



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของสารเสพติดและสมุนไพรไทยที่ใช้ในการรักษา
ภาวะการติดยาเสพติดต่อการหลั่งสารสื่อประสาทโดปามีนและเซโรโตนินจาก
เนื้อเยื่อสมองของหนูขาวในหลอดทดลองโดยใช้เทคนิคการหล่อเลี้ยงเนื้อเยื่อ

The Mechanism of Action of Drugs of Abuse and Natural Products used in the
Treatment of Addiction on *in vitro* Dopamine and Serotonin Release from Rat
Brain Slices using Semi-Superfusion Technique

ผศ.ดร. วชิรวิวรรณ ทองสะอาด

30 กันยายน 2544

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของสารเสพติดและสมุนไพรไทยที่ใช้ในการรักษา
ภาวะการติดยาเสพติดต่อการหลั่งสารสื่อประสาทโดปามีนและเซโรโตนินจาก
เนื้อเยื่อสมองของหนูขาวในหลอดทดลองโดยใช้เทคนิคการหล่อเลี้ยงเนื้อเยื่อ

The Mechanism of Action of Drugs of Abuse and Natural Products used in the
Treatment of Addiction on *in vitro* Dopamine and Serotonin Release from Rat
Brain Slices using Semi-Superfusion Technique

ผศ.ดร. วัชรวิวัฒน์ ทองสะอาด

วันที่.....	9 ส.ย. 2546
เลขทะเบียน.....	00039
เลขเรียกหนังสือ.....	PDF 41

0031

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)
ชั้น 14 อาคาร เอส เอ็ม ทาวเวอร์
เลขที่ 979/17-21 ถนนพหลโยธิน แขวงสามเสนใน
เขตปทุมธานี กรุงเทพฯ 10400
ท. 298-0455 โทรสาร 298-0476
Home page : <http://www.trf.or.th>
E-mail : trf-info@trf.or.th



สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อ	ข
Executive Summary	ง
เนื้อหางานวิจัย	
บทนำ	1
วัตถุประสงค์	10
ขอบเขตของการศึกษา	10
วิธีการทดลอง	11
ผลการทดลอง	19
บทวิจารณ์	34
หนังสืออ้างอิง	39
Output	43

กิตติกรรมประกาศ

ปัจจุบันปัญหายาเสพติดเป็นปัญหาสำคัญของประเทศที่บั่นทอนสุขภาพของเยาวชนและความเจริญของประเทศชาติ ผู้วิจัยจึงอยากนำความรู้ที่ได้เคยศึกษาเล่าเรียนมาใช้ให้เป็นประโยชน์ในการศึกษาวิจัยด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์ เพื่อการพัฒนานำสมุนไพรมาใช้ในการรักษาผู้ป่วยที่ติดยาเสพติด

I would like to thank Professor Charles A. Marsden, School of Biomedical Science, University of Nottingham, UK who is a mentor of this project. Thanks for his suggestion and mental support upon setting up research equipments from scratch.

ขอขอบคุณคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และความสะดวกในการทำวิจัย และงานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยการสนับสนุนทุนวิจัยหลังปริญญาเอกจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยประจำปี 2541

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : PDF31/2541

ชื่อโครงการ : การศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของสารเสพติดและสมุนไพรไทยที่ใช้ในการรักษาภาวะการติดสารเสพติดต่อการหลั่งสารสื่อประสาทโดปามีนและเซโรโตนินจากเนื้อเยื่อสมองของหนูขาวในหลอดทดลองโดยใช้เทคนิคการหล่อเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ผู้วิจัย : ผศ.ดร. วัชรวิวรรณ ทองสะอาด ภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์

มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ สุขุมวิท 23 กรุงเทพฯ 10110

E-mail address : watchare@psm.swu.ac.th

ระยะเวลาที่ทำการวิจัย : กรกฎาคม 2541 – ธันวาคม 2543

วัตถุประสงค์ : เพื่อศึกษาผลของสมุนไพรไทยที่ใช้ในการรักษาผู้ป่วยติดยาเสพติดต่อการเปลี่ยนแปลงระดับสารสื่อประสาทโดปามีนและเซโรโตนินในสมองเพื่อหากลไกการออกฤทธิ์ของสมุนไพรดังกล่าว

วิธีการวิจัย : ใช้สมองของหนูขาวมาทดลองโดยการบ่มเนื้อเยื่อในสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีสารเสพติด (แอมเฟตามีน) หรือสารสกัดสมุนไพร (รางจืดและเหือดคน) ประกอบอยู่เพื่อทดสอบผลของสารดังกล่าวต่อการหลั่งสารสื่อประสาทโดปามีนหรือเซโรโตนินโดยใช้เทคนิคการหล่อเลี้ยงเนื้อเยื่อแล้ววัดระดับโดปามีนหรือเซโรโตนินโดยใช้เครื่องโครมาโตกราฟฟีประสิทธิภาพสูงร่วมกับตัววัดทางอิเล็กโตรเคมี (HPLC-ECD) หรือเครื่องวัดสารกัมมันตรังสีเบต้า (β -counter)

ผลการวิจัย : สารสกัดจากใบรางจืดและเหือดคน (0.1 g/ml) ซึ่งเป็นสมุนไพรที่ใช้ในการรักษาผู้ป่วยติดยาเสพติดมีฤทธิ์ในการเพิ่มการหลั่งสารสื่อประสาทโดปามีนจากเนื้อเยื่อสมองส่วนสเตรอาตัมของหนูขาวในหลอดทดลองเช่นเดียวกับสารเสพติดแอมเฟตามีน (10^{-4} M) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยที่ผลของรางจืดมีผลมากกว่าสารแอมเฟตามีน ในขณะที่รางจืด (0.1 g/ml) ไม่มีผลต่อการหลั่งสารสื่อประสาทเซโรโตนินจากเนื้อเยื่อสมองส่วนฮิปโปแคมปัสในหลอดทดลอง แต่กลับมีผลในการยับยั้งการออกฤทธิ์ของ p-Chloro-amphetamine (10^{-4} M) ในการเพิ่มการหลั่งสารเซโรโตนินอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

อภิปรายผล : จากผลการศึกษาพบว่ารางจืดและเหือดคนมีฤทธิ์ต่อระบบประสาทคล้ายกับสารเสพติดแอมเฟตามีนเอง โดยไปเพิ่มการหลั่งสารโดปามีนซึ่งเป็นสารสื่อประสาทที่หลั่งมากในขณะผู้ป่วยได้รับสารแอมเฟตามีน ทำให้คาดว่าในผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วยสารสมุนไพรอาจเกิดความพึงพอใจเช่นเดียวกับการรับยาเสพติด จึงอาจเป็นสาเหตุหนึ่งของการรักษาด้วยสารสมุนไพรได้ผล

ข้อเสนอแนะ : เนื่องจากการทดลองนี้เป็นการศึกษาจากเนื้อเยื่อสมองในหลอดทดลอง จึงควรต้องทำการศึกษาต่อไปว่าผลดังกล่าวพบได้ในสมองของสัตว์ทดลองที่มีชีวิตอยู่หรือไม่ และหากได้รับสารสมุนไพรดังกล่าวเป็นเวลานานจะทำให้เกิดการติดยาขึ้นได้หรือไม่ และต้องศึกษาต่อไปว่าสารสมุนไพรดังกล่าวออกฤทธิ์ต่อตัวรับชนิดใดในระบบประสาท เพื่อที่จะสามารถอธิบายถึงกลไกการออกฤทธิ์ของสารสมุนไพรดังกล่าวในการลดความอยากและรักษาผู้ป่วยติดยาเสพติด

คำสำคัญ : *Thunbergia laurifolia* Linn., Dopamine, Serotonin, Drugs of abuse, Amphetamine

ABSTRACT

Project Code : PDF31/2541

Project Title : The Mechanism of Action of Drugs of Abuse and Natural Products used in the Treatment of Addiction on *in vitro* Dopamine and Serotonin Release from Rat Brain Slices using Semi-Superfusion Technique

Investigators : Dr Watchareewan Thongsaard Department of Physiology
Faculty of Medicine Srinakharinwirot University
Sukhumvit 23 Bangkok 10110

E-mail Address : watchare@psm.swu.ac.th

Project Period : July 2541 – December 2543

Objectives : To study the effects of addicted drugs (amphetamine) and herbal medicines (*Thunbergia laurifolia* Linn. And *Simplocos racemosa* Roxb. on *in vitro* dopamine and serotonin release from the rat brain slices using semi-superfusion technique

Methodology : Incubate rat brain slices (striatum or hippocampus) in Kreb-Henseleit buffer containing amphetamine (10^{-4} M) or Thunbergiaceae or Symplocaceae (0.1 g/ml) or mixture of drugs and measure dopamine or serotonin release using High performance liquid chromatography with electrochemical detection (HPLC-ECD) or β -counter.

Results : Both Thunbergiaceae and Symplocaceae stimulated *in vitro* dopamine release from rat striatal slices in the same manner as amphetamine while Thunbergiaceae was found to be more potent than amphetamine itself. Both herbal medicines have no significance effect on serotonin release but Thunbergiaceae inhibited the stimulating effect of p-chloroamphetamine on serotonin release.

Discussion Conclusion : The reward mechanism of amphetamine was due to the stimulating effect of amphetamine on brain dopamine release. Both herbal medicines showed the same effect on brain dopamine release *in vitro*. The results suggested that Thunbergiaceae and Symplocaceae may exert the same reward mechanism as amphetamine during the treatment.

Suggestions/ Further Implication / Implementation : Further studies should be performed to investigate (i) the effect of these herbal medicines on *in vivo* dopamine and serotonin release (ii) the long term effect of these plants and (iii) the side of action of these plants on the brain before the mechanism of action of these drugs on the brain can be explained.

