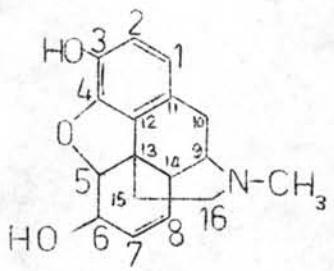
หอสมุดกลาง จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

ฝิ่น (opium) เป็นพืชไม้ล้มลุกชนิดหนึ่งที่ขึ้นได้ทุกแห่งในภูมิประเทศที่เป็นป่าเขาและที่ราบสูง มีชื่อทางพฤกษศาสตร์ว่า papaver somniferum ยางเหนียวที่ได้จากเปลือกของผลฝิ่นนี้ประกอบด้วยแอลกาลอยด์ชนิดต่างๆถึง 25 เปอร์เซนต์โดยน้ำหนัก ที่เหลืออีก 75 เปอร์เซนต์เป็นพวกโปรตีน, กรดอินทรีย์, ยาง, น้ำมัน และเกลือแร่ เป็นต้น

มอร์ฟีนเป็นแอลกาลอยด์ชนิดหนึ่งที่มีมากในฝิ่น (พบถึง 10 เปอร์เซนต์ของฝิ่น) มีความสำคัญที่สุดซึ่งเป็นตัวทำให้ฝิ่นมีคุณสมบัติเป็นยาเสพติดและเป็นแอลกาลอยด์ชนิดแรกที่ถูกสะกัดและทำให้บริสุทธิ์ได้ โดยนักวิทยาศาสตร์ชาวเยอรมัน ชื่อ Friedrich Serturner ในปี ค.ศ. 1803 (Macht , 1915) เมื่อศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพพบว่ามอร์ฟีนไม่ค่อยละลายน้ำ มีฤทธิ์เป็นด่างอ่อน ดังนั้นจึงนิยมเตรียมให้อยู่ในรูปของเกลือ เช่น มอร์ฟีนซัลเฟต, มอร์ฟีนไฮโดรคลอไรด์ เป็นต้น ทั้งนี้เพื่อให้มีการละลายได้ดีขึ้น



รูปที่ 1 สูตรโครงสร้างของมอร์ฟีน

สูตรโครงสร้างของมอร์ฟีนได้รับการศึกษาและถูกเสนอขึ้นเมื่อปี ค.ศ. 1925 โดย Gulland และ Robison (รูปที่ 1) ส่วน Eykman และ von Klobukow ได้เสนอสูตรโมเลกุลอย่างง่ายของมอร์ฟีนขึ้นคือ $C_{17}H_{19}NO_3$ ในโมเลกุลของมอร์ฟีนมีหมู่ไฮดรอกซิลอยู่ 2 หมู่ ที่คาร์บอนอะตอมตำแหน่งที่ 3 และที่ 6 ของ phenanthrene nucleus โดยหมู่ไฮดรอกซิลตำแหน่งที่ 3 เป็น phenolic

group ตำแหน่งที่ 6 เป็น secondary alcoholic group และมีหมู่เมทธิ่ลจับอยู่ที่ tertiary nitrogen atom ใน piperidine ring มอร์ฟีนมี 2 enantiomer คือ D-form และ L-form เฉพาะ L-form เท่านั้นที่มีฤทธิ์ในการระงับปวด (analgesic activity) (Murphree, 1965)

มอร์ฟีนเตรียมเป็นอนุพันธุ์ได้หลายชนิด อนุพันธุ์ของมอร์ฟีนที่ได้อาจมีคุณสมบัติในการระงับปวดเปลี่ยนแปลงหรือไม่เปลี่ยนแปลงไปจากเดิมก็ได้ เช่น โคเดอีน เป็นอนุพันธุ์ที่เกิดจากการแทนที่ phenolic group ด้วยหมู่เมทธิ่ล มีฤทธิ์รุนแรงน้อยกว่ามอร์ฟีนถึง 10 เท่า ส่วนเฮโรอีนเป็นอนุพันธุ์ที่หมู่ไฮดรอกซิลตำแหน่งที่ 3 และ 6 ถูกแทนที่ด้วยหมู่อะซิเตต มีฤทธิ์รุนแรงกว่ามอร์ฟีน 3-8 เท่า ส่วน nalorphine เป็นอนุพันธุ์ของมอร์ฟีนที่หมู่เมทธิ่ลซึ่งจับอยู่กับอะตอมของไนโตรเจนถูกแทนที่ด้วย allyl group สารชนิดนี้ไม่มีคุณสมบัติในการระงับปวด แต่สามารถห้ามการออกฤทธิ์ของมอร์ฟีนได้ จึงถือเป็นสารประเภทต้านฤทธิ์มอร์ฟีน (morphine antagonist) (Braenden และคณะ,1955)

<u>ฤทธิ์ทางเภสัชของมอร์ฟีน</u> (pharmacological actions of morphine)

1. มีฤทธิ์ระงับอาการปวด (analgesia) ทำให้เกิดอาการสงบ (sedative) ง่วงและซึมเซา (sleep drowsiness), ความรู้สึกสบาย (euphoria) กลไกของการออกฤทธิ์และตำแหน่งของการออกฤทธิ์ยังไม่ทราบแน่ชัด

2. มีผลต่อระบบหายใจ (respiratory system) ทำให้อัตราการหายใจช้ากว่าปกติโดยไปกดที่บริเวณ medulla นอกจากนี้ Wang และ Glaviano (1954) ยังพบว่าฤทธิ์ของมอร์ฟีนทำให้เกิดอาการวิงเวียนและอาเจียนโดยไปกระตุ้น chemoreceptor trigger zone ของ medulla

3. มีผลต่อระบบทางเดินอาหาร (gastrointestinal system) โดยไปลดการหลั่งของ acetylcholine จาก cholinergic nerve ที่ไปเลี้ยงบริเวณกล้ามเนื้อเรียบของกระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก ทำให้มีการหลั่งน้ำย่อยน้อยลง

จึงไม่รู้สึกหิว นอกจากนี้ยังไปลดการเคลื่อนไหวของลำไส้เล็ก ผลทำให้เกิดท้องผูก

4. มีผลต่อระบบทางเดินปัสสาวะ (genitourinary system) ทำให้ปริมาณของปัสสาวะลดลง เชื่อว่ามอร์ฟีนไปเพิ่มการหลั่งฮอร์โมนสำหรับห้ามไม่ให้ปัสสาวะมากเกินไป (antidiuretic hormone) จาก neurohypophysis ขณะเดียวกันทำให้กล้ามเนื้อหูรูดของกระเพาะปัสสาวะหดตัวทำให้ถ่ายปัสสาวะลำบาก

เนื่องจากมอร์ฟีนมีฤทธิ์ทางเภสัชที่รุนแรงกว่าฝิ่น 8-10 เท่า และสามารถเตรียมเป็นสารบริสุทธิ์ในรูปของสารละลายน้ำได้ง่ายกว่า วงการแพทย์จึงนิยมใช้มอร์ฟีนเป็นยาระงับปวดมาตั้งแต่ศตวรรษที่ 19 โดยใช้รักษาผู้ป่วยที่ได้รับบาดเจ็บในระหว่างสงครามโลกครั้งที่ 1 ในปัจจุบันมอร์ฟีนใช้เป็นประโยชน์ทางการแพทย์ได้หลายอย่าง เช่น ใช้เป็นยาระงับปวดในกรณีบาดเจ็บ, กล้ามเนื้อหัวใจตาย, มะเร็ง, อักเสบ เป็นต้น นอกจากนี้ใช้เป็นยาผ่อนคลายอารมณ์ ใช้เป็นส่วนผสมของยาแก้ไอและยาแก้ท้องเสีย ปัจจุบันองค์การอนามัยโลกถือว่ามอร์ฟีนเป็นยาเสพติดให้โทษชนิดหนึ่ง ซึ่งคุณสมบัติของยาเสพติดจากนิยามว่าจะต้องแสดงออกเป็น 3 ลักษณะ คือ (Isbell และ Chruscial, 1970)

1. การดื้อยา (tolerance) การที่ต้องเพิ่มขนาดของยาให้สูงขึ้นเพื่อให้ฤทธิ์ยาเท่าเดิม หรือเมื่อใช้ขนาดของยาเท่าเดิมฤทธิ์ยาจะลดลง

2. ภาวะพึ่งยาทางกาย (physical dependence) การที่ร่างกายคุ้นเคยต่อการออกฤทธิ์ของยาเมื่อหยุดยาจะเกิดอาการผิดปกติทางร่างกาย ที่เรียกว่าอาการของการขาดยา (withdrawal symptom) อาการที่แสดงออก เช่น หงุดหงิด, ตื่นเต้นง่าย, อยู่ไม่เป็นสุข, หาวนอน, น้ำตาน้ำมูกไหล, เหงื่อออก, ท้องร่วง, ม่านตาขยายกว่าธรรมดา, ขนลุก, กล้ามเนื้อกระตุก, ปวดหลังและขามาก, หายใจแรง, มีไข้, ความดันโลหิตสูง, เบื่ออาหาร, ผอมลง เป็นต้น

