



ผลของเอสโตรเจนต่อเภสัชจลนศาสตร์ของ 1,4-บิวเทนไดออลและกรด
แกมมาไฮดรอกซีบิวทีริกในหนูขาว
**Effect of Estrogen on Pharmacokinetics of 1,4-Butanediol and Gamma-
hydroxybutyric acid in Rats**

รวี อัลนะห์ดี
Rawee Al-Nahdi

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิตสาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Forensic Science
Prince of Songkla University**

2554

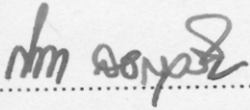
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

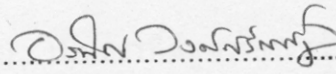
ชื่อวิทยานิพนธ์ ผลของเอสโตรเจนต่อเภสัชจลนศาสตร์ของ 1,4-บิวเทนไดออลและกรด
แกมมาไฮดรอกซีบิวทีริกในหนูขาว

ผู้เขียน นายรวิ อ้วนนะหัตต์
สาขาวิชา นิติวิทยาศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

คณะกรรมการสอบ

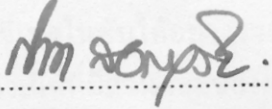


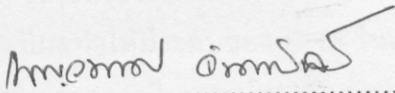


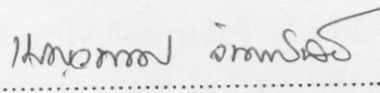
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กิจจา สว่างเจริญ)

ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรพิน วงศ์สวัสดิ์กุล)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

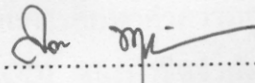

กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กิจจา สว่างเจริญ)





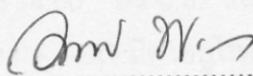
(รองศาสตราจารย์ ดร.เบญจมาศ จันท์จวี)

กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.เบญจมาศ จันท์จวี)



กรรมการ
(ดร.สถาพร พฤทธิพรलय)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัย
เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชา
นิติวิทยาศาสตร์



(ศาสตราจารย์ ดร.อมรรัตน์ พงศ์ดารา)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อวิทยานิพนธ์	ผลของเอสโตรเจนต่อเภสัชจลนศาสตร์ของ 1,4-บิวเทนไดออลและกรดแกมมาไฮดรอกซีบิวทีริกในหนูขาว
ผู้เขียน	นายรวิ อั่นนะห์ดี
สาขาวิชา	นิติวิทยาศาสตร์
ปีการศึกษา	2553

บทคัดย่อ

1,4-Butanediol (1,4-BD) เป็นสารที่มีสูตรโครงสร้างทางเคมีคล้ายกับสาร Gamma-hydroxybutyric acid (GHB) 1,4-BD ถูกนำมาใช้ในงานอุตสาหกรรมเกี่ยวกับทางด้านพอลิเมอร์ โดย 1,4-BD สามารถถูกเผาไหม้โดยการรับประทานและสามารถเปลี่ยนแปลงไปเป็น GHB โดยอาศัยเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสในตับได้อย่างรวดเร็ว ปัจจุบันพบว่าสารประเภทสองและสตรีนิยมรับประทานยาเม็ดคุมกำเนิดที่มีส่วนผสมของฮอร์โมนเอสโตรเจน โดยเอสโตรเจนอาจมีผลทำให้มีการเพิ่มแอกติวิตีของเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสส่งผลทำให้ผู้ที่ได้รับเอสโตรเจนและได้รับสาร 1,4- BD ร่วมด้วยแล้วนั้นมีโอกาสได้รับ GHB ได้เร็วขึ้นและอาจมีผลทำให้มีระดับของ GHB ในเลือดเพิ่มสูงขึ้นทำให้เกิดการเสียชีวิตได้ ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณของสาร 1,4-BD และ GHB ในตัวอย่างเลือดโดยใช้เทคนิค Gas Chromatography – flame ionization detector (GC -FID) และการเตรียมตัวอย่างโดยใช้วิธีการตกตะกอนโปรตีนด้วยเมทานอล จากการศึกษาค่าความถูกต้องของการตรวจวิเคราะห์พบว่าค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (LOD) และค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดในเชิงปริมาณ (LOQ) ของสาร 1,4-BD และ GHB มีค่าเท่ากับ 2.5 และ 6 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ค่าความเที่ยงของการตรวจวิเคราะห์ภายในวันเดียวกันและระหว่างวันมีค่าร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ของ 1,4-BD อยู่ในช่วง 1.11 ถึง 5.47 และ 3.90 ถึง 10.33 % ตามลำดับ และ GHB อยู่ในช่วง 1.47 ถึง 2.65 และ 1.44 ถึง 3.63 % ตามลำดับ ค่าความแม่นยำของการตรวจวิเคราะห์ภายในวันเดียวกันและระหว่างวันของสาร 1,4-BD มีค่าร้อยละของความคลาดเคลื่อน (%DEV) อยู่ในช่วงระหว่าง -5.22 ถึง -12.75 และ -4.45 ถึง 2.50 % ตามลำดับ และ GHB มีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง -4.50 ถึง 0.82 และ -11.33 ถึง -2.88 ตามลำดับ ค่าร้อยละการคืนกลับ (%recovery) ของ 1,4-BD มีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 52.29 ถึง 59.43% และ GHB อยู่ในช่วง 82.85 ถึง 103.67% มีค่าสัมประสิทธิ์ของความเป็นเส้นตรง (r) เท่ากับ 0.9998 และ 0.9993 ตามลำดับ จากการศึกษาพบว่าเทคนิค GC-FID และการเตรียมตัวอย่างโดยใช้วิธีการตกตะกอนโปรตีนด้วยเมทานอลสามารถใช้ในการวิเคราะห์สาร 1,4-BD และ GHB ในตัวอย่างเลือดได้

จากการศึกษาในสัตว์ทดลองที่ได้ทำการศึกษาในหนูขาวใหญ่เพศผู้สายพันธุ์ Wistar โดยแบ่งหนูออกเป็น 3 กลุ่ม (n=5) โดยกลุ่มที่ 1 (1,4-BD) เป็นหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับสาร 1,4-BD ขนาด 150 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม เพียงอย่างเดียว, กลุ่มที่ 2 (1,4-BD+DS10) และกลุ่มที่ 3 (1,4-BD+DS20) เป็นหนูที่ได้รับสาร 1,4-BD ขนาด 150 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ร่วมกับ diethylstilbestrol ขนาด 100 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมเป็นระยะเวลา 10 และ 20 วัน ตามลำดับ โดยวิธีการบริหารยาทางช่องท้อง ในการศึกษาค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของ 1,4-BD และ GHB ได้ทำการวิเคราะห์โดยแบบจำลองทางเภสัชจลนศาสตร์แบบหนึ่งส่วนพบว่า 1,4-BD มีค่าเฉลี่ยของค่าครึ่งชีวิตของการกำจัดยาในหนูกลุ่มที่ 2 และ 3 มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 1 (15.21 ± 1.67 นาที และ 12.62 ± 5.95 นาที กับ 21.08 ± 2.30 นาที; $P < 0.05$) และค่าเฉลี่ยของค่าคงที่ของอัตราการกำจัดยาในหนูกลุ่มที่ 3 มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 1 (0.062 ± 0.02 นาที⁻¹ กับ 0.034 ± 0.0038 นาที⁻¹; $P < 0.05$) และ GHB พบว่าค่าเฉลี่ยของระยะเวลาที่ระดับยาสูงสุดในหนูกลุ่มที่ 2 และ 3 มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (24 ± 8.22 นาที กับ 39 ± 8.22 นาที; $P < 0.05$)

ดังนั้นจากการศึกษาทางเภสัชจลนศาสตร์แสดงให้เห็นว่าฮอร์โมนเอสโตรเจนมีผลทำให้สาร 1,4-BD สามารถถูกเปลี่ยนแปลงไปเป็น GHB ได้เร็วขึ้น โดยอาจส่งผลทำให้ผู้ที่ได้รับเป็นเวลานานติดต่อกันและได้รับสาร 1,4-BD ร่วมด้วยนั้นมีโอกาสทำให้มีระดับของ GHB ในเลือดเพิ่มสูงขึ้นรวมทั้งเอสโตรเจนมีผลทำให้การเปลี่ยนแปลงของ GHB เกิดได้เร็วขึ้นด้วยซึ่งยังไม่ทราบกลไกที่แน่นอนจึงเป็นที่น่าสนใจที่ควรจะนำไปทำการศึกษาต่อไป สำหรับวิธีการตรวจวิเคราะห์ระดับ 1,4-Butanediol และ GHB ในเลือดที่ได้จากการศึกษานี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ระดับของ 1,4-Butanediol และ GHB ในเบื้องต้นเพื่อนำข้อมูลที่ได้จากการศึกษาไปใช้ในงานทางด้านนิติวิทยาศาสตร์ต่อไป

Thesis Title	Effect of Estrogen on Pharmacokinetics of 1,4-Butanediol and Gamma-hydroxybutyric acid in Rats
Author	Mr. Rawee Al -nahdi
Major Program	Forensic Science
Academic Year	2010

Abstract

1,4-Butanediol (1,4-BD) was a substance of chemical formula structure similar to GHB, it commonly used by the industrial of polymers. 1,4-BD can take a drug by eaten and it was converted to GHB by alcohol dehydrogenase in liver rapidly. Currently, the Ladyboys and woman were to take the combined oral contraceptive pill content of estrogen hormone. The estrogen hormone had effect to dare increase alcohol dehydrogenase activity to a person who take estrogen hormone combined with 1,4-BD therefore, the opportunity to receive of GHB was affect to high level in blood and cause of death. This studied were determination of 1,4-BD and GHB in whole blood used by Gas Chromatography – flame ionization detector (GC - FID) technique and samples were prepare by protein precipitation with methanol.

In validation method study, the limits of detection (LOD) and limits of quantification (LOQ) of 1,4-BD and GHB were 2.5 and 6 µg/mL, respectively. The precision of intra-day and inter-day (% RSD) in 1,4-BD were 1.11-5.47 and 3.90 -10.33 and GHB were 1.47-2.65 and 1.44-3.65 %, respectively. The accuracy of intra - day and inter-day (%DEV) in 1,4-BD were -5.22-(-12.75) and -4.45-(-12.50) % and GHB were 4.50-0.82 and -11.33-(-2.88), respectively. The percentage of recovery (% Recovery) in 1,4-BD were 52.29-59.43 % and GHB were 82.85-103.67 %, respectively .The correlation coefficient of linearity (*r*) were 0.9998 and 0.9993 respectively. In this study was found the GC-FID and technique and prepare samples by protein precipitation with methanol can be use to analysis of 1,4-BD and GHB in whole blood samples.

In animals study, Wistar male rats were divided into 3 groups (n=5) as follow: Group 1 (1,4-BD) was controlled single dose of 1,4-BD (150 µg/ kg), and group 2 (1,4-BD+DS10) and 3 (1,4-BD+DS20) 1,4-BD (150 µg/kg) with diethylstilbestrol (100 µg/kg) the period in 10 and 20 days, respectively, the rats were intraperitoneal (i.p.)

administration. In pharmacokinetic parameters studied analyzed based on one-compartment model. The elimination half-life ($t_{1/2el}$) of 1,4-BD in group 2 and 3 were significantly decreased compared to group 1 (15.21 ± 1.67 min and 12.62 ± 5.95 v.s. 21.08 ± 2.30 min; $P < 0.05$) and the elimination rate constant (k_{el}) in group 3 was significantly increased compared to group 1 (0.062 ± 0.02 min^{-1} and 0.034 ± 0.0038 min^{-1} ; $P < 0.05$) and GHB had the, Time to maximum concentration (T_{max}) in group 2 and 3 were significantly decreased compared to group 1 (24 ± 8.22 min v.s. 39 ± 8.22 min; $P < 0.05$)

In pharmacokinetic study, showed that estrogen hormone had effect to 1,4-BD converted to GHB rapidly. Estrogen hormone had effect to dare increased of alcohol dehydrogenase activity in liver. A person who takes of estrogen hormone in the long period combined with 1,4-BD to dare had high level of GHB in blood, and the mechanism is not clearly it was interested to study. The method analysis the level of 1,4-BD and GHB in whole blood in this study, the data can be applied in forensic science.

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กิจจา สว่างเจริญ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลักและรองศาสตราจารย์ ดร. เบญจมาศ จันทร์ฉวี อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ให้ความกรุณาในการให้คำแนะนำและชี้แนะแนวทางและให้การช่วยเหลือในในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อรพิน วงศ์สวัสดิ์กุล ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และ ดร. สถาพร พงษ์พิพรรลัย กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ให้ข้อเสนอแนะในการแก้ไขวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. เบญจมาศ จันทร์ฉวี หัวหน้าภาควิชาเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ห้องปฏิบัติการและเครื่องมือในการทำวิทยานิพนธ์ตลอดจนอาจารย์และเจ้าหน้าที่ทุกท่าน

ขอขอบพระคุณ คุณผุสดี มุทะหมัด หัวหน้าหน่วยเครื่องมือกลาง คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ตลอดจนเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือและห้องปฏิบัติการ และอำนวยความสะดวกในการทำวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณ คุณมณูญ นวลพลับ รักษาการแทนหัวหน้าหน่วยเรือนเลี้ยงสัตว์ทดลอง มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ตลอดจนเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ในการดำเนินการศึกษาในสัตว์ทดลองในการทำวิทยานิพนธ์

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่สนับสนุนทุนวิจัย ขอขอบคุณอาจารย์และเจ้าหน้าที่หลักสูตรนิติวิทยาศาสตร์ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ประยุกต์ ตลอดจนเพื่อนๆ นักศึกษา ที่ให้ความช่วยเหลือตลอดระยะเวลาของการทำวิทยานิพนธ์

สุดท้ายข้าพเจ้าขอขอบพระคุณพ่อแม่และครอบครัวของข้าพเจ้า ที่คอยห่วงใยและเป็นกำลังใจตลอดมา รวมทั้งได้สนับสนุนทุนทรัพย์ในระหว่างการศึกษา คุณความดีแห่งวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ขอมอบแต่ผู้มีพระคุณทุกท่านที่ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

รวี อัลนะห์ดี

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(3)
Abstract	(5)
กิตติกรรมประกาศ	(7)
สารบัญ	(8)
สารบัญตาราง	(10)
สารบัญรูปภาพ	(11)
สารบัญคำย่อ	(13)
บทที่	
1. บทนำ	
1.1 ที่มาและความสำคัญ	1
1.2 บทตรวจเอกสาร	
1.2.1 Gamma-hydroxybutyric acid	5
1.2.2 1,4-Butanediol (1,4-BD)	11
1.2.3 การตรวจวิเคราะห์สาร GHB และ analogues	14
1.2.4 เอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส	18
1.2.5 การเหนี่ยวนำเอนไซม์	19
1.2.6 ฮอร์โมนเอสโตรเจน	20
1.2.7 แก๊สโครมาโทกราฟี	22
1.2.8 ตัวตรวจวัดแบบเฟลมไอออไนเซชัน	27
1.2.9 การเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีการตกตะกอนโปรตีน	28
1.3 วัตถุประสงค์	29
2. วิธีการวิจัย	
2.1 สารเคมี	30
2.2 เครื่องมือและอุปกรณ์	30

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.3 วิธีดำเนินการวิจัย	
2.3.1 การเตรียมสารมาตรฐาน	31
2.3.2 การเตรียมตัวอย่างเลือดครบส่วน	31
2.3.3 การเตรียมสภาวะเครื่อง GC-FID	32
2.4 การศึกษาวิเคราะห์โครมาโทแกรม	32
2.5 การศึกษาความถูกต้องของวิธีการวิเคราะห์	32
2.6 การศึกษาในสัตว์ทดลอง	34
2.7 การศึกษาวิเคราะห์ระดับยาในเลือด	36
2.8 การศึกษาค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์	36
2.9 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ	37
3. ผลและบทวิจารณ์	
3.1 การศึกษาวิเคราะห์โครมาโทแกรม	38
3.2 ค่าความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์	42
3.2.1 ค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดและค่าขีดจำกัดต่ำสุด ของการตรวจวัดในเชิงปริมาณ	42
3.2.2 ค่าความเที่ยง	43
3.2.3 ค่าความแม่นยำ	44
3.2.4 ค่าร้อยละของการคืนกลับ	45
3.2.5 ความเป็นเส้นตรงและช่วง	46
3.3 การศึกษาในสัตว์ทดลอง	48
3.3.1 การศึกษาวิเคราะห์ระดับยาในเลือด	48
3.3.2 การศึกษาทางเภสัชจลนศาสตร์	51
4. สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ	57
เอกสารอ้างอิง	60
ภาคผนวก	69
ประวัติผู้เขียน	126

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
3.1	ค่า LOD และ LOQ ของสาร GHB	42
3.2	ค่า LOD และ LOQ ของสาร 1,4-BD	42
3.3	ค่าความเที่ยงจากการวิเคราะห์สาร GHB	43
3.4	ค่าความเที่ยงจากการวิเคราะห์สาร 1,4-BD	43
3.5	ค่าความแม่นยำจากการวิเคราะห์สาร GHB	44
3.6	ค่าความแม่นยำจากการวิเคราะห์สาร 1,4-BD	44
3.7	ค่าร้อยละของการคืนกลับของสาร GHB	45
3.8	ค่าร้อยละของการคืนกลับของสาร 1,4-BD	45
3.9	ค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของสาร 1,4-BD ในหนูจำนวน 3 กลุ่ม (n=5)	52
3.10	ค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของสาร GHB ในหนูจำนวน 3 กลุ่ม (n=5)	54

สารบัญรูปภาพ

ภาพที่	หน้า
1.1	สูตรโครงสร้างของสาร Gamma-butyrolactone (GBL) 3
1.2	สูตรโครงสร้างของ GHB และ GABA 5
1.3	ลักษณะของสาร GHB 6
1.4	กระบวนการเมแทบอลิซึมของ GHB และ GABA 11
1.5	สูตรโครงสร้างของ 1,4-Butanediol 11
1.6	กระบวนการเมแทบอลิซึมของ 1,4-BD 14
1.7	กระบวนการเมแทบอลิซึมของเอทานอล 18
1.8	สูตรโครงสร้างของเอสโตรเจน 20
1.9	การสังเคราะห์เอสโตรเจน 21
1.10	โครงสร้างของ Diethylstilbestrol 22
1.11	ส่วนประกอบพื้นฐานของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี 23
1.12	ภาพตัดขวางส่วนฉีดสารแบบ Split / Splitless 25
1.13	ลักษณะตัวตรวจวัดแบบเฟลมไอออไนเซชัน 27
2.1	การเก็บตัวอย่างเลือดจากบริเวณหางของหนู 35
3.1	โครมาโทแกรมของ GHB ที่ความเข้มข้น 50 µg/mL และ octanol (IS.) ที่ความเข้มข้น 10 µg/mL ในสารละลายเมทานอล; (A): เมทานอล (blank) (B): GHB และ octanol ในสารละลายเมทานอล 38
3.2	โครมาโทแกรมของสาร GHB ที่ความเข้มข้น 50 µg/mL และ octanol (IS.) ที่ความเข้มข้น 10 µg/mL จากการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีตกตะกอนด้วยเมทานอล (A): whole blood (blank), (B): GHB และ octanol ในตัวอย่าง whole blood 39
3.3	โครมาโทแกรมของสาร 1,4-BD ที่ความเข้มข้น 25 µg/mL และ octanol ที่ความเข้มข้น 10 µg/mL ในสารละลายเมทานอล; (A): whole blood (blank) (B): 1,4-BD และ octanol ในตัวอย่าง whole blood 40
3.4	โครมาโทแกรมของ 1,4-BD ที่ความเข้มข้น 50 µg/mL และ octanol (IS.) ที่ความเข้มข้น 10 µg/mL จากการเตรียมตัวอย่างโดยวิธีตกตะกอนโปรตีน ด้วยเมทานอล; (A): whole blood (blank), (B): 1,4-BD และ octanol ในตัวอย่าง whole blood 41

สารบัญรูปร่างภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
3.5	ความเป็นเส้นตรงและช่วงของสาร GHB ในตัวอย่างเลือด (mean±S.D.) ที่ระดับความเข้มข้น 6, 10, 25, 50, 100, 200 และ 300 µg/mL (n=5)	46
3.6	ความเป็นเส้นตรงและช่วงของสาร 1,4-BD ในตัวอย่างเลือด (mean±S.D.) ที่ระดับความเข้มข้น 6, 10, 25, 50, 150 และ 300 µg/mL (n=5)	47
3.7	โครมาโทแกรมของสาร GHB และ 1,4-BD ในตัวอย่างเลือดของหนูภายหลังที่ได้รับสาร 1,4-BD ขนาด 150 mg/kg โดยวิธีการบริหารยาทางช่องท้อง; (A): ที่เวลา 0 นาที, (B): ที่เวลา 15 นาที (GHB = 69 µg/mL, 1,4-BD = 51.12 µg/mL) (C): ที่เวลา 30 นาที (GHB = 100.67 µg/mL, 1,4-BD = 26.33 µg/mL)	49
3.8	โครมาโทแกรมของสาร GHB และ 1,4-BD ในตัวอย่างเลือดของหนูภายหลังที่ได้รับสาร 1,4-BD ขนาด 150 mg/kg โดยวิธีการบริหารยาทางช่องท้อง; (A): ที่เวลา 45 นาที (GHB = 87.30 µg/mL, 1,4-BD = 14.25 µg/mL), (C): ที่เวลา 60 นาที (GHB = 79.14 µg/mL, 1,4-BD = 8.62 µg/mL), (D): ที่เวลา 90 นาที (GHB = 45.14 µg/mL)	50
3.9	โครมาโทแกรมของ GHB และ 1,4-BD ในตัวอย่างเลือดของหนูภายหลังที่ได้รับสาร 1,4-BD ขนาด 150 mg/kg โดยวิธีการบริหารยาทางช่องท้อง; (A): ที่เวลา 120 นาที (GHB = 15 µg/mL), (B): ที่เวลา 180 นาที	51
3.10	กราฟความสัมพันธ์ของระยะเวลาที่ระดับยาในเลือดของสาร 1,4-BD ของหนูที่ได้รับสาร 1,4-BD ขนาด 150 mg/kg (mean ± S.D.); กลุ่มควบคุมที่ได้รับเพียง 1,4-BD (1,4-BD), กลุ่มที่ได้รับ 1,4-BD ร่วมกับ Diethylstilbestrol ขนาด 100 µg/kg เป็นระยะเวลา 10 วัน (1,4-BD+DS10), กลุ่มที่ได้รับ 1,4-BD ร่วมกับ diethylstilbestrol ขนาด 100 µg/kg เป็นระยะเวลา 20 วัน (1,4-BD+DS20)	54
3.11	กราฟความสัมพันธ์ของระยะเวลาที่ระดับยาในเลือดของสาร GHB ของหนูที่ได้รับสาร 1,4-BD ขนาด 150 mg/kg (mean ± S.D.); กลุ่มควบคุมที่ได้รับเพียง 1,4-BD (1,4-BD), กลุ่มที่ได้รับ 1,4-BD ร่วมกับ diethylstilbestrol ขนาด 100 µg/kg เป็นระยะเวลา 10 วัน (1,4-BD+DS10), กลุ่มที่ได้รับ 1,4-BD ร่วมกับ diethylstilbestrol ขนาด 100 µg/kg เป็นระยะเวลา 20 วัน (1,4-BD+DS20)	55

สารบัญย่อ

C°	องศาเซลเซียส
g	กรัม
kg	กิโลกรัม
L	ลิตร
mg	มิลลิกรัม
min	นาที
mL	มิลลิลิตร
mol	โมล
NAD	Nicotinamide adenine dinucleotide
NADP	nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
ng	นาโนกรัม
pKa	ค่าคงที่ของการแตกตัว
U	ยูนิต
µg	ไมโครกรัม
µL	ไมโครลิตร

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

นิติวิทยาศาสตร์ (Forensic Science) คือ การนำวิทยาศาสตร์ทุกสาขามาประยุกต์ใช้ เพื่อประโยชน์ทางกฎหมาย ประโยชน์แห่งกฎหมายได้แก่ ประโยชน์ทางนิติบัญญัติในเรื่องการออกกฎหมาย และประโยชน์ของการบังคับใช้กฎหมาย (Enforcement) ในเรื่องของบทลงโทษ นอกจากนี้นิติวิทยาศาสตร์ยังเป็นศาสตร์แขนงหนึ่งที่นำกระบวนการทางวิทยาศาสตร์มายืนยันการกระทำผิดของบุคคล โดยการนำวัตถุพยานที่เก็บได้จากสถานที่เกิดเหตุ หรือจากตัวผู้ต้องสงสัยมาทำการตรวจพิสูจน์ เพื่อช่วยให้เจ้าหน้าที่ของรัฐมีแนวทางในการสืบสวนสอบสวน ทำให้สามารถดำเนินการจับกุมตัวผู้กระทำผิดและลงโทษผู้กระทำผิดได้โดยไม่ผิดพลาด อันจะก่อให้เกิดความเป็นธรรมและความน่าเชื่อถือของกระบวนการยุติธรรมในสังคม

นิติพิษวิทยา (Forensic Toxicology) เป็นการเรียนรู้เรื่ององค์ประกอบของสารเคมีที่ก่อให้เกิดอันตรายหรือพิษต่อสิ่งมีชีวิตทั้งหลายเมื่อนำไปประยุกต์ใช้กับงานด้านนิติศาสตร์เพื่อหาสาเหตุการตาย จึงเรียกชื่อว่า “นิติพิษวิทยา” เมื่อมีเหตุอันน่าสงสัยที่เกี่ยวข้องกับการตายของบุคคลซึ่งอาจเชื่อมโยงกับสารพิษจึงต้องมีการเก็บตัวอย่างสารเหลวหรือชิ้นส่วนอวัยวะที่อาจเปื้อนสารพิษไปให้นักพิษวิทยาค้นหาสาเหตุของการเสียชีวิต การใช้จ่ายบางชนิดเกินขนาดมาตรฐานอาจทำให้เกิดการเสียชีวิตได้ไม่ว่าด้วยเจตนาหรือไม่ก็ตามจึงต้องอาศัยความเชี่ยวชาญในการสืบสวนคดีของตำรวจ ดังนั้น การเก็บตัวอย่างสารเหลวหรือเนื้อเยื่อจากศพเพื่อตรวจสารพิษอย่างมีมาตรฐานจึงมีส่วนช่วยในการคลี่คลายคดีได้มากขึ้น

จากกรณีเหตุการณ์เมื่อวันที่ 26 มิถุนายน พ.ศ. 2546 มีรายงานว่าพนักงานโรงแรมสยามเบย์วิว เมืองพัทยา จ.ชลบุรี ได้มีการนำไวน์ปลอมมาดื่มฉลองวันเกิดทำให้มีผู้เสียชีวิต 1 ราย และมีอาการอาเจียนอย่างรุนแรง 8 ราย ต่อมาเจ้าหน้าที่ตำรวจได้นำตัวอย่างไวน์ดังกล่าวให้หน่วยพิษวิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดีทำการตรวจวิเคราะห์ จากผลการตรวจวิเคราะห์พบว่ามีสารพิษหลักซึ่งเป็นตัวทำละลาย 2 ชนิดคือ Gamma-butyrolactone (GBL) ซึ่งเป็นสารที่ใช้ในอุตสาหกรรมล้างสีเป็นน้ำยาชำระล้างทำความสะอาดเครื่องจักร และสาร Tetrahydrofuran (T.H.F.) ซึ่งเป็นสารที่ใช้ในทางอุตสาหกรรมโพลีเมอร์ พีวีซี และใช้ในการเชื่อมท่อต่างๆ แต่ผลการตรวจวิเคราะห์ไม่พบเอซิลแอลกอฮอล์และเมธิลแอลกอฮอล์ (สำนักข่าวกรองยุทธศาสตร์, 2546)

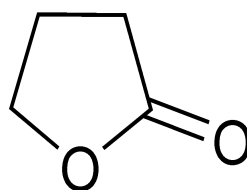
จากการสอบสวนผู้ป่วยทั้งหมดได้ข้อมูลว่าลักษณะของขวดไวน์ปลอมที่เป็นพิษดังกล่าวนี้มีลักษณะเป็นขวดสีเขียวที่อ้างสรรพคุณว่าเป็นไวน์ที่ผลิตจากสมุนไพรโดไม่รู้ล้ม ที่ขวดเขียนว่า CHIANG RAI WINERY "DOH" (*Elephantopus scaber*) Herbal Fermented Liquor ตัวอักษรสีขาว ฉลากสีฟ้า มีรูปม้าวิ่งอยู่ตรงกลาง ระบุชื่อการค้า La santé จากการนำขวดไวน์ดังกล่าวมาทำการตรวจสอบพบว่า เป็นขวดไวน์ที่ทำปลอมขึ้นโดยการอ้างชื่อไวน์ที่ผลิตโดยบริษัทดังกล่าวข้างต้น แต่อย่างไรก็ตามลักษณะฉลากและขวดไวน์ก็ไม่เหมือนกับไวน์ของจริงที่ผลิตโดยบริษัทที่มีการวางจำหน่ายในท้องตลาด (สัมมน, 2546)

Elliot และ Burgess (2005) ได้ทำการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างเครื่องดื่มมากกว่า 50 ตัวอย่างในประเทศอังกฤษเพื่อวิเคราะห์หาสาร Gamma-hydroxybutyric acid (GHB) และ Gamma-butyrolactone (GBL) ที่อาจผสมอยู่ในเครื่องดื่มที่มีชื่อเรียกว่า "spike drink" โดยทำการตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีและตัวตรวจวัดชนิดเฟลมไอออไนซ์ (Gas chromatography - flame ionization detector, GC-FID) และใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปคโตรเมตรี (Gas chromatography - mass spectrometry, GC-MS) ในการตรวจยืนยันผลการวิเคราะห์ จากการตรวจวิเคราะห์พบสาร GHB และ GBL ในตัวอย่างไวน์ขาวและไวน์ที่ผลิตจากองุ่นแดงแต่ไม่สามารถตรวจพบในเครื่องดื่มจำพวกเบียร์, น้ำผลไม้และในสุรา โดยในไวน์ที่ผลิตจากองุ่นขาว (Vermouth) พบ GHB 8.2 mg/L และสามารถตรวจพบ GBL ในไวน์แดง 4.1-21.4 mg/L ในไวน์ขาวพบน้อยกว่า 3-9.6 mg/L

สาร Gamma-butyrolactone (GBL) เป็นสารเสพติดที่นิยมใช้อย่างกว้างขวางในประเทศสหรัฐอเมริกาโดยมีสูตรโครงสร้างใกล้เคียงกับสารอีกตัวคือ Gamma-hydroxybutyric acid หรือ GHB ดังแสดง (ภาพที่ 1.1) โดยในปี ค.ศ. 1999 องค์การอาหารและยาของประเทศสหรัฐอเมริกา (FDA) ได้ออกมาประกาศเตือนถึงอันตรายของสาร GBL โดยห้ามมีการสั่งซื้อและจำหน่ายและในวันที่ 18 เดือน กุมภาพันธ์ ค.ศ. 2000 GBL และ GHB รวมถึงสารที่เป็น analoguse ที่ชื่อ 1,4-Butanediol ได้ถูกองค์การอาหารและยาของประเทศสหรัฐอเมริกาจัดเป็นสารควบคุมประเภทที่ 1 (Couper และ Marinetti, 2002)

สาร Gamma-butyrolactone (GBL) มีชื่อเรียกทางเคมีหลายชื่อ เช่น 2(3)-furanone dihydro, 4-butyrolactone, furanone, tetrahydro-2-furanone, butyric acid lactone, 4-butanolide, 4-deoxytetronic acid, γ -hydroxybutyric acid, cyclic ester และ ยังมีชื่อที่เรียกกันในตลาดมืดอีกมากมายหลายชื่อ เช่น Blue Nitro, Gamma BL, Gamma-6480, Gen X, GH Gold, Verve 5.0, V3 และ Wax Stripper มีสูตรโครงสร้างโมเลกุล คือ $C_4H_6O_2$ และมีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 86.09 g/mol ซึ่งเป็นตัวทำละลายที่ถูกนำมาใช้ในเชิงพาณิชย์และใช้ประโยชน์ในเชิงอุตสาหกรรม เช่น ผลิตภัณฑ์ที่ชื่อว่า "Wax Stripper" สาร GBL มีคุณสมบัติสามารถละลายได้ในไขมัน (lipophilic) หรือเป็นสารประกอบที่ไม่มีขั้ว (non-polar compound) มากกว่าสาร

GHB ดังนั้นจึงสามารถไปขัดขวางเยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) ได้รวดเร็วกว่าสาร GHB โดยที่ GBL สามารถเกิดกระบวนการไฮโดรไลซิส (hydrolysis) และสามารถถูกเปลี่ยนแปลงไปเป็นสาร GHB ภายในร่างกายได้อย่างรวดเร็วโดยที่มีค่าครึ่งชีวิตของยา (half-life) น้อยกว่า 1 นาที (Couper และ Marinetti, 2002)



ภาพที่ 1.1 สูตรโครงสร้างของสาร Gamma-butyrolactone (GBL)

GBL เป็นสารที่สามารถถูกเปลี่ยนแปลงไปเป็น GHB ได้ภายนอกร่างกายอาศัยปฏิกิริยา saponification โดยการเติมสารที่มีฤทธิ์เป็นด่าง ได้แก่ sodium hydroxide หรือ potassium hydroxide ซึ่งกระบวนการนี้เป็นกระบวนการที่นิยมในกลุ่มผู้ลักลอบผลิต GHB เพื่อจำหน่ายสำหรับผู้เสพ GBL เมื่อ GBL เข้าสู่ร่างกายแล้วจะถูกเปลี่ยนแปลงไปเป็น GHB ได้โดยเอนไซม์ lactonase ภายในระยะเวลารวดเร็ว ในทางเภสัชวิทยาพบว่า GBL สามารถถูกดูดซึมได้ดีกว่า GHB ทำให้เวลาที่ออกฤทธิ์เร็วกว่า GHB เนื่องจากสาร GBL มี potency ที่สูงกว่าและมี duration of action ที่ยาวกว่า GHB (Shannon และ Quang, 2000)

GBL เป็นสารที่ถูกนำมาใช้เป็นตัวทำละลายในงานทางด้านอุตสาหกรรมเคมี เช่น ใช้ในการผลิตน้ำยาทำความสะอาดพื้น, สารเคมีกำจัดแมลง, น้ำยาทาเล็บ และกาวพลังช้าง (superglue) เนื่องจากฤทธิ์ที่มีคุณสมบัติเป็นตัวทำละลายที่ดีทำให้ GBL สามารถละลายสาร polymer ได้หลายอย่าง เช่น Polyvinylchloride, Polyethylene เป็นต้น จนเป็นสาเหตุให้ GBL ถูกนำมาใช้เป็นสารประกอบหลักที่เชื่อว่าจะทำให้เกิดกรณีไวน์มรณะดังกล่าวข้างต้น อย่างไรก็ตามแม้ว่าจะยังไม่มีรายงานเกี่ยวกับการใช้สารเสพติดในกลุ่มนี้อย่างเป็นทางการในประเทศไทย นอกเหนือจากกรณีไวน์มรณะดังกล่าวแล้วเชื่อว่ากลุ่มประชากรวัยรุ่นในประเทศไทยมีความเสี่ยงสูงที่จะเสพยาเสพติดในกลุ่มนี้เพราะเนื่องจากในปัจจุบันพบว่าการเสพยาอี (Ecstasy หรือ 3,4-methylenedioxy methamphetamine; MDMA) และยาเค (Ketamine) ซึ่งเป็นสารที่มีพฤติกรรมการเสพควบคู่กับสาร GHB (สัมมน, 2546)

สาร 1,4-Butanediol (1,4-BD) เป็นสารที่นิยมนำมาเสพโดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อองค์การอาหารและยาของประเทศสหรัฐอเมริกา (FDA) ออกประกาศเตือนไม่ให้มีการจำหน่ายและเสพ GHB และ GBL เนื่องจาก GBL และ 1,4-BD เป็นสารที่สามารถถูกเปลี่ยนแปลงไปเป็น GHB ได้ โดยที่ 1,4-BD สามารถถูกเสพโดยวิธีการรับประทานและสามารถถูกเปลี่ยนเป็นสาร GHB โดยเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส (alcohol dehydrogenase; ADH) ที่ตับ โดยสามารถเกิดเปลี่ยนแปลงได้อย่างรวดเร็ว (Shannon และ Quang, 2000)

ยาเม็ดคุมกำเนิดเป็นวิธีการคุมกำเนิดชั่วคราวที่เริ่มใช้ครั้งแรกในการวางแผนครอบครัวในปี ค.ศ.1960 ที่ประเทศเปอร์โตริโกจากนั้นก็แพร่หลายในอเมริกาและประเทศต่างๆ ทั่วโลก สำหรับในประเทศไทยเริ่มใช้ในปี พ.ศ.2507 และจากการสำรวจขององค์การอนามัยกระทรวงสาธารณสุขในปี พ.ศ. 2539 พบว่าสตรีไทยนิยมใช้ยาเม็ดคุมกำเนิดมากที่สุดในการวางแผนครอบครัว (สุนนา, 2541)

ยาคุมกำเนิดชนิดฮอร์โมนรวม (Combined oral contraceptive) ประกอบด้วยฮอร์โมน 2 ชนิด คือ เอสโตรเจน (Estrogen) และโปรเจสเตอโรน (Progesterone) โดยในส่วนของเอสโตรเจนที่เป็นฮอร์โมนเอสโตรเจนสังเคราะห์ที่นิยมใช้มีอยู่ 2 ชนิด คือ Ethinyl estradiol (EE) และ Mestranol (ME) (มาลียา, 2544)

