ผลของน้ำต้มใบกระท่อมที่มีสารไมตราจัยนินขนาดสูงเป็นเวลานานต่อการทดสอบกิจกรรมการเคลื่อนไหวในหนูถีบจักร

Effects of Long-term of Kratom-Aqueous Extract Containing High Dose Mitragynine on Locomotor Activity Test in Mice

มูรณีย์ มะแซ[1*], จุไรทิพย์ หวังสินทวีกุล[2] และดาร์เนีย เจ๊ะหะ[3]

Murnee Masae[1*], Juraithip Wungsintaweekul[2] and Dania Cheaha[3]

[1] นักวิทยาศาสตร์, สาขาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

[1] Scientist, Division of Biological Science, Faculty of Science, Prince of Songkla University.

[2] รองศาสตราจารย์ ดร., ภาควิชาเภสัชเวทและเภสัชพฤกษศาสตร์, คณะเภสัชศาสตร์, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

[2] Academic, Department of Pharmacognosy and Pharmaceutical Botany, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Prince of Songkla University.

[3] ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร., สาขาวิทยาศาสตร์ชีวภาพและศูนย์วิจัยสัญญาณชีวภาพเพื่อสุขภาพ, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

[3] Academic, Division of Biological Science and Bio Signal Research Center for Health, Faculty of Science, Prince of Songkla University.

*Corresponding author, E-mail: murnee.m@psu.ac.th

บทคัดย่อ

กระท่อม เป็นพืชพื้นเมืองที่นิยมนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายในแถบตอนใต้ของประเทศไทยและบางพื้นที่ในประเทศมาเลเซีย โดยใช้เคี้ยวใบสดหรือชงน้ำดื่มเพื่อกระตุ้นร่างกายให้เพิ่มประสิทธิภาพในการทำงานและสามารถทำงานในที่แจ้งได้นานขึ้น การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลกระทบต่อกิจกรรมการเคลื่อนไหวของหนูถีบจักรที่ได้รับน้ำต้มใบกระท่อมที่มีสารไมตราจัยนินขนาดสูง (10 มก.ต่อกก.) เป็นเวลา 16 วัน การศึกษาเป็นแบบการวิจัยการทดลองในหนูถีบจักรเพศผู้สายพันธุ์ ICR โดยจะแบ่งหนูทดลองออกเป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มควบคุมได้รับน้ำกลั่น และกลุ่มทดลองได้รับน้ำต้มใบกระท่อมที่มีไมตราจัยนิน 10 มก.ต่อกก. กลุ่มละ 6 ตัว ให้สารแต่ละกลุ่มเป็นระยะเวลา 16 วัน เพื่อชักนำให้เสพติด โดยวันที่ 17 จะชักนำให้เกิดอาการถอน โดยกลุ่มที่ได้รับน้ำต้มกระท่อมจะได้รับน้ำกลั่น โดยทำการวัดการทดสอบการเคลื่อนไหวก่อนชักนำอาการถอนและหลังถอน 8 ชั่วโมง จากผลการศึกษาพบว่า กลุ่มที่ได้รับน้ำต้มใบกระท่อมมีค่าอัตราเร็วเฉลี่ย (average speed) ช่วงก่อนชักนำอาการถอนเท่ากับ 3.10 ± 0.78 ซม.ต่อวินาที ซึ่งลดลงอย่างมีนัยสำคัญเป็น 2.20 ± 0.43 ซม.ต่อวินาที หลังชักนำอาการถอน ($P < 0.05$) ระยะทางการเคลื่อนที่ (total distance travelled) ช่วงก่อนชักนำอาการถอนเท่ากับ 2702.39 ± 608.03 ซม. ซึ่งลดลงอย่างมีนัยสำคัญเป็น 1898.54 ± 399.89 ซม. หลังชักนำอาการถอน ($P < 0.05$)

การเคลื่อนที่จะอยู่บริเวณมุมกล่องเสียส่วนใหญ่ และการเคลื่อนที่น้อยกว่ากลุ่มควบคุมซึ่งมีกระจายทั่วทั้งกล่อง จากผลการทดลองครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าการได้รับน้ำต้มกระท่อมที่มีสารไมตราจัยนินขนาดสูงในหนูถีบจักรจะทำให้กิจกรรมการเคลื่อนไหวลดลงเมื่อเทียบกับก่อนชักนำอาการถอนอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

คำสำคัญ: พืชกระท่อม, การถอนยา, กิจกรรมการเคลื่อนไหว

Abstract

Kratom (*Mitragyna speciosa*) is an indigenous plant wide distributed over the southern of Thailand and Malaysian peninsular. It has been traditionally chewing a fresh leaf or drink as a tea to enhance the efficiency of hard working, especially the outdoor work. This study aimed to investigate the effect of long-term exposure, 16 days of aqueous extract of kratom on locomotor activity in male ICR mice. Animals were divided in 2 groups (n = 6 in each group) including control group received distilled water (DW) and aqueous extract of kratom containing 10 mg/kg mitragynine exposed group (KT). Animals received both an aqueous extract of kratom for 16 days consecutively. On the next day (day 17), withdrawal symptom was induced by administration of distilled water. Locomotor activity were recorded before and 8 hrs. after withdrawal induction by placing animal in the open field chamber for 15 minutes. The results showed that locomotor activity of animal exposed to aqueous extract of kratom containing 10 mg/kg mitragynine significantly decreased ($P < 0.05$) from 3.10 ± 0.78 cm/sec prior withdrawal induction to 2.20 ± 0.43 cm/sec after 8th hour of withdrawal period as well as the distance travelled which is significantly decreased from 2702.39 ± 608.03 cm prior withdrawal induction to 1898.54 ± 399.89 cm after 8th hour of withdrawal period. Locomotor tacking of animal received aqueous extract of kratom revealed that most animal spend more time in corner zone and less distribute over all the open field box compared to control group. The results from the present study indicated that long-term exposed to high dose of mitragynine (10 mg/kg) containing aqueous kratom extract affect locomotor activity which might indicate the alteration of brain function associated with locomotor function.