Keywords : *Thunbergia laurifolia* Linn., Dopamine, Serotonin, Drugs of abuse, Amphetamine

หน้าสรุปโครงการวิจัย (Executive Summary)

ทุนวิจัยหลังปริญญาเอก

1. ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) : การศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของสารเสพติดและสมุนไพรไทยที่ใช้ในการรักษาภาวะการติดสารเสพติดต่อการหลั่งสารสื่อประสาทโดปามีนและเซโรโตนินจากเนื้อเยื่อสมองของหนูขาวในหลอดทดลองโดยใช้เทคนิคการหล่อเลี้ยงเนื้อเยื่อ

(ภาษาอังกฤษ) : The Mechanism of Action of Drugs of Abuse and Natural Products used in the Treatment of Addiction on *in vitro* Dopamine and Serotonin Release from Rat Brain Slices using Semi-Superfusion Technique

2. ชื่อหัวหน้าโครงการ : ดร.วัชรวิวัฒน์ ทองสะอาด

ภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ถนนสุขุมวิท 23 คลองเตย กรุงเทพฯ 10110

โทรศัพท์ 02-260-2122-4 ต่อ 4703, 4707

โทรสาร 02-260-1533

E-mail : watchare@psm.swu.ac.th

3. สาขาที่ทำการวิจัย : วิทยาศาสตร์การแพทย์ (Medical Sciences)

4. งบประมาณทั้งโครงการ : 400,000 บาท

5. ระยะเวลาดำเนินการ : 2 ปี

6. ปัญหาที่ทำการวิจัย และความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันปัญหายาเสพติดนับเป็นปัญหาระดับโลก ทุกประเทศได้ให้ความสำคัญในการป้องกันและปราบปรามยาเสพติด รวมทั้งการบำบัดรักษาผู้ป่วยที่ติดยาเสพติด ทั้งนี้เนื่องจาก ยาเสพติดเป็นภัยที่ร้ายแรงต่อประเทศชาติ สามารถทำให้ประชาชนโดยเฉพาะเยาวชนของชาติ อ่อนแอและขาดประสิทธิภาพ ซึ่งเป็นการบั่นทอนความเจริญของประเทศชาติอย่างมากอีกด้วย

ในประเทศไทยมีหลายสถานบำบัดได้มีการพัฒนานำสารสมุนไพรมาใช้ในการรักษาบำบัดผู้ติดยาเสพติดแต่ถ้ากล่าวถึงในแง่ของผลการรักษาทางการแพทย์ยังไม่สามารถอธิบายได้แน่ชัดว่าสารสมุนไพรที่ใช้ดังกล่าวมีผลหรือกลไกการออกฤทธิ์อย่างไรในการช่วยให้ผู้ป่วยสามารถเลิกความอยากต่อยาเสพติดนั้น ๆ ได้

อนึ่ง วงการแพทย์เชื่อว่าการที่ผู้ติดยาเสพติด เช่น โคเคน มอร์ฟิน หรือ แอมเฟตามีน ไม่สามารถเลิกยาได้นั้นเนื่องจากยาดังกล่าวมีผลต่อระบบประสาทในส่วนมีโซลิมบิก โดปามีน (mesolimbic dopamineergic neurotransmission) โดยทำให้ผู้เสพได้รับความพึงพอใจ (reward mechanism) หลังจากได้เสพยา นั้น ๆ โดยยาเหล่านี้จะไปเพิ่มระดับการหลั่งสารสื่อประสาท โดปามีนในสมองส่วนลิมบิก (Di Chiara & North, 1992 ; Crippens et al., 1993 ; McCreary &

Marsden, 1993 ; Henry & White, 1995 ; Simonato, 1996) จึงเป็นที่น่าสนใจว่าสารใดก็ ตามที่สามารถลดการเพิ่มการหลั่งสารโดปามีนที่สมองส่วนนี้ได้ สารนั้นก็น่าจะมีผลช่วยลด ความพึงพอใจในการเสพยาและอาจจะนำมาใช้ช่วยในการรักษาผู้ติดยาเสพติดนั้นได้

จากการที่สถานบำบัดผู้ติดยาได้นำเอาสมุนไพรไทยหลายชนิดมาใช้ในการรักษาผู้ติดยาเสพติดรวมกับการรักษาทางอื่นนั้น ผู้วิจัยสนใจที่จะศึกษาว่าสารสมุนไพรดังกล่าวช่วยรักษาให้ผู้ป่วยลดความอยากที่มีต่อยาเสพติดนั้นได้อย่างไร และจะมีกลไกการออกฤทธิ์ผ่านระบบประสาทในส่วนมีโกลิมบิกโดปามีน หรือเซโรโตนินหรือไม่ อย่างไร โดยใช้เทคนิคในการศึกษาที่เรียกว่าการหล่อเลี้ยงเนื้อเยื่อ (semi-superfusion technique) ร่วมกับเครื่องโครมาโตกราฟีประสิทธิภาพสูง และตัววัดทางอิเล็กโตรเคมี (High Performance Liquid Chromatography with Electrochemical Detector; HPLC with ECD) หรือเครื่องวัดปริมาณรังสีเบต้า (β -counter)

8. วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. เพื่อศึกษาผลของสารเสพติดบางชนิด ได้แก่ แอมเฟตามีน ต่อการหลั่งสารโดปามีน จากเนื้อเยื่อสมองส่วนสเตรียตัม (striatum) และเซโรโตนินจากเนื้อเยื่อสมองในส่วน ฮิปโปแคมปัส (hippocampus) ของหนูขาว
2. เพื่อศึกษาผลของสารสมุนไพรที่ใช้ในการรักษาภาวะเสพติด ได้แก่ รวงจืด (*Thunbergia laurifolia* Linn.) และ หมือดคน (*Simplocos racemosa* Roxb.) ต่อการหลั่งสารสื่อประสาททั้งสองชนิดจากเนื้อเยื่อสมองของหนูขาวโดยวิธีเดียวกัน
3. เพื่อนำความรู้ที่ได้มาอธิบายการออกฤทธิ์ของสมุนไพรไทยในการรักษาผู้ป่วย

9. ระเบียบวิธีวิจัย

การวิจัยนี้ใช้หนูขาวเป็นสัตว์ทดลองโดยเป็นการทดลองแบบ *in vitro* ในหลอดทดลอง โดยมีรายละเอียดวิจัยโดยย่อดังนี้

9.1 สัตว์ทดลอง

ใช้หนูขาวพันธุ์ Wistar เพศผู้ น้ำหนัก 200 – 250 กรัม จากศูนย์สัตว์ทดลองแห่งชาติ จับาลศาลายา มหาวิทยาลัยมหิดล โดยนำมาเลี้ยงรวมกัน 5 ตัวต่อกรง ในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิประมาณ 25 °C และให้แสงสว่าง 12 ชั่วโมงต่อวัน โดยให้อาหารสำเร็จรูปและน้ำอย่างเพียงพอ

9.2 วิธีวิจัย

การวิจัยแบ่งเป็น 2 การทดลองใหญ่ ๆ คือ

ตอนที่ 1 การศึกษาการหลั่งสารโดปามีน (Dopamine Release Study)

1. การศึกษาผลของสารเสพติดแอมเฟตามีน ต่อการหลั่งโดปามีนจากเนื้อเยื่อสมองเพื่อทดสอบการใช้เทคนิคการหล่อเลี้ยงเนื้อเยื่อ
2. การศึกษาผลของสารสกัดสมุนไพรทั้งสองชนิดต่อการหลั่งโดปามีนจากเนื้อเยื่อสมอง

3. การศึกษาผลของการให้สารเสพติดร่วมกับสารสกัดสมุนไพร เพื่อดูว่าสารสกัดสมุนไพรมีผลในการกดฤทธิ์หรือเสริมฤทธิ์ของสารเสพติดอย่างไร

โดยจะทำการวัดระดับสารสื่อประสาทที่หลั่งออกมาเป็น 2 กลุ่มการทดลอง คือ

1. กลุ่มที่ประเมินผลโดยการวัดการหลั่งสารจากเซลล์โดยตรง (Endogenous release study) วิธีการนี้จะวัดปริมาณการหลั่งสารสื่อประสาทโดปามีนออกจากเซลล์เนื้อเยื่อสมองส่วนสไตรอาตัม และสารสื่อประสาทเซโรโตนินออกจากเซลล์สมองส่วนฮิปโปแคมปัส โดยการกระตุ้นการหลั่งด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีโพแทสเซียมสูง (High potassium Krebs-Hense buffer) แล้ววัดปริมาณโดปามีนหรือเซโรโตนินด้วยเครื่อง HPLC - ECD

2. กลุ่มที่ประเมินผลทางอ้อม โดยการวัดปริมาณสารรังสีที่ติดมากับสารสื่อประสาท ที่หลั่งออกมาจากเซลล์ (Radiolabelled release study) วิธีการนี้จะวัดปริมาณการหลั่งสารสื่อประสาทโดปามีนและเซโรโตนินจากเซลล์เนื้อเยื่อสมองโดยใช้เครื่องวัดปริมาณรังสีเบต้า (β -counter) โดยที่เซลล์เนื้อเยื่อสมองนั้นจะถูกเลี้ยง (incubate) ในสารละลายที่มีคุณสมบัติคล้ายสารละลายในสมอง (Krebs-Henseleit buffer; KHB) ที่มีสารสื่อประสาทโดปามีนหรือเซโรโตนินที่ถูกเลเบลด้วยสารรังสีทริเทียม ($[^3\text{H}]$ -dopamine หรือ $[^3\text{H}]$ -5-HT) ก่อนที่จะนำเนื้อเยื่อดังกล่าวมาศึกษาถึงผลของสารเสพติดและสารสกัดสมุนไพร ต่อการหลั่งโดปามีน และเซโรโตนิน ออกจากเนื้อเยื่อสมอง

ตอนที่ II การศึกษาการหลั่งสารเซโรโตนิน หรือ 5-HT (5-HT Release Study)

ในการทดลองนี้จะแบ่งกลุ่มการทดลองคล้ายกับกลุ่มแรก แต่ใช้เนื้อเยื่อสมองส่วนฮิปโปแคมปัสซึ่งมีระดับ 5-HT สูงมาทำการทดลอง โดยจะวัดปริมาณ 5-HT ที่หลั่งออกมาทั้งสองวิธี เช่นเดียวกับการวัดโดปามีน

9.3 การวิเคราะห์ผล

เสนอผลการทดลองเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ SEM (standard error of mean) โดยเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยใช้ Analysis of Variance (ANOVA) ค่า $p < 0.05$ ถือว่ามีนัยสำคัญทางสถิติ

10. จำนวนโครงการที่ผู้สมัครกำลังดำเนินการอยู่ :-

ชื่อโครงการ :-

ระยะเวลาโครงการ :-

แหล่งทุนที่ให้การสนับสนุน :-

งบประมาณที่ได้รับ :-

สถานะของผู้สมัคร :-

เวลาที่ใช้ทำวิจัยในโครงการนี้ :-

เนื้อหางานวิจัย

การศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของสารเสพติดและสมุนไพรไทยที่ใช้ในการรักษา
ภาวะการติดสารเสพติดต่อการหลั่งสารสื่อประสาทโดปามีนและเซโรโตนินจาก
เนื้อเยื่อสมองของหนูขาวในหลอดทดลองโดยใช้เทคนิคการหล่อเลี้ยงเนื้อเยื่อ

The Mechanism of Action of Drugs of Abuse and Natural Products used in the
Treatment of Addiction on *in vitro* Dopamine and Serotonin Release from Rat
Brain Slices using Semi-Superfusion Technique

บทนำ

ปัจจุบันปัญหายาเสพติดนับเป็นปัญหาระดับโลก ทุกประเทศได้ให้ความสำคัญในการป้องกันและปราบปรามยาเสพติด รวมทั้งการบำบัดรักษาผู้ป่วยที่ติดยาเสพติด ทั้งนี้เนื่องจากยาเสพติดเป็นภัยที่ร้ายแรงต่อประเทศชาติ สามารถทำให้ประชาชนโดยเฉพาะเยาวชนของชาติ อ่อนแอ และขาดประสิทธิภาพ ซึ่งเป็นการบั่นทอนความเจริญของประเทศชาติอย่างมากอีกด้วย

