บทที่ 1

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทนำ

แอมเฟตามินเป็นสารเคมีกลุ่มหนึ่ง ซึ่งมีฤทธิ์ในการทำให้หลอดลมขยายตัว ลดความหิว ขจัดความอ่อนเพลีย และกระตุ้นระบบประสาทส่วนกลาง ได้มีผู้นำฤทธิ์นี้ของแอมเฟตามินไปใช้ประโยชน์ในด้านการแพทย์ เช่น รักษาคนไข้ที่มีอาการพิษจากยาระงับประสาท ลดน้ำหนักคนอ้วน รักษาคนไข้ที่มีอาการลมชักหมดสติ (narcolypsy) อาการผิดปกติทางระบบประสาทแบบ Parkinsonism และใช้สูดดมเมื่อคัดจมูก เป็นต้น แต่แอมเฟตามินอาจทำให้เกิดฤทธิ์ข้างเคียงที่ไม่พึงประสงค์ขึ้นได้ในกรณีที่ใช้แอมเฟตามินปริมาณสูง เช่น เกิดความผิดปกติของกระเพาะอาหาร อาการประสาทหลอนและตื่นเต้นง่าย เป็นต้น (Innes และ Nickerson 1975)

แอมเฟตามินเป็นยาเสพติดชนิดหนึ่ง (Änggård 1977) การใช้ยาโดยขาดความระวังอาจเกิดปัญหาจากการใช้ยามากเกินสมควร หรือการเสพติดขึ้นได้ มีรายงานที่แสดงถึงการเสพติดแอมเฟตามินในหลายประเทศ เช่น ญี่ปุ่น อินโดนีเซีย ออสเตรเลีย และ สหรัฐอเมริกา เป็นต้น (WHO. Final Report 1979 : Brown และ Chaitkin 1980) ในประเทศไทยก็มีแนวโน้มที่จะเกิดปัญหาเช่นเดียวกัน (จรัส สุวรรณเวลา และคณะ 2512 : Poshyachinda 1979)

1.1 ประวัติการใช้และปัญหาของแอมเฟตามิน

แม้ว่าผู้สังเคราะห์แอมเฟตามินขึ้นได้ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1887 แต่ความรู้เกี่ยวกับคุณสมบัติทางการแพทย์ของแอมเฟตามินเพิ่งจะเริ่มมีขึ้นในช่วงปี ค.ศ. 1927 – 1933 โดยการศึกษาของ Gordon Alles เพื่อที่จะหายามาใช้แทน ephedrine ทำให้ทราบคุณสมบัติต่าง ๆ ของแอมเฟตามินมากขึ้น ในปี ค.ศ. 1935 Prinztmetal และ Blomberg นำคุณสมบัติของแอมเฟตามินด้านกระตุ้นประสาทส่วนกลางมาใช้ในทางการแพทย์เป็นครั้งแรก อีกสองปีต่อมาแพทย์เริ่มใช้แอมเฟตามินชนิดเม็ด เพื่อรักษาโรคลมชักหมดสติ ระงับกลุ่มอาการ hyperactive ในเด็กเป็นต้น และในปีต่อ ๆ มาฤทธิ์ของแอมเฟตามินด้านระงับความหิว และกระตุ้นระบบประสาทส่วนกลาง ก็เป็นที่รู้จักกันดีในทางการแพทย์ (National Clearinghouse for Drug Abuse Report Series 28, 1974 ; Innes และ Nickerson 1975)

ระหว่างสงครามโลกครั้งที่ 2 ชาวญี่ปุ่นใช้แอมเฟตามินกันแพร่หลาย ทั้งในกลุ่มประชาชนและกลุ่มทหาร เนื่องจากความกดดันของสภาวะสังคม หลังจากเสร็จสงครามแล้วมีแอมเฟตามินเหลืออยู่มากมาก และมีการใช้ยาโดยไม่มีแพทย์ควบคุม เป็นเหตุให้รัฐบาลญี่ปุ่นประสบปัญหาการ

ใช้ยาในทางที่ผิด (National Clearinghouse for Drug Abuse Report Series 28, 1974) แม้ในปัจจุบันนี้ญี่ปุ่นก็ยังคงมีปัญหาการใช้ และการติดยาแอมเฟตามินอยู่ โดยเฉพาะการใช้แอมเฟตามินโดยการฉีด (WHO. Final Report 1979)

ประเทศอื่น ๆ เช่น สหรัฐอเมริกา การใช้ยากระตุ้นประสาทโดยไม่มีใบสั่งยาจากแพทย์ระบาดมากใน 2 - 3 ปีมานี้ สาเหตุอย่างหนึ่งอาจจะมาจากการที่แพทย์ให้ยาประเภทแอมเฟตามิน และยาระงับความหิวชนิดอื่น ๆ แก่คนไข้ในการรักษาโรคอย่างไม่ระมัดระวังเพราะมีทัศนคติว่ายาประเภทนี้ มีผลกระทบต่อร่างกายน้อย (Ellinwood, Fishburne และ Cisin 1979) นอกจานี้อาจเนื่องจากการใช้ยาประเภทนี้อย่างแพร่หลายในกลุ่มผู้ใหญ่ และกลุ่มเยาวชนเพื่อประโยชน์ทางด้านหาความสนุกสนาน (Abelson, Fishburne และ Cisin 1977 ; Johnston, Backman และ O'Malley 1977 ; O'Donnell และคณะ 1976)