3. ภาวะพึ่งยาทางใจ (psychic dependence) ความอยากหรือกระหายที่จะใช้ยาและรู้สึกสบายขึ้นเมื่อใช้ยาแล้ว

เห็นได้ว่าฤทธิ์ของมอร์ฟีนมีทั้งข้อดีและข้อเสีย ดังนั้นจึงต้องใช้ด้วยความระมัดระวังอย่างไรก็ตามมีผู้นำมอร์ฟีนไปใช้ในทางที่ผิด เช่น ใช้เป็นยาระงับประสาทเพื่อให้หายกังวล, ในกรณีผู้ป่วยที่มีความเจ็บปวดทางร่างกาย, ใช้เป็นยาระบายอารมณ์ในกรณีเด็กที่มีปัญหาจากครอบครัว สิ่งเหล่านี้เป็นสาเหตุทำให้เกิดการระบาดของยาเสพติดขึ้น ผลจากการใช้ยาซึ่งไม่ถูกต้องนี้กระทบกระเทือนต่อสังคมและเศรษฐกิจของประเทศชาติ ในปัจจุบันวิธีรักษาผู้ติดยาเสพติดแบ่งได้เป็น 2 ระยะ ระยะแรกโดยให้ผู้ติดยาเสพติดหยุดใช้ยาทันทีหรือให้ยากล่อมประสาท หรือรักษาโดยใช้เมทาโดนแทน แล้วตามด้วยระยะที่สอง การติดตามผลและฟื้นฟูจิตใจ (อรุณ เชาวนาศัย และหน จิตเวช, 2518) วิธีรักษาดังกล่าวนี้เป็นการรักษาทางอ้อม เพราะไม่ได้เป็นวิธีการรักษาถึงสาเหตุที่แท้จริง ทั้งนี้เนื่องจากยังไม่ทราบแน่ชัดถึงกลไกของการติดยา

Receptor ของฝิ่น (opiate receptor)

Pert และ Snyder (1973) ได้ศึกษา receptor ของฝิ่นแบบ in vitro พบว่าสมองส่วนกลางของหนู rat มี receptor ของฝิ่นมากที่สุด และพบ receptor ของฝิ่นในลำไส้เล็กของหนูตะเภาด้วย ไม่พบว่ามี receptor ของฝิ่นในเม็ดเลือดแดงของคน ยีสต์ขนมปัง และตับของหนู rat นอกจากนี้ยังแสดงให้เห็นว่าลักษณะการจับระหว่างมอร์ฟีนกับ receptor ของฝิ่นเป็นแบบ stereospecific ผลประการนี้สอดคล้องกับการทดลองของ Wongและ Horng (1973) ส่วนพวกสารอื่นๆ เช่น phenobarbital, carbamylcholine, atropine, cochicine, serotonin, norepinephrine, choline และ histamine ไม่สามารถจับกับ receptor ของฝิ่นได้เมื่อใช้ความเข้มข้นสูงถึง 0.1 mM

Pert และ Snyder (1973) ยังได้ศึกษาการกระจาย receptor ของฝิ่นในสมองหนู rat โดยแบ่งสมองออกเป็นส่วนต่างๆอย่างหยาบๆ (รูปที่ 2 ก, ข, ค และ ง) พบว่าบริเวณที่มี receptor ของฝิ่นมากที่สุดคือ สมองส่วน corpus striatum รองลงมาคือ midbrain, cortexส่วนของ brainstem จะมีน้อย

ที่สุด ไม่พบ receptor ของฝิ่นในบริเวณ cerebellum เลย เมื่อศึกษาในสมองของลิง (Macaca mulatta) แบบ in vitro โดยแบ่งสมองออกเป็นส่วนๆอย่างละเอียดจะพบ receptor ของฝิ่นมีมากที่สุดในบริเวณ anterior amygdala ของ limbic system (ตารางที่ 1) รองลงมาคือบริเวณ periaqueductal ของ midbrain ส่วน hypothalamus และ thalamus มี receptor ของฝิ่นประมาณ 42 เปอร์เซ็นต์ของส่วน anterior amygdala บริเวณที่มี receptor ของฝิ่นต่ำสุดคือ cerebellum, lower brain stem และ spinal cord ซึ่งผลนี้สอดคล้องกับผลที่ได้จากการศึกษาสมองคน (Kuhar และคณะ, 1973) ถ้าศึกษาแบบ in vivoโดยฉีด tritiated diprenorphine* เข้าเส้นเลือดที่หางหนู rat พบว่าบริเวณที่มี receptor ของฝิ่นมากที่สุดคือส่วน midbrain และ corpus striatum รองลงมาคือส่วน hind brain และพบน้อยมากในบริเวณ cerebellum แต่เมื่อใช้วิธี autoradiography ศึกษาถึงตำแหน่งของ receptor พบว่ามีมากที่สุดในบริเวณ locus coerulus อยู่ที่ขอบด้านข้างของ periaqueductal gray, substantia gelatinosa ของ spinal cord, caudate putamen, amygdala และ periventricular gray พบ receptor น้อยมากในบริเวณ cerebellum (Pert และคณะ, 1976)

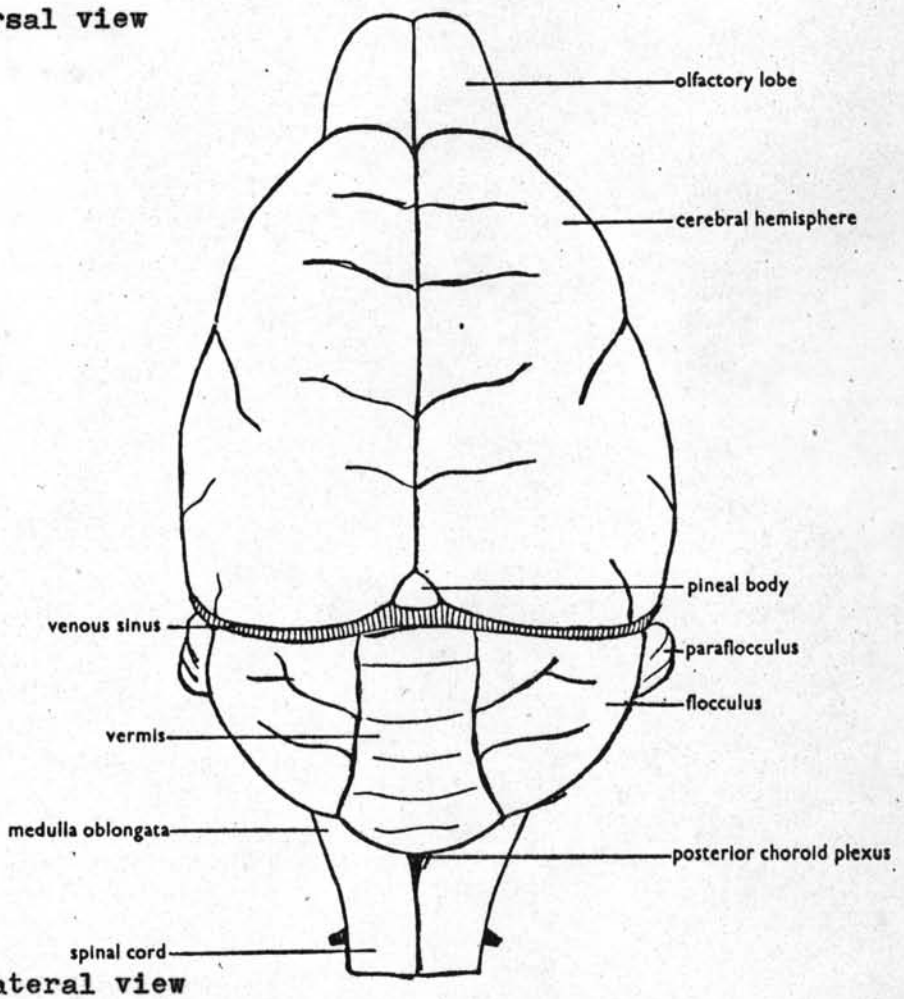
Kuhar และคณะ (1973) ได้เปรียบเทียบการกระจาย receptor ของฝิ่นกับการกระจายของ neurotransmitter ต่างๆ เช่น acetylcholine, gamma-aminobutyric acid, serotonin และ catecholamine ในบริเวณส่วนต่างๆของสมองลิง พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กัน

Pert และ Yaksh (1974) ได้ศึกษาการกระจาย receptor ของฝิ่นในบริเวณส่วนต่างๆของสมองลิง (Macaca mulatta) กับการเกิด analgesia โดยฉีดมอร์ฟีนขนาด 20 ไมโครกรัม เข้าไปในส่วนต่างๆของสมองลิงและทดสอบการเกิด analgesia พบว่ามีความสัมพันธ์ระหว่างการเกิด analgesia กับปริมาณ