ในปัจจุบันพบว่าสาวประเภทสองนิยมรับประทานยาเม็ดคุมกำเนิดเนื่องจากสามารถหาซื้อได้ง่ายซึ่งผลของการรับประทานยาคุมกำเนิดที่มีส่วนผสมของฮอร์โมนเอสโตรเจน (Estrogen) และโปรเจสเตอโรน (Progesterone) ที่มีฤทธิ์ในการต้านฮอร์โมนเพศชายโดยผลของฮอร์โมนเอสโตรเจนจะทำให้มีลักษณะของความเป็นหญิงมากขึ้น เช่น มีเต้านมที่โตขึ้น, ผิวพรรณเปล่งปลั่งมีน้ำมีนวล, ไม่มีสิว, ทำให้หน้าใสและมีไขมันมาสะสมที่บริเวณตะโพกหรือตามตัวเพิ่มมากขึ้นและในขณะที่เดียวกันฮอร์โมนเพศหญิงจะทำให้มีกล้ามเนื้อเล็กลงโดยในบางคนอาจทำให้มีเสียงเปลี่ยน (<http://ramaclinic.ra.mahidol.ac.th/healthnews/hnews0063.html>)

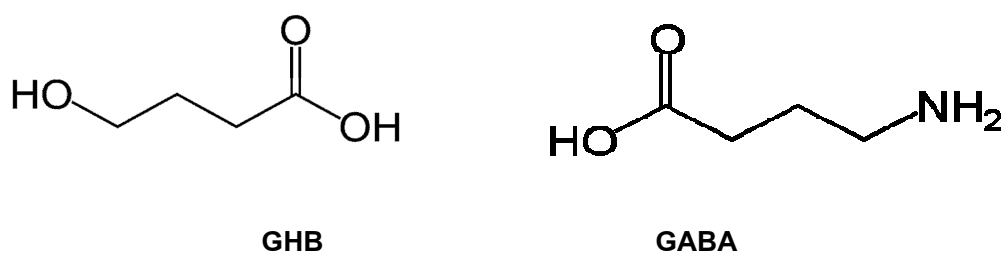
Teschke และ คณะ (1986) ได้ศึกษาผลของฮอร์โมนเพศต่อการเมแทบอลิซึม (metabolism) ของแอลกอฮอล์ในหนูพบว่าฮอร์โมนเพศ คือ estradiol มีผลทำให้แอกติวิตีของเอนไซม์ alcohol dehydrogenase activity ในหนูเพศเมียเพิ่มสูงขึ้น และจากรายงานที่ว่าสาร 1,4-Butanediol สามารถถูกเปลี่ยนไปเป็น GHB โดยผ่านปฏิกิริยาที่ใช้เอนไซม์ alcohol dehydrogenase ดังนั้นการที่ฮอร์โมนเพศมีผลต่อการเพิ่มการทำงานหรือแอกติวิตีของเอนไซม์ alcohol dehydrogenase ได้นั้นจึงอาจมีผลต่อสาวประเภทสองหรือสตรีที่รับประทานยาคุมกำเนิดที่มีส่วนผสมของฮอร์โมนเอสโตรเจนร่วมกับการได้รับสาร 1,4-BD โดยฮอร์โมนเอสโตรเจนอาจมีผลทำให้แอกติวิตีของเอนไซม์ในตับเพิ่มสูงขึ้นซึ่งทำให้ 1,4-BD เกิดกระบวนการเมแทบอลิซึมและถูกเปลี่ยนเป็น GHB ได้เร็วขึ้นหรือทำให้ระดับของ GHB เพิ่มสูงขึ้นและอาจส่งผลทำให้มีการเพิ่มฤทธิ์ในทางเภสัชวิทยาหรือเกิดภาวะที่เป็นพิษจนอาจทำให้เกิดกรณีของการเสียชีวิตได้

ในการศึกษาครั้งนี้จึงเป็นการศึกษาผลของเอสโตรเจนต่อเภสัชจลนศาสตร์ (pharmacokinetic) ของสาร 1,4-BD และ GHB ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้อาจเป็นประโยชน์ในงานทางด้านเภสัชวิทยา (pharmacology) และพิษวิทยา (toxicology) โดยสามารถที่จะนำไปประยุกต์ใช้เป็นพยานหลักฐานสนับสนุนในงานทางด้านนิติวิทยาศาสตร์ได้

1.2 บทตรวจเอกสาร

1.2.1 Gamma-hydroxybutyric acid (GHB)

GHB เป็นสารประกอบที่พบในระบบประสาทส่วนกลางของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม โดยมีสูตรโครงสร้างคล้ายกับสารอีกชนิดหนึ่งที่ชื่อว่า gamma-aminobutyric acid (GABA) ซึ่งเป็นสารสื่อประสาท (neurotransmitter) ดังแสดง (ภาพที่ 1.2) (Vayer และคณะ, 1987)



ภาพที่ 1.2 สูตรโครงสร้างของ GHB และ GABA

GHB เป็นสารประกอบที่สามารถเกิดขึ้นได้เองภายในร่างกายโดยจัดเป็น endogenous compound ที่เกิดจากกระบวนการเมแทบอลิซึม (metabolism) ของสารสื่อประสาท (GABA) โดยสามารถพบในสมองของมนุษย์ (Waszkielewicz และ Bojarski, 2004)

นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าระดับ GHB ในเพศชายและเพศหญิงดูเหมือนว่าจะมีความแตกต่างกันโดย LeBeau และคณะ (2001) ได้ทำการศึกษาตรวจหาระดับ endogenous ของ GHB ในตัวอย่างปัสสาวะเพื่อหาค่าความแตกต่างระหว่างในผู้ชาย 5 คน และในผู้หญิง 3 คน ที่มีการใช้ GHB มากกว่า 1 ครั้งต่อสัปดาห์ เมื่อทำการตรวจวิเคราะห์พบวาระดับความเข้มข้นของ GHB เฉลี่ยต่ำสุดอยู่ที่ระดับ 0.28 mg/L และสูงสุดที่ระดับ 3.02 mg/L โดยในเพศชายพบระดับความเข้มข้นเฉลี่ย 1.07 mg/L ส่วนในเพศหญิงพบระดับความเข้มข้น 0.23 mg/L จากการศึกษาแสดงให้เห็นได้ว่าระดับความเข้มข้นของ endogenous GHB มีความแตกต่างกันระหว่างเพศชายและเพศหญิง

GHB ที่ถูกใช้ในทางการแพทย์สังเคราะห์ขึ้นครั้งแรกในทศวรรษที่ 1960 ต่อมาในปี 1966 ได้ถูกนำมาใช้เป็นยาชักนำให้เกิดการสลบ (intravenous anesthetic induction agent) แต่ด้วยข้อเสียของ GHB ที่ทำให้ผู้ป่วยมีอาการอาเจียนและชักจึงทำให้ความนิยมในการใช้เป็นยาสลบหมดไปในที่สุด แต่เนื่องจาก GHB มีประโยชน์ในทางการแพทย์จึงทำให้มีการนำ GHB มาใช้ในการรักษาผู้ป่วยที่มีอาการง่วงซึม (narcolepsy) และภาวะอาการลงแดงจากสุรา (alcohol withdrawal syndrome) ซึ่งขนาดที่ใช้รักษาอาการคือขนาดประมาณ 50 mg/kg ต่อวัน (Addolorato และคณะ, 1999)

GHB มีลักษณะทางกายภาพเป็นผงสีขาวหรืออาจอยู่ในรูปของเหลวที่ไม่มีสีมักอยู่ในรูปของเกลือ ดังแสดง (ภาพที่ 1.3) จัดเป็นสารประกอบที่มีขั้ว (polar compound) โดยที่สามารถละลายได้ดีในน้ำแต่ละลายได้ไม่ดีในไขมันและสารประกอบอินทรีย์ (organic solvent) มีสูตรโครงสร้างโมเลกุลคือ $C_4H_8O_3$ มีน้ำหนักโมเลกุล 104.10 g/mol และมีค่า pKa เท่ากับ 4.72 เป็นสารที่มีคุณสมบัติเป็นกรดอิสระ (free acid) GHB จัดเป็นสารที่ผิดกฎหมายมีชื่อที่เรียกกันโดยทั่วไปและชื่อที่เรียกในตลาดมืดหลายชื่อ เช่น Anectamine, Easy Lay, G-caps, Gamma-OH, Liquid Ecstasy, Liquid x, Oxy- Sleep, Sleep 500, Salt water, Scoop, Soap, Smart drug, Somsanit และ Vita G. ในปลายปี ค.ศ. 1990 GHB ได้ถูกนำมาวางจำหน่ายภายในร้านผลิตภัณฑ์อาหารเสริมเพื่อสุขภาพ, โรงยิมนาสติกและบนเว็บไซต์ทางอินเทอร์เน็ตและยังถูกจัดแยกไว้ในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมเพื่อลดน้ำหนัก (Couper และ Marinetti, 2002)

Couper และ Logan (2001) รายงานว่าชายวัย 38 ปีถูกตำรวจจับกุมเนื่องจากการขับรถของเขาผิดปกติโดยมีการขับชี่ออกนอกเส้นทางเจ้าหน้าที่ตำรวจจึงทำการเก็บตัวอย่างเลือดภายหลัง 1.5-2.5 ชั่วโมง หลังจากจับกุมสามารถตรวจพบ GHB 44-184 mg/L จากการสอบสวนชายดังกล่าวได้ให้การกับทางเจ้าหน้าที่ว่าเขาได้ติดสาร GHB และ GBL ที่มีชื่อว่า "Renew Trien", Dream On, V35 ที่ซื้อมาจากสถานฟิตเนส (fitness) และเขาได้ให้การกับทางเจ้าหน้าที่อีกว่ามีโรงพยาบาลหลายแห่งที่มีสาร GHB และ GBL ไว้สำหรับให้ผู้ที่ติดสารในกลุ่มนี้แล้วต้องมาพักรักษาตัวที่โรงพยาบาล



ภาพที่ 1.3 ลักษณะของสาร GHB

นอกจากนี้ GHB ถูกจัดไว้อยู่ในกลุ่มสารเสพติดที่ถูกเรียกว่า “club drug” ที่มักนิยมนำมาใช้เสพกันในสถานบันเทิงโดยที่มีการเสพเรียกว่า “Rave” ซึ่งหมายถึง งานเต้นรำที่มีกลุ่มวัยรุ่นจำนวนมากเข้าร่วมโดยการเปิดเพลงที่เล่นด้วยเครื่องดนตรีอิเล็กทรอนิกส์และมีการเต้นร่าอย่างต่อเนื่องโดยในงานเช่นนี้มักจะมีการใช้ยาเสพติดในกลุ่ม กัญชา (marijuana), ยาเค (ketamine), ยาบ้า (methamphetamine), ยาอี (ectacy) ร่วมกับ GHB (Weir, 2000) และ GHB ยังถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มสารเสพติดที่มีพฤติกรรมการใช้ที่เรียกว่า “Drug-facilitated date rape” ซึ่งหมายถึง การใช้ยาหรือสารเคมีที่ทำให้เกิดอาการง่วงซึมหรือลึมเหตุการณ์ที่เกิดขึ้นและหมดความสามารถในการป้องกันตัวเองจากการข่มขืนกระทำชำเราได้ (Schwartz, 2000)

Stephen และ Baselt (1994) รายงานว่ามีชายวัย 42 ปี ถูกพบว่าได้นอนหลับคาพวงมาลัยรถยนต์โดยเขาได้ให้การกับเจ้าหน้าที่ตำรวจว่าเขาได้รับสารที่มีลักษณะเป็นผงสีขาวจากโรงยิมส์แห่งหนึ่งประมาณ 1 ชั่วโมงที่ผ่านมา ภายหลังจากประมาณ 2 ชั่วโมงทางเจ้าหน้าที่ตำรวจจึงได้ทำการเก็บตัวอย่างปัสสาวะไปทำการตรวจวิเคราะห์ พบสาร GHB 1975 mg/L และ 11-nor-9-carboxy-tetrahydrocannabinol ซึ่งเป็นเมแทบอไลต์ของกัญชา 26 ng/mL

Ferrara และ คณะ (1995) รายงานว่าพบกรณีของการเสียชีวิตโดยเป็นชายวัย 42 ปี ผลจากการสืบประวัติพบว่าติดเฮโรอีนและหลายเดือนก่อนมีการใช้สาร GHB ร่วมด้วยผลจากการตรวจวิเคราะห์พบความเข้มข้นของ GHB ในตัวอย่างเลือด 11.5 mg/L, ปัสสาวะ 258.3 mg/L, น้ำดี 57 mg/L, สมอง 40 mg/kg และในตับ 43 mg/L โดยสามารถพบสาร morphine และ 6-monoacetylmorphine ซึ่งเป็นเมแทบอไลต์ของเฮโรอีนด้วย

มีรายงานว่าจากกรณีที่มีเด็กผู้หญิงอายุ 15 ปี ได้ไปร่วมงานสังสรรค์กับกลุ่มเพื่อนๆ โดยเธอได้ดื่มเหล้าที่สงสัยว่าจะมีส่วนผสมของ GHB และ GBL หลังจากนั้นพบว่าเธอมีอาการโคลมาและต่อมาเธอได้เสียชีวิตลงที่โรงพยาบาลก่อนเสียชีวิต 6 ชั่วโมงทางโรงพยาบาลได้เก็บตัวอย่างเลือดและปัสสาวะโดยสามารถตรวจพบ GHB ที่ระดับความเข้มข้น 510 และ 2300 mg/L ตามลำดับ ภายหลังจากเสียชีวิตได้ทำการเก็บตัวอย่างเลือดและปัสสาวะโดยในตัวอย่างเลือดทำการเก็บตัวอย่างเลือดจากบริเวณหัวใจ (heart blood) ซึ่งสามารถตรวจพบความเข้มข้นของ GHB 15 และ 150 mg/L ตามลำดับ ส่วนในรายที่รอดชีวิตเกิดขึ้นภายหลังจากเวลาผ่านไป 14 ชั่วโมงหลังจากที่ได้ดื่มเหล้าซึ่งเชื่อว่าการรอดชีวิตน่าจะมีสาเหตุเนื่องจากระดับความเข้มข้นของ GHB ในเลือดและปัสสาวะลดต่ำลง (Couper และ Marinetti, 2002) มีรายงานถึงความเสี่ยงของการเสียชีวิตที่อาจเพิ่มสูงขึ้นถ้ามีการเสพสาร GHB ร่วมกับสารเสพติดชนิดอื่นที่มีฤทธิ์ทำให้ง่วงซึมร่วมด้วยเช่น แอลกอฮอล์ หรือ benzodiazepine (Timby และคณะ, 2000)

Dyer และคณะ (2001) รายงานว่าการเสพ GHB และ analogues ของ GHB ได้แก่ GBL และ 1,4-BD อย่างต่อเนื่องสามารถทำให้เกิดภาวะติดยา (physical dependence) ได้โดยผู้เสพจะเริ่มมีอาการที่มีความต้องการจะเสพยาในขนาดที่สูงขึ้นและบ่อยครั้งขึ้นและโดย

ถ้าไม่ได้เสพตามความต้องการแล้วจะเกิดภาวะอาการถอนยาขึ้น (Withdrawal symptoms) โดยในผู้ป่วยบางรายที่ติดยาจะต้องการเสพ GHB เฉลี่ยวันละ 144 กรัมโดยต้องใช้ทุกๆ 2 ชั่วโมง

หลังพบว่ามี การเสียชีวิตเนื่องจาก GHB และมีการนำไปใช้ในทางที่ผิดกฎหมาย เพื่อการข่มขืนทางเพศเช่นเดียวกับ Rohypnol จึงได้มีการควบคุมการใช้ในหลายประเทศ สำหรับประเทศสหรัฐอเมริกาในปัจจุบันได้มีการประกาศห้ามการใช้ GHB ไม่ว่าจะกรณีใดเพราะได้ประกาศเป็นสารห้ามใช้ในประเภทที่ 1 ตามกฎหมายควบคุมสาร (The Controlled Substances Act, CSA) ตั้งแต่เดือน มีนาคม ในปี ค.ศ. 2000 สำหรับในประเทศไทยสาร GHB จัดเป็นวัตถุออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาทประเภทที่ 1 ลำดับที่ 20 ตามบัญชีท้ายประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 97 (พ.ศ. 2539) เรื่อง ระบุชื่อ และจัดแบ่งประเภทวัตถุออกฤทธิ์ตามความในพระราชบัญญัติวัตถุออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาท พ.ศ. 2518 เพิ่มเติม โดยประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 118) พ.ศ. 2544 ลงวันที่ 22 พฤศจิกายน พ.ศ. 2544 (<http://www.dmsc.moph.go.th/webroot/secretary/Homepage/news48/February/9.htm>) โดยผู้เสพจะต้องระวางโทษจำคุกตั้งแต่ 1-5 ปี และปรับตั้งแต่ 20,000-100,000 บาท ผู้ผลิตจำหน่าย และนำเข้าหรือส่งออกจะต้องระวางโทษจำคุกตั้งแต่ 5-20 ปีและปรับตั้งแต่ 100,000-400,000 บาท (สำนักงานยุทธศาสตร์, 2547)

- เกสัชวิทยาของ GHB (Pharmacology of GHB)

1) เกสัชพลศาสตร์ (Pharmacodynamics)

กลไกการออกฤทธิ์ของ GHB ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด อย่างไรก็ตามมีรายงานว่ากลไกการออกฤทธิ์ของ GHB จะมีส่วนในการกระตุ้นการทำงานของ GABA_B receptor โดยมี G-protein-coupled presynaptic receptor ที่มีความจำเพาะกับ GABA_B (Snead, 1986)

Mamelak และคณะ (1989) รายงานว่าสาร GHB มีผลทำให้ระดับความดันโลหิตสูงขึ้นและมีผลต่อระบบประสาทพาราซิมพาเทติก (parasympathetic) โดยมีผลในการกระตุ้นการทำงานของระบบประสาทโคลิเนอร์จิก (cholinergic effect) ทำให้มีอาการน้ำลายไหล (salivation) และอาการกลืนอุจจาระและปัสสาวะไม่อยู่

Diana และคณะ (1991) รายงานว่าสาร GHB มีผลต่อการเมแทบอลิซึมของกลูโคสในสมองส่วนซีรีบรัม (cerebral glucose metabolism) และยังมีผลต่อการควบคุมอุณหภูมิ, ระบบการไหลเวียนโลหิตและการนอนหลับ การเพิ่มระดับของ GHB ขึ้นอยู่กับการเปลี่ยนแปลงของสารโดปามีนในระบบประสาท (dopaminergic neurons) ทำให้เกิดกระบวนการสร้างโดปามีน (synaptic dopamine) ในระดับที่สูงขึ้นและส่งผลทำให้ระดับของ GHB เพิ่มขึ้นด้วย

มีหลายรายงานที่ได้กล่าวถึงกลไกการออกฤทธิ์ของ GHB ว่ามีผลต่อระบบประสาทส่วนกลาง (CNS) โดยมี GHB receptor ที่มีความจำเพาะและสามารถออกฤทธิ์ผ่าน GABA_B receptor ทั้งนี้ฤทธิ์ส่วนหนึ่งอาจเกิดขึ้นเนื่องจากการที่ GABA ในสมองสามารถถูกเปลี่ยนไปเป็น GHB ได้ โดยถ้าได้รับ GHB ในขนาดและปริมาณที่มากสามารถเพิ่มการหลั่งของ dopamine ในระดับที่สูงขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่า GHB สามารถลดการหลั่งของ noradrenaline จากสมองส่วนไฮโปทาลามัส (hypothalamus) และสามารถเพิ่มการหลั่ง opiate-like substance จากสมองส่วน striatum (Okun และคณะ, 2001)

Li และคณะ (1998) รายงานว่าความรุนแรงของอาการและการแสดงออกของความเป็นพิษขึ้นกับขนาดของ GHB ที่เสพเข้าสู่ร่างกายโดยสามารถเริ่มมีอาการได้ภายใน 15 นาที ภายหลังจากที่มีการเสพยา จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของ GHB กับอาการทางคลินิกพบว่าการเสพ GHB โดยการรับประทานในขนาด 10 mg/kg โดยมีการเสพทุกวันส่งผลทำให้เกิดภาวะหลงลืมง่าย (amnesia) และ กล้ามเนื้อหดตัว (hypotonia) โดยถ้าหากได้รับ GHB ในขนาด 20-30 mg/kg ทำให้เกิดภาวะอาการง่วงซึม (drowsiness), เคลิ้มสุข (euphoria) , วิงเวียนศีรษะ (vertigo) และถ้าได้รับขนาด 50 mg/kg จะทำให้สมองเกิดการสูญเสียความทรงจำ

Chin และคณะ (1998) รายงานว่าการเสพ GHB ในขนาดเกิน 60 mg/kg ขึ้นไป อาจส่งผลให้เกิดอาการโคม่าและหมดสติได้โดยความรุนแรงของอาการและการแสดงออกของภาวะพิษที่เกิดจาก GHB จะสามารถแสดงอาการได้ภายในระยะเวลา 15 นาที ภายหลังจากมีการเสพยาทั้งนี้ขึ้นอยู่กับขนาดของ GHB ที่เสพด้วยโดยจากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอาการความรุนแรงของภาวะพิษที่เกิดจาก GHB กับระยะเวลาของการหมดสติพบว่าระยะเวลาเฉลี่ยที่ทำให้เกิดการหมดสติคือประมาณ 146-274 นาที

2) เกสัชจลนศาสตร์ (Pharmacokinetics)

- การดูดซึม (absorption)

Lettieri และ Fung (1976) รายงานว่าการได้รับ GHB โดยการรับประทาน สามารถถูกดูดซึมจากกระเพาะอาหารและลำไส้ได้อย่างรวดเร็วโดยสามารถตรวจพบ GHB ในเนื้อเยื่อประมาณ 65% ภายหลังจากร่างกายได้รับยาโดยการรับประทานซึ่งสามารถเปรียบเทียบได้กับการได้รับยาทางหลอดเลือดดำ (IV)

Sprince และคณะ (1966) รายงานว่าโดยทั่วไปผลของ GHB จะมีฤทธิ์เกิดขึ้นภายใน 2-5 ชั่วโมงภายหลังจากได้รับยาหรือกรณีที่ได้รับสารในปริมาณที่มากเกินไป (over dose) จะมีการออกฤทธิ์ยาวนาน 3-6 ชั่วโมงทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปริมาณที่ได้รับยาดด้วย

Brenneisen และคณะ (2004) ได้ศึกษาหาค่าทางเภสัชจลนศาสตร์ของ GHB ในอาสาสมัครจำนวน 8 คนที่ได้รับ GHB ปริมาณที่เกินขนาดคือ 25 mg/kg โดยการรับประทาน พบว่าระดับความเข้มข้นของ GHB ในเลือดมีค่า $39.4 \pm 25.2 \mu\text{g/L}$ และสามารถพบระดับยาสูงสุดในเลือด (peak plasma concentration) เกิดขึ้นได้ภายในระยะเวลา 20-45 นาที

- การแพร่กระจาย (distribution)

Shumate และ Snead (1979) รายงานว่าการแพร่กระจายของ GHB ใน cerebrospinal fluid (CSF) จะเกิดได้ช้ากว่าในเลือดหรือในสมองจากการศึกษาในสุนัขโดยให้ GHB ขนาด 500 mg/kg ทางหลอดเลือดดำพบว่าระดับยาในเลือดจะพบสูงสุดภายในระยะเวลา 5 นาที หลังจากได้รับยา และในสมองจะพบระดับยาสูงสุดใน 10 นาที แต่ใน CSF จะพบระดับของ GHB สูงสุดเกิดขึ้นภายในระยะเวลา 170 นาที ซึ่งจากการศึกษาแสดงให้เห็นว่า GHB ไม่มีผลในการกระจายตัวจากซีรัมหรือในสมองไปยัง cerebrospinal fluid (CSF)

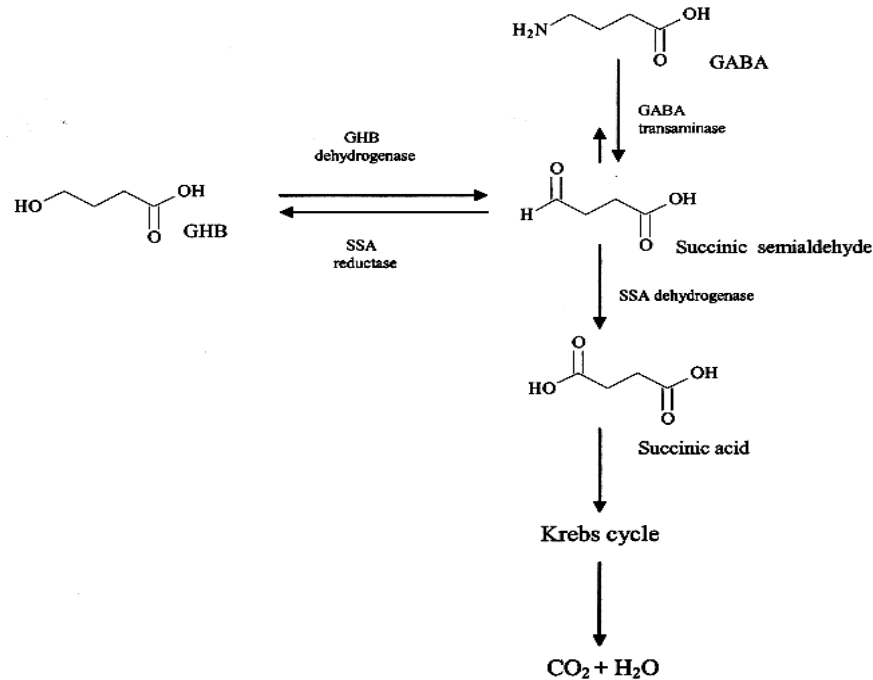
Dyer (1991) รายงานว่า GHB สามารถถูกดูดซึมได้ดีในระบบทางเดินอาหาร โดยสามารถที่จะกระจายตัวผ่านทางระบบไหลเวียนโลหิตสู่เนื้อเยื่อต่างๆ โดยมีค่าปริมาตรของการกระจายตัว (volume of distribution; V_d) 0.4-0.58 L/kg และสามารถถูกดูดซึมผ่าน blood-brain barrier ได้ดีโดยเริ่มออกฤทธิ์ภายในระยะเวลา 15 นาที

- กระบวนการเมแทบอลิซึม (metabolism)

กระบวนการเมแทบอลิซึมของ GHB เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) ที่ตับเปลี่ยนไปเป็น succinic semialdehyde โดยอาศัยโคแฟกเตอร์ NADP^+ ไปจับกับเอนไซม์ "GHB dehydrogenase" จากนั้น GHB จะถูกเปลี่ยนแปลงไปเป็น succinic semialdehyde และ succinic acid จากนั้นก็จะเข้าสู่วัฏจักรเครบส์ (Krebs cycle) และถูกเปลี่ยนแปลงต่อไปเป็น CO_2 และ H_2O และสำหรับ endogenous ของ GHB เกิดขึ้นจากการผ่านกระบวนการเมแทบอลิซึมของ GABA โดยที่ GABA จะถูกเปลี่ยนต่อไปเป็น Succinic semialdehyde และถูกเปลี่ยนต่อไปเป็น GHB ดังแสดง (ภาพที่ 1.4) (Couper และ Marinetti, 2002)

- การกำจัดยา (elimination)

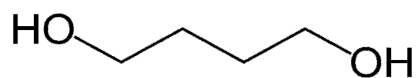
Brenneisen และคณะ (2004) ได้ทำการศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของ GHB ในอาสาสมัครจำนวน 8 คนที่ได้รับ GHB ขนาด 25 mg/kg พบว่า GHB มีค่าครึ่งชีวิตในการกำจัดยา (elimination half-life) ที่เวลา 30.4 ± 2.45 นาที โดยมีอัตราการชำระยา (total clearance) $1228 \pm 233 \mu\text{L/min}$



ภาพที่ 1.4 กระบวนการเมแทบอลิซึมของ GHB และ GABA

1.2.2 1,4-Butanediol (1,4-BD)

1,4-Butanediol เป็นสารอีกชนิดหนึ่งที่มีสูตรโครงสร้างคล้ายกับ GHB ดังแสดง (ภาพที่ 1.5) โดยทั่วไปเกิดขึ้นจาก aliphatic alcohol เป็นสารไม่มีสี โดยมีสูตรโครงสร้างทางเคมีคือ C₄H₁₀O₂ มีน้ำหนักโมเลกุล 90.12 g/mol มีชื่อเรียกทางเคมีเช่น Butanediol, butane-1,4-diol, 1,4-butylene glycol, 1,4-dihydroxybutane, 1,4-tetramethylene glycol, butylene glycol, tetramethylene 1,4-diol มีชื่อเรียกโดยทั่วไปและในตลาดมีหลายชื่อเช่น Amino Flex, Blue Raine , BVM, Chery/Lemon FX, Drop, FUBAR, Ink Jet Printer Fluid, Inner G, Liquid Gold, NRG3, Thuder Nectar, White Magic Cleaner, X-12 และ Zen (Couper และ Marinetti, 2002)



ภาพที่ 1.5 สูตรโครงสร้างของ 1,4-Butanediol

1,4-BD ได้ถูกนำมาใช้เป็นสารเคมีในงานทางด้านอุตสาหกรรมโดยใช้เป็นตัวทำละลายในกระบวนการผลิตโพลีเมอร์ (polymer) เช่น polyurethane และสามารถละลาย polymer ได้เช่นเดียวกับ GBL โดย 1,4-BD สามารถถูกเปลี่ยนแปลงไปเป็น GHB ได้ โดยผ่านปฏิกิริยาที่ใช้เอนไซม์ alcohol dehydrogenase (ADH) ที่ตับภายในเวลารวดเร็ว (Shannon และ Quang, 2000) โดยในปี 1966 มีรายงานที่ว่าการสลับได้นั้นเชื่อว่าเป็นสารที่เป็น analogues ของ GHB ที่มีชื่อว่า 1,4-Butanediol หรือ (1,4-BD) (Sprince และคณะ, 1966)

Zvosec และคณะ (2001) รายงานว่าพบกรณีการเสียชีวิต 2 ราย จากการเสพสาร 1,4-BD โดยในรายแรกนั้นเป็นเพศหญิง อายุ 42 ปี พบว่าเธอเสียชีวิตภายหลังจากได้รับ 1,4-BD โดยการเสพโดยวิธีรับประทานโดยเธอได้ใช้ 1,4-BD เพื่อแก้อาการนอนไม่หลับโดยขนาดที่ใช้ประมาณ 95-189 mg/kg ภายหลังจากที่เธอเสียชีวิตได้ทำการเก็บตัวอย่างเลือดและปัสสาวะเพื่อทำการตรวจวิเคราะห์จากการตรวจวิเคราะห์พบ 1,4-BD และ GHB ในเลือดที่ความเข้มข้น 220 และ 837 mg/L ตามลำดับ ในปัสสาวะตรวจพบที่ระดับความเข้มข้น 1756 และ 1,161 mg/L ตามลำดับ ในน้ำล้างกระเพาะตรวจพบที่ระดับความเข้มข้น 579 และ 201 mg/L ตามลำดับ ส่วนในรายที่ 2 เป็นเพศชาย อายุ 32 ปี รับประทานยาที่มีการอ้างสรรพคุณว่าสามารถเพิ่มสมรรถภาพทางเพศที่มีชื่อทางการค้าว่า "Thunder Nectar" โดยได้รับประทานไป 20 g โดยมีขนาดของยา 300 mg/kg โดยยาชนิดนี้เป็นยาที่ภรรยาของเขาได้มาจากศูนย์ส่งเสริมการลดน้ำหนักซึ่งที่เขาดับรรจุนผลิตภัณฑ์ดังกล่าวไม่มีฉลากแนะนำถึงวิธีรับประทานและภรรยาของเขาก็ได้รับประทานเช่นเดียวกันโดยรับประทานไปประมาณ 11-14 g ต่อมาเธอหมดสติและภายหลังจากประมาณ 7 ชั่วโมงเธอได้รู้สึกตัวและพบว่าสามีของเธอได้นอนเสียชีวิตพร้อมกับมีอาการอาเจียน ปัสสาวะและอุจจาระเรียราดลักษณะเหมือนกับการกลืนอุจจาระปัสสาวะไม่อยู่ ภายหลังจากเสียชีวิตตรวจพบ GHB ในเลือดที่ระดับ 432 mg/L และในปัสสาวะสามารถตรวจพบระดับความเข้มข้นของ 1,4-BD และ GHB 845 และ 5430 mg/L ตามลำดับ ส่วนในน้ำดีตรวจพบ GHB ที่ระดับ 670 mg/L

- เกสซ์วิทยาของ 1,4-Butanediol (1,4-BD)

ในทางเภสัชวิทยามีรายงานพบว่าการได้รับสาร 1,4-BD จะมีผลต่อกระทบต่อระบบประสาทส่วนกลาง (CNS) โดยมีรายงานการศึกษาในหนูสายพันธุ์ Sprague-Dawley เพศผู้โดยให้ 1,4-BD ขนาด 496 mg/kg พบว่าการตอบสนองของระบบประสาทของหนูลดลงมีอาการคล้ายการนอนหลับหรืออาการสลบหนูมีการสูญเสียการตอบสนองของระบบประสาทที่ชักชวนซึ่งพบว่าอาการคล้ายกับผลของ GHB แต่จากการศึกษาพบว่าอาการนอนหลับของหนูที่ได้รับ 1,4-BD มีระยะเวลายาวนานกว่าหนูที่ได้รับ GHB (Sprince และคณะ, 1966)

Roth และ Giarman (1968) รายงานว่าจากการศึกษาในหนูขาวสายพันธุ์ Sprague-Dawley ที่ได้รับ 1,4-BD ขนาด 520 mg/kg ทำการหาระดับความเข้มข้นของ GHB ในเลือดและสมองพบว่า 1,4-BD มีผลต่อระบบประสาทส่วนกลางโดยเมื่อหนูได้รับ 1,4-BD ทำให้หนูเกิดอาการนอนหลับที่ยาวนานขึ้นและสามารถพบความเข้มข้นของ GHB ในสมองภายในระยะเวลา 15 นาที และพบว่าระดับความเข้มข้นของ GHB เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญโดยพบในเลือดประมาณ 60 นาทีและในสมองประมาณ 90 นาที ภายหลังจากได้รับยา

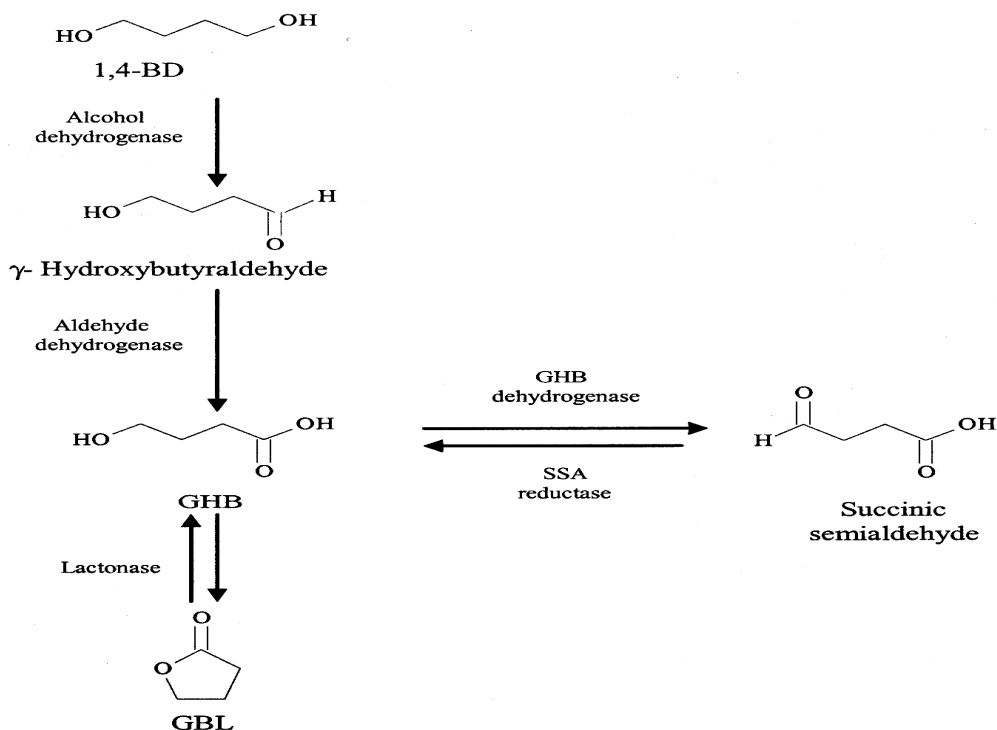
Maxwell และ Roth (1972) ได้ศึกษาหาความสามารถของการเมแทบอลิซึมในเนื้อเยื่อสมอง, ตับ, ไต และหัวใจ ของหนูในการเปลี่ยนแปลงของสาร 1,4-BD ไปเป็น GHB และการแสดงออกของพฤติกรรมของหนูหลังจากได้รับ GHB โดยได้ทำการศึกษาในหนูสายพันธุ์ Sprague-Dawley เพศผู้โดยให้ 1,4-BD ขนาด 520 mg/kg ทางหลอดเลือดดำ จากการศึกษพบว่าหลังจากที่หนูได้รับ 1,4-BD หนูเริ่มมีอาการหยุดนิ่งและนอนหลับภายในระยะเวลา 23 นาที และพบว่าระดับความเข้มข้นสูงสุดของ GHB สามารถเพิ่มขึ้นได้อย่างรวดเร็วในเลือดและสมองภายในระยะเวลาประมาณ 60 นาที แต่กลับพบว่าระดับของ 1,4-BD ในเลือดและสมองกลับลดลงอย่างรวดเร็วภายในระยะเวลาประมาณ 15 นาที

