

อภิธานการ

สัญญาเลขที่ R2556C063



## รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

### โครงการ ผลของ piperine ที่มีต่อการเรียนรู้ ความจำ และระดับ nicotinic receptor ในสมองของหนูขาวเล็ก

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยนครสวรรค์

เลขทะเบียน 17 ส.ย. 2558

เลขทะเบียน 1. 6784732

เลขเรียกหนังสือ 9 BS

421

ค.ย.

ค.ย.

ค.ย.

ค.ย.

โดย

ดร.ศุภวรรณ พงศ์พัฒน์วูฒิ

ผศ.ดร.ธนศักดิ์ เทียมทอง

ภาควิชาเภสัชกรรมปฏิบัติ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนครสวรรค์

สนับสนุนโดยงบประมาณรายได้มหาวิทยาลัยนครสวรรค์

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ.2556

## กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณผู้บริหาร คณาจารย์ เจ้าหน้าที่ และผู้ช่วยวิจัยทุกท่าน ทั้งจากคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร สถาบันวิจัยทางวิทยาศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัยนเรศวร และคณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ที่มีส่วนช่วยให้โครงการวิจัยนี้ดำเนินไปอย่างราบรื่นและสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

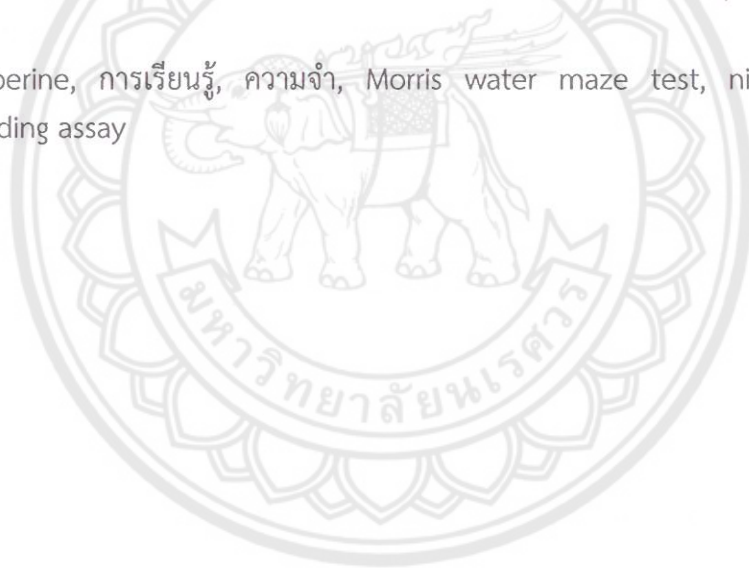
โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณรายได้มหาวิทยาลัยนเรศวร ประจำปีงบประมาณ พุทธศักราช 2556 จึงขอขอบคุณไว้ ณ ที่นี้ด้วย



## บทคัดย่อ

โรคอัลไซเมอร์เป็นโรคสมองเสื่อมชนิดหนึ่งที่พบมากในผู้สูงอายุ ซึ่งเป็นโรคที่ก่อให้เกิดความทุกข์ทรมานให้กับผู้ป่วยและเป็นภาระอย่างยิ่งสำหรับผู้ดูแล ในปัจจุบันมียาที่ใช้รักษาโรคอัลไซเมอร์ ได้แก่ ยาในกลุ่ม cholinesterase inhibitors (เช่น donepezil) และ memantine แต่ผลการรักษาของยาดังกล่าวเป็นเพียงการชะลอการดำเนินไปของโรคเท่านั้น piperine เป็นสาร alkaloid ที่พบในพืชตระกูลพริกไทย และจากการศึกษาที่ผ่านมาแสดงให้เห็นว่า piperine มีฤทธิ์เพิ่มความจำและการเรียนรู้ในสัตว์ทดลอง วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อทดสอบฤทธิ์เพิ่มความจำและการเรียนรู้ของ piperine ในหนูขนาดเล็ก รวมทั้งค้นหากลไกที่เป็นไปได้ซึ่งสัมพันธ์กับการเพิ่มความจำและการเรียนรู้ หนูขนาดเล็กได้รับ donepezil ขนาด 1 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และ piperine ขนาด 5, 10 และ 20 มิลลิกรัม/กิโลกรัม เป็นเวลา 2 สัปดาห์ หลังจากนั้นหนูขนาดเล็กถูกนำไปทดสอบการเรียนรู้และความจำโดยใช้ Morris water maze test และการศึกษาในระดับของ nicotinic receptors ในสมองหนูขนาดเล็ก ทำโดยวิธี [<sup>3</sup>H]Epibatidine saturation binding assay ผลการศึกษาพบว่าทั้ง donepezil และ piperine มีผลเพิ่มความจำและการเรียนรู้ของหนูขนาดเล็ก รวมทั้งเพิ่มความหนาแน่นสูงสุด ( $B_{max}$ ) ของ nicotinic receptor ในเนื้อเยื่อของสมองหนูขนาดเล็ก ผลการศึกษาทั้งหมดชี้ให้เห็นว่า piperine มีฤทธิ์เพิ่มการเรียนรู้และความจำและกลไกที่เกี่ยวข้องอาจสัมพันธ์กับการเพิ่มระดับของ nicotinic receptors