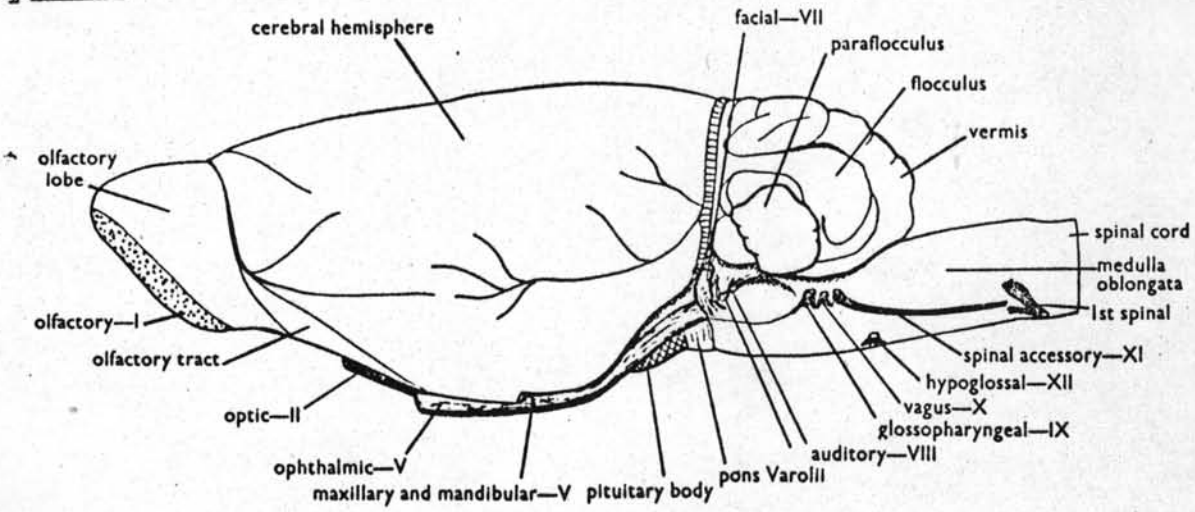
---

*เป็น antagonist ของมอร์ฟีน

รูปที่ 2 ก dorsal view

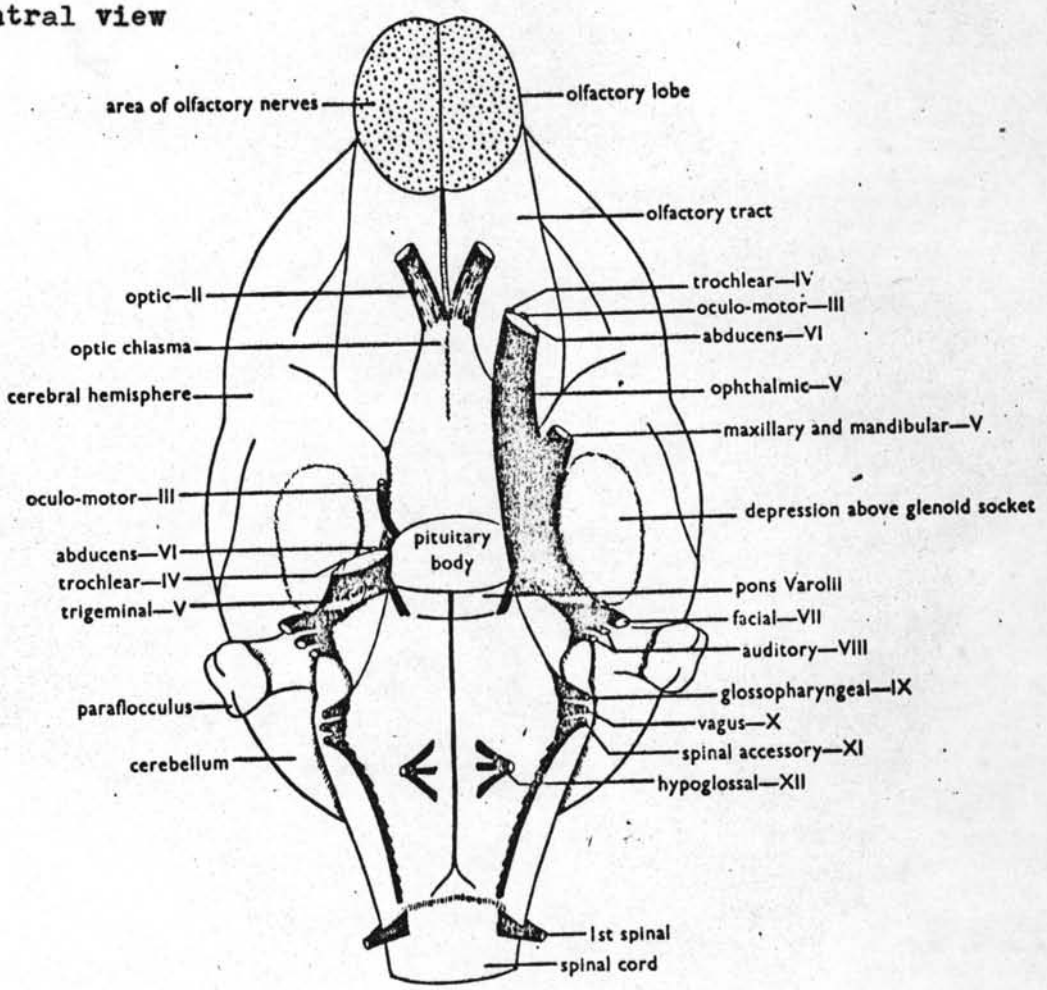


รูปที่ 2 ข lateral view

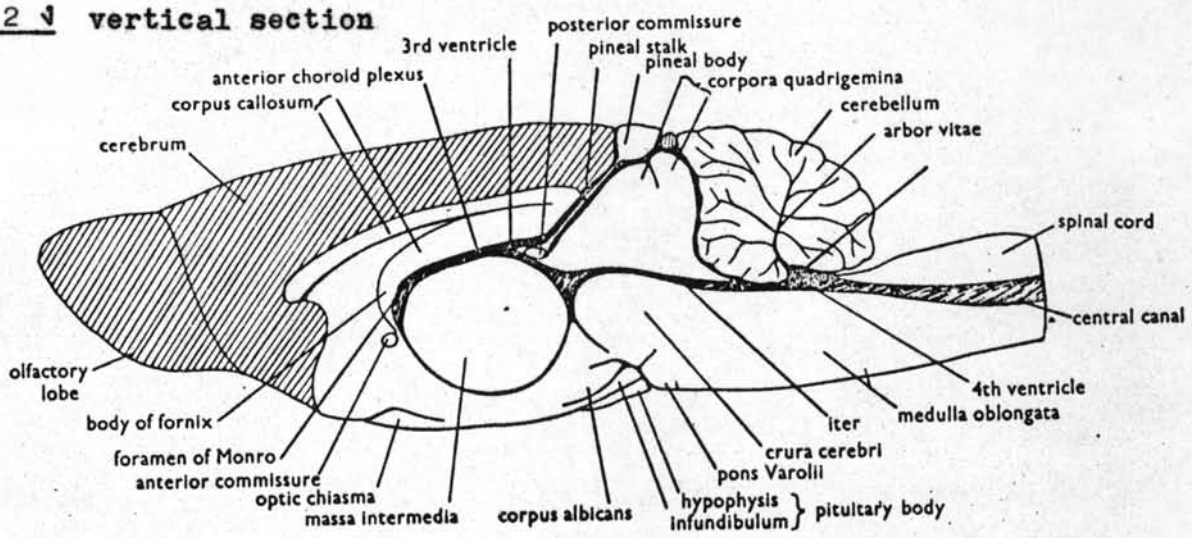


รูปที่ 2 แผนภาพสมองหนู rat (จาก The Rat as a Small Mammal, Rowett, H.G.Q., Printed in Great Britain, 1957 หน้า 63 – 64)

รูปที่ 2 ก **ventral view**



รูปที่ 2 ข **vertical section**



ตารางที่ 1 ปริมาณ receptor ของฝิ่น ในบริเวณส่วนต่างๆของสมองลิง (Macaca mulatta) (Kuhar และคณะ, 1973)

ส่วนของสมอง (region)	Stereospecific dihydromorphine binding (f mole/mg protein)		ส่วนของสมอง (region)	Stereospecific dihydromorphine binding (f mole/mg protein)	
Cerebral hemispheres			Extrapyramidal areas		
Frontal pole	11.9±1.4	(4)	Caudate nucleus (head)	19.4±2.3	(4)
Superior temporal gyrus	10.8±2.5	(3)	Caudate nucleus (body)	9.0±1.2	(3)
Middle temporal gyrus	7.1	(1)	Caudate nucleus (tail)	8.9±3.0	(3)
Inferior temporal gyrus	6.0	(1)	Lutamen	11.7±1.9	(6)
Precentral gyrus	3.4	(2)	Globus pallidus	7.7	(2)
Postcentral gyrus	2.8	(2)	Internal capsule	5.4	(2)
Occipital pole	2.3±0.5	(4)	Mid brain		
White matter areas			Superior colliculi	10.6±2.0	(3)
Corpus callosum	<2	(2)	Inferior colliculi	6.7±0.7	(3)
Corona radiata	<2	(2)	Interpeduncular nucleus area	13.7±1.5	(4)
Anterior commissure	5.4	(2)	Raphe area	8.2	(2)
Fornix	<2	(2)	Periaqueductal gray	31.1±4.6	(4)
Optic chiasma	<2	(2)	Cerebellum-lower brainstem		
Limbic cortex			Pons (ventral)	1.4	(2)
Anterior amygdala	65.1±21	(4)	Cerebella cortex	<2	(2)
Posterior amygdala	34.1±4.2	(4)	Dentale nucleus	1.9	(2)
Hippocampus	12.5±2.2	(4)			