Vree และ คณะ (1978) รายงานว่าระดับความเข้มข้นของ GHB ในเลือดของสุนัข, ลิง และมนุษย์ภายหลังจากให้ 1,4-BD ขนาด 15 และ 30 mg/kg ทางหลอดเลือดดำพบว่า การเปลี่ยนแปลงของ 1,4-BD ไปเป็น GHB สามารถเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็วในทุกสปีชีส์แต่สามารถที่จะเกิดขึ้นได้เร็วที่สุดในมนุษย์

Poldrugo และ คณะ (1984) ได้ทำการศึกษาอันตรกิริยา (interaction) ระหว่าง 1,4-BD กับเอทานอลและความเกี่ยวข้องของกระบวนการเมแทบอลิซึมของการเปลี่ยนแปลงของสาร 1,4-BD ไปเป็น GHB ในหนู จากการศึกษพบว่าเอทานอลมีผลในการเปลี่ยนแปลงของสาร 1,4-BD ไปเป็น GHB โดยที่เอทานอลจะมีส่วนในการที่จะไปยับยั้งการเปลี่ยน 1,4-BD ไปเป็น GHB อย่างไรก็ตามจากการศึกษาพบว่าสาร 1,4-BD สามารถมีผลโดยตรงกับเอทานอลซึ่งเกิดขึ้นเนื่องจากกลไกการแสดงออกของ 1,4-BD ที่คล้ายกับแอลกอฮอล์ด้วยเหตุนี้ 1,4-BD จะมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาด้วยคุณสมบัติคล้ายกับ GHB

สำหรับกระบวนการเมแทบอลิซึมในการเปลี่ยนแปลงของ 1,4-BD ไปเป็น GHB จะมีการเกิดผ่านกระบวนการ 2 ขั้นตอน โดยในขั้นตอนแรกของการที่ 1,4-BD จะถูกเปลี่ยนไปเป็น GHB เกิดจากการที่ 1,4-BD ถูกกระตุ้นด้วยโคแฟกเตอร์ NAD^+ โดยจะเกิดผ่านเอนไซม์ alcohol dehydrogenase (ADH) จากนั้นจะถูกเปลี่ยนแปลงไปเป็น γ -hydroxybutyraldehyde และในกระบวนการของขั้นตอนที่สอง γ -hydroxybutyraldehyde จะถูกเปลี่ยนแปลงต่อไปเป็น GHB ซึ่งในกระบวนการนี้จะเกิดขึ้นโดยอาศัยปฏิกิริยาของเอนไซม์ aldehyde dehydrogenase (ALDH) (Couper และ Marinetti, 2002) ดังแสดง (ภาพที่ 1.6)

Thai และ คณะ (2007) ได้ทำการศึกษาทางด้านเภสัชจลศาสตร์ของ 1,4-BD ในอาสาสมัครจำนวน 8 คนที่ได้รับสาร 1,4-BD ขนาด 25 mg/kg โดยวิธีการรับประทานและได้ทำการเก็บตัวอย่างเลือดภายใน 24 ชั่วโมง พบว่าระดับยาสูงสุดในเลือดของ 1,4-BD สามารถเกิดขึ้นภายในระยะเวลา 24 ± 12 นาที โดยพบว่า GHB มีค่าความเข้มข้นของระดับยาในเลือด 45.6 ± 19.7 mg/L ภายในระยะเวลา 39.4 ± 11.2 นาที และพบว่ามีค่าครึ่งชีวิตของการกำจัดยา (elimination half-life; $t_{1/2\text{el}}$) ที่ระยะเวลา 39.3 ± 11 นาที



ภาพที่ 1.6 กระบวนการเมแทบอลิซึมของ 1,4-Butanediol

1.2.3 การตรวจวิเคราะห์สาร GHB และ analogues

ในการตรวจวิเคราะห์สาร GHB และ analogues เทคนิคการตรวจสอบเบื้องต้นทางพิษวิทยา (toxicology screen) ที่ใช้โดยทั่วไปไม่สามารถที่จะทำการตรวจวิเคราะห์ GHB และ analogues ในตัวอย่างทางชีวภาพ (biological specimen) จำเป็นต้องใช้ต้องใช้เทคนิค Gas chromatography (GC) และ Gas chromatography mass spectrometry (GC-MS) ในการตรวจวิเคราะห์สาร GHB และ analogues (Doherty และคณะ, 1975)

LeBeau และคณะ (2000) ได้ทำการศึกษาตรวจวิเคราะห์สาร GHB และ GBL เนื่องจากพบว่าสารในกลุ่มนี้กำลังถูกนำมาใช้เพิ่มสูงขึ้นในประเทศสหรัฐอเมริกาโดยเฉพาะในคดีการข่มขืนทางเพศจึงได้พัฒนาเทคนิคในการตรวจวิเคราะห์แยกสาร GHB และ GBL ที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของ GHB จากตัวอย่างทางชีวภาพโดยแบ่งตัวอย่างออกเป็น 2 ส่วน ในส่วนแรกมีการเติม sulfuric acid เพื่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ GHB ไปเป็น GBL ส่วนที่สองไม่เติม sulfuric acid ทำการสกัดตัวอย่างโดยวิธี liquid- liquid extraction (LLE) ด้วย Methelene chloride ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-FID โดยนำมาทำการศึกษาร่วมกับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-MS จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-FID พบว่าให้ค่าร้อยละของการคืนกลับของการสกัดอยู่ในช่วง 75% และเมื่อนำมาวิเคราะห์ด้วย GC-MS พบว่าให้ค่าร้อยละของการคืนกลับอยู่ในช่วง 87% จากการศึกษาพบว่าเทคนิคนี้สามารถใช้ในการตรวจวิเคราะห์ GHB และ GBL ในตัวอย่างทางชีวภาพได้อย่างรวดเร็ว

Vriendt และ คณะ (2001) ได้พัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์ GHB ในตัวอย่างเลือดหนูด้วยเทคนิค High-performance liquid chromatography (HPLC) โดยใช้ตัวตรวจวัดชนิด Ultraviolet (UV) detector และใช้ C-18 คอลัมน์ ในการแยกสารและใช้วิธี solid-phase extraction (SPE) ในการเตรียมตัวอย่างโดยใช้ GHB-D₆ เป็น internal standard (IS) และมีการทำอนุพันธ์ด้วย *N,O*-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide (BSTFA) จากผลการตรวจวิเคราะห์พบว่าค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดในเชิงปริมาณ (limit of quantification; LOQ) มีค่าเท่ากับ 10 µg/mL โดยให้ค่าร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) เท่ากับ 10.6% และให้ค่าความแม่นยำของการตรวจวัดมีค่าเท่ากับ 86% จากการศึกษาพบว่าเทคนิค HPLC สามารถให้ผลการวิเคราะห์ที่ดีโดยเมื่อนำผลการวิเคราะห์มาทำการเปรียบเทียบการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-MS พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากการศึกษาพบว่าเทคนิค HPLC สามารถนำมาใช้ในการตรวจวิเคราะห์ GHB ในตัวอย่างเลือดหนูได้

Blanchet และคณะ (2002) ได้ทำการศึกษาวิเคราะห์หาสาร GHB และ 1,4-BD ในตัวอย่างพลาสมาและปัสสาวะด้วยเทคนิค GC-FID โดยใช้ Supelcowax-10 column ในการวิเคราะห์ 1,4-BD และใช้ octanol เป็น internal standard (IS.) โดยนำตัวอย่างปริมาตร 500 µL ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 4,500 รอบ/นาที จากนั้นนำส่วนใสชั้นบน (supernatant) ที่ได้มาทำการวิเคราะห์โดยการฉีดสารตัวอย่างโดยตรงตรวจด้วยเทคนิค GC-FID และ GHB ได้ทำการศึกษาโดยเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีตกตะกอนโปรตีน (protein precipitation) ด้วย ethanol และมีการทำอนุพันธ์ด้วย BF₃-butanol จากผลการศึกษาร่วมกันการตรวจวิเคราะห์สาร GHB และ 1,4-BD พบว่ามีค่า LOQ เท่ากับ 25 mg/L และ 10 mg/L ตามลำดับ และให้ค่าร้อยละการคืนกลับของ 1,4-BD อยู่ในช่วง 92.3±2.5% สำหรับ GHB ไม่ได้ทำการศึกษาเนื่องจากพบว่าสาร GHB สามารถเกิดปฏิกิริยา esterification ได้

Lora-Tamayo และ คณะ (2003) ได้ทำการตรวจวิเคราะห์หาสาร GHB และ 1,4-BD จากชายคนหนึ่งที่ได้เสพสารชนิดหนึ่งที่เรียกว่า “liquid ecstasy” ที่ได้จากสถานบันเทิงแห่งหนึ่งในประเทศอังกฤษโดยทำการเก็บตัวอย่างเลือด, ปัสสาวะและน้ำล้างกระเพาะมาทำการตรวจวิเคราะห์โดยใช้เทคนิค Gas chromatography with nitrogen-phosphorus detection (GC-NPD) และการใช้เทคนิค GC-MS ในการตรวจยืนยันผลการวิเคราะห์โดยใช้ GHB-D₆ เป็น internal standard ทำการสกัดตัวอย่างด้วยกรดซัลฟิวริก (H₂SO₄) นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 2,300 รอบ/นาที เป็นระยะเวลา 3 นาที นำส่วนใสชั้นบน (supernatant) ระบายแห้งด้วยแก๊สไนโตรเจนและมีการทำอนุพันธ์ด้วย BSTFA, 1% TMCS จากผลการวิเคราะห์พบสาร 1,4-BD ในตัวอย่างเลือด, ปัสสาวะและในน้ำล้างกระเพาะที่ระดับความเข้มข้น 82, 401 และ 7.4 µg/mL และสามารถตรวจพบสาร GHB ในตัวอย่างเลือดและปัสสาวะที่ระดับความเข้มข้น 103 และ 430 µg/mL ตามลำดับ

Elliott (2003) ได้ทำการตรวจวิเคราะห์สาร GHB ในตัวอย่างเลือดและปัสสาวะจำนวน 144 ตัวอย่างจากอาสาสมัครเพศชายที่มีอายุอยู่ในช่วง 27 ปี และเพศหญิงที่มีอายุอยู่ในช่วง 22 ปี ซึ่งเป็นกลุ่มที่รับประทานอาหารเสริมเพื่อลดน้ำหนัก โดยทำการวิเคราะห์ตัวอย่างด้วยเทคนิค GC-MS โดยใช้ DB-5 capillary column โดยใช้ GHB-D₆ เป็น internal standard (IS.) และตรวจยืนยันผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-FID โดยใช้คอลัมน์ Phenomenex Zebron FFAP ในการตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-MS และมีการทำอนุพันธ์ด้วย BSTFA 1% TMCS สำหรับการตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-FID ได้ทำการเตรียมตัวอย่างโดยวิธีตกตะกอนโปรตีน (protein precipitation) ด้วยกรดซัลฟิวริก (H₂SO₄) ความเข้มข้น 6 M และทำการสกัดด้วย chloroform โดยไม่มีการทำอนุพันธ์ จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 13,000 รอบ/นาที เป็นระยะเวลา 3 นาที นำส่วนที่อยู่ชั้นล่างมาทำการตรวจวิเคราะห์พบว่าค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (limit of detection; LOD) มีค่าเท่ากับ 2.5 mg/L และจากการวิเคราะห์ไม่พบสาร GHB ในตัวอย่างปัสสาวะจำนวน 119 ตัวอย่าง และในปัสสาวะจำนวน 25 ตัวอย่าง สามารถตรวจพบสาร GHB ที่ระดับความเข้มข้น 3 mg/L ส่วนในตัวอย่างเลือดจำนวน 15 ตัวอย่าง ตรวจไม่พบสาร GHB เนื่องจากมีระดับความเข้มข้นที่ต่ำกว่าค่า LOD จากการศึกษาพบว่าเทคนิค GC-FID และ GC-MS สามารถใช้ในการตรวจวิเคราะห์สาร GHB ในตัวอย่างเลือดและปัสสาวะ

Shima และ คณะ (2005) ได้ทำการตรวจวิเคราะห์สาร GHB จากเลือดของอาสาสมัครและทำการศึกษาวิธีการสกัดตัวอย่างรวมถึงได้ทำการศึกษาถึงระยะเวลาในการเก็บรักษาตัวอย่างเพื่อใช้ในการวิเคราะห์โดยได้ทำการศึกษาดูด้วยเทคนิค GC-MS โดยใช้คอลัมน์ DB-17 ทำการศึกษาวิธีการสกัดตัวอย่างโดยใช้วิธีการสกัด 3 วิธี คือ liquid-liquid extraction (LLE), Solid-phase extraction (SPE) และวิธีการตกตะกอนโปรตีน (protein precipitation)

ด้วย methanol พร้อมทั้งมีการทำอนุพันธ์ด้วย BSTFA 1%TMCS และใช้ 2-Hydroxycaproic acid (HCA) เป็น internal standard (IS.) จากการศึกษพบว่า การสกัดตัวอย่างด้วยวิธี LLE ให้ค่าร้อยละของการคืนกลับเท่ากับ 37%, SPE 57% และวิธีการการตกตะกอนโปตีนให้ค่าร้อยละของการคืนกลับเท่ากับ 63% โดยมีค่า LOQ เท่ากับ 0.03 µg/mL และจากการศึกษาระยะเวลาในการเก็บรักษาตัวอย่างพบว่าที่อุณหภูมิ 4 °C หรือต่ำกว่าสามารถเก็บรักษาตัวอย่างได้อย่างน้อยประมาณ 2 สัปดาห์โดยไม่ทำให้สาร GHB ถูกแปรสภาพได้

Wong และ คณะ (2006) ได้ทำการศึกษาการตรวจวิเคราะห์สาร GHB ในตัวอย่างปัสสาวะของอาสาสมัครที่ได้จากนักเรียนนายร้อยตำรวจและในดับไก้ด้วย GC-MS โดยศึกษาถึงเทคนิคการสกัดตัวอย่างด้วยวิธี Solid-phase extraction (SPE) และ liquid-liquid extraction (LLE) ด้วยกรดไฮโดรคลอริก (HCl) และ ethyl acetate พร้อมทั้งทำอนุพันธ์ด้วย BSTFA จากการศึกษพบว่า การสกัดตัวอย่างด้วยวิธี LLE และวิธี SPE ให้ค่าร้อยละของการคืนกลับ 23.7%, 60.7% ตามลำดับ จากการศึกษพบว่า สกัดตัวอย่างปัสสาวะและดับไก้ด้วยวิธี LLE มีค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 400 และ 500 ng/mL ตามลำดับ ส่วนการสกัดตัวอย่างปัสสาวะด้วยวิธี SPE พบว่ามีค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 100 และ 200 ng/mL ตามลำดับ

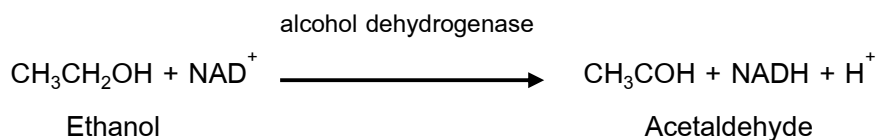
Kaufmann และ Alt (2007) ได้ศึกษาการตรวจวิเคราะห์สาร GHB ในตัวอย่างปัสสาวะและซีรัมด้วยเทคนิค Liquid chromatography-mass spectrometry (LC/MS) โดยใช้ Zorbax™ reversed-phase C-18 column และได้ทำการสกัดตัวอย่างด้วย ethyl acetate ในการศึกษาใช้ GHB-D6 เป็น internal standard โดยไม่มีการทำอนุพันธ์จากการศึกษพบว่า การสกัดตัวอย่างด้วย ethyl acetate ให้ค่าร้อยละของการคืนกลับเท่ากับ 70±4% ในตัวอย่างซีรัม และ 60±3% ในตัวอย่างปัสสาวะ จากการศึกษาพบว่า ค่า LOD และ LOQ จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค LC/MS ในตัวอย่างปัสสาวะมีค่าเท่ากับ 1.3 และ 2.4 µg/mL ตามลำดับ และในซีรัมมีค่าเท่ากับ 0.03 และ 0.6 µg/mL ตามลำดับ

Kankaanpaa และคณะ (2007) ทำการศึกษาวิธีการตรวจวิเคราะห์ GHB, GBL และ 1,4-BD ในตัวอย่างเลือดและปัสสาวะโดยในการศึกษาได้ใช้ตัวอย่างเลือดและปัสสาวะของหนูและทำการตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-FID โดยใช้คอลัมน์ Innomax capillary จากนั้นทำการสกัดตัวอย่างด้วยวิธี liquid-liquid extraction (LLE) ด้วย *t*-butylmethylether (TBME) โดยใช้ Benzyl alcohol เป็น internal standard (IS.) โดยไม่ทำอนุพันธ์ ส่วนในการตรวจวิเคราะห์ GBL ได้ทำการวิเคราะห์โดยใช้เทคนิค GC-MS โดยใช้คอลัมน์ DB5-MS และมีการทำอนุพันธ์ด้วย N-(trimethylsilyl)trifluoroacetamide (MSTFA) จากการศึกษพบว่า ค่า LOQ ในตัวอย่างเลือดและปัสสาวะของ GHB มีค่าเท่ากับ 3 mg/L ส่วน GBL ในตัวอย่างปัสสาวะมีค่า เท่ากับ 1 mg/L และจากการศึกษาพบว่าไม่สามารถตรวจวิเคราะห์ GBL ในตัวอย่างเลือดได้

1.2.4 เอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส (alcohol dehydrogenase; ADH)

เอนไซม์เป็นโปรตีนที่ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาต่างๆ (biocatalyst) ที่เกิดขึ้นในสิ่งมีชีวิตทำให้อัตราเร็วของปฏิกิริยาเพิ่มสูงขึ้นได้ถึง 10^8 - 10^{10} เท่าของปฏิกิริยาเดิมที่ไม่มีเอนไซม์เป็นตัวเร่งในปฏิกิริยาที่มีเอนไซม์เป็นตัวเร่งนั้นโดยสารที่เข้าทำปฏิกิริยากัน (reactant) ที่เรียกว่าสับสเตรต (substrate) ซึ่งโดยส่วนใหญ่แล้วเอนไซม์ชนิดหนึ่งๆจะสามารถเร่งปฏิกิริยาที่มีสับสเตรตชนิดใดชนิดหนึ่งโดยเฉพาะเท่านั้นโดยจะอยู่ในรูปแบบลักษณะที่พับกัน (folding) จนเป็นก้อนของสายโพลีเพปไทด์ (polypeptide chain) มีกรดอะมิโน (amino acid) ทำหน้าที่ในการจับกันของสับสเตรตโคเอนไซม์ (co-enzyme) และโคแฟกเตอร์ (co-factor) ตรงบริเวณของ active site และทำหน้าที่ในการเร่งปฏิกิริยา (พัชรา, 2541)

แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสเป็นเอนไซม์ที่ใช้ปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) โดยถูกพบครั้งแรกในปีค.ศ. 1937 โดย Negelein และ Wulff ใน brewer's yeast (Racker, 1950) เอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสจัดเป็นเอนไซม์ในกลุ่ม E.C.1.1.1.1 ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มี NAD^+ ทำหน้าที่เป็นโคแฟกเตอร์ (co-factor) โดยมีออกซิโดรีดักเทส (oxidoreductase) ทำหน้าที่เป็นโคเอนไซม์ (co-enzyme) และตัวเร่งปฏิกิริยารีดักชัน (reduction) และเมื่อเกิดปฏิกิริยาแล้วจะได้ NADH (Traves และคณะ, 1993) สำหรับในมนุษย์เอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสจะทำหน้าที่ในการเมแทบอลิซึม (metabolite) เอทานอลซึ่งปฏิกิริยานี้เกิดขึ้นที่ตับโดยอาศัยปฏิกิริยาออกซิเดชันในการเปลี่ยนเอทานอลไปเป็นอะเซทัลดีไฮด์ (acetaldehyde) โดยมี NAD^+ ที่ทำหน้าที่เป็นโคแฟกเตอร์ในการเข้าทำปฏิกิริยารีดักชัน (reduction) ได้เป็น NADH (Vidal, 1990) ดังแสดง (ภาพที่ 1.7)



ภาพที่ 1.7 กระบวนการเมแทบอลิซึมของเอทานอล

1.2.5 การเหนี่ยวนำเอนไซม์ (enzyme induction)

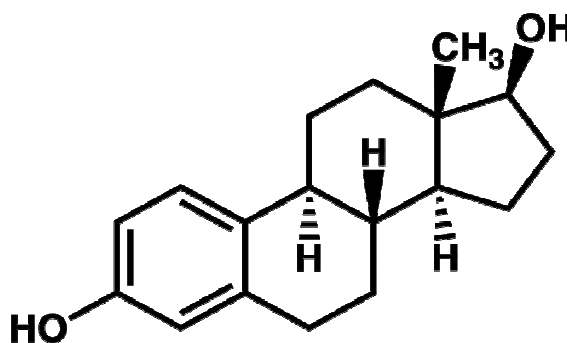
การเหนี่ยวนำเอนไซม์เกิดจากการที่สารชนิดหนึ่งๆ ไปกระตุ้นหรือเพิ่มการทำงานของเอนไซม์ซึ่งผลนี้อาจเกิดเนื่องมาจากการไปเพิ่มปริมาณของเอนไซม์หรือเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของเอนไซม์ทำให้ว่องไวยิ่งขึ้นเมื่อเกิดการเหนี่ยวนำเอนไซม์จะทำให้มีการเปลี่ยนแปลงค่าพารามิเตอร์ทางจลนศาสตร์ของเอนไซม์ (enzyme kinetics) ในทางเภสัชวิทยา นั้นการกำจัดสารออกนอกร่างกายอาศัยอวัยวะที่สำคัญคือ ตับและไตซึ่งโดยปกติแล้ว parent compound มักจะถูกเปลี่ยนให้เป็นเมแทบอไลต์ (metabolite) ที่มีฤทธิ์และพิษน้อยลงและมีความสามารถละลายน้ำได้ดีจึงสามารถที่จะถูกกำจัดออกนอกร่างกายได้ง่ายแต่ในบางกรณี กระบวนการเมแทบอลิซึม (metabolism) กลับเปลี่ยน parent compound ซึ่งมีฤทธิ์น้อยหรือไม่มีฤทธิ์เลย (pro-drug) ให้เป็นสารที่มีฤทธิ์หรือพิษมากขึ้น ปฏิกริยาการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางเคมีและฟิสิกส์ของสารที่เข้าสู่ร่างกายนั้นต้องอาศัย enzyme system เมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลง activity ของเอนไซม์ เช่น ทำงานมากกว่าปกติจะทำให้สารที่เข้าสู่ร่างกายถูกกำจัดออกเร็วขึ้น active drug จะออกฤทธิ์ได้น้อยและมี duration of action ที่สั้นกว่าปกติ ส่วน pro-drug ก็จะถูกเปลี่ยนเป็น active drug ได้มากขึ้นสารที่ถูกเหนี่ยวนำทำให้เกิดพิษโดยอาศัยกระบวนการ metabolic activation ก็จะก่อให้เกิดพิษได้มากขึ้นการที่ผลของการเหนี่ยวนำของ enzyme activity จะเกิดขึ้นได้มากน้อยเพียงใดนั้นขึ้นอยู่กับองค์ประกอบ คือ ขนาดยา, ความถี่ในการให้ยา, ความแตกต่างของสปีชีส์, อายุและฮอร์โมนเพศ (sex hormone) (ศรีจันทร์, 2542)

Harada และคณะ (1998) ได้ทำการศึกษาผลของฮอร์โมนเพศต่อ activity ของเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสในตับหนูโดยได้ทำการศึกษาผลของ sex hormone คือ beta-estradiol, progesterone หรือ testosterone ต่อระดับ activity ของเอนไซม์ชนิดนี้ในตับโดยได้ทำการศึกษาในหนูสายพันธุ์ Sprague-Dawley ที่ได้ผ่านการผ่าตัดทั้งเพศผู้และเพศเมีย (sham-operated) และในหนูเพศผู้ที่มีการตัดอัณฑะออก (orchidectomy) และหนูเพศเมียที่มีการผ่าตัดรังไข่ออก (ovariectomy) ในการศึกษาได้ทำการตรวจระดับ activity ของเอนไซม์ในตับพบว่าระดับ activity ของ ADH ในหนูเพศผู้ที่ตัดอัณฑะสูงกว่าในหนูเพศผู้ที่ได้ผ่านการผ่าตัดและพบว่าหนูเพศผู้ที่ได้ทำการตัดอัณฑะและได้รับ testosterone 5 mg/kg ทุกๆวันเป็นเวลา 7 วัน มีผลทำให้ระดับ activity ของ ADH ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ จากนั้นได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบระหว่างหนูเพศเมียที่มีการผ่าตัดรังไข่ออกกับหนูเพศเมียที่ได้ผ่านการผ่าตัดและในหนูเพศผู้ที่มีการตัดอัณฑะออกและได้รับ beta-estradiol ขนาด 50 µg/kg 2 วันต่อครั้ง เป็นระยะเวลา 20 วัน พบว่าหนูเพศผู้มีระดับ activity ของ ADH มากกว่าหนูเพศเมีย จากผลการศึกษานี้ยืนยันได้ว่าฮอร์โมนเพศชายมีผลในการยับยั้ง activity ส่วนเอสโตรเจนมีส่วนในการเปลี่ยนแปลงระดับ activity ของ ADH ที่เพิ่มสูงขึ้น

Simon และคณะ (2002) ได้ศึกษาการผลของเพศและต่อมใต้สมองส่วนหน้าต่อ แอคติวิตี้ของเอนไซม์ alcohol dehydrogenase (ADH) โดยอ้างจากรายงานที่ว่า ADH activity ในหนูเพศเมียสูงกว่าเพศผู้โดยจึงได้ทำการศึกษาความเป็นไปของ growth hormone และ sex steroid ที่อาจมีผลต่อการแสดงออกของ ADH activity โดยได้ทำการศึกษาในหนูขาวสายพันธุ์ Sprague-Dawley เพศผู้และเพศเมียที่มีการตัดต่อมเพศ (gonadectomize) และต่อมพิทูอิทารี (hypophysectomize) พบว่า growth hormone มีผลต่อการควบคุม activity ของ ADH โดยมีผล ทำให้ activity ของเอนไซม์ในหนูเพศเมียเพิ่มสูงขึ้นและพบว่า sex steroid คือ estradiol มีผล ทำให้ activity ของเอนไซม์ในหนูเพศผู้เพิ่มสูงขึ้นด้วยส่วน testosterone hormone มีผลทำให้ ระดับ activity ของเอนไซม์ในหนูเพศเมียลดลงอย่างมีนัยสำคัญและจากผลการศึกษาายังพบว่า growth hormone มีผลต่อระดับ activity ของเอนไซม์ที่ลดลงในหนูเพศผู้ด้วยเช่นกัน

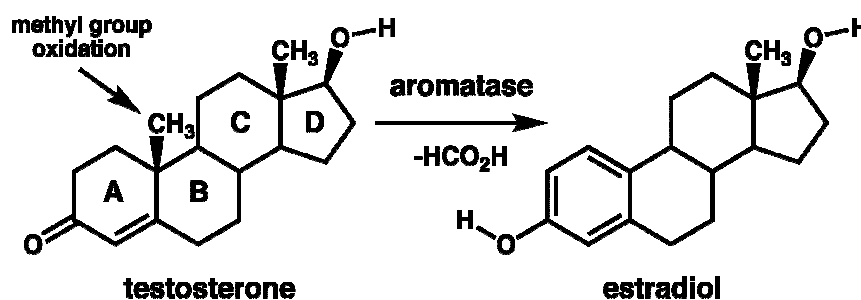
1.2.6 ฮอริโมนเอสโตรเจน (estrogen hormone)

เอสโตรเจนจัดเป็นฮอริโมนชนิดสเตอรอยด์ (steroid hormone) เป็นฮอริโมนที่ สร้างจากรังไข่ (ovary) ของเพศหญิงโดยเมื่อถึงวัยเจริญพันธุ์จะถูกควบคุมด้วยฮอริโมนโกนาโดโทรฟิน (gonadotropins) ที่หลั่งจากต่อมใต้สมองส่วนหน้า คือ Follicle stimulating hormone (FSH) และ Luteinizing hormone (LH) โดยที่ FSH จะไปกระตุ้นการเจริญเติบโตของรังไข่ทำให้รังไข่เจริญเต็มที่เมื่อเซลล์ไข่เจริญเติบโตก็ทำหน้าที่ในการสร้างฮอริโมนเอสโตรเจนส่วน LH มีผลทำให้เซลล์ไข่ทำหน้าที่ผลิตเอสโตรเจนเพิ่มมากยิ่งขึ้นโดยเมื่อ LH ถูกหลั่งออกมาสูงสุด ก็จะทำให้เกิดมีการตกไข่ (ovulation) จากนั้น LH ก็เปลี่ยนเซลล์ไข่ให้กลายเป็นคอร์ปัสลูเทียม (corpus luteum) ทำหน้าที่ในการสร้างเอสโตรเจนและโปรเจสเตอโรนซึ่งในการหลั่งของฮอริโมนโกนาโดโทรฟินจากต่อมใต้สมองส่วนหน้าจะถูกควบคุมจากสมองส่วนไฮโปเทอลามัส (hypothalamus) โดยเอสโตรเจนด้วยเช่นกัน (กนกธร, 2524)



ภาพที่ 1.8 สูตรโครงสร้างของเอสโตรเจน

ฮอร์โมนเอสโตรเจนเป็นฮอร์โมนที่มีคอเลสเตอรอล (cholesterol) เป็นสารตั้งต้นจึงสามารถละลายได้ดีในไขมันผ่านผนังเซลล์เข้าสู่ในเซลล์เป้าหมายซึ่งภายในจะมีรีเซปเตอร์ (receptor) ที่เฉพาะในการจับกับฮอร์โมนนั้นๆทำให้ได้เป็น hormone-receptor complex ซึ่งจะเข้าสู่นิวเคลียสแล้วไปจับกับโปรตีนเฉพาะตัวหนึ่งตรงที่ regulatory site บนสายของโครมาทิน ซึ่งการจับกันนี้มีผลกระตุ้นให้เกิดกระบวนการถอดรหัส (transcription) จาก DNA ไปเป็น mRNA ที่มีความจำเพาะสำหรับการสังเคราะห์โปรตีนใหม่ดังนั้นฮอร์โมนชนิดนี้จึงมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของยีน (gene) ของเซลล์เป้าหมายฮอร์โมนเอสโตรเจนที่พบในธรรมชาติคือ 17- β -estradiol, estrone และ estriol โดยฮอร์โมนดังกล่าวจัดอยู่ใน C₁₈ steroids ซึ่งหลั่งออกมาจาก theca interna และ granulosa cell ของ ovarian follicles, corpus luteum และ placenta ซึ่งสังเคราะห์มาจากแอนโดรเจน (androgen) นอกจากนี้ยังถูกสร้างมาจาก androstenedione ในกระแสเลือดโดยอาศัยปฏิกิริยาของเอนไซม์อะโรมาเทส (aromatase) ทำหน้าที่ในการเปลี่ยน androstenedione ให้เป็น estrone จากนั้นก็จะถูกเมทาบอลิที่ที่ตับและเปลี่ยน testosterone ให้เป็น estradiol (ชูฟงส์, 2540) ดังแสดง (ภาพที่ 1.9)

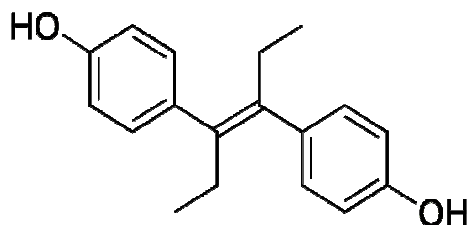


ภาพที่ 1.9 การสังเคราะห์เอสโตรเจน

- Diethylstilbestrol

เป็นฮอร์โมนเอสโตรเจนสังเคราะห์ที่ได้มาจากฮอร์โมนเพศหญิงซึ่งเป็นฮอร์โมนชนิดที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ (nonsteroidal) ดังแสดง (ภาพที่ 1.10) มีลักษณะเป็นผงสีขาวมีน้ำหนักโมเลกุล 268.4 g/mol มีจุดหลอมเหลวที่อุณหภูมิ 169-172 °C สามารถละลายได้ดีใน ethanol, diethyl ether, olive oil, fixed oils, acetone, และ chloroform โดยถูกสังเคราะห์ขึ้นครั้งแรกในปี ค.ศ. 1938 ในประเทศสหรัฐอเมริกาโดยถูกนำไปใช้เป็นยาคุมกำเนิดที่ได้รับความนิยมอย่างมากในช่วงปี ค.ศ. 1940 จนถึง 1971 อย่างไรก็ตามได้มีรายงานมากมายที่พบว่า Diethylstilbestrol สามารถทำให้เกิดมะเร็งในมนุษย์และสัตว์ทดลองได้ ในปี ค.ศ. 1971 องค์การอาหารและยาของ

ประเทศสหรัฐอเมริกา (FDA) ได้สั่งห้ามใช้ Diethylstilbestrol ในหญิงตั้งครรภ์ก่อนได้รับอนุญาตจากแพทย์ (<http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/roc/eleventh/profiles/s071diet.pdf>)



ภาพที่ 1.10 สูตรโครงสร้างของ Diethylstilbestrol

1.2.7 แก๊สโครมาโทกราฟี (Gas Chromatography, GC)

แก๊สโครมาโทกราฟีเป็นเทคนิคการแยกสารทางโครมาโทกราฟีโดยในทุก รูปแบบเกี่ยวข้องกับ distribution หรือ partition ของสารประกอบใดๆ ระหว่างเฟสที่แตกต่างกัน 2 เฟส ซึ่งเป็นเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) และเฟสอยู่กับที่ (stationary phase) ในการแยกสารขึ้นอยู่กับความสามารถในการละลาย (relative solubility) เมื่อสารในของผสมเคลื่อนที่ผ่านเฟสอยู่กับที่ โดยมีเฟสเคลื่อนที่นำไป สารแต่ละตัวจะถูกเหนี่ยวรั้งมากน้อยต่างกัน เนื่องจากความสามารถในการละลายที่แตกต่างกัน สารจึงถูกแยกออกจากกันได้ สารใดมีความสามารถในการละลายใน เฟสอยู่กับที่มากกว่าก็จะใช้เวลามากกว่า ในการเคลื่อนที่ออกมาจากคอลัมน์ (column) นิยมใช้แก๊สเฉื่อยเป็นเฟสเคลื่อนที่ หรือเรียกว่า แก๊สพา (carrier gas) โดยปกติมักจะใช้แก๊สฮีเลียม (He) ไฮโดรเจน (H_2) หรือไนโตรเจน (N_2) เป็นแก๊สพา (มกคล, 2537)

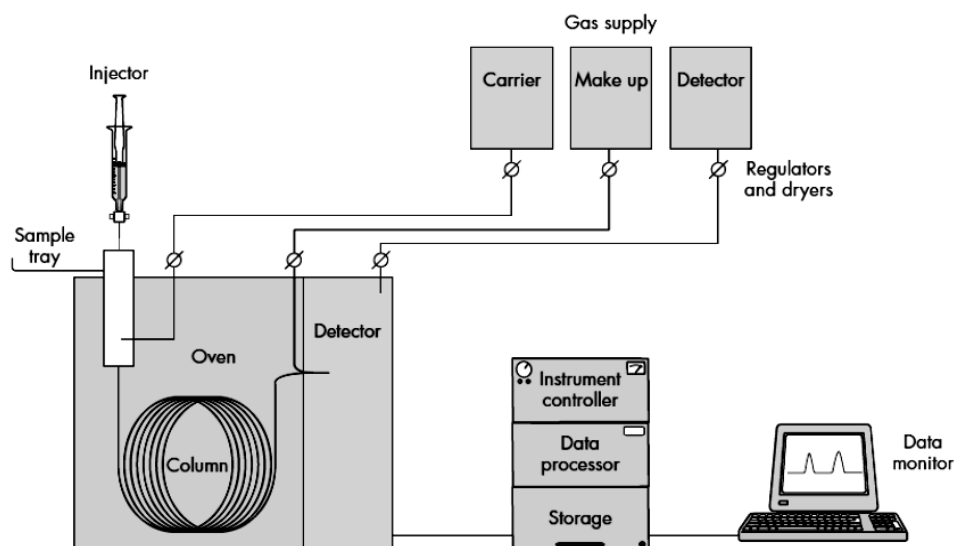
แก๊สโครมาโทกราฟีแบ่งเป็น 2 ประเภท คือ

1) แก๊สโครมาโทกราฟีแบบของแข็ง (Gas-solid chromatography, GSC) โดยโครมาโทกราฟีชนิดนี้จะใช้ของแข็ง เช่น ซิลิกาเจลเป็นเฟสอยู่กับที่ กลไกการแยกสารที่เกิดขึ้นเป็นแบบการดูดซับ ดังนั้นการแยกสารจะดีหรือไม่ขึ้นกับคุณสมบัติการดูดซับของสารที่บรรจุในคอลัมน์ แต่โดยทั่วไปโครมาโทกราฟีชนิดนี้ไม่เป็นที่นิยมมากนัก

2) แก๊สโครมาโทกราฟีแบบของเหลว (Gas-liquid chromatography, GLC) โดยใช้ของเหลวเป็นเฟสอยู่กับที่ จึงต้องทำการเคลือบของเหลวให้เป็นชั้นบางๆ บนของแข็งเฉื่อยที่เรียกว่า solid support กลไกการแยกสารที่เกิดขึ้นเป็นแบบ partition ซึ่งสามารถใช้ได้ในช่วงอุณหภูมิที่กว้างมากและให้ผลการทดลองที่ดีกว่า GSC จึงทำให้ GLC เป็นที่นิยมใช้ในปัจจุบัน