Keywords: Kratom, *Mitragyna speciosa*, withdrawal, locomotor activity

บทนำ

กระท่อมเป็นพืชยืนต้น มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Mitragyna speciosa* จัดอยู่ในวงศ์ Rubiaceae พบได้ทั่วไปในเขตร้อนแถบประเทศมาเลเซียและประเทศไทยโดยเฉพาะภาคกลางและภาคใต้ มีรายงานการนำใบกระท่อมมาใช้สำหรับการแพทย์พื้นบ้านมาอย่างช้านาน และนำมาใช้เป็นยารักษาโรคต่าง ๆ ได้แก่ อาการท้องเสีย แก้ไอ รวมถึงบรรเทาอาการปวด (Reanmongkol et al., 2007) นอกจากนี้ชาวบ้านยังนิยมนำใบกระท่อมมาเคี้ยวกินสดๆ ทำให้ทนต่อการทำงานกลางแจ้งและสามารถทำงานได้ยาวนานมากขึ้น โดยเฉพาะชาวไร่ ชาวนา หรือปัจจุบันผู้ใช้แรงงานส่วนใหญ่ก็มักใช้ใบกระท่อมเพื่อให้ทนและสามารถทำงานได้นานขึ้น มีทั้งเคี้ยวใบสด หรือดื่มน้ำต้มใบกระท่อมเป็นต้น

กระท่อมเป็นพืชที่ใช้กันมานานในการบรรเทาอาการเจ็บปวด ได้มีการศึกษาในลักษณะ *in vitro* และ *in vivo* สนับสนุนการมีคุณสมบัติบรรเทาอาการปวดของทั้งสารสกัดของใบกระท่อมและสารที่เป็นองค์ประกอบหลักจากใบกระท่อม ซึ่งมีฤทธิ์ลดปวดคล้ายคลึงกับสารในกลุ่มฝิ่น ไมตราจัยนิน (mitragynine) เป็นสารอัลคาลอยด์ที่พบในพืชกระท่อม และพบปริมาณมากที่สุดประมาณร้อยละ 60 (Shellard, 1974) ซึ่งพบว่ามีคุณสมบัติการระงับปวด โดยมีกลไกการออกฤทธิ์ในสมองผ่าน opioid receptor เช่นเดียวกับสารอัลคาลอยด์จากยางฝิ่น เช่น มอร์ฟีน แต่มีความแรงน้อยกว่ามอร์ฟีนประมาณ 10 เท่า ซึ่งสารไมตราจัยนิน ออกฤทธิ์ที่ opioid receptor มีผลโดยตรงกับตัวรับ μ และ ∂-opioid receptor subtype (Thongpradichote et al., 1998) ในค.ศ. 1996 Matsumoto ได้รายงานว่าสารไมตราจัยนินในขนาดสูงมีฤทธิ์เสพติดได้ นอกจากฤทธิ์ลดปวดแล้วยังมีรายงานผลของสารสกัดจากพืชกระท่อมต่อการทำงานของสมองอีกด้วย โดยจากการศึกษารูปแบบคลื่นไฟฟ้าสมอง (Electroencephalogram, EEG) ของสารสกัดอัลคาลอยด์จากพืชกระท่อมพบว่าคล้ายคลึงกับกลุ่มยาต้านซึมเศร้า เช่น fluoxetine ซึ่งฤทธิ์ต้านอาการซึมเศร้าของสารสกัดจากพืชกระท่อมมีรายงานในสัตว์ทดลองด้วย (Kumarnsit et al., 2007) โดยพบว่าไมตราจัยนิน มีฤทธิ์การกดการทำงานของ 5-HT_{2A} receptor ในหนูขาวที่ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย 5-methoxy-N,N-dimethyltryptamine (Matsumoto et al., 1997) ซึ่งทำให้พืชกระท่อมมีคุณสมบัติในการลดอาการซึมเศร้าได้ด้วย (Farah Idayu et al., 2011) และยังสามารถลดความวิตกกังวลที่เกิดจากการถอนมอร์ฟีนในปลาม้าลายอีกด้วย (Khor et al., 2011)