ตารางที่ 1 (ต่อ)

สวนของสมอง (region)	Stereospecific dihydro-morphine binding (f mole/mg protein)		สวนของสมอง (region)	Stereospecific dihydro-morphine binding (f mole/mg protein)	
Hypothalamus			Floor of fourth ventricle	6.3±1.3	(3)
Medial hypothalamus	24.2±3.2	(4)	Pyramidal tract	3.0	(2)
Anterior hypothalamus	24.3±3.7	(3)	Lower medulla	5.8	(2)
Posterior hypothalamus	24.7±1.4	(3)	Spinal cord (thoracic)		
Hypothalamus	23.2	(1)	Dorsal column (white)	3.1	(2)
Mammillary bodies	5.0	(1)	Lateral cord (white)	3.3	(1)
Thalamus			Gray matter	8.8	(2)
Medial thalamus	24.6±1.6	(3)			
Lateral thalamus	7.8	(2)			

ค่าที่แสดงเป็น mean ± S.E.M. ที่อยู่ในวงเล็บ แสดงถึงจำนวนสัตว์ทดลองที่ใช้ในการหา

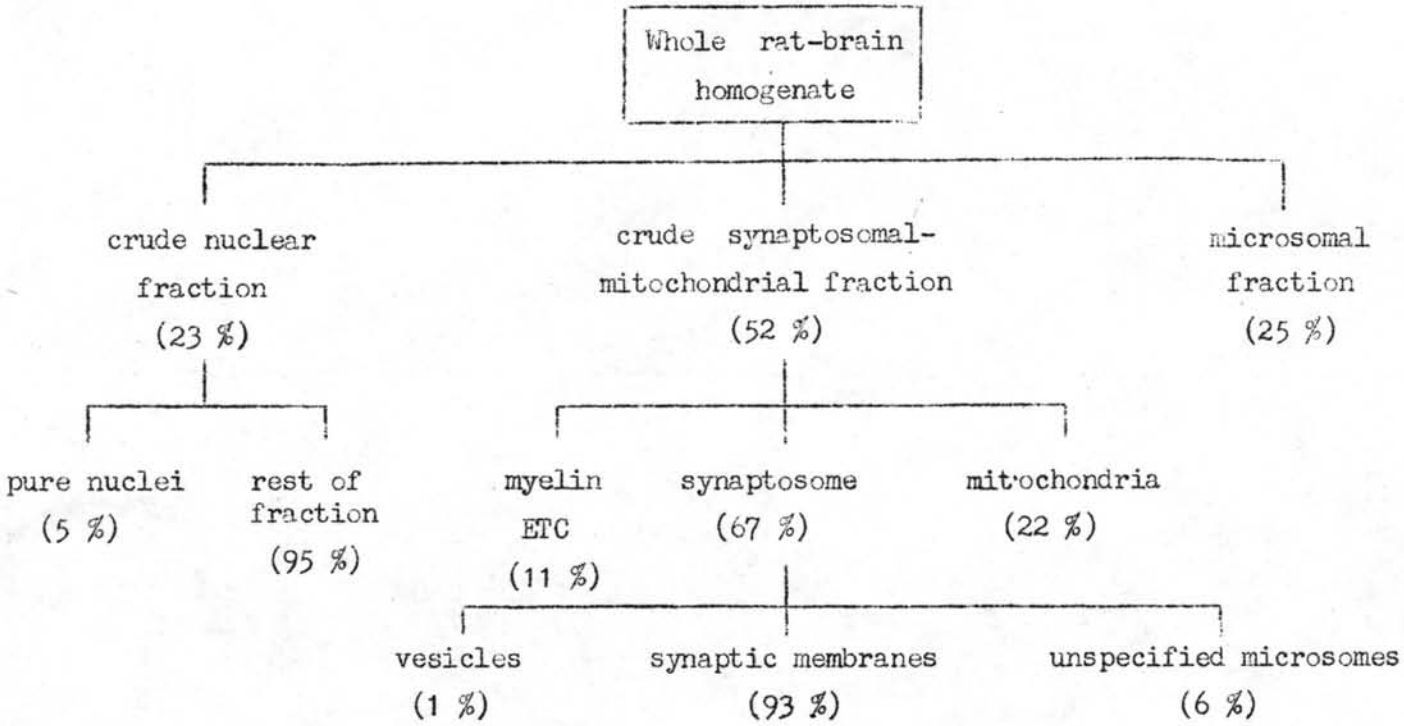
receptor ของฝิ่นที่ศึกษาโดย Kuhar และคณะ (1973) ยกเว้นบริเวณ amygdala ที่พบว่ามี receptor ของฝิ่นมากที่สุด แต่ไม่ทำให้เกิด analgesia ซึ่ง Nauta (1958) ได้รายงานว่า receptor ของฝิ่นในส่วน amygdala ไม่เกี่ยวข้องกับการเกิด analgesia แต่ทำให้เกิดฤทธิ์ทางเภสัชอย่างอื่นของมอร์ฟีน เช่น ความสบาย (euphoria) ความสงบ (tranquility) โดยสังเกตอาการที่เกิดขึ้นในแมวและในลิง เมื่อทำให้เกิดแผลเป็น (leision) ในบริเวณ amygdala

เมื่อศึกษาถึงตำแหน่ง receptor ของฝิ่นในเซลล์ประสาทของสมองหนู rat โดยทำ subcellular fractionation Pert และคณะ (1974) แสดงให้เห็นว่าชั้นที่พบ receptor มากที่สุดคือ crude synaptosomal-mitochondria ซึ่งมีอยู่ถึง 52 เปอร์เซนต์ของทั้งหมด (รูปที่ 3) เมื่อเอาชั้นนี้มาทำ subfractionation โดยวิธี discontinuous sucrose gradient โดยใช้ความเข้มข้นของ sucrose 0.8 M ถึง 1.2 M พบว่า receptor จะอยู่ในบริเวณส่วนของ synaptosome มากที่สุด โดยเฉพาะอย่างยิ่งส่วนที่เป็น synaptic membrane

<u>การดื้อยามอร์ฟีน</u> (morphine tolerance)

การใช้ยามอร์ฟีนบ่อยๆทำให้เกิดการติดยาขึ้น (addiction) ซึ่งจะต้องแสดงออกเป็น 3 ลักษณะดังกล่าวแล้วข้างต้น การศึกษาในสัตว์ทดลองสามารถจะทดสอบให้เห็นถึงการเกิดการดื้อยาและการเกิดภาวะพึ่งยาทางกายได้ แต่การเกิดภาวะพึ่งยาทางใจนั้นทดสอบได้ยาก

การดื้อยามอร์ฟีนสามารถจะทดสอบได้โดยอาศัยฤทธิ์ทางเภสัชของมอร์ฟีนต่อปฏิกิริยาต่างๆในร่างกาย Martin และ Eades (1961) แสดงให้เห็นว่าสุนัขที่ได้รับมอร์ฟีนแบบ intravenous infusion ด้วยอัตรา 3 มก./ก.ก. น้ำหนักตัว/ชม. สามารถเกิดการดื้อยาภายใน 8 ชั่วโมง เมื่อทดสอบอัตราเร็วของการหายใจ, อุณหภูมิของทวารหนัก, การขยายขนาดของม่านตา, ความรู้สึกเจ็บของผิวหนัง และการกระตุก



รูปที่ 3 Subcellular localization ของ receptor ของฝิ่นในสมองหนู rat (Pert และคณะ, 1974)

ของขาหลังเมื่อถูกกระตุ้น Shuster และคณะ (1963) พบว่าหนู mice เกิดการดื้อยาขึ้นเมื่อให้ดื่มนมที่มี dihydromorphinone ขนาด 72 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน ติดต่อกันเป็นเวลา 6 วัน Cox และคณะ (1968) พบว่าหนู rat เกิดการดื้อยามอร์ฟีนขึ้นภายใน 3-4 ชั่วโมง เมื่อให้มอร์ฟีนแบบ intravenous infusion ด้วยอัตรา 5, 7.5 และ 10 มก./กก. น้ำหนักตัว/ชม. Way และคณะ (1969) สามารถทำให้หนู mice เกิดการดื้อยาขึ้นได้โดยการฝังเม็ดมอร์ฟีนเข้าใต้ผิวหนังและสามารถวัดความดื้อยาในหนูได้ ส่วน Loh และคณะ (1969) แสดงให้เห็นว่าหนู mice เกิดการดื้อยาขึ้นเมื่อฉีดมอร์ฟีนเข้าใต้ผิวหนังติดต่อกันเป็นเวลานาน 3 สัปดาห์