องค์ประกอบของแก๊สโครมาโทกราฟี ดังแสดง (ภาพที่ 1.11) ประกอบด้วย

- 1) แก๊สตัวพา (Carrier gas)
- 2) สารตัวอย่าง (Sample introduction)
- 3) ส่วนฉีดสาร (Injection system)
- 4) คอลัมน์ (Column)
- 5) ตู้อบให้ความร้อน (Oven)
- 6) ตัวตรวจวัด (Detector)
- 7) ส่วนประมวลผลและบันทึกข้อมูล (Data processing and Recorder)



ภาพที่ 1.11 ส่วนประกอบพื้นฐานของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี

1) แก๊สตัวพา (carrier gas)

แก๊สที่ใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่จะต้องเป็นแก๊สเฉื่อย โดยปกติจะใช้แก๊สไนโตรเจน อีเลียม, อาร์กอนหรือคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งการเลือกชนิดของแก๊สจะขึ้นกับชนิดของตัวตรวจวัด เฟสเคลื่อนที่จะถูกนำเข้าสู่เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีผ่านทางตัวควบคุมอัตราการไหลเพื่อรักษาอัตราการไหลให้คงที่ ถ้าอัตราการไหลเปลี่ยนแปลงไปเพียง 1 % จะทำให้ระยะเวลาในการหน่วงเหนี่ยวเปลี่ยนไป 1 % ด้วยเช่นกัน

2) สารตัวอย่าง (sample introduction)

สารตัวอย่างที่จะถูกนำเข้าไปในเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี ได้ 2 สถานะ คือ

- สถานะที่เป็นไอหรือแก๊ส (gaseous samples)
- สถานะที่เป็นของเหลว (liquid sample)

ตัวอย่างที่เป็นของเหลวสามารถนำเข้าไปเครื่อง GC ได้โดยใช้ micro syringe ดูดสารตัวอย่างที่อยู่ในสถานะของเหลวให้ได้ปริมาตรตามที่ต้องการแล้วฉีดผ่าน silicone rubber septum สามารถทำได้ 2 วิธี คือ

(1) การฉีดด้วยมือ (manual) การฉีดแบบนี้ผู้ทดลองต้องมีความชำนาญ จึงจะทำให้การวิเคราะห์มีความเที่ยงตรงสูง ข้อเสียของวิธีนี้คือทำให้สิ้นเปลือง septum เพราะการฉีดในแต่ละครั้งผู้ทดลองไม่สามารถฉีดเข้าที่จุดเดิมได้ ทำให้ septum เกิดการฉีกขาด และแก๊สรั่วได้ง่าย ต้องมีการเปลี่ยน septum บ่อยขึ้น

(2) การฉีดด้วยเครื่อง auto injector จะให้ผลการวิเคราะห์มีความเที่ยงตรงและแม่นยำกว่าการฉีดด้วยมือและสามารถใช้ได้กับปริมาตรของตัวอย่างที่มีจำนวนน้อยกว่า 1 μL

3) ส่วนฉีดสาร (injection system)

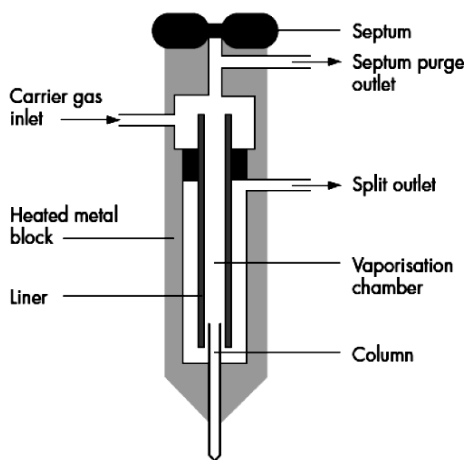
เมื่อสารตัวอย่างเข้าเครื่อง GC ลงสู่บริเวณ Inlet ที่มีความร้อนสูงพอที่จะทำให้สารตัวอย่างกลายเป็นไอแล้วถูกพาเข้าสู่คอลัมน์ด้วยแก๊สตัวพาซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมของ injector ควรจะเป็นอุณหภูมิที่สูงพอที่จะทำให้สารตัวอย่างระเหยได้แต่ต้องไม่ทำให้สารสลายตัว ซึ่งเรียกระบบของการพาว่า sample inlet system ระบบของการพาตัวอย่างเข้าคอลัมน์มีหลายแบบ คือ

(1) Split / Splitless Inlet

- Split injection mode เหมาะกับสารตัวอย่างที่ฉีดเข้าคอลัมน์มีปริมาณมากหรือความเข้มข้นสูง ซึ่งตัวอย่างชนิดนี้อาจทำให้คอลัมน์เกิดการ overload ทำให้การแยกไม่ดีมีพีคซ้อนทับกันและรูปร่างของพีคไม่สมมาตรจึงมีการปรับปรุงการวิเคราะห์ได้โดยการเลือก split mode (ภาพที่ 1.12)

- Splitless injection mode เหมาะกับสารที่ต้องการวิเคราะห์มีปริมาณน้อยๆหรือความเข้มข้นน้อยๆ (trace analysis)

(2) Purged packed inlet เป็นวิธีการฉีดสารตัวอย่างด้วยระบบ purged packed ใช้กับ packed column และสามารถใช้กับ wide - bore capillary column ได้เมื่ออัตราการไหลของแก๊สตัวพามากกว่า 10 mL/min



ภาพที่ 1.12 ภาพตัดขวางส่วนฉีดสารแบบ Split / Splitless

(3) Cool on - column inlet เป็นวิธีการฉีดสารตัวอย่างที่เป็นของเหลวตรงเข้าสู่คาพิลลารีคอลัมน์ ซึ่งวิธีการนี้ส่วนของ inlet และ oven ต้องมีอุณหภูมิต่ำกว่าจุดเดือดของตัวทำละลายเมื่อทำการฉีดสารตัวอย่าง

(4) Programmable Temperature Vaporisation Inlet (PTV) เนื่องจากวิธีการฉีดสารตัวอย่างที่เป็นของเหลวเข้าคอลัมน์โดยตรงพบว่าสารที่ไม่สามารถระเหย (non - volatile) ที่ติดมากับตัวอย่างเข้าไปติดแน่นในคอลัมน์ PTV เป็นวิธีการฉีดสารตัวอย่างที่พัฒนาขึ้นมาเพื่อให้สามารถทำงานได้ในหลาย ๆ mode ซึ่งเมื่อมีการใช้อุณหภูมิคงที่สามารถเลือกกระบวนเป็นแบบ split/splitless ซึ่งถ้ามีการตั้งค่าโปรแกรมอุณหภูมิเริ่มต้นที่ต่ำและใช้กับ wide - bore capillary column จะสามารถเลือกใช้ on - column injection ได้ นอกจากนี้ยังสามารถใช้กับการฉีดสารตัวอย่างที่มีตัวทำละลายมากๆ ซึ่งเรียกว่า Solvent vent mode โดยการใช้การฉีดสารตัวอย่างแบบปริมาตรมาก (large volume injection)

4) คอลัมน์ (column)

คอลัมน์ที่ใช้กันในเครื่อง GC โดยทั่วไป จัดได้เป็น 2 ประเภทคือ แพ็คคอลัมน์ (pack column) และ WCOT (wall-coated open tubular column) หรือ คาพิลลารีคอลัมน์ (capillary column) ทั้งนี้ได้มีการพัฒนาแพ็คคอลัมน์มาก่อนส่วนคาพิลลารีคอลัมน์ได้มีการพัฒนามาตั้งแต่ พ.ศ. 2523

(1) แพ็คคอลัมน์ (pack column) มีประสิทธิภาพและขีดความสามารถในการแยกที่ต่ำกว่าคาพิลลารีคอลัมน์ (capillary column) แต่เป็นคอลัมน์ที่มีความจุมากกว่า ซึ่งทำให้การนำสารเข้าสู่คอลัมน์ง่ายขึ้นและยังมีองค์ประกอบของสารตัวอย่างในปริมาณมากขึ้นสำหรับการนำเข้าสู่ตัวตรวจวัด แพ็คคอลัมน์สำหรับการวิเคราะห์ทั่วไปมีความยาว 2 - 5 เมตร และมี

เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 2 มิลลิเมตร เป็นคอลัมน์ที่ใช้อัตราการไหลของแก๊สตัวพาประมาณ 20 - 50 mL/min สำหรับคอลัมน์ที่ใหญ่กว่านี้สามารถที่จะออกแบบให้เป็นการเฉพาะที่จะใช้งานสำหรับ GC ชนิดที่ใช้เตรียมสาร (preparative - scale GC)

(2) คาพิลลารีคอลัมน์ (capillary column) ทำจาก SiO₂ ที่บริสุทธิ์และแข็งแรง ทนทานเป็นพิเศษ โดยเคลือบฉาบผิวด้านนอกด้วย polyimide polymer ปัจจุบันมีการใช้เทคโนโลยีการผลิตที่มีคุณภาพสูงควบคุมเส้นผ่านศูนย์กลางภายในและความหนาของฟิล์มที่เคลือบได้ซึ่งมีทั้งแบบเฟสที่มีขั้วและไม่มีขั้ว คอลัมน์ที่ผลิตลักษณะนี้มีความยาว 10 - 100 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 0.20 - 0.53 mL และใช้อัตราการไหลของแก๊สพา 2 - 5 mL/min คาพิลลารีคอลัมน์เหมาะกับการวิเคราะห์สารปริมาณน้อยๆ ของสารประกอบอินทรีย์ที่เฉพาะเจาะจงในของผสมที่ซับซ้อน (มงคล, 2537)

5) ตู้อบให้ความร้อน (oven)

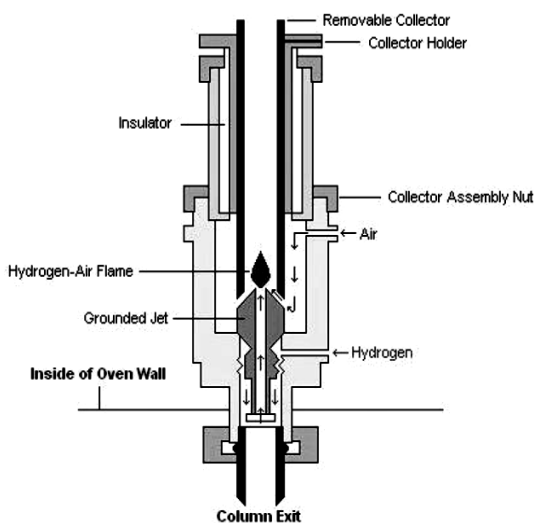
ตู้อบให้ความร้อนเป็นส่วนที่ใช้สำหรับบรรจุคอลัมน์และเป็นส่วนที่ควบคุมอุณหภูมิของคอลัมน์ให้เปลี่ยนไปตามความเหมาะสมกับวิธีการที่ต้องการวิเคราะห์สารผสม การควบคุมอุณหภูมิของตู้อบให้ความร้อนนั้นมี 2 แบบ คือ แบบ Isothermal จะใช้อุณหภูมิเดียวตลอดการวิเคราะห์ และแบบ temperature program จะสามารถเปลี่ยนอุณหภูมิได้ในระหว่างการวิเคราะห์ซึ่งนิยมนำมาใช้กับสารผสมที่มีช่วงของจุดเดือดที่กว้างทำให้ได้โครมาโทแกรม (chromatogram) ที่มีลักษณะของพีคที่ไม่กว้างและช่วยลดระยะเวลาในการตรวจวิเคราะห์

6) ตัวตรวจวัด (detector)

ตัวตรวจวัดเป็นส่วนที่อยู่ต่อจากทางออกของคอลัมน์ทำหน้าที่ในการตรวจวัดองค์ประกอบต่างๆ ของสารตัวอย่าง ในขณะที่สารเคลื่อนที่ผ่านออกมาจากคอลัมน์ โดยที่ตัวตรวจวัดจะต้องไม่ไวต่อแก๊สตัวพา เมื่อตัวตรวจวัดทำการตรวจวัดองค์ประกอบของสารจะทำการบันทึกผลเทียบกับเวลาทำให้ได้โครมาโทแกรม (chromatogram) ตัวตรวจวัดที่ใช้ในปัจจุบัน ได้แก่ เฟลมไอออไนเซชัน (flame ionization detector, FID) ไนโตรเจนฟอสฟอรัส (nitrogen phosphorous detector, NPD) อิเล็กตรอนแคปเจอร์ (electron capture detector, ECD) เทอร์มอลคอนดักทีวิตี (thermal conductivity detector, TCD) เฟลมโฟโต (flame photo detector, FPD) และแมสสเปกโตรเมตรี (mass spectrometry, MS)

1.2.8 ตัวตรวจวัดแบบเปลวไอออไนเซชัน (Flame ionization detector, FID)

ตัวตรวจวัดแบบเปลวไอออไนเซชันเป็นตัวตรวจวัดที่มีมาตรฐานที่ใช้กันอย่างแพร่หลายโดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีเนื่องจากสารโดยเฉพาะสารประกอบอินทรีย์ทุกชนิดสามารถเกิดการไอออไนซ์ (ionize) ได้ในเปลวไฟทำให้เกิดกระแสของไอออนที่สามารถสะสมอยู่ระหว่างขั้วที่มีประจุตรงข้าม 2 ขั้ว ได้ตามปริมาณของไอออน ลักษณะตัวตรวจวัดแบบเปลวไอออไนเซชันดังแสดง (ภาพที่ 1.13)



ภาพที่ 1.13 ลักษณะตัวตรวจวัดแบบเปลวไอออไนเซชัน

ในระบบของ FID ประกอบด้วยแก๊ส 3 ชนิด คือ แก๊สตัวพาพร้อมกับไฮโดรเจนและอากาศโดยแก๊สไฮโดรเจนจะทำหน้าที่เป็นเชื้อเพลิงในการจุดเปลวไฟด้วย heater ซึ่งมีอากาศเป็นตัวช่วยทำให้เกิดการสันดาป (combustion) และช่วยพาให้แก๊สที่เผาไหม้แล้วออกไปโดยอัตราการไหลของแก๊สไฮโดรเจนและอากาศต้องปรับให้เป็นสัดส่วนที่เหมาะสมกับแก๊สตัวพา ถ้าสัดส่วนไม่เหมาะสม การจุดเปลวไฟที่ตัวตรวจวัดจะจุดติดยาก เปลวไฟของแก๊สไฮโดรเจนและอากาศจะถูกจุดที่หัว jet โดยมีตำแหน่งของขั้ว (electrode) วางอยู่เหนือเปลวไฟเพื่อเป็นที่สะสมของไอออนสารตัวอย่าง (analyte ion) แก๊สพาและไอของสารตัวอย่างจะเข้าสู่เปลวไฟแล้วทำให้สารตัวอย่างเกิดการไอออไนซ์ได้อิเล็กตรอนและไอออนบวก (Agilent Technologies, 2006) หลังจากนั้นอิเล็กตรอนจะเคลื่อนที่ไปยัง flame jet ไอออนบวกจะเคลื่อนที่ไปยังอิเล็กโทรดโดยสัญญาณที่เกิดขึ้นนั้นจะถูกบันทึกด้วยเครื่องบันทึกสัญญาณได้เป็นลักษณะของโครมาโทแกรม (แม้น และ อมร, 2539) ข้อมูลในเชิงคุณภาพวิเคราะห์จะแสดงอยู่ในรูปของ retention time ซึ่งค่อนข้างมีความจำเพาะของแต่ละสาร ส่วนข้อมูลในเชิงปริมาณวิเคราะห์จะแสดงอยู่ในรูปของพื้นที่พีค (peak area) หรือความสูงของพีค (peak height) ซึ่งโครมาโทแกรม

ที่ได้มีผลจากตัวแปรต่างๆ เช่น อุณหภูมิ อัตราการไหลของแก๊สพา และชนิดของคอลัมน์ เป็นต้น ซึ่งตัวแปรเหล่านี้สามารถคำนวณหาค่าที่เหมาะสมได้เพื่อให้ผลการวิเคราะห์มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น การตอบสนองของตัวตรวจวัดชนิดนี้จะมีความรวดเร็วมากและให้ค่าของกราฟมาตรฐานที่มีช่วงความเข้มข้นที่กว้างและเปลวไฟไฮโดรเจนผลิตไอออนได้ไม่มากนัก คิดเป็นกระแสไฟฟ้าประมาณ 10 - 14 แอมแปร์แต่เมื่อมีสารประกอบอินทรีย์จะทำให้มีไอออนเกิดขึ้นปริมาณมากมาย ซึ่งการตอบสนองของ FID จะขึ้นกับจำนวนไอออนที่เกิดขึ้นจากแต่ละสารประกอบโดยขึ้นกับจำนวนคาร์บอนในโมเลกุลของสารตัวอย่างและปริมาณซึ่งการตอบสนองนี้จะมีความแตกต่างกันออกไประหว่างสารประกอบในแต่ละกลุ่ม (มงคล, 2537)

1.2.9 การเตรียมสารตัวอย่างด้วยวิธีการตกตะกอนโปรตีน (sample preparation of protein precipitation)

การตกตะกอนโปรตีนเป็นวิธีการพื้นฐานในการแยกสารที่รวดเร็วกว่าวิธีการอื่น โปรตีนสามารถละลายน้ำได้ขึ้นกับหลัก 2 ประการ คือ โมเลกุลของโปรตีนมีส่วนที่ชอบน้ำสามารถเกิดแรงกริยากับน้ำได้ เรียกส่วนนี้ว่า hydrophobic patches สามารถเกิดแรงดึงดูดทางไฟฟ้าเอาโมเลกุลของน้ำมาล้อมรอบโมเลกุลของโปรตีนได้ และบนโมเลกุลของโปรตีนอยู่ห่างกันจึงไม่สามารถรวมตัวเข้ามาอยู่ใกล้กันแล้วตกตะกอนลงมาได้ ดังนั้นปัจจัยใดที่เพิ่มแรงปฏิกริยาระหว่างโมเลกุลของโปรตีนด้วยตัวเอง (protein-protein interaction) หรือการลดปฏิกริยาระหว่างโมเลกุลของโปรตีนและน้ำ (protein-water interaction) ทำให้ความสามารถในการละลายน้ำของโปรตีนลดลงทำให้โปรตีนเกิดการตกตะกอนลงมา (Polson และคณะ, 2003) สำหรับการตกตะกอนโปรตีนมีด้วยกัน 3 วิธี คือ

1) การตกตะกอนที่ค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ที่จุดไอโซอิเล็กตริก (isoelectric pH) เรียกวิธีนี้ว่า isoelectric precipitation เนื่องจากโปรตีนแต่ละชนิดมีค่า pH ที่ทำให้สมดุลของประจุสุทธิบนโมเลกุลเท่ากับศูนย์ เรียกค่านี้ว่า จุดไอโซอิเล็กตริก (isoelectric point, pI) ค่านี้เป็นจุดที่โปรตีนละลายได้น้อยที่สุดดังนั้นโปรตีนจึงเคลื่อนที่เข้าหากันเนื่องจากไม่มีแรงผลักดันไฟฟ้าสถิตระหว่างโมเลกุลของโปรตีนเองทำให้เกิดการรวมตัวแล้วตกตะกอนลงมาได้

2) การตกตะกอนโปรตีนโดยการเพิ่มความแรงไอออนด้วยวิธีการตกตะกอนแบบลำดับส่วนด้วยเกลือ (ionic strength หรือ salt fraction precipitation) เป็นการตกตะกอนโปรตีนโดยใช้เกลือที่มีความเข้มข้นสูงเพื่อเพิ่มความแรงไอออน (ionic strength) ของสารละลายให้สูงขึ้นจนกระทั่งไอออนของเกลือไปแย่งโมเลกุลของน้ำที่ล้อมรอบโมเลกุลของโปรตีนให้ออกมาล้อมรอบโมเลกุลของเกลือเองทำให้โปรตีนละลายได้น้อยลงเกิดการจับตัวของโปรตีนจนเกิดการตกตะกอนลงมา

3) การตกตะกอนด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่อุณหภูมิต่ำ (organic solvent precipitation) ตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ ได้แก่ เมทานอล อะซีโตน โดยตัวทำละลายเหล่านี้จะไปลดค่าคงที่ไดอิเล็กตริก (dielectric constant) ของโปรตีนซึ่งมีน้ำเป็นตัวทำละลาย เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของตัวทำละลายอินทรีย์มากขึ้นเรื่อยๆ จนถึงจุดที่พลังงานไฟฟ้าสถิตของแรงกระทำระหว่างโมเลกุลของโปรตีนสูงกว่าแรงกระทำระหว่างโมเลกุลของโปรตีนกับน้ำทำให้เกิดการรวมตัวของโปรตีนแล้วตกตะกอนลงมา

1.3 วัตถุประสงค์

- 1.3.1 เพื่อศึกษาผลของเอสโตรเจนต่อการเปลี่ยนแปลงของ 1,4-Butanediol และ GHB ในเลือด
- 1.3.2 เพื่อตรวจวิเคราะห์หาปริมาณของ 1,4-Butanediol และ GHB ในเลือดโดยใช้เทคนิค Gas chromatography-flame ionization (GC-FID)
- 1.3.3 เพื่อศึกษาผลของเอสโตรเจนต่อเภสัชจลนศาสตร์ของ 1,4-Butanediol และ GHB

บทที่ 2

วิธีการวิจัย

2.1 สารเคมี (Chemical reagent)

- 2.1.1 สารมาตรฐาน Gamma-hydroxybutyric acid; (Lipomed, Switzerland)
- 2.1.2 สารมาตรฐาน 1,4-Butanediol ; (Tokyo Kasei Kogyo, Japan)
- 2.1.3 สารมาตรฐาน Octanol; (Fluka, Switzerland)
- 2.1.4 Methanol 99.99% HPLC grade; (J.T.Baker, U.S.A.)
- 2.1.5 Heparin; (Leo Pharmaceutical, Denmark)
- 2.1.6 Diethylstilbestrol; (Sigma, U.S.A.)
- 2.1.7 น้ำมันมะกอก (Olive oil)

2.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ (Instrument and equipment)

- 2.2.1 เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีที่มีชนิดตัวตรวจวัดชนิดเฟลมไอออไนเซชัน
(Gas chromatography-flame ionize detector; GC-FID) รุ่น HP-5890 series II
(Hewlett Packard, U.S.A.)
- 2.2.2 คอลัมน์ Zebron- FFAP (15 m × 0.53 mm × 1.0 μm.); (Phenomenex, U.S.A.)
- 2.2.3 เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge); (Hittech, Germany)
- 2.2.4 เครื่องเขย่าสาร (vortex Genie-2); (Scientific industries, New York, U.S.A.)
- 2.2.4 เครื่องระเหยแห้งแบบสูญญากาศ (CentriVap concentrator); (LABCONCO, U.S.A.)
- 2.2.5 Automatic pipette ขนาด 200 และ 1,000 μL; (Gilson, France)
- 2.2.6 หลอดทดลองขนาด 5 mL
- 2.2.7 microcentrifuge tube
- 2.2.8 กระบอกฉีดยา (syringe) ขนาด 1 mL
- 2.2.9 กรรไกรผ่าตัด

2.3 วิธีดำเนินการวิจัย

2.3.1 การเตรียมสารมาตรฐาน

1) การเตรียม Stock standard solution

- สารมาตรฐาน GHB เตรียมจาก stock solution ที่ระดับความเข้มข้น 3,200 µg/mL
- สารมาตรฐาน 1,4-BD เตรียมจาก stock solution ที่ระดับความเข้มข้น 10 mg/mL
- สารมาตรฐาน octanol เตรียมจาก stock solution ที่ระดับความเข้มข้น 10 mg/mL

2) การเตรียม Working standard solution

- สารมาตรฐาน GHB โดยเตรียมที่ระดับความเข้มข้น 1,600, 1,200, 800, 400, 200, 100, 40 และ 24 µg/mL ในสารละลายเมทานอล
- สารมาตรฐาน 1,4-BD โดยเตรียมที่ระดับความเข้มข้น 1,200, 600, 300, 200, 100, 80, 40 และ 24 µg/mL ในสารละลายเมทานอล
- สารมาตรฐาน octanol โดยเตรียมที่ระดับความเข้มข้น 1,000, 500 และ 100 µg/mL ในสารละลายเมทานอล

2.3.2 การเตรียมตัวอย่างเลือดครบส่วน (preparation of whole blood sample)

ในการเตรียมตัวอย่างเลือดได้ดัดแปลงจากวิธีการศึกษาของ Shima และคณะ (2005) โดยการนำตัวอย่าง whole blood ปริมาตร 200 µL ใส่ในหลอดทดลองขนาด 5 mL จากนั้นทำการตกตะกอนโปรตีน (protein precipitation) ด้วยเมทานอลปริมาตร 1 mL จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 875 x g เป็นระยะเวลา 15 นาที ดูดสารละลายส่วนชั้นใส (supernatant) ใส่ลงใน microcentrifuge tube ขนาด 1.5 mL นำไประเหยแห้งที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 2.5 ชั่วโมงด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศ จากนั้นทำการเติม (spike) สารมาตรฐาน octanol (internal standard; IS.) ที่ความเข้มข้น 10 µg/mL โดยใช้สารมาตรฐาน octanol ความเข้มข้น 100 µg/mL ปริมาตร 10 µL จากนั้นทำการปรับปริมาตรด้วยเมทานอลปริมาตรให้ได้ปริมาตร 100 µL จากนั้นทำการวิเคราะห์ตัวอย่างด้วยเครื่อง GC-FID โดยการฉีดสารตัวอย่างปริมาตร 1 µL โดยมีการเตรียมสภาวะของเครื่องดังนี้

2.3.3 การเตรียมสภาวะเครื่อง GC-FID (preparation of GC-FID)

Injection temperature	: 240 °C
Detector temperature	: 260 °C
Carrier gas	: N ₂ (99.99%), อัตราการไหล 2.6 mL/min
Make up gas	: N ₂ (99.99%), อัตราการไหล 2.6 mL/min
Oxidant gas	: Air Zero gas, อัตราการไหล 300 mL/min
Fuel gas	: H ₂ (99.99%), อัตราการไหล 30 mL/min

โดยการตั้งค่าอุณหภูมิของเครื่อง (oven temperature program) ในการตรวจวิเคราะห์ ดังนี้

Initial temperature	: 80 °C
Holding time at initial temperature	: 2 min
Temperature ramp rate	: 35 °C/min
Final temperature	: 240 °C
Holding time at final temperature	: 1 min

2.4 การศึกษาวิเคราะห์โครมาโทแกรม (Study of chromatographic analysis)

ทำการศึกษาวิเคราะห์โครมาโทแกรมของสารโดยการฉีดสารมาตรฐาน GHB และ 1,4-BD พร้อมกับสารมาตรฐานภายใน (internal standard; IS.) โดยใช้สารมาตรฐาน octanol เป็น internal standard ในเมทานอลและในตัวอย่างเลือดครบส่วนที่ผ่านการเตรียมโดยวิธีการตกตะกอนโปรตีนเพื่อศึกษาหาเวลาที่พีคของสารออกจากคอลัมน์ (retention time; t_R)

2.5 การศึกษาความถูกต้องของวิธีการวิเคราะห์ (method validation)

ทำการศึกษาค่าความถูกต้องในการตรวจวิเคราะห์สาร GHB และ 1,4-BD โดยวิเคราะห์จากพื้นที่ใต้กราฟ (peak area) ด้วยโปรแกรม HP-ChemStation Rev A.06.03 ในการศึกษาค่าความถูกต้องของวิธีการวิเคราะห์ของงานวิจัยครั้งนี้ได้ศึกษาตามแบบวิธีของ ICH guideline recommendation (Swartz และ Krull, 1997) และ Guidance for Industry Bioanalytical Method Validation of Food and Drug Administration in U.S. (FDA, 2001)

โดยในการศึกษาจะนำ working standard solution ของสารมาตรฐานปริมาตร 50 μ L ไประเหยที่อุณหภูมิ 60 °C จากนั้นทำการเติมตัวอย่าง whole blood ปริมาตร 200 μ L และทำการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีตกตะกอนโปรตีนโดยทำการศึกษาค่าพารามิเตอร์ดังนี้

2.5.1 ค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (limit of detection: LOD) และ ค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดในเชิงปริมาณ (limit of quantification: LOQ)

ในการหาค่า LOD และ LOQ โดยพิจารณาจาก signal- to- noise ratio (S/N) ที่ได้จากการนำค่า peak area ratio ของ noise จากการวิเคราะห์ตัวอย่างที่ไม่มีการเติมสารมาตรฐาน (blank) (n=5) โดยนำมาเปรียบเทียบกับค่า peak area ratio ของตัวอย่างที่มีการเติมสารมาตรฐาน GHB และ 1,4-BD (n=5) โดย GHB ทำการศึกษาที่ความเข้มข้น 6, 5 และ 2.5 µg/mL และ 1,4-BD ทำการศึกษาที่ความเข้มข้น 10, 5 และ 2.5 µg/mL ซึ่งค่าที่ยอมรับได้ของ LOD ต้องมีค่า $S/N \geq 3$ และ LOQ ต้องมีค่า $S/N \geq 10$

2.5.2 ค่าความเที่ยง (precision)

ในการศึกษาค่าความเที่ยงของการวิเคราะห์ทำการศึกษาโดยใช้ค่าของผลการวิเคราะห์ภายในวันเดียวกัน (intra-day) และระหว่างวัน (inter-day) เป็นระยะเวลา 3 วัน โดย GHB ทำการศึกษาที่ความเข้มข้น 6, 50, 150 และ 300 µg/mL และ 1,4-BD ที่ความเข้มข้น 6, 20, 75 และ 150 µg/mL (n=5) ซึ่งค่าความเที่ยงของการวิเคราะห์จะพิจารณาจากค่าร้อยละของสัมประสิทธิ์ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (% relative of standard deviation; % RSD) โดยคิดจากส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) ของค่า peak area ratio ต่อค่าเฉลี่ย (mean) ซึ่งค่าความเที่ยงที่สามารถยอมรับได้ต้องมีค่า $\leq 15\%$ และ $\leq 20\%$ ที่ระดับ LOQ โดยสามารถคำนวณได้จากสูตรดังนี้

$$\% \text{ RSD} = \frac{\text{Standard deviation (S.D.)}}{\text{mean}} \times 100$$

2.5.3 ค่าความแม่นยำ (accuracy)

ในการศึกษาค่าความแม่นยำของการวิเคราะห์ทำการศึกษาผลของการวิเคราะห์ภายในวันเดียวกัน (intra-day) และระหว่างวัน (inter-day) ทำการศึกษาเป็นระยะเวลา 3 วัน โดย GHB ทำการศึกษาที่ความเข้มข้น 6, 50, 150 และ 300 µg/mL และ 1,4-BD ทำการศึกษาที่ความเข้มข้น 6, 20, 75 และ 150 µg/mL (n=5) ค่าความแม่นยำในการตรวจวิเคราะห์พิจารณาจากค่าร้อยละของความคลาดเคลื่อน (% deviation; % DEV) ของค่าที่ได้จากการตรวจวิเคราะห์เปรียบเทียบกับค่าความเข้มข้นจริงโดยค่าความแม่นยำที่สามารถยอมรับได้ต้องมีค่า $\leq \pm 15\%$ และที่ระดับ LOQ ต้องมีค่า $\leq \pm 20\%$ ซึ่งคำนวณได้จากสูตรดังนี้

$$(\%) \text{ DEV} = \frac{(\text{measured concentration} - \text{nominal concentration})}{\text{nominal concentration}} \times 100$$

2.5.4 ค่าร้อยละของการคืนกลับ (% recovery)

ในการศึกษาค่าร้อยละของการคืนกลับทำการศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีการตกตะกอนโปรตีนด้วยเมทานอล GHB ทำการศึกษาที่ความเข้มข้น 6, 50, 150 และ 300 µg/mL และ 1,4-BD ทำการศึกษาที่ความเข้มข้น 6, 20, 75 และ 150 µg/mL (n=5) โดยการนำค่าสัญญาณการตอบสนองของ peak area ratio ของสารมาตรฐานที่ผ่านการเตรียมตัวอย่างโดยวิธีการตกตะกอนโปรตีนด้วยเมทานอลนำมาทำการศึกษาเปรียบกับค่าสัญญาณการตอบสนองของ peak area ratio ของสารมาตรฐานในตัวทำละลายเมทานอลโดยค่าร้อยละของการคืนกลับที่สามารถยอมรับได้จะต้องอยู่ในช่วง 80-120 % ซึ่งสามารถคำนวณได้จากสูตรดังนี้

$$\text{Recovery (\%)} = \frac{\text{response of peak area ratio after preparation}}{\text{response of peak area ratio direct injection}} \times 100$$

2.5.5 ความเป็นเส้นตรงและช่วง (linearity and range)

ในการศึกษาค่าความเป็นเส้นตรงและช่วงทำการศึกษาค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์เชิงเส้น (correlation coefficient; (r)) และสมการเชิงเส้นที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของสารมาตรฐานกับ peak area ratio โดยกำหนดให้แกน X แทนค่าระดับความเข้มข้นและแกน Y แทนค่า peak area ratio โดย GHB ทำการศึกษาที่ความเข้มข้น 6, 10, 25, 50, 100, 200 และ 400 µg/mL (n=5) และ 1,4-BD ทำการศึกษาที่ความเข้มข้น 6, 10, 25, 50, 150 และ 300 µg/mL (n=5) จำนวน 5 ซ้ำ

2.6 การศึกษาในสัตว์ทดลอง (animals study)

การศึกษาในสัตว์ทดลองของการวิจัยครั้งนี้ได้ผ่านการพิจารณาความเห็นชอบจากคณะกรรมการจริยธรรมยาบรรณสัตว์ทดลองมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ตามหนังสือ ที่ ศช 0521.11/364 ลงวันที่ 18 กันยายน พ.ศ. 2551 หมายเลขจริยธรรมยาบรรณที่ Ref.23/51 ในงานวิจัยครั้งนี้ได้ดัดแปลงวิธีการศึกษาของ Harada และ คณะ (1998) โดยทำการศึกษาในหนู

ขาวใหญ่เพศผู้สายพันธุ์ Wistar ขนาดน้ำหนักตัว 200-300 กรัม จากสถานสัตว์ทดลองภาคใต้ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ที่มีการควบคุมอุณหภูมิของห้องเลี้ยงที่ 23 ± 2 °C ที่มีการควบคุมความสว่างและความมืดเป็นเวลา 12 ชั่วโมงและให้หนูได้รับน้ำและอาหารอย่างอิสระโดยในการศึกษาได้แบ่งหนูออกเป็น 3 กลุ่ม (n=5) ดังนี้

- กลุ่มที่ 1 (BD) เป็นกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารมาตรฐาน 1,4-Butanediol ขนาด 150 µg/kg โดยวิธีบริหารยาทางช่องท้อง (intraperitoneal; i.p.) ครั้งเดียวในวันทำการทดลอง

- กลุ่มที่ 2 (BD+DS10) เป็นกลุ่มที่ได้รับ Diethylstilbestrol ขนาด 100 µg/kg เป็นระยะเวลา 10 วัน โดยได้รับ 1 วันเว้น 1 วัน ร่วมกับสารมาตรฐาน 1,4-Butanediol โดยวิธีบริหารยาทางช่องท้อง (intraperitoneal; i.p.) ครั้งเดียวในวันทำการทดลอง

- กลุ่มที่ 3 (BD+DS20) เป็นกลุ่มที่ได้รับ Diethylstilbestrol ขนาด 100 µg/kg เป็นระยะเวลา 20 วัน โดยได้รับ 1 วันเว้น 1 วัน ร่วมกับสารมาตรฐาน 1,4-Butanediol โดยวิธีบริหารยาทางช่องท้อง (intraperitoneal; i.p.) ครั้งเดียวในวันทำการทดลอง

ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการเก็บตัวอย่างจากเลือดโดยเก็บจากบริเวณปลายหางของหนูซึ่งก่อนทำการเก็บตัวอย่างเลือดจะใช้แอลกอฮอล์ความเข้มข้น 70 % เช็ดบริเวณหางก่อนทำการเก็บตัวอย่างหลังจากนั้นใช้กรรไกรผ่าตัดขลิบบริเวณปลายหางของหนูแล้วทำการเก็บตัวอย่างเลือดโดยวิธีการรูดจากหางโดยเริ่มจากบริเวณโคนหางไล่มาจนถึงปลายสุดดังแสดง (ภาพที่ 2.1) โดยทำการเก็บตัวอย่างเลือดที่เวลา 0, 15, 30, 45, 60, 90, 120 และ 180 นาที ใส่ใน microcentrifuge tube ที่มีสาร heparin ความเข้มข้น 60 U/mL ปริมาตร 10 µL จากนั้นนำตัวอย่างเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -70 °C ก่อนทำการตรวจวิเคราะห์



ภาพที่ 2.1 การเก็บตัวอย่างเลือดจากบริเวณหางของหนู

2.7 การศึกษาวิเคราะห์ระดับยาในเลือด

ทำการตรวจวิเคราะห์หาระดับยาในเลือดของ GHB และ 1,4-BD ของหนูทั้ง 3 กลุ่ม (n=5) จากโครมาโทแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์ที่เวลา 0, 15, 30, 45, 60, 90, 120 และ 180 นาที จากนั้นนำไปสร้างกราฟของความสัมพันธ์ระหว่างระดับยาในเลือดกับเวลาเพื่อใช้ในการศึกษาค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์

2.8 การศึกษาค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ (pharmacokinetic parameter)

ในการศึกษาค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของ 1,4-BD และ GHB ในงานวิจัยครั้งนี้ได้ทำการศึกษาตามแบบวิธีการศึกษาของ Abanades และคณะ (2007) โดยใช้แบบจำลองทางเภสัชจลนศาสตร์แบบหนึ่งส่วน (one-compartment model) ในการศึกษาดังนี้

- 1) ค่าระดับความเข้มข้นของยาสูงสุด (Maximum concentration; C_{max})
- 2) ค่าเวลาที่ระดับยาสูงสุด (Time to maximum concentration; T_{max})