Brown และ Chaitkin (1980) รายงานว่า จากการศึกษาผู้ใช้ยาเสพติดชนิดอนุพันธ์ฝิ่นเป็นส่วนใหญ่ จำนวน 427 คน ซึ่งมารับการรักษาในช่วง เดือน พฤษภาคม ถึง กรกฎาคม ค.ศ. 1978 จากคลีนิค 30 แห่ง ในนครใหญ่ ๆ 5 แห่ง ของสหรัฐอเมริกา คือ Detroit New Jersey New York San Diego และ San Franciso พบว่าคนไข้ร้อยละ 36.3 โดยใช้ยากระตุ้น หรือยาระงับประสาทอย่างน้อย 1 ชนิด โดยไม่มีใบสั่งยาจากแพทย์ และในช่วงก่อนการรักษา 1 ปี มีคนไข้ร้อยละ 35.6 ที่เคยใช้ยากระตุ้น และยาที่นิยมใช้กันมากที่สุด คือ d และ dl-amphetamine หรือที่มีอีกชื่อหนึ่งว่า biphetamine

สำหรับประเทศไทยนั้น ปัจจุบันมีปัญหาเกี่ยวกับยาเสพติดหลายชนิด แต่ละกลุ่มของประชากรก็มีชนิดของยา และลักษณะของปัญหาแตกต่างกันออกไป เช่น การติดฝิ่นของชาวไทยภูเขา หรือการใช้ยาม้า ยาขยัน ยาแก้ปวด ในชนบทไทย เป็นต้น และสิ่งที่น่าวิตก คือ การติดยาเสพติดระบาดในหมู่เยาวชน (จรัส สุวรรณเวลา และคณะ 2521) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง เมื่อลักษณะของปัญหาเป็นการระบาดของยาเสพติดหลายชนิด จากการศึกษาในโรงเรียนต่าง ๆ ทั้งในกรุงเทพมหานคร และต่างจังหวัด พบว่านักศึกษาจำนวนไม่น้อยเคยใช้สารที่มีฤทธิ์ในทางเสพติดหลายชนิด เช่น เหล้า บุหรี่ กัญชา เฮโรอีน ยากล่อมประสาท น้ำมันระเหย และยากระตุ้น และจากการสำรวจนักศึกษาชายร้อยละ 10 - 15 เคยใช้ยากระตุ้น และในกลุ่มนักศึกษาหญิงมีสถิติการใช้สูงถึงร้อยละ 56 (Sitthi - Amorn และคณะ 1978)

สำหรับการเสพติดและการระบาดของยาแอมเฟตามินนั้น นายแพทย์ วิชัย โปษยะจินดา รายงานว่า เริ่มมีผู้เสพติดแอมเฟตามิน เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลธัญญรักษ์ ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2512 และจากการศึกษาคนไข้ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือในปี พ.ศ. 2520 พบว่ามีคนไข้จำนวนหนึ่ง ซึ่งเคยเสพอนุพันธ์ฝิ่น มีประวัติการฉีดแอมเฟตามินเข้าเส้นเลือดด้วย และจากรายงานของผู้วิจัยคณะเดียวกันนี้ ในปี พ.ศ. 2521 แสดงว่า 1 ใน 3 ของคนไข้ที่มารับการรักษาที่ศูนย์รักษายาเสพติดชาวไทยภูเขา ในจังหวัดเชียงใหม่ เปลี่ยนจากการเสพอนุพันธ์ฝิ่นมาเป็นการเสพแอมเฟตามินแทน (Posyachinda 1979) และในรายงานปี พ.ศ. 2522 พบว่าที่โรงพยาบาล

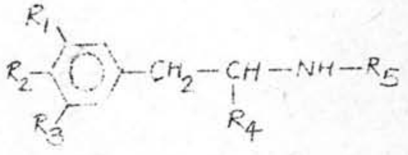
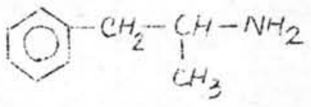
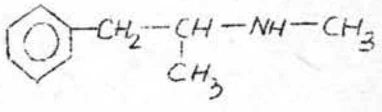
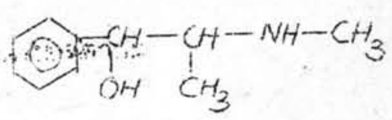
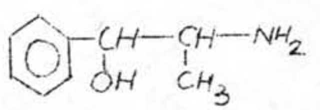
ขอนแก่นมีคนไข้จำนวนมากถึง 11 คน จากคนไข้ทั้งหมด 19 คนที่มารับการรักษาด้านยาเสพติดนั้น ใช้แอมเฟตามีนโดยการฉีดเข้าเส้นเลือดควบคู่กับการใช้ยาเสพติดประจำด้วย (วิชัย โปษยะจินดา และ อุษณีย์ พึ่งปาน 2522)

จากข้อมูลเหล่านี้ชี้แนะว่าแอมเฟตามีน อาจจะเป็นยาเสพติดอีกชนิดหนึ่งที่สร้างปัญหาใหญ่ให้กับประเทศไทย การติดตามแนวโน้มและศึกษาปัญหาเกี่ยวกับยาชนิดนี้ จึงเป็นประโยชน์ในการให้ความรู้เกี่ยวกับลักษณะของปัญหาและการหาแนวทางแก้ไข

1.2 <u>ข้อมูลพื้นฐานเพื่อประโยชน์ในการศึกษาปัญหาของแอมเฟตามีน</u>

1.2.1 <u>โครงสร้างทางเคมี</u>

สารกลุ่มแอมเฟตามีนนี้มี Phenylethylamine เป็นโครงสร้างหลักและมีอนุพันธ์อยู่หลายชนิดด้วยกัน เช่น dl-amphetamine d-amphetamine sulphate methamphetamine ephedrine และ phenylpropanolamine เป็นต้น (Bastos และ Hoffman 1974)

<u>ชื่อ</u>	<u>สูตรเคมี</u>
phenylethylamine	
amphetamine	
methamphetamine	
ephedrine	
phenylpropanolamine	

<u>รูปที่ 1</u> โครงสร้างทางเคมีของสารกลุ่มแอมเฟตามีน

1.2.2 ฤทธิ์ของแอมเฟตามีน (Innes และ Nickerson 1975)