ในประเทศไทยมีหลายสถาบันได้มีการพัฒนานำสารสมุนไพรมานำใช้ในการรักษาบำบัดผู้ติดยาเสพติด เช่นที่สำนักสงฆ์ถ้ำกระบอก เป็นต้น แต่ถ้ามองถึงในแง่ของผลการรักษาทางการแพทย์ยังไม่สามารถอธิบายได้แน่ชัดว่าสารสมุนไพรมีผลหรือกลไกการออกฤทธิ์อย่างไรในการช่วยให้ผู้ป่วยสามารถเลิกความอยากต่อสารเสพติดนั้น ๆ ได้

อนึ่ง วงการแพทย์เชื่อว่าการที่ผู้ติดยาเสพติด เช่น โคเคน มอร์ฟีน หรือ แอมเฟตามีน ไม่สามารถเลิกยาได้นั้นเนื่องจากยาดังกล่าวมีผลต่อระบบประสาทในส่วนมีโซลิมบิก โดปามีน (mesolimbic dopaminergic neurotransmission) โดยทำให้ผู้เสพได้รับความพึงพอใจ (reward mechanism) หลังจากได้เสพยาแล้ว ๆ โดยยาเหล่านี้จะไปเพิ่มระดับการหลั่งสารสื่อประสาทโดปามีนในสมองส่วนลิมบิก (Di Chiara & North, 1992; Crippens et al., 1993; McCreary & Maresden, 1993; Henry & White, 1995; Simonato, 1996) จึงเป็นที่น่าสนใจว่าสารใดก็ตามที่สามารถลดการเพิ่มการหลั่งสารโดปามีนที่สมองส่วนนี้ได้ สารนั้นก็น่าจะมีผลช่วยลดความพึงพอใจในการเสพยาและอาจจะนำมาใช้ช่วยในการรักษาผู้ติดยาเสพติดได้

นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าผู้ที่ติดยาเสพติดมีความอยากหรือใฝ่หายา (Craving for drugs) อยู่ตลอดเวลาเนื่องจากผู้ติดยามีระดับสารสื่อประสาทเซโรโตนินต่ำ (Kennett, 1991; Voigt, 1995) ดังนั้นหากสารตัวใดสามารถช่วยเพิ่มการหลั่งสารเซโรโตนินได้โดยไม่ทำให้ผู้ป่วยติดสารนั้น สารดังกล่าวก็น่าจะมีผลช่วยลดความพึงพอใจในการเสพยาและอาจจะนำมาใช้ช่วยในการรักษาผู้ติดยาเสพติดได้

จากการที่สถานบำบัดผู้ติดยาเสพติดหลายแห่งได้นำเอาสมุนไพรรักษาหลายชนิดมาใช้ในการรักษาผู้ติดยาเสพติดรวมกับการรักษาทางอื่นนั้น ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัดว่าสารสมุนไพรมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสารสื่อประสาทอย่างไรที่นำไปสู่การทำให้ผู้ป่วยหายจากอาการอยากยาได้ ผู้วิจัยสนใจที่จะศึกษาว่าสารสมุนไพรมีผลอย่างไรที่ช่วยรักษาให้ผู้ป่วยลดความอยากที่มีต่อยาเสพติดนั้นได้อย่างไร และจะมีกลไกการออกฤทธิ์ผ่านระบบประสาทในส่วนมีโซลิมบิกโดปามีน หรือเซโรโตนินหรือไม่ อย่างไร โดยใช้เทคนิคในการศึกษาที่เรียกว่าการหล่อเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Semi-superfusion technique) ร่วมกับเครื่องมือช่วยในการวิเคราะห์สาร เช่น เครื่องโครมาโตกราฟีประสิทธิภาพสูง ร่วมกับตัววัดทางอิเล็กโตรเคมี (High Performance Liquid Chromatography with Electrochemical Detector ; HPLC with ECD) หรือเครื่องวัดปริมาณรังสีเบต้า เคาน์เตอร์ (β -counter) ซึ่งวิธีการที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้เป็นวิธีการที่ผู้วิจัยร่วมกับนัก

วิจัยที่เลี้ยงได้พัฒนาขึ้น (Thongsaard et al., 1997a) โดยใช้วัสดุอุปกรณ์ที่มีต้นทุนต่ำ แต่ให้ผลการทดลองที่แม่นยำและเชื่อถือได้เท่าเทียมกับการใช้เครื่องดังกล่าว

ก่อนที่จะกล่าวถึงรายละเอียดในการวิจัย จะขอทบทวนเกี่ยวกับสารสื่อประสาท สารเสพติด และสารสมุนไพรมะเขือเทศที่ใช้ในการศึกษา ดังต่อไปนี้

สารสื่อประสาท (Neurotransmitters) คือสารเคมีที่เซลล์ประสาทสร้างขึ้นแล้วส่งมายังปลายประสาทเพื่อทำหน้าที่เป็นตัวนำสัญญาณผ่านจุดประสาท (Synapse) ไปยังเซลล์ที่อยู่ถัดไป การแบ่งสารสื่อประสาทจากระบบประสาทส่วนกลาง สามารถแบ่งได้เป็นประเภทต่าง ๆ ตามความแตกต่างทางโครงสร้างทางเคมี ในที่นี้จะกล่าวถึงสารโดปามีน (Dopamine) และ เซโรโตนิน (Serotonin หรือ 5-Hydroxytryptamine; 5-HT)

โดปามีน (Dopamine)

โดปามีนเป็นสารสื่อประสาทที่พบครั้งแรกประมาณปี ค.ศ. 1957 ในสมองส่วนสเตรอาตัม และระบบลิมบิก มีผลเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีและพฤติกรรมของร่างกาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคพาร์กินสัน (Parkinson's disease) และโรคจิตเภท (Schizophrenia) โดปามีนสังเคราะห์จากสารตั้งต้นคือกรดอะมิโน แอลไธโรซีน (L-tyrosine) ซึ่งพบได้ในอาหารที่รับประทานทั่วไป แอลไธโรซีนเมื่อเข้าสู่สมองจะถูกเปลี่ยนเป็นไดไฮดรอกซีฟีนิลอะลานีน หรือเรียกชื่อย่อว่าโดปา (Dihydroxyphenylalanine; DOPA) โดยเอนไซม์ ไทโรซีนไฮดรอกซีเลส (Tyrosine hydroxylase) จากนั้นโดปาจะเข้าสู่ขบวนการคาร์บอกซิเลชัน (Carboxylation) โดยเอนไซม์ไดไฮดรอกซีฟีนิลอะลานีน คาร์บอกซิเลส (Dihydroxyphenylalanine carboxylase) เปลี่ยนโดปาเป็นโดปามีน การหลั่งสารโดปามีนจะเกิดขึ้นเมื่อสัญญาณประสาทเคลื่อนที่มาที่ปลายประสาททำให้ผนังเซลล์เกิดดีโพลาไรเซชัน มีผลทำให้แคลเซียมจากภายนอกเซลล์ไหลเข้าเซลล์ทาง Voltage sensitive Ca^{2+} channels แคลเซียมที่เข้าเซลล์จะทำให้มีการเคลื่อนที่ของถุงเก็บสารสื่อประสาทมาที่ผนังเซลล์เพื่อหลั่งสารโดปามีนออกนอกเซลล์ โดปามีนที่หลั่งออกมาจะจับกับตัวรับที่ปลายประสาทซึ่งแบ่งเป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่ม D_1 (D_1 - like receptors) และกลุ่ม D_2 (D_2 - like receptors) หลังจากนั้นโดปามีนจะถูกดูดกลับ (Re-uptake) ที่ปลายประสาท โดยขบวนการขนส่งแบบแอคทีฟ (Active transport) ซึ่งจะเกิดร่วมกับการส่งโซเดียมเข้าเซลล์ หลังจากเข้าสู่เซลล์ โดปามีนอาจจะถูกดึงไปเก็บไว้ในถุงเก็บสารสื่อประสาท หรืออาจถูกทำลายโดยขบวนการเมตาโบลิซึมภายในเซลล์ซึ่งเกิดขึ้นภายในไมโทคอนเดรีย

โดปามีนพบมากในสมองส่วนสเตรอาตัมและระบบลิมบิก มีความสำคัญทางคลินิกคือ

1. ควบคุมการเคลื่อนไหวของร่างกาย หากเซลล์ที่สร้างโดปามีนในสมองส่วนสับสแตนเชีย โนกรา (Substantia nigra) ถูกทำลายหรือไม่สามารถสร้างโดปามีนได้ จะทำให้เกิดโรคพาร์กินสัน (Parkinson's disease) ซึ่งมักพบในผู้สูงอายุ มีอาการเกร็ง (Rigidity) และเคลื่อนไหวลำบาก (Hypokinesia)

2. ถ้าเซลล์ประสาทที่สร้างโดปามีนทำงานมากเกินไป (Dopaminergic hyperactivity) ซึ่งอาจเป็นผลจากการรับยาที่กระตุ้นการหลั่งสารโดปามีน เช่น ยาบ้า (Amphetamine) เป็นเวลานานจะทำให้เกิดพฤติกรรมที่ผิดปกติ ก้าวร้าว และคลุ้มคลั่ง ซึ่งเป็นอาการของโรคจิตเภท (Schizophrenia)
3. โดปามีนทำหน้าที่ควบคุมการทำงานของการทำงานของต่อมใต้สมองส่วนหน้า (Anterior pituitary gland) โดยที่โดปามีนจะกระตุ้นการหลั่งฮอร์โมนเร่งการเติบโต (Growth hormone) แต่ยับยั้งการหลั่งฮอร์โมนโพรแลคติน (Prolactin)
4. โดปามีนทำหน้าที่เป็นตัวกระตุ้นทางเคมี โดยไปกระตุ้นที่ บริเวณจุดกระตุ้นทางเคมีในก้านสมอง (Chemoreceptor trigger Zone) ทำให้เกิดการเวียนศีรษะ (Nausea) และอาเจียน (Vomiting)
5. เมื่อไม่นานมานี้มีรายงานว่าโดปามีนยังมีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิดภาวะความเครียด (Anxiety) ได้โดยเฉพาะสารที่มีผลต่อตัวรับของโดปามีนในกลุ่ม D₂ (ตัวรับในกลุ่มย่อย D₂ และ D₃) จะมีผลทำให้เพิ่มหรือลดความเครียดได้ แล้วแต่กลุ่มย่อยของตัวรับที่สารนั้นไปจับ

เซโรโตนิน หรือ 5 - ไฮดรอกซีทริปตามีน (Serotonin หรือ 5 - Hydroxytryptamine; 5-HT)

เซโรโตนิน หรือ 5 - HT สร้างจาก แอลทริฟโตเฟน (L - tryptophan) ซึ่งจะถูกเอนไซม์ทริฟโตเฟน ไฮดรอกซีเลส (Tryptophane hydroxylase) เปลี่ยนให้เป็น 5 - ไฮดรอกซีทริฟโตเฟน (5 - Hydroxytryptophane; 5 - HTP) จากนั้น 5 - HTP จะผ่านขบวนการดีคาร์บอกซิเลชัน โดยเอนไซม์ แอลอมีโนแอซิด ดีคาร์บอกซิเลส (L - amino acid decarboxylase) ได้ผลลัพธ์เป็น 5 - HT หลังจากสร้างเสร็จแล้ว 5 - HT ส่วนใหญ่จะถูกเก็บไว้ในถุงเก็บสารสื่อประสาท

