Ubon Rajathanee University

รายงานการวิจัย

ฤทธิ์กันชักของส่วนสกัดต่าง ๆ จากเมล็ดซุมเห็ดไทย

Antiepileptic Effect of Extractions of *Cassia tora* Linn. Seed

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ
นางสุภารัตน์ คำแดง
คณะเภสัชศาสตร์
มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

ผู้ร่วมวิจัย
นางสาวเพียงเพ็ญ ธิโสดา
นางสาวนุดติยา วีระวัธนชัย
นางสาวบัวนัส วงษ์สุด

โครงการนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสำนักงบประมาณ
หมวดเงินอุดหนุนทั่วไป ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2540
รหัสโครงการ : 03008639-0005
ISBN: 974-609-121-2

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University

A Research Report

Antiepileptic Effect of Extractions of *Cassia tora* Linn. Seed

Researchers

Head of Project

Suparat Khamdang

Faculty of Pharmaceutical Sciences

Ubon Ratchathani University

Co-researchers

Piengpen Thisoda

Nuttiya Werawattanachai

Buanus Wongsud

This Research was Financially Supported from The Bureau of the Budget

In Fiscal year, 1997

Research Code : 03008639-0005

ISBN : 974-609-121-2

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University

กิตติกรรมประกาศ

ในงานวิจัยครั้งนี้ ทางคณะผู้วิจัยใคร่ขอขอบคุณคุณกรชนก บุญพอและเจ้าหน้าที่ฝ่ายห้องปฏิบัติการทุกท่านที่ได้ให้ความช่วยเหลือในการดูแลสัตว์ทดลองเป็นอย่างดี จนกระทั่งการวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี และมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่ได้จัดสรรงบประมาณ ประจำปี 2540 เพื่อใช้ในการดำเนินโครงการครั้งนี้

คณะผู้วิจัย

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University

รายงานการวิจัยเรื่อง	ฤทธิ์กันชักของส่วนสกัดต่าง ๆจากเมล็ดชุมเห็ดไทย	
หัวหน้าโครงการวิจัย	นางสุภารัตน์	คำแดง
ผู้ร่วมโครงการวิจัย	นางสาวเพียงเพ็ญ	ธิโสดา
	นางสาวนุตติยา	วีระวัธนชัย
	นางสาวบัวนัส	วงษ์สุด
คณะเภสัชศาสตร์	มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี	
ปีงบประมาณ	2540	
งบประมาณที่ได้รับ	9,600.- บาท	

ศัพท์สำคัญ: ฤทธิ์กันชัก, เมล็ดชุมเห็ดไทย

บทคัดย่อ

การประเมินฤทธิ์กันชักของส่วนสกัดจากเมล็ดชุมเห็ดไทยที่ศึกษาในสัตว์ทดลอง โดยใช้หนูถีบจักรเพศผู้ และแบบจำลองของการชักที่ใช้ในการศึกษานี้คือ 1. PTZ latency test, 2. PTZ threshold test, และ 3. Electricshock model. โดยส่วนสกัดจากเมล็ดชุมเห็ดไทยจะเตรียมในรูปแบบต่าง ๆคือ Fraction A (เป็นของแข็งสีน้ำตาลได้จากการสกัดเมล็ดชุมเห็ดไทยด้วย methanol), Fraction B (สารที่มีลักษณะคล้ายน้ำมันสีเหลือง ได้จากการสกัด fraction A ด้วย chloroform), Fraction C (สารส่วนที่เหลือจากการสกัดด้วย chloroform), และ Fraction D (ผงแห้งเบาสีน้ำตาลที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำ)

ผลการทดลองพบว่าขนาดของส่วนสกัดที่ใช้คือ 800 มก./กก. และระยะเวลาที่ส่วนสกัดเริ่มออกฤทธิ์คือ 45 นาที มีฤทธิ์อยู่นาน 120 นาที สารสกัด Fraction A และ Fraction D มีฤทธิ์กันชักในทุกแบบจำลองที่ใช้ สารสกัดจะเพิ่ม threshold ของการชักและป้องกันการชักและการตายหลังจากชักในทุกแบบจำลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

จากผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าสารในเมล็ดชุมเห็ดไทยทั้งที่สกัดด้วยน้ำต้มเดือด และ สกัดด้วย methanol มีฤทธิ์กันชักได้

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University

Antiepileptic effect of extracts from *Cassis tora* Linn. seed

Head of Project Mrs.Suparat Khamdang

Co-researchers MissPiengpen Thisoda

Miss Nuttiya Werawattanachai

Miss Buanus Wongsud

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Ubon Ratchathani University

In Finance Year 1997 for 96,000.- Bath

Key words Antiepileptic effect, *Cassia tora* Linn. seed

Abstract

The assessment of antiepileptic effect of *Cassia tora* Linn. seeds extract was performed in animal model, Swiss Albino mice by using epileptic models as the following: PTZ latency test, PTZ threshold test, and Electricshock model. The various fractions of *Cassia tora* Linn. seeds extract namely Fraction A (solid material from methanol extraction), Fraction B (chloroform extraction of fraction A), Fraction C (residual from chloroform extraction), and Fraction D (dry powder from water extraction) were used in this study.

The dose of compounds used in this study was 800 mg/kg and the onset time was 45 minutes. The results showed that Fraction D significantly increased the seizure threshold at the dose 800 mg/kg ($p<0.05$). The peak effect of Fraction D was 45 minutes and the duration of action was 120 minutes. Fraction A and Fraction D showed the antiepileptic effect in every models tested. They significantly increased the threshold of seizure after stimulation and decreased the percent of seizure and death ($p<0.05$), compared to control.

The results from this study demonstrated that water extraction and methanol extraction have antiepileptic activity.

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ข
กิตติกรรมประกาศ ..... ค
สารบัญ ..... ง
สารบัญตาราง ..... ฉ
สารบัญรูปภาพ ..... ช
บทที่ 1บทนำ 1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา 1
1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา 2
1.3 ประโยชน์ที่ได้รับจากการศึกษา 2
บทที่ 2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3
2.1 นิยาม 3
2.2 สาเหตุของการชัก 3
2.3 ชนิดของการชัก 3
2.4 การรักษาผู้ป่วยโรคลมชัก 4
2.5 สมุนไพรกับการรักษาลมชัก 5
2.6 ชุมเห็ดไทย 6
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย 10
3.1 เครื่องมือและวัสดุอุปกรณ์ 10
3.2 วิธีการสกัดสารสำคัญจากเมล็ดชุมเห็ดไทย 11
3.3 วิธีการที่ใช้ในการกระตุ้นให้สัตว์ทดลองเกิดการชัก 12
3.4 วิธีการทดสอบฤทธิ์กันชัก 13
บทที่ 4 ผลการวิจัย 16
4.1 คุณลักษณะของส่วนสกัด 16
4.2 ขนาดของส่วนสกัดที่ใช้ 16
4.3 เวลาที่ส่วนสกัดเริ่มออกฤทธิ์ 18
4.4 ระยะเวลาที่ส่วนสกัดออกฤทธิ์ 20
4.5 การศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์กันชักของส่วนสกัดต่าง ๆ 21

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 5 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง 28

บรรณานุกรม 30

ภาคผนวก 33

ภาคผนวก ก: Common causes of epilepsy 34

ภาคผนวก ข: The international classification of epileptic seizures 36

ภาคผนวก ค: Suggested first- and second-line antiepileptic drugs 38

ภาคผนวก ง: Properties of an ideal antiepileptic drug 40

ภาคผนวก จ: Medicinal plants showing anticonvulsant activity 42

ภาคผนวก ฉ: Commonly used models for antiepileptic drug discovery .. 44

ภาคผนวก ช: Anticonvulsant activity in animal model 46

ภาคผนวก ซ: คณะผู้วิจัย 48

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 4.1 ขนาดของสาร PTZ (มก./กก.) ที่ใช้เพื่อทำให้สัตว์ทดลองชักหลังจากได้รับส่วนสกัด Fraction A ในขนาดต่าง ๆ 17

ตารางที่ 4.2 ผลของส่วนสกัด Fraction A ที่ให้เมื่อเวลาต่าง ๆต่อ ระยะเวลาที่เริ่มชัก, ร้อยละของการป้องกันการชักและร้อยละของการป้องกันการตายจากชักหลังจากกระตุ้นด้วยสารPTZ 18

ตารางที่ 4.3 ขนาดของสาร PTZ (มก./กก.) ที่ใช้เพื่อทำให้สัตว์ทดลองชักหลังจากได้รับส่วนสกัด Fraction A ในขนาด 800 มก./กก. ที่เวลาต่าง ๆ 20

ตารางที่ 4.4 ขนาดของสาร PTZ (มก./กก.) ที่ใช้เพื่อทำให้สัตว์ทดลองชักหลังจากได้รับสารทดสอบต่าง ๆ 22

ตารางที่ 4.5 ผลของสารทดสอบต่าง ๆต่อ ระยะเวลาที่เริ่มชัก, ร้อยละของการป้องกันการชัก และร้อยละของการป้องกันการตายจากชักหลังจากกระตุ้นด้วยสาร PTZ 23

ตารางที่ 4.6 ผลของสารทดสอบชนิดต่าง ๆต่อการระยะเวลาและจำนวนครั้งของการเกิด tonic-hindlimb ภายใน 15วินาทีหลังจากกระตุ้นด้วยไฟฟ้า.. 26

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University

สารบัญแผนภูมิ

หน้า

รูปที่ 2.1ลักษณะของต้นชุมเห็ดไทย 6
รูปที่ 2.2 ลักษณะดอกชุมเห็ดไทย 7
รูปที่ 3.1 การสกัดสารจากเมล็ดชุมเห็ดไทยด้วยวิธีต้มกับน้ำเดือด 11
รูปที่ 3.2 การสกัดสารจากเมล็ดชุมเห็ดไทยด้วยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย
ที่มีขั้วต่างกัน 12
รูปที่ 4.1 ขนาดของสาร PTZ (มก./กก.) ที่ใช้เพื่อทำให้สัตว์ทดลองชักหลังจาก
ได้รับส่วนสกัด Fraction A ในขนาดต่าง ๆ 17
รูปที่ 4.2 ผลของส่วนสกัด Fraction A ที่ให้เมื่อเวลาต่าง ๆต่อ ระยะเวลาที่เริ่มชัก
หลังจากกระตุ้นด้วยสาร PTZ 19
รูปที่ 4.3 ผลของส่วนสกัด Fraction A ที่ให้เมื่อเวลาต่าง ๆต่อร้อยละของการ
ป้องกันการชักและการตายจากชักหลังจากกระตุ้นด้วยสาร PTZ 19
รูปที่ 4.4 ขนาดของสาร PTZ (มก./กก.) ที่ใช้เพื่อทำให้สัตว์ทดลองชักหลังจากได้
รับส่วนสกัด Fraction A ในขนาด 800 มก./กก. ที่เวลาต่าง ๆ 21
รูปที่ 4.5 ขนาดของสาร PTZ (มก./กก.) ที่ใช้เพื่อทำให้สัตว์ทดลองชักหลังจากได้
รับสารทดสอบต่าง ๆ 22
รูปที่ 4.6 ผลของสารทดสอบต่าง ๆต่อ ระยะเวลาที่เริ่มชักหลังจากกระตุ้นด้วย
PTZ 24
รูปที่ 4.7 ผลของสารทดสอบต่าง ๆต่อร้อยละของการป้องกันการชักและร้อยละ
ของการป้องกันการตายจากชัก หลังจากกระตุ้นด้วยสาร PTZ 25
รูปที่ 4.8 ผลของสารทดสอบชนิดต่าง ๆต่อการระยะเวลาที่เริ่มเกิดTonic-hindlimb
หลังจากกระตุ้นด้วยไฟฟ้า 26
รูปที่ 4.9 ผลของสารทดสอบชนิดต่าง ๆต่อจำนวนครั้งของการเกิดTonic-hindlimb
ภายใน 15 วินาทีหลังจากกระตุ้นด้วยไฟฟ้า 27

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ลมชัก (Epilepsy) หรือที่เรียกว่า ลมบ้าหมู (จุฑามณี สุทธิสีสังข์ 2539) เป็นกลุ่มอาการที่มีอาการแสดงออกมาทางร่างกายในลักษณะการชัก กระตุกและเกร็ง สลับกันไป อาจมีการกัดลิ้นตัวเองเนื่องจากการเกร็งของกล้ามเนื้อบริเวณปาก (จุฑามณี สุทธิสีสังข์ 2539 และ Albors GW and Peroutke SJ 1992) กลุ่มอาการดังกล่าวเกิดจากความผิดปกติของกระแสประสาทภายในสมองเปลี่ยนไป คือมีความถี่และความแรงเพิ่มขึ้น (Albors GW and Peroutke SJ 1992, Bleck TP and Klawans HL 1990, และ Acifuss FE and Henriksen O 1981) ซึ่งอาจเกิดจากหลายสาเหตุ เช่น การมีเนื้องอกในสมอง สมองได้รับการกระทบกระเทือน การมีแผล (lesion) ที่สมอง เป็นต้น อาการลมชักที่แสดงออก สามารถแบ่งได้หลายชนิด ซึ่งแต่ละชนิดจะมีการรักษาที่แตกต่างกันไป โดยจะเริ่มต้นด้วยการหาสาเหตุและการกำจัดสาเหตุองการชักออกไป แต่ถ้าไม่สามารถทำได้ก็ต้องรักษาโดยการให้ยากันชัก ประกอบกับการเฝ้าระวังไม่ให้ผู้ป่วยสัมผัสกับสิ่งที่กระตุ้นให้เกิดการชัก เช่น แสงสีวูบวาบ การนอนดึก เครียด เป็นต้น (Acifuss FE and Henriksen O 1981 และ Whleie E 1993) ยากันชักที่ใช้ในปัจจุบันมีหลายชนิด แต่ละชนิดจะป้องกันการชักได้เฉพาะอาการของลมชักบางชนิดเท่านั้น ในปัจจุบันยังไม่พบว่ามียาชนิดใดที่สามารถป้องกันการชักได้ทุกแบบ นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้ยาป้องกันการชักจะต้องใช้ติดต่อกันเป็นเวลาหลายปีจนกว่าจะพบว่า สามารถหยุดยาแล้วไม่มีการชักกลับมาอีก ในบางรายอาจต้องใช้ยาไปตลอดชีวิต (Albors GW and Peroutke SJ 1992 และ Whleie E 1993) ยากันชักส่วนใหญ่เป็นยาที่มีการนำเข้าจากต่างประเทศและบางชนิดราคาค่อนข้างแพง ซึ่งส่งผลกระทบต่อภาพรวมของเศรษฐกิจของประเทศ และในภาวะเศรษฐกิจในปัจจุบันจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องพยายามลดการนำเข้ายาจากต่างประเทศและพัฒนาสมุนไพรให้มีศักยภาพเพียงพอที่จะพัฒนาเป็นยาเพื่อช่วยลดปัญหาเศรษฐกิจดังกล่าว

