



ฤทธิ์ของสารสกัดกานพลูต่อเวลาการนอนหลับในหนูทดลอง

Effect of Clove Extract on Sleeping Time in Mice

กันยรัตน์ ศึกษากิจ^{1*}, กฤติยา ทิษยากร², วิเชียร เขชนอก², กาญจนา สีแยม², ครุณี ปะหุสี² และ นพรัตน์ พุทธกาล¹

¹สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

อ. ธัญบุรี จ. ปทุมธานี 12110

²ฝ่ายเกษตรและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

อ. คลองหลวง จ.ปทุมธานี 12120

*E-mail: b_sueksakit@hotmail.com

บทคัดย่อ

อาการนอนไม่หลับทำให้เกิดความรู้สึกไม่สบายและส่งผลกระทบต่อการดำเนินชีวิตประจำวัน จึงมีการใช้ยาเพื่อช่วยให้ผ่อนคลายและนอนหลับ ซึ่งกานพลู (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr.&L.M.Perry) เป็นพืชสมุนไพรที่มีสารยูจินอลเป็นสารสำคัญที่มีประโยชน์ในการรักษาอาการของโรคต่างๆ งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดกานพลูต่อเวลาการนอนหลับในหนูทดลอง ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดกานพลูทุกขนาด (250, 500 และ 750 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) ในสารละลาย acacia มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ของ Onset (ระยะเวลาตั้งแต่ป้อนยา Diazepam ถึงระยะเวลาที่หนูเริ่มหลับ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และสารสกัดกานพลูที่ขนาด 750 มิลลิกรัม/กิโลกรัม มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ของ Duration time (ระยะเวลาตั้งแต่ที่หนูเริ่มหลับถึงเวลาที่หนูตื่น) เมื่อทดสอบด้วยวิธี Sleeping time นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดกานพลูขนาด 750 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ออกฤทธิ์ทำให้หนูทดลองหลับได้นานที่สุดคือ 146.2 ± 7.66 นาที เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดกานพลูขนาดอื่น ซึ่งเป็นไปได้ว่าสารสกัดกานพลูอาจจะมีฤทธิ์ในการผ่อนคลาย ทั้งนี้ควรมีการศึกษากลไกการออกฤทธิ์ก่อนที่จะนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติที่ช่วยในการผ่อนคลายและนอนหลับ

คำสำคัญ: สารสกัดกานพลู, เวลาการนอนหลับ, หนูทดลอง

Received: Nov 12, 2014

Revised: Dec 26, 2014

Accepted: Dec 29, 2014

Abstract

Insomnia leads to uncomfortable and affect for daily life. Sometime, it need to take a medicine for sedation. Clove (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr.&L.M.Perry) is herb, mainly contains eugenol which benefits to treat a variety of diseases. The objective of this research was to study sedative effects of clove extract in mice. Our results showed that all the doses (250, 500, and 750 mg/kg) of clove extract in acacia solution showed significant difference ($p<0.05$) in the onset (the time from oral administration to the loss of righting reflex) as compared with the control group. However, 750 mg/kg clove extract showed significant difference ($p<0.05$) in duration time (the time from the loss of righting reflex to awakening) on sleeping time. In addition, 750 mg/kg clove extract showed the highest of the duration time 146.2 ± 7.66 min as compared with the other doses. It is possible that clove extract may be able to help for relaxation. Also, we need to study the mechanism of action prior to the development of a natural product for sedation.