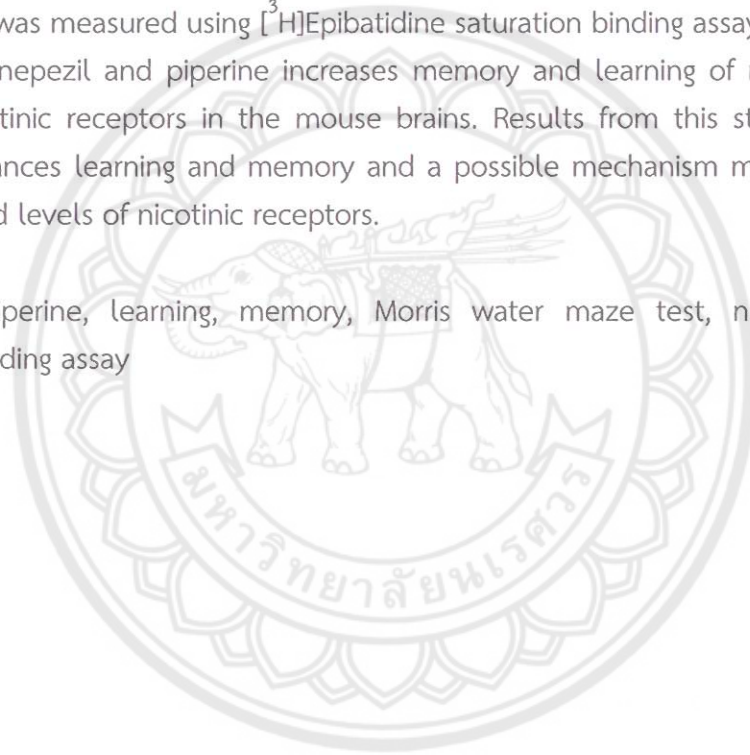
คำสำคัญ : piperine, การเรียนรู้, ความจำ, Morris water maze test, nicotinic receptor, saturation binding assay



## Abstract

Alzheimer's disease is the most common type of dementia in the elderly. The disease causes suffering to the patient and a great burden for caregivers. Currently, the drugs used to treat Alzheimer's disease include medications such as cholinesterase inhibitors (eg, donepezil) and memantine but the effects of such drugs is only slow progression of the disease. Piperine is an alkaloid found in pepper plants and previous studies showed that piperine has memory and learning improving effect in animals. The purpose of this study were to test the effects of memory and learning in mice of piperine and the possible mechanisms associated with memory and learning. Mice received 1 mg /kg donepezil and 5, 10 and 20 mg /kg piperine for 2 weeks. The Morris water maze test was used to study learning and memory of the animals. Levels of nicotinic receptors in mouse brain was measured using [<sup>3</sup>H]Epibatidine saturation binding assay. Results showed that both donepezil and piperine increases memory and learning of mice and density ( $B_{max}$ ) of nicotinic receptors in the mouse brains. Results from this study suggest that piperine enhances learning and memory and a possible mechanism may be associated with increased levels of nicotinic receptors.

**Keywords :** piperine, learning, memory, Morris water maze test, nicotinic receptor, saturation binding assay



## สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	III
บทคัดย่อ	IV
Abstract	V
สารบัญ	VI
Executive Summary	1
บทนำ	3
วัตถุประสงค์และวิธีการ	5
ผลการศึกษา	7
อภิปรายและสรุปผลการศึกษา	9
เอกสารอ้างอิง	10





## Executive Summary

### ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

โรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer's disease) เป็นโรคสมองเสื่อมชนิดหนึ่ง ซึ่งพบเป็นจำนวนมากในผู้สูงอายุ มีรายงานว่าปัจจุบันพบผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์ในประชากรทั่วโลกมากกว่า 35 ล้านคน (Querfurth and LaFerla, 2010) สำหรับประเทศไทย ปัจจุบันมีผู้ป่วยด้วยภาวะสมองเสื่อมรวมถึงโรคอัลไซเมอร์ประมาณ 229,000 คน และคาดว่าในอีก 20 ปีข้างหน้า (พ.ศ.2563) จะเพิ่มขึ้นประมาณหนึ่งเท่าตัว เป็น 450,000 คน และภายใน 50 ปี (พ.ศ.2593) จะเพิ่มเป็นมากกว่าล้านคน (Ferri et al. 2005) ความผิดปกติที่เกิดขึ้นในผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์ทำให้เกิดปัญหาต่อตัวผู้ป่วยเองและผู้ดูแล นอกจากนี้ค่าใช้จ่ายและภาระในการดูแลผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์อยู่ในระดับค่อนข้างสูง (Cotter, 2007; Jönsson and Wimo, 2009)

ในปัจจุบันยาที่ใช้ในการรักษาโรคอัลไซเมอร์มีจำนวนไม่มากนัก ได้แก่ ยาในกลุ่ม cholinesterase inhibitors เช่น rivastigmine, donepezil และ galantamine ซึ่งออกฤทธิ์เพิ่มสารสื่อประสาท acetylcholine ซึ่งมีผลต่อการเรียนรู้และความจำ และยา memantine ซึ่งออกฤทธิ์ยับยั้ง NMDA receptor แม้ว่ายาเหล่านี้จะให้ประสิทธิภาพในการเพิ่มความจำและการเรียนรู้ของผู้ป่วย แต่อย่างไรก็ตามผลในการรักษาเกิดขึ้นเป็นเพียงการชะลอการดำเนินไปของโรคให้ช้าลงเท่านั้น ไม่ได้ทำให้โรคหายขาด อีกทั้งทำให้เกิดอาการไม่พึงประสงค์จากการใช้ เช่น คลื่นไส้ อาเจียน ท้องเสีย นอนไม่หลับ และใจสั่น เป็นต้น ทำให้ยังคงมีการพัฒนาและค้นคว้าศึกษาเกี่ยวกับยารักษาโรคอัลไซเมอร์ที่มีประสิทธิภาพต่อไป (Mangialasche et al., 2010)