การหลั่ง 5 - HT เกิดขึ้นเช่นเดียวกับการหลั่งสารสื่อประสาทตัวอื่นๆ และการดูดกลับของ 5 - HT ก็ผ่านตัวนำคือ Na⁺ / K⁺ ATPase และ 5 - HT ที่ถูกดูดกลับมาอยู่ในไซโตพลาสซึมก็จะถูกเมตาโบไลต์ด้วยเอนไซม์โมโนเอมีน ออกซิเดส (Monoamine oxidase; MAO) ได้ผลลัพธ์เป็น กรด 5 - ไฮดรอกซีอินโดล อะซิติก (5 - Hydroxyindole acetic acid; 5 - HIAA)

5 - HT จะพบกระจายทั่วไปในสมอง แต่ที่พบหนาแน่นมากคือที่ ไฮโปทาลามัส (Hypothalamus) ฮิปโปแคมปัส (Hippocampus nucleus) เส้นทางเดินของ 5 - HT จะคล้ายของนอร์เอดรีนาลีนแต่จะแตกต่างจากของโดปามีนโดยเซลล์ที่อยู่ส่วนต้นของก้านสมองจะส่งแอกซอนไปยังเปลือกสมอง ฮิปโปแคมปัส และระบบลิมบิก ซึ่งจะคล้ายกับเส้นทางเดินของนอร์เอดรีนาลีน ส่วนเซลล์ที่อยู่ส่วนล่างของก้านสมองจะส่งแอกซอนไปยังไขสันหลัง

ผลทางคลินิกของ 5 - HT ได้แก่

1. ผลต่อการเกิดประสาทหลอน (Hallucinatory effects)

2. การควบคุมการนอนหลับ การตื่น และอารมณ์ (Sleep, wakefulness and mood)
3. การควบคุมการส่งสัญญาณการรับความรู้สึก (Sensory transmission)
4. การควบคุมการทำงานแบบอัตโนมัติและการทำงานของต่อมไร้ท่อ (Autonomic and endocrine function) ได้แก่การควบคุมอุณหภูมิกาย (Temperature regulation) การหลั่งฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองส่วนหน้า (Anterior pituitary gland) เป็นต้น
5. ผลต่อภาวะความเครียด (Anxiety) โดยที่สารที่มีผลเพิ่มหรือลดการหลั่ง และการทำงานของ 5 – HT จะมีผลต่อการเกิดภาวะความเครียด ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับตัวรับที่สารนั้นไปจับ

จากการสอบถามจากสถาบันบำบัดผู้ติดยาเสพติดพบว่า มีสมุนไพรหลายชนิดที่ใช้ผสมกันเพื่อรักษาผู้ป่วย ผู้วิจัยจึงเลือกตัวอย่างสมุนไพรที่เป็นส่วนประกอบหลักมาศึกษา ก่อน สารสมุนไพรที่ใช้ในการศึกษานี้ส่วนใหญ่จะมีคุณสมบัติในการแก้พิษ หรือถอนพิษ โดยได้เลือกสมุนไพร คือ รากจืด และเหมือดคน มาศึกษา ซึ่งจะกล่าวถึงลักษณะโดยทั่วไปและคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาของสมุนไพรแต่ละตัวดังนี้

รากจืด

รากจืดในประเทศไทยมี 3 ชนิด

1. ชนิดเถาวัลย์ แบ่งออกเป็น 3 ชนิด คือ ดอกสีม่วง ดอกสีเหลือง ดอกสีขาว ชนิดดอกสีม่วงมี

คุณสมบัติในการรักษาพิษต่างๆ แรงที่สุด

2. ชนิดต้น เรียกว่า รากจืดต้นหรือต้นหงาย หาย ต้นเป็นพุ่มสูง ประมาณ 1 เมตรเศษ ใบคล้ายถั่วและมีฤทธิ์น้อยกว่าชนิดเถา

3. รากจืดชนิดว่าน มีหัวเหมือนขมิ้นชัน หัวมีกลิ่นหอมสีขาวหรือเหลืองอ่อน

รากจืดที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้คือ **รากจืดดอกม่วง** (ชนิดเถาวัลย์) ซึ่งมี ชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Thunbergia laurifolia* Linn. และมีชื่อเรียกต่าง ๆ กันไปดังนี้

- ยาเขียว , เครือเขาเขียว , กำลั้งช้างเผือก , หนามแน่ (ภาคเหนือ)
- ย้าแย้ (อุตรดิตถ์)
- น้ำนอง , คาย (ยะลา)
- ดุเหวา (ปัตตานี)
- รากเย็น, ทิดพุต, แอดแอด, รากจืดเถา, ขอบระนาง, จอหลอดเอด, ชั่งกะ, บั้งกะละ



รูปที่ 1 รังจิตดอกม่วง (*Thunbergia laurifolia* Linn.)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

- ต้น : เป็นไม้เถาเนื้อแข็งขนาดกลางมักพบตามชายป่าดิบ ชอบอาศัยพันเกาะเกี่ยวอยู่กับต้นไม้ใหญ่ มีเถาที่แข็งแรง ลักษณะของเถาจะกลมเป็นข้อปล้อง เถาอ่อนจะมีสีเขียวสืเขียว เถาแก่สีน้ำตาล
- ใบ : เป็นใบเดี่ยว ออกตรงข้ามกันเป็นคู่ และขนาดของใบจะไล่กันขึ้นไปตั้งแต่ขนาดเล็กที่ตรงโคนก้านไปหาขนาดใหญ่ที่ปลายก้าน ลักษณะของใบเป็นรูปหัวใจ ตรงโคนใบจะเว้า ปลายใบจะเป็นติ่งแหลม ใบกว้างประมาณ 4 – 7 ซม. ยาวประมาณ 8 – 14 ซม. ผิวใบเรียบมันและมีสีเขียวเข้ม
- ดอก : เป็นดอกช่อที่ปลายกิ่ง เป็นรูปปากแตร กลีบดอกสีม่วงแกมน้ำเงิน ใบประดับสีเขียวประสีน้ำตาลแดง ช่อหนึ่งๆ จะมีดอกอยู่ ประมาณ 3 – 4 ดอก
- ผล : พอดอกร่วงไปก็จะติดเป็นผล ซึ่งมีลักษณะเป็นฝักตรง ปลายฝักจะแหลม คล้ายปากนก โคนจะกลมยาวประมาณ 3 – 4 ซม. เมื่อผลแก่จะแห้งและแตกออกเป็น 2 ซีก ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด

สรรพคุณ

- ราก : แก้อ่อนในกระหายน้ำ แก้อิหรณ์ทั้งปวง ถอนพิษเบื่อเมา แก้ไขตัวร้อน ถอนพิษไข้ แก้อักเสบ แก้ปวดบวม
- เถา : ทำให้เจริญอาหาร แก้อักเสบ ดับทนต์ แก้อ่อนในกระหายน้ำ แก้อิหรณ์ทั้งปวง ถอนพิษทั้งปวง ถอนพิษเบื่อเมา แก้อิหรณ์สีแดง แก้ไข้ ถอนพิษปวดแสบร้อน

ใบ : รักษาเมะเร็งเพลิง รักษาเมะเร็งลาบ แก่น้ำร้อนลวก แก้ไข้ แก้โรคลมพิษ แก้โรคผื่นต่างๆ ขับพยาธิ

ทั้งต้น : แก้ซางขโมย ขับปัสสาวะ ขับระดูขาว แก่นองใน แก่ริดสีดวงทวาร แก่น้ำเหลืองเสีย แก้พิษผื่นคันตามตัว

ไมระบุส่วนที่ใช้ : ถอนพิษยาเบื่อเมา เบื่อพยาธิตามซาง ถอนพิษผื่นคันแดง ถอนพิษไข้ กระทุ้งพิษไข้หัว แก้ไขหวัด ถอนพิษสัตว์กัดต่อย แก้กระษัย ขับปัสสาวะ ขับโลหิต ประจำเดือน ขับระดูขาว แก่นองใน แก่ผอมเหลือง แก่ริดสีดวง บำรุงประสาท

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

1. ด้านแบคทีเรีย (Antibacteria) พบว่าสารสกัดอีเทอร์ และสารสกัดปิโตรอีเทอร์ของต้นรางจืดสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียบางชนิดได้แก่ *Aerobacter aerogens* ได้ (Silpasuwan, 1979)

2. ผลต้านเชื้อไวรัสเริม (Antiherpes simplex type I) โดยสารสกัดน้ำจากใบรางจืดต้านเชื้อไวรัสเริมที่ริมฝีปากได้โดยตรง โดยมีผลยับยั้งการเพิ่มปริมาณของไวรัสในเซลล์ที่อยู่ในอาหารเลี้ยงเซลล์ (Kongyingyoes, et al., 1990)

3. ผลต้านพิษยาฆ่าแมลงและสารเคมี (Antiinsecticide and toxicant) พบว่าจากการศึกษาพิษเฉียบพลันของยาฆ่าแมลงชนิดออร์โทฟอสเฟต (สารโฟลิดอล; Folidol-E 605) ในหนูขาวโดยใช้น้ำสกัดรางจืด พบว่าเมื่อน้ำสกัดรางจืดเข้าได้ผิวหนังของหนูขาวขนาด 20 ไมโครกรัม/น้ำหนักตัว 1 กก. หลังจากนั้นจึงให้น้ำสกัดรางจืดแก่หนูขาวทางปาก ขนาด 2 มล. ต่อน้ำหนักตัว 100 กรัม พบว่าอัตราการตายลดลงจาก $56.67 \pm 3.33\%$ เป็น $16.67 \pm 3.33\%$ (Ruangyuttikarn, 1980)

4. ผลในการลดความดันเลือด (Hypotensive effect) สารสกัดน้ำจากใบรางจืดขนาด 120 มก./น้ำหนักตัว 1 กก. มีผลในการลดความดันเลือดในหนูที่สลบ (พินิดา, 2542)

5. ผลต่อกล้ามเนื้อเรียบ (Effect on smooth muscle) พบว่าน้ำสกัดรางจืดเพิ่มการบีบตัวของหลอดเลือด จากรกคน (Umbilical arteries) และตามด้วยการลดการบีบตัวของหลอดเลือด เมื่อทดลองกับลำไส้หนูที่ตัดแยกจากลำตัว ทำให้ลำไส้บีบตัวลดลงในระยะเวลาสั้น แล้วเปลี่ยนเป็นเพิ่มการบีบตัว นอกจากนี้ น้ำสกัดรางจืดเพิ่มการบีบตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่หลอดลมและมดลูกของหนูก็พบได้ชัดเจน (Ruangyuttikarn, 1980)

