

รายงานฉบับสมบูรณ์

โครงการวิจัยเรื่อง

ฤทธิ์ในการลดความเครียดของบาราคอลในหนู
Action of barakol in the prevention of anxiety in rats

คณะผู้ดำเนินการวิจัย

ผศ.ดร. จัตรศรี เดชะปัญญา

ผศ.ดร. วิชรีวรรณ ทองสะอาด

ภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ถนนสุขุมวิท 23 พระโขนง กรุงเทพฯ 10110

615.321
จ235ร
ร.2

แหล่งทุนสนับสนุนงานวิจัย

งบรายได้ประจำปี 2542 มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

645.3.๑

ฉ.๒๕๖

๑.๑

รายงานฉบับสมบูรณ์

โครงการวิจัยเรื่อง

ฤทธิ์ในการลดความเครียดของบาราคอลในหนู
Action of barakol in the prevention of anxiety in rats

คณะผู้ดำเนินการวิจัย

ผศ.ดร. จัตุรศรี เดชะปัญญา

ผศ.ดร. วัชรวิวรรณ ทองสะอาด

ภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ถนนสุขุมวิท 23 พระโขนง กรุงเทพฯ ๙ 10110

แหล่งทุนสนับสนุนงานวิจัย

งบรายได้ประจำปี 2542 มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	3
Abstract	4
บทนำ	5
วัตถุประสงค์	8
วัสดุอุปกรณ์	8
วิธีการศึกษา	9
ผลการทดลอง	12
อภิปรายผล	18
เอกสารอ้างอิง	23



บทคัดย่อ

บาราคอล (Barakol) เป็นสารสกัดจากใบและดอกซีเหล็ก ซึ่งเป็นพืชสมุนไพรพื้นบ้านที่มีสรรพคุณเป็นยาระบาย ใช้ลดไข้ รักษาโรคเบาหวาน และอาการนอนไม่หลับ เป็นต้น จากการศึกษาวิจัยพบว่าสารบาราคอลมีผลค่อนข้างเด่นชัดต่อการทำงานของระบบประสาทส่วนกลาง การศึกษาที่ผ่านมาของคณะผู้วิจัยพบว่าบาราคอลเมื่อฉีดเข้าทางช่องท้องแก่หนูขาวเพียงครั้งเดียวมีฤทธิ์ในการคลายเครียดเช่นเดียวกับการให้ยา diazepam เมื่อทดสอบด้วยเครื่องมือ elevated plus maze การศึกษาต่อมาพบว่าบาราคอลมีฤทธิ์ในการลดความเครียด และเพิ่มพฤติกรรมเข้าได้โดยผ่านตัวรับ D₂ ของระบบประสาทโดปามีน และสามารถลดการหลั่งโดปามีนจากเนื้อเยื่อสมองทั้งในการศึกษาแบบ *in vivo* และ *in vitro* การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาผลของการให้บาราคอลอย่างต่อเนื่องต่อการคลายเครียดในหนูขาว และทำการศึกษาเปรียบเทียบผลของบาราคอลกับยาในกลุ่ม benzodiazepines (diazepam) และ non-benzodiazepines (fluoxetine) ซึ่งเป็นกลุ่มยาที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบันในการรักษาอาการเครียด ในการศึกษานี้ได้ทำการป้อนยา diazepam 5 mg/kg, fluoxetine 20 mg/kg และสารสกัดบาราคอลในขนาด 10, 30 และ 100 mg/kg แก่หนูขาวทุกวัน เป็นเวลา 30 วัน ในวันสุดท้ายของการทดลอง หลังจากป้อนยาและบาราคอลเป็นเวลา 30 นาที ได้นำหนูขาวมาทดสอบพฤติกรรมด้วยเครื่องมือ elevated plus maze เป็นเวลา 5 นาที ตามด้วยการทดสอบโดยใช้เครื่องมือ holeboard เป็นเวลา 10 นาที ผลการทดสอบโดยใช้ plus maze พบว่า การป้อนบาราคอลทุกขนาดที่ทำการทดลอง ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงค่าเปอร์เซ็นต์ของจำนวนครั้งที่วิ่งเข้าไปในแขนเปิดและเวลาที่อยู่ในแขนเปิด (% open/total arm entries and time) ผลรวมของจำนวนครั้งที่วิ่งเข้าไปในแขนเปิดและแขนปิด (total arm entries) เวลาที่อยู่ในแขนเปิด (time on open arms) และจำนวนครั้งของการยกขาหน้าต่อนาที (rears per minute) ในทางตรงกันข้าม diazepam 5 mg/kg มีผลเพิ่ม % open/total arm entries and time, time on open arms และ rears per minute อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และ fluoxetine 20 mg/kg มีผลเพิ่มเฉพาะ % open/total arm entries เท่านั้น จากการศึกษาพฤติกรรมเคลื่อนที่และการสำรวจโดยใช้ holeboard พบว่ากลุ่มที่ได้รับ fluoxetine มีจำนวนครั้งของการเกาหัว (number of groomings) เพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัดซึ่งตรงกันข้ามกับกลุ่มที่ได้รับบาราคอลขนาด 100 mg/kg ที่มีการลดลงของ number of groomings และยังพบว่าบาราคอลทุกขนาดที่ทำการทดลองมีผลลดจำนวนครั้งของการก้มหัวและมุดหัวลงไปในรู (number of head-dippings) และบาราคอลขนาด 10 mg/kg เท่านั้นที่มีผลลดเวลาของการก้มหัวและมุดหัวลงไปในรู (time of head-dippings) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม นอกจากนี้บาราคอลขนาด 100 mg/kg ยังมีผลลด rears per minutes อีกด้วย ส่วน diazepam ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงค่าพารามิเตอร์ใด ๆ ที่บันทึกได้จาก holeboard จากผลการทดลองสรุปได้ว่า การป้อนบาราคอลขนาด 10-100 mg/kg อย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 30 วันไม่มีผลในการคลายเครียดสัตว์ทดลองเมื่อทดสอบด้วย elevated plus maze แต่มีผลลดพฤติกรรมสำรวจแบบมีทิศทางซึ่งจะเห็นได้จากการลด number of head-dippings เมื่อทดสอบด้วย holeboard

Abstract

Barakol, an active compound extracted from *Cassia siamea*, has been shown to exert biological effects on various systems especially a central nervous system. When given intraperitoneally, it has been shown to have sedative and anxiolytic effects similar to diazepam when tested on an elevated plus maze model. Other than that barakol also increases exploratory and locomotor activities that are not observed with diazepam. Further studies have shown that barakol exhibited these behavior by acting at D₂-like receptor and also inhibits endogenous dopamine release from rat striatal slices both *in vitro* and *in vivo*. Therefore, it is of interest to study the chronic treatment of barakol on anxiolytic effects and exploratory and locomotor behaviors using an elevated plus maze model and a holeboard test. The barakol effects were also compared with diazepam and fluoxetine, a selective serotonin reuptake inhibitor. When studied on an elevated plus maze, an oral administration of barakol 10, 30 and 100 mg/kg for consecutive 30 days produced no significant changes on the percentage of the open / total number of arm entries and time, total number of arm entries, time spent on the open arms and number of rears/min when compared to the control. In contrast, an oral administration of diazepam 5 mg/kg significantly increased the percentage of the open / total number of arm entries and time, time spent on the open arms and number of rears/min while fluoxetine 20 mg/kg significantly increased only the percentage of the open / total number of arm entries. In holeboard test, all three doses of barakol produced a significant decrease in the number of head-dippings and a reduction in the time spent on head-dippings was observed with barakol 10 mg/kg. In addition, barakol 100 mg/kg significantly reduced the number of groomings and the number of rears per min. In contrast, all parameters tested using holeboard were not affected by diazepam 5 mg/kg and fluoxetine 20 mg/kg except a marked increase in the number of groomings was observed with fluoxetine. These results suggest that chronic administration of barakol 10 - 100 mg/kg has no anxiolytic effect when tested on an elevated plus maze and appear to decrease the directed exploratory behaviors, as shown by a decrease in the number of head-dippings on a holeboard test.

บทนำ

ซีเหล็ก (*Cassia siamea*) เป็นพืชพื้นบ้านที่ปลูกมากในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ทั้งในประเทศไทย พม่า อินเดีย และมาเลเซีย ส่วนต่าง ๆ ของต้นซีเหล็กได้ถูกนำมาใช้เป็นยาพื้นบ้านเพื่อรักษาโรคและอาการต่าง ๆ เช่น รากนำมาใช้ลดไข้ เปลือกนำมาใช้รักษาโรคผิวหนังบางชนิด เมล็ดใช้รักษาโรคเบาหวาน ผลใช้รักษาโรคเบาหวานและใช้เป็นยาระบาย ส่วนใบอ่อนและดอกนำมาใช้เป็นยารักษาโรคเบาหวาน โรคความดันโลหิตสูง และที่ใช้กันแพร่หลายที่สุดคือใช้เป็นยาแก้อาการนอนไม่หลับ ในประเทศไทยยังใช้ใบอ่อนและดอกมาปรุงอาหารด้วย การศึกษาผลทางเภสัชวิทยาของใบและดอกซีเหล็กเริ่มมาตั้งแต่ปี ค.ศ. 1949 โดย ศ.พญ. อุไร อรุณลักษณะ ได้นำใบซีเหล็กมาสกัดด้วยเอทานอลและป้อนแก่สัตว์ทดลอง พบว่าสารสกัดเอทานอลจากใบซีเหล็กมีผลลดการทำงานของระบบประสาท ลดความรุนแรงของการชักที่กระตุ้นโดยยาสตรีกนีน และเพิ่มแรงดึงตัวของกล้ามเนื้อลำไส้และหัวใจ

ในปลายปี ค.ศ.1969 ได้พบสารออกฤทธิ์สำคัญที่สกัดได้จากใบและดอกซีเหล็กและตั้งชื่อสารสำคัญนี้ว่า “บาราคอล (barakol)” (Hassanali - walji *et al.*, 1969) ปีต่อมาได้มีการเสนอโครงสร้างและคุณสมบัติทางเคมีของบาราคอล โดยมีชื่อทางเคมีว่า 3 α , 4-dihydro-3 α , 8-dihydroxy-2, 5-dimethyl-1, 4-dioxaphenalene (C₁₃H₁₂O₄) (Bycroft *et al.*, 1970) หลังจากนั้นได้มีการศึกษาวิจัยถึงผลของบาราคอลต่อการทำงานของระบบต่าง ๆ อย่างต่อเนื่อง เช่น บาราคอลมีผลด้านการเจริญของแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบเพียงเล็กน้อย (Gritsanapan *et al.* 1989) สำหรับระบบไหลเวียนโลหิตและหลอดเลือดพบว่าบาราคอลสามารถลดความดันโลหิตในหนูและกระต่าย (Suwan *et al.*, 1992) และลดอัตราการเต้นของหัวใจรวมทั้งความดันเลือดในสัตว์ทดลองที่ทำให้สลบได้ (Momose *et al.*, 1996) นอกจากนี้บาราคอลยังมีผลลดการหดตัวของเส้นเลือดทอแรคซิกที่ถูกกระตุ้นโดยสารเพนนิลเอฟริน (Suwan *et al.*, 1992) สำหรับผลของบาราคอลต่อระบบประสาทส่วนกลางนั้นได้มีการศึกษากันอย่างกว้างขวาง มีรายงานถึงการฉีดบาราคอลเข้าทางช่องท้อง (10-100 mg/kg, i.p) พบว่ามีผลลดการทำงานของสาร 5-hydroxytryptophan ที่กระตุ้นให้เกิดพฤติกรรมกรรมการสับัดหัว (Jantarayota, 1987 ; Tongroach *et al.*, 1992) และลดพฤติกรรมกรรมการเคลื่อนไหวในหนูถีบจักร (Jantarayota, 1987 ; Kaokeaw, 1992) แต่เมื่อให้บาราคอลในปริมาณสูงขึ้นกลับมีผลกระตุ้นการทำงานของระบบประสาทและทำให้ชักตายในที่สุด บาราคอล (75-150 mg/kg, i.p) มีผลเพิ่มพฤติกรรมกรรมการหมุนตัวที่ถูกกระตุ้นโดยสารอะโปมอร์ฟินในหนูที่ถูกทำลายสมองส่วนสไตรอาตัม (striatum) (Jantarayota, 1987 ; Tongroach *et al.*, 1992) นอกจากนี้บาราคอล (100-200 mg/kg, i.p) ยังสามารถลดความเจ็บปวดในหนูถีบจักรเมื่อทดสอบบนแผ่นความร้อน (Jantarayota, 1987, Tongroach *et al.*, 1992)