สมุนไพรเป็นแหล่งหนึ่งในการศึกษาและทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาเพื่อพัฒนาเป็นยาในการรักษาโรคและความผิดปกติต่างๆ ในการรักษาโรคอัลไซเมอร์และการเพิ่มความจำและการเรียนรู้ก็เช่นเดียวกัน มีรายงานการศึกษาถึงผลในการเพิ่มความจำและการเรียนรู้ในพืชสมุนไพรหลายชนิด เช่น แปะก๊วย, โสม และชาเขียว ซึ่งฤทธิ์ในการเพิ่มความจำและการเรียนรู้ของพืชสมุนไพรเหล่านี้ยังไม่สามารถสรุปได้แน่ชัด แต่คาดว่าอาจเกี่ยวข้องกับเพิ่มการไหลเวียนโลหิตไปยังสมองและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Yan et al., 2007)

พริกไทยเป็นพืชที่พบได้มากในประเทศไทยและนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายเพื่อเป็นเครื่องเทศในการปรุงอาหาร จากการศึกษาที่ผ่านมาเมื่อไม่นานมานี้ พบว่าพริกไทยมีฤทธิ์เพิ่มความจำและการเรียนรู้โดยสารภายในพริกไทยที่มีฤทธิ์ดังกล่าว ได้แก่ piperine ซึ่งเป็นสารจำพวก alkaloid อย่างไรก็ตามกลไกการออกฤทธิ์ของ piperine ยังไม่ทราบแน่ชัด แต่ส่วนนี้อาจจะเกี่ยวข้องกับการต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งการทำงานของ cholinesterase enzyme ในสมองส่วน hippocampus (Chonpathompikunlert et al., 2010)

เนื่องจากกระบวนการที่เกี่ยวข้องกับความจำและการเรียนรู้เกิดขึ้นผ่านหลายกลไก หนึ่งในกลไกที่สำคัญที่ทำให้เกิดความจำและการเรียนรู้สัมพันธ์กับการกระตุ้นการทำงานของ nicotinic receptors ก่อให้เกิดการกระตุ้นเซลล์ประสาทในสมองส่วนที่เกี่ยวข้องกับความจำและการเรียนรู้ ได้แก่ hippocampus และ frontal cortex (Dani and Bertrand, 2007) นอกจากนี้ยารักษาโรคอัลไซเมอร์ที่มีใช้ในปัจจุบันบางชนิด เช่น galantamine มีผลเพิ่มระดับของ nicotinic receptor ในสมองส่วน hippocampus และ frontal cortex ของสัตว์ทดลอง (Svedberg et al., 2004) งานวิจัยนี้จึงต้องการศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของ piperine ในการเพิ่มความจำและการเรียนรู้ที่เกี่ยวข้องกับระดับของ nicotinic receptor ในสมองส่วนที่เกี่ยวข้องกับความจำและการเรียนรู้ดังกล่าว



## วัตถุประสงค์หลักของแผนงานวิจัย

1. เพื่อศึกษาผลของ piperine ที่มีต่อความจำและการเรียนรู้ในสัตว์ทดลอง
2. เพื่อศึกษาผลของ piperine ที่มีต่อระดับของ nicotinic receptor ในสมองสัตว์ทดลอง
3. เพื่อศึกษากลไกการออกฤทธิ์ที่เป็นไปได้ของ piperine ในการเพิ่มความจำและการเรียนรู้

## ทฤษฎี กรอบแนวคิด และแนวทางในการดำเนินการของแผนงานวิจัย

ภาวะสมองเสื่อมเป็นความผิดปกติที่เกิดขึ้นส่วนใหญ่ในผู้สูงอายุ โดยพบว่าโรคอัลไซเมอร์เป็นภาวะสมองเสื่อมที่เกิดขึ้นได้มากที่สุด ซึ่งอาการที่เกิดขึ้นเกี่ยวข้องกับความบกพร่องในการคิด ความจำและการเรียนรู้ รวมทั้งการมีพฤติกรรมที่ผิดปกติ ทำให้ส่งผลกระทบต่อสุขภาพโดยรวมและคุณภาพชีวิตของตัวผู้ป่วยเองและผู้ดูแล อีกทั้งส่งผลให้เกิดการสูญเสียค่ารักษาพยาบาลเป็นจำนวนมาก (Cummings, 2004) แม้ว่าในปัจจุบันจะมียาที่ใช้ในการรักษาโรคอัลไซเมอร์ แต่การใช้ยาเป็นเพียงการชะลอการดำเนินไปของโรคเท่านั้น ไม่สามารถรักษาโรคให้หายขาดได้ ซึ่งสาเหตุอาจเนื่องมาจากพยาธิสรีรวิทยาของโรคอัลไซเมอร์เกี่ยวข้องกับหลากหลายสาเหตุ ทำให้การออกฤทธิ์ของยาไม่สามารถครอบคลุมได้ทั้งหมด (Faulkner et al., 2005) นอกจากนี้การใช้ยามักทำให้เกิดอาการไม่พึงประสงค์ได้มากและทำให้เสียค่าใช้จ่ายในการรักษาค่อนข้างสูง จากสาเหตุดังกล่าวจึงได้มีความพยายามค้นหาสารหรือยาใหม่ ๆ ที่มีประสิทธิภาพในการรักษาโรคอัลไซเมอร์ สมุนไพรเป็นทางเลือกอีกทางหนึ่งในการนำมาใช้ในการรักษาโรคต่างๆ เนื่องจากสมุนไพรเป็นทรัพยากรที่มีอยู่มากมายในประเทศไทย และการนำสมุนไพรมานำมาใช้เป็นการสนับสนุนภูมิปัญญาไทยที่มีอยู่แต่โบราณให้เกิดประโยชน์ที่คุ้มค่า สมุนไพรที่มีการศึกษาและพบว่ามียฤทธิ์ในการเพิ่มความจำและการเรียนรู้ ได้แก่ เปะก๊วย โสม และชาเขียว เป็นต้น (Yan et al., 2007)