เนื่องจากประเทศไทยเป็นประเทศในเขตร้อนชื้นที่มีป่าไม้และพืชพันธุ์ต่าง ๆมากมาย จากตำราสมุนไพรไทยโบราณ พบว่ามีพืชจำนวนมากที่สามารถนำมาใช้เป็นยารักษาโรคได้ แม้กระทั่งเครื่องเทศ หรือผักที่ใช้ประกอบอาหาร และจะเห็นว่าในปัจจุบันมีสมุนไพรบางชนิดที่สามารถสกัดเอาตัวยาสำคัญออกมาได้ และพัฒนาจนเป็นยาแผนปัจจุบัน สำหรับสมุนไพรที่ใช้ในการป้องกันลมชักนั้น ตามตำรายาไทยกล่าวไว้มีหลายชนิดและหลายขนานทั้งที่เป็นยาจากสมุนไพรต้นเดียว หรือเป็นสูตรผสมจากสมุนไพรหลายชนิด(ชะลอ อุทธาภาชน์ 2528, ชัยโย ชัยชาญทิพยุทธ 2522 และ พเยาว์ เหมือนวงศ์ญาติใน 2526) เมล็ดชุมเห็ดไทยเป็นสมุนไพรชนิดหนึ่งที่กล่าวไว้

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University

ในตำรายาไทยว่ามีผลป้องกันการเกิดลมชักได้ และจากผลการศึกษาฤทธิ์เบื้องต้นของเมล็ดชุมเห็ดไทยในการทำวิทยานิพนธ์ของสุภารัตน์ จันทร์เหลือง (2535) ซึ่งศึกษาฤทธิ์กันชักของส่วนสกัดที่ได้จากน้ำต้มเดือดของเมล็ดชุมเห็ดไทยที่ทำให้แห้ง พบว่าส่วนสกัดดังกล่าวมีฤทธิ์ป้องกันการชักได้ในสัตว์ทดลองที่เหนี่ยวนำให้เกิดการชักทั้งสารเคมี (Pentylenetetrazol, strychnine) และเมื่อกระตุ้นด้วยไฟฟ้า (Electric Shock)

สำหรับขั้นตอนการสกัดสารจากสมุนไพรเพื่อแยกตัวยาสำคัญออกมานั้น จะสกัดด้วยตัวทำละลายที่สามารถละลายเอาสารหลายชนิดออกมาได้เป็นจำนวนมาก (สุภารัตน์ จันทร์เหลือง 2535, นันทวัน บุญยะประภัศร 2536 และ แม้น อมรสิทธิ์ 2535) เช่น Methanol แล้วจึงสกัดต่อด้วยตัวทำละลายที่มีความเป็นขั้ว (polarity) ที่ลดลงเรื่อย ๆ เพื่อแยกเอาสารที่มีขั้วต่างกัน ออกจากกัน ซึ่งเป็นวิธีหนึ่งที่ทำให้สารต่าง ๆที่อยู่ในส่วนสกัดนั้น ๆ แยกออกจากกันหรือมีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น

ในการวิจัยครั้งนี้ได้ทำการสกัดสารจากสมุนไพรโดยเริ่มจากการสกัดด้วยตัวทำละลายที่มีขั้วต่าง ๆกันเทียบกับการสกัดด้วยวิธีต้มด้วยน้ำจนเดือด ซึ่งเป็นวิธีตามภูมิปัญญาชาวบ้าน ข้อมูลที่ได้จากการวิจัยครั้งนี้จะช่วยบอกได้ว่าสารที่มีฤทธิ์กันชักที่มีอยู่ในเมล็ดชุมเห็ดไทยน่าจะเป็นสารในกลุ่มใด มีความเป็นขั้วมากน้อยแค่ไหนและถูกสกัดออกมาได้จากตัวทำละลายชนิดหรือระดับใด ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการศึกษาเพื่อพัฒนาให้เป็นยาต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1. เพื่อแยกส่วนสกัดออกเป็นส่วนสกัดต่าง ๆ แบ่งตามความมีขั้ว (polarity) ของตัวทำละลาย
2. เพื่อศึกษาฤทธิ์กันชักของส่วนสกัดทุกส่วนใน epileptic models
3. เพื่อหาคุณสมบัติเบื้องต้นของสารสำคัญในเมล็ดชุมเห็ดไทยที่มีฤทธิ์กันชักได้
4. เพื่อศึกษายืนยันฤทธิ์กันชักของส่วนสกัดต่าง ๆที่สกัดได้จากเมล็ดชุมเห็ดไทย

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบถึงฤทธิ์กันชักของส่วนสกัดเมล็ดชุมเห็ดไทย
2. ทราบถึงความแรงของส่วนสกัดต่าง ๆ เมื่อเทียบกับยากันชัก
3. ทราบถึงคุณสมบัติเบื้องต้นของสาร สำคัญที่มีฤทธิ์กันชัก
4. เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการศึกษาถึงสารสำคัญในเมล็ดชุมเห็ดไทยที่มีฤทธิ์กันชักเพื่อพัฒนาเป็นยาต่อไป
5. เป็นข้อมูลในการสนับสนุนการใช้สมุนไพรในงานสาธารณสุขมูลฐาน

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University

บทที่ 2
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 นิยาม

การชัก (Convulsion) คือ กลุ่มอาการที่มีการแสดงออกมาทางร่างกายในลักษณะการชักกระตุก เกร็ง สลับกันไป เนื่องจากมีการหดเกร็งของ voluntary muscle ซึ่งเมื่อกล่าวถึงการชัก มักพบคำที่เกี่ยวข้อง หรืออาจก่อให้เกิดความสับสนวิ่งพบได้บ่อย ได้แก่ seizure, convulsion และ epilepsy โดยคำแต่ละคำมีความหมายดังนี้

Seizure: หมายถึง การที่มีกระแสไฟฟ้าที่ผิดปกติในสมอง ทั้งความถี่ และ/หรือความแรง (uncontrolled electrical discharge of neurons) แล้วมีผลรบกวนการทำงานของสมอง

Convulsion: หมายถึง อาการที่แสดงออกทางร่างกาย อันเป็นผลจาก Seizure

Epilepsy: หมายถึง สภาวะที่มีการเกิดกระแสไฟฟ้าที่ผิดปกติในสมองอย่างเรื้อรัง หรือการเกิดการชักซ้ำ (recurrent seizure) เนื่องจากการมีจุดที่ผิดปกติในสมอง (primary defects origination)

2.2 สาเหตุของการชัก

สาเหตุส่วนใหญ่ที่ทำให้เกิดการชักเกิดได้จากการได้รับการกระทบกระเทือนที่ศีรษะเช่น อุบัติเหตุ แล้วทำให้มีเลือดออกในสมอง มีเลือดคั่ง หรือการติดเชื้อ เช่นเยื่อหุ้มสมองอักเสบ หรือการมีเนื้องอกในสมอง การได้รับสารพิษต่าง ๆ เช่น อัลกอฮอล์ หรือยาบางชนิด หรือไม่สามารถหาสาเหตุที่แท้จริงได้ โดยทั่วไปจะมีจุดกำเนิดอยู่ที่ cortical grey matter ของสมอง ซึ่งปัจจัยในการกำหนดชนิดและความรุนแรงของโรคจะขึ้นอยู่กับตำแหน่งของจุดกำเนิด (primary discharge) และความสามารถในการแผ่กระจาย (spread) ของกระแสประสาทที่ผิดปกติจากจุดกำเนิด สาเหตุการชักที่พบส่วนใหญ่รวบรวมไว้ดังในตารางที่ 7 ในภาคผนวก ก

2.3 ชนิดของการชัก

แบ่งได้เป็น 3 ชนิดใหญ่ ๆดังนี้ (รายละเอียดดังในตารางที่ 8 ของภาคผนวก ข)

1. Partial (Focal) seizure
2. Generalized seizure
3. Unclassified seizure

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University

2.4 การรักษาผู้ป่วยโรคลมชัก

จุดมุ่งหมายของการรักษาผู้ป่วยโรคลมชักคือ ทำให้ผู้ป่วยหายจากอาการชักและสามารถดำรงชีวิตได้อย่างปกติต่อไป โดยทั่วไปการรักษาจะเริ่มต้นที่การหาสาเหตุของการชัก และพยายามรักษาโดยกำจัดสาเหตุที่ทำให้เกิดการชัก ควบคู่ไปกับการป้องกันการชักโดยการใช้ยาป้องกันการชักและหลีกเลี่ยงสิ่งกระตุ้นที่ทำให้เกิดการชัก ซึ่งการใช้ยาป้องกันการชักก็จะแตกต่างกันไปในผู้ป่วยแต่ละราย ทั้งชนิด จำนวน และระยะเวลาในการใช้ยา ยาที่ใช้ในการรักษาลมชักในปัจจุบันสามารถแบ่งตามกลไกการออกฤทธิ์ที่สมองได้ดังนี้ (Yamaguchi S and Rogawski MA 1992, Rodger C and Pleury BJ 1993, Chaw SA and Fisher LJ 1981 และ Palmer GC et al. 1993)

2.4.1 ยาที่เสริมฤทธิ์การทำงานของ Gamma Aminobutyric Acid (GABA) ซึ่งเป็น inhibitory neurotransmitters ตัวอย่างยาในกลุ่มนี้คือ

- progabide ซึ่งเป็น prodrug ของ GABA
- tiagabin เป็นยาที่ยับยั้งการ reuptake ของ GABA ที่ pre-synaptic neurons
- vigabatrin และ valproic acid ยาในกลุ่มนี้จะยับยั้ง GABA transminase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ทำลาย GABA
- benzodiazepines, barbiturates และ steroids ยาในกลุ่มนี้จะเปลี่ยน allosteric ของ GABA receptor ทำให้เพิ่ม affinity ของ GABA ในการจับกับ GABA receptor
- gabapentin มีโครงสร้างเป็น GABA analogue แต่การออกฤทธิ์ไม่ได้ผ่าน GABA receptor แต่กลไกการออกฤทธิ์ที่แท้จริงยังไม่ทราบแน่ชัด

2.4.2 ยาที่กดการทำงานของ Glutamate ซึ่งเป็นสารสื่อประสาทชนิดกระตุ้น (excitatory neurotransmitters) ยาในกลุ่มนี้ได้แก่

- lamotrigine เป็นยาที่ยับยั้งการหลั่งของ glutamate จาก excitatory presynaptic neurons
- dizoclipine ซึ่งเป็น N-Methyl D-Aspatate (NMDA) receptor antagonist

2.4.3 ยาที่ออกฤทธิ์โดยตรงต่อ Ion channels ยาในกลุ่มนี้จะต้องมีความสามารถผ่าน blood brain barrier ได้ เช่น

- phenytoin ซึ่งเป็น voltage gate Na^+ - channel blocker
- carbamazepine จะกด post tetanic potentiation และเป็น antagonist ต่อ adenosine receptor

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University

- ethosuximide ยับยั้ง T-type Ca^{++} channel ใน thalamic neurons

ยาป้องกันการชักที่มีใช้ในปัจจุบันสามารถควบคุมอาการชักในผู้ป่วยส่วนมากได้ผลดี ชนิดของยาที่เหมาะสมในการป้องกันการชักแต่ละชนิดดังในตารางที่ 9 ภาคผนวก ค แต่ในผู้ป่วยบางรายก็ไม่สามารถควบคุมอาการได้หมด และระยะเวลาในการใช้ยาของผู้ป่วยแต่ละรายจะแตกต่างกันไป ซึ่งส่วนมากต้องใช้ยาเป็นเวลานานติดต่อกันเป็นปี หรือบางรายต้องใช้ยาตลอดชีวิต ซึ่งการใช้ยาติดต่อกันเป็นเวลานานเช่นนี้ จำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องคำนึงถึงปัจจัยต่าง ๆที่เป็นส่วนประกอบเช่น ประสิทธิภาพของยา ราคายา ตลอดจนอาการข้างเคียงที่จะเกิดตามมา เพราะฉะนั้นการศึกษาค้นคว้าเพื่อจะได้มาซึ่งยาตัวใหม่ที่มีประสิทธิผลดี อาการอันไม่พึงประสงค์ของยาน้อยและราคาไม่แพงนัก ย่อมเป็นสิ่งที่จะต้องให้ความสำคัญอย่างยิ่ง คุณสมบัติของยากันชักที่ดีดังแสดงในตารางที่ 10 ภาคผนวก ง

2.5 สมุนไพรกับการรักษาลมชัก

ตำรายาไทยได้กล่าวถึงสมุนไพรหลายชนิดที่มีฤทธิ์ในการรักษาหรือป้องกันการชัก ทั้งที่เป็นการใช้สมุนไพรตัวเดียว หรือที่เป็นสูตรผสมของสมุนไพรหลายชนิด ดังตัวอย่าง

สูตรที่ 1:

พริกไทย	หนัก 2 บาท
ขิงแห้ง	หนัก 2 บาท
ดอกดีปลี	หนัก 2 บาท
เจตมูลเพลิงแดง	หนัก 2 บาท
ชะพลู	หนัก 2 บาท
สะค้าน	หนัก 2 บาท
ข่า	หนัก 2 บาท
โกฐก้านพร้าว	หนัก 1 บาท
ดอกจันทน์	หนัก 2 บาท
เกสรบุญนาก	หนัก 2 บาท

ต้มเคี่ยวให้รับประทาน ครั้งละ 1 ถ้วยชา วันละ 2-3 ครั้ง ก่อนอาหาร

สูตรที่ 2:

ชุมเห็ดไทย ใช้ใบสด 20-30 กรัมหรือ หนึ่งกำมือต้มกับน้ำ 11/2 ถ้วยแก้วใช้ดื่มครั้งเดียว เมล็ด 15-30 กรัม คั่วให้เหลืองบดเป็นผงชงด้วยน้ำเดือด ทิ้งไว้ 5 นาทีดื่มแต่น้ำ

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University

สูตรที่ 3:

ต้นครอบจักรวาลทั้งห้า หรือต้นฟันสี (ถอนเอาทั้งต้นตลอดทั้งราก) นำมาล้างน้ำให้สะอาด ใส่หม้อดินต้มน้ำพอสมควร ใส่น้ำตาลทรายแดง ลงผสมพอมีรสหวานเล็กน้อย ใช้น้ำยารับประทานต่างเครื่องดื่ม เป็นประจำทุกวัน ถ้าเป็นโรคชักมาไม่นาน โรคนี้จะหายขาดไปโดยเร็ว ถ้าเป็นนานเกิน 5 ปี จะต้องรับประทานยาติดต่อกัน 1 ปี โรคชักนี้จึงจะหายขาด (พระอธิการวีระ วีรปณโณ วัดหนองตาแดง อ. โคกสำโรง จ. ลพบุรี)ฯลฯ

นอกจากนี้ยังมีสมุนไพรอีกหลายชนิดทั่วโลกที่มีการศึกษาและพบว่ามีฤทธิ์ป้องกันการชัก ดังแสดงในตารางที่ 11 ใน ภาคผนวก จ

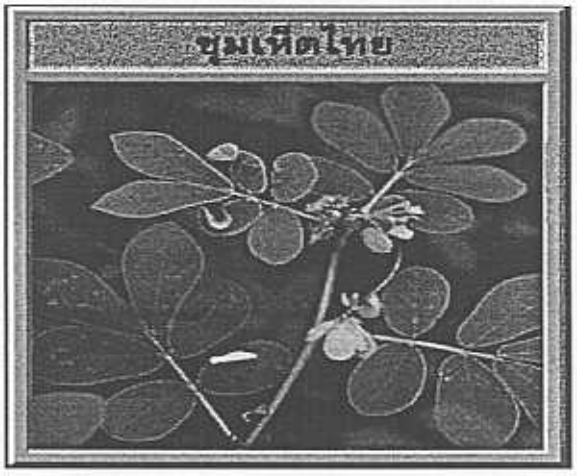
2.6 ชุมเห็ดไทย

ชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Cassia tora Line*

วงศ์ Caesalpiniaceae

ชื่อสามัญว่า *Foetid Cassia*

ชุมเห็ดไทยมีชื่อพื้นเมืองหรือชื่อพ้องมากมาย ตัวอย่างเช่น ชุมเห็ดเขาควาย ชุมเห็ดเล็ก (ภาคกลาง) กิเกีย หน่อปะหน่าเหน่อ (กะเหรี่ยง แม่ฮ่องสอน) พรมดาน (สุโขทัย) ลับมือน้อย (ภาคเหนือ) หญ้าลึกลืน (ปราจีนบุรี) ก๊วกเม้ง หรือ เอียฮวยแช (จีน) เป็นต้น



รูปที่ 2.1 ลักษณะต้นชุมเห็ดไทย

2.6.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

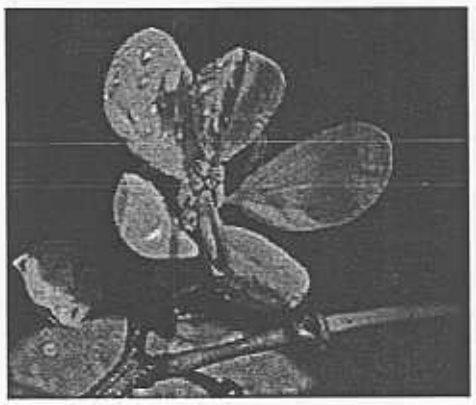
เป็นไม้ล้มลุกหรือไม้พุ่มขนาดเล็ก สูงถึง 1 เมตร ลำต้นค่อนข้างเกลี้ยง

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University

ใบ เป็นใบประกอบ ใบย่อยมี 3 คู่ รูปไข่กลับ กว้าง 1.5-2 เซนติเมตร ปลายกลม โคนสอบกลม ก้านใบย่อยสั้น มีต่อมยาว 2 มิลลิเมตร อยู่ระหว่างใบย่อย 2 คู่ล่าง ก้านใบยาว 1-4 เซนติเมตร หูใบยาว 10-15 มิลลิเมตร มีหนาม ค่อนข้างหลุดร่วงได้ง่าย

ดอก สีเหลือง ออกเป็นช่อสั้นๆ ตามง่ามใบ มี 1-3 ดอก ใบประดับแคบยาว 2-3 มิลลิเมตร ปลายแหลม ก้านดอกย่อยยาว 4-10 มิลลิเมตร เมื่อเป็นผลมีขนาดใหญ่ขึ้น กลีบรองดอกมีขนาดไม่เท่ากัน รูปไข่ กว้าง 2-4 มิลลิเมตร ยาว 5 มิลลิเมตร กลีบดอกขนาดไม่เท่ากัน รูปไข่กลับ กว้าง 6 มิลลิเมตร ยาว 10 มิลลิเมตร ปลายกลมมีก้านสั้น เกสรตัวผู้มี 7 อัน ค่อนข้างเท่ากัน ก้านเกสรตัวผู้ยาว 1.5-2 มิลลิเมตร อับเรณูยาว 1.5-2.5 มิลลิเมตร รังไข่มีขนนุ่มหนาแน่น ท่อเกสรตัวเมียเกลี้ยงปลายตัด



รูป 2.2 ลักษณะดอกชุมเห็ดไทย

ผล เป็นฝักรูปทรงกระบอก กว้าง 0.5 เซนติเมตร ยาว10-15 เซนติเมตรค่อนข้างโค้ง

เมล็ด มี 20-30 เมล็ด รูปสี่เหลี่ยมขนมเปียกปูน เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 5 มิลลิเมตร

2.6.2 สรรพคุณในตำรายาไทย

ในตำรายาไทยได้ระบุสรรพคุณของชุมเห็ดไทยในการบำบัดโรคต่างๆดังนี้

ทั้งต้น เป็นยาระบายอ่อนๆ ขับปัสสาวะ ขับพิษเสมหะ แก้โรคผิวหนัง แก้ไข้ แก้เสมหะ แก้คุดทะราด แก้ตานทราง

ใบ เป็นยาระบาย แก้โรคผิวหนังต่างๆ ขับปัสสาวะ บำรุงประสาท แก้อาการเมาเห็ด

ผล แก้ฟกบวม

เมล็ด รับประทานให้ชุ่มคอ บำรุงหัวใจ ทำให้ง่วงนอนและหลับได้ดี แก้กษัย แก้ปัสสาวะพิการ ขับพยาธิในเด็ก แก้ไข้ แก้เสมหะ แก้หืด แก้คุดทะราด รักษาโรคผิวหนัง แก้ท้องผูก แก้ฟกบวม บำรุงไต ขับปัสสาวะ

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University

นอกจากใช้เดี่ยว ๆแล้วยังมีการใช้ชุมเห็ดไทยผสมในตำรับยาหลายชนิด ดังในภาคผนวก

2.6.3 การศึกษาทางเคมี

ได้มีผู้ทำการศึกษาพบสารเคมีจำนวนมากในส่วนต่าง ๆของชุมเห็ดไทย ดังในตารางที่ 3 ในภาคผนวก

2.6.4 การศึกษาทางเภสัชวิทยาและการทดลองทางคลินิก

ทั้งต้น

1. ฤทธิ์ต้านไวรัส (Antiviral activity) ส่วนสกัดจากชุมเห็ดไทยด้วย 50% alcohol ในขนาด 50 ม.ค.ก./ซี.ซี มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Ranikhet virus*
2. กระตุ้น phagocytosis ส่วนสกัดจากชุมเห็ดไทยด้วยน้ำมีฤทธิ์กระตุ้น phagocytosis ของ phagocyte
3. ฤทธิ์คลายกล้ามเนื้อเรียบ (Smooth muscle relaxant) ส่วนสกัดจากชุมเห็ดไทยด้วย 50% alcohol มีฤทธิ์คลายกล้ามเนื้อเรียบส่วน ileum ของหนูตระเภาซึ่งถูกกระตุ้นโดย acetylcholine และ histamin
4. พิษต่อเซลล์ (cytotoxicity)ส่วนสกัดจากชุมเห็ดไทยด้วย 50% alcohol ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์เพาะเลี้ยง CA-9KB
5. การทดสอบความเป็นพิษ (Toxicity assessment) เมื่อฉีดส่วนสกัดนี้เข้าช่องท้องของหนูถีบจักร ขนาดที่ทนได้มากที่สุดคือ 100 มก./กก.

ใบ

1. ฤทธิ์ขับพยาธิ (anthelmintic activity) ส่วนสกัดด้วย methanol จากใบและเมล็ดแห้ง ความเข้มข้น 7.0 ม.ก./ซี.ซี. ไม่มีผลต่อเชื้อ *Bursaphelen ligricolus* จึงไม่มีฤทธิ์ต้านพยาธิตัวกลม

เมล็ด

1. ฤทธิ์เป็นยาถ่าย (Laxative effect) สารแอนทราควิโนน ซึ่งมีฤทธิ์เป็นยาระบาย
2. ฤทธิ์กดการทำงานของหัวใจ (Cardiac depressant) ประภัสสร จุลกะรัตน์ และคณะ ได้ศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของส่วนสกัดซึ่งมี glycoside เป็นส่วนประกอบ พบว่า 5% และ 10% ของส่วนสกัดนี้มีฤทธิ์ทำให้หัวใจกบที่แยกจากร่างกายคลายตัว
3. ฤทธิ์กระตุ้นกล้ามเนื้อเรียบ (Smooth muscle stimuli) ประภัสสร จุลกะรัตน์ และคณะ ได้ศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของส่วนสกัดซึ่งมี glycoside เป็นส่วนประกอบ พบว่า 5% และ 10% ของส่วนสกัดนี้มีฤทธิ์ทำให้อัตราและความแรงของการหดตัว

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University

ของกระเพาะอาหารและลำไส้ที่แยกจากร่างกายเพิ่มขึ้น หัวใจกบที่แยกจากร่างกายคลายตัว

4. ฤทธิ์ขับปัสสาวะ (Diuretic activity) ประภัสสร จุลกะรัตน์ และคณะ ได้ศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของส่วนสกัดซึ่งมี glycoside เป็นส่วนประกอบ พบว่า 5% และ 10% ของส่วนสกัดนี้มีฤทธิ์ขับปัสสาวะ
5. ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย (Antibacterial activity) ส่วนสกัดเมล็ดชุมเห็ดไทยด้วยแอลกอฮอล์และน้ำ สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus albus*, *Staphylococcus citreus*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Bacillus megaterium*, *Salmonellatyphosa* etc.
6. ฤทธิ์ต้านเชื้อรา (Antifungal activity) ได้มีการศึกษาพบว่า สาร chrysophanic acid-9 anthrone มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา อันเป็นสาเหตุของโรคกลาก
7. ฤทธิ์บีบมดลูก (Uterine stimulation) ส่วนสกัดด้วย methanol เข้มข้น มีฤทธิ์เพิ่มการบีบตัวของมดลูกหนูตะเภา
8. ฤทธิ์ลดความดันโลหิต (Hypotensive activity) มีการศึกษาพบว่าส่วนสกัดจากเมล็ดชุมเห็ดไทยมีฤทธิ์ลดความดันโลหิต
9. ฤทธิ์กันชัก (Anticonvulsant activity) ส่วนสกัดเมล็ดชุมเห็ดไทยด้วยน้ำมีฤทธิ์ป้องกันการชัก และลดการตายจากการชัก ในสัตว์ทดลองที่เหนี่ยวนำให้เกิดการชักด้วยสารเคมีและไฟฟ้า

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิธีวิจัย

3.1 เครื่องมือและวัสดุอุปกรณ์

3.1.1 สมุนไพร

เมล็ดชุมเห็ดไทย ที่ใช้ตลอดการทดลองนี้ได้จัดซื้อจาก ร้านขายสมุนไพรเจ้ากรมเปีอ ซึ่งตั้งอยู่ในกรุงเทพมหานคร ซึ่งก่อนที่จะนำสมุนไพรมาทำการสกัดตามกรรมวิธีต่าง ๆได้มีการตรวจสอบเอกลักษณ์จนมั่นใจว่าเมล็ดสมุนไพรที่จัดหามาเป็นเมล็ดชุมเห็ดไทยอย่างแท้จริง

3.1.2 สัตว์ทดลอง

ในการทดลองนี้เลือกใช้หนูถีบจักรเพศผู้พันธุ์ Swiss Albino น้ำหนักประมาณ 25-30 กรัม ซึ่งได้จัดซื้อจากสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล ศาลายา ซึ่งจัดส่งโดยทางเครื่องบินจากกรุงเทพมหานครถึงจังหวัดอุบลราชธานี หลังจากรับสัตว์ทดลองแล้วได้จัดเลี้ยงไว้ที่ห้องเลี้ยงสัตว์ทดลองเป็นเวลา 7 วันก่อนที่จะใช้ในการทดลอง ในการเลี้ยงได้แบ่งหนูออกเป็นกลุ่ม ๆละ 5 ตัวต่อกรง และให้อาหารที่จัดส่งจากทางสำนักสัตว์ทดลองฯ ตลอดการทดลอง และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง สัตว์ทดลองที่ยังไม่ตายจะถูกฆ่าด้วยวิธีให้ดมอีเทอร์

3.1.3 สารเคมีและเครื่องมือ

3.1.3.1 สารเคมี

- Pentylenetetrazol (PTZ)
- Sodium valproate
- Phenyltoin sodium
- Ether
- Chloroform
- Methanol

3.1.4 เครื่องมือ

- เครื่องทำแห้งโดยใช้ความเย็น (lyophilizor)
- เครื่องระเหยแห้งภายใต้ความดัน (Rotary evaporator)