เมื่อไม่นานมานี้ทีมีผู้วิจัยพบว่าบาราคอล (10-50 mg/kg, i.p) มีฤทธิ์ลดความเครียดในหนูขาวเมื่อทดสอบด้วย elevated plus maze คล้ายกับฤทธิ์ของยาไดอะซีแพม (diazepam) นอกจากนี้บาราคอลยังมีผลเพิ่มพฤติกรรมกรรมการเคลื่อนที่และสำรวจ (locomotor and exploratory behaviors) ซึ่งไม่พบในยา diazepam (Thongsaard *et al.*, 1996a) ในการศึกษาต่อมาถึงกลไกการออกฤทธิ์

ของบาราคอลในหลอดทดลอง (*in vitro*) พบว่าบาราคอลออกฤทธิ์ผ่านระบบประสาทโดปามีนที่ตัวรับ (D_2 -like receptor) โดยมีฤทธิ์ต่อการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมผ่านทางตัวรับ D_2 ที่ปลายประสาทส่วนหลังจุดประสาท (postsynaptic receptor) ซึ่งบาราคอลขนาดต่ำ (10 mg/kg) ออกฤทธิ์ในการลดความเครียด (anxiolytic and exploratory behaviors) ในขณะที่บาราคอลขนาดสูง (75 mg/kg) มีฤทธิ์สงบระงับ (sedation) และบาราคอลที่ความเข้มข้น 10-100 μ M ยังมีฤทธิ์ในการลดการหลั่งสารโดปามีนผ่านทางตัวรับ D_2 ที่ปลายประสาทส่วนก่อนจุดประสาท (presynaptic receptor) ด้วย (Thongsaard *et al.* 1997) และจากการศึกษาโดยใช้เทคนิคไมโครไดอะไลซิส (microdialysis technique) พบว่าบาราคอลขนาด 10 และ 100 mg/kg มีผลลดระดับโดปามีนในสารละลายภายนอกเซลล์ซึ่งการลดการหลั่งโดปามีนนี้ไม่ได้เป็นผลมาจากการเพิ่มการดูดกลับ (reuptake) ของโดปามีนจากปลายประสาท (Thongsaard *et al.*, 1996b) จากรายงานการวิจัยเกี่ยวกับความเครียดกับการเปลี่ยนแปลงระดับสารสื่อประสาทในสมองพบว่าการเกิดความเครียดนอกจากจะเกิดจากความผิดปกติของระดับสารสื่อประสาทประเภท GABA และ serotonin (5-HT) แล้ว การมีระดับโดปามีนสูงน่าจะมีผลในการเพิ่มความเครียดได้ (Biggio *et al.*, 1990 ; Puglisi-Allegra *et al.*, 1991 ; Imperato *et al.*, 1993) ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าบาราคอลอาจออกฤทธิ์ลดความเครียดโดยมีผลเปลี่ยนแปลงการหลั่งสารสื่อประสาทตัวใดตัวหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับความเครียด

เป็นที่ทราบกันดีว่ายานในกลุ่ม benzodiazepines เป็นยาที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในการรักษาโรคเครียด ออกฤทธิ์โดยจับกับตัวรับ benzodiazepine ที่อยู่บนตัวรับ gamma-aminobutylic acid ($GABA_A$ -benzodiazepine receptor complex) แล้วมีผลกระตุ้นการทำงานของระบบประสาท GABAergic ซึ่งเป็นระบบประสาทยับยั้งที่สำคัญในสมอง (Squires and Braestrup, 1977) นอกจากนี้ benzodiazepines ยังสามารถออกฤทธิ์คลายความเครียดโดยผ่านการทำงานของระบบประสาท noradrenergic และ serotonergic ได้ด้วย (Nutt and Cowen, 1987)

นอกเหนือจากระบบประสาท GABAergic ที่มีผลต่อความเครียดแล้ว ระบบประสาท serotonergic เป็นระบบประสาทที่สำคัญอีกระบบหนึ่งที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับความเครียด รวมทั้ง impulsivity และโรคซึมเศร้า (depression) ในปัจจุบันได้มีการศึกษาวิจัยเพิ่มมากขึ้น ในการที่จะนำยาที่ควบคุมการทำงานของระบบประสาท serotonergic มาใช้เป็นยารักษาโรคเครียดที่มักพบร่วมกับโรคทางจิตอื่น ๆ จากสมมุติฐานการทำงานของระบบประสาท serotonergic เชื่อว่าความเครียดเกิดจากการทำงานของระบบประสาท serotonergic มากเกินไป ในทางตรงข้ามเมื่อมีระดับสารสื่อประสาทและการทำงานของระบบประสาท serotonergic ลดลงจะทำให้เกิดภาวะซึมเศร้า รวมทั้งมีความเครียดเพิ่มมากขึ้น จากการศึกษาการออกฤทธิ์ของสารกระตุ้น (agonist) และสารยับยั้ง (antagonist) การทำงานของตัวรับ 5-HT ชนิดต่าง ๆ พบว่า ยาที่ออกฤทธิ์กระตุ้นการทำงานของระบบประสาท 5-HT โดยจับกับตัวรับ 5-HT₂ ที่บริเวณปลายประสาทส่วน postsynaptic จะทำให้เกิดความเครียด ในทางตรงกันข้ามยาที่ออกฤทธิ์ต้านการทำงานของตัวรับ 5-HT₂ จะให้ผลในการคลายเครียดเมื่อทดสอบด้วยเครื่องมือทดสอบความเครียดชนิดต่าง ๆ กัน (Chopin and Briley, 1987) ส่วนยาที่ออกฤทธิ์โดยจับกับตัวรับ 5-HT_{1A} ที่บริเวณ presynaptic จะมีผลลดการหลั่ง 5-HT

และลดความเครียด ในขณะที่เมื่อจับกับตัวรับ 5-HT_{1A} ที่บริเวณ postsynaptic จะกระตุ้นการทำงานของระบบประสาทและเพิ่มความเครียด (Schreiber and Vry, 1993) นอกจากนี้ยาคลายเครียดในกลุ่ม benzodiazepines ยังมีผลลดการทำงานของระบบประสาท 5-HT ในคน (Nutt and Cowen, 1987)

จากความสัมพันธ์ระหว่างความเครียดกับการทำงานของระบบประสาท 5-HT ดังกล่าวข้างต้น ยาที่ออกฤทธิ์กระตุ้นหรือยับยั้งการดูดกลับ 5-HT ที่บริเวณปลายประสาทส่วน presynaptic ก็น่าจะมีผลต่อความเครียดเช่นเดียวกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งกลุ่มยาที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการดูดกลับ serotonin (selective serotonin reuptake inhibitor, SSRI) เป็นกลุ่มยาที่ใช้ได้ผลในการรักษาอาการ panic (panic disorders) ที่เชื่อว่าเกิดจากความเครียด obsessive-compulsive disorder รวมทั้งโรคเครียด (generalized anxiety disorder) และอาการเครียดที่พบร่วมกับโรคซึมเศร้า (depression) จากการศึกษาการออกฤทธิ์ของยา SSRI พบว่ามีผลเพิ่มความเครียดเมื่อให้ในระยะแรก (acute) และลดความเครียดเมื่อให้ในระยะยาว (chronic) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาทาง electrophysiology ที่พบว่ากาให้ยาในระยะแรกจะมีผลลด firing rate activity และลดการหลั่ง 5-HT อันเนื่องมาจากการกระตุ้นการทำงานของตัวรับ 5-HT_{1A} ที่บริเวณ presynaptic และการให้ยาในระยะยาวจะเพิ่มการทำงานของระบบประสาท 5-HT ซึ่งเป็นผลมาจาก desensitization ของ presynaptic autoreceptor (Bluer *et al.*, 1988) จากกลไกการออกฤทธิ์ของยาในกลุ่ม SSRI ต่อการทำงานของระบบประสาท serotonin ในการลดความเครียดให้ผลขัดแย้งกับสมมุติฐานที่กล่าวมาข้างต้น ซึ่งแสดงให้เห็นว่ากลไกการทำงานของระบบประสาท serotonin มีความยุ่งยากซับซ้อนซึ่งยังต้องศึกษากันอีกมาก อย่างไรก็ตามพบว่ายาในกลุ่ม SSRI นี้ให้ผลดีในการลดอาการ depression ที่พบร่วมกับความเครียด รวมทั้งลดอาการ panic ได้ดีกว่ายารักษาอาการซึมเศร้าตัวอื่น (Gorman *et al.*, 1987 ; Zuardi, 1990)

จากการศึกษาที่ผ่านมาของทีมผู้วิจัยเป็นการศึกษาผลเฉียบพลัน (acute effect) ของบาราคอลต่อการคลายเครียดโดยเปรียบเทียบผลในการคลายเครียดกับยาลดความเครียดในกลุ่ม benzodiazepines (diazepam) ซึ่งได้ผลที่น่าสนใจดังได้กล่าวมาแล้วในตอนต้น กล่าวคือบาราคอลมีฤทธิ์เฉียบพลันในการลดความเครียดคล้ายกับยา diazepam และหากใช้ในปริมาณน้อย ๆ จะมีข้อดีกว่ายา diazepam คือไม่ทำให้เกิดอาการง่วงซึม ซึ่งเป็นผลข้างเคียงอันไม่พึงประสงค์ที่พบในผู้ป่วยที่ได้รับยาในกลุ่มนี้ (Thongsaard *et al.*, 1996a) นับเป็นผลดีที่จะพัฒนาสารสำคัญนี้มาใช้เป็นยาต่อไป อย่างไรก็ตามยังไม่เคยมีรายงานการวิจัยถึงผลของการให้สารสกัดบาราคอลในระยะยาว (chronic effect) ดังนั้นทีมผู้วิจัยจึงมีความสนใจเป็นอย่างยิ่งที่จะศึกษาผลในการคลายเครียดของบาราคอลเมื่อให้ติดต่อกันเป็นระยะเวลาหนึ่งโดยศึกษาเปรียบเทียบกับกลุ่มยาที่ใช้ในการรักษาโรคเครียดในปัจจุบัน ได้แก่ diazepam ซึ่งเป็นยาในกลุ่ม benzodiazepines และ fluoxetine ซึ่งเป็นยาในกลุ่ม selective serotonin uptake inhibitor (SSRI)

ในปัจจุบันประชาชนได้มีความตื่นตัวและสนใจในเรื่องสมุนไพรกันมากขึ้น และได้มีการนำสมุนไพรมาใช้กันอย่างแพร่หลายในการช่วยรักษาและบรรเทาอาการบางชนิด ประกอบกับเป็นที่