Keywords: Clove Extract, Sleeping Time, Mice

1. บทนำ

อาการนอนไม่หลับหรือหลับไม่ต่อเนื่องส่งผลกระทบต่อการใช้ชีวิตประจำวัน ยาที่ใช้ในการรักษาอาการเหล่านี้ ได้แก่ ยาในกลุ่ม Benzodiazepine เป็นยาที่แพทย์นิยมใช้เป็นยานอนหลับและลดความกังวล (Sedative-hypnotic and anxiolytic drugs) โดยฤทธิ์ของยาเหล่านี้จะออกฤทธิ์ที่ระบบประสาทส่วนกลาง โดยเป็น agonist ที่ benzodiazepine receptor ซึ่งจับอยู่กับ GABA_A receptor และ chloride channel อยู่ที่บริเวณเยื่อหุ้มประสาททำให้ GABA_A receptor ทำงานได้มากขึ้น ส่งผลให้ chloride channel เปิด ทำให้ chloride ions เข้าสู่เซลล์มากขึ้นเกิด Hyperpolarization และยับยั้งการทำงานของเซลล์ประสาทต่างๆ จึงสามารถลดความวิตกกังวล คลายกล้ามเนื้อ และทำให้ห้วงหลับ [1-3] แต่เนื่องจากยาที่ใช้ในการรักษาอาการต่างๆ มีผลข้างเคียงเมื่อได้รับอย่างต่อเนื่องและมีราคาแพง ทำให้ปัจจุบันมีการหันมาใช้พืชสมุนไพรมากขึ้น เนื่องจากมีความปลอดภัย มีผลข้างเคียงน้อย ราคาถูกกว่ายาแผนปัจจุบันและมีฤทธิ์ในการรักษาโรคและอาการต่างๆ ได้หลายชนิด ซึ่งกานพลู (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr.&L.M.Perry) เป็นพืชสมุนไพรในตระกูล Myrtaceae ในตำราพืชสมุนไพรมีรายงานว่ากานพลูมีสรรพคุณมากมาย เช่นเป็นยาแก้ปวดฟัน เป็นยาชาเฉพาะที่และต้านเชื้อแบคทีเรีย [4-7] และจากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีพบว่ามีส่วนสำคัญหลายชนิด ได้แก่ Eugenol, trans-caryophyllene และ α -caryophyllene [8] นอกจากนี้กานพลูยังมีฤทธิ์ต่อการทำสลบสัตว์น้ำเพื่อใช้ในการขนส่ง โดยศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของน้ำมันกานพลู (clove oil) ต่อเวลาการคลายตัวของกล้ามเนื้อเท้าหอยเป่าฮือไทย (*Halotis asinina*) พบว่าน้ำมันกานพลู 1.0-1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้กล้ามเนื้อเท้าหอยเป่าฮือคลายตัวและลดการเคลื่อนไหวขณะที่ยังส่งและสามารถฟื้นกลับสู่สภาวะปกติได้ [9] นอกจากนี้ยังมีการศึกษาเปรียบเทียบการระงับความรู้สึกและการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของสาร Tricane methane sulfonate (MS-222) และ

น้ำมันกานพลูพบว่าช่วงเวลาในการเหนี่ยวนำให้สลบมากขึ้น จะมีการฟื้นสลบเป็นเวลานานเมื่อปลาสัมผัสกับสาร eugenol ของน้ำมันกานพลูความเข้มข้นสูง ซึ่งมีฤทธิ์ต่อการสลบและฟื้นสลบคล้ายกับ MS-222 [10] ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดกานพลูต่อเวลาการนอนหลับด้วยวิธี Sleeping time ในหนูทดลอง ซึ่งเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการใช้สารสกัดจากพืชสมุนไพรเพื่อนำไปใช้โดยพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติที่ช่วยให้ผ่อนคลายและเป็นยานอนหลับ

2. วัตถุประสงค์และวิธีดำเนินการวิจัย

2.1 อุปกรณ์และสารเคมี

Diazepam, Caffeine (Sigma-Aldrich, USA), Acacia, น้ำกลั่น, Syringe ขนาด 3 ml (Nipro, ประเทศไทย), เข็มป้อนยาสำหรับสัตว์ทดลอง (Stomach tube) (T.Science, ประเทศไทย), พู่กัน, นาฬิกาจับเวลา (Canon, China), น้ำกรองสำหรับให้สัตว์ทดลอง, อาหารหนูทดลอง (บริษัท โภคภัณฑ์อาหาร จำกัด, ประเทศไทย)