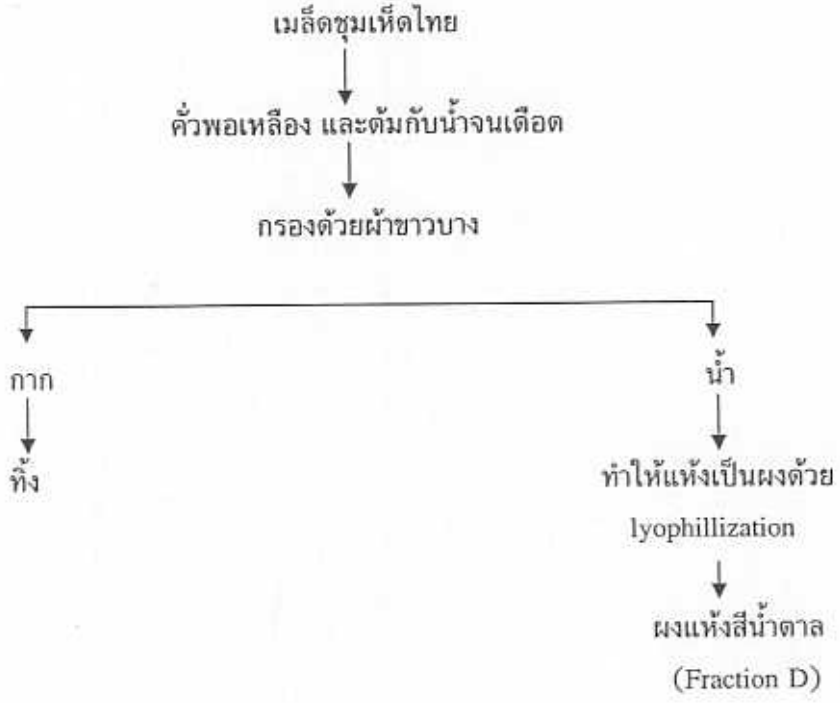
Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University

- เครื่อง Infusion pump
- เครื่องช็อกด้วยไฟฟ้า (Electric shock)
- เครื่อง separatory funnel

3.2 วิธีการสกัดสารสำคัญจากเมล็ดชุมเห็ดไทย

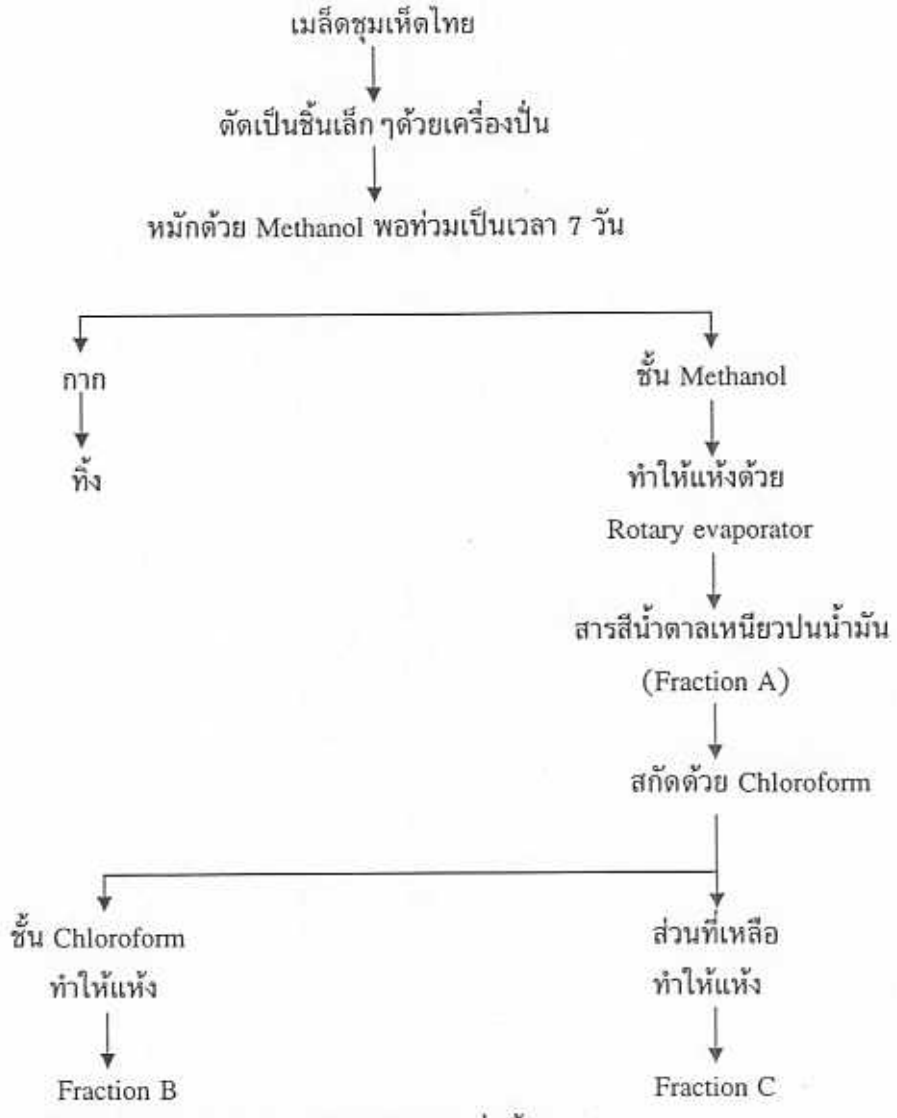
เมล็ดชุมเห็ดไทยจำนวน 2 กิโลกรัม แบ่งออกเป็น 2 ส่วน ส่วนที่หนึ่งนำมาคั่วจนเหลืองแล้วต้มกับน้ำพอท่วมจนเดือด และเคี่ยวต่อสักระยะหนึ่ง หลังจากนั้นนำไปกรองด้วยผ้าขาวบางเพื่อแยกเอากากออก นำน้ำสกัดที่ได้ไปทำให้แห้งด้วยเครื่อง lyophillizor จะได้สารที่มีลักษณะสีน้ำตาล เบา และดูดความชื้นได้ดีมาก ดังรูปที่ 3.1 ส่วนเมล็ดชุมเห็ดไทยที่เหลือนำมาหมักด้วย Methanol พอท่วม เป็นเวลา 7 วัน ในระหว่างนี้ต้องคนบ่อยๆและคอยเติม Methanol เพื่อให้ท่วมเมล็ดชุมเห็ดไทย เมื่อครบกำหนดเวลาแล้วนำมา กรองด้วยผ้าขาวบาง เก็บชั้น Methanol ไว้ ส่วนกากทิ้งไป นำสารละลาย Methanol มาระเหยแห้งด้วยเครื่องระเหยแห้งภายใต้ความดัน จะได้สารสีน้ำตาลเข้ม หนักและค่อนข้างเหนียว ขั้นตอนการสกัดดังในรูปที่ 3.2



รูปที่ 3.1: การสกัดสารจากเมล็ดชุมเห็ดไทยด้วยวิธีต้มกับน้ำเดือด

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University



รูปที่ 3.2 การสกัดสารจากเมล็ดชุมเห็ดไทยด้วยตัวทำละลายที่มีขั้วต่างกัน

3.3 วิธีการที่ใช้ในการกระตุ้นให้สัตว์ทดลองเกิดการชัก (Epileptic models)

3.3.1 การกระตุ้นด้วย Pentylenetetrazol (PTZ)

3.3.1.1 ระดับของสาร PTZ ต่ำสุดที่สัตว์ทดลองเริ่มชัก (PTZ threshold test)

ในการทดลองนี้สัตว์ทดลองจะได้รับสารละลาย PTZ ใน normal saline solution ในความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เข้าทางเส้นเลือดดำด้วยอัตราเร็ว 0.3 มิลลิลิตร/นาที ซึ่งควบคุมโดยเครื่อง infusion pump จะหยุดเมื่อสัตว์ทดลองเริ่มชัก อ่านปริมาตรของสารละลาย PTZ ที่ใช้ไป และคำนวณเป็นปริมาณ มิลลิกรัมของสาร PTZ ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University

3.3.1.2 การหาระยะเวลาเริ่มชัก จำนวนครั้งที่ชักและการตายหลังจากการชัก (PTZ latency test)

การทดลองนี้สัตว์ทดลองจะได้รับสารละลาย PTZ เข้มข้น 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในขนาด 60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม เข้าทางช่องท้อง (intraperitoneal route) และจับเวลาที่สัตว์ทดลองเริ่มชักครั้งแรก จำนวนครั้งที่สัตว์ทดลองชักภายใน 15 นาที และ การตายหลังจากการชักของสัตว์ทดลอง

3.3.2 การกระตุ้นด้วยไฟฟ้า (Electric shock)

3.3.2.1 ระยะเวลาที่สัตว์ทดลองเริ่มชัก

สัตว์ทดลองจะถูกกระตุ้นให้ชักด้วยไฟฟ้าในขนาด 9.0 โวลท์ ความถี่ 30 เฮิร์ท โดยแตะอิเล็กโตรดที่บริเวณหัวตาจนกว่าสัตว์ทดลองเริ่มชักและจับเวลา

3.3.2.2 จำนวนครั้งที่สัตว์ทดลองชัก

สัตว์ทดลองจะถูกกระตุ้นให้ชักด้วยไฟฟ้าในขนาด 9.0 โวลท์ ความถี่ 30 เฮิร์ท โดยแตะอิเล็กโตรดที่บริเวณหัวตา เป็นเวลา 15 วินาที นับจำนวนครั้งของการชักภายในเวลาที่กำหนดและสังเกตการตายหลังจากการชัก

3.4 วิธีการทดสอบฤทธิ์กันชัก

3.4.1 การหาขนาดของส่วนสกัดที่ใช้ (Dose)

ในการทดลองนี้จะหาขนาดของส่วนสกัด Fraction A ที่เหมาะสมในการป้องกันการชัก เพื่อนำค่าที่ได้ไปใช้กับสวนสกัดทุกๆ fraction ในการศึกษานี้จะเลือกใช้ PTZ threshold test model ซึ่งในการทดลองจะแบ่งสัตว์ทดลองออกเป็นกลุ่มๆละ 15 ตัว สัตว์ทดลองในแต่ละกลุ่มจะได้รับส่วนสกัด Fraction A ในขนาด (dose) ต่างๆกันดังนี้ 100, 200, 400, 600, 800 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม โดยการป้อน ทิ้งไว้ 45 นาที จะฉีดสารละลาย PTZ เข้าที่เส้นเลือดดำที่หางแบบต่อเนื่องด้วยอัตราเร็ว 0.3 มิลลิลิตรต่อนาที โดยการใช้เครื่อง infusion pump และจะหยุดให้เมื่อสัตว์ทดลองเริ่มมีอาการชัก แล้วนำค่าปริมาตรที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณของ PTZ ที่กระตุ้นให้เกิดการชัก ขนาดของสวนสกัดที่ทำให้ต้องใช้สาร PTZ มากที่สุดในการกระตุ้นให้เกิดการชักจะถือเป็นขนาดที่ใช้ในการทดลองต่อไป

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University

3.4.2 การหาระยะเวลาที่สวนสกัดเริ่มออกฤทธิ์ (Onset)

หลังจากได้ขนาดของส่วนสกัดที่มีฤทธิ์กันชักแล้วจะทำการหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการให้ส่วนสกัดออกฤทธิ์ ก่อนที่จะกระตุ้นให้เกิดการชัก (Onset) ในการศึกษานี้จะเลือกใช้วิธี PTZ latency test model ในการศึกษา ซึ่งจะแบ่งสัตว์ทดลองออกเป็น 9 กลุ่ม ๆละ 15 ตัว สัตว์ทดลองในแต่ละกลุ่มจะได้รับส่วนสกัด Fraction A ในขนาดที่ได้จากการทดลองที่ 3.4.1 และจะเริ่มกระตุ้นให้เกิดการชักหลังจากได้รับส่วนสกัดที่เวลาต่าง ๆกัน คือ 0, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180 และ 240 นาที เมื่อครบเวลาดังกล่าวแล้วสัตว์ทดลองจะได้รับสารละลาย PTZ ในขนาด 60 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม โดยฉีดเข้าทางช่องท้อง หลังจากฉีด จะสังเกตอาการต่าง ๆดังนี้ หางกระตุก (myoclonic jerk) การกระตุกทั้งตัวพร้อมกัน (full generalized tonic-clonic convulsion) และการตายของสัตว์ทดลองหลังการชัก ระยะเวลาของการให้ส่วนสกัดก่อนกระตุ้นให้เกิดการชักที่ทำให้สัตว์ทดลองเกิดอาการต่าง ๆดังกล่าวน้อยที่สุด จะถือว่าเป็นเวลาที่เหมาะสมในการป้อนส่วนสกัดก่อนการกระตุ้นในการทดลองต่อ ๆไป

3.4.3 การหาระยะเวลาที่ส่วนสกัดยังคงมีฤทธิ์ (Duration of action)

เมื่อได้ขนาดและเวลาที่เหมาะสมในการให้สวนสกัดแล้ว จะทำการศึกษาถึงระยะเวลาที่สวนสกัด Fraction A ยังคงมีฤทธิ์ ในการทดลองนี้เลือกใช้ PTZ threshold test ในการทดลองนี้แบ่งสัตว์ทดลองออกเป็น 7 กลุ่ม ๆละ 15 ตัว โดยสัตว์ทดลองในแต่ละกลุ่มจะได้รับส่วนสกัด Fraction A ที่เวลาต่าง ๆกันก่อนที่จะกระตุ้นให้เกิดการชัก ดังนี้ 40, 60, 90, 120, 180 และ 240 นาที ตามลำดับ เมื่อถึงเวลาที่กำหนดแล้วจะให้สารละลาย PTZ เข้าเส้นเลือดดำที่หางด้วยวิธีเดียวกับการทดลองที่ 3.4.1

3.4.4 การศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์กันชักของส่วนสกัดต่าง ๆ

3.4.4.1 ศึกษาด้วยวิธี PTZ threshold test

ในการทดลองนี้จะแบ่งสัตว์ทดลองออกเป็น 7 กลุ่ม ๆละ 15 ตัว ซึ่งจะแบ่งเป็นกลุ่มควบคุม, กลุ่มที่ได้รับสวนสกัด Fraction A, B, C, D และกลุ่มที่ได้รับยากันชัก Sodium valproate และ Phenytoin สัตว์ทดลองในแต่ละกลุ่มจะได้รับสวนสกัดและยาดังกล่าว และเมื่อครบระยะเวลาที่เหมาะสมในการดูดซึมแล้ว จะกระตุ้นให้เกิดการชักเช่นเดียวกับการทดลองที่ 3.4.1 และบันทึกผลของแต่ละ Fraction เทียบกับกลุ่มที่ได้รับยา

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University

ขก3116
ข้อมูลท้องถิ่น

3.4.4.2 ศึกษาด้วยวิธี PTZ latency test

ในการทดลองนี้จะแบ่งสัตว์ทดลองออกเป็น 7 กลุ่ม ๆละ 15 ตัว ซึ่งจะแบ่งเป็นกลุ่มควบคุม, กลุ่มที่ได้รับสวนสกัด Fraction A, B, C, D และกลุ่มที่ได้รับยากันชัก Sodium valproate และ Phenytoin สัตว์ทดลองในแต่ละกลุ่มจะได้รับส่วนสกัดและยาดังกล่าว และเมื่อครบระยะเวลาที่เหมาะสมในการดูดซึมแล้ว จะกระตุ้นให้เกิดการชักเช่นเดียวกับการทดลองที่ 3.4.2 และบันทึกผลของแต่ละ Fraction เทียบกับกลุ่มที่ได้รับยา