การเกิดภาวะพึ่งยาทางกายต่อมอร์ฟีนสามารถทดสอบได้โดยดูอาการของการขาดยา ซึ่งทำได้โดยการหยุดยา (abrupt withdrawal) หรือให้ antagonist ของมอร์ฟีน* (precipitated abstinence) เช่น naloxone Way และคณะ (1969) พบว่าหนู mice มีอาการ jumping เกิดขึ้นเมื่อให้หยุดยาหลังจากที่ถูกฝังด้วยมอร์ฟีนนาน 2, 3 และ 6 วัน และอาการจะเกิดขึ้นมากที่สุดหลังจากหยุดยาแล้ว 6 ชั่วโมง นอกจากนี้เขายังใช้วิธีฉีด naloxone เข้าไป แล้วดูค่า naloxone ED_{50}** โดยวิธีนี้เขาสามารถแสดงให้เห็นว่ามีการเกิดภาวะพึ่งยาทางกายต่อมอร์ฟีนหลังจากฝังมอร์ฟีนได้ 3 ชั่วโมง และได้แสดงให้เห็นว่าความสัมพันธ์ระหว่างขนาดการเกิดการดื้อยาและองศาของการเกิดภาวะพึ่งยาทางกายเป็นแบบเส้นตรง Akera และ Brody (1967) ศึกษาถึงน้ำหนักตัวของหนูกับการเกิดภาวะพึ่งยาทางกาย โดยฉีดมอร์ฟีนเข้าใต้ผิวหนังของหนู rat เมื่อเพิ่มขนาดของยาขึ้นไปเรื่อยๆจนถึงขนาด 30 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน ใน 4 สัปดาห์ และขนาด 120 มก./กก.น้ำหนักตัว/วัน

---

* เป็นอนุพันธุ์ของมอร์ฟีนที่สามารถจับกับ receptor ของฝิ่นในสมองได้ดีพอๆกับมอร์ฟีน แต่เมื่อจับแล้วจะไม่ให้ผลในการออกฤทธิ์ที่เหมือนกับมอร์ฟีน

** คือปริมาณของ naloxone ที่ใช้ฉีดเข้าไป เพื่อทำให้ 50 เปอร์เซนต์ของหนูทดลองเกิดอาการ jumping

ใน 8 สัปดาห์ พบว่าเมื่อหยุดยาได้ 2-3 วัน หนูจะมีน้ำหนักตัวลดลงประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ และ 25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

Nozaki และคณะ (1975) พบว่าหนู rat อายุ 4 สัปดาห์ (น้ำหนัก 80-85 กรัม) และอายุ 7 สัปดาห์ (น้ำหนัก 180-190 กรัม) จะพัฒนาการดื้อยามอร์ฟีนได้เร็วกว่าหนูrat ที่มีอายุ 12 สัปดาห์ (น้ำหนัก 375-380 กรัม) และเมื่อทำให้หนูทั้ง 3 กลุ่มเกิดการดื้อยาขึ้นโดยค่อยๆเพิ่มขนาดของยาขึ้นไปเรื่อยๆจนถึง 30 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน ใน 23 วัน พบว่าอัตราการเพิ่มน้ำหนักของหนู 2 กลุ่มแรกจะไม่มีความแตกต่างกับหนูกลุ่มปกติ ในขณะที่หนูกลุ่มที่ 3 จะมีอัตราการเพิ่มน้ำหนักช้ากว่าหนูกลุ่มปกติอย่างมีนัยสำคัญ แต่รูปแบบของน้ำหนักที่ลดหลังจากงดเสพมอร์ฟีนในหนูทั้ง 3 กลุ่มจะเหมือนกัน เมื่อศึกษาผลของช่วงระยะห่างของการฉีดต่อการดื้อยา โดยให้ระยะห่างเป็น 1, 2 และ 3 สัปดาห์ พบว่าเมื่อให้ระยะห่างของการฉีดครั้งที่ 2 เป็น 1 สัปดาห์ จะได้ค่า analgesic response ต่อมอร์ฟีนของการฉีดครั้งที่ 2 เหมือนกับการฉีดครั้งที่ 1 แต่ถ้าให้ระยะห่างของการฉีดครั้งที่ 2 เป็น 2 และ 3 สัปดาห์ ค่า analgesic response ต่อมอร์ฟีนของการฉีดครั้งที่ 2 จะลดลงเหลือเพียง 80 เปอร์เซ็นต์ และ 60 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับการฉีดครั้งที่ 1 แต่เมื่อฉีดมอร์ฟีนเข้าไปในหนูทั้ง 3 กลุ่มจนครบ 5 ครั้ง analgesic response ต่อมอร์ฟีนจะเหลือ 16 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับการฉีดครั้งที่ 1 (Cochin และ Mushlin, 1970)

Actinomycin D สามารถจะลดหรือห้ามการเกิดการดื้อยามอร์ฟีนในหนูrat และหนู mice ได้ (Cox และคณะ, 1968; Cohen และคณะ, 1965) ยิ่งไปกว่านั้น cycloheximide สามารถห้ามการเกิดการดื้อยาและการเกิดการพึ่งยาทางกายต่อมอร์ฟีน ในหนู mice ได้เช่นกัน (Loh และคณะ, 1969)

Disposition ของมอร์ฟีนในสัตว์ทดลองที่ถูกทำให้เกิดการดื้อยา

จากการศึกษาของ Cochin และคณะ (1954) พบว่าไม่มีความแตกต่างของระดับมอร์ฟีนทั้งแบบ free form และ bound form ในปัสสาวะของสุนัข

ที่มีการดื้อยากับไม่ดื้อยา ถ้าศึกษาระดับมอร์ฟีนทั้ง 2 ชนิดในอวัยวะอื่นๆ เช่น เลือด, น้ำดี, ตับอ่อน, ไต, หัวใจ, ตับ, ม้าม, ลำไส้เล็ก, ต่อมไทรอยด์, ต่อมหมวกไตของลิง (Mellett และ Woods, 1956) และกระต่าย (Siminoff และ Saundex, 1958) พบว่าไม่มีความแตกต่างของระดับมอร์ฟีนทั้ง 2 ชนิดนี้ในสัตว์ทดลอง 2 กลุ่ม (ดื้อยากับไม่ดื้อยา) Mule และคณะ (1967) ได้ฉีด H^3-morphine เข้าใต้ผิวหนังหนูตะเภา 2 กลุ่ม (ดื้อยากับไม่ดื้อยา) แล้วตัดระดับมอร์ฟีนใน subcellular fraction ของสมองและตับ พบว่าระดับมอร์ฟีนในหนูทดลองทั้ง 2 กลุ่มไม่มีความแตกต่างเลย

เมื่อศึกษาระดับเอ็นไซม์ N-demethylase ซึ่งเป็นเอ็นไซม์ในตับที่เกี่ยวข้องในการเปลี่ยนมอร์ฟีนให้เป็นนอร์มอร์ฟีน พบว่าในหนู rat กลุ่มที่ถูกทำให้เกิดการดื้อยาระดับเอ็นไซม์ N-demethylase ในตับจะลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มปกติ โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงระดับของเอ็นไซม์ที่เกี่ยวข้องในปฏิกิริยา O-demethylation, hydrolysis และ conjugation (Axelrod, 1956) ในปีต่อมา Cochin และ Axelrod (1959) พบว่าระดับเอ็นไซม์ N-demethylase ในตับหนู rat ที่ถูกทำให้ดื้อยาจะลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มปกติ และระดับเอ็นไซม์จะลดลงกว่าเดิมเมื่อหนูถูกทำให้ดื้อยามากขึ้น

ผลของมอร์ฟีนที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของเซลล์ในสมอง

Klee และ Stereaty (1974) คิดว่าสาเหตุของการดื้อยาอาจจะเกิดจากการเพิ่มจำนวน receptor site หรือความสามารถของยาในการจับกับ receptor ลดลง จึงได้ลองศึกษา receptor ของฝิ่นในสมองหนู rat ที่ถูกทำให้ดื้อยามอร์ฟีนแบบ in vitro พบว่าในหนูที่เกิดการดื้อยานั้นจำนวนของ receptor และ binding affinity จะไม่แตกต่างจากหนูกลุ่มปกติเลย

Messing และคณะ (1978) ได้ศึกษาผลของการฉีดมอร์ฟีนจำนวน 20 มก./กก. น้ำหนักตัว ต่อระดับ tryptophan, serotonin และ

5 hydroxyindole-acetic acid (5HIAA) ในส่วนต่างๆของสมองหนู rat พบว่าระดับของ tryptophan เพิ่มขึ้นในบริเวณ cerebral hemisphere 25 เปอร์เซนต์, thalamus 25 เปอร์เซนต์, cerebellum 15 เปอร์เซนต์ แต่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงในสมองส่วน hippocampus, striatum, midbrain, pons & medulla และ spinal cord ส่วนระดับ serotonin เพิ่มขึ้นเฉพาะใน thalamus 5 เปอร์เซนต์ ส่วน 5HIAA เพิ่มขึ้นใน cerebral hemisphere 19 เปอร์เซนต์, thalamus 77 เปอร์เซนต์, และ spinal cord 25 เปอร์เซนต์ ทั้งนี้เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มปกติจะเห็นว่าบริเวณไหนที่มี 5HIAA เพิ่มขึ้นจะสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของ tryptophan ยกเว้นบริเวณ spinal cord แต่ไม่สัมพันธ์กับ serotonin และการเพิ่มขึ้นของ tryptophan, 5HIAA และ serotonin ไม่สัมพันธ์กับปริมาณ receptor ของฝิ่นที่ศึกษาโดย Pert และคณะ (1975) เมื่อศึกษา turnover ของ serotonin พบว่าหนู mice ที่มีการดื้อยามอร์ฟีน turnover ของ serotonin เพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่าของกลุ่มปกติ (Way และคณะ, 1968) และจะเพิ่มขึ้นมากในบริเวณ hypothalamus และ brainstem เพิ่มเล็กน้อยในบริเวณ cortex และ cerebellum (Ho และคณะ, 1972 b) ผลการทดลองที่ได้นี้ต่างกับการทดลองของ Cheney และคณะ (1971) ที่ศึกษาในหนู mice กับ Bhargava และ Matwyshyn (1977) ที่ศึกษาในหนู rat โดยพบว่า turnover ของ serotonin ในหนูที่ดื้อยามอร์ฟีนจะไม่แตกต่างจากกลุ่มปกติ