แต่เดิมไม่สามารถนำกระท่อมมาใช้อย่างถูกกฎหมายได้ เนื่องจากกระท่อมถูกจัดเป็นสารเสพติดประเภท 5 ในวันที่ 17 กุมภาพันธ์ 2562 ที่ผ่านมา ประเทศไทยได้ประกาศ พ.ร.บ.ยาเสพติดให้โทษ ฉบับที่ 7 พ.ศ. 2562 ในราชกิจจานุเบกษา สาระสำคัญตามพระราชบัญญัตินี้ได้กำหนดมาตรการในการควบคุมยาเสพติดให้โทษในประเภท 5 ให้เหมาะสมกับสถานการณ์ปัจจุบันและสอดคล้องตามหลักสากล นั่นคือ “อนุญาตให้ใช้ประโยชน์จากกัญชาและกระท่อมเพื่อประโยชน์ทางการแพทย์ การรักษาผู้ป่วย หรือการศึกษาวิจัยและพัฒนา” ดังนั้นการศึกษาผลกระทบของการเสพกระท่อมเป็นเวลานานต่อการทำงานของสมองจึงจำเป็นอย่างยิ่ง เนื่องจากงานวิจัยเกี่ยวกับผลของสารสกัดจากพืชกระท่อมต่อสมองนั้นยังคงมีไม่มากนัก

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลกระทบต่อกิจกรรมการเคลื่อนไหวของหนูถีบจักรที่ได้รับน้ำต้มใบกระท่อมที่มีสารไมตราจัยนินขนาดสูง (10 มก.ต่อกก.) เป็นเวลา 16 วัน ในช่วงก่อนและหลังชักนำอาการถอนเป็นเวลา 8 ชั่วโมง

แนวคิด ทฤษฎี กรอบแนวคิด

สารสกัดจากพืชกระท่อมมีสารออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาท โดยเฉพาะระบบประสาทส่วนกลาง โดยพบว่าไมตราจัยนิน เป็นสารหลักที่พบมากในใบกระท่อม มีฤทธิ์ผ่านตัวรับออปิออยด์ (opioid receptor) ในสมอง จึงมีคุณสมบัติเช่นเดียวกับยาแก้ปวดกลุ่มออปิออยด์ (opioid analgesic) เช่น มอร์ฟีน และมีผลลดความอยากอาหาร ทำให้น้ำหนักลดลง (Kumarnsit et al., 2006) การเสพพืชกระท่อมในขนาดต่ำ ๆ มีฤทธิ์กระตุ้นคล้ายใบโคคา และสามารถนำมาใช้ทดแทนการใช้ฝิ่นได้ โดยรูปแบบการเสพที่นิยมได้แก่ ชงน้ำดื่ม เคี้ยวใบสด เป็นต้น การกินใบกระท่อมจะทำให้ทนต่อความร้อน อดทน และทำงานได้นานมากขึ้น แต่เมื่อเสพติดต่อกันเป็นระยะเวลานาน จะมีอาการเบื่ออาหาร น้ำหนักลด ผิวดำเกรียม ท้องผูก เมื่อใช้ติดต่อกัน อาจทำให้เกิดการเสพติด และถ้าไม่ได้เสพ อาจมีอาการถอนยา (withdrawal) เช่น มีอาการก้าวร้าว น้ำตาไหล น้ำมูกไหล ปวดเมื่อยกล้ามเนื้อ เป็นต้น สารไมตราจัยนินที่เป็นสาระสำคัญที่เป็นองค์ประกอบหลักจากพืชกระท่อม มีการศึกษาพบว่ามีผลต่อความจำ (cognitive function) และหากได้รับในขนาดสูง 5 - 15 มก.ต่อกก.ผ่านการฉีดเข้าช่องท้องของหนู เป็นเวลานาน 28 วัน มีผลลดความสามารถในการจดจำและลดกิจกรรมการเคลื่อนไหวในการทดสอบ open field test เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (Apryani et al., 2010) นอกจากนี้มีการศึกษาสารสกัดเมทานอล (ขนาด 50 100 และ 200 มก.ต่อกก.) และสารสกัดอัลคาลอยด์ (ขนาด 5 10 และ 20 มก.ต่อกก.) จากใบกระท่อมต่อกิจกรรมการเคลื่อนไหว พบว่าสารสกัดทั้งสองไม่ได้มีผลต่อกิจกรรมการเคลื่อนไหวอย่างมีนัยสำคัญ แต่มีแนวโน้มลดลง (Reanmongkol et al., 2007)

ในปัจจุบันพืชกระท่อมนิยมนำมาบริโภคโดยการนำใบมาต้มและผสมกับเครื่องดื่มหรือยากล่อมประสาทอื่นๆ เช่น ยาแก้ไข น้ำโคล่า เรียกว่า 4x100 (สี่คูณร้อย) ซึ่งมีการแพร่ระบาดอย่างมากในหมู่วัยรุ่นไทย โดยเฉพาะใน 3 จังหวัดชายแดนใต้ ส่งผลให้ภาพลักษณ์ของพืชกระท่อมเป็นพืชที่มีฤทธิ์เสพติดและถูกปิดกั้นเข้มงวดมากขึ้น ผลการศึกษาฤทธิ์กระตุ้นประสาทของพืชกระท่อมพบว่ามีฤทธิ์ต่ำมาก และมีผลน้อยต่อการทำให้เคลิ้มสุข เมื่อผู้เสพต้องการให้น้ำต้มได้ส่งผลความพึงพอใจในภาวะเคลิ้มสุข (euphoria) จึงได้มีความพยายามหลากหลายที่คิดค้นหาวิธีที่จะปรุงยาผสมให้มีฤทธิ์เคลิบเคลิ้มให้ได้ โดยการลองผิดลองถูกผสมกับยาหรือสารตัวอื่นเพื่อให้มีฤทธิ์กระตุ้นหรือกล่อมประสาท (ดังกล่าวข้างต้น) ประกอบกับการศึกษาที่ผ่านมา มีการใช้สารสกัดจากใบกระท่อมในรูปแบบของการสกัดสารด้วยสารเคมี เช่น เมทานอล เอทานอล หรือคลอโรฟอร์ม เป็นต้น ซึ่งมีสารไมตราจัยนินเป็นสารหลัก อย่างไรก็ตามยังไม่มีการรายงานการศึกษาผลกระทบของการได้รับน้ำต้มกระท่อมต่อกิจกรรมการเคลื่อนไหว (locomotor