พริกไทย เป็นสมุนไพรที่พบได้มากในประเทศไทยและเป็นสมุนไพรอีกชนิดหนึ่งที่มีรายงานว่ามีฤทธิ์เพิ่มความจำและการเรียนรู้ สารในพริกไทยที่มีการศึกษาและพบว่ามียฤทธิ์ดังกล่าว ได้แก่ piperine ซึ่งเป็นสารจำพวก alkaloid แต่ยังไม่สามารถสรุปแน่ชัดว่า piperine สามารถเพิ่มความจำและการเรียนรู้ผ่านกลไกใด (Chonpathompikunlert et al., 2010; Wattanathorn et al., 2008) อย่างไรก็ตามกลไกในกระบวนการเกิดความจำและการเรียนรู้เกี่ยวข้องกับการกระตุ้นการทำงานของ nicotinic receptor (Dani and Bertrand 2007, 7) (ดังนั้นการศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของ piperine ที่มีต่อระดับ nicotinic receptor ในสมองของสัตว์ทดลอง จึงน่าจะทำให้สามารถอธิบายถึงฤทธิ์ในการเพิ่มความจำและการเรียนรู้ในคนได้ในระดับหนึ่ง

## ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ผลของ piperine ที่มีต่อระดับของ nicotinic receptor ในสมองสัตว์ทดลองที่สัมพันธ์กับความจำและการเรียนรู้
2. กลไกการออกฤทธิ์ที่เป็นไปได้ของ piperine ในการเพิ่มความจำและการเรียนรู้ในสัตว์ทดลอง และสามารถประยุกต์ใช้ในการอธิบายผลของยาในการรักษาโรคอัลไซเมอร์ในคน
3. ส่งเสริมนโยบายของรัฐบาลในการส่งเสริมสุขภาพกายและสุขภาพจิตของประเทศ
4. การเผยแพร่ผลงานวิจัยต่อประชาชน หน่วยงานทางด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์และสาธารณสุข
5. การนำสมุนไพรพื้นบ้านซึ่งเป็นทรัพยากรที่มีอยู่ตามธรรมชาติและภูมิปัญญาไทยที่มีอยู่นำมาใช้ให้เกิดประโยชน์ต่อประชาชนและช่วยลดค่าใช้จ่ายทางยาและค่าใช้จ่ายด้านสุขภาพโดยรวมของประเทศ



## บทนำ

โรคอัลไซเมอร์เป็นโรคสมองเสื่อมที่พบได้มากประมาณ 50-70% ในผู้สูงอายุทั่วโลก ซึ่งมีการลุกลามของการเสื่อมของเซลล์ประสาท (neurodegeneration) ชนิดต่างๆ ในสมอง โดยเฉพาะเซลล์ประสาทชนิด cholinergic ที่ควบคุมเกี่ยวกับการคิด ความจำและการเรียนรู้ อัตราการเกิด AD จะเพิ่มขึ้นตามอายุที่มากขึ้น โดยพบผู้ป่วย 5% มีอายุประมาณ 65 ปี และจะเพิ่มขึ้นเป็นมากกว่าหรือเท่ากับ 90% ในผู้ป่วยที่มีอายุประมาณ 95 ปี โรคอัลไซเมอร์เกิดขึ้นจากหลายสาเหตุรวมทั้งพันธุกรรมและการเปลี่ยนแปลงระดับโมเลกุลของเซลล์ประสาท อาการแสดงของโรค ได้แก่ การลดลงในเรื่องของการเรียนรู้ สติปัญญาและความจำ (cognitive functions) ทำให้ไม่สามารถปฏิบัติภารกิจประจำวันได้ นอกจากนี้ผู้ป่วยยังมีการผิดปกติทางจิตประสาทและพฤติกรรม โดยจะมีอารมณ์เปลี่ยนแปลง รวมทั้งมีอาการทางจิต (psychosis) และร่วมด้วย ส่งผลให้เกิดความเสียหายในหลายๆด้าน ทั้งในด้านคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยและผู้ดูแล รวมทั้งการสูญเสียค่าใช้จ่ายเป็นจำนวนมากในการดูแลรักษาผู้ป่วย (World Health Organization, 2001)

นอกจากการเสื่อมของเซลล์ประสาทชนิด cholinergic แล้ว ยังพบว่าการเปลี่ยนแปลงการทำงานของ nicotinic receptor มีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคอัลไซเมอร์เช่นกัน โดย nicotinic receptor เป็น ligand-gate ion channel ที่พบเป็นจำนวนมากในสมองส่วนต่างๆ รวมทั้งส่วนที่เกี่ยวข้องกับการเรียนรู้และความจำ ได้แก่ hippocampus และ frontal cortex (Perry et al., 1992; Sihver et al., 1998) และการกระตุ้น nicotinic receptor ในสมองส่วนดังกล่าวส่งผลให้เกิดการเรียนรู้และความจำ (Boccia et al., 2010; Chan et al., 2007) จากการศึกษาที่ผ่านมาได้มีการรายงานถึงการลดลงของ nicotinic receptor ในสมองส่วน hippocampus และ frontal cortex ทั้งในสัตว์ทดลองที่มีการเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะสมองเสื่อม (Ogawa et al., 2006) และในผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์ (Hellström-Lindahl et al., 1999; Wevers et al., 2000) จึงเห็นได้ว่า nicotinic receptor ในสมองมีความสัมพันธ์และเกี่ยวข้องกับการเรียนรู้และความจำ รวมทั้งพยาธิสรีรวิทยาของภาวะสมองเสื่อมและโรคอัลไซเมอร์