5. สามารถลดความเป็นพิษของตับจากการได้รับแอลกอฮอล์ (Antidote for ethanol) โดยการวัดระดับของเอนไซม์ PGOT และ PGPT และระดับของไทโรกลีเซอไรด์ในตับ โดยพบว่าที่ระยะเวลา 15 นาทีหลังจากได้รับแอลกอฮอล์เข้าไป สารสกัดรางจืดในขนาด 200 มก./น้ำหนักตัว 1 กก. มีผลทำให้การเกิดพิษที่ตับอันเนื่องมาจากแอลกอฮอล์ลดลง โดย PGOT ลดลง 1.3 เท่า PGPT ลดลง 1.9 เท่า และ ไทโรกลีเซอไรด์ลดลง 1.4 เท่า นอกจากนี้ในการศึกษากลไกของสารสกัดรางจืดต่อการป้องกันการทำลายตับอันเนื่องมาจากแอลกอฮอล์พบว่า สารสกัดจาก

ใบรางจืดสามารถลดระดับของลิพิดเพอร็อกไซด์ในตับ, ระดับแอลกอฮอล์ในเลือด และเพิ่มระดับของเอนไซม์ ADH และ ALDH ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ถึงสภาพการทำงานของตับในระดับโมเลกุลว่าถูกเปลี่ยนแปลงไปในทางที่ดีขึ้น (Chanawirat, 2000)

เหมือดคน

เหมือดคนเป็นพืชในวงศ์ Symplocaceae มีชื่อทางพฤกษศาสตร์ว่า *Simplocos racemosa* Roxb. ชื่อของเหมือดคนมีหลายชื่อได้แก่ หมวดคน (ภาคกลาง) เหมือดชน เหมือดแก้ว เหมือดไร่ เหมือดแอ กระยาบวช (เสียม, 2493; วุฒิชรรมเวช, 2540)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

เป็นไม้ขนาดกลาง ลำต้นสีขาว เนื้อไม้เส้นมีริ้วสีขาวถึงครีม ใบเดี่ยว รูปหอก ปลายและโคนแหลม กว้าง 3 – 4 ซม. ยาว 10 – 15 ซม. ใบออกเรียงสลับกันถี่ ๆ บนก้านที่เล็กเรียว เกิดอยู่ตามปาดงติบเขาทั่วไป

สรรพคุณ

เนื้อไม้ : รสขมเล็กน้อย ดับพิษร้อน ถอนไข้ ถอนพิษผิดสำแดง

ราก : รสขมเล็กน้อย แก้พิษ ถอนพิษ ถอนพิษผิดสำแดง แก้ไข้กลับไข้ซ้ำ ไข้พิษ ไข้หวัด ไข้หัด ไข้ปอดบวม ผ่นกับน้ำหรือต้มดื่ม ถอนพิษยาเบื่อเมา แก้เมาเห็ด
คุณสมบัติทางเภสัชวิทยาของเหมือดคนยังไม่ได้มีการศึกษากันอย่างแพร่หลาย

สารเสพติดที่จะใช้ในการศึกษานี้คือสารแอมเฟตามีน ซึ่งเป็นสารเสพติดชนิดร้ายแรงที่ก่อให้เกิดปัญหาต่อสังคมปัจจุบันเป็นอย่างมาก ในที่นี้จะกล่าวถึงคุณลักษณะโดยทั่วไปของสารแอมเฟตามีนก่อน

แอมเฟตามีน (Amphetamine)

แอมเฟตามีน (Amphetamine) หรือ ยาบ้า ถูกสังเคราะห์ขึ้นมาเมื่อปี ค.ศ.1887 โดยนักวิทยาศาสตร์ ชาวเยอรมันชื่อ เอเดเลอโน (Edeleano) ซึ่งเป็นแอมเฟตามีนซัลเฟต (Amphetamine sulphate) (ทรงเกียรติ, 2542)

ปี ค.ศ. 1928 นายแพทย์กอร์ดอน เอ แอลลิส (Gordon A. Alles) วิจัยพบว่า ยาบ้าสามารถรักษาโรคหวัด คัดจมูก น้ำมูกไหลให้หายขาดได้ และรักษาโรคหืดได้อย่างดี จึงนำผลงานไปเสนอขายให้บริษัท สมิท เฟรนช์ แอนด์ ไคลน์ (Smith French and Kline) เพื่อผลิตยาตัวนี้ออกจำหน่าย

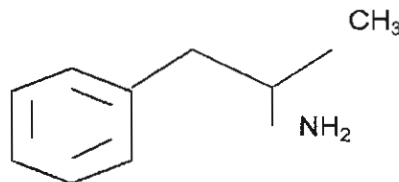
ในระหว่างสงครามโลกครั้งที่ 2 ได้มีการใช้แอมเฟตามีนในกองทัพอย่างแพร่หลายเพราะทำให้ทหารในกองทัพเป็นทหารกล้า บ้าบิ่น ไม่กลัวตาย

ยาบ้า เป็นสารที่ออกฤทธิ์กระตุ้นการทำงานของระบบประสาทส่วนกลาง ให้มีการเคลื่อนไหวมากขึ้น เกิดความรู้สึกมีเรี่ยวแรงดี มีพลัง ในกรณีที่ใช้ในปริมาณต่ำจะทำให้รู้สึกสบาย กระฉับกระเฉง หายเหนื่อยเมื่อยล้า มั่นใจในตัวเอง กระปรี้กระเปร่า หากใช้ในปริมาณที่สูงขึ้นจะทำให้เกิดอาการหงุดหงิด ลุกลี้ลุกลอน วิดกกังวล นอนไม่หลับ เบื่ออาหาร ด้วยเหตุ

ผลนี้เองแอมเฟตามีนจึงนำไปใช้เป็นยาลดความอ้วน โดยปกติยาบ้าจะออกฤทธิ์ในร่างกายได้นาน 1 วัน

ลักษณะของยาบ้า

ทำเป็นรูปยาเม็ดขนาดเล็กๆ สีขาว ชื่ออื่นๆ เช่น ม้า, ม้าขาว, ยาบ้า, ป๊อปปิ่น, เป๊ปปิ่น, เป๊ปแท๊ป, เฟตาแค๊ป, ไวต้าเป๊ป



รูปที่ 2 สูตรโครงสร้างของแอมเฟตามีน (Amphetamine)

คุณสมบัติของยาบ้า

1. ใช้รักษาโรคลมหลับ (Narcolepsy) โดยผู้ป่วยจะมีอาการง่วงซึมปกติ
2. ใช้กับเด็กที่เป็นโรค Attention Deficit Disorder หรือเด็กสมาธิสั้น
3. ใช้กับคนที่อ้วนมากๆ ซึ่งมีโรคแทรกซ้อน เช่น โรคหัวใจอย่างแรง และโรคเบาหวาน

กลไกการออกฤทธิ์

โดยไปไล่ที่แคทีโคลามีน (Catecholamines) โดยเฉพาะโดพามีน (Dopamine) และ นอร์เอพิเนฟริน (Norepinephrine) และยับยั้งกระบวนการเก็บกลับของสารสื่อประสาททั้งสองมีผลทำให้ระดับของโดพามีนและนอร์เอพิเนฟรินที่ช่องว่างระหว่างจุดประสานประสาท (Synaptic cleft) เพิ่มขึ้น และไม่จับกับ Postsynaptic receptor ทำให้เกิดผลทางเภสัชวิทยา คือ

1. ทำให้รู้สึกตื่นตัว บดบังความรู้สึกเมื่อยล้า รู้สึกเคลิ้มฝัน อยู่นิ่งไม่ได้ นอนไม่หลับ เชื้อมันตัวเองมากเกินไป
2. เบื่ออาหารเพราะแอมเฟตามีนจะเข้าไปควบคุมความอยากอาหาร (Appetite)
3. เพิ่มการเคลื่อนไหว
4. มีพฤติกรรมซ้ำๆ
5. มีผลต่อระบบประสาทส่วนปลายต่างๆ เช่น ใจสั่น ความดันโลหิตสูง การเคลื่อนไหวของทางเดินอาหารลดลง

การได้รับยาแอมเฟตามีนเพียงเล็กน้อย ก็สามารถทำให้เกิดอาการดังกล่าวข้างต้นได้ เมื่อยาหมดฤทธิ์อาการที่เกิดขึ้นจะตรงกันข้ามคือ เหนื่อย ซึมเศร้า ง่วงนอน หิว และวิตกกังวลซึ่งทำให้อยากได้รับยาต่อไป ดังนั้นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ติดแอมเฟตามีนคือ

1. ในขณะที่ได้รับยาทำให้เกิดความรู้สึกเคลิ้มฝัน (Euphoria) มีความสุข ลืมความทุกข์ ความวิตกกังวลที่มีอยู่
2. จำเป็นต้องใช้อย่างต่อเนื่องเพื่อให้ทำงานได้

3. หลังจากยาหมดฤทธิ์ทำให้มีความรู้สึกอยากยาได้ใหม่อีก

ในการใช้ยาแอมเฟตามีนติดต่อกันไม่กี่ครั้งก็อาจทำให้เกิดภาวะที่เรียกว่า

“Amphetamine psychosis” คือประสาทหลอนทั้งการมองเห็นและได้ยิน อาการหวาดระแวง
ก้าวร้าวซึ่งเป็นผลมาจากการที่ยาไปไล่ที่และยับยั้งการเก็บกลับของโดปามีน และนอร์เอพิเนฟริน
ที่ปลายประสาท การมีโดปามีนมากที่จุดประสานประสาท (synaptic cleft) เท่ากับเป็นการเพิ่ม
ระดับโดปามีนในสมอง ซึ่งการเพิ่มนี้โดยเฉพาะที่ Mesolimbic area จะทำให้เกิดอาการโรคจิต
ขึ้น โดยทั่วไปการเสพยาบ้าจะใช้วิธีรับประทาน หรือนิดเข้าสู่ร่างกาย

วัตถุประสงค์

ในการศึกษาค้างนี้จุดประสงค์คือ

1. เพื่อศึกษาผลของสารเสพติดบางชนิด ได้แก่ แอมเฟตามีน ต่อการหลั่งสารสื่อประสาทโดปามีน จากเนื้อเยื่อสมองในส่วนสเตรียตัม (Striatum) ของหนูขาวโดยวิธีการกึ่งหล่อเลี้ยงเนื้อเยื่อ (semi-superfusion)
2. เพื่อศึกษาผลของสารเสพติดบางชนิด ได้แก่ แอมเฟตามีน ต่อการหลั่งสารสื่อประสาทเซโรโตนินจากเนื้อเยื่อสมองในส่วนฮิปโปแคมปัส (hippocampus) ของหนูขาวโดยวิธีการกึ่งหล่อเลี้ยงเนื้อเยื่อ (semi-superfusion)
3. เพื่อศึกษาผลของสารสมุนไพรที่ใช้ในการรักษาภาวะเสพติด ได้แก่ *Thunbergia laurifolia* Linn. และ *Simplocos racemosa* Roxb. ต่อการหลั่งสารสื่อประสาททั้งสองชนิดจากเนื้อเยื่อสมองของหนูขาวโดยวิธีเดียวกัน
4. เพื่อศึกษาผลของสารสมุนไพรที่ใช้ในการรักษาภาวะเสพติด ร่วมกับสารเสพติด ต่อการหลั่งสารสื่อประสาททั้งสองชนิดจากเนื้อเยื่อสมองของหนูขาวโดยวิธีเดียวกัน