activity) ในหนูทดลอง โดยน้ำต้มกระท่อมนี้เป็นตัวแทนที่ใกล้เคียงกับการนำไปบริโภคของสังคมในปัจจุบัน โดยขนาดที่ทำการศึกษาครั้งนี้เป็นขนาดที่มีปริมาณมากกว่าขนาดที่คนทั่วไปนำไปบริโภค และด้วยบริบทสังคมปัจจุบันยังมีการใช้ใบกระท่อมในทางที่ผิด รวมถึงการใช้ร่วมกับยาแผนปัจจุบันอื่น ๆ นำไปสู่การเกิดปัญหาสังคมและอาชญากรรม ทางคณะทำงานจึงสนใจที่จะศึกษาผลของสารสกัดของน้ำต้มกระท่อมที่มีสารไมตราจัยนินขนาด 10 มก.ต่อกก. ต่อกิจกรรมการเคลื่อนไหวเบื้องต้น เพื่อเป็นข้อมูลในการจัดการพืชกระท่อม การนำไปใช้ประโยชน์ รวมถึงนำมาประเมินการใช้พืชกระท่อมให้ถูกต้องตามหลักวิชาการต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

สัตว์ทดลอง (Animal)

สัตว์ทดลองที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ คือหนูถีบจักรสายพันธุ์ Swiss Albino ICR เพศผู้ อายุ 2 เดือน ที่ได้รับการดูแลและฝากเลี้ยงไว้ที่สถานสัตว์ทดลองภาคใต้ (ศูนย์บริการสัตว์ทดลอง) คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ หนูทั้งหมดถูกเลี้ยงในสภาพที่เหมือนกัน โดยการให้อาหารเม็ดสำเร็จรูป (S.W.T., Thailand) และน้ำประปาสะอาดอย่างไม่จำกัดปริมาณ และอยู่ในห้องปรับอากาศอุณหภูมิ 24±2 °ซ และควบคุมปริมาณแสงให้มีสัดส่วนความสว่าง:มืด เท่ากับ 12:12 ชั่วโมง การทดลองทั้งหมดในการศึกษานี้อยู่ภายใต้การควบคุมตามหลักจริยธรรมการใช้สัตว์ทดลองโดยปฏิบัติตามไกด์ไลน์ของ European Science Foundation (Use of Animals in Research, 2001) และ International Committee on Laboratory Animal Science, ICLAS (2004) และได้รับการพิจารณาโดยกรรมการจริยธรรมสัตว์ทดลอง มหาวิยาลัยสงขลานครินทร์ (MOE 0521.11/230)

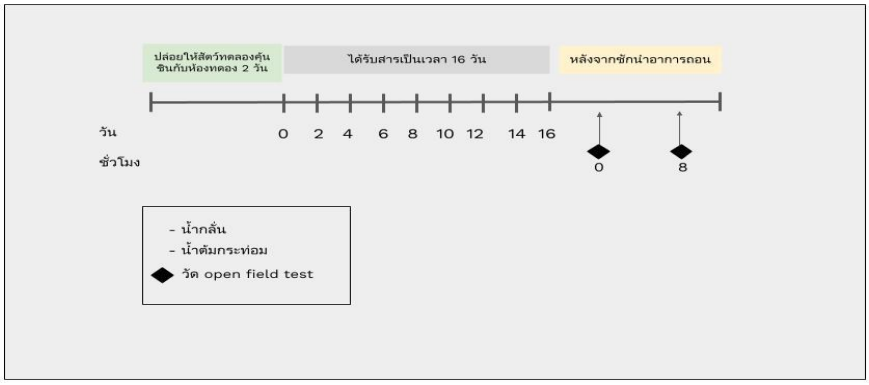
ขั้นตอนการทดลอง (Experiment procedure)

หลังจากพักหนูทดลองเป็นระยะเวลา 14 วัน ทำการสุ่มเพื่อแบ่งกลุ่มหนูทดลองออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 6 ตัว ได้แก่

กลุ่ม 1: กลุ่มควบคุม ได้รับการป้อนน้ำกลั่น (distilled water, DW)

กลุ่ม 2: กลุ่มทดลอง ได้รับการป้อนน้ำต้มใบกระท่อมที่มีสารไมตราจัยนิน ขนาด 10 มก.ต่อกก. (KT)

หนูทุกกลุ่มจะทำความคุ้นเคย (habituation) ก่อนการทดลองเป็นเวลา 2 วัน โดยวันที่ 0 (วันที่ 1 ของการทดลอง) จะเริ่มป้อนน้ำกลั่น น้ำต้มกระท่อมที่มีสารไมตราจัยนิน ขนาด 10 มก.ต่อกก. เป็นระยะเวลา 16 วัน โดยวันที่ 17 จะชักนำอาการถอนในกลุ่มที่ได้รับน้ำต้มกระท่อมที่มีสารไมตราจัยนิน ขนาด 10 มก. ต่อกก. โดยการป้อนน้ำกลั่นแทน โดยแบบแผนการทดลองแสดงในภาพประกอบที่ 1