การหาค่าพารามิเตอร์ C_{max} และ T_{max} ทำการศึกษาด้วยวิธีการสร้างกราฟของความสัมพันธ์ระหว่างเวลากับระดับความเข้มข้นของยาในเลือดด้วยโปรแกรม Microsoft[®] Excel 2003 (Microsoft Corporation, U.S.A.) โดยกำหนดให้ค่าแกน x แทนเวลาและแกน y แทนระดับความเข้มข้นของยาในเลือดแล้วทำการอ่านค่าโดยตรงจากกราฟ

- 3) ค่าครึ่งชีวิตของการกำจัดยา (elimination half-life; $t_{1/2\text{ el}}$)

ค่าครึ่งชีวิตของการกำจัดยาเป็นค่าพารามิเตอร์ที่แสดงถึงระยะเวลาที่ใช้ไปในการที่ทำให้ระดับยาลดลงเหลือครึ่งหนึ่งของระดับยาเริ่มต้น ค่าครึ่งชีวิตของการกำจัดยาได้โดยอาศัยค่าคงที่อัตราของการกำจัดยา (elimination rate constant; k_{el}) โดยคำนวณจากสูตรดังนี้

$$t_{1/2\text{ el}} = \frac{0.693}{k_{el}}$$

ค่า k_{el} แสดงถึงค่าสัดส่วนของยาที่ถูกกำจัดในหนึ่งหน่วยเวลาโดยค่าสามารถหาได้จากกราฟกึ่งลอการิทึมฐานสิบความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของระดับยาในเลือดกับเวลาในช่วงตอนปลายของกราฟ (terminal phase) โดยคำนวณจากสูตร ดังนี้

$$\begin{aligned} k_{el} &= -\text{slope} \times 2.3030.693 \\ &= -\frac{(\log C_1 - \log C_2)}{t_1 - t_2} \times 2.303 \end{aligned}$$

4) ค่าพื้นที่ใต้กราฟของความสัมพันธ์จากเวลาเริ่มต้นถึงเวลาสุดท้าย (area under the curve; $AUC_{0 \rightarrow t}$)

ทำศึกษาค่าพื้นที่ใต้กราฟของความสัมพัทธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของยาในเลือดกับเวลาซึ่งจะบอกถึงปริมาณยาที่เข้าสู่ร่างกายซึ่งในการหาค่าพื้นที่ใต้กราฟของความสัมพันธ์จะใช้เทคนิคกฎสี่เหลี่ยมคางหมู (trapezoidal rule technique) ในการคำนวณทำการคำนวณโดยการแบ่งพื้นที่ใต้กราฟพื้นที่ใต้กราฟออกเป็นส่วนๆ ในแนวตั้งแล้วทำการคำนวณพื้นที่รูปสี่เหลี่ยมคางหมูทุกรูปตั้งแต่ระยะเวลาเริ่มต้นจนถึงระยะเวลาสุดท้ายที่ทำการเก็บข้อมูล

2.9 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ (statistical analysis)

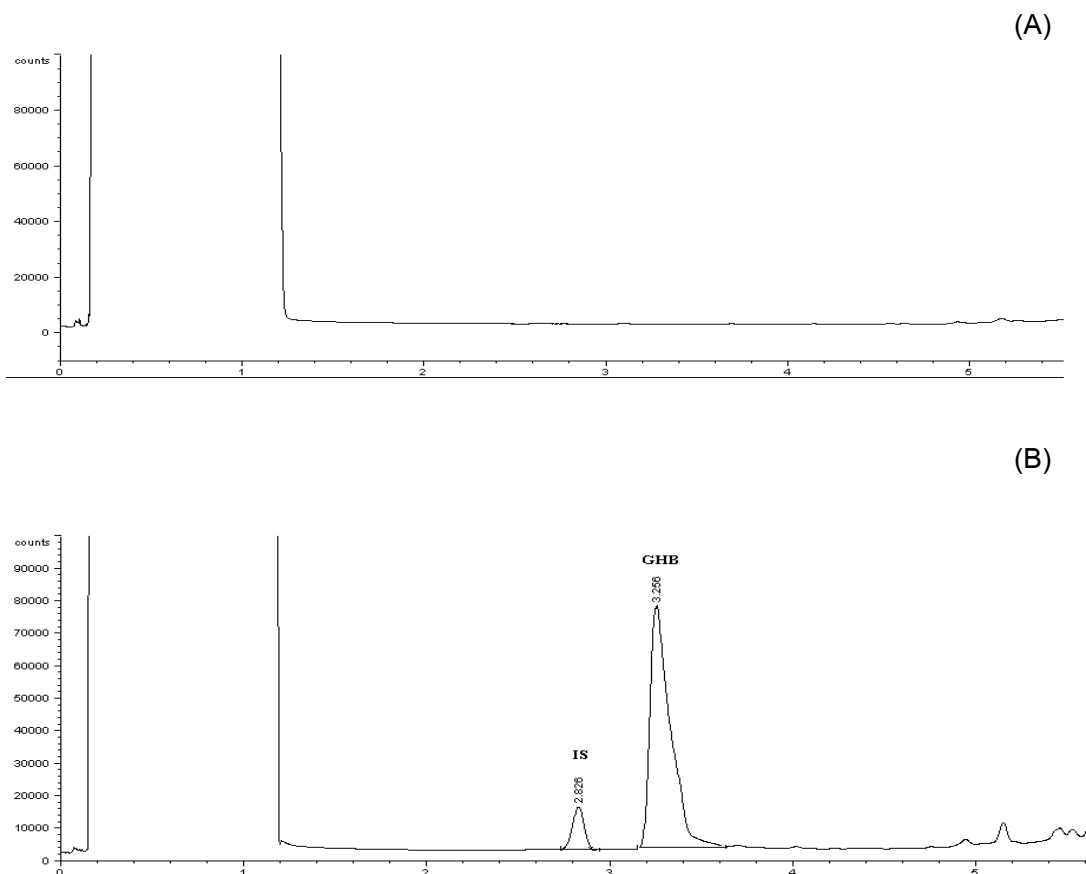
ในการศึกษาการวิเคราะห์ค่าทางสถิติจะทำการศึกษาโดยการนำข้อมูลของค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของหนูกลุ่มที่ 2 และ 3 มาทำการศึกษาเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มที่ 1 โดยนำมาทำการวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนทางสถิติโดยใช้การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนแบบทางเดียว (One way ANOVA) ด้วยโปรแกรม SPSS version 17.0 โดยกำหนดค่าความแตกต่างทางสถิติ (p value) $p < 0.05$

บทที่ 3

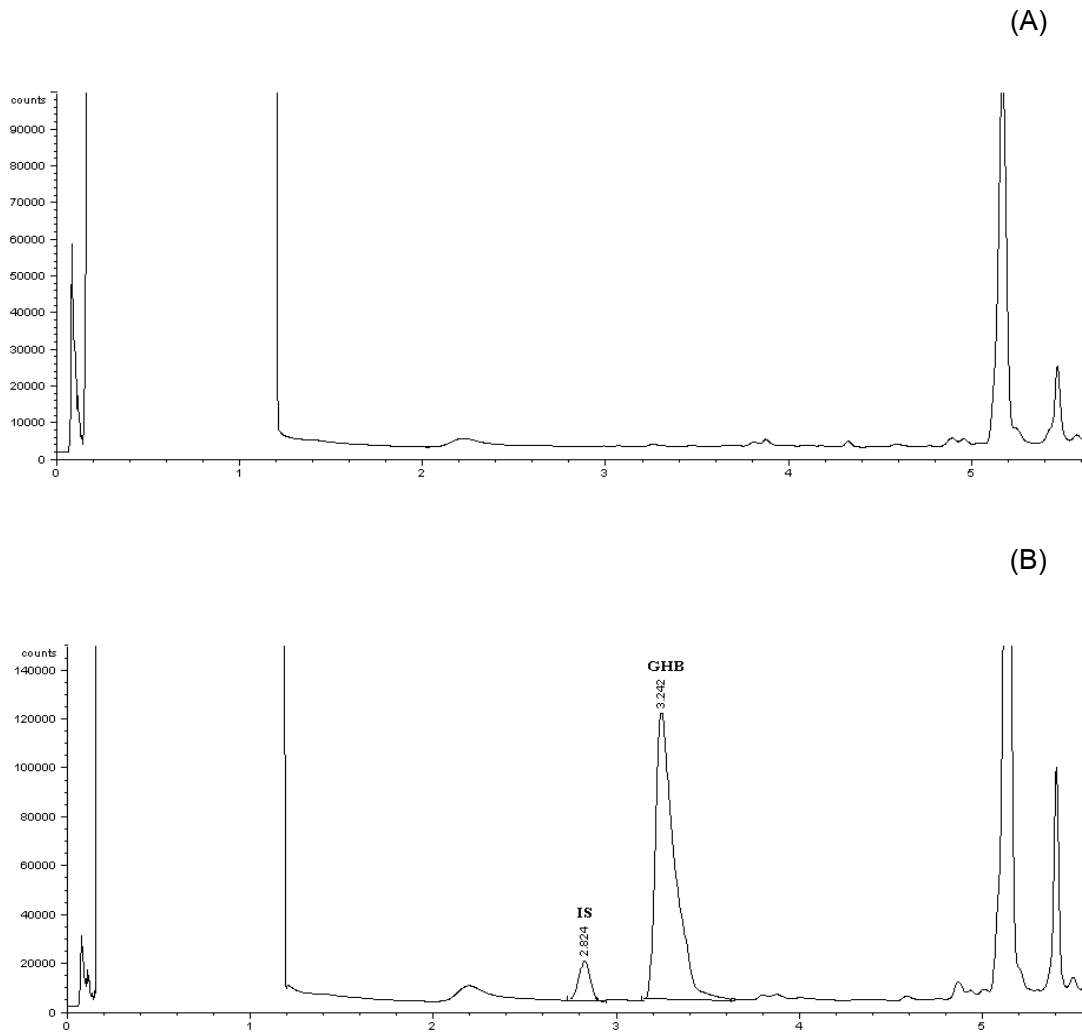
ผลและบทวิจารณ์

3.1 การศึกษาวิเคราะห์โครมาโทแกรม (Study of chromatographic analysis)

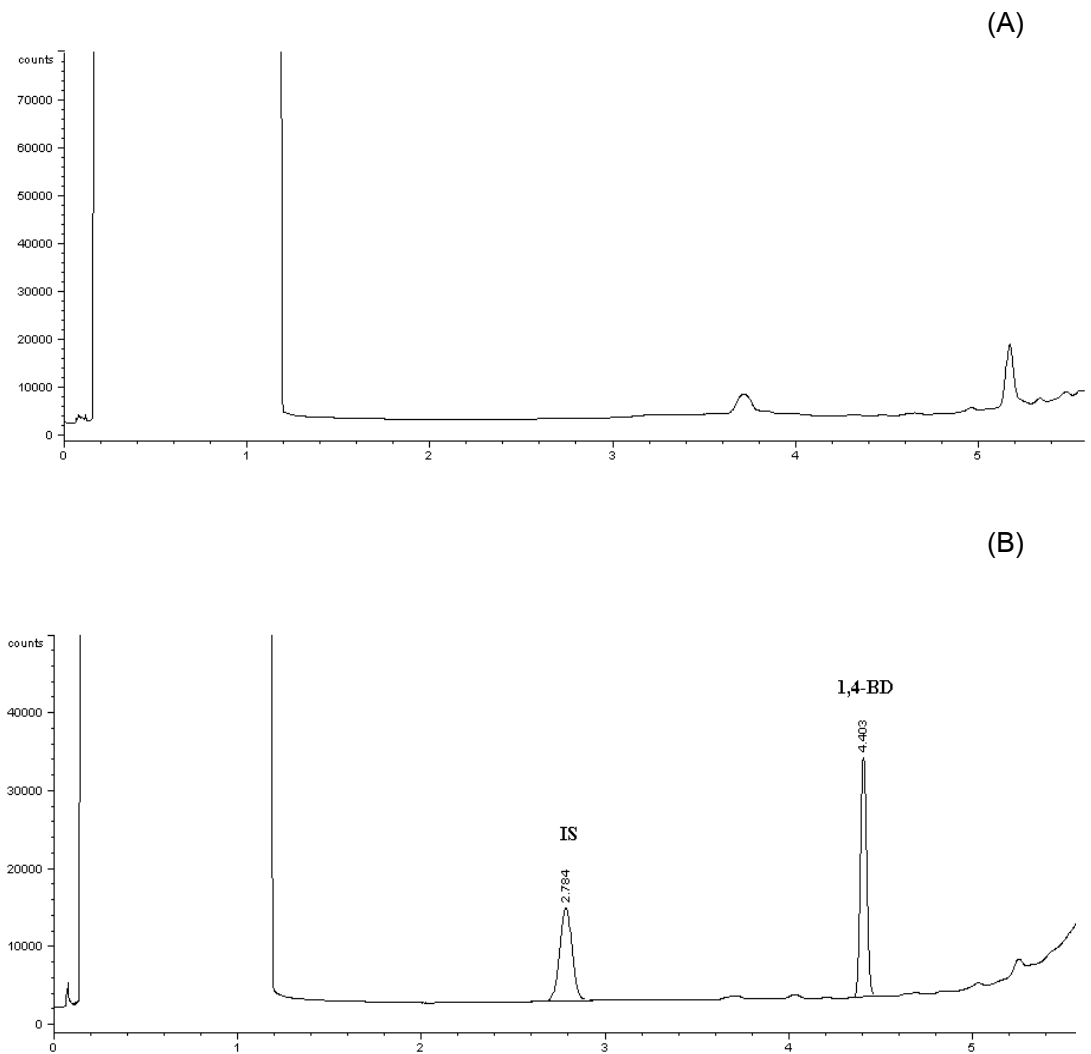
จากการศึกษาโครมาโทแกรมของสารมาตรฐาน GHB, 1,4-BD และ octanol ซึ่งเป็นสารมาตรฐานภายใน (internal standard; IS.) ที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-FID พบว่าระยะเวลาที่พีคของสารที่ออกจากคอลัมน์ของสาร GHB, 1,4-BD และ octanol คือ ที่เวลา 3.2, 4.4 และ 2.7 นาที ตามลำดับ ดังแสดง (ภาพที่ 3.1-3.4)



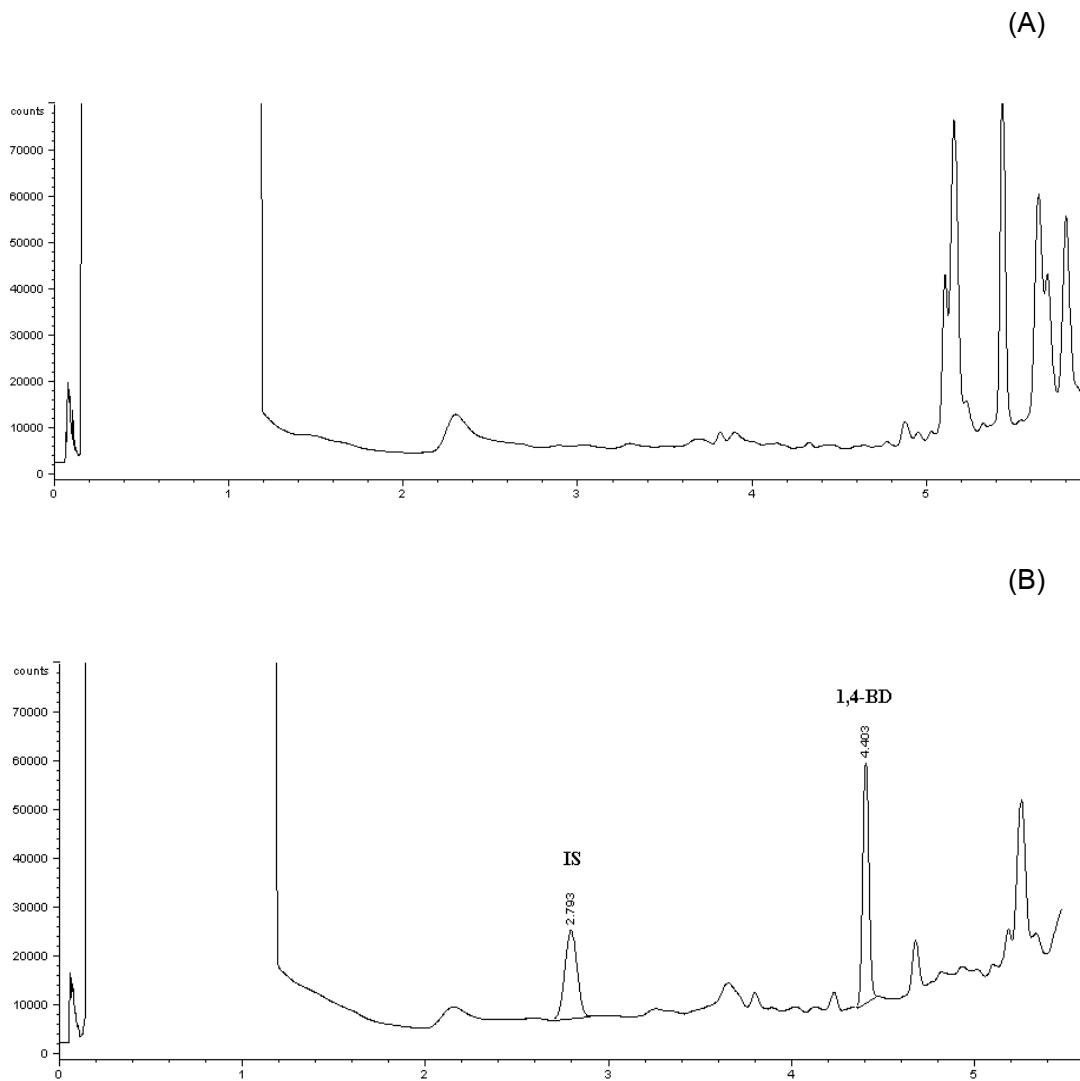
ภาพที่ 3.1 โครมาโทแกรมของ GHB ที่ความเข้มข้น 50 $\mu\text{g/mL}$ และ octanol (IS.) ที่ความเข้มข้น 10 $\mu\text{g/mL}$ ในสารละลายเมทานอล; (A): เมทานอล (blank), (B): GHB และ octanol ในสารละลายเมทานอล



ภาพที่ 3.2 โครมาโทแกรมของสาร GHB ที่ความเข้มข้น 150 $\mu\text{g}/\text{mL}$ และ octanol (IS.) ที่ความเข้มข้น 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ จากการเตรียมตัวอย่างโดยวิธีตกตะกอนโปรตีนด้วยเมทานอล; (A): whole blood (blank), (B): GHB และ octanol ในตัวอย่าง whole blood



ภาพที่ 3.3 โครมาโทแกรมของสาร 1,4-BD ที่ความเข้มข้น 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ และ octanol ที่ความเข้มข้น 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ในสารละลายเมทานอล; (A): whole blood (blank), (B): 1,4-BD และ octanol ในสารละลายเมทานอล



ภาพที่ 3.4 โครมาโทแกรมของ 1,4-BD ที่ความเข้มข้น 50 $\mu\text{g/mL}$ และ octanol ที่ความเข้มข้น 10 $\mu\text{g/mL}$ จากการเตรียมตัวอย่างโดยวิธีตกตะกอนโปรตีนด้วยเมทานอล; (A): whole blood (blank), (B): 1,4-BD และ octanol ในตัวอย่าง whole blood

3.2 ค่าความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (method validation)

3.2.1 ค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (limit of detection; LOD) และค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดในเชิงปริมาณ (limit of quantification; LOQ)

จากการศึกษาหาค่า LOD และ LOQ โดยพิจารณาจากค่า Signal-to-noise ratio ของ GHB ซึ่งทำการศึกษาที่ความเข้มข้น 6, 5 และ 2.5 µg/mL พบว่ามีค่าที่ความเข้มข้นเท่ากับ 2.5 และ 6 µg/mL ตามลำดับ ดังแสดง (ตารางที่ 3.1) และ 1,4-BD ซึ่งทำการศึกษาที่ความเข้มข้น 10, 5 และ 2.5 µg/mL พบว่ามีค่าที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 2.5 และ 6 µg/mL ตามลำดับดังแสดง (ตารางที่ 3.2)

ตารางที่ 3.1 ค่า LOD และ LOQ ของสาร GHB

Concentration (µg/mL)	peak area ratio mean ± S.D.(n=5)	Signal-to-noise ratio (S/N)
Blank	0.04±0.003	-
2.5	0.13±0.01	3.20
5	0.22±0.04	5.48
6	0.47±0.07	11.85

ตารางที่ 3.2 ค่า LOD และ LOQ ของสาร 1,4-BD

Concentration (µg/mL)	peak area ratio mean ± S.D.(n=5)	Signal-to-noise ratio (S/N)
Blank	0.03±0.007	-
2.5	0.17±0.043	4.13
6	0.35±0.054	11.20
10	0.54±0.045	17.55

3.2.2 ค่าความเที่ยง (precision)

จากการศึกษาหาค่าความเที่ยงของการตรวจวิเคราะห์ภายในวันเดียวกัน (intra-day) และระหว่างวัน (inter-day) ของสาร GHB และสาร 1,4-BD โดยพิจารณาจากค่าร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) โดย GHB ทำการศึกษาที่ความเข้มข้น 6, 50, 150 และ 300 µg/mL และ 1,4-BD ที่ความเข้มข้น 6, 20, 75 และ 150 µg/mL พบว่าค่าความเที่ยงในการตรวจวิเคราะห์ของ GHB ให้ค่าร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ของการวิเคราะห์ภายในวันเดียวกันและระหว่างวันมีค่าอยู่ในช่วง 1.47 - 2.65 % และ 1.44 - 3.63 % ตามลำดับดังแสดง (ตารางที่ 3.3) และ 1,4-BD มีค่าอยู่ในช่วง 1.11 - 5.47 และ 3.90-10.33 % ตามลำดับดังแสดง (ตารางที่ 3.4) ซึ่งเป็นค่าที่อยู่ในช่วงที่สามารถยอมรับได้

ตารางที่ 3.3 ค่าความเที่ยงจากการวิเคราะห์สาร GHB

Concentration (µg/mL)	Intra-day		Inter-day	
	Peak area ratio Mean±S.D. (n=5)	RSD (%)	Peak area ratio Mean±S.D. (n=5)	RSD (%)
6	0.66±0.02	2.57	0.64±0.02	3.63
50	5.72±0.10	1.69	5.73±0.11	2.00
150	16.80±0.25	1.47	16.77±0.24	1.44
300	35.57±0.94	2.65	36.17±0.96	2.66

ตารางที่ 3.4 ค่าความเที่ยงจากการวิเคราะห์สาร 1,4-BD

Concentration (µg/mL)	Intra-day		Inter-day	
	Peak area ratio Mean±S.D. (n=5)	RSD (%)	Peak area ratio Mean±S.D. (n=5)	RSD (%)
6	0.47±0.03	5.47	0.44±0.04	9.09
20	1.45±0.08	5.32	1.31±0.14	10.33
75	5.52±0.20	3.57	5.12±0.20	3.90
150	11.73±0.13	1.11	10.81±0.69	6.38

3.2.3 ค่าความแม่นยำ (accuracy)

จากการศึกษาหาค่าความแม่นยำของการตรวจวิเคราะห์ภายในวันเดียวกัน (intra-day) และระหว่างวัน (inter-day) ของสาร GHB และสาร 1,4-BD โดยพิจารณาจากร้อยละของความคลาดเคลื่อน (%DEV) โดย GHB ทำการศึกษาที่ความเข้มข้น 6, 50, 150 และ 300 µg/mL และ 1,4-BD ทำการศึกษาที่ความเข้มข้น 6, 20, 75 และ 150 µg/mL พบว่า GHB ให้ค่าร้อยละของความคลาดเคลื่อน (%DEV) ของการตรวจวิเคราะห์ภายในวันเดียวกันและระหว่างวันมีค่าอยู่ในช่วง -4.50 - 0.82 และ -2.88 -(-11.33) % ตามลำดับ ดังแสดง (ตารางที่ 3.5) และ 1,4-BD มีค่าอยู่ในช่วง -5.22 -(-12.75) และ -4.45 -12.50 % ตามลำดับ ดังแสดง (ตารางที่ 3.6) ซึ่งเป็นค่าที่อยู่ในช่วงที่สามารถยอมรับได้

ตารางที่ 3.5 ค่าความแม่นยำจากการวิเคราะห์สาร GHB

Concentration (µg/mL)	Intra-day		Inter-day	
	Measure concentration Mean±S.D. (n=5)	DEV (%)	Measure concentration Mean±S.D. (n=3)	DEV (%)
6	6.02±0.13	0.33	5.32 ± 0.69	-11.33
50	49.00±0.80	-2.00	47.19 ± 2.61	-5.62
150	143.25±2.21	-4.50	137.80 ± 6.54	-8.13
300	302.45±8.05	0.82	293.00 ± 8.54	-2.88

ตารางที่ 3.6 ค่าความแม่นยำจากการวิเคราะห์สาร 1,4-BD

Concentration (µg/mL)	Intra-day		Inter-day	
	Measure concentration Mean±S.D. (n=5)	DEV (%)	Measure concentration Mean±S.D. (n=3)	DEV (%)
6	5.55±0.41	-7.50	6.75±0.55	12.50
20	17.45±0.93	-12.75	19.11±2.49	-4.45
75	66.80±2.39	-10.93	76.15±8.06	1.53
150	142.17±1.58	-5.22	159.58±16.82	6.39

3.2.4 ค่าร้อยละของการคืนกลับ (% recovery)

จากการศึกษาค่าร้อยละของการคืนกลับของสาร GHB และ 1,4-BD จากการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีการตกตะกอนโปรตีนด้วยเมทานอลโดย GHB ทำการศึกษาที่ระดับความเข้มข้น 6, 50, 150 และ 300 µg/mL และ 1,4-BD ทำการศึกษาที่ความเข้มข้น 6, 20, 75 และ 150 µg/mL พบว่าการเตรียมตัวอย่างโดยวิธีการตกตะกอนโปรตีนด้วยเมทานอลให้ค่าร้อยละของการคืนกลับของ GHB มีค่าอยู่ในช่วง 82.85-102.43% ดังแสดง (ตารางที่ 3.7) และสาร 1,4-BD มีค่าอยู่ในช่วง 52.29-59.43% ดังแสดง (ตารางที่ 3.8)

ตารางที่ 3.7 ค่าร้อยละของการคืนกลับของสาร GHB

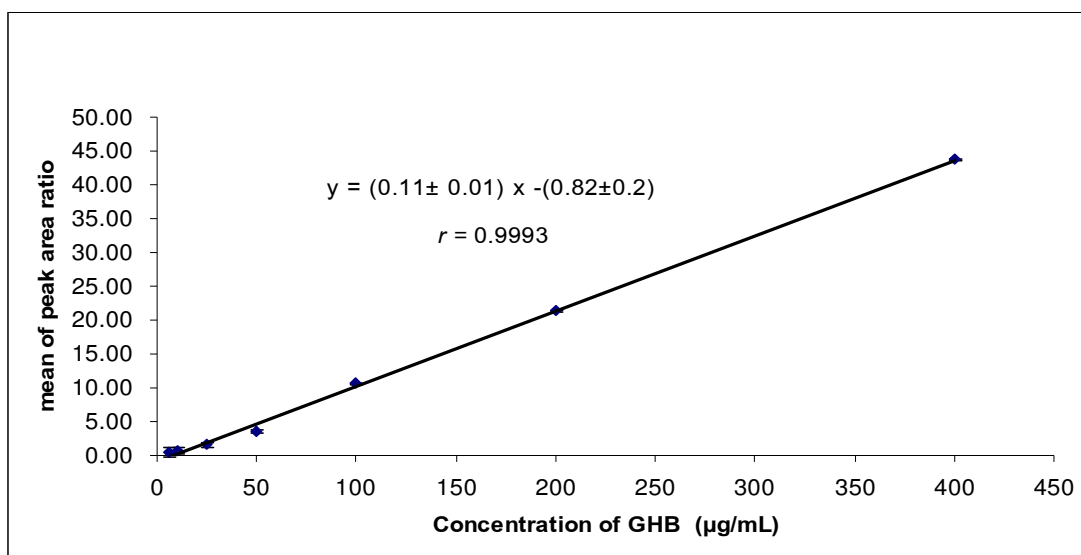
Concentration (µg/mL)	Mean of peak area ratio ± S.D. (n=5)		Recovery (%)
	Direct injection	After extraction	
6	0.23±0.03	0.24±0.03	102.43
50	1.95±0.18	1.98±0.09	102.06
150	7.54±1.19	6.12±0.26	82.85
300	12.30±0.86	12.69 ±0.03	103.67

ตารางที่ 3.8 ค่าร้อยละของการคืนกลับของสาร 1,4-BD

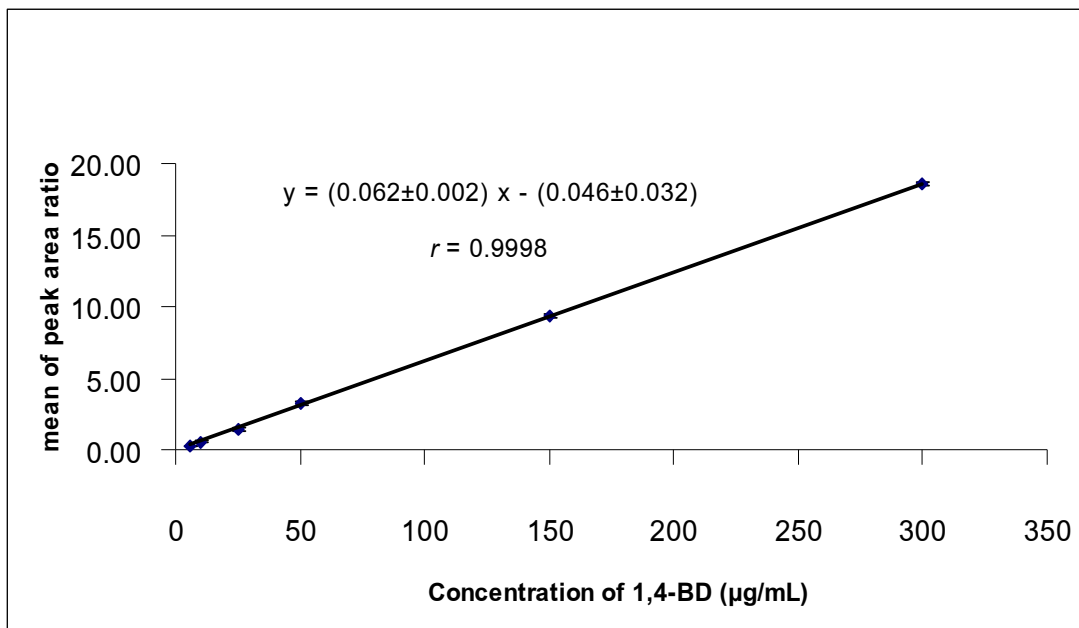
Concentration (µg/mL)	Mean of peak area ratio ± S.D. (n=5)		Recovery (%)
	Direct injection	After extraction	
6	0.40±0.0	0.23±0.03	58.80
20	0.73±0.04	1.27±0.03	59.43
75	2.76±0.01	5.28±0.19	52.29
150	5.86±0.07	11.04±0.58	53.12

3.2.5 ความเป็นเส้นตรงและช่วง (linearity and range)

จากการศึกษาหาค่าของช่วงความเป็นเส้นตรงของสาร GHB ซึ่งทำการศึกษาที่ความเข้มข้น 6, 10, 25, 50, 100, 200 และ 400 $\mu\text{g/mL}$ และสาร 1,4-BD ทำการศึกษาที่ความเข้มข้น 6, 10, 25, 50, 150 และ 300 $\mu\text{g/mL}$ โดยกำหนดให้แกน X แทนค่าระดับความเข้มข้นและแกน Y แทนค่า peak area ratio พบว่าสาร GHB และ 1,4-BD มีค่าสัมประสิทธิ์ของความเป็นเส้นตรง (r) มีค่าเท่ากับ 0.9993 และ 0.9998 ตามลำดับ และมีสมการเชิงเส้นของความเป็นเส้นตรง $y = (0.11 \pm 0.01)x - (0.82 \pm 0.2)$ และ $y = (0.0062 \pm 0.002)x - (0.046 \pm 0.032)$ ตามลำดับ ดังแสดง (ภาพที่ 3.5 และ 3.6)



ภาพที่ 3.5 ความเป็นเส้นตรงและช่วงของสาร GHB ในตัวอย่างเลือด (mean \pm S.D.) ที่ระดับความเข้มข้น 6, 10, 25, 50, 100, 200 และ 400 $\mu\text{g/mL}$ ($n=5$)



ภาพที่ 3.6 ความเป็นเส้นตรงและช่วงของสาร 1,4-BD ในตัวอย่างเลือด (mean±S.D.) ที่ระดับความเข้มข้น 6, 10, 25, 50, 150 และ 300 µg/mL (n=5)

จากการศึกษาหาค่าความถูกต้องของการตรวจวิเคราะห์สาร GHB และ 1,4-BD ในตัวอย่างเลือดโดยวิธีการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีการตกตะกอนโปรตีนด้วยเมทานอลและการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างด้วยเทคนิค GC-FID พบว่าให้ค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (LOD) และค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดในเชิงปริมาณ (LOQ) ของสาร 1,4-BD และ GHB มีค่าเท่ากับ 2.5 และ 6 µg/mL โดยเมื่อทำการเปรียบเทียบกับวิธีการศึกษาของ Blanchet และคณะ (2002) พบว่าให้ผลการวิเคราะห์ที่ดีกว่าซึ่งมีค่า LOQ ของสาร 1,4-BD และ GHB เท่ากับ 10 และ 25 µg/mL ตามลำดับ จากการศึกษาค่าความเที่ยงและความแม่นยำในการตรวจวิเคราะห์พบว่าให้ค่าความเที่ยงของการตรวจวิเคราะห์ภายในวันเดียวกันและระหว่างวันให้ค่าอยู่ในช่วงที่สามารถยอมรับได้โดยมีค่าร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (% RSD) ของสาร 1,4-BD มีค่าอยู่ในช่วง 1.11-5.47 และ 5.72-10.33 % ตามลำดับ และ GHB มีค่าอยู่ในช่วง 1.47-2.65 และ 1.44-3.63 % ตามลำดับ ค่าความแม่นยำของการตรวจวิเคราะห์ภายในวันเดียวกันและระหว่างวันพบว่าให้ค่าร้อยละของความคลาดเคลื่อน (% DEV) ของ 1,4-BD มีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง -5.22 -(-12.75) % และ -4.45-12.50 % ตามลำดับ และ GHB มีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 0.82-(-4.50) และ 2.88-(-11.33)% ตามลำดับ ซึ่งเป็นค่าที่สามารถยอมรับได้เช่นเดียวกัน โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ของความเป็นเส้นตรง (r) ของ 1,4-BD และ GHB มีค่าเท่ากับ 0.9998 และ 0.9993 ตามลำดับ

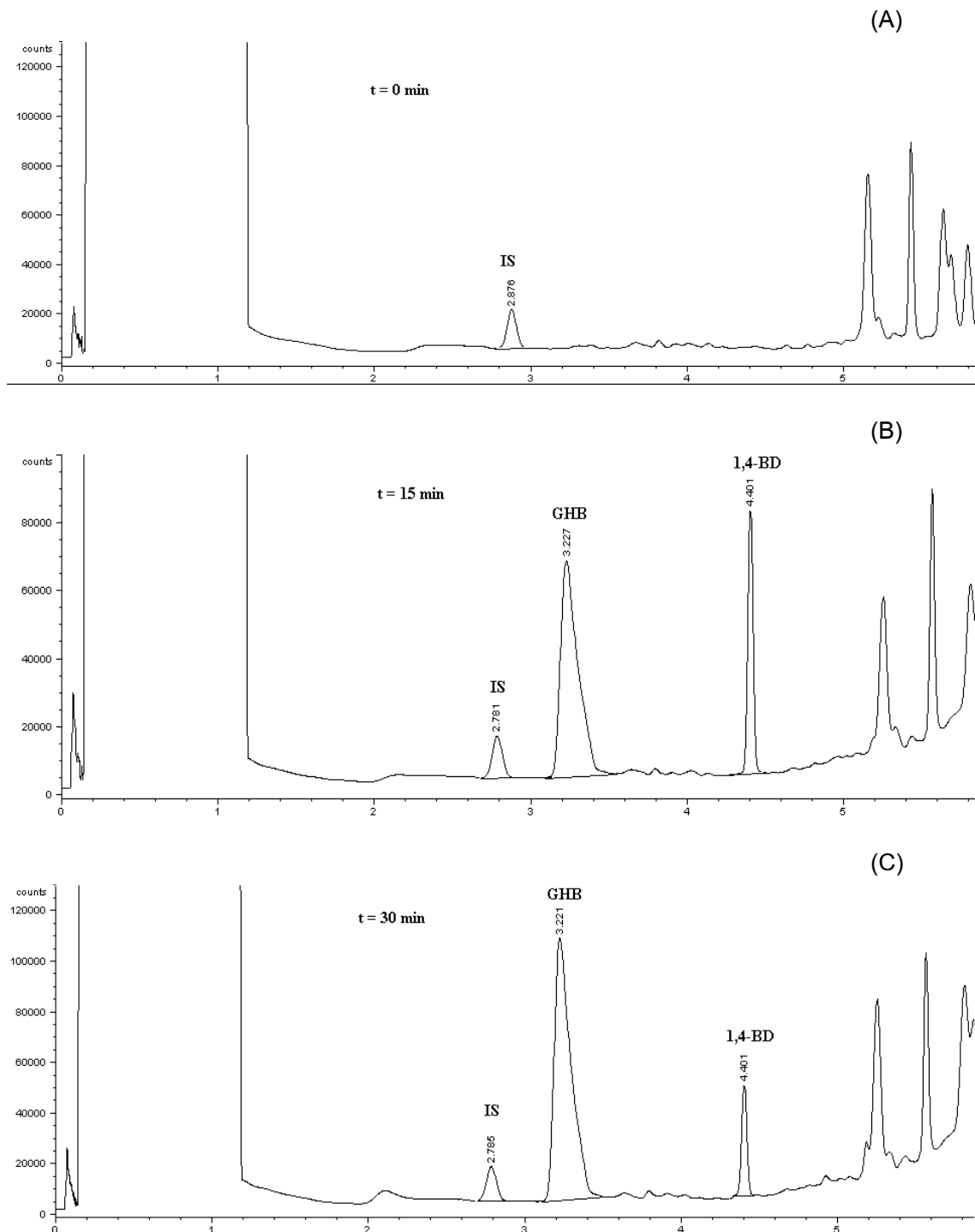
จากการศึกษาร้อยละของการคืนกลับจากเตรียมตัวอย่างโดยวิธีตกตะกอนโปรตีนด้วยเมทานอลของ GHB พบว่ามีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 82.85-103.67% ซึ่งเป็นค่าที่สามารถยอมรับได้ โดยเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับวิธีการศึกษาของ Shima และ คณะ (2005) ที่ใช้วิธีการตกตะกอนโปรตีนด้วยเมทานอลเช่นเดียวกันและมีการทำอนุพันธ์ของ GHB ซึ่งให้ค่าร้อยละของการคืนกลับเพียง 63% และจากการศึกษาค่าร้อยละของการคืนกลับของ 1,4-BD พบว่ามีค่าอยู่ในช่วง 52.29 – 59.43% และเมื่อทำการศึกษาเปรียบเทียบกับวิธีการศึกษาของ Blanchet และคณะ (2002) ที่ใช้วิธีการเตรียมตัวอย่างโดยวิธีตกตะกอนโปรตีนด้วยเอทานอลที่ให้ค่าร้อยละของการคืนกลับมีค่า 92.3 % แต่การศึกษาได้ทำการศึกษาโดยการฉีดสารตัวอย่างโดยไม่ผ่านขั้นตอนของการระเหย แต่การศึกษาในครั้งนี้ได้นำสารตัวอย่างที่ผ่านขั้นตอนของการเตรียมตัวอย่างไปทำการระเหยสารละลายเมทานอลทั้งนี้อาจทำให้สาร 1,4-BD มีการระเหยไปพร้อมกับสารละลายเมทานอลได้ อย่างไรก็ตามจากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าได้เทคนิค GC-FID และการเตรียมตัวอย่างโดยวิธีตกตะกอนโปรตีนด้วยเมทานอลสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ GHB และ 1,4-BD ในตัวอย่างเลือดได้