ขอบเขตของการศึกษา

ทำการทดลองโดยใช้เนื้อเยื่อสมองส่วน striatum และ hippocampus ของหนูขาวมาตัดให้เป็นชิ้นเล็กๆ ด้วยเครื่องตัดเนื้อเยื่อและวัดปริมาณการหลั่งสารประสาทโดปามีน (วัดจากสมองส่วน striatum) และเซโรโตนิน (วัดจากสมองส่วน hippocampus) โดยการกระตุ้นด้วยสารละลายที่มี โฟลตสเซียมสูง เปรียบเทียบกับปริมาณโดปามีนและเซโรโตนินในกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ให้สารเสพติด กลุ่มที่ให้สารสมุนไพร และกลุ่มที่ให้สารเสพติดร่วมกับสมุนไพร โดยการวัดปริมาณสารจะใช้เครื่อง HPLC-ECD และ β -counter ต่อการเปลี่ยนแปลงระดับสารสื่อประสาทโดปามีน และเซโรโตนิน

วิธีการทดลอง

1. สัตว์ทดลอง

ใช้หนูขาวพันธุ์ Wistar เพศผู้ น้ำหนัก 200-250 กรัม เลี้ยงในกรง ในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิประมาณ 25 °C และให้แสงสว่าง 12 ชั่วโมง/วัน โดยให้อาหารสำเร็จรูปและน้ำอย่างกินพอ

2. ขั้นตอนและวิธีการเก็บข้อมูล

งานวิจัยครั้งนี้จะใช้หนูขาวเป็นสัตว์ทดลองโดยนำเนื้อเยื่อสมอง ในส่วน striatum และ Hippocampus ซึ่งมีระดับ โดปามีน และเซโรโตนิน สูงตามลำดับ มาศึกษาในหลอดทดลองโดยใช้เทคนิคการศึกษาการหลั่งสารสื่อประสาท (Thongsaard et al., 1997)

การวิจัยจะแบ่งเป็น 2 การทดลองใหญ่ ๆ คือ

ตอนที่1 การศึกษาการหลั่งสารโดปามีน (Dopamine Release Study)

ในกลุ่มนี้จะแบ่งการทดลองเป็น 3 กลุ่มการทดลอง คือ

1. การศึกษาผลของสารเสพติดแอมเฟตามีน (10^{-4} M) ต่อการหลั่งโดปามีนจากเนื้อเยื่อสมองส่วนสไตรอาตัม
2. การศึกษาผลของสารสกัดสมุนไพร รางจืด และเห็ดดอกคน (0.1 g/ml) ซึ่งเป็นสมุนไพรที่ใช้ในการรักษาผู้ติดยาเสพติดต่อการหลั่งโดปามีนจากเนื้อเยื่อสมอง
3. การศึกษาผลของการให้สารแอมเฟตามีนร่วมกับสารสกัดสมุนไพร เพื่อดูว่าสารสกัดสมุนไพรมีผลในการกดฤทธิ์หรือเสริมฤทธิ์ของสารเสพติดอย่างไร

ตอนที่2 การศึกษาการหลั่งสารเซโรโตนิน (5 - HT Release Study)

ในการทดลองนี้จะแบ่งกลุ่มการทดลองคล้ายกับกลุ่มแรกแต่ใช้เนื้อเยื่อสมองส่วนฮิปโปแคมปัส (Hippocampus) ซึ่งมีระดับเซโรโตนินสูงมาทำการทดลอง โดยแบ่งกลุ่มการทดลองเป็น 3 กลุ่มการทดลอง เช่นเดียวกับการศึกษาโดปามีน

ในการวัดระดับสารสื่อประสาททั้ง 2 ชนิดในการศึกษานี้ทำด้วย 2 วิธีคือ

1. การวัดการหลั่งสารจากเซลล์โดยตรง (Endogenous release study)

วิธีการนี้จะวัดปริมาณการหลั่งสารสื่อประสาทโดปามีนออกจากเซลล์เนื้อเยื่อสมองส่วนสไตรอาตัม และสารสื่อประสาทเซโรโตนินออกจากเซลล์สมองส่วนฮิปโปแคมปัส โดยใช้เครื่องโครมาโตกราฟีประสิทธิภาพสูง ร่วมกับตัววัดทางอิเล็กโตรเคมี (High Performance Liquid Chromatography with Electrochemical Detector; HPLC with ECD)

2. การวัดปริมาณสารรังสีที่ติดมากับสารสื่อประสาทที่หลั่งออกมาจากเซลล์ (Radiolabelled release study)

วิธีการนี้จะวัดปริมาณการหลั่งสารสื่อประสาทโดปามีนและเซโรโตนินจากเซลล์เนื้อเยื่อสมองโดยใช้เครื่องวัดปริมาณรังสีเบต้า (β -counter) โดยที่เซลล์เนื้อเยื่อสมองนั้นจะถูกเลี้ยง (incubate) ในสารละลายที่มีคุณสมบัติคล้ายสารละลายในสมอง (Krebs-Henseleit buffer; KHB) ที่มีสารสื่อประสาทโดปามีนหรือเซโรโตนินที่ถูกเลเบลด้วยสารรังสีทริเทียม ($[^3\text{H}]$ -dopamine หรือ $[^3\text{H}]$ -5-HT) ก่อนที่จะนำเนื้อเยื่อดังกล่าวมาศึกษาถึงผลของสารเสพติดและสารสกัดสมุนไพรต่อการหลั่งโดปามีน และเซโรโตนิน ออกจากเนื้อเยื่อสมอง

สาเหตุที่จำเป็นต้องแบ่งการทดลองเป็น 2 กลุ่ม โดยวัดโดปามีน และ 5-HT 2 วิธี ที่ต่างกันนั้นเนื่องจากการมีรายงานการวิจัยจากนักวิจัยกลุ่มอื่นและจากผู้วิจัยเอง (Herdon et al, 1985 ; 1987; Thongsard et al, 1997a) ว่าการวัดปริมาณการหลั่งสารสื่อประสาทจากเนื้อเยื่อโดยวิธีการวัดปริมาณการหลั่งสารจากเซลล์โดยตรง (Endogenous Release) และวิธีการวัดทางอ้อมโดยการวัดปริมาณสารรังสีที่ติดมากับสารสื่อประสาทที่ถูกหลั่ง (Radiolabelled Release) นั้นอาจให้ผลที่แตกต่างกัน เนื่องจากการวัดแบบ Endogenous Release นั้นเป็นการวัดปริมาณสารสื่อประสาทที่หลั่งออกมาจริงจากเนื้อเยื่อสมองที่ทำการศึกษา โดยปริมาณสารสื่อประสาทที่หลั่งออกมาจากเนื้อเยื่อนั้นจะมีปริมาณน้อยมาก คิดเป็นหน่วย pmole/ μ l ซึ่งจำเป็นต้องอาศัยเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพสูง อย่างเช่น HPLC ร่วมกับ ECD จึงจะสามารถวัดความแตกต่างของปริมาณสารที่หลั่งออกมาได้ แต่ข้อดีของการวัดโดยวิธีนี้คือสามารถทราบค่าปริมาณสารสื่อประสาทที่หลั่งออกมาจริง ทำให้ผลที่ได้จากการทดสอบโดยให้สารทดสอบซึ่งในที่นี้คือ สารเสพติดและสารสกัดสมุนไพรที่ใช้รักษาผู้ติดยาเสพติด เป็นผลที่แท้จริงที่อาจเกิดขึ้นในธรรมชาติในตัวของผู้ทดลอง แต่เนื่องจากข้อจำกัดในการวัดสารที่มีปริมาณน้อยมาก ๆ นั้น อยู่ที่ว่าความจำเป็นที่จะต้องมีเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพสูง ดังนั้นในหลายห้องวิจัยจึงมักจะใช้วิธีการวัดทางอ้อม ซึ่งก็คือการเลี้ยงเนื้อเยื่อ (incubation) ในสารสื่อประสาทที่เลเบลด้วยสารรังสี (Radio-labelled transmitter) ทำให้เซลล์ของเนื้อเยื่อเหล่านั้นเต็มไปด้วยสารสื่อประสาทที่มีสารรังสีติดอยู่ เมื่อนำเนื้อเยื่อนี้มาทดลองโดยการให้สารทดสอบ ก็จะสามารถวัดปริมาณรังสีที่ออกมาในสารละลายภายนอกเซลล์ (interstitial fluid) ซึ่งเมื่อนำสารละลายที่เก็บได้จากการเลี้ยงเนื้อเยื่อในช่วงเวลาหนึ่ง ไปวัดปริมาณสารรังสีเปรียบเทียบกับปริมาณสารรังสีที่ค้างอยู่ในเนื้อเยื่อก็จะทำให้ทราบค่าของปริมาณสารสื่อประสาทที่ถูกหลั่งออกมา ซึ่งวิธีการวัดโดยใช้ปริมาณสารรังสีเป็นตัวเปรียบเทียบนี้จะเป็นการวัดทางอ้อมที่จะทำให้ทราบข้อมูลที่รวดเร็ว และใช้เวลาน้อยกว่าการวิเคราะห์เมื่อเทียบกับการวัดโดยวิธีแรก แต่ข้อจำกัดของวิธีนี้คือ ผู้วิจัยจะต้องคำนึงอยู่เสมอว่าปริมาณสารที่หลั่งออกมานั้นได้มาจากค่าเปรียบเทียบ และอาจไม่ใช่ผลที่เกิดขึ้นจริงในสภาวะธรรมชาติซึ่งไม่มีสารรังสีอยู่

3. การเตรียมและการบ่มเนื้อเยื่อ

3.1 กลุ่มที่ประเมินโดยการวัดการหลั่งสารจากเซลล์โดยตรง (Endogenous Release)