ภาพประกอบที่ 1 แสดงแบบแผนการทดลอง

การทดสอบกิจกรรมการเคลื่อนไหว (locomotor activity)

สัตว์ทดลองจะถูกทดสอบกิจกรรมการเคลื่อนไหวด้วยการทดสอบ Open-field Testing (OPF) ซึ่งเป็นวิธีการมาตรฐานที่นำมาใช้การทดสอบกิจกรรมการเคลื่อนไหว ในหนูทดลอง การเปลี่ยนแปลงรูปแบบการเคลื่อนที่สามารถนำมาใช้ประเมินการทำงานของสมองได้ ทำการทดสอบ 2 ช่วง ได้แก่ ช่วงก่อนการชักนำอาการถอนและหลังการชักนำอาการถอน โดยจะวางหนูลงในกล่องอะคริลิกสีดำสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาด 12 x 15 x 10 นิ้ว (กว้าง x ยาว x สูง) โดยจะปล่อยให้หนูทดลองสำรวจอยู่ภายในกล่องเป็นเวลา 15 นาที และติดตั้งกล้องบันทึกวีดีโอเหนือกล่องทดสอบ ไฟล์วีดีโอที่ได้จะนำไปวิเคราะห์รูปแบบการเคลื่อนที่ของหนูทดลอง อัตราเร็วในการเคลื่อนที่ (average speed) และระยะทางระยะทางในการเคลื่อนที่ (distance traveled) โดยใช้โปรแกรม OptiMouse (Ben-Shaul, 2017)

การวิเคราะห์ทางสถิติ (Statistical Analysis)

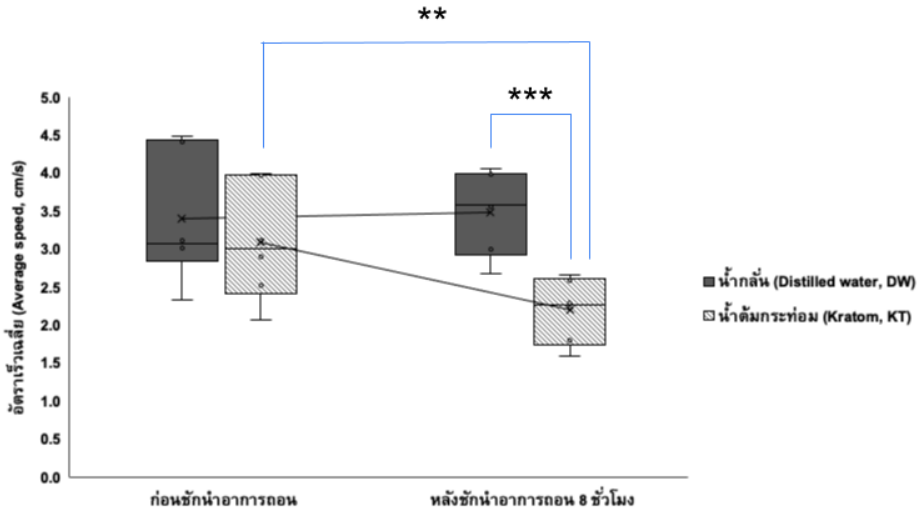
นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ด้วย paired sample t-test โดยข้อมูลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อค่า $P < 0.05$

ผลการวิจัย

1) ผลการศึกษาผลของอัตราเร็วเฉลี่ย **(average speed)** จากการทดสอบกิจกรรมการเคลื่อนไหว **(locomotor activity)**

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติด้วย paired sample t-test ของอัตราเร็วเฉลี่ย (average speed) จากการทดสอบกิจกรรมการเคลื่อนไหว ของหนูทดลองทั้ง 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น (กลุ่มควบคุม) กลุ่มที่ได้รับน้ำต้มกระท่อมเป็นเวลา 16 วัน ช่วงก่อนและหลังชักนำอาการถอนเป็นเวลา 8 ชั่วโมง พบว่าช่วงก่อนและหลังการชักนำอาการถอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดย กลุ่มที่ได้รับ

น้ำต้มกระท่อมมีค่าอัตราเร็วเฉลี่ยช่วงก่อนชักนำอาการถอนเท่ากับ 3.10 ± 0.78 ซม.ต่อวินาที ซึ่งลดลงเป็น 2.20 ± 0.43 ซม.ต่อวินาที หลังชักนำอาการถอน (ภาพประกอบที่ 2)