2.2 การเตรียมสัตว์ทดลอง

สัตว์ทดลองที่ใช้คือหนูขาวสายพันธุ์ ICR Mouse เพศผู้ จากศูนย์สัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล ศาลายา จ.นครปฐม อายุก่อนการทดลอง 2 เดือน การปฏิบัติกับสัตว์ทดลองได้รับการอนุมัติให้ทำการทดลองโดยคณะกรรมการจริยธรรมการใช้สัตว์ทดลองของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย โดยนำหนุมานพักที่อาคารสัตว์ทดลอง สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย เพื่อคลายความเครียดจากการขนส่งและสามารถปรับตัวเข้ากับสภาพในห้องทดลองก่อนทำการทดลองเป็นเวลา 1 สัปดาห์ อุณหภูมิที่ใช้ในการเลี้ยงและควบคุมอยู่ระหว่าง 25 ± 2 องศาเซลเซียส ระดับความชื้น 70 เปอร์เซ็นต์ ควบคุมไฟเปิดปิดทุก 12 ชั่วโมง ส่วนกรงที่ใช้เลี้ยงหนูทดลองจะปูรองพื้นด้วยขี้ข้าวโพด (Corn cob) ที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อโรคแล้ว เพื่อใช้ดูดซับสิ่งปฏิกูล ที่กรงมีช่องสำหรับให้น้ำและอาหารแก่หนูทดลองตลอดเวลา

2.3 การเตรียมยาและสารทดสอบ

ยา Diazepam เตรียมที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สารทดสอบ ได้แก่ สารสกัดกานพลู เตรียมที่ความเข้มข้น 15, 30 และ 45 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และสารมาตรฐาน caffeine เตรียมที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยยาและสารทดสอบทั้งหมดละลายในสารละลาย acacia 5% น้ำหนัก/ปริมาตร

2.4 วิธีการวิจัย

การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดกานพลูต่อเวลาการนอนหลับด้วยวิธี Sleeping time โดยประยุกต์วิธีการของ Helton *et al.* (1998) และ Koo (1999) อดอาหารหนูอย่างน้อย 16 ชั่วโมง ก่อนทำการทดสอบแต่ได้รับน้ำปกติ แบ่งหนูออกเป็น 5 กลุ่มๆ ละ 6 ตัว ทดลองโดยป้อนสารทดสอบทางปาก (Oral administration) ให้กับหนูทดลองในแต่ละกลุ่ม ดังนี้ กลุ่มควบคุม ได้รับสารละลาย acacia 5% น้ำหนัก/ปริมาตร กลุ่มยามาตรฐาน ได้รับ Caffeine ขนาด 20 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และกลุ่มสารทดสอบ ได้รับสารสกัดกานพลู ขนาด 250, 500 และ 750 มิลลิกรัม/กิโลกรัม หลังจากป้อนสารทดสอบ 60 นาที ป้อน Diazepam 10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ให้หนูทดลองทุกตัว จากนั้นสังเกตการหลับทันทีด้วยการทดสอบ Righting reflex โดยที่กระตุ้นบริเวณหูและอุ้งเท้าด้วยพู่กัน หากไม่มีการเคลื่อนไหวหรือไม่มีการกระตุกรับเรียกได้ว่าเป็นการหลับสนิท แต่ถ้ายังมีปฏิกิริยาตอบรับต้องรอ

สังเกตจนไม่มีปฏิกิริยาตอบรับจึงบันทึกช่วงเวลาของการหลับ ได้แก่ Onset คือ เวลาตั้งแต่ป้อน Diazepam ถึง สัญญา Reflex (เริ่มหลับ) และ Duration time คือ เวลาเริ่มหลับถึงตื่น นำช่วงเวลาที่บันทึกได้ไปหาค่าเฉลี่ยของ Onset และ Duration time ของสารทดสอบในแต่ละกลุ่ม

2.5 การวิเคราะห์ข้อมูล

หาค่าเฉลี่ยและค่าความคลาดเคลื่อนของ Onset และ Duration time ของสารทดสอบในแต่ละกลุ่ม เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มควบคุมกับกลุ่มทดสอบที่ได้รับสารสกัดกานพลูขนาดต่างๆ โดยนำข้อมูลที่ได้อ้างอิงมาวิเคราะห์และหาค่าทางสถิติด้วยวิธีวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (Analysis of Variance ; ANOVA) ด้วยโปรแกรม SPSS Version 17