1. นำหนูขาวมาทำให้ตายโดยวิธีการตัดคอ (decapitate)
2. ผ่าตัดเนื้อเยื่อสมองส่วน Striatum และ Hippocampus
3. นำเนื้อเยื่อสมองที่ได้ มาตัดด้วยเครื่องตัดเนื้อเยื่อ ให้เนื้อเยื่อ มีขนาด 0.35×0.035 mm นำไปใส่ขวดรูปชมพู่ ที่มีสารละลาย Krebs – Henseleit Buffer (KHB) ที่ไม่มีแคลเซียม (Ca^{++} -free KHB) ที่อุณหภูมิประมาณ 2°C (วางบนน้ำแข็ง)
4. ล้างเนื้อเยื่อด้วยสารละลาย KHB ที่ไม่มีแคลเซียม 10 ml จำนวน 3 ครั้ง
5. บ่มเนื้อเยื่อด้วยสารละลาย KHB ที่ไม่มีแคลเซียม 10 ml ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ชนิดเขย่าได้ และให้ออกซิเจนกับคาร์บอนไดออกไซด์ ($95\% \text{O}_2 : 5\% \text{CO}_2$) ที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 60 นาที โดยล้างเปลี่ยนสารละลาย KHB ทุกๆ 20 นาที
6. นำเนื้อเยื่อล้างด้วย KHB ที่ไม่มีแคลเซียม อีก 1 ครั้ง จากนั้นดูด KHB ออกจนเหลือ เนื้อเยื่อเข้มข้น แบ่งใส่หลอดโครมาโทกราฟี ที่ทำจากพลาสติกที่ตั้งอยู่บนแท่นยึดโดยแบ่ง เนื้อเยื่อใส่คอลัมน์ ปริมาตร 50 $\mu\text{l}/\text{column}$
7. ล้างเนื้อเยื่ออีกครั้งด้วย normal KHB ปริมาตร 3 ml ทุกคอลัมน์โดยปล่อยให้สาร ไหลออกมาจนสุดปลายหลอด จากนั้นปิดจุหลอดโครมาโทกราฟี
8. การหลั่งโดปามีนและเซโรโตนินสภาวะปกติ (Basal Release) โดยเติมสารละลาย normal KHB ปริมาตร 300 μl ลงในคอลัมน์ บ่มเนื้อเยื่อเป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 37°C (เติมสารละลาย normal KHB อีก 1 ml เมื่อครบเวลา 10 นาทีเพื่อชะล้างที่หลั่งออกมาทั้งหมด) จากนั้นเก็บสารละลายจากปลายคอลัมน์ใน micro tube ที่มี antioxidant solution บรรจุอยู่ 130 μl
9. การหลั่งโดปามีนและเซโรโตนินในสภาวะกระตุ้นด้วย KHB ที่มีโพแทสเซียมสูง (K^{+} -stimulated release) โดยเติมสารละลาย KHB ที่มีโพแทสเซียม 30 mM ที่มียาหรือไม่มียาที่ต้องการศึกษา ปริมาตร 300 μl ลงในคอลัมน์ บ่มเนื้อเยื่อ 10 นาที 37°C จากนั้นเติม normal KHB 1 ml และทำการเก็บสารละลายจากปลายคอลัมน์ใน micro tube ที่มี antioxidant solution บรรจุอยู่ 130 μl
10. สารตัวอย่างที่ได้จะนำไปแช่ในไตรเจนเหลวทันที เพื่อให้แข็งตัวอย่างรวดเร็วและ เก็บสารตัวอย่างทั้งหมดในตู้เย็นแช่แข็ง (-80°C องศาเซลเซียส) เพื่อรอการวิเคราะห์ต่อไป

3.2 กลุ่มที่ประเมินผลทางอ้อมโดยการวัดปริมาณสารรังสีที่ติดมากับสารสื่อประสาท

(Radiolabelled Release)

ข้อ 1-5 ทำเช่นเดียวกับการทดลองที่ 3.1

6. นำเนื้อเยื่อมาบ่มในสารละลาย KHB ที่ไม่แคลเซียม เติมโดปามีนหรือเซโรโตนินที่มีสารทริเทียมติดอยู่ ($[^3\text{H}]$ -dopamine หรือ $[^3\text{H}]$ -5-HT) ลงในเนื้อเยื่อ บ่มเนื้อเยื่อต่ออีก 30 นาที และล้างเนื้อเยื่อ 3 ครั้งๆ 10 ml ด้วย KHB ที่ไม่แคลเซียม

7. ตูด KHB ออกจนเหลือเนื้อเยื่อเข้มข้น แบ่งใส่หลอดโครมาโทกราฟฟี หลอดละ 25 μl

8. ล้างเนื้อเยื่ออีกครั้งด้วย normal KHB ปริมาตร 3 ml ทุกคอลัมน์โดยปล่อยให้สารไหลออกมาจนสุดปลายหลอด จากนั้นปิดจุกหลอดโครมาโทกราฟฟี

9. การหลั่งโดปามีนและเซโรโตนินในสภาวะปกติ (Basal Release) โดยเติมสารละลาย normal KHB ปริมาตร 300 μl ลงในคอลัมน์ บ่มเนื้อเยื่อเป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิ 37 °C (เติมสารละลาย normal KHB อีก 1 ml เพื่อชะล้างที่หลั่งออกมาทั้งหมด) จากนั้นเก็บสารละลายจากปลายคอลัมน์ใส่ขวดวัดรังสี

10. การหลั่งโดปามีนและเซโรโตนินในสภาวะกระตุ้นด้วย KHB ที่มีโพแทสเซียมสูง (K^+ - stimulated release) โดยเติมสารละลาย KHB ที่มีโพแทสเซียม 30 mM มียาหรือไม่มียา ปริมาตร 300 μl ลงในคอลัมน์ บ่มเนื้อเยื่อ 5 นาที 37 °C จากนั้นเติม normal KHB 1 ml และทำการเก็บสารละลายจากปลายคอลัมน์ใส่ขวดวัดรังสี

11. นำสารตัวอย่างจากข้อ 9 และ 10 เติม Liquid scintillation cocktail 8 ml

12. นำไปวัดรังสีด้วยเครื่อง β -counter

4. การวิเคราะห์สารตัวอย่าง

4.1 การวิเคราะห์สารตัวอย่างสำหรับ HPLC-ECD

1. นำสารตัวอย่างที่จะทำการวิเคราะห์ออกมาจากตู้เย็นแช่แข็ง จากนั้นปล่อยให้ละลายในอุณหภูมิห้อง

2. นำสารตัวอย่างที่ละลายแล้วมากรองผ่านตัวกรองที่ต่อกับหลอดฉีดยา (syringe filter) ที่มีขนาดของรูกระดาดกรองเท่ากับ 0.45 μM เก็บสารที่กรองแล้วไว้ในหลอด micro tube บนน้ำแข็งขณะรอที่จะทำการฉีดเข้าเครื่อง HPLC-ECD

3. ทำการฉีดสารตัวอย่างเข้าเครื่อง HPLC-ECD ในปริมาตรมากกว่า 20 μl เพื่อให้ปริมาณเพียงพอสำหรับ injection loop ขนาด 20 μl

4. ตั้งเวลาในการบันทึกข้อมูลที่ 20 นาที

5. บันทึกข้อมูล สังเกตโครมาโตแกรมของโดปามีนหรือเซโรโตนิน โดยวัดความสูงของ peak ในหน่วยเซนติเมตร เทียบกับความสูงของ peak ที่ได้จากสารมาตรฐาน (standard dopamine และ standard 5-HT) ที่รู้ความเข้มข้นที่แน่นอน และนำมาคำนวณกลับเพื่อหาปริมาณโดปามีนหรือเซโรโตนิน ที่ได้จากการหลั่งสารทั้งหมดจากคอลัมน์ตามสูตรคำนวณดังนี้

$$\begin{array}{c}
 \text{DA release} \\
 \text{(pmole/ul)}
 \end{array}
 =
 \frac{
 \begin{array}{c}
 \text{Amount of} \\
 \text{standard (pmole)}
 \end{array}
 \times
 \begin{array}{c}
 \text{Sample peak} \\
 \text{height (cm)}
 \end{array}
 \times
 \begin{array}{c}
 \text{Total released} \\
 \text{volumes (ul)}
 \end{array}
 }{
 \begin{array}{c}
 \text{Standard peak} \\
 \text{height (cm)}
 \end{array}
 \times
 \begin{array}{c}
 \text{Injection volume (ul)}
 \end{array}
 \times
 \begin{array}{c}
 \text{Total tissue} \\
 \text{volume (ul)}
 \end{array}
 }$$

6. เปรียบเทียบปริมาณโดปามีนหรือเซโรโตนินในภาวะการหลั่งสารปกติ (Basal release) กับการหลั่งสารที่ถูกกระตุ้นด้วยโพแทสเซียม (30 mM[K⁺]-stimulated release) ระหว่างกลุ่มต่างๆ กับกลุ่มควบคุม โดยใช้สถิติ ANOVA โดยเมื่อ $p < 0.05$ ถือว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

4.2 การวิเคราะห์สารตัวอย่างด้วยเครื่องวัดรังสี β -counter

- นำค่าที่วัดได้จากเครื่องในหน่วย CPM มาคิดเปรียบเทียบกับระหว่างกลุ่มทดลองต่างๆ แล้วเปรียบเทียบปริมาณสารรังสีในหน่วย เปอร์เซ็นต์ของสารรังสีที่หลั่งออกมาเทียบกับปริมาณการหลั่งทั้งหมด (% of total)
- ใช้สถิติ ANOVA โดยเมื่อ $p < 0.05$ ถือว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

5. การเตรียมสารสมุนไพร (ตัวอย่างการเตรียมรางจืด)

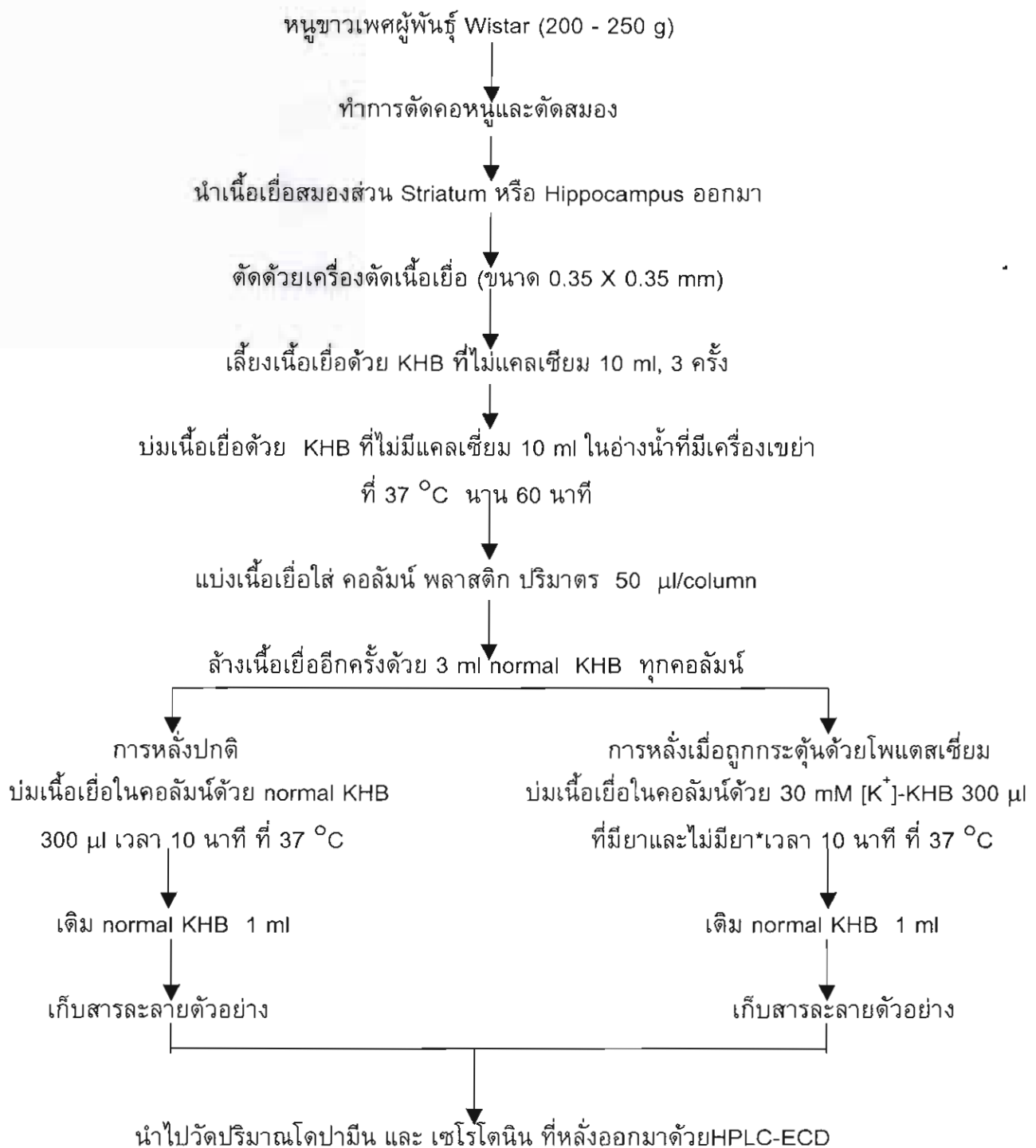
- ชั่งใบรางจืดแห้ง 10 g เติมน้ำ 50 ml ต้มจนเหลือปริมาตรประมาณ 20 ml
- กรองหยาบ 1 ครั้ง
- ต้มต่อจนเหลือปริมาตร 1 ml
- ดูดสารละลายสมุนไพรที่ต้มแล้วมา 500 μ l เติมสารละลาย 30 mM[K⁺]KHB ปริมาตร 49.50 ml จะให้ความเข้มข้นของสารสมุนไพร 0.1 g/ml