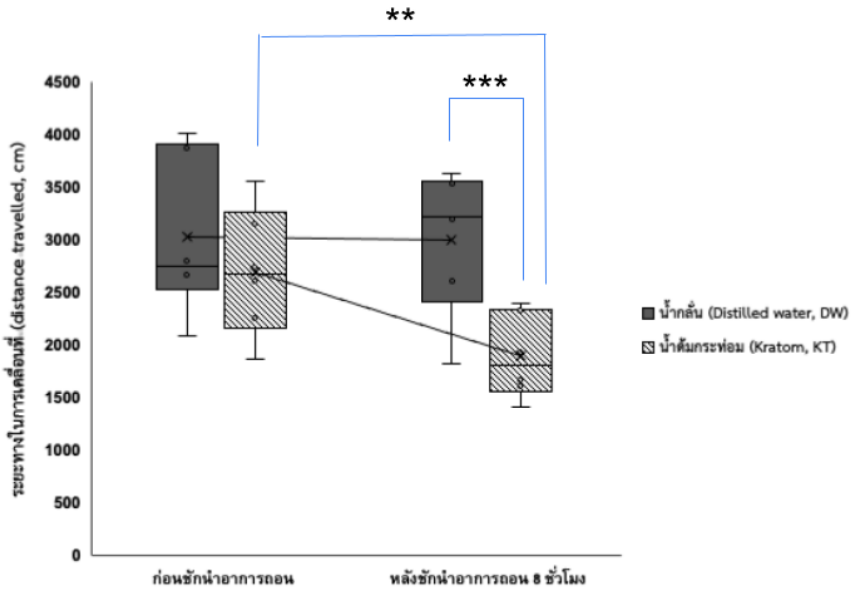
ภาพประกอบที่ 2 แสดงอัตราเร็วเฉลี่ยในการเคลื่อนที่ ของหนูทดลองในกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น (Distilled Water, DW) กลุ่มที่ได้รับน้ำต้มใบกระท่อม (Kratom, KT) เป็นเวลา 16 วัน ช่วงก่อนและหลังชักนำอาการถอนเป็นเวลา 8 ชั่วโมง (*, $p < 0.05$, **, $p < 0.01$, *** $p < 0.001$)

ตารางที่ 1 แสดงอัตราเร็วเฉลี่ยและระยะทางในการเคลื่อนที่ของหนูแต่ละตัว ช่วงก่อนและหลังชักนำอาการถอนเป็นเวลา 8 ชั่วโมง

		ตัวที่ 1	ตัวที่ 2	ตัวที่ 3	ตัวที่ 4	ตัวที่ 5	ตัวที่ 6	Average	S.D.
อัตราเร็วเฉลี่ย (Average speed, cm/s)									
ก่อนชักนำอาการถอน	น้ำกลั่น (Distilled water, DW)	4.5	4.4	3.1	2.3	3.0	3.0	3.40	0.86
	น้ำต้มกระท่อม (Kratom, KT)	2.9	2.1	4.0	2.5	4.0	3.1	3.10	0.78
หลังชักนำอาการถอน 8 ชั่วโมง	น้ำกลั่น (Distilled water, DW)	4.1	3.6	4.0	2.7	3.6	3.0	3.48	0.54
	น้ำต้มกระท่อม (Kratom, KT)	2.6	1.8	2.7	1.6	2.2	2.3	2.20	0.43
ระยะทางในการเคลื่อนที่ (Distance travelled, cm)									
ก่อนชักนำอาการถอน	น้ำกลั่น (Distilled water, DW)	4019.77	3875.13	2806.83	2098.15	2709.9	2680.15	3031.66	753.24
	น้ำต้มกระท่อม (Kratom, KT)	2608.53	1866.47	3560.9	2267.64	3163.76	2747.06	2702.39	608.03
หลังชักนำอาการถอน 8 ชั่วโมง	น้ำกลั่น (Distilled water, DW)	3638.61	3236.81	3536.82	1825.16	3208.73	2614.3	3010.07	681.77
	น้ำต้มกระท่อม (Kratom, KT)	2330.57	1616.28	2404.4	1422.79	1940.57	1676.61	1898.54	399.89

2) ผลการศึกษาผลของระยะทางรวมในการเคลื่อนที่ (total distance traveled) จากการทดสอบกิจกรรมการเคลื่อนไหว (locomotor activity)

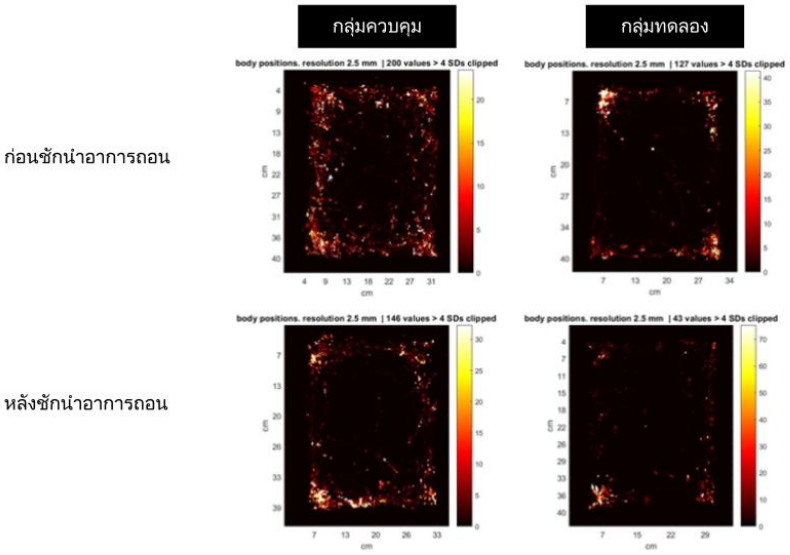
สำหรับผลการวิเคราะห์ระยะทางในการเคลื่อนทางสถิติด้วย paired sample t-test ของหนูทดลองทั้ง 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น (กลุ่มควบคุม) กลุ่มที่ได้รับน้ำต้มใบกระท่อมเป็นเวลา 16 ช่วงก่อนและหลังชักนำอาการถอนเป็นเวลา 8 ชั่วโมง พบว่าช่วงก่อนและหลังการชักนำอาการถอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยกลุ่มที่ได้รับน้ำต้มกระท่อมมีค่าระยะทางการเคลื่อนที่ช่วงก่อนชักนำอาการถอนเท่ากับ 2702.39 ± 608.03 ซม. ซึ่งลดลงเป็น 1898.54 ± 399.89 ซม. หลังชักนำอาการถอน (ภาพประกอบที่ 3)