ถ้าทำให้ระดับ serotonin ในสมองลดลง โดยการฉีดสาร p-chlorophenylalanine (PCPA) เข้าไปในหนู rat และหนู mice (Ho และคณะ, 1972b) หรือใช้ 5-6 dihydroxytryptamine ฉีดเข้าไปในหนู mice (Ho และคณะ, 1973b) จะลดการเกิดการดื้อยาและการเกิดภาวะพึ่งยาทางกายต่อมอร์ฟีนได้

006236

จากการศึกษาระดับของ acetylcholine ในบริเวณส่วนต่างๆของสมองหนู mice พบว่าระดับ acetylcholine จะเพิ่มขึ้นในบริเวณ striatum หลังจากฉีดมอร์ฟีน จำนวน 10, 25, 100 และ 300มก./กก. น้ำหนักตัว เข้าไปแล้วนาน 30 นาที ไม่พบมีการเปลี่ยนแปลงในบริเวณ hypothalamus, cortex และ hippocampus แต่เมื่อทำให้เกิดการดื้อยาขึ้นพบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงระดับ acetylcholine ในทุกๆบริเวณที่กล่าวมาแล้ว เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มปกติ (Green และคณะ, 1970) ต่อมา Schmidt และ Buxbaum (1978) ได้ศึกษา turnover ของ acetylcholine ในบริเวณ striatum, midbrain, hypothalamus และ hippocampus หลังจากให้มอร์ฟีนที่มีความเข้มข้นต่างๆกันเข้าใต้ผิวหนังนาน 1 ชั่วโมง พบว่า turnover ของ acetylcholine ในบริเวณ hypothalamus และ hippocampus จะลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่สมองส่วน striatum ไม่มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อให้ความเข้มข้นของมอร์ฟีนตั้งแต่ 4-128 มก./กก. น้ำหนักตัว แต่ในบริเวณ midbrain จะมีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อให้ความเข้มข้นของมอร์ฟีนตั้งแต่ 16-128 มก./กก. น้ำหนักตัว

เมื่อทำให้ระดับ acetylcholine ในสมองเพิ่มขึ้นโดยการฉีดสารเคมี physostigmine ผลจะเพิ่ม analgesic response ของมอร์ฟีน แต่ไม่มีผลต่อการเกิดการดื้อยาและการเกิดภาวะพึ่งยาทางกาย (Bhargava และWay , 1972)

Roffman และคณะ (1977) ได้ศึกษา turnover ของ norepinephrine ในบริเวณส่วนต่างๆของสมองหนู rat หลังจากฉีดมอร์ฟีนเข้าไปแล้ว 2 ชั่วโมง โดยวัด metabolite ของ norepinephrine คือ 3-methoxy 4-hydroxy phenyl glycol sulfate (MHPG - SO_4) เมื่อฉีดมอร์ฟีนจำนวน 25 มก./กก. น้ำหนักตัว ระดับของ MHPG-SO_4 จะเพิ่มขึ้นในบริเวณ hypothalamus, cerebellum, brainstem และส่วนที่เหลือของสมอง แต่ไม่มีผลในบริเวณ cortex และ corpus striatumเมื่อทำให้หนู rat เกิด

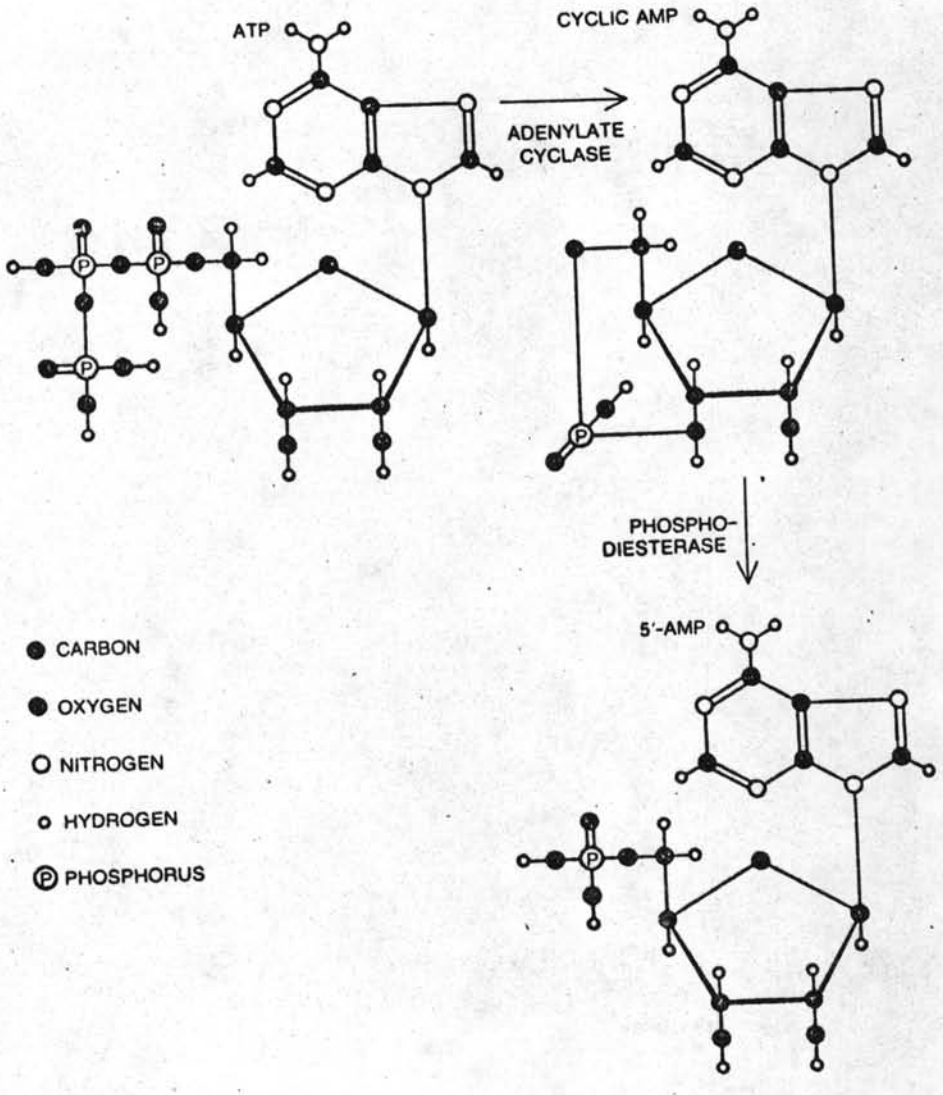
ดื้อยามอร์ฟีนขึ้นพบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงระดับ MHPG-SO_4 ในบริเวณเหล่านี้ ยกเว้นส่วนของ hypothalamus เท่านั้นที่มีการเพิ่มขึ้น จากผลของการฉีดมอร์ฟีนที่ความเข้มข้นต่างๆคือ 10, 25, 100 และ 300 มก./กก. น้ำหนักตัว พบว่าในหนู mice ไม่มีการเปลี่ยนแปลงระดับ dopamine ในบริเวณ striatum เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มปกติ หรือเมื่อให้หนู mice เกิดการดื้อยาก็พบว่าไม่มีผลต่อระดับของ dopamine เช่นกัน (Green และคณะ, 1970)

เมื่อฉีดสารเคมีชนิดหนึ่ง คือ 6-hydroxydopamine ซึ่งทำให้ระดับ norepinephrine ในสมองหนู mice ลดลง 66 เปอร์เซนต์ และ dopamine ลดลง 30 เปอร์เซนต์ จะลด analgesic response ของมอร์ฟีน โดยไม่มีผลต่อการเกิดการดื้อยาและการเกิดภาวะพึ่งยาทางกาย (Friedler และคณะ, 1972)