ฤทธิ์ของแอมเฟตามีนที่รู้จักกันดี คือ สามารถกระตุ้นระบบประสาทส่วนกลางได้ดีมาก และมีฤทธิ์ยาวนานกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับ ephedrine ส่วนคุณสมบัติทางเภสัชอื่น ๆ เช่น มีผลต่อหลอดเลือดหัวใจ ทำให้การเต้นของหัวใจเปลี่ยนแปลง มีผลต่อระบบประสาทส่วนกลาง ซึ่งจะทำให้อาการง่วง อาการอ่อนเพลียหมดไป เป็นต้น นอกจากนี้แอมเฟตามีนยังมีผลต่อศูนย์รวมประสาทสมองที่ควบคุมความหิว ทำให้มีความหิวน้อยลง แต่ร่างกายของคนมีภาวะดื้อต่อฤทธิ์ประการนี้ได้เร็วมาก

แอมเฟตามีนเป็นยาที่มีฤทธิ์ต่อจิตใจ อาจทำให้เกิดการเสพติดและดื้อยาได้ง่าย ดังนั้นการใช้ยาควรอยู่ในความควบคุมของแพทย์ การใช้แอมเฟตามีนปริมาณสูง ๆ จะทำให้เกิดเป็นพิษอย่างรุนแรง เช่น อาเจียร ปวดศรีษะ เป็นไข้ และเกิดความคิดสับสน จนอาจจะทำอัตวินิบาต-กรรมได้ พิษรุนแรงนี้อาจบรรเทาได้โดยการให้กินแอมโมเนียมคลอไรด์ เพื่อทำให้ปัสสาวะเป็นกรด ซึ่งจะช่วยเร่งอัตราการขับถ่ายแอมเฟตามีนออกจากร่างกายได้เร็วขึ้น

1.2.3 วิธีใช้ การดูดซึม และการขับถ่ายแอมเฟตามีน

การใช้แอมเฟตามีนมีได้หลายวิธี เช่น สูดดมแอมเฟตามีนเบส หรือการฉีดสารละลายของแอมเฟตามีนซัลเฟตเข้าเส้นเลือดหรือกล้ามเนื้อ ซึ่งจะออกฤทธิ์ได้ภายใน 5 นาที และที่นิยมใช้ในทางการแพทย์มากที่สุด คือ รับประทานแอมเฟตามีนซัลเฟตชนิดเม็ด ซึ่งจะใช้เวลาประมาณ 30 นาที ถึง 1 ชั่วโมง จึงจะออกฤทธิ์

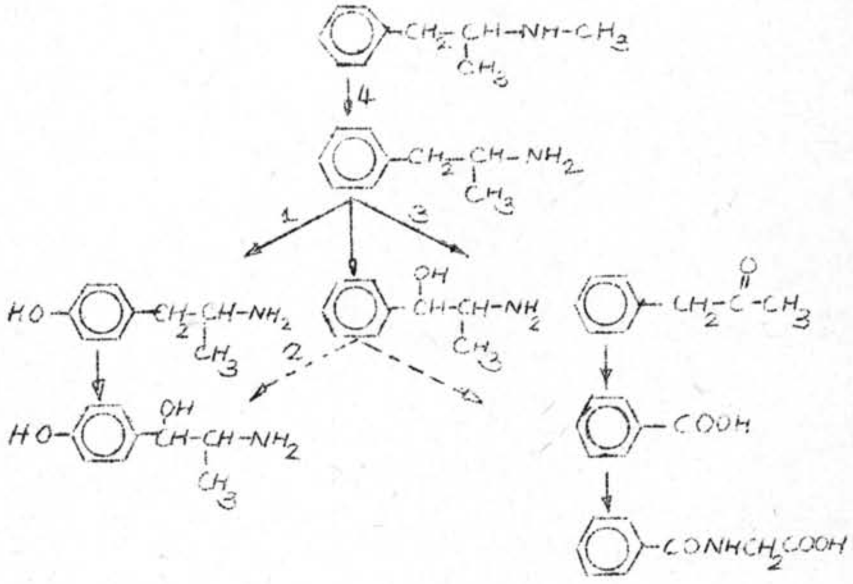
ปริมาณแอมเฟตามีนที่ใช้ในทางการแพทย์มีตั้งแต่ 2.5 ถึง 20.0 มิลลิกรัม ขึ้นอยู่กับชนิดของแอมเฟตามีน ชนิดของโรค และปัจจัยอื่น ๆ เช่น เพศ อายุ และน้ำหนักเป็นต้น (Innes และ Nickerson 1975)

การดูดซึมของยาเข้าสู่ร่างกายนั้น มี 2 วิธี (Goth 1978 ; Schamber 1962) คือ Passive Transfer และ Specialized transport และปัจจัยที่ควบคุมอัตราการดูดซึมมีหลายอย่าง เช่น ระดับความแตกต่างของความเข้มข้นของยาใน 2 ระบบ สภาพความเป็นกรดด่างของระบบ และค่า pKa ของยา ในสภาพความเป็นกรดด่างของร่างกายปกติ จะมีแอมเฟตามีนในรูปที่ไม่แตกตัวน้อยกว่าร้อยละ 1 เนื่องจากแอมเฟตามีนมีค่า pKa สูงถึง 9.9 (Änggård 1977)

แอมเฟตามีนที่ถูกดูดซึมจะกระจายตัวไปยังเนื้อเยื่อต่าง ๆ จากการศึกษาของ Cambell (1969) และ Rowland (1969) พบว่าหลังจากกินแอมเฟตามีนซัลเฟต 10 มิลลิกรัมแล้ว ระดับสูงสุดของแอมเฟตามีนที่พบในเลือดจะมีค่าเท่ากับ 40 นาโนกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ในเวลาประมาณ 1 ชั่วโมงหลังกินยา และแอมเฟตามีนสามารถผ่าน blood-brain barrier ได้ง่าย