ภาพประกอบที่ 3 แสดงระยะทางในการเคลื่อนที่ของหนูทดลองในกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น (Distilled water, DW) และกลุ่มที่ได้รับน้ำต้มกระท่อม (Kratom, KT) เป็นเวลา 16 ช่วงก่อนและหลังชักนำอาการถอนเป็นเวลา 8 ชั่วโมง (*, $p < 0.05$, **, $p < 0.01$, *** $p < 0.001$)

3) รูปแบบการเคลื่อนที่

รูปแบบการเคลื่อนที่ของหนูทดลอง 2 กลุ่มแสดงดังรูปแผนภูมิ heatmap ในภาพประกอบที่ 4 หนูกลุ่มควบคุมมีการเคลื่อนที่กระจายเกือบทั่วทั้งกล่องทดสอบ open field ทั้งสองช่วง ในขณะที่หนูกลุ่มที่ได้รับน้ำต้มกระท่อมอย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 16 วัน ช่วงก่อนชักนำอาการถอนหนูมักจะอยู่บริเวณมุมกล่องเสียส่วนใหญ่ และการเคลื่อนที่น้อยกว่ากลุ่มควบคุม ผลดังกล่าวนี้เห็นได้ชัดเจนในช่วงที่ชักนำอาการถอน และสอดคล้องกับค่าความเร็วเฉลี่ยและค่าระยะทางที่เดินที่ลดลง



ภาพประกอบที่ 4 เปรียบเทียบรูปแบบการเคลื่อนไหวของหนูทดลองในกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น (กลุ่มควบคุม) และกลุ่มที่ได้รับน้ำต้มกระท่อม (กลุ่มทดลอง) เป็นเวลา 16 วัน ช่วงก่อนและหลังชักนำอาการถอนเป็นเวลา 8 ชั่วโมง โดยแสดงเป็นแผนภูมิ heat map จุดสีโทนสว่างหรือสีเหลืองแสดงว่าหนูมีการเคลื่อนที่อยู่ในบริเวณ ในขณะที่โทนสีมืดหรือสีดำแสดงว่าหนูอยู่นิ่งไม่เคลื่อนที่

สรุปและอภิปรายผล

การทดสอบกิจกรรมการเคลื่อนไหวด้วย open field test นิยมนำมาใช้เพื่อประเมินผลการทำงานของสมองที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมระดับการเคลื่อนไหวของยาหรือสารที่มีฤทธิ์ต่อจิตประสาท กลุ่มยาที่มีฤทธิ์กดประสาท (suppressant) เช่น ยานอนหลับ มีผลลดระดับการเคลื่อนไหว ในขณะที่กลุ่มยากระตุ้นประสาท (stimulant) เช่น ยาบ้า หรือเมทแอมเฟตามีน มีฤทธิ์เพิ่มระดับการเคลื่อนไหว นอกจากนี้ยังสามารถนำมาใช้เพื่อประเมินผลวิตกกังวลได้อีกด้วย โดยหนูที่มีความวิตกกังวลจะอยู่บริเวณมุมของกล่องทดสอบ และไม่ค่อยเคลื่อนที่สำรวจทั่วกล่องทดสอบ จากผลการศึกษาอัตราเร็วเฉลี่ยและระยะทางรวมในการเคลื่อนที่ของการทดสอบกิจกรรมการเคลื่อนไหว พบว่า กลุ่มที่ได้รับน้ำต้มกระท่อม 10 มก.ต่อกก. มีอัตราเร็วเฉลี่ยและระยะทางรวมในการเคลื่อนที่ลดลงหลังการชักนำอาการถอน 8 ชั่วโมง เมื่อเทียบกับก่อนชักนำอาการถอน โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาการให้สาไมตราจัยนินฉีดเข้าทางช่องท้องในหนูทดลอง เป็นระยะเวลา 28 วัน พบว่ามีผลลดกิจกรรมการเคลื่อนไหวและลดความสามารถในการจดจำ (Apryani et al.,2010) โดยสารไมตราจัยนิน สามารถออกฤทธิ์จับกับตัวรับออปิออยด์ในสมอง จึงมีคุณสมบัติใช้เป็นยาแก้ปวดกลุ่มออปิออยด์ นอกจากนี้ยังลดอาการท้องเสีย ต้านอาการซึมเศร้า (Kumarnsit et al., 2007) รวมไปถึงมีผลลดความอยากอาหารและน้ำ ทำให้น้ำหนักของหนูขาวลดลง (Kumarnsit et al., 2006) โดยผลของรูปแบบการเคลื่อนที่ พบว่าในช่วงของการชักนำอาการถอน หนูมักจะอยู่บริเวณมุมกล่องและการเคลื่อนที่ น้อยกว่ากลุ่มควบคุม ผล

ดังกล่าวนี้เห็นได้ชัดเจนและสอดคล้องกับค่าความเร็วเฉลี่ยและค่าระยะทางที่เดินที่ลดลง โดยคล้ายกับการศึกษาที่มีรายงานว่าสารไมตราจัยนิน เป็นสารหลักของอัลคาลอยด์ ซึ่งพบมากในพืชกระท่อม มีผลลดกิจกรรมการเคลื่อนไหวในหนูเนื่องจากมีฤทธิ์กดประสาท (Moklas et al., 2008)