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์ผลการวิจัย

จากการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดกานพลูต่อเวลาการนอนหลับด้วยวิธี Sleeping time โดยประยุกต์วิธีการของ Helton *et al.* (1998) และ Koo (1999) หลังจากให้สารสกัดกานพลูทั้ง 3 ขนาด (250, 500 และ 750 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) และเหนี่ยวนำให้เกิดการนอนหลับของหนูทดลองด้วยยา Diazepam หลังจากนั้นสังเกตพฤติกรรมและบันทึกระยะเวลาการนอนหลับ พบว่าสารสกัดกานพลูที่ขนาดต่างๆ แสดงฤทธิ์ดังตารางที่ 1 โดยสารสกัดกานพลูทุกขนาดมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ของ Onset (ระยะเวลาตั้งแต่ป้อนยา Diazepam ถึงระยะเวลาที่หนูเริ่มหลับ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งสารสกัดกานพลูที่ขนาด 750 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สามารถทำให้หนูทดลองเริ่มหลับได้เร็วที่สุด คือ 10.00 ± 0.63 นาที เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดกานพลูขนาดอื่น และสารสกัดกานพลูที่ขนาด 750 มิลลิกรัม/กิโลกรัม มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ของ Duration time (ระยะเวลาตั้งแต่ที่หนูเริ่มหลับถึงเวลาที่หนูตื่น) นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดกานพลูขนาด 750 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ออกฤทธิ์ทำให้หนูทดลองหลับได้นานที่สุด คือ 146.2 ± 7.66 นาที เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดกานพลูขนาดอื่น ส่วนกลุ่มสารมาตรฐาน caffeine ไม่สามารถทำให้หนูทดลองหลับได้

ตารางที่ 1 ผลสารสกัดกานพลูต่อระยะเวลาการนอนหลับในหนูทดลอง

กลุ่ม	N	Onset (นาที)	Duration time (นาที)
ควบคุม (สารละลาย acacia 5% w/v)	6	16.75 ± 1.49	77.50 ± 20.23
สารมาตรฐาน (Caffeine 20 mg/kg)	6	ไม่หลับ	ไม่หลับ
สารสกัดกานพลู 250 mg/kg	6	$12.80 \pm 0.49^*$	69.6 ± 13.54
สารสกัดกานพลู 500 mg/kg	6	$10.60 \pm 0.60^*$	124.80 ± 15.26
สารสกัดกานพลู 750 mg/kg	6	$10.00 \pm 0.63^*$	$146.2 \pm 7.66^*$

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมด้วยวิธี one-way ANOVA

การออกฤทธิ์ในการนอนหลับจากผลการทดลองดังกล่าวนี้เป็นข้อมูลการศึกษาในสัตว์ทดลอง ซึ่งผลการทดลองแตกต่างจากกลุ่มสารมาตรฐาน caffeine ที่ไม่สามารถทำให้หนูหลับได้ เนื่องจาก caffeine มีฤทธิ์ในการกระตุ้นระบบประสาทส่วนกลาง (CNS stimulant) และเพิ่มการหลั่งของ norepinephrine ในสมอง ทำให้ระบบประสาทเกิดการตื่นตัว [13, 14] ดังนั้นควรมีการศึกษาการออกฤทธิ์ของสารสกัดกานพลูต่อระบบประสาทส่วนกลางเพื่อเป็นการยืนยันผลการทดลองนี้ โดยพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สมุนไพรจากธรรมชาติเพื่อช่วยให้ผ่อนคลายและนอนหลับ