การรักษาโรคอัลไซเมอร์ในปัจจุบัน ส่วนใหญ่จะใช้ยาเป็นหลัก โดยยาที่มีการใช้ในปัจจุบัน ได้แก่ ยาในกลุ่ม cholinesterase inhibitors ที่มีกลไกการออกฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของ cholinesterase enzyme ทำให้ระดับของสารสื่อประสาท acetylcholine ในสมองเพิ่มขึ้น มีผลให้ความจำและการเรียนรู้ของผู้ป่วยเพิ่มขึ้น (Lleo et al., 2006) ยาอีกชนิดหนึ่งที่มีการนำมาใช้ในการรักษาโรคอัลไซเมอร์คือ memantine ซึ่งออกฤทธิ์ในการควบคุมการทำงานของ NMDA receptor ที่มากเกินไปในผู้ป่วย ให้กลับมาทำงานได้ใกล้เคียงกับปกติจนสามารถทำให้เกิดความจำและการเรียนรู้ได้ (Johnson and Kotermanski et al., 2006) อย่างไรก็ตามการใช้ยาเป็นเพียงการชะลอการดำเนินไปของโรคเท่านั้น การตอบสนองของผู้ป่วยต่อยามักจะเป็นเพียงในระยะเริ่มต้นของการรักษาเท่านั้น เมื่อโรคดำเนินไปมากขึ้น การตอบสนองต่อยาของผู้ป่วยจะลดลงตามลำดับ อีกทั้งการใช้ทำให้เกิดอาการไม่พึงประสงค์ที่ทำให้ผู้ป่วยไม่สามารถทนได้ เช่น คลื่นไส้ อาเจียน นอนไม่หลับ ใจสั่น และอาการทางจิต (Farlow and Cummings, 2007) จึงมีความพยายามในการคิดค้นยาชนิดใหม่ขึ้นมาเพื่อหวังผลในการรักษาโรคอัลไซเมอร์ที่มีประสิทธิภาพดีขึ้นและลดอาการไม่พึงประสงค์ที่อาจเกิดขึ้นจากการใช้ยา

ประเทศไทยเป็นประเทศที่อุดมไปด้วยทรัพยากรธรรมชาติ และมีการนำสมุนไพรชนิดต่างๆมาใช้ในการป้องกันและรักษาโรคต่างๆเป็นเวลานาน สมุนไพรที่มีรายงานว่ามียฤทธิ์ในการเพิ่มความจำและการเรียนรู้มีอยู่หลายชนิด (Yan et al., 2007) หนึ่งในสมุนไพรเหล่านั้น ได้แก่ พริกไทย จากการศึกษาถึงฤทธิ์ทาง



เภสัชวิทยาของพริกไทย พบว่าสารสกัดจากพริกไทยมีฤทธิ์ต่างๆ ได้แก่ ฤทธิ์ลดการบีบตัวของลำไส้ (Naseri and Yahyavi, 2008) ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย (Chaudhry and Tariq, 2006) และ ฤทธิ์ลดไขมันในเลือด (Vijayakumar and Nalini; 2006) ซึ่งฤทธิ์ดังกล่าวเป็นผลจากการศึกษาในหลอดทดลองและในสัตว์ทดลอง โดยกลไกการออกฤทธิ์ที่จะนำมาใช้อธิบายผลที่เกิดขึ้นยังไม่สามารถสรุปได้แน่นอน ในส่วนของฤทธิ์เพิ่มความจำและการเรียนรู้พบว่าสาร piperine ซึ่งเป็นสารจำพวก alkaloid ที่พบในพริกไทยทำให้สัตว์ทดลองมีความจำและการเรียนรู้ที่ดีขึ้นตามขนาดที่เพิ่มขึ้น (Chonpathompikunlert et al., 2010; Wattanathorn et al., 2008) ซึ่งผลดังกล่าวส่วนหนึ่งอาจสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ cholinesterase enzyme (Chonpathompikunlert et al., 2010) อย่างไรก็ตาม กลไกหนึ่งซึ่งเกี่ยวข้องกับการออกฤทธิ์ของยาที่มีผลเพิ่มความจำและการเรียนรู้ในสัตว์ทดลอง คือการออกฤทธิ์เพิ่มการทำงานของ nicotinic receptor โดยยารักษาอัลไซเมอร์ที่มีรายงานเพิ่มการทำงานของ nicotinic receptor ได้แก่ donepezil และ galantamine ซึ่งการให้ยาทั้ง 2 ชนิดมีผลเพิ่มระดับของ nicotinic receptor ในสมองส่วน hippocampus และ frontal cortex (Barnes et al., 2000; Hernandez et al., 2006) ของสัตว์ทดลอง

