN, Ng LT. Inhibitory effects of medicinal mushrooms on alpha -amylase and alpha-glucosidase - enzymes related to hyperglycemia. *Food Funct* 2013; 4(4): 644-649.

6. อารียา สุฉันทบุตร, ชุตีร์ ตลับมูข, สนอง จอมเกาะ. ผลของผงและสารสกัดจากใบชะพลูและลำต้น บอระเพ็ด ต่อระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดและค่าทางโลหิตวิทยาในหนูเบาหวาน. ว. วิทย เทคโนโลยี นมส 2551; 27(3): 227–232.
7. Karki R, Jung MA, Kim KJ, Kim DW. Inhibitory effect of *Nelumbo nucifera* Gaertn. on the development of atopic dermatitis-like skin lesions in NC/Nga mice. *Evid-Based Complalt* 2012; 2012: 1-7.
8. Brindha B, Arthi D. Antimicrobial activity of white and pink *Nelumbo nucifera* Gaertn flowers. *JPRHC* 2010; 2(2): 147-155.
9. Ohkoshi E, Miyazaki H, Shindo K, Watanabe H, Yoshida A, Yajima H. Constituents from the leaves of *Nelumbo nucifera* stimulate lipolysis in the white adipose tissue of mice. *Planta Med* 2007; 73:1255-1259.
10. Mukherjee K, Saha K, Pal M, Saha B. Effect of *Nelumbo nucifera* rhizome extract on blood sugar level in rats. *J Ethnopharmacol* 1997; 58:207-213.
11. Ku-Lee H, Mun-Choi Y, Ouk-Noh D, Joo-Suh H. Antioxidant effect of Korean traditional Lotus liquor (Yunyupju). *IJFST* 2005; 40:709-787.
12. Mehta NR, Patel EP, Patani PV, Shah B. *Nelumbo nucifera* (Lotus) : A review on ethanobotany, phytochemistry and pharmacology. *IJPBR* 2013; 1(4): 152-167.
13. Subzar AS. Ethno-medicinal uses and pharmacological activities of lotus (*Nelumbo nucifera*). *JMPS* 2014; 2(6): 42-46.
14. ธาริณี แดงน้อย. การทดสอบสารพิษเฉียบและฤทธิ์ทางชีวภาพของบัวหลวง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีศึกษา, มหาวิทยาลัยบูรพา. 2559.
15. Sakuljaitrong S, Buddhakala N, Chomko S, Talubmook C. Effects of flower extract from lotus (*Nelumbo nucifera*) on hypoglycemic and hypolipidemic in streptozotocin-induced diabetic rats. *IJSER* 2013; 4: 1441-1446.
16. Krook A, Kawano Y, Song XM, Efendic S, Roth RA, Wallberg-Henriksson H, Zierath JR. Improved glucose tolerance restores insulin-stimulated akt kinase activity and glucose transport in skeletal muscle from diabetic Gotokakizaki rats. *Diabetes* 1997; 46: 2110-2114.