4. สรุปผลการวิจัย

สารสกัดกานพลูทุกขนาด (250, 500 และ 750 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) มีฤทธิ์ทำให้หนูหลับได้ นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดกานพลูขนาด 750 มิลลิกรัม/กิโลกรัม มีฤทธิ์ทำให้หนูทดลองหลับได้นานที่สุดคือ 146.2 ± 7.66 นาที เมื่อเปรียบเทียบกับขนาดอื่น จากผลการทดลองนี้ควรมีการศึกษาการออกฤทธิ์ของสารสกัดกานพลูต่อระบบประสาทส่วนกลางเพื่อเป็นการยืนยันผลการทดลองนี้ โดยนำสารสกัดกานพลูขนาดที่เหมาะสมไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติที่ช่วยให้ผ่อนคลายและนอนหลับ

5. เอกสารอ้างอิง

- [1] K.T. Olkkola, J.Ahonen. Midazolam and other benzodiazepines. *Handbook of Experimental Pharmacology*. **182** (2008): 335-360.
- [2] T. Roth, F.zorick, J. Sickelsteel, E. Stepanski. Effects of benzodiazepines on sleep and wakefulness. *British Journal of Clinical Pharmacology*. **11** (1981): 31-35.
- [3] J.A. Hollway, M.G. Aman. Pharmacological treatment of sleep disturbance in developmental disabilities : A review of the literature. *Research in Developmental Disabilities*. **32** (2011): 939-962.
- [4] ส. พงษ์บุญรอด. *ไม้เทศ เมืองไทย*. เกษมบรรณกิจ, กรุงเทพฯ. 2522.
- [5] C. Ghelardini, N. Galeotti, L. Di CesareMannell, G. Mazzanti, A. Bartolini. Local anaesthetic activity of β -caryophyllene. *II Farmaco*. **56 (5-7)** (2001): 387-389.
- [6] J. Briozzo. Antimicrobial activity of clove oil dispersed in a concentrated sugar solution. *Journal of Applied Bacteriology*. **66 (1)** (1989): 69-75.
- [7] S. Roengsumran, A. Petsom, S. Thanniyavarn, S. Pornpakakul, S. Khantahiran. Antibacterial Activity of Some Essential Oils. *Journal of Scientific Research Chulalongkorn University*. **9** (1997): 13-19.
- [8] A. Ebadollahi. Essential Oils Isolated from Myrtaceae Family as Natural Insecticides. *Annual Review & Research in Biology*. **3 (3)** (2013): 148-175.

- [9] ณ. อุทัยรัตน์. อัตราส่วนที่เหมาะสมของน้ำมันกานพลู (clove oil) ต่อเวลาการคลายตัวของกล้ามเนื้อเท้าหอยเป่าฮือไทย (*Haliotis asinina*). บทความวิจัย หน่วยปฏิบัติการวิจัยเทคโนโลยีการเพาะและเลี้ยงหอยเป่าฮือไทย. (2547).
- [10] K.K. Sladky, C.R. Swanson, M.K. Stoskopf, M.R. Loomis, G.A. Lawbart. Comparative efficacy of tricaine methane sulfonate and clove oil for use as anesthetics in red pacu (*Piaractus brachypomus*). *American Journal of Veterinary Research*. **62 (3)** (2001): 337-342.
- [11] D.R. Helton, J.P. Tizzano, J.A. Monn, D.D. Schoepp, M.J. Kallman. Anxiolytic and Side-Effect of LY354740 : A Potent, Highly Selective, Orally Active Agonist for Group II Metabotropics Glutamate Receptors. *Pharmacology and Experimental Therapeutics*. **284 (2)** (1998): 651-660.
- [12] M.W.L. Koo. Effects of Ginseng on Ethanol Induced Sedation in Mice. *Life Sciences*. **64 (2)** (1999): 153-160.
- [13] K. Silverman, S.M. Evans, E.C. Strain, R.R. Griffith. Withdrawal syndrome after the double-blind cessation, caffeine consumption. *The New England Journal of Medicine*. **327** (1999): 1109-1114.
- [14] O.J. Owolabi, F.C. Amaechina, A.B. Eledan. Central nervous system stimulant effect of the ethanolic extract of *Kigelia africana*. *Journal of Medicinal Plants Research*. **2 (2)** (2008): 20-23.