จึงทำให้แอมเฟตามินมีฤทธิ์ต่อระบบประสาทส่วนกลาง (Innes และ Nickerson 1975) และปริมาณของแอมเฟตามินในน้ำไขสันหลังจะสมดุลย์อยู่กับปริมาณในเลือดมากกว่าปริมาณในสมอง (Frankson และ Änggard 1970)

Goth กล่าวว่าในร่างกายของคนทั่วไปนั้น แอมเฟตามินจะมี half-life เป็น 12 ± 6 ชั่วโมง (Goth 1978) และร่างกายมีวิธีขับถ่ายแอมเฟตามินที่สำคัญ 2 วิธี คือ ขับถ่ายออกทางไตในรูปเดิม และอีกวิธีหนึ่ง คือ ผ่านขบวนการเปลี่ยนแปลงรูปของแอมเฟตามิน ซึ่งส่วนใหญ่เกิดขึ้นที่ตับแล้วจึงขับถ่ายออกทางปัสสาวะ วิธีการเปลี่ยนรูปของแอมเฟตามิน มีหลายวิธีดังรูป



1. Hydroxylation of amphetamine (aromatic hydroxylation)
2. Aliphatic hydroxylation
3. Oxidative deamination

<u>รูปที่</u> 2 วิธีการเปลี่ยนรูปของแอมเฟตามิน (Änggard 1977)

ปัจจัยที่มีผลต่อวิธีการขับแอมเฟตามีนออกจากร่างกายนั้น ขึ้นอยู่กับ อายุ เพศ เป็นต้น (Conney 1967) และปัจจัยที่สำคัญ คือ สภาพความเป็นกรดด่างของปัสสาวะ ถ้าปัสสาวะเป็นกรดมาก (pH 5 - 6) แอมเฟตามีนจะแตกตัวมากเพราะมีค่า pKa = 9.9 ทำให้ renal tubules ดูดซึมแอมเฟตามีนกลับคืนได้น้อย ดังนั้นแอมเฟตามีนส่วนใหญ่ คือ ประมาณร้อยละ 65 ของแอมเฟตามีนที่กินเข้าไป จึงถูกกำจัดออกมากับปัสสาวะ และในทางตรงกันข้าม ถ้าปัสสาวะมีสภาพเป็นด่างสูง (pH 7 - 8) แอมเฟตามีนส่วนใหญ่ถูกดูดซึมกลับคืนที่ renal tubules และถูกขับออกจากร่างกาย โดยการเปลี่ยนแปลงรูปที่ตับ (Asatoor และคณะ 1965 ; Änggård และคณะ 1970 ; Änggård และคณะ 1973 ; Beckett, Rowland และ Turner 1965 ; Davisและคณะ 1971)

1.3 การวิเคราะห์

ในปี พ.ศ. 2503 มีการระบาดของอนุพันธ์ฝิ่นเกิดขึ้นในหลายประเทศ ทำให้มีการพัฒนาการวิเคราะห์ยาเสพติดมากขึ้น โดยเฉพาะในช่วง 15 ปีที่ผ่านมานี้ เพื่อจะนำข้อมูลที่ได้มาศึกษาด้านการระบาดวิทยาของยาเสพติด นอกจากนี้วิธีวิเคราะห์ยาเสพติดเหล่านี้ อาจเป็นประโยชน์ในด้านการบำบัดรักษาและติดตามผลการรักษาคนไข้เสพติด ด้านรักษาอาการเฉียบพลันที่เกิดจากการใช้ยามากเกินขนาด และด้านนิติเวชวิทยาเป็นต้น (WHO. Final Report 1979)

วิธีทั่วไปที่ใช้ในการวิเคราะห์ยาเสพติดในของเหลวจากร่างกายมีหลายวิธี เช่น เปเปอร์โครมาโตกราฟฟี ทินเลเยอร์โครมาโตกราฟฟี สเปคโตรโฟโตเมทรี แกสโครมาโตกราฟฟี แกสโครมาโตกราฟฟี - แมสสเปคโตรเมทรี แมสเฟรคเมนโตกราฟฟี อิมมิวโนแอสเสย์ ลิควิดโครมาโตกราฟฟีและวิธีสังเกตรูปผลึกเป็นต้น (WHO. Technical Report Series 556, 1974)

1.3.1 วิธีวิเคราะห์แอมเฟตามีน

การชันสูตรหาแอมเฟตามีนในร่างกาย อาจทำได้จากการวิเคราะห์ตัวอย่างของเหลวจากร่างกายหลายประเภท เช่น น้ำลาย เลือด เหงื่อ และปัสสาวะ เป็นต้น (WHO. Technical Report Series 556, 1974) ที่นิยมใช้เป็นตัวอย่างในการวิเคราะห์ คือ ปัสสาวะและอาจจะวิเคราะห์ได้โดยวิธีต่าง ๆ กัน เช่น โฟโตเมทรี ราดิโออิมมิวโนแอสเสย์ แกสโครมาโตกราฟฟี และทินเลเยอร์โครมาโตกราฟฟี เป็นต้น วิธีวิเคราะห์ต่าง ๆ เหล่านี้มักจะมีขั้นตอนที่สำคัญ 2 ขั้นตอน คือ การสกัดแอมเฟตามีนออกจากปัสสาวะ และการตรวจวิเคราะห์แอมเฟตามีนที่สกัดได้ (Bost, Sutheimer และ Sunshine 1976)

1.3.2 วิธีการสกัดแอมเฟตามีน

วิธีการสกัดแอมเฟตามีนที่นิยมใช้กันแพร่หลายมี 3 วิธี คือ

1.3.2.1 การสกัดโดยใช้เรซินที่มีประจุ

วิธีนี้จะใช้เรซินที่ประกอบด้วย ประจุลบหรือประจุบวก ซึ่งจะเลือกดูดซับสารที่เป็นกรดหรือด่าง โดยการแลกที่ของประจุ (Maickel 1977) การใช้เรซินอาจจะใช้ในรูปของกระดาษที่ชุบด้วยเรซินที่มีประจุในการแยกแอมเฟตามีน ออกจากปัสสาวะ แล้วไล่แอมเฟตามีนออกจากกระดาษที่มีประจุด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ที่เหมาะสม (Kaistha, Tadrus และ Janda 1975)