3.4.4.3 ศึกษาด้วยวิธีการกระตุ้นด้วยไฟฟ้า (Electric shock)

ในการศึกษานี้จะเตรียมสัตว์ทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 3.4.1 หรือ 3.4.2 หลังจากนั้นจะกระตุ้นให้เกิดการชักด้วยกระแสไฟฟ้า โดยจะทดสอบทั้ง Maximum electric shock threshold test และ maximum electric shock latency test ซึ่งหลังจากครบระยะเวลาที่เหมาะสมในการดูดซึมของสารแต่ละชนิดแล้ว สัตว์ทดลองจะถูกกระตุ้นให้เกิดการชักด้วยกระแสไฟฟ้า รายละเอียดดังได้กล่าวไว้ในหัวข้อ Epileptic models

ขก๖๖
Qk603
ส83ฐๆ
ฉ.2
ข้อมูลท้องถิ่น
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University

บทที่ 4
ผลการวิจัย

4.1 คุณลักษณะของส่วนสกัด

ส่วนสกัด Fraction A คือ ส่วนสกัดที่ได้จากการสกัดเมล็ดชุมเห็ดไทยด้วย methanol ตามรูปที่ 3.2 หลังจากผ่านขบวนการทำให้แห้งแล้วสารที่ได้จะมีลักษณะเป็นของแข็งปนกับของเหลวซึ่งมีลักษณะเป็นน้ำมันสีเหลือง

ส่วนสกัด Fraction B คือ ส่วนที่ได้จากการสกัด Fraction A ด้วย chloroform หลังจากทำให้แห้งจะได้สารที่มีลักษณะเหนียวปนน้ำมันสีเหลือง

ส่วนสกัด Fraction C คือ ส่วนสกัดส่วนที่เหลือจากการสกัดด้วย chloroform หลังจากทำให้แห้งจะได้สารที่เป็นของแข็ง แห้ง สีน้ำตาลปนเหลือง

ส่วนสกัด Fraction D คือ ส่วนสกัดที่ได้จากการสกัดเมล็ดชุมเห็ดไทยด้วยน้ำต้มเดือด ตามรูปที่ 3.1 หลังจากผ่านขบวนการทำให้แห้งด้วย lyophillizor แล้วสารที่ได้จะมีลักษณะเป็นผงแห้งสีน้ำตาล เบา และมีคุณสมบัติดูดความชื้นได้สูงมาก ละลายน้ำได้ดีมาก เมื่อละลายน้ำจะได้สารละลายสีน้ำตาล

4.2 ขนาดของส่วนสกัดที่ใช้

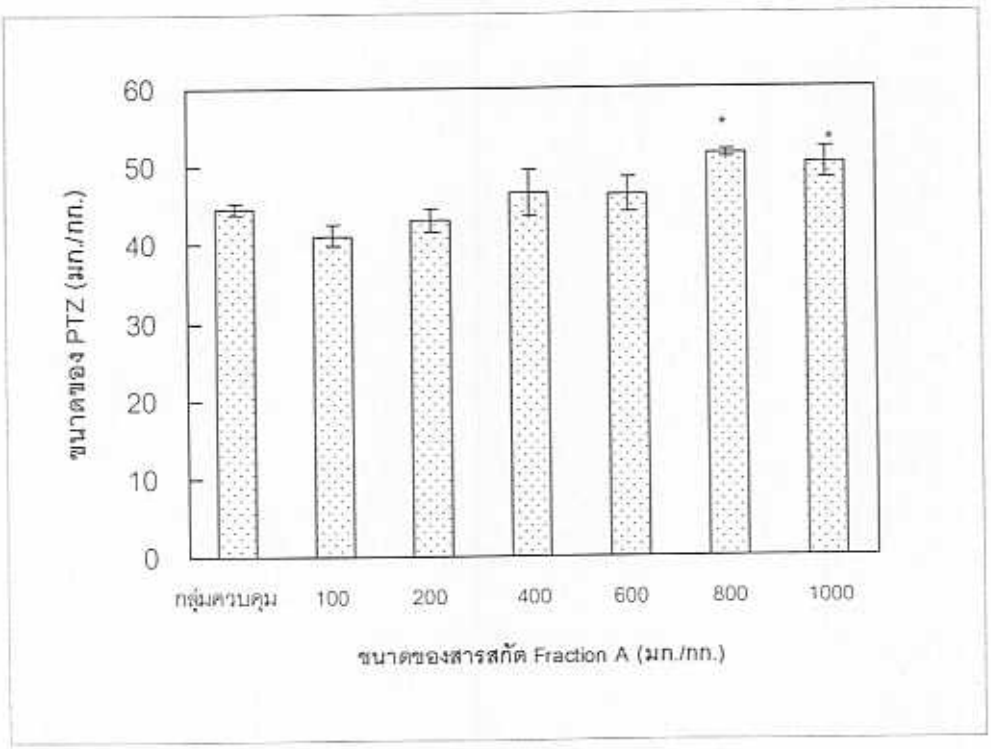
ในการทดลองนี้ทำเพื่อศึกษาขนาดของส่วนสกัดที่ให้ผลในการป้องกันการชัก โดยใช้ PTZ threshold test ขนาดของส่วนสกัดที่ทำให้ต้องใช้สาร PTZ มากที่สุดในการกระตุ้นให้เกิดการชักจะถือเป็นขนาดที่ใช้ในการทดลองต่อไป จากผลการทดลองที่ได้ดังแสดงในตารางที่ 4.1 และรูปที่ 4.1 พบว่า ขนาดของส่วนสกัดFraction A ที่เริ่มเห็นผลในการป้องกันการชัก คือ 800 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ดังนั้นในการทดลองต่อไปจะใช้ส่วนสกัดขนาดดังกล่าว

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University

ตารางที่ 4.1: ขนาดของสาร PTZ (mg/kg) ที่ใช้เพื่อทำให้สัตว์ทดลองชักหลังจากได้รับส่วนสกัด Fraction A ขนาดต่าง ๆ (Mean+SEM)

ขนาดของสารสกัด Fraction A (มก./กก.)	ขนาดของสาร PTZ ที่ใช้ (มก./กก.)
กลุ่มควบคุม	44.57±0.74
100	41.19±1.35
200	43.13±1.55
400	46.53+2.97
600	46.31±2.35
800	51.54±0.47
1,000	50.23±2.02



รูปที่ 4.1: ขนาดของสาร PTZ (mg/kg) ที่ใช้เพื่อทำให้สัตว์ทดลองชักหลังจากได้รับส่วนสกัด Fraction A ขนาดต่าง ๆ (Mean+SEM) * $p<0.01$ เทียบกับกลุ่มควบคุม

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University

4.3 เวลาที่สารสกัดเริ่มออกฤทธิ์

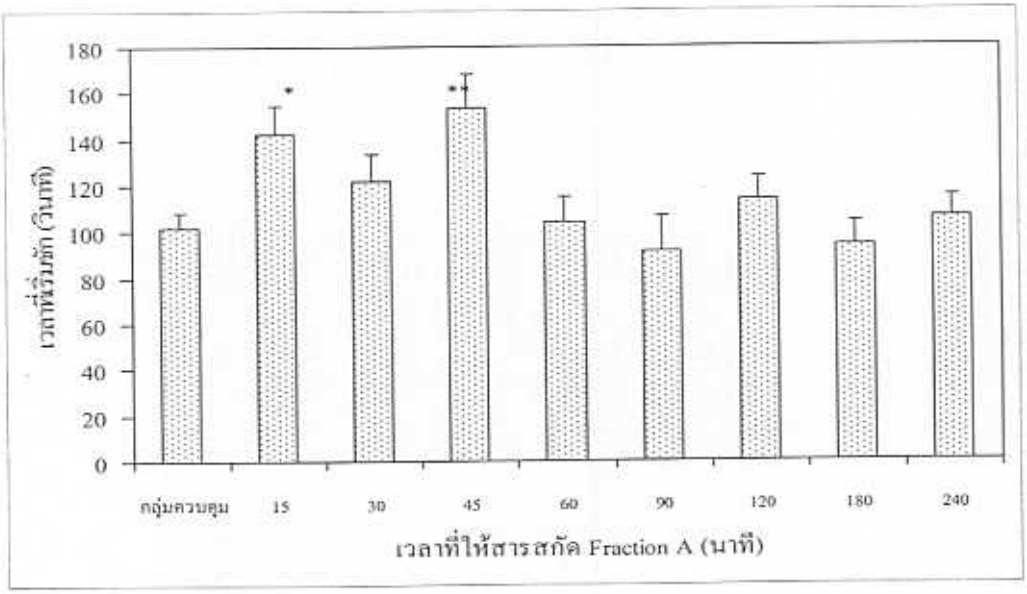
การทดลองนี้เพื่อหาระยะเวลาที่เหมาะสมที่ตัวยาจะถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสโลหิตและกระจายตัวไปยังสมองเพื่อแสดงผลในการป้องกันการชัก (Onset) เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการทดลองต่อไป ระยะเวลาของการให้ส่วนสกัดก่อนกระตุ้นให้เกิดการชักที่ทำให้สัตว์ทดลองเกิดอาการต่าง ๆน้อยที่สุดจะถือว่าเป็นเวลาที่เหมาะสม ซึ่งจะใช้เวลาดังกล่าวในการทดลองต่อ ๆไป ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.2 พบว่าส่วนสกัดสามารถออกฤทธิ์กันชักได้ตั้งแต่ 15 นาทีหลังจากป้อน และให้ฤทธิ์สูงสุดที่เวลา 45 นาที เมื่อพิจารณาถึงฤทธิ์ป้องกันการตายหลังจาการชักพบว่ากลุ่มที่ได้รับยาสามารถป้องกันการตายหลังจากการชักได้ และฤทธิ์สูงสุดที่ 45 นาที ดังรูปที่ 4.2 และ 4.3

ตารางที่ 4.2: ผลของส่วนสกัด Fraction A ที่ให้เมื่อเวลาต่าง ๆต่อ ระยะเวลาที่เริ่มชัก, ร้อยละของการป้องกันการชักและร้อยละของการป้องกันการตายจากชักหลังจากกระตุ้นด้วยสาร PTZ (Mean±SEM)

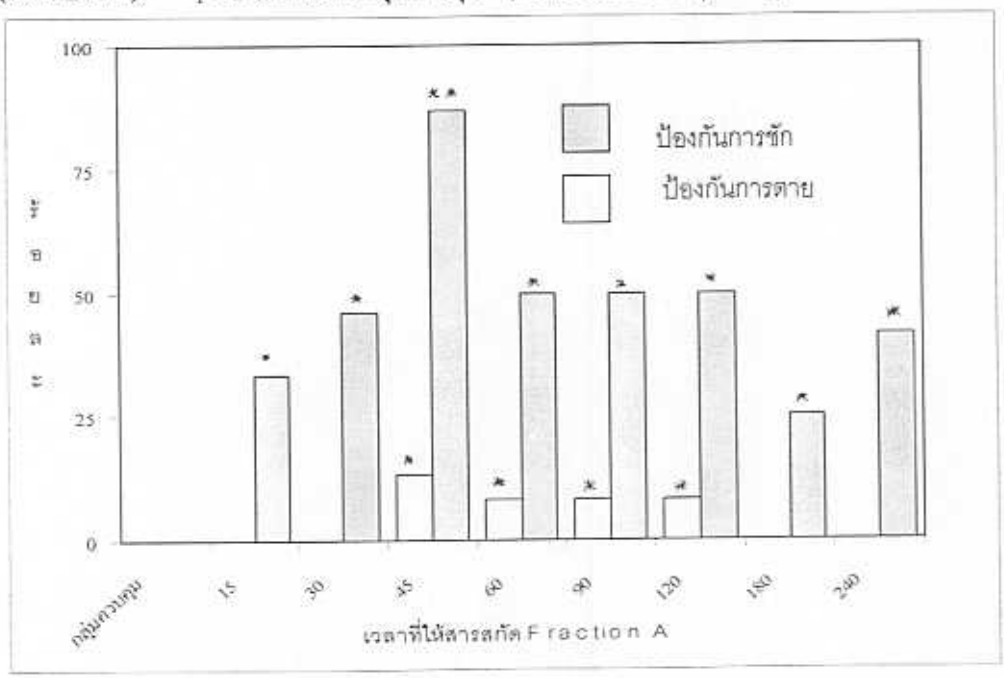
เวลาที่ให้สารสกัด (นาที)	เวลาที่เริ่มชัก (วินาที)	% ป้องกันการชัก	%ป้องกันการตาย
กลุ่มควบคุม	102.35±6.15	0	0
15	142.42±12.24	0	33.33
30	122.00±11.25	0	46.15
45	152.92±15.10	13.33	86.67
60	104.27±10.44	8.33	50
90	91.08±15.40	8.33	50
120	113.55±9.84	8.33	50
180	93.58±10.64	0	25
240	106.00±9.15	0	41.67

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University



รูปที่ 4.2: ผลของเวลาที่ทำให้ส่วนสกัด Fraction A กับระยะเวลาที่เริ่มชัก หลังกระตุ้นด้วยสาร PTZ (Mean+SEM) ** p<0.05 เทียบกับกลุ่มควบคุม * p<0.01 เทียบกับกลุ่มควบคุม



รูปที่ 4.3: ผลของเวลาที่ทำให้ส่วนสกัด Fraction A ต่อร้อยละของการป้องกันการชักและป้องกันการตายจากการชัก ** p<0.05 เทียบกับกลุ่มควบคุม * p<0.01 เทียบกับกลุ่มควบคุม

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University

4.4 ระยะเวลาที่สารสกัดออกฤทธิ์ (Duration of action)