3.3 การศึกษาในสัตว์ทดลอง

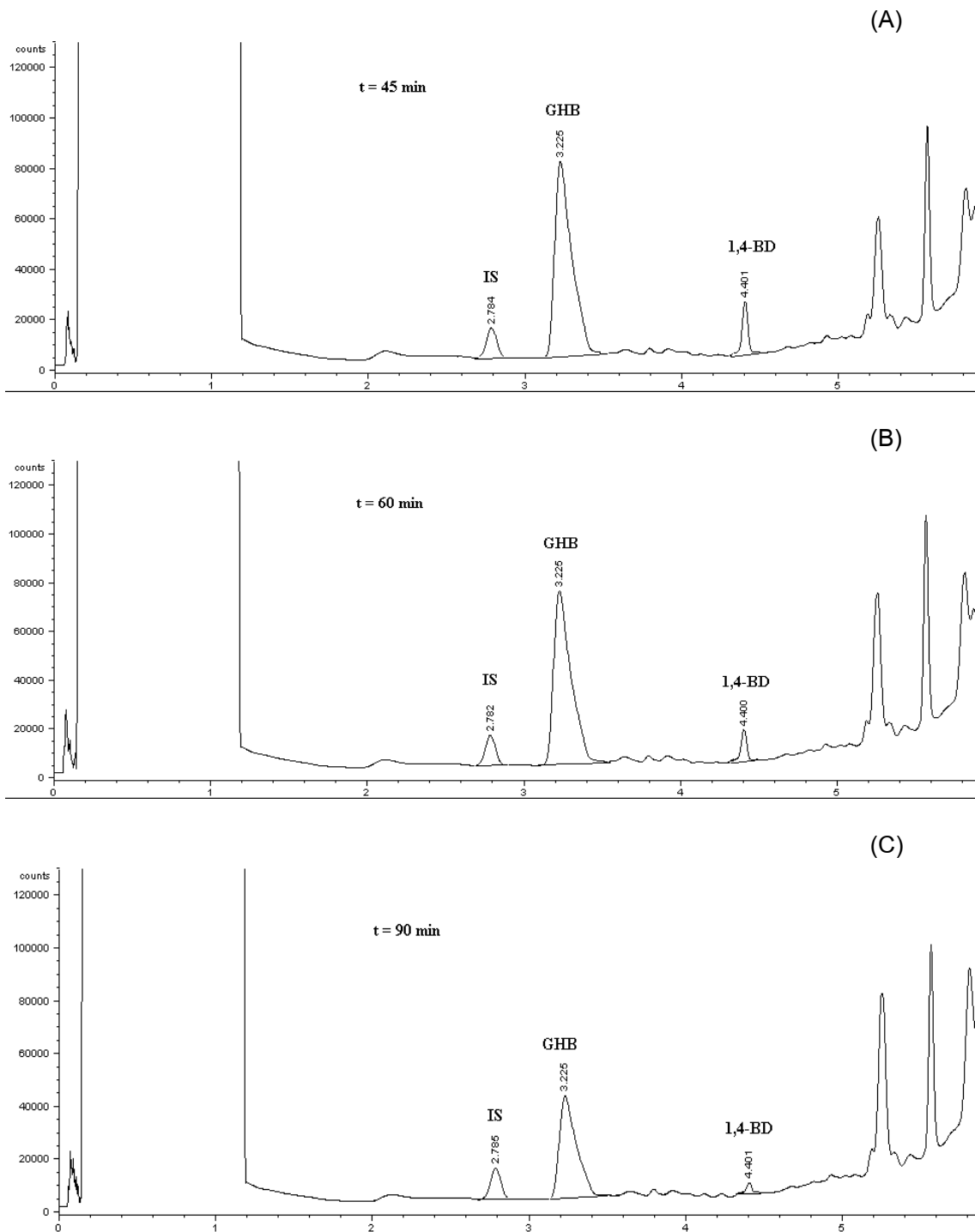
จากการศึกษาวิเคราะห์โครมาโทแกรมของสาร 1,4-BD และ GHB ในตัวอย่างเลือดของหนูจำนวน 3 กลุ่ม (n=5) ที่ได้รับสาร 1,4-BD ขนาด 150 mg/kg โดยวิธีการบริหารยาทางช่องท้องพบว่าสาร 1,4-BD สามารถถูกเปลี่ยนแปลงไปเป็น GHB ได้ภายในช่วงระยะเวลา 15 นาที ดังแสดง (ภาพที่ 3.7) และพบว่าสามารถตรวจพบสาร 1,4-BD ได้ภายในช่วงระยะเวลา 90 นาที (ภาพที่ 3.8) ส่วน GHB สามารถตรวจพบภายในช่วงระยะเวลา 120 นาที ดังแสดง (ภาพที่ 3.9)

3.3.1 การศึกษาวิเคราะห์ระดับยาในเลือด

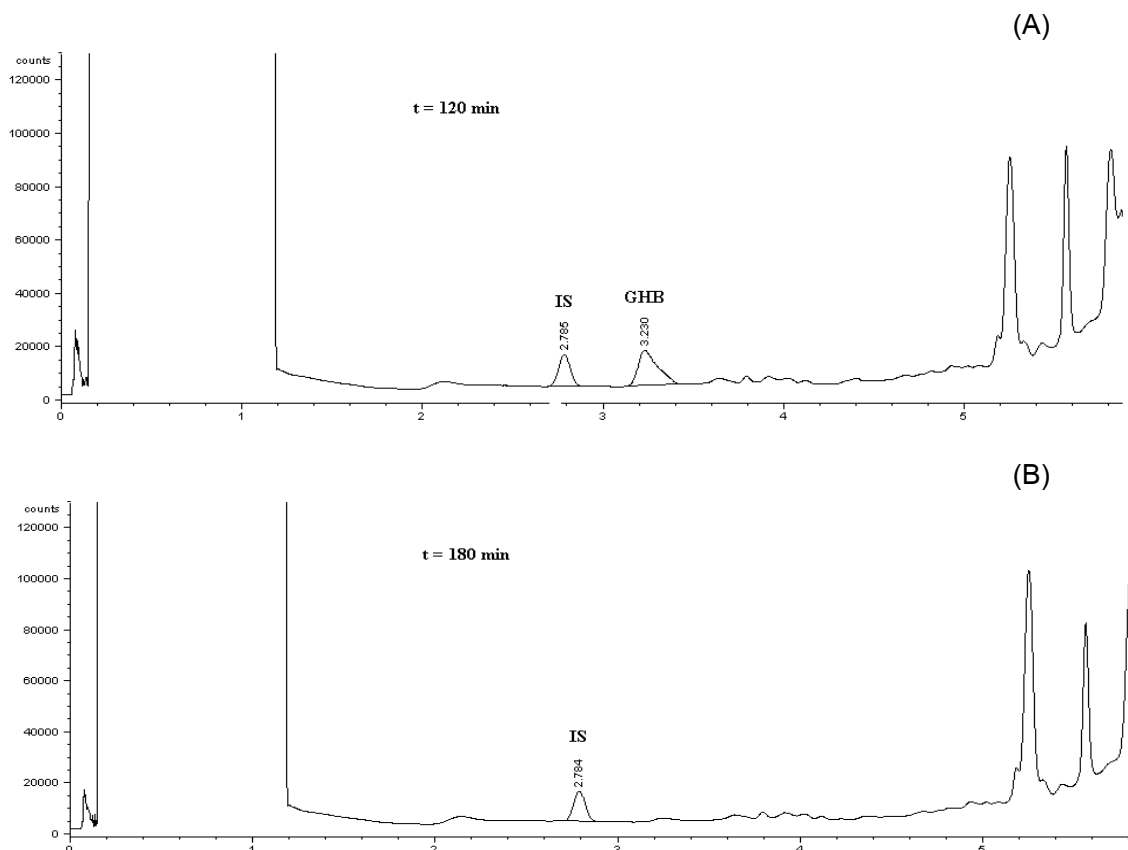
จากการตรวจวิเคราะห์ระดับยาในเลือดพบว่า 1,4-BD สามารถตรวจวัดในเชิงปริมาณได้ที่ภายในช่วงระยะเวลา 15-60 นาที ในหนูกลุ่มที่ 1(1,4-BD) และ 2 (1,4-BD+DS10) ส่วนหนูในกลุ่มที่ 3 (1,4-BD+DS10) สามารถตรวจวัดในเชิงปริมาณได้ที่ช่วงระยะเวลา 15-60 นาที สำหรับ GHB พบว่าสามารถตรวจวัดในเชิงปริมาณที่ช่วงระยะเวลา 15-120 นาที ได้ในหนูทุกกลุ่มและจากการนำผลการวิเคราะห์มาทำการสร้างกราฟของความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของระดับยาในเลือดกับระยะเวลาเพื่อนำมาหาค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ได้ผลการศึกษาดังแสดง (ภาพที่ 3.10 และ 3.11)



ภาพที่ 3.7 โครมาโทแกรมของสาร GHB และ 1,4-BD ในตัวอย่างเลือดของหนูภายหลังจากที่ได้รับสาร 1,4-BD ขนาด 150 mg/kg โดยวิธีการบริหารยาทางช่องท้อง; (A): ที่เวลา 0 นาที, (B): ที่เวลา 15 นาที (GHB = 69 $\mu\text{g/mL}$, 1,4-BD = 51.12 $\mu\text{g/mL}$); (C): ที่เวลา 30 นาที (GHB = 100.67 $\mu\text{g/mL}$, 1,4-BD = 26.33 $\mu\text{g/mL}$),



ภาพที่ 3.8 โครมาโทแกรมของสาร GHB และ 1,4-BD ในตัวอย่างเลือดของหนูภายหลังที่ได้รับสาร 1,4-BD ขนาด 150 mg/kg โดยวิธีการบริหารยาทางช่องท้อง; (A): ที่เวลา 45 นาที (GHB = 87.30 μ g/mL, 1,4-BD = 14.25 μ g/mL), (C): ที่เวลา 60 นาที (GHB = 79.14 μ g/mL, 1,4-BD = 8.62 μ g/mL), (D): ที่เวลา 90 นาที (GHB = 45.14 μ g/mL)



ภาพที่ 3.9 โครมาโทแกรมของ GHB และ 1,4-BD ในตัวอย่างเลือดของหนูภายหลังที่ได้รับสาร 1,4-BD ขนาด 150 mg/kg โดยวิธีการบริหารยาทางช่องท้อง; (A): ที่เวลา 120 นาที (GHB = 15 µg/mL), (B): ที่เวลา 180 นาที

3.3.2 การศึกษาทางเภสัชจลนศาสตร์ (Pharmacokinetics study)

จากการศึกษาค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของสาร 1,4-BD และ GHB โดยใช้แบบจำลองทางเภสัชจลนศาสตร์แบบหนึ่งส่วน (one-compartment model) ในการศึกษาและนำมาหาค่าความแตกต่างทางสถิติโดยใช้การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-way ANOVA) ที่กำหนดค่าของความแตกต่างทางสถิติ (p value) $p < 0.05$ จากการศึกษาค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของ 1,4-BD ในหนูจำนวน 3 กลุ่ม ($n=5$) พบว่าค่าระดับยาในเลือดสูงสุด (C_{max}), ค่าที่ระดับยาสูงสุด (T_{max}) และค่าพื้นที่ใต้กราฟความสัมพันธ์ของระยะเวลากับความเข้มข้นของระดับยาในเลือด ($AUC_{0 \rightarrow 60}$) ในหนูกลุ่มที่ 2 และ 3 ซึ่งเป็นกลุ่มที่ได้รับ Diethylstilbestrol เป็นระยะเวลา 10 และ 20 วัน ร่วมกับ 1,4-BD พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับหนูในกลุ่มที่ 1 ซึ่งเป็นกลุ่มที่ได้รับ 1,4-BD เพียงอย่างเดียว แต่จากการศึกษากลับพบว่าค่าคงที่ของอัตราการชำระยา (k_{el}) ในหนูกลุ่มที่ 3 มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมี

นัยสำคัญเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับหนูในกลุ่มที่ 1 (10.062 ± 0.02 กับ 0.033 ± 0.00 นาที⁻¹; $p < 0.05$) และพบว่าค่าครึ่งชีวิตของการกำจัดยา ($t_{1/2\text{ el}}$) ในหนูกลุ่มที่ 2 และ 3 มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 1 (15.21 ± 1.67 กับ 21.08 ± 2.30 นาที; $p < 0.05$) และ (12.62 ± 5.95 กับ 21.08 ± 2.30 นาที; $p < 0.05$) ดังแสดง (ตารางที่ 3.9) และจากการศึกษาค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของ 1,4-BD ยังพบว่าสอดคล้องกับรายงานของ Thai และคณะ (2007) ที่ได้ทำการศึกษาในอาสาสมัครจำนวน 8 คน ที่ได้รับ 1,4-BD ขนาด 25 mg/kg โดยการรับประทานที่พบว่า GHB มีค่าระดับความเข้มข้นของยาในเลือดเกิดขึ้นภายในระยะเวลา 39 ± 11.2 นาที เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับการศึกษาพบว่าค่าพารามิเตอร์ของระยะเวลาที่ระดับยาสูงสุด (T_{max}) ของ GHB ในหนูกลุ่มที่ 1 ที่มีค่า 39 ± 8.22 นาที เช่นกัน ดังแสดง (ตารางที่ 3.10)

ตารางที่ 3.9 ค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของสาร 1,4-BD ในหนูจำนวน 3 กลุ่ม (n=5)

พารามิเตอร์ (Parameters)	หน่วย (Unit)	กลุ่มของหนู (n=5)		
		กลุ่มที่ 1 (1,4-BD)	กลุ่มที่ 2 (1,4BD + DS10)	กลุ่มที่ 3 (1,4-BD + DS20)
C_{max}	$\mu\text{g/mL}$	64.53 ± 13.51	57.73 ± 7.36	61.23 ± 24.53
T_{max}	min	18.00 ± 6.70	15 ± 0.00	15.00 ± 0.00
k_{el}	min^{-1}	0.033 ± 0.004	0.040 ± 0.005	$0.062 \pm 0.02^*$
$t_{1/2\text{ el}}$	min	21.08 ± 2.30	$15.21 \pm 1.67^*$	$12.62 \pm 5.95^*$
$\text{AUC}_{0 \rightarrow 60}$	$\mu\text{g min/mL}$	1750.46 ± 485.83	1411.58 ± 306.35	1265.06 ± 506.00

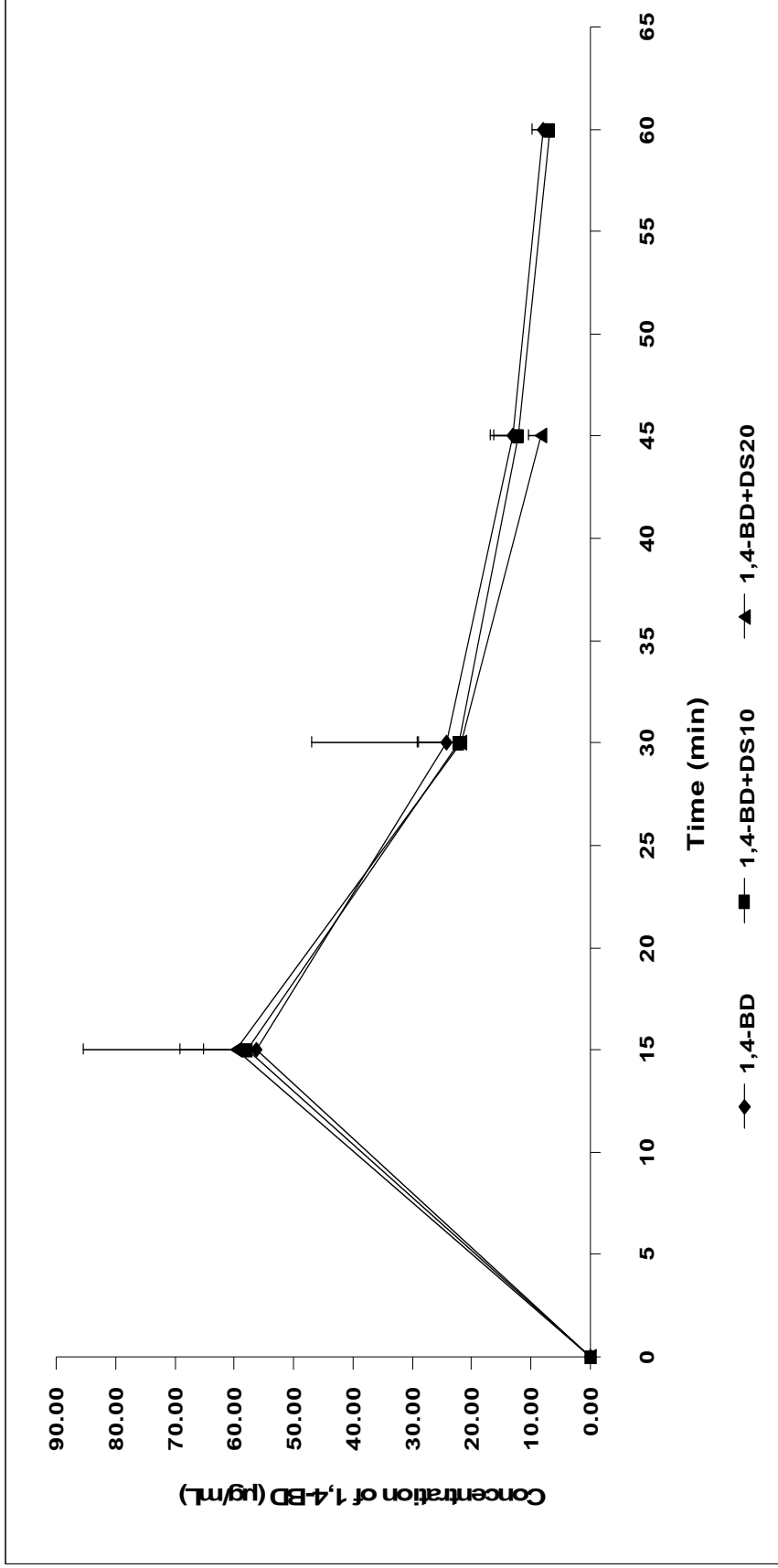
* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.05$ (One way ANOVA) เมื่อเปรียบเทียบกับหนูในกลุ่มที่ 1 ที่ได้รับสาร 1,4-BD ขนาด 150 $\mu\text{g/mL}$ เพียงอย่างเดียว

จากการศึกษาค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ GHB พบว่าค่าของระดับยาในเลือดสูงสุด (C_{max}), ค่าคงที่ของอัตราการชำระยา (k_{el}), ค่าครึ่งชีวิตของการกำจัดยา ($t_{1/2el}$) และค่าพื้นที่ใต้กราฟของความเข้มข้น ($AUC_{0 \rightarrow 120}$) ในหนูกลุ่มที่ 2 และ 3 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มที่ 1 แต่กลับพบว่าค่าระยะเวลาที่ระดับยาสูงสุด (T_{max}) ของหนูในกลุ่มที่ 2 และ 3 มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มที่ 1 (24 ± 8.22 กับ 39 ± 8.22) ดังแสดง (ตารางที่ 3.10) จากการศึกษาค่าทางสถิติของค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของ 1,4-BD และ GHB พบว่าหนูในกลุ่มที่ 2 และ 3 ซึ่งเป็นกลุ่มที่ได้รับ 1,4-BD ร่วมกับ diethylstilbestrol เป็นระยะเวลา 10 และ 20 วัน ตามลำดับ มีค่าครึ่งชีวิตของการกำจัดยา ($t_{1/2el}$) ที่มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญและหนูในกลุ่มที่ 3 มีค่าคงที่ของอัตราการชำระยา (k_{el}) ที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับหนูในกลุ่ม 1 ซึ่งเป็นหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับสาร 1,4-BD เพียงอย่างเดียว

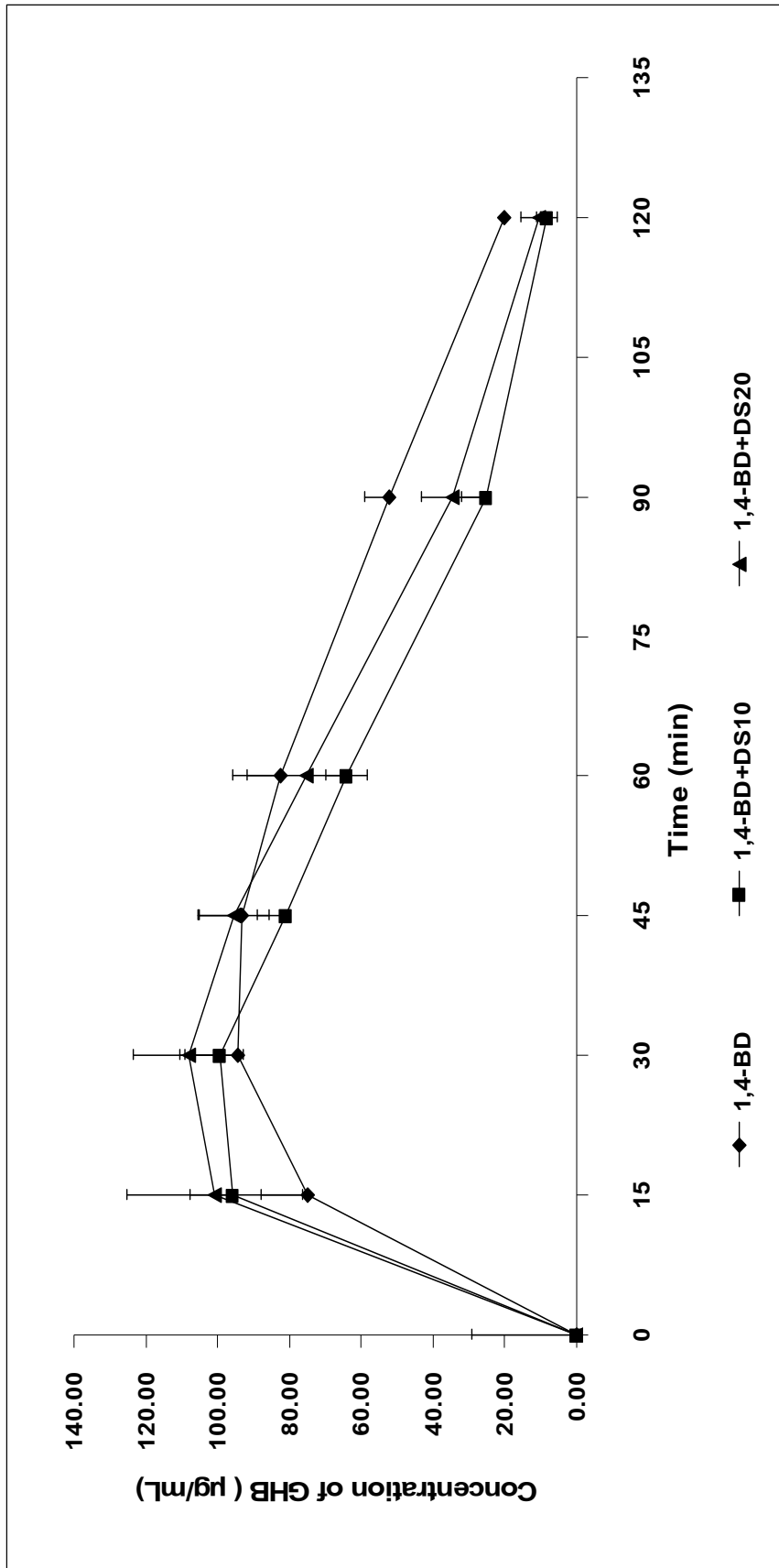
ตารางที่ 3.10 ค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของสาร GHB ในหนูจำนวน 3 กลุ่ม (n=5)

พารามิเตอร์ (Parameters)	หน่วย (Unit)	กลุ่มของหนู (n=5)		
		กลุ่มที่ 1 (BD)	กลุ่มที่ 2 (BD + DS10)	กลุ่มที่ 3 (BD + DS20)
C_{max}	$\mu\text{g/mL}$	101.54 \pm 11.29	101.90 \pm 8.70	116.52 \pm 13.66
T_{max}	min	39 \pm 8.22	24 \pm 8.22*	24 \pm 8.22*
k_{el}	min^{-1}	0.034 \pm 0.0044	0.037 \pm 0.006	0.036 \pm 0.0007
$t_{1/2el}$	min	20.80 \pm 2.90	18.98 \pm 3.17	20.01 \pm 3.92
$AUC_{0 \rightarrow 120}$	$\mu\text{g min/mL}$	7087.46 \pm 1779.62	6510.20 \pm 554.35	7434.09 \pm 1124.30

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.05$ (One way ANOVA) เมื่อเปรียบเทียบกับหนูในกลุ่มที่ 1 ที่ได้รับสาร 1,4-BD ขนาด 150 $\mu\text{g/kg}$ เพียงอย่างเดียว



ภาพที่ 3.10 กราฟความเข้มข้นของระยะเวลาที่ระดับยาในเลือดของสาร 1,4-BD ของหนูที่ได้รับสาร 1,4-BD ขนาด 150 mg/kg (mean \pm S.D.); กลุ่มควบคุมที่ได้รับเพียง 1,4-BD (1,4-BD), กลุ่มที่ได้รับ 1,4-BD ร่วมกับ diethylstilbestrol ขนาด 100 µg/kg เป็นระยะเวลา 10 วัน(1,4-BD+DS10), กลุ่มที่ได้รับ 1,4-BD ร่วมกับ Diethylstilbestrol ขนาด 100 µg/kg เป็นระยะเวลา 20 วัน (1,4-BD+DS20)



ภาพที่ 3.10 กราฟความสัมพัทธ์ของระยะเวลาที่ระดับยาในเลือดของสาร GHB ของหนูที่ได้รับสาร 1,4-BD ขนาด 150 mg/kg (mean \pm S.D.); กลุ่มควบคุมที่ได้รับเพียง 1,4-BD (1,4-BD), กลุ่มที่ได้รับ 1,4-BD ร่วมกับ diethylstilbestrol ขนาด 100 μ g/kg เป็นระยะเวลา 10 วัน (1,4-BD+DS10), กลุ่มที่ได้รับ 1,4-BD ร่วมกับ Diethylstilbestrol ขนาด 100 μ g/kg เป็นระยะเวลา 20 วัน (1,4-BD+DS20)

จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าหนูในกลุ่มที่ 2 และ 3 ซึ่งเป็นกลุ่มที่ได้รับสาร 1,4-BD ร่วมกับ diethylstilbestrol มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของสาร 1,4-BD ไปเป็นสาร GHB ได้รวดเร็วยิ่งขึ้น โดยมีความสอดคล้องกับค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของ GHB ที่พบว่าหนูในกลุ่มที่ 2 และ 3 มีค่าของระยะเวลาที่ระดับยาสูงสุด (T_{max}) ที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อนำมาศึกษาเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 1 ผลจากการศึกษาแสดงให้เห็นได้ว่า GHB ที่ตรวจพบในตัวอย่างเลือดของทุกกลุ่มที่ได้รับสาร 1,4-BD เป็น GHB ที่เกิดจากการผ่านกระบวนการเมแทบอลิซึมของสาร 1,4-BD จากรายงานการศึกษาของ Harada และ คณะ (1998) และ Francis (2002) ที่ได้รายงานว่าการให้ฮอร์โมนเอสโตรเจน (17β -estradiol) แก่หนูขาวเป็นระยะเวลา 20 วันมีผลทำให้ activity ของเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสเพิ่มขึ้น ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้ที่มีการให้ diethylstilbestrol แก่หนูขาวเป็นเวลา 20 วัน อาจมีผลทำให้ activity ของเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสในตับของหนูขาวเพิ่มสูงขึ้นซึ่งจะส่งผลทำให้กระบวนการเมแทบอลิซึมของ 1,4-BD สามารถที่จะเกิดได้รวดเร็วยิ่งขึ้นจนทำให้มีระดับของ GHB ในเลือดสูงขึ้นรวดเร็วกว่าหนูที่ไม่ได้รับ diethylstilbestrol แต่อย่างไรก็ตามกระบวนการเมแทบอลิซึมของ 1,4-BD ที่จะถูกเปลี่ยนแปลงไปเป็น GHB นั้น 1,4-BD จะถูกเปลี่ยนแปลงไปเป็น γ -hydroxybutyraldehyde โดยเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสต่อจากนั้นก็จะถูกเปลี่ยนแปลงต่อไปเป็น GHB ด้วยเอนไซม์แอลดีไฮด์ดีไฮโดรจีเนส (Couper และ Marinetti, 2002) ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่ในการทดลองครั้งนี้ที่หนูในกลุ่มที่ได้รับ diethylstilbestrol เป็นเวลา 20 วัน อาจมีผลทำให้ activity ของเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสในตับเพิ่มขึ้นจนทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ 1,4-BD ไปเป็น GHB สามารถเกิดได้รวดเร็วยิ่งขึ้นกว่าหนูในกลุ่มที่ไม่ได้รับ diethylstilbestrol อย่างไรก็ตามในปัจจุบันยังไม่มีรายงานที่แสดงการเปลี่ยนแปลง activity ของแอลดีไฮด์ดีไฮโดรจีเนสในตับที่เป็นผลมาจากการได้รับเอสโตรเจนเป็นระยะเวลานาน

จากรายงานการศึกษาเกี่ยวกับแอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสในหนูขาวพบว่าเอนไซม์ชนิดนี้มีอยู่ด้วยกัน 3 ไอโซเอนไซม์ คือ ADH-1, ADH-2 และ ADH-3 โดยจะมีกระจายอยู่ทั่วไปในร่างกายและในเนื้อเยื่อหลายชนิดของหนูขาว (Boleda และคณะ, 1989) โดย ADH-3 จะเป็นไอโซเอนไซม์หลักที่พบได้มากที่สุดในระดับและจะมี activity หลักสูงถึง 96% ต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมของเอทานอลในหนูขาว (90% จากตับ, 6% จากเนื้อเยื่อนอกตับ) ADH-1 จะมีส่วนร่วมในกระบวนการนี้เพียง 4% โดย ADH-3 จะพบได้มากที่สุดในระดับและพบได้บ้างที่ปอด, ลำไส้, ไต และอวัยวะเพศ ADH-1 พบได้ที่ หู, เยื่อบุผิวในปากและจมูก, คอร์เนีย, หลอดอาหาร, กระเพาะอาหาร, ลำไส้ใหญ่ส่วน rectum, อวัยวะเพศชายและช่องคลอด สำหรับ ADH-2 พบได้ในเนื้อเยื่อทั่วไปแต่จะมีฤทธิ์ต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมของเอทานอลน้อยมาก นอกจากนี้ยังมีรายงานการค้นพบ ADH class IV ในเส้นเลือดของหนูขาวแต่ไอโซเอนไซม์นี้มีผลต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมของเอทานอลน้อยมาก (Allali-Hassani และคณะ, 1997)

อย่างไรก็ตามในปัจจุบันยังไม่มีรายงานใดที่ระบุว่าไอโซเอนไซม์ใดมีบทบาทสำคัญต่อการเมแทบอลิซึมของ 1,4-BD แต่เนื่องจาก 1,4-BD มีกระบวนการเมแทบอลิซึมคล้ายกับเอทานอลในมนุษย์ (Couper และ Marinetti, 2002) ผลจากการศึกษาดังกล่าวเสนอแนะว่าการเมแทบอลิซึมของ 1,4-BD เกิดผ่านทาง ADH-3 ซึ่งมีอยู่ในตับเป็นส่วนใหญ่และมีความเป็นไปได้ที่ 1,4-BD อาจถูกเปลี่ยนแปลงโดย ADH-3 ในเนื้อเยื่ออื่นหรือ ADH-1 ซึ่งเกิดขึ้นในอัตราส่วนที่น้อยมาก

GHB เป็นสารที่พบได้ตามธรรมชาติภายในร่างกายเนื่องจากเป็นสารที่ได้จากการเปลี่ยนแปลงของ GABA (Couper และ Marinetti, 2002) โดยระดับความเข้มข้นของ endogenous GHB ในซีรัมของมนุษย์จะมีค่าอยู่ในช่วง 0.62-3.24 mg/L (mean = 1.14 mg/L, median = 0.97 mg/L, n= 50) และในปัสสาวะของมนุษย์จะมีค่าอยู่ในช่วง 0.64-4.20 mg/L (mean = 1.21 mg/L, median = 0.96 mg/L, n= 50) (Andresen และคณะ, 2010) ในปัจจุบันยังไม่มีรายงานระดับความเข้มข้นของ endogenous ของ GHB ของหนูขาวแต่ความเข้มข้นของ endogenous GHB ในมนุษย์จากรายงานข้างต้นที่พบว่าจะมีค่าที่ต่ำกว่าระดับ LOQ ของการตรวจวิเคราะห์ในการศึกษาครั้งนี้ (6 µg/mL[mg/L]) อย่างไรก็ตามจากข้อมูลดังกล่าวนี้เสนอแนะว่าความเข้มข้นของ GHB ที่วัดได้จากการศึกษาในครั้งนี้จะเป็นผลรวมของ GHB ที่เกิดจากการเมแทบอลิซึมของ 1,4-BD และ endogenous GHB แต่เนื่องจาก endogenous GHB ของการศึกษาในครั้งนี้จะมีในระดับที่ต่ำมากโดยไม่สามารถตรวจวัดระดับของ GHB ในซีรัมจากตัวอย่างเลือดที่เก็บที่เวลา 0 นาที ของหนูทุกกลุ่มการทดลอง (ต่ำกว่า LOQ) ดังนั้น endogenous GHB จึงไม่น่าจะมีผลต่อการทดลองในครั้งนี้ ทั้งนี้เป็นที่ตระหนักว่าเมื่อระดับความเข้มข้นของ GHB ในเลือดของหนูขาวลดต่ำลงมากเช่นในตัวอย่างเลือดที่เก็บที่เวลา 120 นาที ของหนูในทุกกลุ่มการทดลองจนมีค่าใกล้เคียงกับระดับ LOQ ทำให้ระดับความเข้มข้นที่ได้ อาจเกิดจาก endogenous GHB ที่มีในตัวอย่างเลือดด้วยจึงอาจส่งผลกระทบต่อผลการทดลองได้