ทราบดีว่าในสถานการณ์ปัจจุบัน ประชาชนมีความเครียดและความวิตกกังวลสูงอันเนื่องมาจากภาวะทางเศรษฐกิจทางสังคมและด้านอื่น ๆ นั้น การได้ใช้สารสมุนไพรไปช่วยลดความเครียดอาจช่วยให้การดำเนินชีวิตดีขึ้น สามารถต่อสู้กับสถานการณ์ต่าง ๆ ได้ อีกทั้งอาจยังเป็นการทดแทนการให้ยาจากต่างประเทศซึ่งมีราคาแพงและทำให้เกิดสารตกค้างในร่างกาย ซึ่งก่อให้เกิดผลเสียต่อร่างกายถ้าใช้ติดต่อกันเป็นเวลานาน ๆ ได้ อย่างไรก็ตามการใช้สารสมุนไพรติดต่อกันเป็นระยะเวลาหนึ่งก็อาจก่อให้เกิดผลเสียหรืออาการที่ไม่พึงประสงค์ได้เช่นกัน จากการทดลองของคณะผู้วิจัยพบว่าเมื่อให้สัตว์ทดลองกินยาบาราคอล® (ซึ่งเป็นไบซีคลิกแห่งอัดเม็ด ไม่ใช่สารสกัดบาราคอลโดยตรง) ติดต่อกันเป็นเวลา 1 เดือนแล้วหยุดยาเป็นเวลา 2 วัน และ 3 วัน พบว่าสัตว์ทดลองกลับมีอาการเครียดมากขึ้นเมื่อทดสอบโดย elevated plus maze (Thongsaard and Ruengmanee-paitoon, 1999) ซึ่งอาการดังกล่าวเกิดขึ้นคล้ายกับกลุ่มที่หยุดยา diazepam ซึ่งเป็นผลข้างเคียงอันไม่พึงประสงค์ อาการเครียดที่เพิ่มขึ้นหลังจากหยุดยาก็นี้อาจเป็นผลมาจากสัตว์มีความอยากหรือติดสารบางอย่างที่อยู่ในไบซีคลิก สารบางอย่างนี้อาจเป็นสารสกัดบาราคอลโดยตรงหรือสารอื่น ๆ ที่อยู่ในไบซีคลิกก็ได้ นอกจากนี้มีรายงานการพบผู้ป่วยที่มีอาการตับอักเสบเฉียบพลันจำนวน 9 รายที่มีความสัมพันธ์กับการรับประทานไบซีคลิกแห่งอัดเม็ดติดต่อกันระยะเวลาหนึ่ง (สมบัติ ตรีประเสริฐสุข และคณะ 2542) ซึ่งการพบข้อเสียดังกล่าวควรจะนำมาพิจารณาในการรับประทานไบซีคลิกต่อไปและยังต้องมีการศึกษาวิจัยถึงผลดีและผลเสียของการใช้สมุนไพรให้มากยิ่งขึ้น จากการทดลองฉีดบาราคอลเข้าทางช่องท้องของหนูถีบจักรพบว่าความเข้มข้นของบาราคอลที่ทำให้หนูตายจำนวนครึ่งหนึ่งของจำนวนทั้งหมด (LD₅₀) เท่ากับ 302-347 mg/kg (Jantarayota, 1987) และเมื่อเร็ว ๆ นี้คณะผู้วิจัยได้ทดลองป้อนบาราคอลด้วยขนาด 10-100 mg/kg ติดต่อกันเป็นระยะเวลา 30 วันพบว่าบาราคอลไม่มีความเป็นพิษต่อตับและไตของหนูขาว (Thongsaard and Deachapunya, 2001) ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาผลแบบกึ่งเฉียบพลันของบาราคอลต่อการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมในแง่ของการคลายเครียดในสัตว์ทดลอง โดยการให้สารบาราคอลด้วยขนาด 10-100 mg/kg ติดต่อกันเป็นระยะเวลา 30 วัน รวมทั้งยังเปรียบเทียบผลของบาราคอลกับยาคลายเครียดที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน เพื่อนำผลมาวิเคราะห์และเปรียบเทียบข้อดีข้อเสียจากการใช้สารสกัดบาราคอลและยาในกลุ่มต่าง ๆ ได้ รวมทั้งหาขนาดของบาราคอลที่เหมาะสมในการลดความเครียดที่ให้ประสิทธิภาพสูงสุดและสามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการใช้บาราคอลเพื่อทดแทนยาคลายเครียดที่ใช้ในปัจจุบัน

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลจากการให้บาราคอลอย่างต่อเนื่องในการคลายเครียดในสัตว์ทดลอง
2. เพื่อศึกษาเปรียบเทียบผลของบาราคอลกับยาในกลุ่ม benzodiazepines และ selective serotonin uptake inhibitor (SSRI) ที่ใช้ในการรักษาผู้ป่วยโรคเครียดในปัจจุบัน

วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

1. หนูขาวเพศผู้น้ำหนักประมาณ 150 -180 กรัม
2. เครื่องชั่งสัตว์ทดลอง
3. เครื่องชั่งสารเคมีอย่างละเอียด
4. กรงเลี้ยงหนูขาวแบบ stainless steel
5. Elevated plus maze
6. Holeboard
7. เครื่องคอมพิวเตอร์บันทึกข้อมูลและประมวลผล
8. สารสกัดบาราคอลล
9. ยาต่าง ๆ ได้แก่ diazepam และ fluoxetine

วิธีการศึกษา

1. สัตว์ทดลอง

ใช้หนูขาวพันธุ์ Wistar เพศผู้ น้ำหนัก 150-180 กรัม จากศูนย์สัตว์ทดลองแห่งชาติ ตำบลดสาลา ยามหาวิทยาลัยมหิดล โดยนำมาเลี้ยงรวมกัน 5 ตัวต่อกรง ในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิประมาณ 25°C และให้แสงสว่าง 12 ชั่วโมงต่อวัน โดยให้อาหารสำเร็จรูป จากสำนักศูนย์สัตว์ทดลอง มหาวิทยาลัยมหิดล และน้ำอย่างเกินพอ (*ad libitum*)

2. การเตรียมสารสกัดบาราคอลล

สารบาราคอลลที่ใช้ในการทดลองสกัดมาจากใบอ่อนและดอกขี้เหล็กตามวิธีการสกัดในห้องปฏิบัติการของคณะผู้วิจัย (Thongsaard *et al*, 2001) โดยนำใบและดอกขี้เหล็กมาหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วนำไปต้มในกรดซัลฟูริก 0.5% กรองส่วนที่เป็นน้ำออกมาแล้วทำให้เป็นผงด้วยสารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนต จากนั้นนำไปสกัดด้วยคลอโรฟอร์มและเติมกรดอะซิติก 5% แล้วทำให้เป็นกลางด้วยสารละลายแอมโมเนีย ทั้งไว้ให้เย็นจะได้ผลึกสีเขียวยาวเหลือ เมื่อเติมกรดไฮโดรคลอริกจะได้สารบาราคอลลในรูปของเกลือ สารสกัดที่ได้จะนำไปทดสอบคุณสมบัติเบื้องต้นด้วย thin layer chromatography (TLC) บน silica gel ก่อนนำไปตรวจสอบอีกครั้งด้วยเครื่อง nuclear magnetic resonance (NMR)

3. วิธีวิจัย

การวิจัยนี้จะแบ่งสัตว์ทดลองเป็น 6 กลุ่ม ๆ ละ 10 - 15 ตัว ดังนี้

1. หนูกลุ่มควบคุม (control rat) โดยได้รับการป้อนน้ำในปริมาณ 0.5 ml
2. หนูกลุ่มที่ได้รับการป้อนยา diazepam ขนาด 5 mg/kg สัตว์ทดลอง/วัน

3. หนูกลุ่มที่ได้รับการป้อนยา fluoxetine ขนาด 20 mg/kg สัตว์ทดลอง/วัน
4. หนูกลุ่มที่ได้รับการป้อนสารสกัดบาราโคลขนาด 10 mg/kg สัตว์ทดลอง/วัน
5. หนูกลุ่มที่ได้รับการป้อนสารสกัดบาราโคลขนาด 30 mg/kg สัตว์ทดลอง/วัน
6. หนูกลุ่มที่ได้รับการป้อนสารสกัดบาราโคลขนาด 100 mg/kg สัตว์ทดลอง/วัน

หนูแต่ละตัวจะได้รับการป้อนน้ำ ยาต่าง ๆ หรือสารสกัดบาราโคลในขนาดความเข้มข้นต่าง ๆ ดังข้างต้นในน้ำที่มีปริมาตร 0.5 มิลลิลิตรต่อสัตว์ทดลอง 1 ตัว โดยยาและสารเหล่านี้จะถูกเตรียมขึ้นมาใหม่ในปริมาณที่ต้องการใช้ในแต่ละวัน และทำการป้อนวันละครั้งโดยการสอดท่อทางปากเข้าไปในกระเพาะอาหารโดยตรง พร้อมทั้งชั่งน้ำหนักติดต่อกันเป็นเวลา 30 วัน ในวันสุดท้ายของการป้อนยา หลังจากป้อนยาเป็นเวลา 30 นาทีนำสัตว์ทดลองมาทดสอบพฤติกรรมด้วยเครื่องมือ 2 ชนิด ได้แก่ elevated plus maze และ holeboard ในการทดสอบหนูแต่ละตัวจะเริ่มทำการทดสอบด้วย elevated plus maze ก่อนเป็นเวลา 5 นาที ตามด้วยการทดสอบด้วย holeboard เป็นเวลา 10 นาที

4. เครื่องมือที่ใช้ทดสอบ

Elevated plus maze เป็นเครื่องมือทดสอบความเครียดชนิดหนึ่งที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในการทดสอบยาหรือสารที่คาดว่าจะมีฤทธิ์ต่อความเครียด (Handley and Mithani, 1984 ; Pellow *et al.*, 1985) และสามารถใช้ตรวจสอบสารทั้งที่มีฤทธิ์ในการเพิ่มและลดความเครียด (anxiolytic and anxiogenic agents) (Lister, 1991) เครื่องมือมีลักษณะเป็นเครื่องหมาบวกรูปประกอบไปด้วยแขนเปิดและแขนปิดที่อยู่ตรงข้ามกันและยกสูงจากพื้น 80 เซนติเมตร ความสูงและแขนเปิดจะเป็นตัวกระตุ้นให้เกิดความเครียด โดยที่แขนเปิดจะกระตุ้นให้เกิดความเครียดได้มากกว่าความสูงของเครื่องมือ (Treit *et al.*, 1993) ดังนั้นหากสัตว์ทดลองวิ่งไปยังแขนเปิดแสดงว่าไม่มีความกลัวและความเครียดน้อย ในทางตรงข้ามหากวิ่งไปอยู่ในแขนปิดมากกว่าแสดงว่ามีความเครียดสูง ในการทดสอบจะนำสัตว์ทดลองไปวางไว้ที่ส่วนกลางของ plus maze โดยหันหน้าไปทางแขนเปิด แล้วทำการบันทึกพฤติกรรมต่าง ๆ เป็นเวลา 5 นาที หลังจากเสร็จสิ้นการทดลองแต่ละครั้ง จะทำความสะอาดเป็นอย่างดี พฤติกรรมที่ทำการบันทึก ได้แก่ จำนวนครั้งที่วิ่งเข้าไปในแขนเปิด (number of open arm entries) จำนวนครั้งที่วิ่งเข้าไปในแขนปิด (number of closed arm entries) เวลาทั้งหมดที่อยู่ในแขนเปิด (total time on open arms) เวลาทั้งหมดที่อยู่ในแขนปิด (total time on closed arms) และ จำนวนครั้งของการยกขาหน้า (number of rearings) โดยที่เวลาที่อยู่ในแขนเปิด (total time on open arms) เปอร์เซ็นต์ของจำนวนครั้งที่วิ่งเข้าไปในแขนเปิดต่อผลรวมของจำนวนครั้งที่วิ่งเข้าไปในแขนเปิดและแขนปิด ($\% \text{ open/total entries} = \text{open entries/total entries} \times 100$) เปอร์เซ็นต์ของเวลาที่อยู่ในแขนเปิดต่อเวลาทั้งหมด ($\% \text{ open/total time} = \text{open time/300} \times 100$) เป็นตัวบ่งชี้ของความเครียด (anxiety) ส่วนจำนวนครั้งทั้งหมดที่วิ่งเข้าไปในแขนเปิดและแขนปิด (total arm entries) และ