1.3.2.2 การสกัดโดยใช้เรซินที่ไม่มีประจุ

เรซินที่ใช้ในวิธีนี้จะไม่มีประจุและเป็นสารเคมีประเภท สตีรีน หรือ ไดไวนิลเบนซิน เรซินจะเลือกดูดซับสารอินทรีย์ประเภทที่ชอบรวมตัวกับไขมัน เช่น แอมเฟตามีนจากปัสสาวะ การไล่แอมเฟตามีนออกจากเรซิน ทำโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์หรือสารละลายบัฟเฟอร์ที่เหมาะสม (Maickel 1977) เรซินชนิดที่นิยมใช้ในการสกัดแอมเฟตามีน คือ amberlite XAD-2 resin (Delbeke และ Debackere 1977 ; Roeric และคณะ 1975)

1.3.2.3 การสกัดโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์

วิธีนี้อาศัยความสามารถในการละลายของแอมเฟตามีนระหว่างตัวทำละลายอินทรีย์และปัสสาวะ ประสิทธิภาพของการสกัดจะขึ้นอยู่กับชนิดของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ และความเป็นกรดด่างของปัสสาวะ (Bastos และ Hoffman 1974)

1.3.3 หลักการของวิธีวิเคราะห์แอมเฟตามีนที่ใช้ในวิทยานิพนธ์นี้

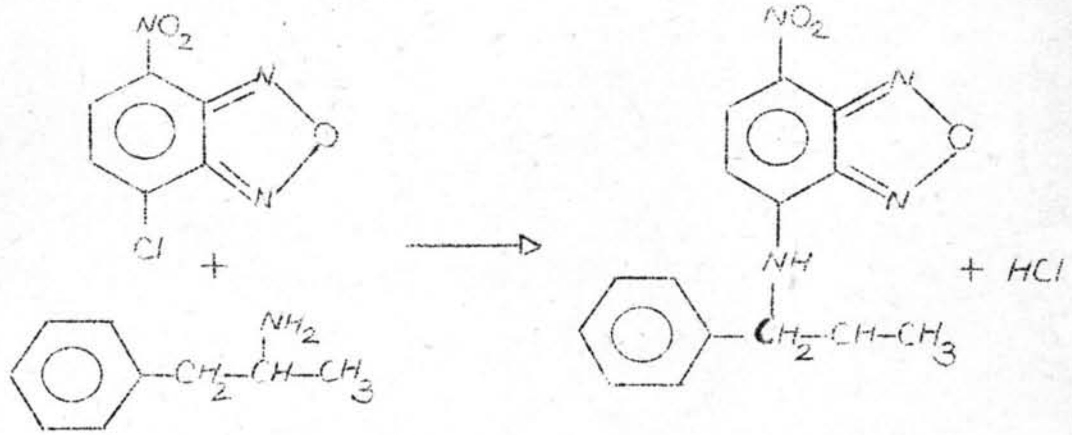
1.3.3.1 วิธีทินเลเยอร์โครมาโตกราฟฟี

การวิเคราะห์แอมเฟตามีนโดยวิธีนี้มี 2 ขั้นตอนตามลำดับ คือ การแยกแอมเฟตามีนออกจากสารอื่นที่ปนมากับการสกัดปัสสาวะ และการตรวจหาแอมเฟตามีนที่แยกได้ (WHO. Technical Report Series 556, 1974)

การแยกสารด้วยวิธีทินเลเยอร์โครมาโตกราฟฟี อาศัยหลักการดูดซึม (adsorption) เป็นส่วนใหญ่ หลักการอื่น ๆ เช่น การละลายระหว่างตัวทำละลายที่ไม่เป็นเนื้อเดียวกัน การแลกเปลี่ยนประจุ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับการเลือกใช้ชนิดวัสดุที่เคลือบแผ่นทินเลเยอร์โครมาโตกราฟฟี และชนิดของตัวทำละลายอินทรีย์เคมี (Stahl 1973) การแยกโดยทั่วไปเกิดขึ้นเนื่องจากตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ที่ใช้เป็นสารละลายในการทำโครมาโตกราฟฟีที่เคลื่อนที่ไปบนแผ่นทินเลเยอร์โครมาโตกราฟฟีด้วยแรงคาปิลลารี และละลายสารที่หยดไว้บนตัวดูดซับที่เคลือบเป็นแผ่นบาง ในขณะเดียวกันสารเหล่านั้นจะถูกดูดซับด้วยตัวดูดซับด้วย (Randerath 1963)

และอาศัยคุณสมบัติของสารต่าง ๆ ที่มีจุดสมดุลย์ของการกระจายตัว (equilibrium distribution) ต่างกัน (Butler 1977) จึงแยกสารเหล่านี้ออกจากกันได้