จากการศึกษาพิษของ piperine ที่ผ่านมามีพบว่าการได้รับ piperine ในสัตว์ทดลองในขนาดต่ำกว่า 33.5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม เกิดความเป็นพิษได้น้อย (Piyachaturawat et al., 1983) และเนื่องจากพริกไทยเป็นพืชสมุนไพรที่นำมาใช้ในการดำรงชีวิตของคนไทยโดยเฉพาะนำมาใช้เป็นเครื่องเทศในการประกอบอาหารอยู่เป็นประจำ รวมทั้งสาร piperine ที่มีอยู่ในพริกไทยมีแนวโน้มของศักยภาพที่จะนำมาพัฒนาเป็นยารักษาโรคอัลไซเมอร์ต่อไป จึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจที่จะนำ piperine มาศึกษากลไกในการออกฤทธิ์เพิ่มความจำและการเรียนรู้โดยเฉพาะกลไกที่เกี่ยวข้องกับระดับ nicotinic receptor ในสมอง เพื่อนำไปพัฒนาเป็นยารักษาโรคอัลไซเมอร์ในอนาคต เพื่อเป็นทางเลือกในการรักษาผู้ป่วยนอกเหนือไปจากการใช้ยาในกลุ่ม cholinesterase inhibitors ซึ่งมีผลในการรักษาผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์ที่มีความรุนแรงในระดับไม่มากถึงปานกลาง และ memantine ซึ่งมีผลในการรักษาผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์ที่มีความรุนแรงในระดับปานกลางถึงมาก (Waldemar et al., 2007) ซึ่งการพัฒนาดังกล่าวอาจทำได้มาจาก piperine ซึ่งอาจนำมาใช้รักษาผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์ได้ในทุกระดับความรุนแรง

## วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

### การเตรียมและการให้สารต่างๆแก่สัตว์ทดลอง

หลังจากจับหนูขาวเล็ก (ICR mice) มาจากสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล จังหวัดนครปฐม หนูขาวเล็กทั้งหมดจะถูกนำมาพักที่สถานสัตว์ทดลองเพื่อการวิจัย มหาวิทยาลัยนเรศวร เป็นเวลาอย่างน้อย 7 วันก่อนทำการทดลอง โดยได้รับอาหารและน้ำไม่จำกัด จากนั้นหนูขาวเล็กถูกแบ่งออกเป็น 6 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 หนูขาวเล็กที่ได้รับ normal saline ผ่านทางการฉีดเข้าช่องท้องเป็นเวลา 14 วัน จำนวน 6 ตัว เป็นกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับสารใดๆ

กลุ่มที่ 2 หนูขาวเล็กที่ได้รับสารละลาย donepezil ใน normal saline ขนาด 1 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ผ่านทางการฉีดเข้าช่องท้องเป็นเวลา 14 วัน จำนวน 6 ตัว เป็นกลุ่มควบคุมที่ได้รับยารักษาโรคอัลไซเมอร์ donepezil

กลุ่มที่ 3 หนูขาวเล็กที่ได้รับสารแขวนลอย piperine ใน normal saline ขนาด 5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ผ่านทางการฉีดเข้าช่องท้องเป็นเวลา 14 วัน จำนวน 6 ตัว เป็นกลุ่มทดลองกลุ่มที่ 1

กลุ่มที่ 4 หนูขาวเล็กที่ได้รับสารแขวนลอย piperine ใน normal saline ขนาด 10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ผ่านทางการฉีดเข้าช่องท้องเป็นเวลา 14 วัน จำนวน 6 ตัว เป็นกลุ่มทดลองกลุ่มที่ 2

กลุ่มที่ 5 หนูขาวเล็กที่ได้รับสารแขวนลอย piperine ใน normal saline ขนาด 20 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ผ่านทางการฉีดเข้าช่องท้องเป็นเวลา 14 วัน จำนวน 6 ตัว เป็นกลุ่มทดลองกลุ่มที่ 3

โดยขนาดของ donepezil ที่ใช้ในการวิจัยนี้อ้างอิงมาจากการศึกษาของ Kamatet al. (2010) และขนาดของ piperine ที่ใช้ในการวิจัยนี้อ้างอิงมาจากการศึกษาของ Chonpathompikunlert et al. (2010) ซึ่งหนูขาวเล็กทุกกลุ่มจะได้รับสารต่างๆ 1 ครั้ง/วัน ในเวลาประมาณ 10.00 น. ของทุกวัน และปริมาณสูงสุดที่หนูขาวเล็กได้รับสารต่างๆในแต่ละครั้งไม่เกิน 0.5 มิลลิลิตร

ทั้งนี้เมื่อเสร็จสิ้นการได้รับสารแล้ว หนูขาวเล็กทั้ง 6 กลุ่ม จะถูกนำไปทดสอบความจำและการเรียนรู้โดยใช้ Morris water maze test

การศึกษาผลของ piperine ที่มีต่อความจำและการเรียนรู้โดยใช้ Morris water maze test (ดัดแปลงวิธีการศึกษาจาก Buhot et al., 2003 และ Saraf et al., 2010)