Cyclic AMP ทำหน้าที่เป็น second messenger ภายในเซลล์ที่เป็นเป้าหมายของฮอร์โมนหลายชนิด (Robinson และคณะ, 1968) Miyamoto และคณะ (1969) เป็นผู้เริ่มเสนอแนะว่า cyclic AMP น่าจะมีความสำคัญในสมอง เพราะว่าในสมองมีระดับเอ็นไซม์ adenylate cyclase และ phosphodiestorase สูงกว่าอวัยวะอื่นๆประมาณ 10-20 เท่า ซึ่งเอ็นไซม์ทั้งสองเกี่ยวข้องกับการสร้างและการทำลาย cyclic AMP (รูปที่ 4) นอกจากนี้ cyclic AMP ยังทำหน้าที่เป็น second messenger ของเซลล์ที่มี receptor เฉพาะสำหรับ neurotransmitter แต่ละตัว เช่น dopamine, norepinephrine, serotonin และ histamine

Greengard (1976) และ Nathanson (1977) ได้สรุปถึงหน้าที่ของ cyclic AMP ในสมองว่า (รูปที่ 5)

1. ทำให้เกิด permeability ของ membrane ขึ้น โดย neurotransmitter ที่ถูกหลั่งออกมาจาก presynaptic neuron

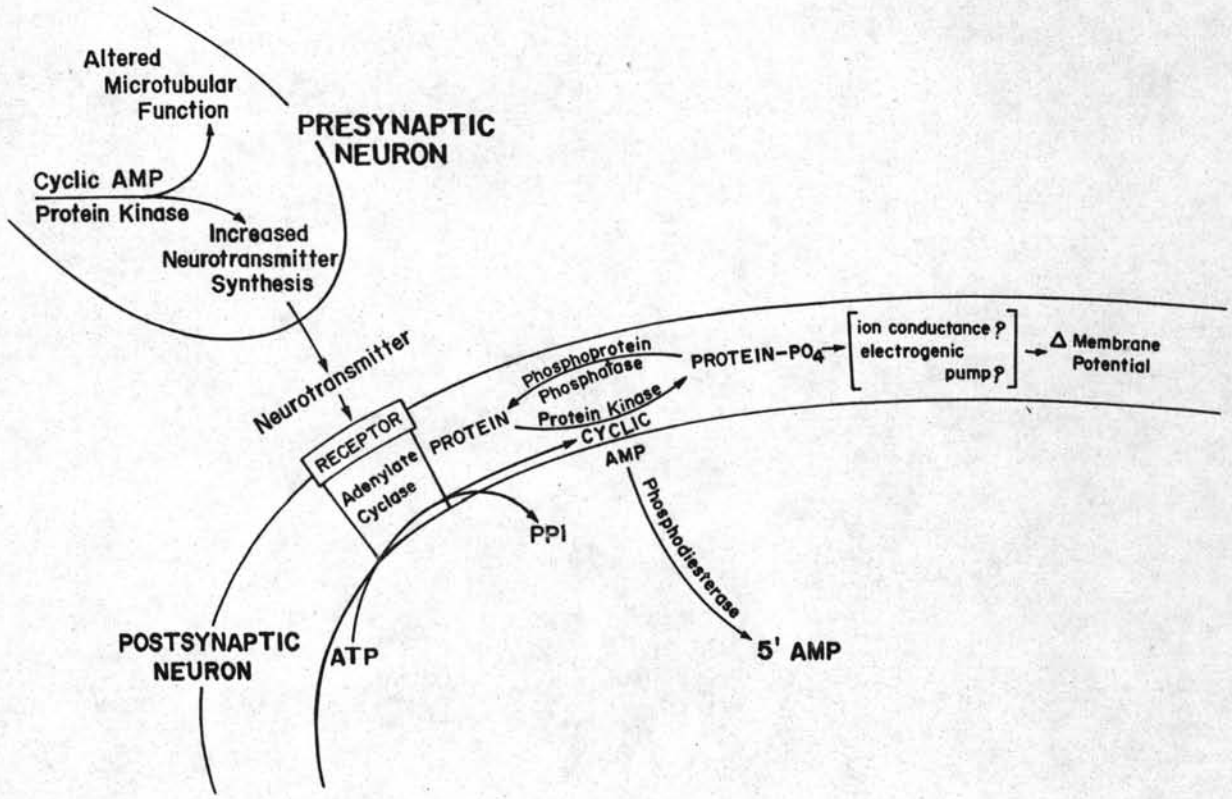


รูปที่ 4 การสร้างและการทำลาย cyclic AMP (Nathanson และ Greengard, 1977)

จะจับกับ specific receptor บน postsynaptic neuron ผลจะกระตุ้น adenylate cyclase ให้เปลี่ยน adenosine triphosphate (ATP) เป็น cyclic AMP และ cyclic AMP ที่เกิดขึ้นจะกระตุ้น protein kinase ให้ได้ active protein kinase ซึ่ง protein kinase จะเร่งการเติม phosphate group ให้กับ substrate protein ที่อยู่บน membrane ผลจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของไอออน จึงทำให้เกิดความ ต่างศักย์ขึ้นที่ membrane ที่เรียกว่า postsynaptic potential

2. การสังเคราะห์ neurotransmitter ใน presynaptic neuron จะถูกควบคุมโดย cyclic AMP-dependent protein kinase เช่นในการสังเคราะห์ dopamine และ norepinephrine โดย cyclic AMP จะต้อง activateprotein kinase ให้ได้ active form แล้วจึง activate เอ็นไซม์ tyrosine hydroxylase ซึ่งเอ็นไซม์ตัวนี้จะเร่งการสร้าง dopamine จาก tyrosine นอกจากนี้ยังเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์เอ็นไซม์ที่ใช้ในการสังเคราะห์ neurotransmitter โดย active form ของ protein kinase ที่ถูกกระตุ้นโดย cyclic AMP-dependent protein kinase ใน cytoplasm จะเข้าไปใน nucleus แล้วเร่งการเติม phosphate group ให้กับ nucleus histone ผลทำให้มีการสังเคราะห์ messenger RNA (m-RNA) เกิดขึ้น m-RNA ออกจาก nucleus ไปยัง cytoplasm ทำให้มีการสังเคราะห์โปรตีนซึ่งเป็นเอ็นไซม์ที่ใช้ในการสังเคราะห์ neurotransmitter ต่างๆ

3. Cyclic AMP-dependent protein kinase มีอิทธิผลต่อ microtubule system การที่ microtubule จะทำหน้าที่ได้จะต้องถูกเติม phosphate group จาก cyclic AMP-dependent protein kinase เสียก่อน



รูปที่ 5 หน้าที่ของ cyclic AMP ในสมอง (Greengard, 1976)

จากหน้าที่สำคัญของ cyclic AMP ในสมอง จึงได้มีการศึกษาถึงความสัมพันธ์ของ cyclic AMP กับการออกฤทธิ์ของมอร์ฟีนในการเกิดการดื้อยาและการเกิดภาวะพึ่งยาทางกาย Shahid-Salles และคณะ (1975) ศึกษาแบบ in vitro โดยนำสมองของหนู rat ส่วนที่เป็น cerebral cortex มา incubate กับมอร์ฟีนที่ความเข้มข้นต่างๆกัน แล้ววัด H^3-cyclic AMP ที่เกิดขึ้นจาก H^3-adenosine พบว่ามี H^3-cyclic AMP เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของมอร์ฟีนที่เพิ่มขึ้น ถ้าศึกษาแบบเดียวกันแต่ฉีดมอร์ฟีน 10 มก./กก. น้ำหนักตัว เข้าใต้ผิวหนังพบว่าหลังจากฉีดนาน 45 นาที และ 4 ชั่วโมง มี H^3-cyclic AMP เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับการฉีด 0.85 เปอร์เซนต์ โซเดียมคลอไรด์ นอกจากนี้ยังพบว่าถ้าฝังมอร์ฟีนเข้าใต้ผิวหนังนาน 3 วัน ก็จะมี H^3-cyclic AMP เพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน แต่ถ้าทำให้งดเสพพบว่าระดับ H^3-cyclic AMP จะลดลงเท่ากับกลุ่มปกติ ต่อมา Donovan และ Thomas (1977) ศึกษาแบบ in vitro ได้ผลเช่นเดียวกัน คือมี H^3-cyclic AMP เพิ่มขึ้นในบริเวณ cerebral cortex แต่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงในบริเวณ hypothalamus Clouet และคณะ (1975) ศึกษาผลของการฉีดมอร์ฟีน 10 มก./กก. น้ำหนักตัว และ 60 มก./กก. น้ำหนักตัว ต่อระดับ cyclic AMP ในส่วนต่างๆของสมองหนู rat พบว่าหลังจากฉีดมอร์ฟีน 60 มก./กก. น้ำหนักตัว เข้าใต้ผิวหนังนาน 15-30 นาที ระดับ cyclic AMP ในสมองส่วน midbrain, striatum, cortex และ cerebullum จะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ แต่เมื่อฉีด 10 มก./กก. น้ำหนักตัว จะไม่มีผลต่อระดับ cyclic AMP ในบริเวณเหล่านี้ ยกเว้นส่วน cerebellum เท่านั้นที่มีการเพิ่มขึ้น สำหรับบริเวณส่วน medulla และ hypothalamus ระดับ cyclic AMP จะลดลงอย่างเห็นได้ชัดหลังจากฉีดมอร์ฟีน 10 มก./กก. น้ำหนักตัว และ 60 มก./กก. น้ำหนักตัว นาน 1-2 ชั่วโมงต่อมา Vonvoigtlander และ Losey (1977) พบว่าเมื่อฉีดมอร์ฟีน 3 มก./กก. น้ำหนักตัว เข้าใต้ผิวหนังของหนู mice นาน 15 นาที จะไม่มีผลต่อระดับ cyclic AMP ในบริเวณ midhind brain, thalamus, cortex และ striatum