การตรวจหาแอมเฟตามีน ที่ใช้กันแพร่หลายมี 2 วิธีคือ วิธีทำให้เกิดสี และวิธีทำให้เกิดปรากฏการณ์เรืองแสง วิธีแรกใช้สารเคมี เช่น นินไฮดริน ทำให้เกิดสีกับกลุ่มอะมิโนของแอมเฟตามีนเบส (Roering และคณะ 1975) หรือกับอนุพันธ์ต่าง ๆ ของแอมเฟตามีน เช่น อนุพันธ์ซัลเฟต (Kaistha, Tadrus และ Janda 1975) เป็นต้น สำหรับวิธีทำให้เกิดปรากฏการณ์เรืองแสงนั้น ทำโดยการเตรียมแอมเฟตามีนให้เป็นอนุพันธ์ที่เรืองแสง โดยใช้สารเคมี เช่น dansyl chloride (DANS-Cl) (Seiler และ Demisch 1978) fluorescamine (Klein และคณะ 1974) หรือ 7-Chloro-4-Nitrobenzo-2,1,3-Oxadiazole (NBD-Cl) ปฏิกิริยาที่ใช้ในวิทยานิพนธ์นี้ อาศัยการเกิดปฏิกิริยาของ NBD-Cl กับกลุ่มอะมิโนชนิดปฐมภูมิ และทุติยภูมิ ของสารแอมเฟตามีนดังรูป



amphetamine NBD-Cl amphetamine - NBD

<u>รูปที่ 3</u> ปฏิกิริยาระหว่างแอมเฟตามีนกับ NBD-Cl (Hoof และ Heydrickx 1974)

1.3.3.2 <u>วิธีสเปคโตรฟลูออโรโฟโตเมทรี</u>

การวิเคราะห์โดยวิธีสเปคโตรฟลูออโรโฟโตเมทรีนี้อาศัยหลักการณ์ที่ว่า โมเลกุลของสารบางชนิดเมื่อดูดแสงจะถูกกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนระดับที่มีพลังงานต่ำไปยังระดับที่มีพลังงานสูงขึ้นและเสถียรน้อยลง สารเหล่านี้พยายามทำให้โมเลกุลเสถียรขึ้น โดยการคายพลังงานออกมาในรูปต่าง ๆ ถ้าโมเลกุลนี้ปรับตัวมาอยู่ที่พลังงานต่ำ โดยผ่านขบวนการที่ไม่สูญเสียโฟตอนแล้ว จะเกิดปรากฏการณ์เรืองแสงขึ้น เราสามารถวัดความสามารถในการเรืองแสงและรูปแบบของการถูกกระตุ้นและการคายแสงของสารต่าง ๆ ได้โดยอาศัยเครื่องสเปคโตรฟลูออโรโฟโตมิเตอร์ (Terhaar และ Porro 1977)

เนื่องจากสเปคโตรฟลูออโรโฟโตเมทรีนี้ให้ความไวสูง จึงมีผู้คิดแปลงวิธีนี้มาใช้ในการวิเคราะห์ทั้งทางคุณภาพและปริมาณกับงานด้านต่าง ๆมาก รวมทั้งด้านวิเคราะห์ยาเสพติดอื่น ๆ ด้วย (Terhaar และ Porro 1977) เช่นการวิเคราะห์ยาบาบิทูเรทของ Miles (1973) หรือการวิเคราะห์แอมเฟตามีนในเลือดและปัสสาวะของ Monforte, Bath และ Sunshine (1972)

การวิเคราะห์แอมเฟตามีนโดยวิธีสเปคโตรฟลูออโรโฟโตเมทรีนี้ ไม่สามารถวิเคราะห์จากแอมเฟตามีนได้โดยตรง เพราะเป็นสารที่ไม่มีคุณสมบัติในการเรืองแสง แต่อนุพันธ์ของแอมเฟตามีนบางชนิด เช่น อนุพันธ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาของแอมเฟตามีนกับ NBD-Cl จะมีคุณสมบัตินี้ ดังนั้นจึงวิเคราะห์ amphetamine-NBD ด้วยวิธีนี้ได้ (Bost, Sutheimer และ Sunshine 1976 ; Hoof และ Heyndrickx 1974 ; Monforte, Bath และ Sunshine 1972)

1.3.3.3 <u>วิธีราดิโออิมมิวโนแอสเสย์</u>

หลักการณ์วิเคราะห์ยาโดยวิธีอิมมิวโนแอสเสย์ คือ นำยามาสร้างเป็นแอนติเจนแล้วนำไปฉีดในสัตว์ที่เหมาะสม เพื่อให้สัตว์สร้างแอนติบอดี ซึ่งจะมีความจำเพาะต่อแอนติเจนนั้น ๆ เมื่อให้แอนติบอดีทำปฏิกิริยากับยาทั้งในรูปปกติ และในรูปที่ติดฉลาก ยาเหล่านี้จะแข่งขันกันเกิดปฏิกิริยารวมตัวกับแอนติบอดี วิธีต่าง ๆ ที่อาศัยหลักของวิธีอิมมิวโนแอสเสย์มีอยู่ 4 วิธีใหญ่ ๆ ซึ่งวิธีเหล่านี้จะแตกต่างกันที่ชนิดของสารติดฉลาก เช่น วิธีเอ็นไซม์มัลติเพิลอิมมิวโนแอสเสย์ (EMIT) ใช้สารที่ติดฉลากด้วยเอ็นไซม์ (Bost, Sutheimer และ Sunshine 1976) วิธีฮีมแอกกลูติเนชั่น อินฮิบิชั่น (HI) ใช้สารที่ติดฉลากด้วยกลุ่มเซลเม็ดเลือดแดง (Scherr 1977) วิธีฟรีราดิคอลแอสเสย์ เทคนิค (FRAT) ที่ติดฉลากสารด้วยไนทรอกไซด์โมเลกุล (Bidanset 1974) และการใช้สารที่ติดฉลากด้วยสารรังสีของวิธี ราดิโออิมมิวโนแอสเสย์

การใช้วิธีราดิโออิมมิวโนแอสเสย์วิเคราะห์ยาจากของเหลวจากร่างกาย มีขั้นตอนเบื้องต้นที่สำคัญ คือ (Harwood 1974) การสร้างแอนติบอดีจากสัตว์ทดลองที่เหมาะสม ซึ่งมัก