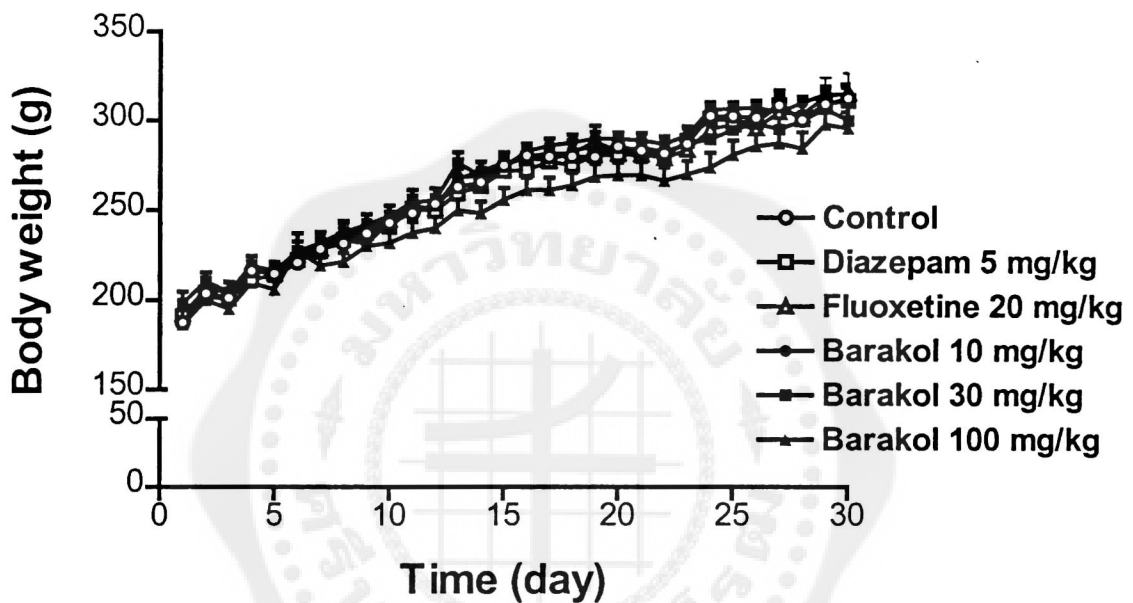
จำนวนครั้งของการยกขาหน้า (number of rearings) เป็นตัวบ่งชี้ของพฤติกรรมเคลื่อนที่ (locomotor behavior) และพฤติกรรมสำรวจ (exploratory behavior) ตามลำดับ *Holeboard* เป็นเครื่องมือชนิดหนึ่งที่ใช้ทดสอบพฤติกรรมสำรวจและการเคลื่อนที่ (exploratory and locomotor behaviors) (File and Wardill, 1975) มีลักษณะเป็นกล่องพลาสติกสีดำขนาด 60x60x40 เซนติเมตร ฝาด้านบนเปิด พื้นด้านล่างยกสูงเล็กน้อย มีรูที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 4 เซนติเมตร จำนวน 16 รู กระจายอยู่ในระยะห่างเท่า ๆ กัน ในการทดสอบนำสัตว์ทดลองมาวางไว้ตรงกลางของ holeboard แล้วทำการบันทึกพฤติกรรมต่าง ๆ เป็นเวลา 10 นาที หลังจากเสร็จสิ้นการทดลองแต่ละครั้ง จะทำความสะอาดเป็นอย่างดี พฤติกรรมที่ทำการบันทึก ได้แก่ จำนวนครั้งของการเกาขน (number of groomings) จำนวนครั้งของการยกขาหน้า (number of rearings) จำนวนครั้งและเวลาของการก้มและมุดหัวลงไปในรู (number and time of head-dippings) ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้พฤติกรรมสำรวจและการเคลื่อนที่ (exploratory and locomotor behaviors)

วิธีการวิเคราะห์ข้อมูล

ผลการทดลองที่ได้จะถูกแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย \pm SEM (standard error of mean) วิเคราะห์ความแตกต่างของผลการทดลองระหว่างกลุ่มทดลองต่าง ๆ กับกลุ่มควบคุมโดยใช้ Student T Test ชนิด unpaired ค่า $P < 0.05$ ถือว่าแตกต่างกันมีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลการทดลอง

ในการศึกษาถึงผลของการให้บาราคอลอย่างต่อเนื่องต่อพฤติกรรมคลายความเครียด ได้ทำการทดลองป้อนบาราคอลขนาด 10, 30 และ 100 mg/kg และเปรียบเทียบผลของบาราคอลกับยาที่มีฤทธิ์ในการคลายเครียด ได้แก่ diazepam 5 mg/kg และ fluoxetine 20 mg/kg โดยทำป้อนบาราคอลและยาแก่หนูขาวติดต่อกันทุกวันเป็นเวลา 30 วัน จากการชั่งน้ำหนักหนูก่อนป้อนยาทุกวันพบว่า หนูเจริญเติบโตได้ดี ไม่มีภาวะแทรกซ้อนจากการป้อนยาและสารต่าง ๆ ดังจะเห็นได้จากน้ำหนักเฉลี่ยของหนูในแต่ละกลุ่มเพิ่มขึ้นในอัตราเดียวกัน ดังแสดงในรูปที่ 1



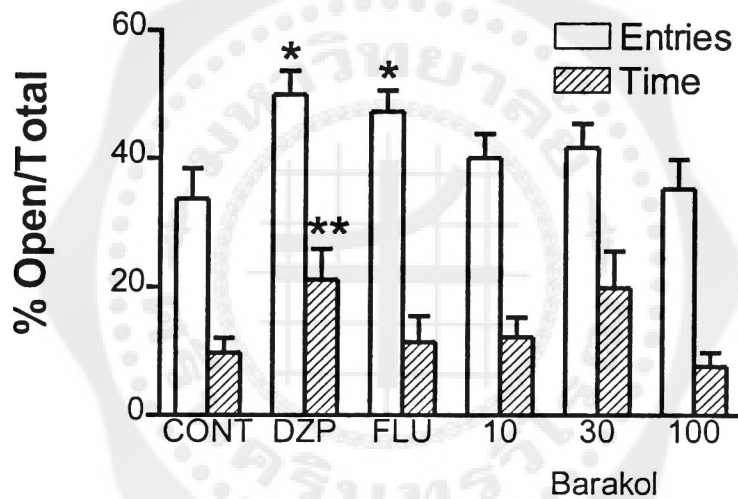
รูปที่ 1 แสดงน้ำหนักตัวเฉลี่ยของหนู ในกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับยา diazepam 5 mg/kg, fluoxetine 20 mg/kg และ barakol 10, 30 และ 100 mg/kg ทุกวัน เป็นเวลา 30 วัน ค่าที่แสดงเป็นค่า mean \pm SEM (n=9-15 ตัว/กลุ่ม)

Elevated plus maze

ผลการทดสอบพฤติกรรมของหนูขาวที่ได้รับการป้อนยาและบาราคอลเป็นเวลา 30 วันด้วยเครื่องมือ plus maze เป็นเวลา 5 นาที พบว่า กลุ่มที่ได้รับยา diazepam มีเปอร์เซ็นต์ของจำนวนครั้งที่อยู่ในแขนเปิด (% open/total entries) เปอร์เซ็นต์ของเวลาที่อยู่ในแขนเปิด (% open/total time) มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (49.98 ± 3.70 % vs 33.70 ± 4.74 % $P < 0.05$ สำหรับ % open/total entries และ 21.17 ± 4.80 % vs 9.75 ± 2.30 % $P < 0.01$ สำหรับ % open/total time) ส่วนกลุ่มที่ได้รับยา fluoxetine มี % open/total entries เท่ากับ 47.27 ± 3.33 % ซึ่งมากกว่ากลุ่มควบคุม (9.75 ± 2.30 %) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เช่นกันแต่ไม่พบความแตกต่างใน % open/total times นอกจากนี้ยังไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

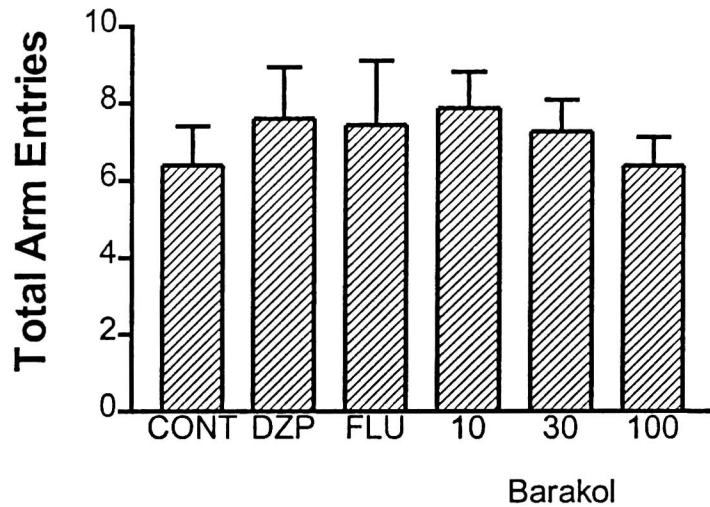
ของ % open/total entries และ % open/total time ในกลุ่มที่ได้รับบาราคอลขนาด 10, 30 และ 100 mg/kg เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ถึงแม้ว่าพารามิเตอร์ทั้งสองค่านี้มีแนวโน้มที่จะเพิ่มขึ้นในกลุ่มที่ได้รับบาราคอลขนาด 30 mg/kg ดังแสดงในรูปที่ 2

เมื่อพิจารณาถึงจำนวนครั้งที่หนูวิ่งไปยังแขนเปิดและแขนปิด (total arm entries) พบว่าทุกกลุ่มการทดลองไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างเด่นชัดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (รูปที่ 3) ในขณะที่ diazepam มีผลเพิ่มเวลาทั้งหมดที่อยู่ในแขนเปิด (time on open arm) อย่างเด่นชัด (70.56 ± 12.97 วินาที vs 29.25 ± 6.91 วินาที $P < 0.01$) และยังเพิ่มจำนวนครั้งของการยกขาหน้าต่อนาที (rears per minute) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (3.11 ± 0.28 ครั้ง vs 1.81 ± 0.25 ครั้ง $P < 0.01$) อย่างไรก็ตามไม่พบการเปลี่ยนแปลงของ time on open arm และ rears per minute ในกลุ่มที่ได้รับยา fluoxetine และบาราคอลขนาดต่าง ๆ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ดังแสดงในรูปที่ 3 และ 4