รูปที่ 3 แสดงวัสดุอุปกรณ์บางชนิดที่ใช้ในการศึกษา

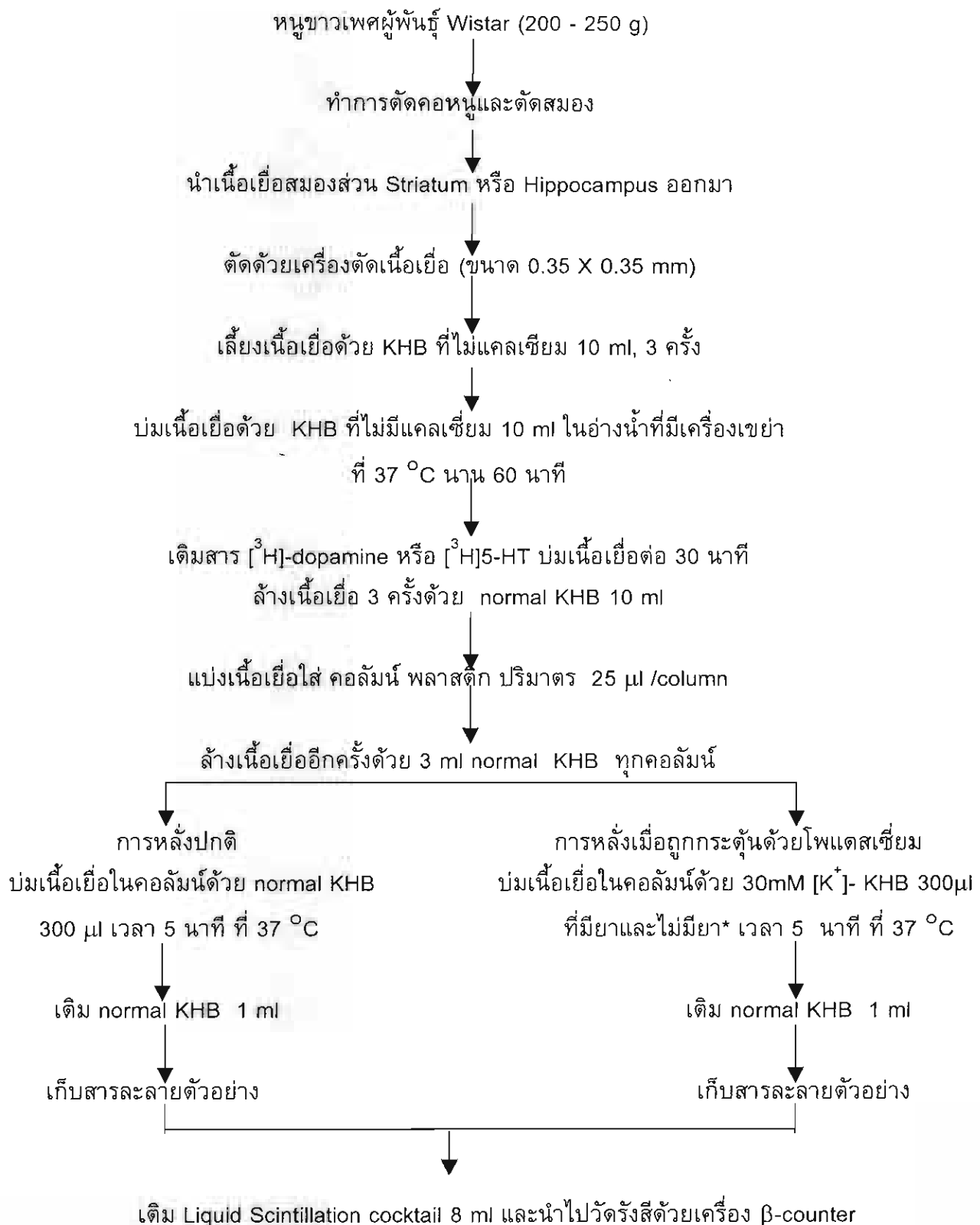


รูปที่ 4 แสดงเครื่อง High Performance Liquid Chromatography with Electrochemical Detector (HPLC-ECD)



*ยา = แอมเฟตามีน รวงจิต หรือเห็ดมอคคน

รูปที่ 5 แผนภาพแสดงขั้นตอนและวิธีการทดลองแบบ Endogenous Release



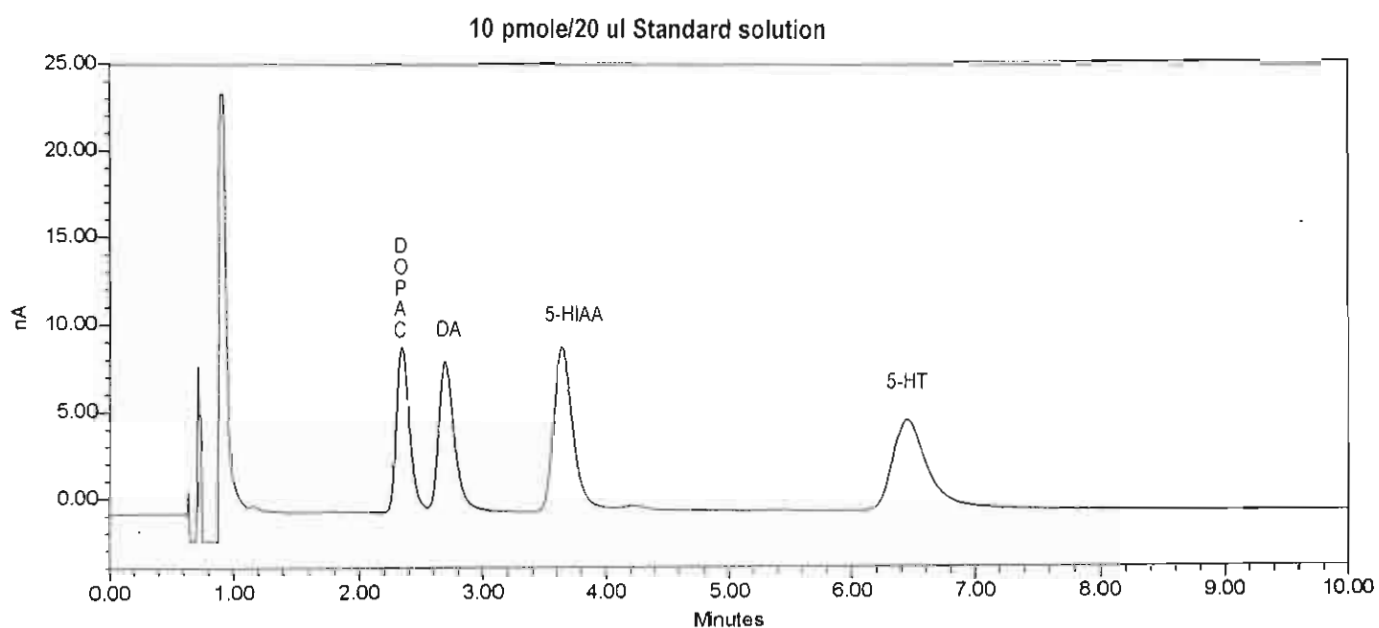
*ยา = แอมเฟตามีน รางจิต หรือเหมีอดคน

รูปที่ 6 แผนภาพแสดงขั้นตอนและวิธีทดลองแบบ Radiolabelled Release

ผลการทดลอง

โครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน โดปามีน และเซโรโตนิน พร้อมทั้งสารเมตาโบไลต์ DOPAC (Dihydroxyphenylacetic acid) และ 5-HIAA (5-Hydroxyindolacetic acid) ในปริมาณ 10 pmole/20 μ l ของ injection loop โดยวัดจากเครื่อง HPLC-ECD ที่ +0.8 V และ Flow rate 0.3 ml/min (รูปที่ 7) แสดงให้เห็นว่าสภาวะ (condition) ที่เครื่องสามารถแยกสารมาตรฐานทั้ง 4 ชนิดได้อย่างชัดเจน และความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารมาตรฐานโดปามีนและเซโรโตนินที่ความเข้มข้น 1, 2, 5 และ 10 pmole/20 μ l กับค่าการตอบสนองของ Detector (nA) (รูปที่ 8) แสดงให้เห็นความสัมพันธ์แบบ Linear relationship โดยมีค่า Regression correlation coefficient เท่ากับ 0.999 สำหรับสารโดปามีน และ 0.995 สำหรับสารเซโรโตนิน

ในทุกการทดลองจะศึกษาการหลั่งสารโดปามีนหรือเซโรโตนินใน 2 สภาวะ คือ สภาวะปกติที่ใช้สารละลาย normal KHB เรียกว่า Basal release และสภาวะที่มีการกระตุ้นการหลั่งสารโดปามีนหรือเซโรโตนินโดยใช้สารละลายที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมสูง เรียกว่า High potassium stimulated release หรือ 30 mM[K⁺]-stimulated release โดยเมื่อใช้สารละลาย KHB ที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมสูงจะทำให้การหลั่งสารโดปามีนหรือเซโรโตนินจากเนื้อเยื่อเพิ่มขึ้นมากกว่า 2 เท่า รูปที่ 9 แสดงโครมาโตแกรมของโดปามีนและเมตาโบไลต์ (DOPAC) ในภาวะการหลั่งปกติและการหลั่งเมื่อถูกกระตุ้นด้วยโพแทสเซียมที่มีความเข้มข้น 30 mM



รูปที่ 7 แสดงโครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน โดปามีน (DA) และเซโรโทนิน (5-HT) พร้อมทั้ง สารเมตาโบไลต์ DOPAC (Dihydroxyphenylacetic acid) และ 5-HIAA (5-Hydroxyindolacetic acid) ในปริมาณ 10 pmole/20 μ l ของ injection loop