บทที่ 4

สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาผลของเอสโตรเจนต่อเภสัชจลนศาสตร์ของสาร 1,4-Butanediol (1,4-BD) และ GHB โดยในการศึกษานี้ได้ทำการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณของสาร 1,4-BD และ GHB ซึ่งเกิดจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของสาร 1,4-BD ในตัวอย่างเลือดด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีและตัวตรวจวัดชนิดเฟลมไอออไนเซชัน (GC-FID) และใช้วิธีการเตรียมตัวอย่างโดยวิธีตกตะกอนโปรตีนด้วยเมทานอล จากการศึกษาหาค่าความถูกต้องของการตรวจวิเคราะห์ของค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (LOD) และค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดในเชิงปริมาณ (LOQ) ของสาร 1,4-BD และ GHB พบว่า มีค่าเท่ากับ 2.5 และ 6 $\mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ โดยค่าความเที่ยงของการตรวจวิเคราะห์ภายในวันเดียวกันและระหว่างวันของสาร GHB มีร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (% RSD) อยู่ในช่วง 1.47-2.65 % และ 1.44-3.63 % ตามลำดับ และ 1,4-BD มีค่าอยู่ในช่วง 1.11-5.47 และ 3.90-10.33 % ตามลำดับ โดยมีค่าความแม่นยำของการตรวจวิเคราะห์ภายในวันเดียวกันและระหว่างวันของ GHB มีร้อยละของค่าความคลาดเคลื่อน (% DEV) อยู่ในช่วง -4.50-0.82 % และ -2.88-(-11.33) % ตามลำดับ และ 1,4-BD มีค่าอยู่ในช่วง -5.22-(-12.75) % และ -4.45-12.50 % ตามลำดับ ซึ่งเป็นค่าที่สามารถยอมรับได้ จากการศึกษาหาค่าของช่วงความเป็นเส้นตรงของสาร GHB และ 1,4-BD พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์ของความเป็นเส้นตรง (r) เท่ากับ 0.9993 และ 0.9998 ตามลำดับ จากผลการศึกษาค่าร้อยละของการคืนกลับของเตรียมตัวอย่างโดยวิธีตกตะกอนโปรตีนด้วยสารละลายเมทานอลพบว่ามีค่าร้อยละการคืนกลับของ GHB มีค่าอยู่ในช่วง 82.85-103.67% ซึ่งอยู่ในช่วงที่สามารถยอมรับได้แต่พบว่ามีค่าร้อยละการคืนกลับของ 1,4-BD มีค่าอยู่ในช่วง 52.29 – 59.43% ทั้งนี้อาจเกิดขึ้นในส่วนของขั้นตอนการระเหยที่อาจทำให้สารระเหยไปพร้อมกับเมทานอลซึ่งอาจใช้วิธีการที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างและในการศึกษานี้ได้ใช้สาร octanol เป็น internal standard (IS.) โดยเป็นการเติมสารหลังจากผ่านขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างซึ่งขอเสนอแนะให้ใช้สารชนิดอื่นที่มีความเหมาะสมกว่า octanol โดยเป็นสารที่มีจุดเดือดที่สูงและมีคุณสมบัติทนต่อความร้อนและการระเหย แต่อย่างไรก็ตามจากการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าเทคนิค GC-FID และวิธีการเตรียมตัวอย่างโดยวิธีตกตะกอนโปรตีนด้วยเมทานอลสามารถใช้ในการตรวจวิเคราะห์หาสาร GHB และ 1,4-BD ในตัวอย่างเลือดซึ่งพบว่าเป็นวิธีการที่ให้ความสะดวกรวดเร็วมีความถูกต้องและแม่นยำในการตรวจวิเคราะห์สามารถลดค่าใช้จ่ายและขั้นตอนในการตรวจวิเคราะห์สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในงานทางด้านนิติวิทยาศาสตร์ได้

จากการศึกษาในหนูขาวใหญ่เพศผู้สายพันธุ์ Wistar จำนวน 3 กลุ่ม (n=5) โดยหนูกลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุมที่ได้รับสาร 1,4-BD ขนาด 150 µg/kg เพียงอย่างเดียวและหนูกลุ่มที่ 2 และ 3 เป็นกลุ่มที่ได้รับสาร 1,4-BD ร่วมกับ diethylstilbestrol ซึ่งเป็นฮอร์โมนเอสโตรเจนสังเคราะห์เป็นระยะเวลา 10 และ 20 วัน ตามลำดับ โดยเก็บตัวอย่างเลือดที่เวลา 0, 15, 30, 45, 60, 90, 120 และ 180 นาที จากการศึกษาทางสถิติของค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ (pharmacokinetic parameter) ของ 1,4-BD โดยพบว่าหนูในกลุ่มที่ 3 มีค่าคงที่ของอัตราการชำระยา (K_{el}) ที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญและมีค่าครึ่งชีวิตของการกำจัดยา ($t_{1/2el}$) ของหนูในกลุ่มที่ 2 และ 3 ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับหนูในกลุ่มที่ 1 แสดงให้เห็นว่า 1,4-BD สามารถเกิดกระบวนการเมแทบอลิซึมได้เร็วขึ้นโดยมีความสอดคล้องกับค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของ GHB ที่พบว่าหนูในกลุ่มที่ 2 และ 3 มีค่าระยะเวลาที่ระดับยาสูงสุด (T_{max}) ลดลงและอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มที่ 1 แสดงให้เห็นว่าเอสโตรเจนอาจมีผลทำให้ activity ของเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสในตับของหนูเพิ่มขึ้นทำให้การเปลี่ยนแปลงของ สาร 1,4-BD ไปเป็น GHB สามารถเกิดได้เร็วขึ้นด้วย ซึ่งการที่ activity หรือการทำงานของเอนไซม์ที่เพิ่มขึ้นนี้อาจมีผลกับสภาวะสองหรือสตรีที่มีการรับประทานยาเม็ดคุมกำเนิดที่มีส่วนผสมของฮอร์โมนเอสโตรเจนโดยกลุ่มบุคคลเหล่านี้เป็นกลุ่มที่มีโอกาสที่จะได้รับเอสโตรเจนอย่างต่อเนื่องเป็นระยะเวลายาวนานติดต่อกันโดยเอสโตรเจนอาจมีผลในการเหนี่ยวนำเอนไซม์ที่ทำให้ activity ของเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสในตับเพิ่มมากขึ้นซึ่งหากกลุ่มบุคคลเหล่านี้ได้สาร 1,4-BD โดยวิธีการเสพโดยตรงหรืออาจได้รับสาร 1,4-BD โดยทางอ้อมร่วมด้วยแล้วนั้นอาจมีผลทำให้กลุ่มบุคคลเหล่านี้มีโอกาสได้รับสาร GHB ได้รวดเร็วขึ้นจนอาจมีผลทำให้มีระดับของ GHB ในกระแสเลือดเพิ่มสูงขึ้นจนถึงระดับที่ก่อให้เกิดความเป็นพิษและอาจส่งผลทำให้เกิดกรณีของการเสียชีวิตได้ อย่างไรก็ตามการศึกษารั้งนี้เป็นเพียงการศึกษาทางเภสัชจลนศาสตร์ โดยไม่มีการตรวจวัด activity ของเอนไซม์ในตับเพื่อยืนยันผลการทดลองและต้องพึงระวังในเรื่องระดับ endogenous GHB ในร่างกายเนื่องจากอาจมีผลต่อการแปรผลการตรวจวิเคราะห์ซึ่งอาจส่งผลในทางกฎหมายและกระบวนการยุติธรรมได้ อย่างไรก็ตามจากการศึกษาวิจัยในครั้งนี้จึงอาจเป็นประโยชน์ในการออกมาตรการควบคุมสารกลุ่มดังกล่าวนี้ในประเทศไทยและคาดหวังเป็นอย่างยิ่งว่าข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้จะเป็นประโยชน์ในการนำไปใช้ในการศึกษาวิจัยในงานทางด้านเภสัชวิทยาและพิษวิทยาและยังอาจนำไปใช้เป็นพยานหลักฐานประกอบเพื่อสนับสนุนงานในทางด้านนิติวิทยาศาสตร์ได้ในโอกาสต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- กนกธร ปิยธำรง. 2542. ชีวิตวิทยาของร่างกาย. พิมพ์ครั้งที่ 1. โอ เอส พริ้นติ้ง: กรุงเทพฯ.
- ชูพงศ์ เวชแพศย์. 2540. สรีรวิทยาของมนุษย์ 2. พิมพ์ครั้งที่ 3. บุญศิริการพิมพ์: กรุงเทพฯ.
- พัชรา วีระกะลัส. 2541. เอนไซม์. พิมพ์ครั้งที่ 1. ด่านสุทธาการพิมพ์: กรุงเทพฯ.
- มงคล รายนาค. 2537. แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรเมตรี. ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่: จังหวัดเชียงใหม่. 1-50.
- มาลียา มโนรณ. 2544. เกสัชวิทยาพื้นฐานและคลินิกของต่อมไร้ท่อ. พิมพ์ครั้งที่ 3. หจก.พี.บี. ฟอเรนบู้คส์ เซนเตอร์: กรุงเทพฯ.
- แมน อมรสิทธิ์ และ อมร เพชรสม. 2539. หลักการและเทคนิควิเคราะห์เชิงเครื่องมือ. ชวนชม: กรุงเทพฯ.
- ศรีจันทร์ พรจิราศิลป์. 2540. เกสัชวิทยาเล่ม 1 พิมพ์ครั้งที่ 1. ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. นวัตกรรมมิตรการพิมพ์: กรุงเทพฯ.
- สุนนา ชมพูทวีป. 2541. เกสัชวิทยาของฮอโรมอน. พิมพ์ครั้งที่ 1. เท็ก แอนด์ เจอร์นัลพับลิเคชั่น: กรุงเทพฯ.
- สัมมน โฉมฉาย. 2546. ภัยคุกคามชนิดใหม่ Gamma-hydroxybutyrate(GHB) และ analogues. จุลสารพิษวิทยา. 11(9): 27-32.
- สำนักข่าวกรองยุทธศาสตร์. 2546. ความรู้เกี่ยวกับ GHB และ GBL. วารสารสำนักงาน ป.ป.ส. 19, 2 (กันยายน 2546-กุมภาพันธ์ 2547): 56-58.
- อภิชาติ จิตต์เจริญ. 2551. สภาวะประเภทสองกีนยาคุมระวังอันตรายเส้นเลือดอุดตัน [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก: <http://ramacclinic.ra.mahidol.ac.th/healthnews/hnews0063.html>. (วันที่สืบค้น 20 กรกฎาคม 2552)

- Abanades, S., Farre, M., Segura, M., Pichini, S., Pastor, A., Pacifici, R., Pellegrini, and Torre, R. 2007. Disposition of Gamma-Hydroxybutyric acid in conventional and nonconventional biologic fluids after single drug administration: Issue in methodology and drug monitoring. *Therapeutic Drug Monitoring*. 29(2): 64-70.
- Addolorato, G., Capristo, E., Gessa, GL., Caputo, F., Stefanini, GF., and Gasbarrini, G. 1999. Long-term administration of GHB does not affect muscular mass in alcoholics; *Life Science*. 65(6): 191-196.
- Allali-Hassani, A., Martinez, S.E., Perralba, J.M., Vaglenova, J., Vidal, F., Richart, C., Farres, J., and Pares, X. 1997. Alcohol dehydrogenase of human and rat blood vessels role in ethanol metabolism. *Federation of European Biochemical Societies*. 405: 26-30.
- Andresen, H., Sprys, N., Schmoltdt, A., Mueller, A., and Iwersen-Bergmann, S. 2010. Gamma-hydroxybutyrate in urine and serum: additional data supporting current cut-off recommendations. *Forensic science International*. 15(7): 93-99.
- Bessman, S.P., and Fishbein, W.N. 1963. Gamma-hydroxybutyrate: A new metabolite in the brain metabolite. *Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*. 22: 334.
- Blanchet, B., Morand, K., and Hulin, A. 2002. Capillary gas chromatographic determination of 1,4-butanediol and γ -hydroxybutyrate in human plasma and urine *Journal of Chromatography B*.769(4): 221-226.
- Brenneisen, R., Elsohly, M.A., Murphy, T.P., Passarelli, J., Russmann, S.S., and David, E.W . 2004. Pharmacokinetics and excretion of gamma-hydroxybutyrate (GHB) in Healthy Subjects. *Journal of Analytical Toxicology* 28(8): 625-30.

- Boleda, MD., Julia, P., Moreno, A., and Pares, X. 1989. Role of extrahepatic alcohol dehydrogenase in rat ethanol. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 274(8): 74-81.
- Chin, RL., Sporer, KA., Cullison, B., Dyer, J.E., and Wu, TD. 1998. Clinical course of gamma-hydroxybutyrate overdose. *Journal of Analytical Emergency Medical*. 31: 716-722.
- Couper, F.J., and Marinetti L.J. 2002. γ -Hydroxybutyrate (GHB) Effects on human performance and behavior. *Forensic Science Review*.14(1): 101-120.
- Derman, R. 1986. Oral contraceptives; Assessment of benefits. *Journal of reproductive medicine*. 31(9): 879-886.
- Diana, M., Mereu, G., Mura, A., Fadda, F, Passino, N., and Gessa, G. 1991. Low doses of γ -hydroxybutyric acid stimulate the firing rate of dopaminergic neurons in unanesthetized rats. *Brain Research*. 566: 208.
- Doherty, J.D., Stout, R.W., and Roth, R.H. 1975. Metabolism of (1-¹⁴C) -hydroxybutyric acid in rat brain after intraventricular injection. *Biochemical Pharmacology*. 24: 469-474.
- Dyer, J.E. 1991. Gamma-hydroxybutyrate. A health-food product producing coma and seizure-like activity. *American Journal of Emergency Medicine*. 9: 321-324.
- Dyer, J.E., Roth, B., and Hyma, B.A. 2001. Gamma-hydroxybutyrate withdrawal syndrome. *Annals of Emergency Medicine*. 37(2): 147-153.
- Elliott, S. 2003. Gamma hydroxybutyric acid (GHB) concentrations in humans and factors affecting endogenous production. *Forensic Science International*. 133(1) : 9-16.

- Elliott, S., and Burgess, V. 2005. The presence of gamma-hydroxybutyric acid (GHB) and gamma-butyrolactone (GBL) in alcoholic and non-alcoholic beverages. *Forensic Science International* 151(7): 289-292.
- FDA. 2001. Guidance for Industry. Bioanalytical Method Validation of Food and Drug Administration in U.S., 1-22.
- Ferrara, S.D., Tedeschi, L., Frison, G., and Rossi, A. 1995. Fatality due to gamma-hydroxybutyric acid (GHB) and heroin intoxication. *Journal of Forensic Science*. 40: 501.
- Harada, S., Tachiyashiki, K., and Imaizumi, K. 1998. Effect of sex hormones on rat liver cytosolic alcohol dehydrogenase activity. *Journal Nutrition Science Vitaminol (Tokyo)*. 44(5): 625-639.
- Kankaanpaa, A., Liukkonen, R., and Ariniemi, K. 2007. Determination of γ -hydroxybutyrate (GHB) and its precursors in blood and urine samples: a salting-out approach. *Forensic Science International*.170: 133-138.
- Kaufmann, E., and Alt, A. 2007. Determination of GHB in urine and serum by LC/MS using a simple one-step derivative. *Forensic Science International*. 168: 133–137.
- LeBeau, M.A., Montgomery, M.A., Miller, M. L., and Burmeister, S.G. 2000. Analytical of biofluids for gamma-hydroxybutyrate (GHB) and gamma-butyrolactone (GBL) by headspace GC-FID and GC-MS. *Journal of Analytical Toxicology*. 24(9): 421-428.
- LeBeau, M. A., Christenson, R. H., Levine, B., Darwin, W. D., and Huestis, M.A. 2002. Intra- and interindividual variations in urinary concentrations of endogenous gamma-hydroxybutyrate (GHB). *Journal of Analytical Toxicology*. 26(9): 340-346.

- Lettieri, J., and Fung, H.L. 1978. Improved pharmacological activity via pro-drug modification comparative pharmacokinetics of sodium gamma-hydroxybutyrate and γ -butyrolactone. *Research Communication Chemical Path Pharmacology*. 22(10): 107-118.
- Li, J., Stokes, S.A., and Woekener, A. 1998. A tale of novel intoxication review of the effects of gamma-hydroxybutyric acid with recommendations for management. *Annals of Emergency Medicine*. 31(6): 729-736.
- Lora-Tamayo, C., Tena, T., Rodríguez, A., Sanchob, J.R., and Molinac, E. 2003. Intoxication due to 1,4-butanediol. *Forensic Science International*. 133: 256-259.
- Maxwell, R., and Roth, R.H. 1972. Conversion of 1,4-butanediol to hydroxybutyric acid in rat brain and in peripheral tissue. *Biochemistry of Pharmacology*. 21: 1521-1533.
- Mamelak, M. 1989. Gamma-hydroxybutyrate: An endogenous regulator of energy metabolism. *Neuroscience Biobehavior Review*. 13: 187-197.
- Negelein, E., and Wuff, H.J. 1937. Diphosphopyridinproteid alcohol acetaldehyd. *Journal of Biochem*. 293: 351.
- Okun, M.S., Boothby, L.S., Bartfield, R.B., and Doering, PL. 2001. GHB: an important pharmacologic and clinical update. *Journal of Pharmaceutical of Science*. 4(2): 167-175.
- Poldrugo, F. and Snead III, O.C. 1984. 1,4 Butanediol, γ -hydroxybutyric acid and ethanol: Relationships and interactions. *Journal of Neuropharmacology*. 23(1): 109-113.

- Polson, C., Sarkar, P., Incledon, B., Raguvaran, V., and Grant, R. 2003. Optimization of protein precipitation based upon effectiveness of protein removal and ionization effect in liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*. 785: 263-275.
- Racker, E. 1950. Crystalline alcohol dehydrogenase from bakers' yeast. *Journal of Biology Chemistry*. 184(5): 313-319.
- Roth, R.H, and Giarman, N.J. 1968. Evidence that central nervous system depression by 1,4-butanediol is mediated through a metabolite, gamma-hydroxybutyrate. *Biochemistry Pharmacology*. 17(5): 735-739.
- Schwartz, R.H., Milteer, R., and LeBeau, M.A. 2000. Drug-facilitated sexual assault (date rape). *Southern Medical Journal*. 93(6): 558-561.
- Shannon, M. and Quang LS. 2000. Gamma-hydroxybutyrate, gamma-butyrolactone and 1,4-butanediol; case report and review literature. *Pediatric Emergency Care*. 16(12): 435-440.
- Shima, N., Miki, A., Kamata, T., Katagi, M., and Tsuchihashi, H. 2005. Endogenous level and *in vitro* production of GHB in blood from healthy human, and the interpretation of GHB levels detected in antermortem blood sample. *Journal of Health Science*. 51(2): 147-154.
- Shumate, J.S., Snead III, O.C. 1979. Plasma and central nervous system kinetics of gamma-hydroxybutyrate. *Research Communication Chem Path Pharmacology*. 25: 241.
- Simon, F.R., Fortune, J., Iwahashi, M., and Sutherland, E. 2002. Sexual dimorphic expression of ADH in rat liver: importance of hypothalamic-pituitary-liver axis. *American Journal of Physiology*. 283(4): 646-655.

- Snead, III O.C. 2000. Evidence for a G protein-coupled gamma-hydroxybutyric acid receptor. *Journal of Neurochemistry*. 75(12):1986-1996.
- Sprince, H., Josephs, J., and Wilpizeski, C.R. 1966. Neuropharmacological effects of 1,4-butanediol and related congeners compared with those of gamma-hydroxybutyrate and gamma-butyrolactone. *Life Science*. 5: 2041-2052.
- Stephens, B.G., and Baselt, R.C. 1994. Driving under the influence of GHB?. *Journal of Analytical Toxicology*. 18(6): 357-358.
- Substance Profile. 2004. Diethylstilbestrol CAS No. 56-53-1. [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก: <http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/roc/eleventh/profiles/s071diet.pdf>. (วันที่สืบค้น 5 กุมภาพันธ์ 2553)
- Swartz, M. and Krull, I.S. 1997. *Analytical method development and validation*. New York, U.S.A.: MARCEL DEKKER, INC.
- Takahara, J., Yunoki, S., Yakushiji, W., Yamauchi, J., Yanane, Y., and Ofuji, T. 1977. Stimulatory effects of gamma-hydroxybutyric acid on growth hormone and prolactin release in humans; *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 44: 1014.
- Teschke, R. Wannagat, F., Lowendorf, F., and Strohmeyer, G. 1986. Hepatic alcohol metabolizing enzymes after prolonged administration of sex hormone and alcohol in female rats. *Biochemical Pharmacology*. 3(2): 521-527.
- Thai, D., Dyer, J.E., Jacob, P., and Haller, C. 2007. Clinical pharmacology of 1,4-butanediol and gamma-hydroxybutyrate after oral 1,4-butanediol administration to healthy volunteers. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 81(2): 178-184.

- Timby, N., Eriksson, A., and Bostrom, K. 2000. Gamma-hydroxybutyrate associated deaths. *The American Journal of Medicine*. 108(6):518-519.
- Traves, C., Camps, L., and Lopez, D. 1995. Liver alcohol dehydrogenase activity and ethanol levels during chronic ethanol intake in pregnant rats and their offspring. *Journal of Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 52(9): 93-99.
- Vayer, P., Ehrhardt, J.D., Gobaille, S., Mandel, P., and Maitre, M. 1988. Gamma hydroxybutyrate distribution and turnover rates in discrete brain regions of the rat. *Neurochemistry International*. 12:53-59.
- Vidal, F., Perez, J., Morancho, J. Pinto, B., and Richart, R. 1990. Hepatic alcohol dehydrogenase activity in alcoholic subjects with and without liver disease. *An International Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 31(8): 707-711.
- Vree, T.B., Van dalen, R., Van der K., and Gimbrere, J.S.F. 1978. Pharmacokinetics of 1,4-butanediol and 4-hydroxybutyric acid in man, rhesus monkey, and dog. *Anesthesiol. Intensivmed*. 110: 66-73.
- Vriendt, C.A., Sassenbroeck, D.K. van, Rosseel, M.T., van de Velde, E.J., Verstraete, A.G., Vander Heyden, Y., and Belpaire, F.M. 2001. Development and-validation of a high-performance liquid chromatographic method for the determination of γ -hydroxybutyric acid in rat plasma. *Journal of Chromatography*. 1(3): 85-90.
- Waszkielewicz, A., and Bojarski, J. 2004. γ -Hydroxybutyric acid (GHB) and its chemical modification: A review of the GHBergic system. *Polish Journal of Pharmacology*. 56: 43-49.
- Weir, E. 2000. Rave: review of the culture, the drugs and the prevention of harm. *Canadian Medical Association Journal*. 93(6): 1843-1848.

Wong, S.M., Ging, Y.S., Lu, M.J.B., and Kuo, T.L. 2006. Determination of gammahydroxybutyrate (GHB) in biology specimens by simultaneous extraction and chemical derivatization followed by GC-MS. *Forensic Science Journal*. 5(10): 41-54.

Zvosec, DL., Smith, SW., McCutcheon, JR., Spillane, J., Hall, BJ., and Peacock, EA. 2001. Adverse, including death associated with the use of 1,4-butanediol. *New England Journal of Medical*. 334(1): 87-94.

ภาคผนวก

ภาคผนวก-1

การศึกษาค่าความถูกต้องของการตรวจวิเคราะห์สาร GHB และ 1,4-BD

ตารางภาคผนวกที่ 1-1 ค่าสัญญาณการตอบสนองของ noise ในตัวอย่างเลือดเพื่อหาค่า LOD และ LOQ ของการวิเคราะห์สาร GHB และ 1,4-BD

Blank	N	response peak area of noise	response peak area of IS.	peak area ratio	mean	S.D.
GHB	1	2713.6	62776.2	0.043	0.04	0.003
	2	2608.99	62857.9	0.042		
	3	2509.23	67607.9	0.037		
	4	2617.28	63247.7	0.041		
	5	2647.75	70879.3	0.037		
1,4-BD	1	1706.58	51559.6	0.0331	0.03	0.007
	2	2486.31	63949.6	0.0389		
	3	1971.89	51828.2	0.0380		
	4	1295.62	50468.6	0.0257		
	5	1125.91	52914.5	0.0213		

ตารางภาคผนวกที่ 1-2 การหาค่า LOD และ LOQ ของสาร GHB

Concentration (µg/mL)	N	response peak area of GHB	response peak area of IS.	Peak area ratio	mean	S.D.	S/N
6	1	29919.7	74014.3	0.40	0.47	0.07	11.85
	2	33079.9	61316.3	0.54			
	3	34902.5	85234.9	0.41			
	4	30566.4	66874.8	0.46			
	5	39351.0	70475.3	0.56			
5	1	10996.4	61762.6	0.18	0.22	0.04	5.48
	2	14753.0	62780.8	0.23			
	3	19385.0	90583.3	0.21			
	4	11527.7	62347.2	0.18			
	5	18178.2	64577.2	0.28			
2.5	1	10764.8	82315.1	0.13	0.13	0.01	3.20
	2	9724.45	79116.3	0.12			
	3	10675.5	83840.9	0.13			
	4	10367.7	77915.2	0.13			
	5	9785.0	77915.2	0.13			

ตารางภาคผนวกที่ 1-3 การหาค่า LOD และ LOQ ของสาร 1,4-BD

Concentration (µg/mL)	N	response peak area of 1,4-BD	response peak area of IS.	Peak area ratio	mean	S.D.	S/N
10	1	27077.6	55656.1	0.487	0.54	0.045	17.55
	2	31720.6	55171	0.575			
	3	36261.2	71616.7	0.506			
	4	30915	52690.9	0.587			
	5	30948.3	54794.7	0.565			
6	1	15282.2	53433.9	0.286	0.35	0.054	11.20
	2	19088.6	64186.2	0.297			
	3	21480.0	54484.3	0.394			
	4	20862.1	51807.2	0.403			
	5	18467.1	52332.9	0.353			
2.5	1	9505.13	54463	0.175	0.17	0.043	4.13
	2	5651.6	50437.2	0.112			
	3	9623.83	57693	0.167			
	4	13254.7	73226.5	0.181			
	5	12942.1	55504.3	0.233			

ตารางภาคผนวกที่ 1-4 การหาค่าความเที่ยงในการตรวจวิเคราะห์ภายในวันเดียวกัน (intra-day) ของ GHB

Concentration (µg/mL)	N	response peak area of GHB	response peak area of IS.	Peak area ratio	mean	S.D.	%RSD
6	1	41452.8	64962.1	0.64	0.66	0.02	2.57
	2	47227.7	73971.4	0.64			
	3	36838.1	54941.5	0.67			
	4	40479.5	60507.2	0.67			
	5	36185.9	54212.4	0.67			
50	1	351666.0	59964.2	5.86	5.72	0.1	1.69
	2	311142.0	54455.8	5.71			
	3	332963.0	59397.1	5.61			
	4	310520.0	53968.7	5.75			
	5	394165.0	69483.7	5.67			

ตารางภาคผนวกที่ 1-4 (ต่อ) การหาค่าความเที่ยงในการตรวจวิเคราะห์ภายในวันเดียวกัน (intra-day) ของ GHB

Concentration (µg/mL)	N	response peak area of GHB	response peak area of IS.	Peak area ratio	mean	S.D.	%RSD
150	1	937488.0	56592.9	16.57	16.80	0.25	1.47
	2	950888.0	57606.6	16.51			
	3	1107685.2	64994.3	17.04			
	4	1060758.1	62804.3	16.89			
	5	952336.0	56054.7	16.99			
300	1	1679455.7	49230.5	34.11	35.57	0.94	2.65
	2	1978455.2	55224.7	35.83			
	3	1938356.1	54289.5	35.70			
	4	2024279.2	57046.0	35.49			
	5	2135078.3	58129.6	36.73			

ตารางภาคผนวกที่ 1-5 การหาค่าความเที่ยงในการตรวจวิเคราะห์ระหว่างวัน (inter-day) ของ GHB

Concentration (µg/mL)	Day	response peak area of GHB	response peak area of IS.	Peak area ratio	mean	S.D.	%RSD
6	1	36838.1	54941.5	0.67	0.64	0.02	3.63
	2	27241.4	43597.0	0.62			
	3	40301.7	63261.6	0.64			
50	1	351666.0	59964.2	5.86	5.73	0.11	2.00
	2	285847	50093.2	5.71			
	3	288261	51147.3	5.64			
150	2	1060758.1	62804.3	16.89	16.77	0.24	1.44
	3	835667	50669.2	16.49			
	1	814862	48130.2	16.93			
300	1	2135078.3	58129.6	36.73	36.17	0.96	2.66
	2	1873954.9	51037.0	36.72			
	3	1819857.3	51908.2	35.06			

ตารางภาคผนวกที่ 1-6 การหาค่าความแม่นยำในการตรวจวัดระดับยาในเลือดภายในวันเดียวกัน (intra-day) ของ GHB

nominal concentration (µg/mL)	N	response peak area of GHB	response peak area of IS.	Peak area ratio	measured concentration (µg/mL)			%DEV
					Individual	mean	S.D.	
6	1	41452.8	64962.1	0.64	5.86	6.02	0.13	0.33
	2	47227.7	73971.4	0.64	5.86			
	3	36838.1	54941.5	0.67	6.12			
	4	40479.5	60507.2	0.67	6.12			
	5	36185.9	54212.4	0.67	6.12			
50	1	351666.0	59964.2	5.86	50.20	49.00	0.80	-2.00
	2	311142.0	54455.8	5.71	48.90			
	3	332963.0	59397.1	5.61	48.05			
	4	310520.0	53968.7	5.75	49.24			
	5	394165.0	69483.7	5.67	48.56			

ตารางภาคผนวกที่ 1-6 (ต่อ) การหาค่าความแม่นยำในการตรวจวิเคราะห์ภายในวันเดียวกัน (intra-day) ของ GHB

nominal concentration (µg/mL)	N	response peak area of GHB	response peak area of IS.	Peak area ratio	measured concentration (µg/mL)			%DEV
					Individual	mean	S.D.	
150	1	937488.0	56592.9	16.57	141.09	143.25	2.21	-4.5
	2	950888.0	57606.6	16.51	140.58			
	3	1107685.2	64994.3	17.04	145.08			
	4	1060758.1	62804.3	17.00	144.74			
	5	952336.0	56054.7	17.00	144.74			
300	1	1679455.7	49230.5	34.11	290.00	302.45	8.05	0.82
	2	1978455.2	55224.7	35.83	304.75			
	3	1938356.1	54289.5	35.70	303.50			
	4	2024279.2	57046.0	35.49	301.70			
	5	2135078.3	58129.6	36.73	312.30			

ตารางภาคผนวกที่ 1-7 การหาค่าความแม่นยำในการตรวจวิเคราะห์ระหว่างวัน (inter-day) ของ GHB

nominal concentration (µg/mL)	Day	response peak area of GHB	response peak area of IS.	Peak area ratio	measured concentration (µg/mL)			%DEV
					Individual	Mean	S.D.	
6	1	36838.1	54941.5	0.67	6.12	5.32	0.69	-11.33
	2	27241.4	43597.0	0.62	4.82			
	3	40301.7	63261.6	0.64	5.02			
50	1	35166.0	59964.2	5.86	50.20	47.19	2.61	-5.62
	2	285847	50093.2	5.71	45.60			
	3	288261	51147.3	5.64	45.77			
150	1	1060758.1	62804.3	17.04	145.08	137.8	6.54	-8.13
	2	835667	50669.2	16.49	132.00			
	3	814862	48130.2	17.00	138.30			
300	1	2135078.3	58129.6	36.73	312.23	297.22	13.71	-0.93
	2	1873954.9	51037.0	36.72	294.08			
	3	1819857.3	51908.2	35.06	285.35			

ตารางภาคผนวกที่ 1-8 การหาค่าความเที่ยงในการตรวจวัดระดับยาในน้ำปัสสาวะ (intra-day) ของ 1,4-BD

Concentration (µg/mL)	N	response peak area of GHB	response peak area of IS.	Peak area ratio	mean	S.D.	%RSD
6	1	31650.0	70764.0	0.45	0.47	0.03	5.47
	2	30086.0	63713.6	0.47			
	3	42524.0	85337.9	0.50			
	4	37072.0	75744.7	0.49			
	5	29052.0	66100.7	0.44			
20	1	109810.0	80929.6	1.35	1.45	0.08	5.32
	2	111862.0	76784.3	1.45			
	3	108599.0	77194.3	1.40			
	4	112661.0	73700.3	1.52			
	5	131661.0	86120.7	1.53			

ตารางภาคผนวกที่ 1-8 (ต่อ) การหาความเที่ยงในการตรวจวิเคราะห์ภายในวันเดียวกัน (intra-day) ของ 1,4-BD

Concentration (µg/mL)	N	response peak area of GHB	response peak area of IS.	Peak area ratio	mean	S.D.	%RSD
75	1	441830.0	77444.5	5.70	5.52	0.20	3.57
	2	345678.0	63419.5	5.45			
	3	422018.0	78929.2	5.34			
	4	324796.0	60732.0	5.34			
	5	427069.0	74172.8	5.75			
150	1	624074.0	53894.2	11.58	11.73	0.13	1.11
	2	753737.0	63272.4	11.91			
	3	961358.0	82237.6	11.69			
	4	820221.0	70404.4	11.65			
	5	831352.0	70432.6	11.80			

ตารางภาคผนวกที่ 1-9 การหาค่าความเที่ยงในการตรวจวิเคราะห์ระหว่างวัน (inter-day) ของ 1,4-BD

Concentration (µg/mL)	Day	response peak area of GHB	response peak area of IS.	Peak area ratio	mean	S.D.	%RSD
6	1	30086.0	63713.6	0.47	0.44	0.04	9.09
	2	35389.4	87449.7	0.40			
	3	29757.1	64453.5	0.47			
20	1	111862.0	76784.3	1.45	1.31	0.14	10.33
	2	66536.1	51431.1	1.29			
	3	83923.0	71348.5	1.18			
75	1	422018.0	78929.2	5.34	5.12	0.20	3.90
	2	3652445.0	72174.1	5.06			
	3	272875.0	54956.8	4.96			
150	1	624074.0	53894.2	11.58	10.81	0.69	6.38
	2	607469.0	57116.7	10.63			
	3	858336.0	83832.5	10.24			

ตารางภาคผนวกที่ 1-10 การหาค่าความแม่นยำของการตรวจวัดระดับยาในน้ำปัสสาวะ (intra-day) ของ 1,4-BD

Nominal concentration (µg/mL)	N	response peak area of GHB	response peak area of IS.	Peak area ratio	measured concentration (µg/mL)			%DEV
					Individual	Mean	S.D.	
6	1	31650.0	70764.0	0.45	5.32	5.55	0.41	-7.50
	2	30086.0	63713.6	0.47	5.56			
	3	42524.0	85337.9	0.50	5.90			
	4	37072.0	75744.7	0.49	5.80			
	5	29052.0	66100.7	0.44	5.19			
20	1	109810.0	80929.6	1.35	16.24	17.45	0.93	-12.75
	2	111862.0	76784.3	1.45	17.45			
	3	108599.0	77194.3	1.40	16.85			
	4	112661.0	73700.3	1.52	18.30			
	5	131661.0	86120.7	1.53	18.42			

ตารางภาคผนวกที่ 1-10 (ต่อ) การหาค่าความแม่นยำของการตรวจวิเคราะห์ภายในวันเดียวกัน (intra-day) ของ 1,4-BD

Nominal concentration (µg/mL)	N	response peak area of GHB	response peak area of IS.	Peak area ratio	measured concentration (µg/mL)			%DEV
					Individual	Mean	S.D.	
75	1	441830.0	77444.5	5.70	69.03	66.80	2.39	-10.93
	2	345678.0	63419.5	5.45	66.00			
	3	422018.0	78929.2	5.34	64.66			
	4	324796.0	60732.0	5.34	64.66			
	5	427069.0	74172.8	5.75	69.64			
150	1	624074.0	53894.2	11.58	140.40	142.17	1.58	-5.22
	2	753737.0	63272.4	11.91	144.40			
	3	961358.0	82237.6	11.69	141.73			
	4	820221.0	70404.4	11.65	141.24			
	5	831352.0	70432.6	11.80	143.06			

ตารางภาคผนวกที่ 1-11 การหาค่าความแม่นยำในการตรวจวิเคราะห์ระหว่างวัน (inter-day) ของ 1,4-BD

nominal concentration (µg/mL)	Day	response peak area of GHB	response peak area of IS.	Peak area ratio	measured concentration (µg/mL)			%DEV
					Individual	Mean	S.D.	
6	1	30086.0	63713.6	0.47	6.12	6.75	0.55	12.50
	2	35389.4	87449.7	0.40	7.00			
	3	29757.1	64453.5	0.47	7.13			
20	1	111862.0	76784.3	1.45	16.42	19.11	2.49	-4.45
	2	66536.1	51431.1	1.29	21.34			
	3	83923.0	71348.5	1.18	19.56			
75	1	422018.0	78929.2	5.34	66.97	76.15	8.06	1.53
	2	365244.5	72174.1	5.06	82.04			
	3	272875.0	54956.8	4.96	79.44			
150	1	624074.0	53894.2	11.58	140.39	159.58	16.82	6.39
	2	607469.0	57116.7	10.63	171.74			
	3	858336.0	83832.5	10.24	166.62			

ตารางภาคผนวกที่ 1-12 การหาค่าร้อยละการคืนกลับของ GHB

concentration (µg/mL)	N	Direct injection			After extraction				Recovery (%)		
		peak area GHB	peak area IS.	Peak area ratio	peak area GHB	peak area IS.	Peak area ratio	Individual	mean	S.D	
6	1	19672.0	71906.0	0.27	14959.85	74014.3	0.20	74.07	102.43	21.60	
	2	17947.8	67531.9	0.27	16540.0	61316.3	0.27	100.00			
	3	15054.2	71350.6	0.21	17451.25	85234.9	0.20	95.24			
	4	14074.2	66346.0	0.21	15283.2	66874.8	0.23	109.52			
	5	14555.9	70061.4	0.21	19675.5	70475.3	0.28	133.33			
50	1	154910.0	67605.0	2.30	127098.0	78337.4	2.06	89.57	102.06	9.07	
	2	133492.0	68856.7	1.94	147574.5	78337.4	1.88	96.90			
	3	136977.0	74978.4	1.83	166854.0	88751.2	1.88	102.73			
	4	145352.0	80806.3	1.80	169493.0	84316.5	2.01	111.66			
	5	113273.0	59369.8	1.91	140774.0	67453.7	2.09	109.42			