เป็นกระต่าย แพะ หรือแกะ เนื่องจากโมเลกุลของยาเล็กจึงต้องเชื่อมกับโปรตีนตัวนำ เพื่อจะใช้เป็นแอนติเจนในการอิมมูไนซ์ ให้เกิดแอนติบอดี เช่น เชื่อม N-(4-aminobutyl) methylamphetamine กับ bovine serum albumin เพื่ออิมมูไนซ์ให้เกิดแอนติแอมเฟตามีน (Cheng และคณะ 1973)

เมื่อได้แอนติบอดีที่เหมาะสมแล้ว นำแอนติบอดี (Q) มาทำปฏิกิริยากับยา (P) จะเกิดการรวมตัวให้สารประกอบ แอนติเจน-แอนติบอดี (PQ) (Ekins 1974)

$$P + Q \qquad PQ$$

$$K = \frac{[PQ]}{[P]\ [Q]}$$

เมื่อ K คือ ค่าสมดุลย์ของปฏิกิริยา

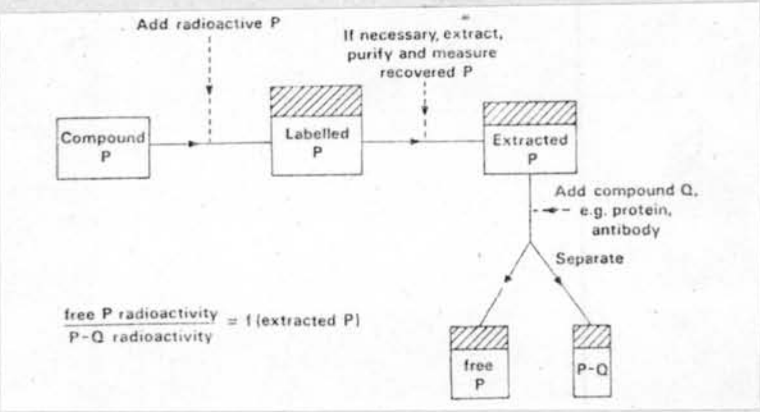
[PQ] คือ ความเข้มข้นของสารประกอบแอนติเจน-แอนติบอดี

[P] คือ ความเข้มข้นของแอนติเจนหรือยา

และ [Q] คือ ความเข้มข้นของแอนติบอดี

การวัดปริมาณสารประกอบแอนติเจน-แอนติบอดี ที่เกิดขึ้นอาจใช้สารติดฉลากด้วยสารรังสี เช่น ^{3}H ^{14}C ^{131}I และ ^{125}I เป็นต้น ในปริมาณที่เหมาะสม และยามาตราฐานปริมาณต่าง ๆ มาทำปฏิกิริยากับแอนติบอดีที่ปริมาณคงที่ ดังแผนภาพในรูปที่ 3 และสร้างกราฟมาตราฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณการรวมตัวของแอนติเจน-แอนติบอดี และความเข้มข้นของยามาตราฐาน

ยาในสารตัวอย่าง และสารติดฉลากรังสีจะแข่งขันกันจับกับแอนติบอดี ซึ่งมีปริมาณจำกัด ทำให้หาปริมาณของยาในสารตัวอย่างได้โดยเทียบจากกราฟมาตราฐาน



รูปที่ 4 หลักการณ์ของวิธี ราดิโออิมมิวโนแอสเสย์ (Ekins 1974)

การแยกสารติดฉลากรังสีรูปอิสระ ออกจากรูปที่จับอยู่กับแอนติบอดี เพื่อนำแต่ละส่วนไปนับรังสีนั้น เป็นขั้นตอนที่สำคัญ เพราะมีผลต่อความไว และความแม่นยำของการวัด วิธีการแยกมีอยู่หลายวิธี เช่น วิธีดูดซับและการตกตะกอนแยกส่วน เป็นต้น แต่ละวิธีก็มีข้อดีข้อเสียต่างกันออกไป (Ratcliffe 1974)

1.3.4 <u>ข้อเปรียบเทียบของวิธีวิเคราะห์แอมเฟตามีน</u>

แม้ว่าวิธีทินเลเยอร์โครมาโตกราฟฟีนี้จะมีข้อได้เปรียบกว่าวิธีอื่น ๆ อยู่หลายประการ เช่น ใช้เครื่องมือในการวิเคราะห์น้อย ราคาถูก เป็นวิธีง่าย ๆ ใช้เนื้อที่ในห้องปฏิบัติการน้อย ใช้แยกสารต่าง ๆ ออกจากกันได้ชัดเจน มีความจำเพาะและความไวพอสมควร และสามารถตรวจยาหลายชนิดได้ในการวิเคราะห์เพียงครั้งเดียว (Kaistha 1972 ; National Clearinghouse for Drug Abuse Information Report Series 24, 1974) แต่ผลการวิเคราะห์นี้จะให้ผลเพียงทางคุณภาพ หรือ กึ่งคุณภาพเท่านั้น และมีความคลาดเคลื่อนได้มาก เช่น ผลการวิเคราะห์ยาเสพติดของ Roeric และคณะ (1975)

ดังนั้นจึงมักจะมีการวิเคราะห์ยืนยันผลของทินเลเยอร์โครมาโตกราฟฟี ด้วยวิธีวิเคราะห์อื่น ๆ เช่น อิมมิวโนแอสเสย์ (Roeric และคณะ 1975) และวิธีสเปคโตรฟลูออโร-โฟโตเมทรี (Montfort, Bath และ Sunshine 1972) วิธีสเปคโตรฟลูออโรโฟโตเมทรีนี้นอกจากใช้เป็นวิธีวิเคราะห์ทางปริมาณแล้วยังเป็นวิธีวิเคราะห์ที่ให้ความไวสูงอีกด้วย