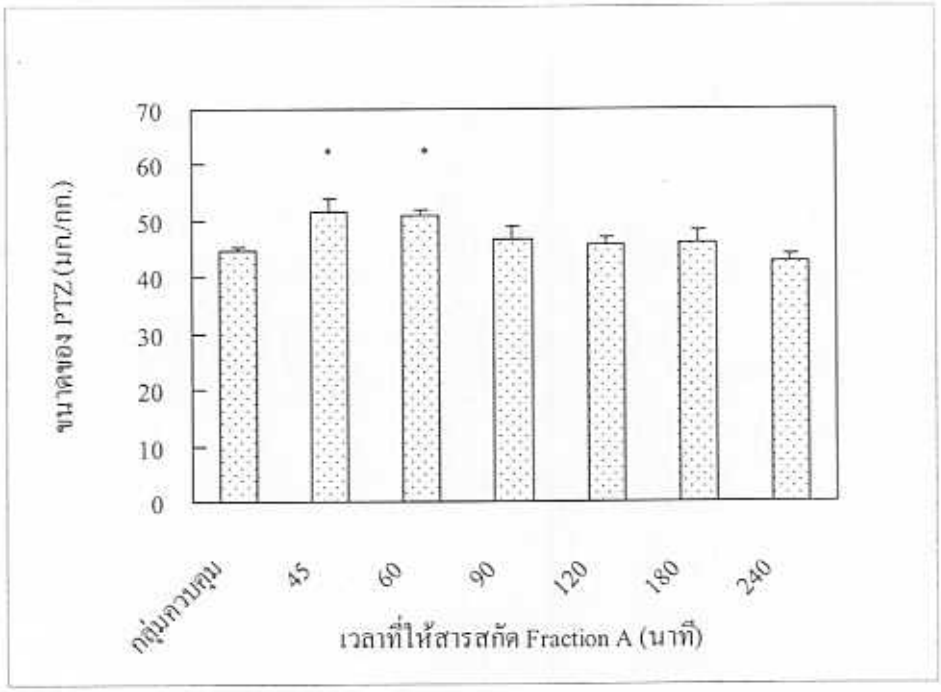
การทดลองนี้ศึกษาถึงระยะเวลาที่ส่วนสกัดยังคงมีฤทธิ์ในการป้องกันการชัก (Duration of action) พบว่า ส่วนสกัดเริ่มออกฤทธิ์ตั้งแต่ 15 นาทีหลังการป้อนและมีฤทธิ์สูงสุดที่ 45 นาที และฤทธิ์คงอยู่ประมาณ 1 ชั่วโมง ดังแสดงในตารางที่ 4.3 และ รูปที่ 4.4

ตารางที่ 4.3: แสดงขนาดของสาร PTZ (มก./กก.) ที่ใช้เพื่อทำให้สัตว์ทดลองชักหลังจากได้รับส่วนสกัด Fraction A ในขนาด 800 มก./กก. ที่เวลาต่างๆ (Mean±SEM)

เวลาที่ให้สารสกัด Fraction A (นาที)	ขนาดของสาร PTZ ที่ใช้ (มก./กก.)
กลุ่มควบคุม	44.57±0.74
45	51.54±2.21
60	50.84±0.95
90	46.71±2.36
120	45.57±1.58
180	46.10±2.14
240	42.61±1.56

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University



รูปที่ 4.4: ขนาดของสาร PTZ (มก./กก.) ที่ใช้เพื่อทำให้สัตว์ทดลองชักหลังจากได้รับส่วนสกัด Fraction A ในขนาด 800 มก/กก ที่เวลาต่าง ๆ (Meam+SEM) * $p < 0.01$ เทียบกับกลุ่มควบคุม

4.5 การศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์กันชักของส่วนสกัดต่าง ๆ

การศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ของส่วนสกัดส่วนต่าง ๆทั้งสี่เปรียบเทียบกับยากันชัก Sodium valproate และ Phenytoin ในการทดลองนี้ได้ศึกษาฤทธิ์ของส่วนสกัดส่วนต่าง ๆทั้งสี่ใน 3 models คือ ศึกษาด้วยวิธี PTZ threshold test, PTZ latency test และ การกระตุ้นด้วยไฟฟ้า (Electric shock)

4.5.1 ศึกษาด้วยวิธี PTZ threshold test

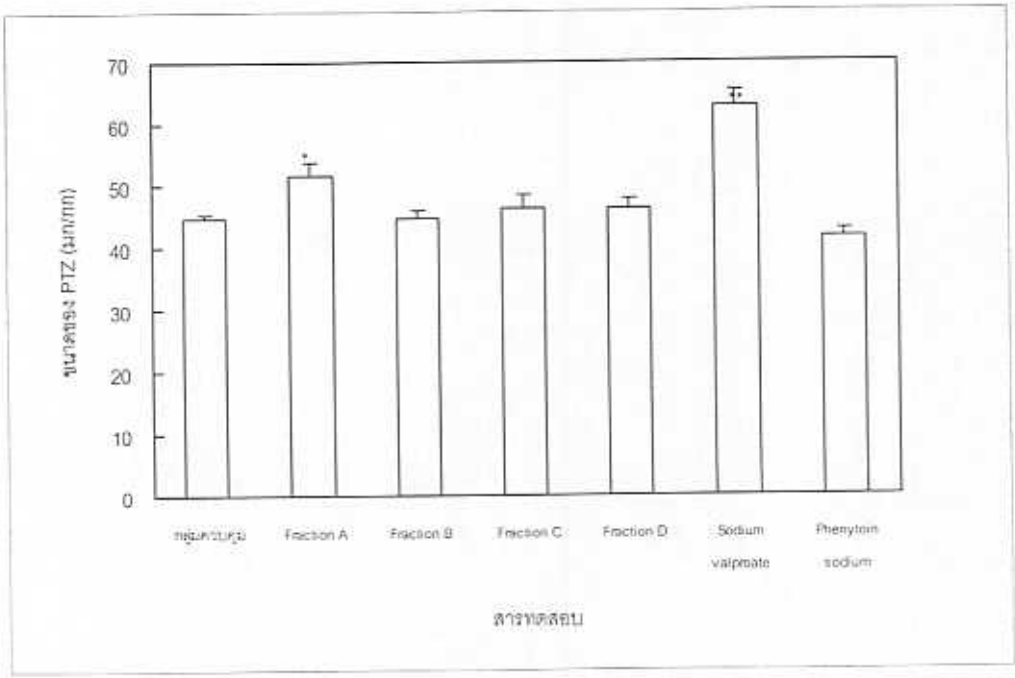
ผลการทดลองดังในตารางที่ 4.4 และรูปที่ 4.5 พบว่า ส่วนสกัด Fraction A ซึ่งเป็นส่วนที่สกัดด้วย methanol มีฤทธิ์ป้องกันการชักได้ต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เช่นเดียวกับฤทธิ์ของ sodium valproate แต่พบว่า Phenytoin ไม่สามารถป้องกันการชักที่เกิดจากการกระตุ้นด้วย PTZ ได้ ส่วนสกัด Fraction อื่น ๆพบว่าให้ฤทธิ์ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University

ตารางที่ 4.4: ขนาดของสาร PTZ (มก./กก.) ที่ใช้เพื่อทำให้สัตว์ทดลองชักหลังจากได้รับสารทดสอบต่าง ๆ (Mean±SEM)

สารทดสอบ	ขนาดของสาร PTZ ที่ใช้ (มก./กก.)
กลุ่มควบคุม	44.57±0.74
สารสกัด Fraction A	51.54±2.21
สารสกัด Fraction B	44.72±1.13
สารสกัด Fraction C	46.35±2.05
สารสกัด Fraction D	46.11±1.69
Sodium valproate	62.76±2.65
Phenytoin sodium	41.57±1.21



รูปที่ 4.5:ขนาดของสาร PTZ (มก./กก.) ที่ใช้เพื่อทำให้สัตว์ทดลองชักหลังจากได้รับสารทดสอบต่าง ๆ (Mean±SEM) * $p < 0.01$ เทียบกับกลุ่มควบคุม ** $p < 0.001$ เทียบกับกลุ่มควบคุม

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University

4.5.2 ศึกษาด้วยวิธี PTZ latency test

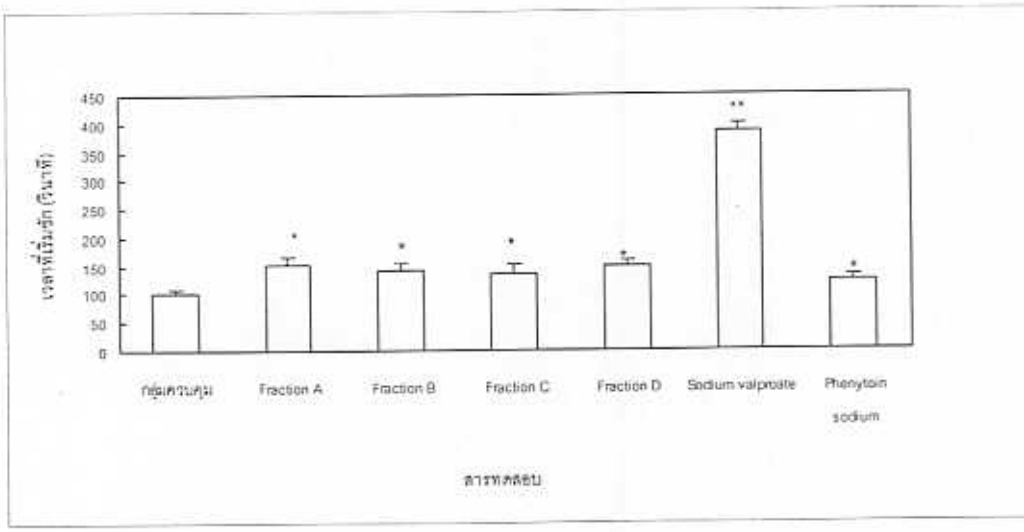
การทดลองเพื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ของส่วนสกัดส่วนต่าง ๆทั้งสี่เปรียบเทียบกับยากันชัก โดยใช้ PTZ latency test model ซึ่งจะศึกษาตัวแปร 3 ชนิด คือ เวลาที่เริ่มชักหลังจากได้รับ PTZ, ฤทธิ์ป้องกันการชัก และ ป้องกันการตายจากการชัก ผลการทดลองดังในตารางที่ 4.5 Sodium valproate ให้ฤทธิ์กันชักสูงสุด และส่วนสกัดจากทุก Fraction รวมถึง Phenytoin สามารถยืดระยะเวลาของการเริ่มชักหลังจากการกระตุ้นได้ ต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังในแผนภูมิที่ 8

ตารางที่ 4.5: ผลของสารทดสอบต่าง ๆต่อ ระยะเวลาที่เริ่มชัก, ร้อยละของการป้องกันการชัก และร้อยละของการป้องกันการตายจากชักหลังจากกระตุ้นด้วยสาร PTZ (Mean±SEM)

สารสกัด	เวลาที่เริ่มชัก (วินาที)	% ป้องกันการชัก	%ป้องกันการตาย
กลุ่มควบคุม	102.35±6.15	0	0
ส่วนสกัด Fraction A	152.92±15.1	13.33	86.67
ส่วนสกัด Fraction B	143.20+15.99	0	45.45
ส่วนสกัด Fraction C	135.73±14.33	13.33	86.67
ส่วนสกัด Fraction D	147.73±11.93	13.33	33
Sodium valproate	385.5±19.19	86.67	100
Phenytoin sodium	121.30±12.70	0	0

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University

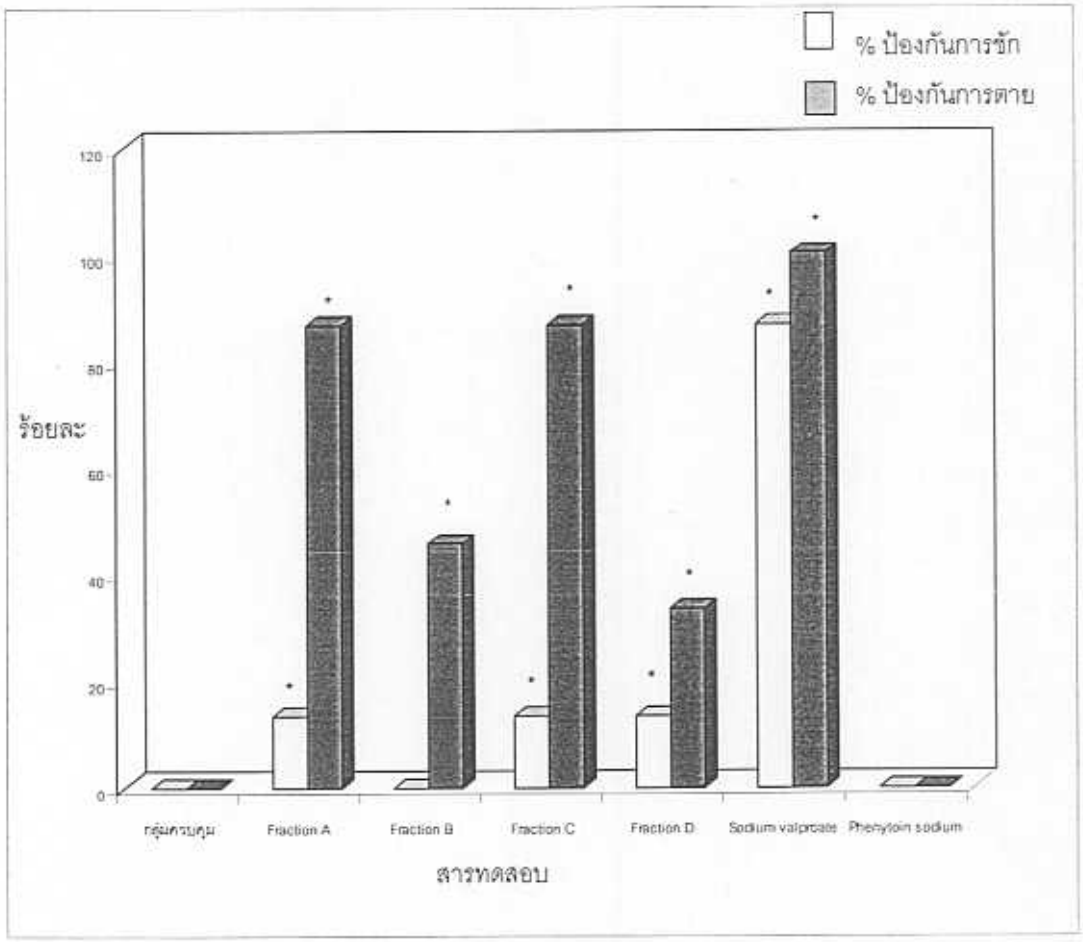


รูปที่ 4.6: ผลของสารทดสอบต่าง ๆต่อ ระยะเวลาที่เริ่มชักหลังจากกระตุ้นด้วย PTZ (Mean+SEM)
*p < 0.05 เทียบกับกลุ่มควบคุม ** p < 0.001 เทียบกับกลุ่มควบคุม