ตารางภาคผนวกที่ 1-12 (ต่อ) การหาค่าร้อยละการคืนกลับของ GHB

concentration (µg/mL)	N	Direct injection			After extraction			Recovery (%)		
		peak area GHB	peak area IS.	Peak area ratio	peak area GHB	peak area IS.	Peak area ratio	Individual	mean	S.D.
150	1	524234.0	59745.2	8.77	456651.5	73497.1	6.21	70.80	82.85	13.26
	2	676699.0	74478.9	9.09	406086.0	63163.5	6.43	70.73		
	3	469415.0	64648.5	7.26	427899.0	74684.7	5.73	78.93		
	4	427135.0	66392.4	6.43	430586.0	68412.8	6.29	97.82		
	5	410389.0	66557.1	6.17	410444.5	69342.6	5.92	95.95		
300	1	915333.0	66938.8	13.67	757349.3	57459.3	13.18	96.42	103.67	9.76
	2	773531.0	60964.7	12.69	821499.9	65032.2	12.63	99.53		
	3	704919.0	59766.7	11.79	860373.2	73550.6	11.70	99.24		
	4	703802.0	63336.1	11.11	867199.0	64670.6	13.41	120.70		
	5	646708.0	52872.9	12.23	831969.3	66374.1	12.53	102.45		

ตารางภาคผนวกที่ 1-13 การหาค่าร้อยละการคืนกลับของ 1,4-BD

concentration (µg/mL)	N	Direct injection				After extraction				Recovery (%)		
		peak area 1,4-BD	peak area IS.	Peak area ratio	peak area 1,4-BD	peak area IS.	peak ratio	Individual	mean	S.D.		
		6	1	23416.9	58446.4	0.40	15825	70764	0.224	56.00	58.80	1.86
	2	21659.1	55055.5	0.39	15043	63713.4	0.236	60.02				
	3	28641.4	69343.0	0.41	21262	85337.9	0.249	60.32				
	4	29597.8	72419.0	0.41	18536	75744.7	0.245	59.88				
	5	29548.0	77693.1	0.38	14526	66100.7	0.220	57.78				
20	1	70370.1	55095.2	1.28	54905	80929.6	0.678	53.12	59.43	4.17		
	2	67182.5	52558.2	1.28	55931	76784.3	0.728	56.99				
	3	76298.3	57869.6	1.32	54299.5	77194.3	0.703	53.35				
	4	97817.1	77418.8	1.26	56330.5	73700.3	0.764	60.49				
	5	76671.8	62603.4	1.22	65830.5	86120.7	0.764	62.41				

ตารางภาคผนวกที่ 1-13 (ต่อ) การหาค่าร้อยละการคืนกลับของ 1,4-BD

concentration (µg/mL)	N	Direct injection			After extraction			Recovery (%)		
		peak area 1,4-BD	peak area IS.	Peak area ratio	peak area 1,4-BD	peak area IS.	Peak area ratio	Individual	mean	S.D.
75	1	277936.0	53285.9	5.22	220915	77444.5	2.85	54.69	52.29	3.31
	2	295371.0	53945.8	5.48	172839	63419.5	2.73	49.77		
	3	374298.2	72916.1	5.13	211009	78929.2	2.67	52.08		
	4	292226.0	53233.5	5.49	162398	60732	2.67	48.71		
	5	290647.0	57180.2	5.08	213534.5	74172.8	2.88	56.64		
150	1	611070.0	56918.3	10.74	312037	53894.2	5.790	53.93	53.12	2.84
	2	738720.0	67378.4	10.96	376868.5	63272.4	5.956	54.33		
	3	623238.0	57209.2	10.89	480679	82237.6	5.845	53.65		
	4	667540.0	55467.6	12.03	410110.5	70404.4	5.825	48.40		
	5	804362.0	76170.7	10.56	415676	70432.6	5.902	55.89		

ภาคผนวกที่ 2
น้ำหนักทนายใหญ่เพศผู้สายพันธุ์ Wistar

ตารางภาคผนวกที่ 2 น้ำหนักของหนูทั้ง 3 กลุ่ม (n=5)

กลุ่ม	น้ำหนักหนู (g)							
	n1	n2	n3	n4	n5	mean	S.D.	
กลุ่มที่ 1 (1,4-BD)	280	275	287	265	300	281.40	13.13	
กลุ่มที่ 2 (1,4-BD+DS10)	230	220	213	215	230	221.60	8.08	
กลุ่มที่ 3 (1,4-BD+DS20)	220	240	248	225	230	232.60	11.35	

ภาคผนวกที่ 3

ระดับความเข้มข้นของสาร GHB และ 1,4-BD ในเลือดของหนู

ตารางภาคผนวกที่ 3-1 ระดับความเข้มข้นของ GHB ในตัวอย่างเลือดของหนูกลุ่มที่ 1 (BD) (n=5) ที่เวลา 0 – 120 นาที

เวลา (นาที)	ระดับความเข้มข้นของสาร GHB (µg/mL)							
	n1	n2	n3	n4	n5	mean	S.D.	
0	0	0	0	0	0	0	0	
15	69	90.7	92.70	102.08	74.4	85.78	13.68	
30	100.67	94.1	104.5	106.50	86.8	98.51	8.08	
45	87.30	95.09	113.05	111.23	80.05	97.34	14.53	
60	79.14	83.71	100.42	90.11	67.25	84.13	12.36	
90	45.14	70	64.2	52.30	33.67	53.06	14.58	
120	15	29.01	27.52	16.90	11.00	19.89	7.96	

ตารางภาคผนวกที่ 3-2 ระดับความเข้มข้นของ GHB ในตัวอย่างเลือดของหญิงกลุ่มที่ 2 (BD+ES10) (n=5) ที่เวลา 0 – 120 นาที

เวลา (นาที)	ระดับความเข้มข้นของสาร GHB (µg/mL)									
	n1	n2	n3	n4	n5	mean	S.D.			
0	0	0	0	0	0	0	0			
15	102.14	94	105.24	76	102.06	95.89	11.87			
30	91.35	110.83	102.83	87.48	103.85	99.27	9.60			
45	74.45	82.51	92.44	73	82.43	80.97	7.78			
60	60.40	64.67	67	56.83	71.26	64.03	5.62			
90	21.45	35.65	21.76	19.67	28.05	25.32	6.59			
120	9	12.61	8.03	6.00	6.56	8.44	2.62			

ตารางภาคผนวกที่ 3-3 ระดับความเข้มข้นของ GHB ในตัวอย่างเลือดของหนูกลุ่มที่ 3 (1,4BD+DS20) (n=5) ที่เวลา 0 – 120 นาที

เวลา (นาที)	ระดับความเข้มข้นของสาร GHB ($\mu\text{g}/\text{mL}$)									
	n1	n2	n3	n4	n5	mean	S.D.			
0	0	0	0	0	0	0	0			
15	126.30	121.00	102.41	67.51	86	100.64	24.43			
30	90.67	114.56	123.51	92.56	119.24	108.11	15.40			
45	86.07	91.25	107.33	87.71	104.62	95.40	9.88			
60	76.55	62.26	89.35	54.54	92.88	75.12	16.65			
90	32.13	28.76	44.03	24.00	43.21	34.43	8.88			
120	12.60	6.92	16.04	3.72	13.41	10.54	5.06			

ตารางภาคผนวกที่ 3-4 ระดับความเข้มข้นของสาร 1,4-BD ในตัวอย่างเลือดของหนูกลุ่มที่ 1 (1,4-BD) (n=5) ที่เวลา 0 – 120 นาที

เวลา (นาที)	ระดับความเข้มข้นของสาร 1,4-BD (µg/mL)							
	n1	n2	n3	n4	n5	mean	S.D.	
0	0	0	0	0	0	0	0	
15	51.12	69.64	83.33	56.00	58.37	63.69	12.91	
30	26.33	73.83	21.66	18.00	31.16	34.20	22.70	
45	14.25	20.53	13.10	9.90	14.73	14.50	3.86	
60	8.62	11.22	8.33	6.20	8.93	8.66	1.78	

ตารางภาคผนวกที่ 3-5 ระดับความเข้มข้นของสาร 1,4-BD ในตัวอย่างเลือดของหนูกลุ่มที่ 2 (1,4-BD+DS10) (n=5) ที่เวลา 0 – 120 นาที

เวลา (นาที)	ระดับความเข้มข้นของสาร 1,4-BD (µg/mL)							
	n1	n2	n3	n4	n5	mean	S.D.	
0	0	0	0	0	0	0	0	
15	51.13	60.14	65.46	63.20	48.88	57.76	7.37	
30	12.32	28.26	28.90	23.00	18.00	22.10	7.03	
45	6.36	14.17	16.70	13.77	8.77	12.06	4.32	
60	< LOQ	7.81	7.33	6.85	< LOQ	5.50	3.69	

ตารางภาคผนวกที่ 3-6 ระดับความเข้มข้นของสาร 1,4-BD ในตัวอย่างเลือดของหนูกลุ่มที่ 3 (1,4-BD+DS20) (n=5) ที่เวลา 0 – 120 นาที

เวลา (นาที)	ระดับความเข้มข้นของสาร 1,4-BD (µg/mL)										S.D.
	n1	n2	n3	n4	n5	mean					
0	0	0	0	0	0	0	0			0	
15	40.82	53.22	104.91	51.93	47.26	59.63				25.78	
30	18.62	17.55	31.64	27.10	14.09	21.72				7.35	
45	7.65	6.04	11.35	8.20	8.77	8.40				1.94	
60	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ				< LOQ	< LOQ

ภาคผนวก-4

ค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของสาร GHB และ 1,4-BD

ตารางภาคผนวกที่ 4-1 ค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของ 1,4-BD ของหนูกลุ่มที่ 1 (1,4-BD) (n=5)

พารามิเตอร์ (Parameter)	หน่วย (Units)	n1	n2	n3	n4	n5	mean	S.D.
C_{max}	$\mu\text{g/mL}$	51.12	73.83	83.33	56.00	58.37	64.53	13.51
T_{max}	min	15	30	15	15	15	18.00	6.70
k_{el}	min^{-1}	0.032	0.039	0.030	0.030	0.035	0.033	0.004
$t_{1/2el}$	min	21.65	17.77	23.10	23.10	19.80	21.08	2.30
$AUC_{0 \rightarrow 60}$	$\mu\text{g min/mL}$	1440.18	2543.03	1833.86	1305.00	1630.95	1750.46	485.83

ตารางภาคผนวกที่ 4-2 ค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของ 1,4-BD ของหนูกลุ่มที่ 2 (1,4-BD+DS10) (n=5)

พารามิเตอร์ (Parameter)	หน่วย (Units)	n1	n2	n3	n4	n5	mean	S.D.
C_{max}	$\mu\text{g/mL}$	51.13	60.00	65.46	63.20	48.88	57.73	7.36
T_{max}	min	15	15	15	15	15	15.00	0.00
k_{el}	min^{-1}	0.046	0.039	0.053	0.046	0.046	0.046	0.005
$t_{1/2el}$	min	15.07	17.77	13.08	15.07	15.07	15.21	1.67
$AUC_{0 \rightarrow 60}$	$\mu\text{g min/mL}$	999.50	1605.25	1720.85	1550.93	1181.35	1411.58	306.35

ตารางภาคผนวกที่ 4-3 ค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของ 1,4-BD ของหนูกลุ่มที่ 3 (1,4-BD+DS20) (n=5)

พารามิเตอร์ (Parameter)	หน่วย (Units)	n1	n2	n3	n4	n5	mean	S.D.
C_{max}	$\mu\text{g/mL}$	48.82	53.22	104.91	51.93	47.26	61.23	24.53
T_{max}	min	15	15	15	15	15	15.00	0.00
k_{el}	min^{-1}	0.060	0.070	0.070	0.080	0.030	0.062	0.02
$t_{1/2el}$	min	11.55	9.90	9.90	8.66	23.10	12.62	5.95
$AUC_{0 \rightarrow 60}$	$\mu\text{g min/mL}$	859.00	1100.10	2133.30	1246.95	985.95	1265.06	506.00

ตารางภาคผนวกที่ 4-4 ค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของ GHB ของหญิงกลุ่มที่ 1 (1,4-BD) (n=5)

พารามิเตอร์ (Parameter)	หน่วย (Units)	n1	n2	n3	n4	n5	mean	S.D.
C_{max}	$\mu\text{g/mL}$	100.67	95.09	113.05	112.23	86.87	101.54	11.29
T_{max}	min	30	45	45	45	30	39	8.22
k_{el}	min^{-1}	0.037	0.030	0.028	0.037	0.037	0.034	0.0044
$t_{1/2el}$	min	18.73	23.10	24.75	18.73	18.73	20.80	2.90
$AUC_{0 \rightarrow 120}$	$\mu\text{g min/mL}$	5064	6167.18	9252.01	8647.12	6307	7087.46	1779.62

ตารางภาคผนวกที่ 4-5 ค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของ GHB ของหนูกลุ่มที่ 2 (1,4-BD+DS10) (n=5)

พารามิเตอร์ (Parameter)	หน่วย (Units)	n1	n2	n3	n4	n5	mean	S.D.
C_{max}	$\mu\text{g/mL}$	102.14	110.83	105.24	87.48	103.85	101.91	8.70
T_{max}	min	15	30	15	30	30	24	8.22
k_{el}	min^{-1}	0.030	0.035	0.035	0.039	0.048	0.037	0.006
$t_{1/2el}$	min	23.10	19.80	19.80	17.77	14.44	18.98	3.17
$AUC_{0 \rightarrow 120}$	$\mu\text{g min/mL}$	6156.9	7023.9	6788.41	5713.43	6868.36	6510.20	554.35

ตารางภาคผนวกที่ 4-6 ค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของ GHB ในหมู่กลุ่มที่ 3 (1,4-BD+DS20) (n=5)

พารามิเตอร์ (Parameter)	หน่วย (Units)	n1	n2	n3	n4	n5	mean	S.D.
C_{max}	µg/mL	126.30	121.00	123.51	92.56	119.24	116.52	13.66
T_{max}	min	15	15	30	30	30	24	8.22
k_{el}	min ⁻¹	0.030	0.046	0.035	0.028	0.039	0.036	0.007
$t_{1/2el}$	min	23.10	15.07	19.80	24.75	17.77	20.01	3.92
$AUC_{0 \rightarrow 120}$	µg min/mL	7420.9	7269.11	8570.55	5674.67	8235.20	7434.09	1124.30

ภาคผนวกที่ 5

การหาพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของค่า k_{el} ของ 1,4-BD และ GHB ในตัวอย่าง
เลือดของหนูจำนวน 3 กลุ่ม (n=5)

ภาคผนวกที่ 5-1 การหาค่า k ของ 1,4-BD ในหนูกลุ่มที่ 1 (n=5)

จากสูตร

$$\begin{aligned} k_{el} &= - \text{slope} \times 2.303 \\ &= - \frac{(\log C_1 - \log C_2)}{t_1 - t_2} \times 2.303 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} k_{el} (n1) &= - \frac{\log 8.62 - \log 14.25}{15} \times 2.303 \\ &= - \frac{0.94 - 1.15}{15} \times 2.303 \\ &= 0.032 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} k_{el} (n2) &= - \frac{\log 11.22 - \log 20.53}{15} \times 2.303 \\ &= - \frac{1.05 - 1.31}{15} \times 2.303 \\ &= 0.039 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} k_{el} (n3) &= - \frac{\log 8.33 - \log 13.10}{15} \times 2.303 \\ &= - \frac{0.92 - 1.12}{15} \times 2.303 \\ &= 0.030 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 k_{el} (n4) &= - \frac{\log 6.20 - \log 9.90}{15} \times 2.303 \\
 &= - \frac{0.80 - 0.99}{15} \times 2.303 \\
 &= 0.030
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 k_{el} (n5) &= - \frac{\log 8.93 - \log 14.73}{15} \times 2.303 \\
 &= - \frac{0.95 - 1.17}{15} \times 2.303 \\
 &= 0.035
 \end{aligned}$$

ภาคผนวกที่ 5-2 การหาค่า k_{el} ของ 1,4-BD ในหนูกลุ่มที่ 2 (1,4-BD+DS10) (n=5)

$$\begin{aligned}
 k_{el} (n1) &= - \frac{\log 6.36 - \log 12.32}{15} \times 2.303 \\
 &= - \frac{0.80 - 1.90}{15} \times 2.303 \\
 &= 0.035
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 k_{el} (n2) &= - \frac{\log 7.81 - \log 14.17}{15} \times 2.303 \\
 &= - \frac{0.89 - 1.15}{15} \times 2.303 \\
 &= 0.039
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 k_{el} (n3) &= - \frac{\log 7.33 - \log 16.70}{15} \times 2.303 \\
 &= - \frac{0.87 - 1.22}{15} \times 2.303 \\
 &= 0.053
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 k_{el} (n4) &= - \frac{\log 6.85 - \log 13.77}{15} \times 2.303 \\
 &= - \frac{0.84 - 1.14}{15} \times 2.303 \\
 &= 0.046
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 k_{el} (n5) &= - \frac{\log 8.77 - \log 18.0}{15} \times 2.303 \\
 &= - \frac{0.94 - 1.25}{15} \times 2.303 \\
 &= 0.046
 \end{aligned}$$

ภาคผนวกที่ 5-3 การหาค่า k_{el} ของ 1,4-BD ในหนูกลุ่มที่ 3 (1,4-BD+DS20) (n=5)

$$\begin{aligned}
 k_{el} (n1) &= - \frac{\log 7.65 - \log 18.62}{15} \times 2.303 \\
 &= - \frac{0.88 - 1.27}{15} \times 2.303 \\
 &= 0.060
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 k_{el} (n2) &= - \frac{\log 6.04 - \log 17.55}{15} \times 2.303 \\
 &= - \frac{0.78 - 1.24}{15} \times 2.303 \\
 &= 0.070
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 k_{el} (n3) &= - \frac{\log 11.35 - \log 31.64}{15} \times 2.303 \\
 &= - \frac{1.05 - 1.50}{15} \times 2.303 \\
 &= 0.070
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 k_{el} (n4) &= - \frac{\log 8.20 - \log 27.10}{15} \times 2.303 \\
 &= - \frac{0.91 - 1.43}{15} \times 2.303 \\
 &= 0.080
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 k_{el} (n5) &= - \frac{\log 8.77 - \log 14.09}{15} \times 2.303 \\
 &= - \frac{0.94 - 1.15}{15} \times 2.303 \\
 &= 0.030
 \end{aligned}$$

ภาคผนวกที่ 5-4 การหาค่า k_{el} ของ GHB ในหนูกลุ่มที่ 1 (1,4-BD)

$$\begin{aligned}
 k_{el} (n1) &= - \frac{\log 15.0 - \log 45.14}{30} \times 2.303 \\
 &= - \frac{1.18 - 1.65}{30} \times 2.303 \\
 &= 0.037
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 k_{el} (n2) &= - \frac{\log 29.01 - \log 70.0}{30} \times 2.303 \\
 &= - \frac{1.46 - 1.85}{30} \times 2.303 \\
 &= 0.030
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 k_{el} (n3) &= - \frac{\log 27.52 - \log 64.20}{30} \times 2.303 \\
 &= - \frac{1.44 - 1.80}{15} \times 2.303 \\
 &= 0.028
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 k_{el} (n4) &= \frac{\log 16.90 - \log 52.30}{30} \times 2.303 \\
 &= -\frac{1.23 - 1.72}{30} \times 2.303 \\
 &= 0.037
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 k_{el} (n5) &= \frac{\log 11.0 - \log 33.67}{15} \times 2.303 \\
 &= -\frac{1.041 - 53}{15} \times 2.303 \\
 &= 0.037
 \end{aligned}$$

ภาคผนวกที่ 5-5 การค่า k_{el} ของ GHB ของหนูกลุ่มที่ 2 (1,4-BD+DS10) (n=5)

$$\begin{aligned}
 k_{el} (n1) &= \frac{\log 9.0 - \log 21.45}{30} \times 2.303 \\
 &= \frac{0.95 - 1.33}{30} \times 2.303 \\
 &= 0.030
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 k_{el} (n2) &= \frac{\log 12.61 - \log 35.65}{30} \times 2.303 \\
 &= \frac{1.10 - 1.55}{30} \times 2.303 \\
 &= 0.035
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 k_{el} (n3) &= \frac{\log 21.76 - \log 8.03}{30} \times 2.303 \\
 &= \frac{0.90 - 1.34}{30} \times 2.303 \\
 &= 0.035
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}k_{el} (n4) &= - \frac{\log 6.0 - \log 19.67}{30} \times 2.303 \\&= - \frac{0.78 - 1.29}{30} \times 2.303 \\&= 0.039\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}k_{el} (n5) &= - \frac{\log 6.56 - \log 28.05}{30} \times 2.303 \\&= - \frac{0.82 - 1.45}{30} \times 2.303 \\&= 0.048\end{aligned}$$

ภาคผนวกที่ 5-6 การหาค่า k_{el} ของ GHB ของหนูกลุ่มที่ 3 (1,4-BD+DS20) (n=5)

$$\begin{aligned} k_{el} (n1) &= \frac{\log 12.60 - \log 32.13}{30} \times 2.303 \\ &= \frac{1.10 - 1.50}{30} \times 2.303 \\ &= 0.030 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} k_{el} (n2) &= \frac{\log 6.92 - \log 28.76}{30} \times 2.303 \\ &= \frac{0.84 - 1.46}{30} \times 2.303 \\ &= 0.046 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} k_{el} (n3) &= \frac{\log 16.64 - \log 1.20}{30} \times 2.303 \\ &= \frac{1.20 - 1.64}{30} \times 2.303 \\ &= 0.035 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} k_{el} (n4) &= \frac{\log 24.0 - \log 54.0}{30} \times 2.303 \\ &= \frac{1.38 - 1.78}{30} \times 2.303 \\ &= 0.028 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} k_{el} (n5) &= \frac{\log 13.41 - \log 43.21}{30} \times 2.303 \\ &= \frac{1.13 - 1.64}{30} \times 2.303 \\ &= 0.039 \end{aligned}$$

ภาคผนวกที่ 6

การหาพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของค่า $t_{1/2}$ ของ 1,4-BD และ GHB ในหนู
จำนวน 3 กลุ่ม (n=5)

ภาคผนวกที่ 6-1 การหาค่า $t_{1/2}$ ของ 1,4-BD ในหนูกลุ่มที่ 1 (1,4-BD) (n=5)

จากสูตร

$$t_{1/2 \text{ el}} = \frac{0.693}{k_{\text{el}}}$$

$$\begin{aligned} t_{1/2 \text{ el}} (n1) &= \frac{0.693}{0.032} \\ &= 21.65 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} t_{1/2 \text{ el}} (n2) &= \frac{0.693}{0.039} \\ &= 11.77 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} t_{1/2 \text{ el}} (n3) &= \frac{0.693}{0.030} \\ &= 23.10 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} t_{1/2 \text{ el}} (n4) &= \frac{0.693}{0.032} \\ &= 21.65 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} t_{1/2 \text{ el}} (n5) &= \frac{0.693}{0.035} \\ &= 19.80 \end{aligned}$$

ภาคผนวกที่ 6-2 การหาค่า $t_{1/2}$ ของ 1,4-BD ในหนูกลุ่มที่ 1 (1,4-BD+DS10) (n=5)

จากสูตร

$$t_{1/2 \text{ el}} = \frac{0.693}{k_{\text{el}}}$$

$$\begin{aligned} t_{1/2 \text{ el}} (n1) &= \frac{0.693}{0.046} \\ &= 15.07 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} t_{1/2 \text{ el}} (n2) &= \frac{0.693}{0.039} \\ &= 17.77 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} t_{1/2 \text{ el}} (n3) &= \frac{0.693}{0.053} \\ &= 13.08 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} t_{1/2 \text{ el}} (n4) &= \frac{0.693}{0.046} \\ &= 15.07 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} t_{1/2 \text{ el}} (n5) &= \frac{0.693}{0.046} \\ &= 15.07 \end{aligned}$$

ภาคผนวกที่ 6-3 การหาค่า $t_{1/2}$ ของ 1,4-BD ในหนูกลุ่มที่ 3 (1,4-BD+DS20) (n=5)

จากสูตร

$$t_{1/2 \text{ el}} = \frac{0.693}{k_{\text{el}}}$$

$$\begin{aligned} t_{1/2 \text{ el}} (n1) &= \frac{0.693}{0.060} \\ &= 11.55 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} t_{1/2 \text{ el}} (n2) &= \frac{0.693}{0.070} \\ &= 9.90 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} t_{1/2 \text{ el}} (n3) &= \frac{0.693}{0.070} \\ &= 9.90 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} t_{1/2 \text{ el}} (n4) &= \frac{0.693}{0.080} \\ &= 8.66 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} t_{1/2 \text{ el}} (n5) &= \frac{0.693}{0.030} \\ &= 23.10 \end{aligned}$$

ภาคผนวกที่ 6-4 การหาค่า $t_{1/2}$ ของ GHB ในหนูกลุ่มที่ 1 (1,4-BD) (n=5)

จากสูตร

$$t_{1/2 \text{ el}} = \frac{0.693}{k_{\text{el}}}$$

$$\begin{aligned} t_{1/2 \text{ el}} (n1) &= \frac{0.693}{0.037} \\ &= 18.73 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} t_{1/2 \text{ el}} (n2) &= \frac{0.693}{0.030} \\ &= 21.10 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} t_{1/2 \text{ el}} (n3) &= \frac{0.693}{0.028} \\ &= 14.75 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} t_{1/2 \text{ el}} (n4) &= \frac{0.693}{0.037} \\ &= 18.73 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} t_{1/2 \text{ el}} (n5) &= \frac{0.693}{0.037} \\ &= 18.73 \end{aligned}$$

ภาคผนวกที่ 6-5 การหาค่า $t_{1/2}$ ของ GHB ในหนูกลุ่มที่ 2 (1,4-BD+DS10) (n=5)

จากสูตร

$$t_{1/2 \text{ el}} = \frac{0.693}{k_{\text{el}}}$$

$$\begin{aligned} t_{1/2 \text{ el}} (n1) &= \frac{0.693}{0.030} \\ &= 21.10 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} t_{1/2 \text{ el}} (n2) &= \frac{0.693}{0.035} \\ &= 19.80 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} t_{1/2 \text{ el}} (n3) &= \frac{0.693}{0.035} \\ &= 19.80 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} t_{1/2 \text{ el}} (n4) &= \frac{0.693}{0.039} \\ &= 17.77 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} t_{1/2 \text{ el}} (n5) &= \frac{0.693}{0.048} \\ &= 14.44 \end{aligned}$$

ภาคผนวกที่ 6-6 การหาค่า $t_{1/2}$ ของ GHB ในหนูกลุ่มที่ 3 (1,4-BD+DS20) (n=5)

จากสูตร

$$t_{1/2 \text{ el}} = \frac{0.693}{k_{\text{el}}}$$

$$\begin{aligned} t_{1/2 \text{ el}} (n1) &= \frac{0.693}{0.030} \\ &= 23.10 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} t_{1/2 \text{ el}} (n2) &= \frac{0.693}{0.046} \\ &= 15.07 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} t_{1/2 \text{ el}} (n3) &= \frac{0.693}{0.035} \\ &= 19.80 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} t_{1/2 \text{ el}} (n4) &= \frac{0.693}{0.028} \\ &= 24.75 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} t_{1/2 \text{ el}} (n5) &= \frac{0.693}{0.039} \\ &= 17.77 \end{aligned}$$

ภาคผนวกที่ 7

การวิเคราะห์ค่าทางสถิติความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-way –ANOVA) ของ
ค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของ 1,4-BD และGHB

ตารางภาคผนวกที่ 7-1 การวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นของยาสูงสุด (C_{max}) ของ 1,4-BD
ในหนูทั้ง 3 กลุ่ม (n=5)

ANOVA					
1,4-BD C_{max}					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	115.562	2	57.781	.207	.816
Within Groups	3354.667	12	279.556		
Total	3470.229	14			

Multiple Comparisons						
1,4-BD C_{max}						
LSD						
(I) Group	(J) Group	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	6.79800	10.57460	.532	-16.2421	29.8381
	3	3.30400	10.57460	.760	-19.7361	26.3441
2	1	-6.79800	10.57460	.532	-29.8381	16.2421
	3	-3.49400	10.57460	.747	-26.5341	19.5461
3	1	-3.30400	10.57460	.760	-26.3441	19.7361
	2	3.49400	10.57460	.747	-19.5461	26.5341

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

ตารางภาคผนวกที่ 7-2 การวิเคราะห์ค่าระยะเวลาที่ระดับยาสูงสุด (T_{max}) ของ 1,4-BD
ในหนูทั้ง 3 กลุ่ม (n=5)

ANOVA					
1,4-BD T_{max}					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	30.000	2	15.000	1.000	.397
Within Groups	180.000	12	15.000		
Total	210.000	14			

Multiple Comparisons						
1,4-BD T_{max}						
LSD						
(I) Group	(J) Group	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	3.00000	2.44949	.244	-2.3370	8.3370
	3	3.00000	2.44949	.244	-2.3370	8.3370
2	1	-3.00000	2.44949	.244	-8.3370	2.3370
	3	.00000	2.44949	1.000	-5.3370	5.3370
3	1	-3.00000	2.44949	.244	-8.3370	2.3370
	2	.00000	2.44949	1.000	-5.3370	5.3370

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

ตารางภาคผนวกที่ 7-3 การวิเคราะห์ค่าคงที่ของอัตราการชำระยา (k_{el}) ของ 1,4-BD
ในหนูทั้ง 3 กลุ่ม (n=5)

ANOVA					
1,4-BD k_{el}					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.002	2	.001	7.632	.007
Within Groups	.002	12	.000		
Total	.004	14			

Multiple Comparisons						
1,4-BD k_{el}						
LSD						
(I) Group	(J) Group	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	-.012800	.007386	.109	-.02889	.00329
	3	-.028800*	.007386	.002	-.04489	-.01271
2	1	.012800	.007386	.109	-.00329	.02889
	3	-.016000	.007386	.051	-.03209	.00009
3	1	.028800*	.007386	.002	.01271	.04489
	2	.016000	.007386	.051	-.00009	.03209

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

ตารางภาคผนวกที่ 7-4 การวิเคราะห์ค่าครึ่งชีวิตของการกำจัดยา ($t_{1/2\text{ el}}$) ของ 1,4-BD
ในหนูทั้ง 3 กลุ่ม (n=5)

ANOVA					
1,4-BD $t_{1/2}$					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	188.085	2	94.043	6.500	.012
Within Groups	173.617	12	14.468		
Total	361.702	14			

Multiple Comparisons						
1,4-BD $t_{1/2\text{ el}}$						
LSD						
(I) Group	(J) Group	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	5.87400*	2.40567	.031	.6325	11.1155
	3	8.46400*	2.40567	.004	3.2225	13.7055
2	1	-5.87400*	2.40567	.031	-11.1155	-.6325
	3	2.59000	2.40567	.303	-2.6515	7.8315
3	1	-8.46400*	2.40567	.004	-13.7055	-3.2225
	2	-2.59000	2.40567	.303	-7.8315	2.6515

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

ตารางภาคผนวกที่ 7-5 การวิเคราะห์ค่าพื้นที่ใต้กราฟของความสัมพันธ์ (AUC) ของ 1,4-BD
ในหนูทั้ง 3 กลุ่ม (n=5)

ANOVA					
1,4-BD AUC					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	620266.498	2	310133.249	1.588	.244
Within Groups	2343671.382	12	195305.948		
Total	2963937.880	14			

Multiple Comparisons						
1,4-BD AUC						
LSD						
(I) Group	(J) Group	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	339.02800	279.50381	.248	-269.9585	948.0145
	3	485.54400	279.50381	.108	-123.4425	1094.5305
2	1	-339.02800	279.50381	.248	-948.0145	269.9585
	3	146.51600	279.50381	.610	-462.4705	755.5025
3	1	-485.54400	279.50381	.108	-1094.5305	123.4425
	2	-146.51600	279.50381	.610	-755.5025	462.4705

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

ตารางภาคผนวกที่ 7-6 การวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นของยาสูงสุด (C_{max}) ของ GHB
ในหนูทั้ง 3 กลุ่ม (n=5)

ANOVA					
GHB C_{max}					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	728.131	2	364.066	2.813	.100
Within Groups	1553.071	12	129.423		
Total	2281.203	14			

Multiple Comparisons						
GHB C_{max}						
LSD						
(I) Group	(J) Group	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	-.32600	7.19507	.965	-16.0027	15.3507
	3	-14.94000	7.19507	.060	-30.6167	.7367
2	1	.32600	7.19507	.965	-15.3507	16.0027
	3	-14.61400	7.19507	.065	-30.2907	1.0627
3	1	14.94000	7.19507	.060	-.7367	30.6167
	2	14.61400	7.19507	.065	-1.0627	30.2907

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

ตารางภาคผนวกที่ 7-7 การวิเคราะห์ค่าระยะเวลาที่ระดับยาสูงสุด (T_{max}) ของ GHB
ในหนูทั้ง 3 กลุ่ม (n=5)

ANOVA					
GHB T_{max}					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	750.000	2	375.000	5.556	.020
Within Groups	810.000	12	67.500		
Total	1560.000	14			

Multiple Comparisons						
GHB T_{max}						
LSD						
(I) Group	(J) Group	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	15.00000*	5.19615	.014	3.6786	26.3214
	3	15.00000*	5.19615	.014	3.6786	26.3214
2	1	-15.00000*	5.19615	.014	-26.3214	-3.6786
	3	.00000	5.19615	1.000	-11.3214	11.3214
3	1	-15.00000*	5.19615	.014	-26.3214	-3.6786
	2	.00000	5.19615	1.000	-11.3214	11.3214

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

ตารางภาคผนวกที่ 7-8 การวิเคราะห์ค่าคงที่ของอัตราการชำระยา (k_{el}) ของ GHB
ในหนูทั้ง 3 กลุ่ม (n=5)

ANOVA					
GHB k_{el}					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.000	2	.000	.414	.670
Within Groups	.000	12	.000		
Total	.001	14			

Multiple Comparisons						
GHB k_{el}						
LSD						
(I) Group	(J) Group	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	-.003600	.003955	.381	-.01222	.00502
	3	-.001800	.003955	.657	-.01042	.00682
2	1	.003600	.003955	.381	-.00502	.01222
	3	.001800	.003955	.657	-.00682	.01042
3	1	.001800	.003955	.657	-.00682	.01042
	2	-.001800	.003955	.657	-.01042	.00682

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

ตารางภาคผนวกที่ 7-9 การวิเคราะห์ค่าครึ่งชีวิตของการกำจัดยา ($t_{1/2\text{el}}$) ของ GHB
ในหนูทั้ง 3 กลุ่ม (n=5)

ANOVA					
GHB $t_{1/2\text{el}}$					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8.493	2	4.246	.376	.695
Within Groups	135.675	12	11.306		
Total	144.168	14			

Multiple Comparisons						
GHB $t_{1/2\text{el}}$						
LSD						
(I) Group	(J) Group	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	1.82800	2.12662	.407	-2.8055	6.4615
	3	.71000	2.12662	.744	-3.9235	5.3435
2	1	-1.82800	2.12662	.407	-6.4615	2.8055
	3	-1.11800	2.12662	.609	-5.7515	3.5155
3	1	-.71000	2.12662	.744	-5.3435	3.9235
	2	1.11800	2.12662	.609	-3.5155	5.7515

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

ตารางภาคผนวกที่ 7-10 การวิเคราะห์ค่าพื้นที่ใต้กราฟของความสัมพันธ์ (AUC) ของ GHB
ในหนูทั้ง 3 กลุ่ม (n=5)



ANOVA					
GHB AUC					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2178241.592	2	1089120.796	.690	.521
Within Groups	1.895E7	12	1579478.297		
Total	2.113E7	14			

Multiple Comparisons						
GHB AUC						
LSD						
(I) Group	(J) Group	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	577.26200	794.85302	.482	-1154.5740	2309.0980
	3	-346.62400	794.85302	.671	-2078.4600	1385.2120
2	1	-577.26200	794.85302	.482	-2309.0980	1154.5740
	3	-923.88600	794.85302	.268	-2655.7220	807.9500
3	1	346.62400	794.85302	.671	-1385.2120	2078.4600
	2	923.88600	794.85302	.268	-807.9500	2655.7220

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

ภาคผนวกที่ 8

หนังสือรับรองจรรยาบรรณการใช้สัตว์ทดลอง

ที่ ศร ๐๕๖๓.๑๑/๖๖๔		สำนักงานวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ต.พนาใหญ่ อ.สงขลบุรี ๑๐๑๑๐
Ref.23451		
หนังสือรับรอง		
โครงการวิจัย เรื่อง	ผลของกรดไขมันต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมของ 1,4-ทิวแทนไดออกไซด์ผ่านระบบไซโทโครม P-450 ในหนูขาว	
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.ปิยะมา ต่วนวงษ์เจริญ	
ได้ผ่านการพิจารณาและเห็นชอบจาก คณะกรรมการจรรยาบรรณการใช้สัตว์ทดลอง มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์		
ให้ไว้ ณ วันที่ 1๘ กันยายน ๒๕๕1		
		
(รองศาสตราจารย์ ดร.นงทร คุ้มวงศ์)		
กรรมการ		
ปฏิบัติราชการแทน ประธานคณะกรรมการจรรยาบรรณการใช้สัตว์ทดลอง มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์		
<hr/> คณะกรรมการจรรยาบรรณการใช้สัตว์ทดลอง มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์		

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล	นายรวิ อั่นนะห์ดี		
รหัสประจำตัวนักศึกษา	4822156		
วุฒิการศึกษา			
วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา	
วิทยาศาสตร์บัณฑิต (ชีววิทยาประยุกต์)	มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา	2545	

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงานผลงาน

รวิ อั่นนะห์ดี, กิจจา สว่างเจริญ และเบญจมาศ จันทร์ฉวี. การตรวจหากรดแกมมาไฮดรอกซีบิวทีริกในตัวอย่างเลือดครบส่วนด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีและตัวตรวจวัดชนิดเฟลมไอออเซชัน. การประชุมวิชาการระดับชาติเพื่อนำเสนอผลงานวิจัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี ร่วมกับสถาบันวิจัยภาษาและวัฒนธรรมเอเชีย มหาวิทยาลัยมหิดล. 3 กรกฎาคม พ.ศ. 2553.