ปัจจุบันนี้การวิเคราะห์ยามักจะนำวิธีอิมมิวโนแอสเสย์มาใช้ เนื่องจากวิธีนี้ให้ความไวของการวัดสูง แม้ว่าจะขาดความจำเพาะที่สมบูรณ์ก็ตาม (Bastos และ Hoffman 1974) นอกจากนี้วิธีนี้ยังมีความสะดวกอื่น ๆ เช่น เป็นวิธีที่ง่าย รวดเร็ว (Bost, Sutheimer และ Sunshine 1976) และมักไม่ต้องการวิธีการสกัดในการวิเคราะห์ (Bidanset 1974) ความสะดวกเหล่านี้ทำให้วิธีนี้เหมาะที่ใช้วิเคราะห์ตัวอย่างกลุ่มใหญ่ ราดิโออิมมิวโนแอสเสย์ซึ่งเป็นวิธีอิมมิวโนแอสเสย์ วิธีหนึ่งที่ให้ความไวของการวิเคราะห์แอมเฟตามีนสูง (Mulé, Whitlock และ Jukofsky 1975) และเหมาะสมที่ใช้ในการวิเคราะห์แอมเฟตามีนทางปริมาณ (Bost, Sutheimer และ Sunshine 1976) มากกว่าเมื่อเทียบกับ อิมมิวโนแอสเสย์วิธีอื่น ๆ การวิเคราะห์แอมเฟตามีนด้วยราดิโออิมมิวโนแอสเสย์นี้ อาจจะใช้สารอิมโมโนสำเร็จรูป เช่น การวิเคราะห์ของ Roeric และคณะ (1975) Bidanset (1974) Cleeland และคณะ (1976) Mulé , Whitlock และ Jukofsky (1975) และ Bost, Sutheimer และ Sunshine (1976) เป็นต้น เนื่องจากไม่มีความยุ่งยากในการเตรียมแอนติบอดี และสารติดฉลาก

WHO. Meeting of Investigators (WHO.Technical Report Series 556, 1974) ได้เปรียบเทียบข้อได้เปรียบเสียเปรียบของการวิเคราะห์แอมเฟตามีนโดยวิธี

ราคิโออิมมิวโนแอสเสย์ ทินเลเยอร์โครมาโตกราฟฟี และ สเปคโตรฟลูออโรโฟโตเมทรี ไว้ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ข้อเปรียบเทียบของวิธีวิเคราะห์แอมเฟตามีน WHO.Technical Report Series 556, 1974)

	Radio-immunoassay	Automated Spectrofluorimetry	Thin-layer Chromatography
No. of Test per Technician per 8-hours shift	200 - 400	200 - 500	60 - 100
Costs (US.$)*			
Materials per test	0.45 - 0.75	0.10 - 1.00	0.30 - 0.50
Labour per test	0.07 - 0.58	0.05 - 0.08	0.58****
Total cost per test	0.52 - 1.33	0.15 - 1.08	0.88 - 0.50
Cost of establishing facilities	8000 - 15000	6000 - 25000	300 - 500
Turn-around time (hours)**	1 - 2	0.5 - 1	1 - 2
Equipment maintenance	Tests depend on major price of equipment That could have virtually no time lost due to failures or as many as 25	Service contracts available	Negligible (No major equipment)

ตารางที่ 1 (ต่อ) ข้อเปรียบเทียบของวิธีวิเคราะห์แอมเฟตามีน WHO.Technical Report Series 556, 1974)

	Radio-immunoassay	Automated Spectrofluorimetry	Thin-layer Chromatography
	to failures or as many as 25 inoperable days per year. Service contracts are available		
Test results expressed as	Counts per minute	Difference in peak heights	Intensity of spot on chromatogram
Sensitivity (µg/ml)***	0.10 - 0.15	0.20	1.0 - 2.0

* : Cost estimates for immunoassay materials are based on the purchase and use of currently available commercial vesions of each assay. The labour cost is based on the work of an average technician earning US.$ 30 per day.

** : This refers to the amount of time needed to complete the analysis of one sample, assuming that all the necessary equipment and supplies are availables.

*** : Defined as the minimal concentration of a drug or metabolites that can be detected in biological fluid.

**** : Mean cost.

วิทยานิพนธ์นี้จึงได้เลือกใช้วิธีทินเลเยอร์โครมาโตกราฟฟี เพื่อวิเคราะห์คุณภาพของแอมเฟตามีน โดยการสกัดแอมเฟตามีนออกจากปัสสาวะด้วย อีเทอร์ และเพื่อเป็นการเพิ่มความไวของการวิเคราะห์ให้สูงขึ้น จึงได้เตรียมแอมเฟตามีนที่สกัดได้ให้เป็นอนุพันธ์ของ NBD-Cl ซึ่งเรืองแสงทำให้ตรวจวิเคราะห์อนุพันธ์แอมเฟตามีนได้ ภายใต้รังสีเหนือม่วงที่ 365 นาโนเมตร นอกจากนี้อนุพันธ์เรืองแสงนี้ยังนำไปวิเคราะห์ด้วยวิธี สเปคโตรฟลูออโรโฟโตเมทรี โดยศึกษากราฟมาตราฐานและอิทธิพลของการตกตะกอนโปรตีนในปัสสาวะ และเพื่อเป็นการยืนยันผลของการวิเคราะห์ โดยวิธีทินเลเยอร์โครมาโตกราฟฟี จึงใช้วิธีราดิโออิมมิวโนแอสเสย์โดยใช้สาร สำเร็จรูป และพยายามตัดทอนปริมาณของแอนติบอดีและสารติดฉลากลง โดยการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่าง ๆ เช่น ปริมาณแอนติบอดีและสารติดฉลาก อุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการอินคิวเบท เป็นต้น นำวิธีวิเคราะห์ต่าง ๆ ที่ศึกษาได้แล้วนี้ มาศึกษาเปรียบเทียบการวิเคราะห์แอมเฟตามีนในปัสสาวะและรูปแบบของการขับถ่ายแอมเฟตามีนจากปัสสาวะของอาสาสมัครทั้งชายและหญิงจำนวน 5 ราย ที่แต่ละรายรับประทานแอมเฟตามีนซัลเฟต 5 มิลลิกรัม