17. Mulvey C, Harno E, Keenan A, Ohlendieck K. Expression of the skeletal muscle dystrophin-dystroglycan complex and syntrophin-nitric oxide synthase complex is severely affected in the type 2 diabetic Goto-kakizaki rat. *Eur J Cell Biol* 2005; 85: 867-883.
18. Portha B, Serradas P, Bailbe D, Suzuki K, Goto Y, Giroix MH. Beta-cell insensitivity to glucose in the GK rat, a spontaneous non-obese model for type 2 diabetes. *Diabetes* 1991; 40: 486-491.
19. Goto Y, Suzuki K, Ono T, Sasaki M, Toyota T. Development of diabetes in the non-obese NIDDM rat (GK rat). *Adv Exp Med Biol* 1988; 246: 29-31.
20. สาวิตรี โชติวรรณกุล. ฤทธิ์ต้านเบาหวานของสารสกัดเมล็ดกระถินและเมล็ดมะเฒ่าในหนูเบาหวาน. *วิทยานพนธ์ปริญาปริญญาดุษฎีบัณฑิต, มหาวิทยาลัยมหาสารคาม*. 2556.
21. Abeeleh MA, Alazaben ZB, Abu-Halaweh SA, Al-Essa MK, Abuabeeleh J, Alsmady MN. Induction of diabetes mellitus in rats using intraperitoneal streptozotocin: A comparison between 2 strains of rats. *Eur J Sci Res* 2009; 32(3): 398-402.
22. Akbarzadeh A, Norouzian D, Mehrabi MR, Jamshidi SH, Farhangi A, Allah VA, Mofidian SMA, Lame RB. Induction of diabetes by streptozotocin in rats. *IJCB* 2007; 22: 60-64.
23. Anulukanapakorn K, Pancharoen O, Permipat U. Hypoglycemic activity of *Tridaxprocumbens* Linn. in rats. *TJPS* 2009; 21: 211-221.
24. Koch K, Dommissse A, Barthlott W. Chemistry and crystal growth of plant wax tubules of lotus (*Nelumbo nucifera*) and nasturtium (*Tropaeolum majus*) leaves on technical substrates. *Cryst Growth Des* 2006; 6: 2571-2578.
25. Khan S, Khan H, Ali F, Khan NM. GC-MS analysis of fixed oil from *Nelumbo nucifera* Gaertn seeds: evaluation of antimicrobial, antileishmanial and urease inhibitory activities. *J Chem Soc Pakistan* 2016; 38 : 1168-1173.
26. Gayathri K, Dhevi R. Biochemical characterization and hypolipidemic activity of *Nelumbo nucifera* Gaertn flowers. *WJPR* 2016; 5(7): 813-819.
27. Gunasekaran S, Sarumathy T, Palanie K, Panneerselvamb RPS, Srinivasanba V. Phytoconstituents evaluation by GC-MS and therapeutic efficacy of *Grewiaumbellifera* on streptozotocin (STZ)-induced diabetic. *Int J Pharm Integrated Life Sci* 2013; 4: 2380-2386.
28. Neelapong W, Phonyotin B, Sittikijothin W. Extraction of active compounds from Thai herb: steam distillation and solvent extraction. *The Journal of KMUTNB* 2018; 28(4): 901-910.
29. สุรัตน์วีดี วงศ์คลัง, เลอลักษณ์ เสถียรรัตน์, อรุณพรอิฐรัตน์. การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของบัวหลวง. *ว. วิทย. กษ.* 2557; 45(2)(พิเศษ): 673-676.
30. Ruvanthika PN, Manikandan S, Lalitha S. A comparative study on phytochemical screening of aerial parts of *Nelumbo nucifera* Gaertn by gas chromatographic mass spectrometry. *IJPSR* 2016; 8(5): 2258-2266.
31. Barre DE. The role of consumption of alpha-linolenic, eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in human metabolic syndrome and type 2 diabetes a mini-review. *J. Oleo Sci* 2007; 56(7): 319-325.
32. Arora S, Kumer G, Meena S. Screen and evaluation of bioactive components of *Cenchrusciliaris* L. by GC-MS analysis. *Int. Res. J. Pharm* 2017; 8(6): 69-76.
33. Gao W, Bihorel S, DuBois DC, Almon RR, Jusko WJ. Mechanism-based disease progression modeling of type 2 diabetes in Goto-kakizaki rats. *J Pharmacokinetic Pharmacodyn* 2011; 38(1) : 143-162.
34. Koyama M, Wada R, Sakuraba H, Mizukami H, Yagihashi S. Accelerated loss of islet beta cells in sucrose-fed Goto-kakizaki rats, a genetic model of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Am J Pathol* 1997.40(8): 916-925.
35. เทพพิทักษ์ จิวกร่าง, สุพรรณ โพธิ์ศรี, นพรัตน์ พุทธกาล. องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ยับยั้ง การทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของ สารสกัดดอกบัวหลวง. ใน: เอกสารการประชุมวิชาการระดับชาติ "วิทยาศาสตร์วิจัย" ครั้งที่ 10. มหาวิทยาลัยมหาสารคาม. หจก. โรงพิมพ์คลังนานาวิทยา. ขอนแก่น; 2561. หน้า B11-10.

36. Fadem SZ, Rosenthal B. CKD-EPI and MDRD-GFR Calculator using standardized serum creatinine, age, race, gender.[serial online] Accessed on February 12, 2019 at http://nephron.org/cgi-bin/MDRD_GFR/cgi.
37. Thapa BR, Walia A. Liver function tests and their interpretation. *Indian J Pediatr* 2007; 74 (7) : 663-671.
38. Thu HTH, Xuan PTT, Hang NTT, Vu NN, Phuoc TH. Hypoglycemic effect of lotus (*Nelumbo nucifera*-Gaertn.) flower ethanolic extract on alloxan induced diabetes rat model. *HCMC* 2016; 1(17): 72-78.
39. Green RM, Flamm S. AGA technical review on the evaluation of liver chemistry tests. *Gastroenterology* 2002; 123: 1367-1384.
40. อนุสรณ์ ลังกาพันธ์. ผลกระทบของการเกิดอนุมูลอิสระจากโรคเบาหวานต่อการทำงานของไต. *ลำปางเวชสาร*. 2552; 30(2): 75-83.
41. เดช ดอกพวง, วรเชษฐ์ ขอบใจ. สภาวะเครียดออกซิเดชั่นของผู้ป่วยเบาหวานและภาวะแทรกซ้อนของเบาหวานในโรงพยาบาลพะเยา. การประชุมมหาดใหญ่วิชาการ ครั้งที่ 4. 2556: 146-154.
42. Johnson J, Duick D, Chui M. and Aldasouqi S. Identifying prediabetes using fasting insulin levels. *EndocrPract* 2010; 16(1):47-52.
43. Movassat J, Saulnier C, Serradas P, Portha B. Impaired development of pancreatic beta-cell mass is a primary event during the progression to diabetes in the GK rat. *Diabetologia* 1997; 40: 916-925.
44. Rosenberg J. Linoleic Acid Is Beneficial for Prevention of Type 2 Diabetes,[serial online]2017:Available from : URL <https://www.ajmc.com/newsroom/study-linoleic-acid-is-beneficial-for-prevention-of-type-2-diabetes> Accessed 2 April 2019.
45. Blondeau N, Lipsky RH, Bourourou M, Duncan MW, Gorelick PB,Marini AM. Alpha-linolenic acid: an omega-3 fatty acid with neuroprotective properties ready for use in the stroke clinic.*Biomed Res Int* 2015;2015:1-8.