เมื่อพิจารณาที่ฤทธิ์ในการป้องกันการชักและป้องกันการตายหลังจากการชัก พบว่า Sodium valproate และส่วนสกัดทั้ง 4 มีฤทธิ์ป้องกันการชักและป้องกันการตายที่เกิดจากการชัก โดยที่ Sodium valproate มีฤทธิ์สูงสุด ส่วนสกัด Fraction A, B, C และ D สามารถป้องกันการตายหลังจากการชักได้ เรียงลำดับดังนี้ ส่วนสกัด Fraction A และ C มีฤทธิ์มากกว่า ส่วนสกัด Fraction B และ D ตามลำดับ ส่วนสกัดทั้งสามคือ ส่วนสกัด Fraction A, B และ C มีฤทธิ์ป้องกันการชัก ยกเว้น Fraction D รายละเอียดดังในตารางที่ 4.5 และรูปที่ 4.9

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University



รูปที่ 4.7: ผลของสารทดสอบต่าง ๆต่อร้อยละของการป้องกันการชัก และร้อยละของการป้องกันการตายจาก ชัก หลังจากกระตุ้นด้วยสาร PTZ (Mean+SEM)* $p < 0.05$ เทียบกับกลุ่มควบคุม ** $p < 0.001$ เทียบกับกลุ่มควบคุม

4.5.3 ศึกษาด้วยวิธีการกระตุ้นด้วยไฟฟ้า (Electric shock)

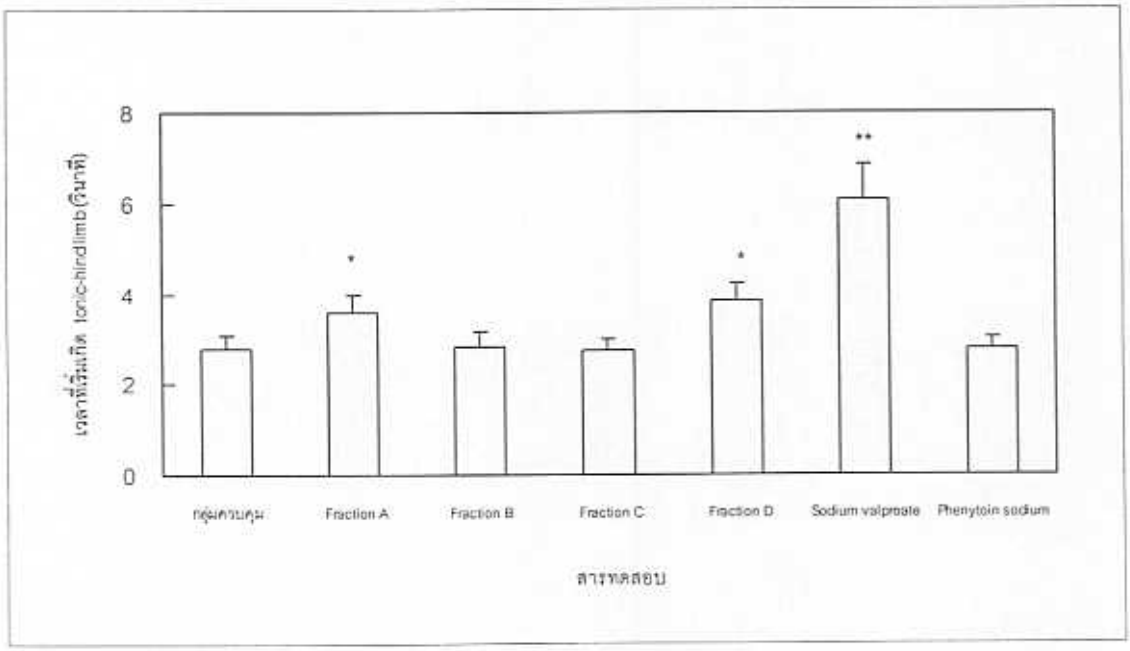
หลังจากกระตุ้นสัตว์ทดลองด้วยกระแสไฟฟ้าขนาด 9.0 โวลท์ ความถี่ 30 เฮิร์ท พบว่า สัตว์ทดลองกลุ่มที่ได้รับ Sodium valproate, ส่วนสกัด Fraction A และ Fraction D ให้ระยะเวลาของการเริ่มชักหลังจากถูกกระตุ้นมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และจำนวนครั้งของการชักภายใน 15 วินาทีน้อยกว่ากลุ่มควบคุมรายละเอียดดังในตารางที่ 4.6 และรูปที่ 4.8 และ 4.9

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University

ตารางที่ 4.6: แสดงผลของสารทดสอบชนิดต่าง ๆต่อการระยะเวลาที่เริ่มเกิด Tonic-hindlimb และจำนวนครั้งของการเกิด tonic-hindlimb ภายใน 15 วินาทีหลังจากกระตุ้นด้วยไฟฟ้า (Mean±SEM)

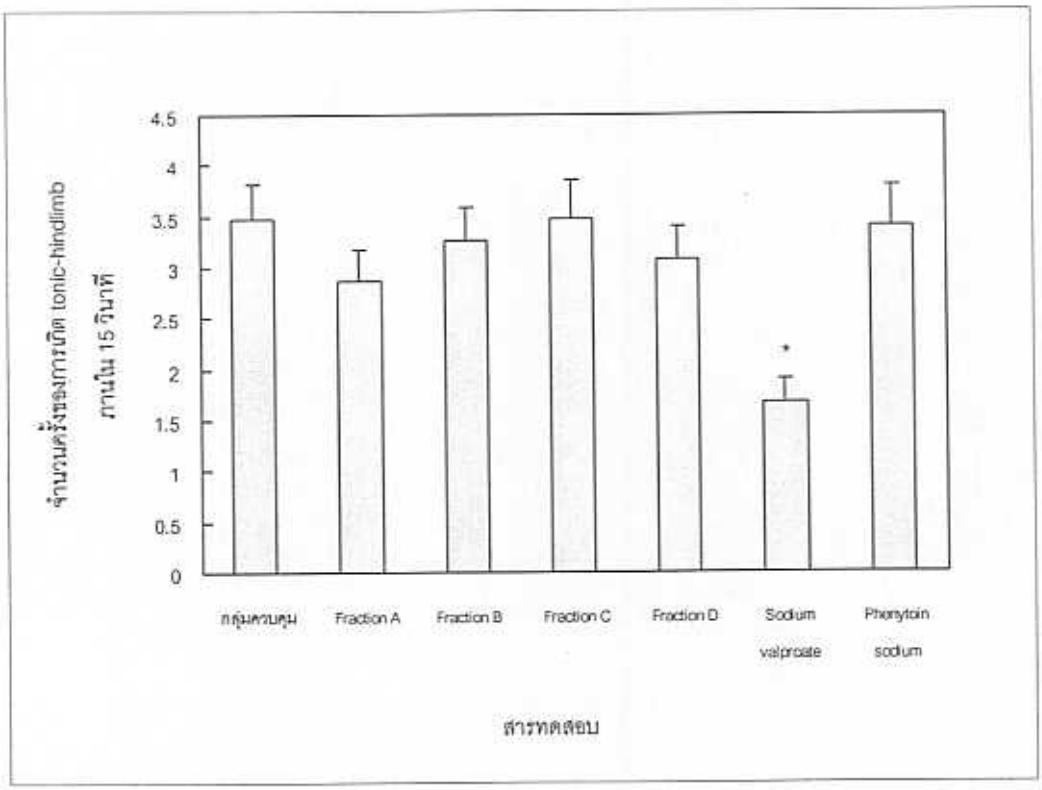
สารทดสอบ	เวลาที่เริ่มเกิด Tonic-hindlimb (วินาที)	จำนวนครั้งของการเกิด tonic-hindlimb ภายใน 15 วินาที
กลุ่มควบคุม	2.8±0.30	3.47±0.35
ส่วนสกัด Fraction A	3.6±0.36	2.87±0.31
ส่วนสกัด Fraction B	2.84±0.32	3.27±0.32
ส่วนสกัด Fraction C	2.73±0.0.25	3.47±0.39
ส่วนสกัด Fraction D	3.87±0.35	3.07±0.32
Sodium valproate	6.07±0.77	1.67±0.23
Phenytoin sodium	2.8±0.22	3.4±0.39



รูปที่ 4.8: ผลของสารทดสอบชนิดต่าง ๆต่อการระยะเวลาที่เริ่มเกิด Tonic-hindlimbหลังจากกระตุ้นด้วยไฟฟ้า (Mean ± SEM) *p < 0.05 ** p < 0.01 เทียบกับกลุ่มควบคุม

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University



รูปที่ 4.9: ผลของสารทดสอบชนิดต่าง ๆต่อจำนวนครั้งของการเกิด Tonic-hindlimb ภายใน 15 วินาที หลังจากกระตุ้นด้วยไฟฟ้า (Mean±SEM) *p < 0.01 เทียบกับกลุ่มควบคุม

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University

บทที่ 5
สรุป และวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาฤทธิ์กันชักจากส่วนสกัดต่าง ๆ จากเมล็ดชุมเห็ดไทยในหนูขาว เมล็ดชุมเห็ดไทยที่ใช้ได้มาจากแหล่งจัดขายยาสมุนไพรโดยเฉพาะซึ่งมีการจำหน่ายเพื่อใช้ประกอบเป็นยา และได้ทำการพิสูจน์เอกลักษณ์ว่าเป็นเมล็ดชุมเห็ดไทย อย่างแท้จริง วิธีการสกัดสารสำคัญจากเมล็ดชุมเห็ดไทยนั้น ใช้วิธีตามตำรายาไทยคือ การต้มด้วยน้ำเดือด และวิธีทางวิทยาศาสตร์คือ การสกัดโดยใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วต่างกัน ส่วนสัตว์ทดลองที่ใช้และวิธีการกระตุ้นให้สัตว์ทดลองชักเพื่อเป็นแบบจำลอง (model) นั้นได้ยึดตามวิธีที่ได้รับการยอมรับจากสากลและทราบกลไกในการทำให้เกิดการชักชนิดของการชักที่เป็นตัวแทน ซึ่งแบบจำลองที่ใช้เหล่านี้จัดเป็นแบบจำลองที่ดี ขั้นตอนการทดลองค่อนข้างง่ายและไม่ใช้เวลามาก นอกจากนี้อุปกรณ์ที่ใช้ก็ไม่แพงและสามารถปรับปรุงอุปกรณ์ต่าง ๆที่มีในห้องปฏิบัติการใช้ประกอบได้ จึงจัดเป็นแบบจำลองที่เหมาะอย่างยิ่งในการศึกษาเบื้องต้นเพื่อคัดเลือกสมุนไพรต่าง ๆที่มีฤทธิ์กันชัก ก่อนที่จะศึกษาในขั้นสูงต่อไป

ผลจากการศึกษานี้พบว่า ส่วนสกัดที่ได้จากการต้มด้วยน้ำเดือด (Fraction D) ซึ่งเป็นวิธีตามภูมิปัญญาชาวบ้านมีฤทธิ์ในการกันชักไม่ว่าจะใช้แบบจำลองใดก็ตาม ซึ่งก็สอดคล้องกับผลการวิจัยก่อนหน้านี้ แต่ฤทธิ์กันชักที่ได้จะมีความแรงน้อยกว่าส่วนสกัดที่สกัดด้วย methanol (Fraction A) ทั้งนี้เนื่องมาจากการที่ methanol ซึ่งจัดเป็นตัวทำละลายที่ดีและแรงสามารถที่สกัดเอาสารสำคัญออกมาได้มากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำ จึงทำให้ได้ฤทธิ์ที่ดีกว่าเมื่อใช้ในขนาดเดียวกัน เมื่อนำสารสกัดที่ได้จากการสกัด Fraction A ต่อด้วย chloroform ซึ่งจัดเป็นสารละลายที่มีขั้วน้อยลงและน้อยกว่า methanol มาทำการสกัดต่อเพื่อแยกเอาสารที่มีขั้วน้อยออกจาก Fraction A พบว่าสารที่สกัดได้ด้วย chloroform หลังจากทำให้แห้งจะได้สารที่มีลักษณะเป็นน้ำมัน และเมื่อนำไปทดสอบฤทธิ์กันชักพบว่าไม่มีฤทธิ์ การที่ส่วนสกัดเหล่านี้ให้ฤทธิ์กันชัก อาจเนื่องมาจากการปนเปื้อนเนื่องจากขบวนการสกัดอาจจะไม่บริสุทธิ์เพียงพอ เมื่อเทียบกับการศึกษาที่ผ่านมา เป็นการยืนยันว่าสารสำคัญที่มีฤทธิ์กันชักเป็นสารที่มีความเป็นขั้วมากกว่าที่ chloroform จะสกัดออกมาได้ ซึ่งในการศึกษาต่อไปจะทำการสกัดสารโดยใช้ตัวทำละลายที่ขั้วเพิ่มขึ้นอีกหลายชนิดเพื่อให้ได้คุณสมบัติอย่างละเอียดของสารสำคัญที่มีฤทธิ์กันชักต่อไป

เมื่อเปรียบเทียบผลการศึกษานี้กับการศึกษาก่อนหน้าพบว่า ขนาดของสารที่ใช้ในการศึกษานี้คือ 800 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ซึ่งเป็นขนาดที่ต่ำกว่าในการศึกษาก่อน ๆ ซึ่งใช้ขนาด 1,000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม จึงทำให้ฤทธิ์กันชักที่ได้จากสารสกัดด้วยน้ำจากการศึกษานี้กว่าต่ำกว่า แต่สารสกัดที่ได้จาก

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University

การสกัดด้วย methanol มีฤทธิ์ค่อนข้างแรงทั้งที่ใช้ในขนาดเดียวกัน แสดงว่าการใช้ methanol สกัดจะทำให้ได้สารสำคัญออกมามากกว่าการสกัดด้วยน้ำทั้งชนิดของสารและปริมาณของสารที่ถูกสกัดออกมาได้ และจากการทดลองพบว่า Phenytoin sodium ไม่มีฤทธิ์ป้องกันการชักใน model ที่ใช้ในการทดลองนี้

จากการศึกษาฤทธิ์ของสมุนไพรต่าง ๆส่วนมากจะพบว่าตัวยาสำคัญในการออกฤทธิ์หนึ่ง ๆจะมาจากสารหลายชนิดประกอบกัน และจะมีบ่อยครั้งที่การศึกษาในระยะเริ่มแรกให้ผลที่ชัดเจน แต่เมื่อทำการสกัดเพื่อทำให้บริสุทธิ์ด้วยกรรมวิธีต่าง ๆ เพื่อให้ได้สารสำคัญตัวเดียวออกมา พบว่าฤทธิ์ที่ได้ลดลงหรือหมดฤทธิ์ไป ซึ่งก็มาจากสาเหตุที่ว่าฤทธิ์บางอย่างของสมุนไพรมาจากสารหลายชนิดที่เป็นองค์ประกอบในสมุนไพรนั้น ๆ ไม่ใช่จากสารตัวใดตัวหนึ่ง ซึ่งเป็นจุดหนึ่งที่ควรพิจารณาเมื่อทำการศึกษาที่ยวกับฤทธิ์ของสมุนไพร

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University

บรรณานุกรม

โครงการสมุนไพรเพื่อการพึ่งตนเอง. 2528. สมุนไพรบำบัด. กรุงเทพ: เอดิสัน เพรส โพรดักส์.