การศึกษาในครั้งนี้บ่งชี้ให้เห็นว่าผลกระทบต่อกิจกรรมการเคลื่อนไหวในช่วงถอนหลังจากได้รับน้ำต้มกระท่อมที่มีสารไมตราจัยนิน ขนาด 10 มก.ต่อกก. เป็นเวลา 16 วัน ในหนูทดลอง โดยมีผลลดระดับการเคลื่อนไหวและมีรูปแบบพฤติกรรมวิตกกังวล แสดงให้เห็นว่าการได้รับน้ำต้มกระท่อมนั้นส่งผลกระทบต่อสมองและออกฤทธิ์ต่อจิตประสาท อย่างไรก็ตาม การทดสอบกิจกรรมการเคลื่อนไหว เป็นเพียงการศึกษาเบื้องต้นเท่านั้น ยังไม่สามารถสรุปผลกระทบในด้านอื่น ๆ ได้ ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาต่อไปในรูปแบบของการทดสอบที่เฉพาะเจาะจง เช่น การทดสอบความวิตกกังวล การทดสอบภาวะซึมเศร้า โดยหากต้องการนำพืชกระท่อมไปเป็นผลิตภัณฑ์หรือเวชภัณฑ์ในอนาคตจำเป็นต้องศึกษาเรื่องความปลอดภัยในแง่อื่นๆ นอกเหนือจากพฤติกรรม รวมทั้งการศึกษาผลกระทบของการได้รับน้ำต้มกระท่อมและสารไมตราจัยนินต่อโครงสร้างและการทำงานของสมองต่อไป

เอกสารอ้างอิง

Apryani, E., Taufik Hidayat, M., Moklas, M. A. A., Fakurazi, S., Farah Idayu, N. (2010). Effects of mitragynine from Mitragyna speciosa Korth. Leaves on working memory. *Journal of Ethnopharmacology*, *129*(3), 357-360.

Ben-Shaul, Y. (2017). OptiMouse: a comprehensive open source program for reliable detection and analysis of mouse body and nose positions. *BMC Biol ,15*(41), 1-22.

Farah Idayu, N., Taufik Hidayat, M., Moklas, M. A. M., Sharida, F., Nurul Raudzah, A. R., Shamima, A. R., and Apryani, E. (2011). Antidepressant-like effect of mitragynine isolated from Mitragyna speciosa Korth. in mice model of depression. *Phytomedicine*, *18*(5), 402-407.

Khor, B.-S., Amar Jamil, M.F., Adenan, M. I., Chong Shu-Chien, A. (2011). Mitragynine Attenuates Withdrawal Syndrome in Morphine-Withdrawn Zebrafish. PLoS ONE ,*6*(12), e28340.

Kumarnsit, E., Keawpradub, N. and Nuankaew, W. (2006). Acute and long-term effects of alkaloid extract of Mitragynine speciasa on food and water intake and body weight in rats. *Fitoterapia*, *77*(5), 339-345.

Kumarnsit, E., Keawpradub, N. and Nuankaew, W. (2007). Effect of *Mitragyna speciosa* aqueous extract on ethanol withdrawal symsons in mice. *Fitoterapia, 78*(3), 182-185.

Matsumoto, K., Mizowaki, M., Suchitra, T., Takayama, H., Sakai, S., Aimi, N., Watanabe, H. (1996). Antinociceptive action of mitragynine in mice: evidence for the involvement of supraspinal opioid receptors. *Life Sciences*, *59*(14), 1149-55.

Matsumoto, K., Mizowaki, M., Takayama, H., Sakai, S., Aimi, N., Watanabe, H. (1997). Suppressive effect of mitragynine on the 5-methoxy-N,N-dimethyltryptamine-induced head-twitch response in mice. *Pharmacol Biochem Behav*, *57*(1-2), 319-23.

Moklas, M.A.M., Nurul Raudzah, A. R., Taufik Hidayat, M., Sharida, F., Farah Idayu, N., Zulkhairi, A. and Shamima, A. R. (2008). A Preliminary Toxicity Study of Mitragynine, An Alkaloid from Mitragyna speciosa Korth and its Effects on Locomotor Activity in Rats. *Advances in Medical and Dental Sciences*, *2*(3), 56-60.

Reanmongkol, W., Keawpradub, N., Sawangjaroen, K. (2007). Effects of the extracts from *Mitragyna speciosa* Korth. Leaves on analgesic and behavioral activities in experimental animals. *Songklanakarin Journal of science and technology*, *29*(1), 39-48.

Shellard, E. J. (1974). The alkaloid of Mitragyna with special reference to those of Mitragyna speciosa Korth. *Bulletin on Narcotics*, *26*(2), 41-54.

Thongpradichote, S., Matsumoto, K., Tohda, M., Takayama, H., Aimi, N., Sakai, S. I., and Watanabe, H. (1998). Identification of opioid receptor subtypes in antinociceptive actions of supraspinally-admintstered mitragynine in mice. *Life Sciences*. *62*(16), 1371-1378.

European Science Foundation Policy Briefing. 2001. Use of animals in research. Retrived June 16, 2021, from https://www.esf.org.

ICLAS. (2004). International Committee on Laboratory Animal Science. Retrived June 16, 2021, from https://iclas.org/guidelines-for-researchers.