ก่อนทำการให้สารต่างๆกับหนูขาวเล็กจะมีการฝึกหนูขาวเล็กให้ชินกับอุปกรณ์เป็นเวลาติดต่อกัน 4 นาที โดยในแต่ละวันหนูขาวเล็กจะถูกนำไปในท้องที่จะทำการ 20 รอบ แต่ละรอบห่างกัน 6 วัน วันละนาที ในแต่ละรอบของการฝึก หนูขาวเล็กจะถูกนำไปลอยน้ำที่อยู่ใน 30 ทดลองก่อนเวลาฝึกอ่างน้ำโลหะ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 170 เซนติเมตร สูงประมาณ 60 เซนติเมตร โดยระดับน้ำจะสูงจากก้นอ่างประมาณ 40 เซนติเมตร อุณหภูมิของน้ำประมาณ 25°C และพื้นที่ของอ่างโลหะจะถูกแบ่งออกเป็น 4 ส่วน (quadrants) ได้แก่ ส่วนที่อยู่ทางทิศตะวันออกเฉียงเหนือ ทิศตะวันตกเฉียงเหนือ ทิศตะวันออกเฉียงใต้ และทิศตะวันตกเฉียงใต้ ในพื้นที่ส่วนใดส่วนหนึ่งจะมีแท่น (platform) ให้หนูขาวเล็กเกาะอยู่บริเวณกึ่งกลาง ซึ่งแท่นดังกล่าวจะลอยอยู่ต่ำกว่าระดับน้ำซึ่งผสมกับผงแป้งเพื่อป้องกันไม่ให้หนูขาวเล็กมองเห็น และจุดเหนือน้ำรอบผนังอ่างโลหะจะมีรูปที่หนูขาวเล็กสามารถมองเห็นและหนูขาวเล็กจะต้องจำตำแหน่งของรูปที่ตรงกับบริเวณที่มีแท่นอยู่ หนูขาวเล็กจะถูกปล่อยลงในน้ำในพื้นที่อ่างส่วนใดส่วนหนึ่ง หนูขาวเล็กจะมีเวลาในการว่ายน้ำหาแท่นไม่เกิน 90 วินาที ตำแหน่งเหนือแท่นบนผนังอ่างจะมีรูปใดรูปหนึ่งที่แน่นอนเป็นจุดสังเกตให้หนูจดจำตำแหน่งของแท่น ซึ่งการที่หนูขาวเล็กจะหาแท่นได้เมื่อสามารถเกาะอยู่บนแท่นได้



อย่างน้อย 2 วินาที หลังจากหนูขวเล็กเกาะบนแท่นเป็นเวลา 10 วินาที จะถูกนำไปเช็ดให้แห้งและนำกลับเข้ากรง ในกรณีที่หนูขวเล็กไม่สามารถหาแท่นได้ภายในเวลา 90 วินาที หนูขวเล็กจะถูกนำไปวางบนแท่นเป็นเวลา 10 วินาที โดยในแต่ละรอบของการฝึกแต่ละวัน หนูขวเล็กจะถูกปล่อยลงในพื้นที่อ่างส่วนใดส่วนหนึ่งโดยการสุ่มและไม่ใช้พื้นที่เดียวกันใน 2 รอบที่ติดกัน การทดลองจะทำเพียง 1 ครั้งหลังจากที่หนูขวเล็กได้รับยาและ piperine ครบตามระยะเวลาที่กำหนด โดยหนูขวเล็กจะถูกปล่อยชนิดหนึ่งอ่างส่วนใดส่วนหนึ่ง หลังจากได้รับสารต่างๆแล้วเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นจะปล่อยให้หนูขวเล็กว่ายน้ำจนกว่าจะพบและเกาะแท่นได้ จากนั้นจะปล่อยให้หนูขวเล็กเกาะแท่น 10 วินาที จึงนำหนูขวเล็กออกจากอ่างโลหะ และจะทำการบันทึกผลเป็นระยะเวลาที่หนูขวเริ่มว่ายน้ำเพื่อหาแท่น (escape latency) ในวันถัดมาแท่นจะถูกนำออกไป หนูขวเล็กจะถูกปล่อยให้ว่ายน้ำเช่นเดิม การบันทึกผลจะดูระยะเวลาที่หนูขวเล็กว่ายอยู่รอบๆ บริเวณที่เคยมีแท่นอยู่ก่อนหน้า (retention time) หลังจากเสร็จสิ้นการทดลอง หนูขวเล็กจะถูกนำขึ้นจากน้ำ และเช็ดให้แห้ง จากนั้นจึงนำกลับไปเลี้ยงในกรงต่อไป

**การเตรียมสมองของสัตว์ทดลอง (ดัดแปลงวิธีการศึกษาจาก Wong et al, 1986)**

หลังจากเสร็จสิ้นการทดสอบด้วย Morris water maze test หนูขวเล็กถูกทำให้เสียชีวิตด้วยการดึงคอ (neck dislocation) จากนั้นสมองของหนูขวเล็กทั้ง 6 ตัวในแต่ละกลุ่ม จะถูกนำมา homogenization บนน้ำแข็งใน lysis buffer ที่เย็น ซึ่งได้แก่ 50 mM Tris-HCl pH 7.4 ที่มี protease inhibitor และ phosphatase inhibitor โดยใช้ WiseStir<sup>®</sup> homogenizing stirrer จากนั้น homogenate ที่ได้จะถูกนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 1,000 g เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 °C หลังจากนั้นเก็บส่วน supernatant ไว้ แล้วนำมาปั่นเหวี่ยงอีกครั้งหนึ่งด้วยความเร็ว 40,000 g เป็นเวลา 20 นาที ที่อุณหภูมิ 4°C ดูดส่วน supernatant ทิ้งแล้วเติมด้วย lysis buffer ลงไปใหม่ จากนั้นทำการ homogenize และปั่นเหวี่ยงเช่นเดิมอีก 2-3 รอบ เพื่อกำจัด endogenous ligands จากนั้นจะเติม lysis buffer ลงไปใน pellet แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้ง เพื่อใช้ในการศึกษาระดับของ nicotinic receptor โดยวิธี [<sup>3</sup>H]Epibatidine saturation binding assay ต่อไป