จุฑามณี สุทธิสีสังข์. 2539. ยากันชัก. ใน:เภสัชวิทยา 1. จุฑามณี สุทธิสีสังข์ และ รัชนี เมฆมณี. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. กรุงเทพ. 230-231.

ชัยโย ชัญชาญทิพยุทร. 2522. สมุนไพร การรวบรวมเบื้องต้นเพื่องานวิจัย. กรุงเทพ: กองการวิจัยศึกษาสมุนไพร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ชะลอ อุทธาภาชน์. 2528. หลักการใช้ยาสมุนไพรรักษาโรคต่างๆ. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพ: แพร่พิทยา.

นันทวัน บุญยะประภัศร. 2539. ชุมเห็ดไทย. ใน:สมุนไพรพื้นบ้าน (1). กรุงเทพ: ศูนย์ข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. 585.

นันทวัน บุญยะประภัศร. 2530. ชุมเห็ดไทย ใน:ก้าวไปกับสมุนไพร เล่ม 3. กรุงเทพ: ศูนย์ข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. 34-39.

นันทวัน บุญยะประภัศร. 2536. การสกัดแยกและพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารสำคัญจากสมุนไพร. ใน: ยาและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ เล่ม 1. วันดี กฤษณพันธ์. กรุงเทพ:คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. 148-152.

พเยาว์ เหมือนวงศ์ญาติ. 2526. ใน:คู่มือการใช้สมุนไพร. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพ:เมดิคัลมีเดีย. 64, 118, 172, 195.

แม้น อมรสิทธิ์ และ อมร เพชรสม. 2535. Principle and Techniques of Instrumental analysis. กรุงเทพมหานคร. 206-36.

สมาคมโรงเรียนแพทย์แผนโบราณ. 2521. ประมวลสรรพคุณยาไทย (ภาคสอง) ว่าด้วยพฤกษชาติ วัตถุธาตุ และ สัตว์นานาชนิด. กรุงเทพ: สำนักวัดพระเชตุพน. 17-18.

สุภารัตน์ จันทร์เหลือง. 2535. Antiepileptic effect of *Cassia tora* Linn. seeds. ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

Achary TK, Chatterjee IB. 1975. Isolation of chrysophanic acid-9-anthrone, the major antifungal principle of *Cassia tora*. Lioydia. 38(3). 218-20.

Acifuss FE, Henriksen O. 1981. Classification of Epileptic Seizures and the Epilepsies. Epilepsia. 22. 489-501.

Albors GW and Peroutke SJ. 1992. Neurologic Disorders. in:Clinical Pharmacology: Basic principles in Therapeutics. 3 rd ed: Melmon KL et al. United state of America. 318-323.

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University

Bleck TP and Klawans HL. 1990. Convulsive disorders: Mechanisms of epilepsy and anticonvulsant action. Clin Neuropharmacol. 13(2). 121-146.

Chaw SA and Fisher LJ. 1981. Phenytoin metabolism in mice. Drug Met Dispos. 2 (2). 156-160.

Chopra RN. 1982. Indigenous Drugs of India. Academic Publishers, Calcutta.

Chutamanee S. et al. 1997. Anticonvulsant effect of *Cassia tora* L. seed II. Pharma Indochaina. Faculty of Pharmacy Mahidol University, Bangkok. 87.

Graves NM and Leppile IE. 1991. Antiepileptic medications in development. DICP Ann Pharmacother. 25. 978-986.

Hosseinzadeh H and Mohammad M. Anticonvulsant Effects of *Coriandrum Sativum* L. Seed Extracts in Mice. Faculty of Pharmacy, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad.

Kanada M et Al. 1969. Chemical & Pharmaceutical Bulletin. Chemical studies on the oriental plant drugs. XXI. The constituents of *Cassia tora* L.2. A glycoside of rubrofusarin. Mar. 17(3). 458-61.

Kupferberg HJ. 1989. Antiepileptic drug development program: A cooperative effect of government and industry. Epilepsia. 30(supp 1). 531-536.

Lark B and Hutchison JB. 1993. Antiepileptic and neuroprotective potential of remacemide hydrochloride. Drug of the future. 18(11). 1021-1042.

Leppik IE. 1991. Antiepileptic drugs in development: Prospects for the near future. Epilepsia. 35(suppl.4). s29-s40.

Lloyd GK and Gillenwater G. 1995. Epilepsy and antiepileptic drugs. In:principle of pharmacology: Basic concepts & clinical applications. Munson PL, Mueller RA and Breese GR. New York: Chapman & Hall. 363-98.

Niedermeyer E. 1990. The epilepsies diagnosis and management. Maryland: Urban & Schwarzenberg.

Palmer GC, Clark B and Hutchison JB. 1993. Antiepileptic and neuroprotective potential of remacemide hydrochloride. Drug of the future. 18(11). 1021-1042.

Philip NP, Sender JWAS. 1994. Newer antiepileptic drugs: toward an improved risk-benefit ratio. Drugs safety. 11(1). 37-67.

Porter RJ. 1992. Current medical therapy of epilepsy: National institute of neurological disorders and stroke. Med Ther. 59-64.

Ubon Rajathanee University

Ranmsay RE. 1993. Advances in the pharmacotherapy of epilepsy. Epilepsia. 34 (suppl. 5). s9-s16.

Rodger C and Pleury BJ. 1993. Protective effect of flunarizine and nifedipine alone and in combination with anticonvulsant drugs against PTZ-induced seizures in mice. Neuropharmacol. 32(3). 257-263.

Rudolf H. Kava-kava (*Piper methysticum G.* Forster) in Contemporary Medical Research Portrait of a Medicinal Plant. Translation by Janet Alton.

Shibat S et al. 1969. Chemical & Pharmaceutical Bulletin. Chemical studies on the oriental plant drugs. XX. The constituents of *Cassia tora* L. The structure of torachrysone. Mar. 17(3). 454-57.

Snead OC. 1992. Pharmacological models of generalized absence seizures in rodents. J Neural Transm. (suppl 35). 7-19.

Whleie E. 1993. The treatment of Epilepsy: Principle and practice. Pennsylvania: Lea & Febiger.

Wong SM et al. 1989.New antihepatotoxic naphthapyrone glycoside from the seeds of *Cassia tora*. Planta medica. 55(3). 276-280.

Yamaguchi S, Rogawski MA. 1992. Effect of anticonvulsant drugs on 4-aminopyridine-induced seizures in mice. Epilepsy Res. 11. 9-16.

Ubon Rajathanee University

ภาคผนวก

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University

ภาคผนวก ก:

Common causes of epilepsy

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University

Common cause of epilepsy

Head injury
Infraction
Hemorrhage
Vascular malformations
Primary brain tumors
Metabolic tumors
Toxic or metabolic processes
Alcohol or drugs
Electrolyte disturbances
Meningitis
Idiopathic or inherited factor

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University

ภาคผนวก ข:

The international classification of epileptic seizures

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University

The international classification of epileptic seizures

1. Partial seizures
   - A. Simple partial seizures (consciousness not impaired)
     1. With motor symptom
     2. With somatosensory symptoms or special sensory symptoms
     3. With autosomic symptom
     4. With psychic symptoms
   - B. Complex partial seizures (with important of consciousness)
     1. Beginning as simple partial and progressing to impairment of consciousness
     2. With impairment of consciousness at onset
   - C. Partial seizures evolving to generalized seizures
     1. Simple partial seizure evolving to generalized seizures
     2. Complex partial seizures evolving to generalized seizures
     3. Simple partial seizure evolving to complex partial seizures evolving to generalized seizures
2. Generalized seizures
   - A. Absence
     1. Absence seizures
     2. Atypical absence seizures
   - B. Myoclonic seizures
   - C. Clonic seizures
   - D. Tonic seizures
   - E. Tonic-clonic seizures
   - F. Atonic seizures
4. Unclassified epileptic seizures

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University

ภาคผนวก ค:

Suggested first- and second-line antiepileptic drugs

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University

Suggested first- and second-line antiepileptic drugs

Seizure type	Drug of choice
Generalized seizure	
- Tonic-clonic (grand mal) seizure	First choice: Carbamazepine, Phenytoin or valproate Second choice: Acetazolamide, clonazepam, lamotrigine, phenobarbital, primidone or vigabatrin
- Absence (petit mal) seizure	First choice: Ethosuximide or valproate Second choice: Clonazepam, phenobarbital, primidone or vigabatrin
- Myoclonic seizure	First choice: Piracetam or valproate Second choice: Clobazepam, clonazepam, gabapentin or lamotrigine
Partial seizure	
- Simple and complex seizure	First choice: Carbamazepine, Phenytoin or valproate Second choice: Acetazolamide, Clobazam, Clonazepam, gabapentin, lamotrigine, phenobarbital, primidone or vigabatrin

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University

ภาคผนวก ง:

Properties of an ideal antiepileptic drug

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University

Properties of an ideal antiepileptic drug.

Effective for all seizure types
Wide therapeutic index
No organ toxicity
No teratogenicity
No drug interaction
Long half life
No protein binding
Water soluble
No active metabolite

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University

ภาคผนวก จ:

Medicinal plants showing anticonvulsant activity and other effects

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University

Medicinal plants showing anticonvulsant activity and other activities

---

Erva Tostão - *Boerhaavia hirsute*

Anthelmintic, **Anticonvulsant,** Antifibrinolytic, Antibacterial, Anti-inflammatory, Antispasmodic, Antiviral, Depurative, Diuretic, Choleretic, Hemostatic, Hepatoprotective, Hepatotonic, Hypotensive, Lactagogue, Laxative, Vermifuge

Maracuja - "Passion flower" *Passiflora incarnata*

Analgesic, Antidepressant, Anti-inflammatory, Antispasmodic, **Anticonvulsant,** Anxiolytic, Disinfectant, Diuretic, Hypnotic, Nervine, Sedative, Vermifuge

Wide Cerely - *Apium eraveolens* :Sedative, **Anticonvulsant**

Kava-kava -*Piper methysticum* G. Forster

Analgesic, **Anticonvulsant,** Transquillizing effect, Neuroprotective effect, Antifibrinolytic effect

Sida cordifolia Linn.

Nasopharyngeal carcinoma (in tissue culture), **Anticonvulsant** and Antipyretic activities, Antibacterial, Antifungal and Antiviral activity, Antiprotozoal activity

Tetrapleura tetraptera Taub. (Mimosaceae)

Anti-ulcer activity, Anti-microbial activity , **Anticonvulsant**, Birth control,

Coriandrum Sativum L. Seed :**Anticonvulsant**

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University

ภาคผนวก ฉ:

Commonly used models for antiepileptic drug discovery

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University

Commonly used models for antiepileptic drug discovery

Convulsant stimulus	Species	Seizure type	Clinical correlate
Primary screening models			
MES	mice, rats	Tonic	simple or complex partial tonic and/or clonic primary generalized seizure
PTZ	mice, rats	Generalized tonic/ clonic seizure	Absence, myoclonic
Sound	DBA/2J	Wide running, tonic	Absence
Bicuculline Picrotoxin	mice, rats	Clonic, clonic/tonic	Partial seizures tonic and/or clonic primary generalized seizures
Secondary screening models			
Amygdala kindling	rats	After discharge threshold, seizure	Partial seizures with secondary generalization severe
Spontaneous spike	Wistar rats Wistar rats	EEG spike-wave wave discharge "Absence"	Partial seizure, Absence seizure
Intermittent Photo stimulation	Papio papio	EEG spiking, myoclonic jerks	Photo sensitive epilepsy

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University

ภาคผนวก ซ:

Anticonvulsant activity in animal model

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University

Anticonvulsant activity in animal model

	MES	STR	BIC	PIC	PTZ
Benzodiazepine	±	−	+	+	+
Carbamazepine	±	±	−	−	−
Ethosuximide	−	±	±	+	+
Phenobarbital	+	+	+	+	+
Phenytoin	+	±	−	−	−
Valproate	+	+	+	+	+
Felbamate	+	−	±	+	+
Gabapentin	+	±	−	−	+
Lamotrigin	+	−	−	−	−

MES = Maximal electroshock

STR = Strychnine

BIC = Bicuculin

PIC = Picrotoxin

PTZ = Pentylenetetrazol

+ = have an epileptic effect in this model

− = have no an epileptic effect in this model

Note: STR, BIC, PIC and PTZ were performed by threshold test

Ubon Rajathanee University

Ubon Rajathanee University

ภาคผนวก ซ:

คณะผู้วิจัย

Ubon Rajathanee University

คณะผู้ดำเนินการวิจัย

หัวหน้าโครงการวิจัย

นางสุภารัตน์ คำแดง — ภ.บ. (เกียรตินิยม), วท.ม.(เภสัชวิทยา), อาจารย์ระดับ 6, ภาควิชาชีวเภสัชศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, สัดส่วนที่ทำวิจัย 60%

ผู้ร่วมวิจัย

นางสาวเพียงเพ็ญ ธิโสดา — พย.บ, วท.ม. (เภสัชวิทยา), อาจารย์ระดับ 6, ภาควิชาชีวเภสัชศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, สัดส่วนที่ทำวิจัย 15 %

นางสาวนุตติยา วีระวัธนชัย — พย.บ, วท.ม. (เภสัชวิทยา), อาจารย์ระดับ 6, ภาควิชาชีวเภสัชศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, สัดส่วนที่ทำวิจัย 15 %

นางสาวบัวนัส วงษ์สุด — ภ.บ, วท.ม. (เภสัชวิทยา), อาจารย์ระดับ 6, ภาควิชาชีวเภสัชศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, สัดส่วนที่ทำวิจัย 10 %

Ubon Rajathanee University