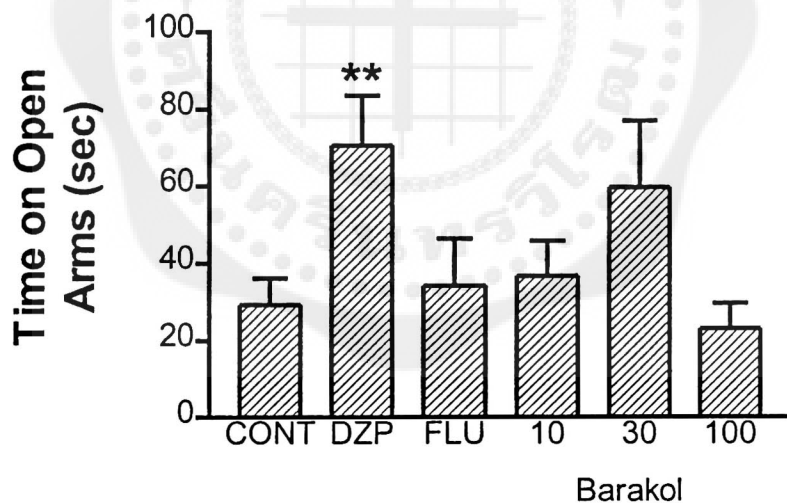


รูปที่ 2 แสดงผลของการให้ยา diazepam 5 mg/kg (DZP), fluoxetine 20 mg/kg (FLU), barakol 10, 30 และ 100 mg/kg เปรียบเทียบกับการให้น้ำในกลุ่มควบคุม (CONT) ต่อเปอร์เซ็นต์ของจำนวนครั้งที่วิ่งไปอยู่ในแขนเปิดต่อจำนวนทั้งหมด (% open/total entries) และเปอร์เซ็นต์ของเวลาที่อยู่ในแขนเปิดต่อเวลาทั้งหมด (%open/total time) โดยทำการป้อนแก่หนูขาวทุกวันเป็นเวลา 30 วัน ในวันสุดท้ายหลังจากป้อนเป็นเวลา 30 นาทีได้ทำการทดสอบพฤติกรรมโดยใช้ elevated plus maze เป็นเวลา 5 นาที ค่าที่แสดงเป็นค่า mean \pm SEM (n=9-15 ตัว/กลุ่ม)

* $P < 0.05$ และ ** $P < 0.01$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

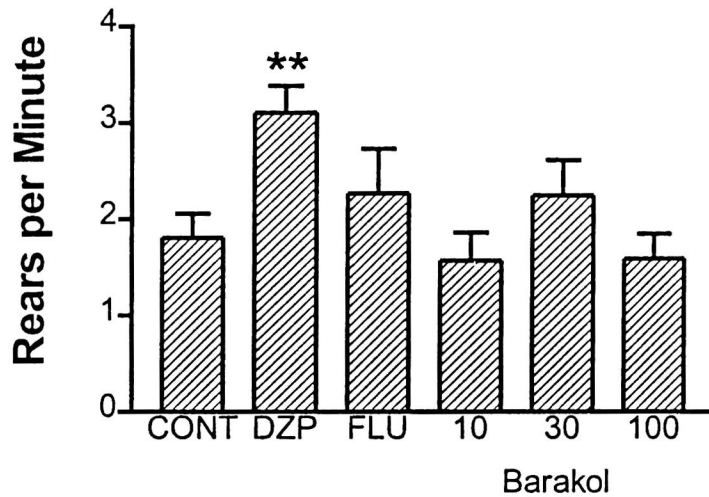


รูปที่ 3 แสดงผลของการให้ยา diazepam 5 mg/kg (DZP), fluoxetine 20 mg/kg (FLU), barakol 10, 30 และ 100 mg/kg เปรียบเทียบกับการให้น้ำในกลุ่มควบคุม (CONT) ต่อผลรวมของจำนวนครั้งที่วิ่งไปอยู่ในแขนเปิดและแขนปิด (total arm entries) โดยทำการป้อนแก่หนูขาวทุกวันเป็นเวลา 30 วัน ในวันสุดท้ายหลังจากป้อนเป็นเวลา 30 นาทีได้ทำการทดสอบพฤติกรรมโดยใช้ elevated plus maze เป็นเวลา 5 นาที ค่าที่แสดงเป็นค่า mean ± SEM (n=9-15 ตัว/กลุ่ม)



รูปที่ 4 แสดงผลของการให้ยา diazepam 5 mg/kg (DZP), fluoxetine 20 mg/kg (FLU), barakol 10, 30 และ 100 mg/kg เปรียบเทียบกับการให้น้ำในกลุ่มควบคุม (CONT) ต่อเวลาที่ทั้งหมดที่อยู่ในแขนเปิด (time on open arms) โดยทำการป้อนแก่หนูขาวทุกวันเป็นเวลา 30 วัน ในวันสุดท้ายหลังจากป้อนเป็นเวลา 30 นาทีได้ทำการทดสอบพฤติกรรมโดยใช้ elevated plus maze เป็นเวลา 5 นาที ค่าที่แสดงเป็นค่า mean ± SEM (n=9-15 ตัว/กลุ่ม)

**P<0.01 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม



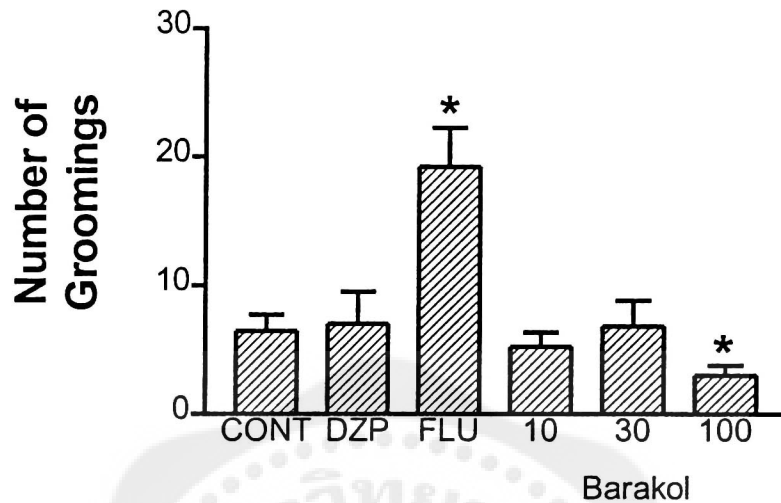
รูปที่ 5 แสดงผลของการให้ยา diazepam 5 mg/kg (DZP), fluoxetine 20 mg/kg (FLU), barakol 10, 30 และ 100 mg/kg เปรียบเทียบกับการให้น้ำในกลุ่มควบคุม (CONT) ต่อจำนวนครั้งของการยกขาหน้าต่อนาที (rears per minute) โดยทำการป้อนแก่หนูขาวทุกวันเป็นเวลา 30 วัน ในวันสุดท้ายหลังจากป้อนเป็นเวลา 30 นาทีได้ทำการทดสอบพฤติกรรมโดยใช้ elevated plus maze เป็นเวลา 5 นาที ค่าที่แสดงเป็นค่า mean ± SEM (n=9-15 ตัว/กลุ่ม)

**P<0.01 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

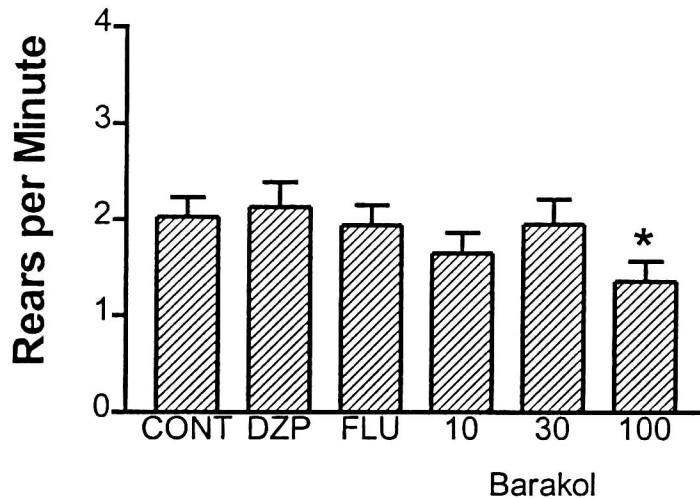
Holeboard

หลังจากนำหนูไปทดสอบพฤติกรรมโดยใช้ elevated plus maze เป็นเวลา 5 นาทีแล้ว ได้นำหนูมาทดสอบพฤติกรรมต่อทันทีด้วย holeboard เป็นเวลา 10 นาที ผลการทดสอบพบว่ากลุ่มที่ได้รับยา fluoxetine มีจำนวนครั้งของการเกาขน (number of groomings) มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (19.22 ± 3.03 ครั้ง vs 6.44 ± 1.27 ครั้ง $P<0.01$) ในทางตรงกันข้าม number of grooming ลดลงในกลุ่มที่ได้รับบาราคอลขนาด 100 mg/kg (3.00 ± 0.79 ครั้ง vs 6.44 ± 1.27 ครั้ง $P<0.05$) แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงพารามิเตอร์นี้ในกลุ่มที่ได้รับยา diazepam และบาราคอลขนาด 10 และ 30 mg/kg (รูปที่ 6) จากการบันทึกพฤติกรรมยกขาหน้าโดยใช้เครื่องมือ holeboard ดังแสดงในรูปที่ 7 พบว่าทุกกลุ่มการทดลองรวมทั้ง diazepam ไม่มีการเปลี่ยนแปลงในจำนวนครั้งของการยกขาหน้าต่อนาที (rears per minute) ยกเว้นกลุ่มที่ได้รับบาราคอลขนาด 100 mg/kg ที่มี rears per minute น้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (2.03 ± 0.20 ครั้ง vs 1.36 ± 0.21 ครั้ง $P<0.05$) ผลการทดลองในรูปที่ 8 และ 9 ซึ่งแสดงจำนวนครั้งและเวลาของการก้มหัวและมุดหัวลงไปในรู (number and time of head-dippings) พบว่ากลุ่มที่ได้รับบาราคอลทุกขนาดมีผลลด number of head-dippings อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (13.60 ± 1.67 ครั้ง สำหรับบาราคอล 10 mg/kg ($P<0.01$), 15.76 ± 1.89 ครั้ง สำหรับบาราคอล 30 mg/kg ($P<0.05$), 14.44 ± 0.98 ครั้ง สำหรับบาราคอล 100 mg/kg ($P<0.01$) vs 20.94 ± 2.07 ครั้ง สำหรับกลุ่มควบคุม) และบาราคอลขนาด 10 mg/kg เท่านั้นที่มีผลลด time of head-

dippings ด้วย (37.60 ± 5.79 วินาที vs 63.19 ± 9.51 วินาที $P < 0.01$) ส่วนกลุ่มที่ได้รับยา diazepam และ fluoxetine ไม่พบความแตกต่างของ time and number of head-dippings อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

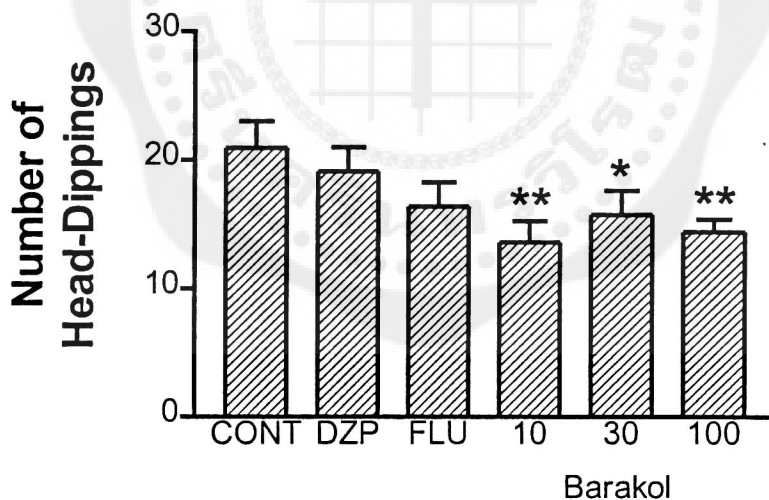


รูปที่ 6 แสดงผลของการให้ยา diazepam 5 mg/kg (DZP), fluoxetine 20 mg/kg (FLU), barakol 10, 30 และ 100 mg/kg เปรียบเทียบกับการให้น้ำในกลุ่มควบคุม (CONT) ต่อจำนวนครั้งของการเกาหัว (number of groomings) โดยทำการป้อนแก่หนูขาวทุกวันเป็นเวลา 30 วัน ในวันสุดท้ายหลังจากป้อน 30 นาทีได้ทำการทดสอบพฤติกรรมโดยใช้ holeboard เป็นเวลา 10 นาที ค่าที่แสดงเป็นค่า mean \pm SEM (n=9-15 ตัว/กลุ่ม)
* $P < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม



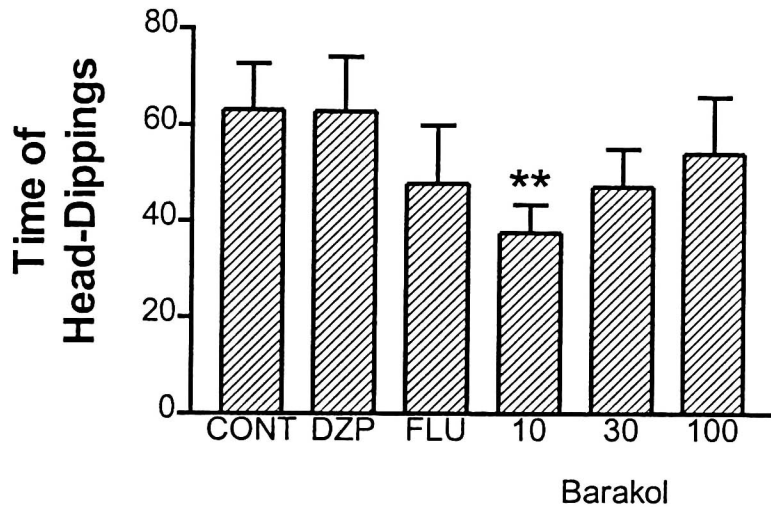
รูปที่ 7 แสดงผลของการให้ยา diazepam 5 mg/kg (DZP), fluoxetine 20 mg/kg (FLU), barakol 10, 30 และ 100 mg/kg เปรียบเทียบกับการให้น้ำในกลุ่มควบคุม (CONT) ต่อจำนวนครั้งของการยกขาหน้าต่อนาที (rears per minute) โดยทำการป้อนแก่หนูขาวทุกวันเป็นเวลา 30 วัน ในวันสุดท้ายหลังจากป้อน 30 นาทีได้ทำการทดสอบพฤติกรรมโดยใช้ holeboard เป็นเวลา 10 นาที ค่าที่แสดงเป็นค่า mean \pm SEM (n=9-15 ตัว/กลุ่ม)

**P<0.01 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม



รูปที่ 8 แสดงผลของการให้ยา diazepam 5 mg/kg (DZP), fluoxetine 20 mg/kg (FLU), barakol 10, 30 และ 100 mg/kg เปรียบเทียบกับการให้น้ำในกลุ่มควบคุม (CONT) ต่อจำนวนครั้งของการมุดหัวลงไปในรู (number of head-dippings) โดยทำการป้อนแก่หนูขาวทุกวันเป็นเวลา 30 วัน ในวันสุดท้ายหลังจากป้อนเป็นเวลา 30 นาทีได้ทำการทดสอบพฤติกรรมโดยใช้ holeboard เป็นเวลา 10 นาที ค่าที่แสดงเป็นค่า mean \pm SEM (n=9-15 ตัว/กลุ่ม)

*P<0.05 และ **P<0.01 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม



รูปที่ 9 แสดงผลของการให้ยา diazepam 5 mg/kg (DZP), fluoxetine 20 mg/kg (FLU), barakol 10, 30 และ 100 mg/kg เปรียบเทียบกับการให้น้ำในกลุ่มควบคุม (CONT) ต่อจำนวนครั้งของการมุดหัวลงไปในรู (time of head-dippings) โดยทำการป้อนแก่หนูขาวทุกวันเป็นเวลา 30 วัน ในวันสุดท้ายหลังจากป้อนเป็นเวลา 30 นาทีได้ทำการทดสอบพฤติกรรมโดยใช้ holeboard เป็นเวลา 10 นาที ค่าที่แสดงเป็นค่า mean \pm SEM (n=9-15 ตัว/กลุ่ม)

**P<0.01 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

วิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาผลระยะยาวของการป้อนยา diazepam ติดต่อกันโดยการทดสอบด้วยเครื่องมือ elevated plus maze พบว่า diazepam มีผลเพิ่ม % open/total entries, % open/total time และ time on open arm อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม แสดงและยืนยันให้เห็นฤทธิ์ในการคลายเครียดของยา diazepam ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการวิจัยที่ผ่านมาถึงฤทธิ์ในการคลายเครียดจากการฉีด diazepam 1 mg/kg เข้าทางช่องท้องเพียงครั้งเดียว (acute treatment) (Thongsaard *et al.*, 1996a) หรือฉีด diazepam 5 mg/kg ติดต่อกันเป็นเวลา 14 วัน (chronic treatment) (Wright *et al.*, 1992) ส่วนการศึกษาระบบการบาราคอลโดยการป้อนบาราคอลขนาด 10, 30 และ 100 mg/kg แก่หนูขาวติดต่อกันเป็นเวลา 30 วัน พบว่าบาราคอลทุกขนาดที่ทำการป้อนไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า การให้บาราคอลติดต่อกันในระยะยาวไม่มีฤทธิ์ในการคลายเครียดเมื่อทดสอบด้วยเครื่องมือ elevated plus maze

ในการศึกษาวิจัยที่ผ่านมา คณะผู้วิจัยได้ทำการฉีดบาราคอลเข้าทางช่องท้องแก่หนูขาวเพียงครั้งเดียวพบว่า บาราคอลขนาด 10 mg/kg เท่านั้นที่มีผลเพิ่มทุกพารามิเตอร์ที่ได้จากการ

ทดสอบด้วยเครื่องมือ elevated plus maze ในขณะที่การให้บาราคอลขนาดที่สูงขึ้น (25 และ 50 mg/kg) มีผลเพิ่มเฉพาะ % open/total number of arm entries and time เท่านั้น และเมื่อให้ในขนาดที่สูงมากขึ้น (75 mg/kg) กลับมีผลในการลดจำนวนครั้งของการยกขาหน้าใน 1 นาที (rears per minute) ซึ่งเป็นพารามิเตอร์ที่แสดงถึงพฤติกรรมรื้อหรือความอยากรู้อยากเห็น (exploratory behavior) (Thongsaard *et al*, 1996a) แสดงให้เห็นว่าการให้บาราคอลในขนาดต่ำจะออกฤทธิ์ในการคลายเครียดได้ดีกว่าการให้บาราคอลในขนาดสูง ในขณะที่บาราคอลในขนาดที่สูงขึ้นกลับมีผลในแง่ของการสงบระงับ (sedation) เช่นเดียวกับที่พบในการทดลองแบบเฉียบพลันโดยให้บาราคอลขนาดสูงดังที่เคยมีรายงานไว้ (Tongroach *et al.*, 1992) ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่า การให้บาราคอลในขนาดที่สูงขึ้นอาจมีผลต่อการทำงานของระบบประสาทอื่น ๆ ร่วมด้วยนอกเหนือจากระบบประสาทที่เกี่ยวข้องกับการคลายเครียด และการทำงานของระบบประสาทอื่น ๆ นั้นอาจให้ผลในทางตรงกันข้ามหรืออาจมีผลยับยั้งการทำงานของระบบประสาทที่เกี่ยวข้องกับการคลายเครียดโดยตรง จึงทำให้ไม่เห็นฤทธิ์ในการคลายเครียดของบาราคอลในขนาดสูง เช่นเดียวกับยาที่ใช้ในการรักษาผู้ป่วยโรคเครียดส่วนใหญ่มักจะมีผลในแง่สงบระงับเช่นกันคือทำให้ผู้ได้รับยามีอาการเซื่องซึมโดยเฉพาะเมื่อได้รับยาติดต่อกันเป็นเวลานาน และในการทดลองครั้งนี้โดยให้บาราคอลอย่างต่อเนื่องเป็นเวลานาน 30 วันกลับเห็นผลในการคลายเครียดน้อยกว่าหรือไม่เห็นผลในการคลายเครียดเมื่อเปรียบเทียบกับ การให้เพียงครั้งเดียวที่เคยมีรายงานไว้ อาจเป็นไปได้ว่าการได้รับยาอย่างต่อเนื่องทำให้เกิดการสะสมของยาในสมอง หรือผลมาจากภาวะที่ร่างกายตอบสนองน้อยลงอันเนื่องมาจากภาวะดื้อยา (tolerance) ซึ่งสามารถพบได้จากการให้ยาที่ออกฤทธิ์โดยตรงต่อระบบประสาท ดังจะเห็นได้จากภาวะดื้อยาจากการให้ยาในกลุ่ม benzodiazepines (diazepam) อย่างต่อเนื่อง (Nutt and Cowen, 1987) และการให้สัตว์ทดลองกินยาบาราคอล® (ซึ่งเป็นไบซีคลิกแห่งอัดเม็ด ไม่ใช่สารสกัดบาราคอลโดยตรง) ติดต่อกันเป็นเวลา 1 เดือน แล้วหยุดยาเป็นเวลา 48-72 ชั่วโมงพบว่าสัตว์ทดลองกลับมีอาการดื้อยาและมีความเครียดมากขึ้นเมื่อทดสอบโดย elevated plus maze เช่นกัน (Thongsaard and Ruengmaneejitoon, 1999) อย่างไรก็ตาม จากผลการศึกษาที่ผ่านมาและที่ได้จากการทดลองครั้งนี้ อาจสรุปได้ว่า การให้บาราคอลในปริมาณน้อย ในระยะเวลาสั้น ๆ จะให้ผลในการคลายเครียดได้ดีกว่าการให้ปริมาณเท่ากันหรือในปริมาณที่สูงกว่าติดต่อกันเป็นเวลานาน

การให้บาราคอลติดต่อกันเป็นเวลานานนอกจากจะไม่มีฤทธิ์ในการคลายเครียดแล้วยังพบว่าไม่มีผลเปลี่ยนแปลง total arm entries และ rears per minute ซึ่งบ่งบอกถึงพฤติกรรม การเคลื่อนไหวและการสำรวจตามลำดับ (locomotor and exploratory behaviors) ที่ได้จากการทดสอบ โดยใช้เครื่องมือ elevated plus maze รวมทั้งไม่เปลี่ยนแปลง rears per minute ที่ได้จากการทดสอบ โดยเครื่องมือ holeboard ที่ขนาด 10 และ 30 mg/kg แต่กลับลดลงเมื่อได้รับบาราคอลในขนาด 100 mg/kg (รูปที่ 7) ซึ่งเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบกับผลเฉียบพลันของบาราคอลแล้วพบว่า การให้บาราคอลในขนาดต่ำเท่านั้น (10 mg/kg) ที่มีผลกระตุ้นพฤติกรรมเคลื่อนไหวและการสำรวจ โดยพฤติกรรมดังกล่าวจะลดลงตามลำดับเมื่อให้บาราคอลในขนาดที่สูงขึ้น เช่นเดียวกับการไม่พบการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมดังกล่าวเมื่อให้ยา diazepam (Thongsaard *et al*, 1996a) จากผลการ

ทดลองจึงน่าจะสรุปได้ว่า นอกเหนือจากการให้บาราคอลในขนาดสูงแล้ว การให้บาราคอลในขนาดต่ำติดต่อกันเป็นเวลานานกลับไม่มีผลเปลี่ยนแปลงพฤติกรรม การเคลื่อนที่ และการสำรวจเมื่อเปรียบเทียบกับ การให้เพียงครั้งเดียวในการทดสอบด้วย elevated plus maze