เมื่อศึกษาผลของการดื้อยามอร์ฟีนต่อระดับ cyclic AMP ในส่วนต่างๆของสมองหนู rat พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงระดับ cyclic AMP ในบริเวณ midbrain, medulla, hypothalamus และ cerebellum แต่มีการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในส่วน striatum และ cortex(Clouet และคณะ, 1975) ในปีเดียวกันนี้ Mehta และ Johnson (1975) แสดงให้เห็นว่าหนู rat ที่ได้รับมอร์ฟีนเป็นเวลา 1, 4 และ 8 สัปดาห์ จะไม่มีการเปลี่ยนแปลงของระดับ cyclic AMP ในบริเวณ corpus striatum ส่วน cerebellum ระดับ cyclic AMP จะลดลงอย่างมีนัยสำคัญในสัปดาห์แรก หลังจากนั้นจะเพิ่มขึ้นสูงกว่าระดับปกติในสัปดาห์ที่ 4 และลดลงสู่ระดับปกติในสัปดาห์ที่ 8 แต่เมื่อทำให้งดเสพที่ช่วงเวลาต่างๆกันของการติดยาจะไม่มีผลต่อระดับ cyclic AMP ใน corpus striatumแต่ระดับ cyclic AMP ใน cerebellum เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในสัปดาห์ที่ 4 และที่ 8

นอกจากนี้ Clouet และคณะ (1975) พบว่าในหนู rat หลังจากฉีดมอร์ฟีน 60 มก./กก. น้ำหนักตัว นาน 1-2 ชั่วโมง ระดับเอ็นไซม์ adenylate cyclase ในส่วนของ midbrain, striatumและ medulla จะเพิ่มขึ้นแต่ลดลงในบริเวณ cerebellum ไม่มีการเปลี่ยนแปลงในส่วน cortex และ hypothalamus เมื่อทำให้หนู rat ดื้อยาขึ้น พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงระดับเอ็นไซม์ adenylate cyclase ในทุกบริเวณโดยวัดหลังจากฉีดครั้งสุดท้าย 18 ชั่วโมง แต่ถ้าวัดหลังจากฉีดครั้งสุดท้าย 2 ชั่วโมง จะมีการเพิ่มขึ้นในบริเวณ midbrain, cortex และ cerebellum

Puri และคณะ (1975) ศึกษาผลของการฉีดมอร์ฟีนต่อระดับเอ็นไซม์ adenylate cyclase และ phosphodiesterase ในสมองของหนู rat ส่วน corpus striatum พบว่าเมื่อฉีดมอร์ฟีนตั้งแต่ 7.5-30 มก./กก. น้ำหนักตัว เอ็นไซม์ adenylate cyclase จะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อใช้ความเข้มข้นสูงถึง 30 มก./กก. น้ำหนักตัว ส่วนระดับเอ็นไซม์ phosphodiesterase

จะไม่มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อทำการวัดเอ็นไซม์โดยใช้ความเข้มข้นของ substrate cyclic AMP ในช่วง $3.33 \times 10^{-5} - 3.33 \times 10^{-7}$ M แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ substrate cyclic AMP เป็น 3.33×10^{-3} M ระดับเอ็นไซม์ phosphodiesterase จะลดลงอย่างมีนัยสำคัญตามความเข้มข้นของมอร์ฟีนที่ให้ ส่วน Sharma และคณะ (1975) ได้ศึกษาระดับเอ็นไซม์ adenylate cyclase ใน homogenate ที่ได้จาก neuroblastoma x glioma hybrid NG 108-15 โดยนำ homogenate ที่ได้นี้มา incubate กับมอร์ฟีนที่มีความเข้มข้น 10 μM พบว่าระดับเอ็นไซม์ adenylate cyclase จะลดลง

Ho และคณะ (1972 a) พบว่า cyclic AMP สามารถลดฤทธิ์ของมอร์ฟีนในการระงับปวดได้ในหนู mice เมื่อทำให้หนู mice เกิดการดื้อยามอร์ฟีนขึ้น โดยวิธีฝังเม็ดมอร์ฟีนร่วมกับการฉีด cyclic AMP 10 มก./กก. น้ำหนักตัว ผลจะช่วยเร่งการเกิดการดื้อยาและการเกิดภาวะพึ่งยาทางกายเพิ่มขึ้นมากเป็น 3 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ 0.85% โซเดียมคลอไรด์แทน cyclic AMP (Ho และคณะ, 1972 a; Ho และคณะ, 1973 a; Ho และคณะ, 1975) ทำนองเดียวกัน ถ้าใช้สารตัวอื่นแทน cyclic AMP เช่น dibutyryl cyclic AMP, theophylline (ตัวยับยั้งเอ็นไซม์ phosphodiesterase) สามารถให้ผลเหมือนกับการฉีด cyclic AMP ถ้าฉีด nucleotide ตัวอื่น เช่น adenosine 2', 3' monophosphate, guanosine 3', 5' monophosphate พบว่าไม่มีผลช่วยเร่งการเกิดการดื้อยาและการเกิดภาวะพึ่งยาทางกายในหนู mice นอกจากนี้ยังรายงานว่า cycloheximide สามารถยับยั้งการเกิดการดื้อยาและการเกิดภาวะพึ่งยาทางกายที่ถูกเร่งโดย cyclic AMP ได้

Collier และ Roy (1974) แสดงให้เห็นว่ามอร์ฟีนสามารถยับยั้งการสังเคราะห์ cyclic AMP ที่ถูกเร่งโดย prostaglandin E_1 (PGE_1) และ prostaglandin E_2 (PGE_2) ได้ใน homogenate ของสมอง

หนู rat และความสามารถในการยับยั้งจะเพิ่มขึ้น เมื่อให้ความเข้มข้นของมอร์ฟีนเพิ่มขึ้น โดยที่มอร์ฟีนไม่มีผลต่อการสังเคราะห์ cyclic AMP เมื่อไม่มี prostaglandin อยู่ด้วยเลย และ naloxone ซึ่งเป็น antagonist ของมอร์ฟีนสามารถลดผลในการยับยั้งของมอร์ฟีนได้ **Sharma** และคณะ (1975) ได้ศึกษาเซลล์ neuroblastoma x glioma hybrid NG 108-15 พบว่าเมื่อเติม PGE_1 ลงไปจะเพิ่มระดับ cyclic AMP ถึง 40 เท่า และระดับเอ็นไซม์ adenylate cyclase เพิ่ม 10 เท่า แต่เมื่อเติมมอร์ฟีน 10 μM จะลดระดับ cyclic AMP และ adenylate cyclase ลงอย่างเห็นได้ชัดทั้งที่มี PGE_1 และไม่มี PGE_1 **Vonvoigtlander** และ Losey (1977) ได้ทำการศึกษาโดยฉีด PGE_2 1 มก./กก. น้ำหนักตัว เข้าหลอดเลือดของหนู mice พบว่าระดับ cyclic AMP เพิ่มขึ้นในสมองส่วน striatum อย่างมีนัยสำคัญ แต่เมื่อฉีดมอร์ฟีนขนาด 0.3-10 มก./กก. น้ำหนักตัว เข้าใต้ผิวหนังของหนู mice ชนิดปกติ และชนิดที่มีการดื้อยามอร์ฟีนเกิดขึ้นแล้วร่วมกับการฉีด PGE_2 แล้วทำการวัดระดับ cyclic AMP ในสมองส่วน striatum พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับการฉีด PGE_2 แต่เพียงอย่างเดียว

การวิจัยนี้มุ่งศึกษาถึงกลไกของการติดยาโดยติดตามการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของเซลล์สมองของหนูทดลองที่ถูกพัฒนาให้มีการดื้อยามอร์ฟีนขึ้น เฉพาะอย่างยิ่งเพ่งเล็งถึงการเปลี่ยนแปลงระดับอะดีโนซีน 3', 5' โมโนฟอสเฟต (cyclic AMP) ซึ่งเป็นสารชีวโมเลกุลที่มีความสำคัญในการควบคุมขบวนการทางชีวเคมีภายในเซลล์มากมายหลายขบวนการ มีขั้นตอนของการวิจัยดังนี้ คือ

1. ศึกษาและพัฒนาวิธีวัดความดื้อยาที่เหมาะสมขึ้นใหม่
2. ศึกษาและทดลองหาวิธีพัฒนาการดื้อยามอร์ฟีนในหนูทดลอง
3. วัดองศาการดื้อยาในหนูทดลองที่ติดยาในช่วงเวลาต่างๆกัน
4. วัดระดับ cyclic AMP ในส่วนต่างๆของสมอง คือ cortex, thalamus & hypothalamus, midbrain, cerebellum, pons & medulla

5. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของระดับ cyclic AMP ในส่วนต่างๆของสมองหนูที่ดื้อยา เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงระดับ cyclic AMP กับองศาการดื้อยา