จากการทดสอบพฤติกรรมโดยใช้ holeboard ได้ผลที่น่าสนใจคือ การป้อนบาราคอลทุกขนาดมีผลลด number of head-dippings ในทุกความเข้มข้นของบาราคอล (รูปที่ 8) และบาราคอลขนาด 10 mg/kg ยังให้ผลลด time of head-dippings อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (รูปที่ 9) การวัดพฤติกรรมการก้มและมุดหัวลงไปในรู แสดงให้เห็นถึงพฤติกรรม การสำรวจแบบมีทิศทาง (directed exploration) ที่เชื่อถือได้และมีความเที่ยงตรง (File and Wardill, 1975) และไม่ได้ขึ้นอยู่กับการเคลื่อนที่ (locomotor behavior) (File, 1985) จากผลการทดลองครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการให้บาราคอลอย่างต่อเนื่องมีผลลดพฤติกรรม การสำรวจแบบมีทิศทาง โดยไม่มีผลเปลี่ยนแปลงพฤติกรรม การเคลื่อนที่ ที่ทดสอบโดยใช้เครื่องมือ holeboard และ เครื่องมือ elevated plus maze อย่างไรก็ตามจากการสังเกตพฤติกรรมบน holeboard พบว่าสัตว์ทดลองที่ได้รับบาราคอลในขนาดสูง (100 mg/kg) ค่อนข้างอยู่นิ่งกับที่อย่างเห็นได้ชัด ซึ่งน่าจะให้ผล สอดคล้องกับการลด rears per minute ที่พบเมื่อให้บาราคอลในขนาดสูงขึ้น ทั้งนี้เนื่องจาก total number of rearings เป็นการแสดงให้เห็นถึงพฤติกรรม การสั่งงาน (motor activity) พฤติกรรม การเบี่ยงเบน (displacement) และการเคลื่อนที่ในแนวตั้ง (vertical activity) (Wall and Messier, 2001) ดังนั้นผลการทดลองที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ จึงอาจพอสรุปได้ว่า การให้บาราคอลขนาด 10-100 mg/kg อย่างต่อเนื่องมีผลลดพฤติกรรม การสำรวจแบบมีทิศทาง และมีผลเพียงเล็กน้อยในการ ลดพฤติกรรม การเคลื่อนที่ซึ่งพบได้เมื่อให้บาราคอลขนาดสูงอย่างต่อเนื่อง

จากการศึกษาครั้งนี้เป็นที่น่าสังเกตว่าการป้อน diazepam ติดต่อกันเป็นเวลานานมีผลเพิ่ม rears per minute อย่างเด่นชัดเมื่อทดสอบด้วย elevated plus maze ซึ่งให้ผลที่แตกต่างกับ รายงานการวิจัยที่ไม่พบการเปลี่ยนแปลง rears per minute หลังจากได้รับยา diazepam ในขนาด เท่ากันเพียงครั้งเดียวหรือให้ติดต่อกันเป็นระยะเวลา 14 วัน (Wright *et al.*, 1992) อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบการให้ยาโดยการฉีดเข้าทางช่องท้องกับการให้ทางปากแล้ว จะเห็นได้ว่าการให้ยาโดย การฉีดจะมีระดับยาในกระแสเลือดเพิ่มขึ้นเร็วกว่าและออกฤทธิ์ได้เร็วกว่ารวมทั้งมีระดับยาในเลือด สูงกว่าการดูดซึมผ่านระบบทางเดินอาหาร นอกจากนี้มีรายงานว่า การให้ยา diazepam มีผลเพิ่ม total arm entries (Pellow *et al.*, 1985) แสดงให้เห็นว่าการให้ยา diazepam ในปริมาณน้อยจะมีผล กระตุ้นพฤติกรรม การสำรวจแต่จะมีผลยับยั้งหรือทำให้เกิดอาการสงบระงับ (sedation) เมื่อให้ใน ปริมาณที่สูงขึ้น (Pellow, 1986) ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าการป้อน diazepam ในการทดลองครั้งนี้ อาจ ทำให้มีระดับยาในกระแสเลือดอยู่ในปริมาณที่ค่อนข้างน้อยจึงส่งผลกระตุ้นพฤติกรรม การสำรวจ อย่างไรก็ตามยา diazepam ไม่มีผลเปลี่ยนแปลง rear per minute เมื่อทดสอบด้วย holeboard (รูป ที่ 7) แสดงให้เห็นความแตกต่างในการแสดงพฤติกรรมชนิดเดียวกันเมื่อทดสอบด้วยเครื่องมือต่าง ชนิดกัน และอาจเป็นไปได้ว่าเป็นผลจากระยะเวลาการออกฤทธิ์ของยา อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณา เปรียบเทียบ rears per minute ของกลุ่มต่าง ๆ จะเห็นได้ว่า rears per minute จากการทดสอบด้วย

holeboard จะมีค่าน้อยกว่า rears per minute ที่ได้จากการทดสอบด้วย elevated plus maze เล็กน้อย ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่า เวลาที่ใช้ในการทดสอบด้วยเครื่องมือสองชนิดไม่เท่ากัน ประกอบกับหนูมีพฤติกรรมการสำรวจในช่วงเวลาแรก ๆ มากกว่าเวลาในช่วงท้ายของการทดสอบ ซึ่งบางครั้งจะหยุดนิ่ง จึงทำให้ค่า rears per minute ที่บันทึกจาก holeboard มีค่าต่ำกว่า นอกจากนี้ยังเป็นผลมาจากความแตกต่างของเครื่องมือที่ใช้ในการทดสอบ โดยส่วนใหญ่แล้วหนูจะยกขาหน้าทั้งสองข้างต้านกับผนังในส่วนของแขนปิดซึ่งมีความสูง 10 เซนติเมตรเมื่อเปรียบเทียบกับความสูง 40 เซนติเมตรของ holeboard ดังนั้นลักษณะเครื่องมือที่ค่อนข้างสูงและทึบของ holeboard ทำให้หนูมีโอกาสเผชิญกับสิ่งแวดล้อมหรือสิ่งเร้าภายนอกลดน้อยลงซึ่งอาจมีผลต่อพฤติกรรมการสำรวจ อย่างไรก็ตามกลุ่มที่ได้รับยา diazepam มี rears per minute ลดลงมากกว่ากลุ่มอื่น ๆ ซึ่งยังไม่สามารถอธิบายได้

นอกเหนือจากยาในกลุ่ม benzodiazepines ที่ออกฤทธิ์กระตุ้นการทำงานของระบบประสาท GABAergic แล้ว ยาที่ออกฤทธิ์ต่อการทำงานของระบบประสาท 5-HT ก็มีส่วนเกี่ยวข้องกับการเพิ่มความเครียดหรือการลดความเครียด (Chopin and Briley, 1987 ; Griebel *et al.*, 1997) ในการศึกษาครั้งนี้ ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบผลของบาราคอลกับยา fluoxetine ซึ่งเป็นยาที่ใช้ได้ผลดีในการรักษาโรคซึมเศร้าที่พบร่วมกับอาการเครียด รวมทั้ง panic disorders และ obsessive-compulsive disorders โดยเชื่อว่า fluoxetine ออกฤทธิ์ยับยั้งการดูดกลับ 5-HT ที่บริเวณปลายประสาทส่วน presynaptic ส่งผลให้การหลั่ง 5-HT จากปลายประสาทลดลงในระยะแรก และเพิ่มการทำงานของระบบประสาท serotonergic ในระยะยาว (Bluer *et al.*, 1988) มีรายงานว่ายา fluoxetine อาจทำให้เกิดความเครียดมากขึ้นเมื่อใช้ในระยะแรก แต่ให้ผลลดความเครียดในระยะยาวหรืออาจไม่มีผลเปลี่ยนแปลงความเครียด (Chopin and Briley, 1987) การเพิ่มความเครียดที่อาจพบได้ในช่วงแรกของการใช้ยาอันเนื่องมาจากการกระตุ้นตัวรับ 5-HT จากการเพิ่มระดับ 5-HT ที่บริเวณ synaptic cleft (Schneier *et al.*, 1990) ถึงแม้ว่าผลของ fluoxetine ที่มีต่อความเครียดและความสัมพันธ์กับระดับ 5-HT ยังเป็นที่โต้แย้ง อย่างไรก็ตามยา fluoxetine ยังสามารถนำมาใช้ได้ผลดีในการรักษาโรคทางระบบประสาทที่มีสาเหตุมาจากความเครียด รวมทั้งลดอาการเครียดที่พบร่วมกับภาวะซึมเศร้า จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า การป้อน fluoxetine 20 mg/kg มีผลลด % open/total entries โดยไม่เปลี่ยนแปลงพารามิเตอร์อื่น ๆ ที่ได้จากการทดสอบด้วย elevated plus maze แสดงให้เห็นว่า fluoxetine ซึ่งเป็นสารที่ยับยั้งการดูดกลับ 5-HT หรือ serotonin (selective serotonin reuptake blocker) มีฤทธิ์ในการคลายเครียดได้น้อยมากเมื่อเปรียบเทียบกับ diazepam จากการทดสอบด้วย holeboard พบสิ่งที่น่าสนใจคือ fluoxetine มีผลเพิ่มพฤติกรรมเกาะขน (number of groomings) อย่างมาก ซึ่งเป็นข้อบ่งชี้ถึงพฤติกรรมเบี่ยงเบน (displacement) ที่สามารถพบได้เมื่อระบบประสาท 5-HT ถูกกระตุ้น การที่พบว่าพฤติกรรมเกาะขนลดน้อยลงในกลุ่มที่ได้รับบาราคอลในขนาด 100 mg/kg นาน 30 วันนั้น (รูปที่ 6) อาจเป็นไปได้ว่าบาราคอลขนาดสูงมีผลยับยั้งการทำงานของระบบประสาท 5-HT ของสัตว์ทดลองซึ่งแสดงให้เห็นพฤติกรรมในแง่สงบระงับ (sedation) เช่นเดียวกับผลในการลด number of rears per minute (รูปที่ 7) และ number of head-dippings (รูปที่ 8) ในหนูกลุ่มเดียวกัน อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าสารบาราคอล (100 μ M) มี

ผลในการเพิ่มการผลิตสาร 5-HT จากเนื้อเยื่อสมองส่วนฮิปโปแคมปัสในหลอดทดลอง (วัชรวิวรรณ และคณะ, 2543) ซึ่งยืนยันได้ว่าสารบาราคอลมีผลเกี่ยวข้องกับระบบประสาท 5-HT แต่ทั้งนี้ต้องมีการศึกษาต่อไปถึงกลไกการทำงานของบาราคอลผ่านระบบประสาทนี้ก่อนที่จะนำสารบาราคอลไปใช้เพื่อประโยชน์ในการรักษาผู้ป่วยต่อไป

การศึกษาผลของการให้บาราคอลในระยะยาวนี้ได้ทำการศึกษาโดยการป้อนสารสกัดบาราคอลให้กับสัตว์ทดลอง ทั้งนี้เพื่อให้สอดคล้องกับความเป็นจริงที่จะได้รับบาราคอลจากการดูดซึมผ่านระบบทางเดินอาหาร อีกทั้งยังเป็นการป้องกันภาวะแทรกซ้อนที่อาจเกิดขึ้นได้ง่ายจากการฉีดบาราคอลเข้าทางช่องท้องติดต่อกันเป็นเวลานาน อย่างไรก็ตามพบว่ายังขาดข้อมูลเกี่ยวกับผลของการให้บาราคอลทางปากต่อการทำงานของระบบต่าง ๆ ในร่างกาย อย่างไรก็ตามจากการศึกษาครั้งนี้ถึงแม้ว่าการป้อนบาราคอลติดต่อกันจะไม่ให้ผลในการคลายเครียด แต่ให้ผลเปลี่ยนแปลงพฤติกรรม การเคลื่อนไหว และการสำรวจอย่างเด่นชัดเมื่อทดสอบด้วยเครื่องมือ holeboard ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่าบาราคอลสามารถถูกดูดซึมผ่านระบบทางเดินอาหารเข้าสู่ร่างกายได้ และไม่น่าจะมีการสูญเสีย bioactivity ในระหว่างการดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย อย่างไรก็ตามยังไม่เคยมีรายงานการศึกษาเกี่ยวกับเภสัชจลศาสตร์ของสารบาราคอลในร่างกาย ตลอดจนความเข้มข้นของบาราคอลในกระแสเลือดที่ให้ผลในการลดความเครียด ซึ่งจะช่วยในการอธิบายกลไกการออกฤทธิ์ของบาราคอลได้ดียิ่งขึ้น

จากการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการป้อนบาราคอลขนาด 10-100 mg/kg ติดต่อกันเป็นเวลา 30 วันไม่มีผลในการลดความเครียดอย่างเด่นชัดเมื่อเทียบกับผลในการคลายเครียดที่พบในกลุ่มที่ได้รับ diazepam 5 mg/kg และ fluoxetine 20 mg/kg เมื่อทดสอบด้วยเครื่องมือ elevated plus maze อย่างไรก็ตามจากการทดสอบด้วยเครื่องมือ holeboard พบว่าบาราคอลทุกขนาดที่ใช้ในการทดลองมีผลลดพฤติกรรมสำรวจแบบมีทิศทาง (directed exploration) ซึ่งจะได้ชัดที่บาราคอลขนาดต่ำ และมีผลลดพฤติกรรมเคลื่อนไหวที่เมื่อให้บาราคอลในขนาดสูงติดต่อกันเป็นเวลานาน ซึ่งจากผลการทดลองนี้และผลการทดลองที่เคยมีรายงานมาสามารถสรุปได้ว่าสารบาราคอลในขนาดต่ำ (10 mg/kg) โดยการฉีดเข้าทางช่องท้องเพียงครั้งเดียวมีผลในการลดความเครียดได้ แต่กลับมีผลในการสงบระงับ (sedation) เมื่อให้ติดต่อกันเป็นเวลานาน 30 วันโดยการป้อน เช่นเดียวกับผลที่พบในกลุ่มที่ได้รับบาราคอลในขนาดสูง (100 mg/kg) เพียงครั้งเดียวโดยการฉีดหรือต่อเนื่องกัน 30 วันโดยการป้อน กลไกที่เกี่ยวข้องกับผลดังกล่าวยังไม่เป็นที่ทราบและยังคงต้องศึกษากันต่อไป ผลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้จะเป็นประโยชน์ในการพิจารณานำบาราคอลไปใช้เป็นยาในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

- สมบัติ ตริประเสริฐสุข, มงคล หงษ์ศิรินิรชร และ อนุชิต จุฑะพุทธิ (2542) ภาวะตับอักเสบจาก
สมุนไพรร "ซีเหล็ก" บทเรียนเพื่อพัฒนาสมุนไพรรไทย คลินิกนานาสาระ 186 (16) : 385-390
- วัชรวิวรรณ ทองสะอาด และ ฉัตรศรี เดชะปัญญา (2544) ผลของสารบาราคอลต่อการทำงานของตับ
และไตหนูขาว เอกสารประกอบการประชุมเพื่อเผยแพร่ผลงานวิจัย มหาวิทยาลัยศรีนคริน-
ทรวิโรฒ วันที่ 22 พฤษภาคม 2544 ณ อาคารวิจัยและการศึกษาต่อเนื่องสมเด็จพระเทพ
รัตนราชสุดา ฯ หน้า 49-64
- วัชรวิวรรณ ทองสะอาด, สุนันท์ ชัยนะกุล และ Charles A. Marsden (2543) การศึกษาผลของสาร
บาราคอลที่สกัดได้จากใบและดอกซีเหล็กต่อการหลั่งสาร 5-HT จากเนื้อเยื่อสมองส่วนฮิปโป
แคมป์สของหนูขาวในหลอดทดลอง เอกสารประกอบการประชุมวิชาการเรื่อง "งานวิจัย
การแพทย์แผนไทยและทิศทางการวิจัยในอนาคต" ระหว่างวันที่ 27 – 29 มิถุนายน 2543 ณ
ห้องประชุมสวนกีฬา กระทรวงสาธารณสุข หน้า 22.
- Arunlakshana, O. (1949) Pharmacological study of the leaves of *Cassia siamea*. *Siriraj. Hosp. Gaz.*, 1 : 434-444.
- Biggio, G., Concas, A., Corda, M.G., Giorgi, O., Sanna, E. and Serra, M. (1990) GABAergic and dopaminergic transmission in the rat cerebral cortex: effect of stress, anxiolytic and anxiogenic drugs. *Pharmacol. Ther.*, 48 :121-142.
- Blier, P., Chaput, Y. and Montigny, C. (1988) Long-term 5-HT reuptake blockade, but not monoamine oxidase inhibition, decrease the function of terminal 5-HT autoreceptors: an electrophysiological study in the rat brain. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol.* 337 : 246-254.
- Bycroft, B.W., Hassanali - walji, A., Johnson, A.W., and King, T.J. (1970) The structure and synthesis of barakol : a novel dioxaphenylene derivative from *Cassia siamea*. *J. Chem. Soc.*, 12 : 1686-1689.
- Chopin, P. and Briley, M. (1987) Animal models of anxiety : the effect of compounds that modify 5-Ht neurotransmission. *TIPS* 8 : 383-388.
- File, S.E. (1985) What can be learned from the effects of benzodiazepines on exploratory behavior? *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 9 : 45-54.
- File, S.E. and Wardill, A.G. (1975) Validity of head-dippings as a measure of exploration in a modified holeboard. *Psychopharmacology* 44 : 53-59.
- Griebel, G., Rodgers, R.J., Perrault, G. and Sanger, D.J. (1997) Risk assessment behaviour: Evaluation of utility in the study of 5-HT-related drugs in the rat elevated plus-maze test *Pharmacol. Biochem. Behav.* 57 : 817-827.

- Gritsanapan, W., Mekmanee, R. and Chulasiri, M. (1989) Antimicrobial activity and effect on isolated guinea pig ileum of barakol. *J. Pharm. Sci.* 16 : 27-31.
- Handley S.L. and Mithani, S. (1984) Effects of α -adrenoceptor agonists and antagonists in a maze-exploration model of 'fear'-motivated behaviour. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol.* 327 : 1-5.
- Hassanali - Walji, A., King, T.J. and Wallwork, S.C. (1969) Barakol, a novel dioxzphenalene derivative from *Cassia siamea*. *J. Chem, Soc - Chem. Commun.*, 12 : 678.
- Imperato, A., Cabib, S. and Puglisi-Allegra, S. (1993) Repeated stressful experiences differently affect the time-dependent responses of the mesolimbic dopamine system to the stressor. *Brain Res.*, 601 : 333-336.
- Jantarayota, P. (1987) Effects of barakol extracted from leaves of *Cassia siamea* on the rat central nervous system. Thesis submitted for the degree of Master of Science in Pharmacy, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand
- Kaokeaw, K. (1992) Iodination reaction and evaluation of sedative actie of barakol. the main ingredient extracted from the young leaves of *Cassia siamea* Lamk. A thesis submitted for the degree of Master of Science in Biological Chemistry, Srinakharinwirot University, Bangkok, Thailand.
- Lister, R.G. (1991) Ethologically based animal models of anxiety disorders. In *Psychopharmacology of Anxiolytics and Antidepressants*. Ed. File, S.E. pp. 155-185. New York: Pergamon Press, Inc.
- Momose, Y., Chaichantipyuth, C., Leelasangaluk, V. and Tongroach, P. (1996) Effects of barakol on aconitine-induced arrhythmias in heart. In *Proceeding of the Third NRCT-JSPS Joint Seminar on Current Advance in Natural Product Research*. Bangkok, Thailand. 153-156.
- Nutt, D.J. (1990) The pharmacology of human anxiety. *Pharmac. Ther.* 47 : 233-266.
- Nutt, D.J. and Cowen, P.J. (1987) Diazepam alters brain 5-HT function in man : implications for the acute and chronic effects of benzodiazepines. *Psychol. Med.* 17 : 601-607.
- Pellow, S., Chopin, P., Briley, M. and File, S.E. (1985) The validation of open : closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J. Neurosci. Methods* 14 : 149-167.
- Purglisi-Allegra, S., Imperato, A., Angelucci, L. and Cabib, S. (1991) Acute stress induces time-dependent responses in dopamine mesolimbic system. *Brain Res.* 554 : 217-222.

- Schneier, F.F., Liebowitz, M.R., Davies, S.O., Fairbanks, J., Hollander, E., Campeas, R. and Klien, D.F. (1990) Fluoxetine in panic disorder. *J. Clin. Psychopharmacol.* 10 : 119-121.
- Schreiber, R. and Vry, J.D. (1993) 5-HT_{1A} receptor ligands in animal models of anxiety, impulsivity and depression : multiple mechanisms of action? *Prog. Neuro-Psychopharmacol & Biol. Psychiat.* 17 : 87-104.
- Squires, R.F. and Braestrup, C. (1977) Benzodiazepine receptors in rat brain. *Nature* 266 : 732-734.
- Suwan, G., Sudsuang, R., Ghumma - Upakorn, D. and Werawong, C. (1992) Hypertensive effects of barakol extracted from leaves of *Cassia siamea* Lam. in rats and cats. *Thai J. Physiol. Sci.*, 5 : 53-65.
- Thongsaard, W., Deachapunga, C., Pongsakoorn, S. Boyd, E.A., Bennett, C.W. and Marsden, C.A. (1996a) Barakol : a potential anxiolytic extracted from *Cassia siamea*. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 53 : 753-758.
- Thongsaard, W., Chainakul, S., Bennett, G.W. and Marsden, C.A. (2001) Determination of barakol extracted from *Cassia siamea* by HPLC with electrochemical detection. *Journal of Pharmaceutical and Biochemical Analysis* 25 : 853-859.
- Thongsaard, W., Pongsakorn, S., Sudsuang, R., Bennett, G.W. and Marsden, C.A. (1996b) Effect of barakol on extracellular dopamine and its metabolites in rat striatum *in vivo*. In *Proceeding of the 7th International Conference on in vivo Methods*. Santa Cruz de Temtife, Spain, pp. 127-128.
- Thongsaard, W., Pongsakorn, S., Sudsuang, R., Bennett, G.W. and Marsden, C.A. (1997) Barakol, a natural anxiolytic, inhibits striatal dopamine release but not uptake *in vitro*. *Eur. J. Pharmacol.* 319 : 157-164.
- Thongsaard, W. and Ruengmanee-paitoon, S. (1999) The effect of long term administration of *Cassia siamea* in rats. *Thai J. Physiol. Sci.* 12 (1) : P65.
- Tongroach, P., Jantarayota, P., Tantisira, B., Kunluan, P., Tongroach, C. and Chaichantipyuth, C. (1992) Barakol, a neuroactive compound. form *Cassia siamea*. In *Proceeding of the First JSPS - NRCT Joint Seminar in Pharmaceutical Sciences ; Advance in Pesearch on Pharmacologically Active Substances from Natural Sources*, Chiangmai, Thailand, P21.
- Treit, D., Menard, J. and Royan, C. (1993) Anxiogenic stimuli in the elevated plus maze. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 44: 463-469.

- Wall, P.M. and Messier, C. (2001) Methodological and conceptual issues in the use of the elevated plus maze as a psychological measurement instrument of animal anxiety-like behavior. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 25 : 275-286.
- Wright, I.K., Heaton, M., Upton, N. and Marsden, C.A. (1992) Comparison of acute and chronic treatment of various serotonergic agents with those of diazepam and idazoxan in the rat elevated X-maze. *Psychopharmacology* 107 : 405-414.
- Zuardi, A.W. (1990) 5-HT-related drugs and human experimental anxiety. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 14 : 507-510.