**การศึกษาระดับของ nicotinic receptors ในสมองสัตว์ทดลองด้วยวิธี [<sup>3</sup>H]Epibatidine saturation binding assay**

ตัวอย่างสมองสัตว์ทดลองปริมาตร 75  $\mu$ l ถูกนำไป incubate กับ 0.1 nM [<sup>3</sup>H]Epibatidine (55.8 Ci/mmol) ปริมาตร 25  $\mu$ l และ lysis buffer ปริมาตร 25  $\mu$ l pH 7.4 (สำหรับ total binding) หรือ 10  $\mu$ M nicotine ปริมาตร 25  $\mu$ l (สำหรับ non-specific binding) ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 90 นาที จากนั้นจะเติม 0.3% polyethyleneimine (PEI) เพื่อหยุดปฏิกิริยา แล้วนำไปกรองผ่าน Whatman GF/C filters โดยใช้ The FilterMate Universal Harvester (PerkinElmer, Inc. Massachusetts, USA) และล้างแผ่นกรองด้วย assay buffer ที่เย็นอย่างรวดเร็ว จากนั้นจึงนำไปวิเคราะห์หาค่าความหนาแน่นสูงสุด ( $B_{max}$ ) และค่าคงที่สมดุลของการแยก ( $K_d$ ) ของ NMDA receptor ในสมองหนูขวเล็กโดยใช้ liquid scintillation analyzer (TopCount NXT<sup>®</sup>, PerkinElmer, Inc. Massachusetts, USA)

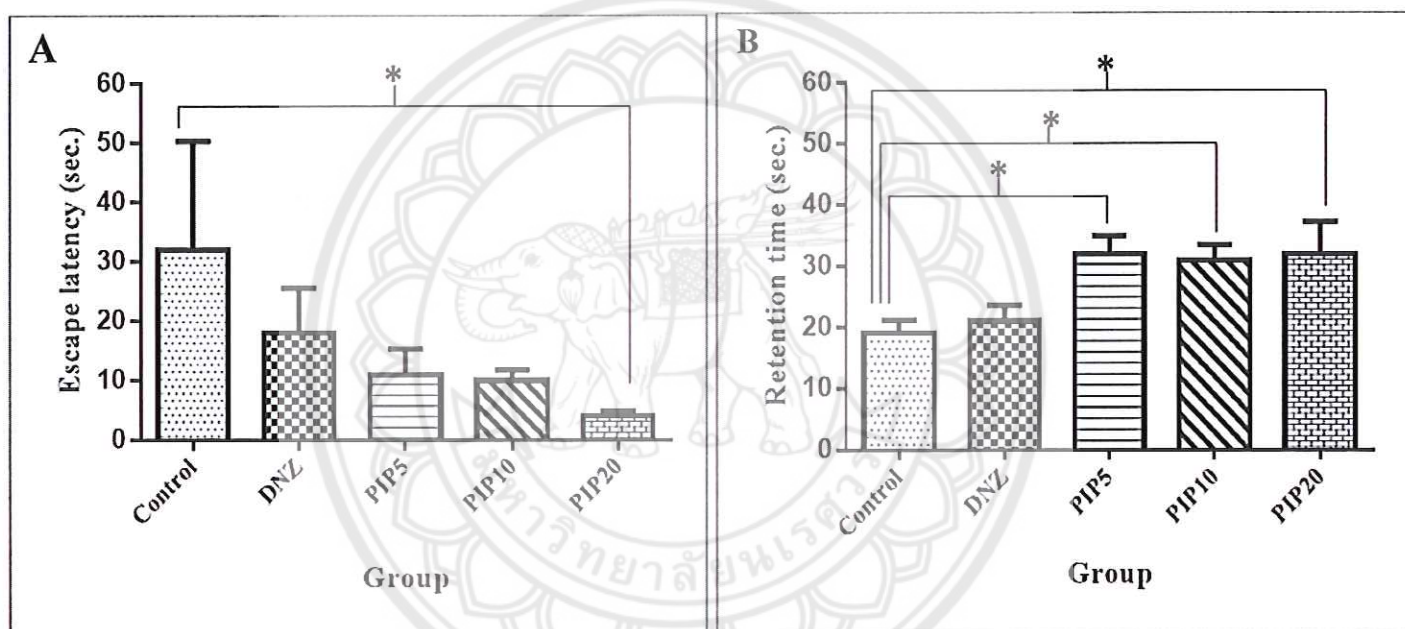
**การวิเคราะห์ผลการทดลอง**

ผลการทดลองจะแสดงเป็นค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าความคลาดเคลื่อนของค่าเฉลี่ยมาตรฐาน (standard error of mean; SEM) ผลการทดลองที่ได้ทั้งหมดจะถูกวิเคราะห์โดยใช้สถิติ ANOVA เพื่อหาความแตกต่างระหว่างกลุ่ม และหากค่า  $p < 0.05$  จะถือว่ามีความแตกต่างระหว่างกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

## ผลการศึกษา

ผลของ piperine ที่มีต่อความจำและการเรียนรู้ โดยใช้ Morris water maze test

Morris Water Maze (MWM test) เป็นเครื่องมือชนิดหนึ่งที่ยิยมใช้ในการศึกษากลไกของระบบประสาทต่อกระบวนการเรียนรู้และความจำ การศึกษานี้ดูผลของ piperine ที่มีต่อการเรียนรู้และความจำของหนูขาวเล็กโดยใช้ MWM หนูขาวเล็กได้รับ donepezil หรือ piperine ที่ความเข้มข้น 5, 10 และ 20 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ซึ่ง donepezil และ piperine ทุกความเข้มข้นที่ใช้ในการศึกษาสามารถลดระยะเวลาที่หนูขาวเริ่มว่ายน้ำเพื่อหาแท่น (escape latency) เมื่อเปรียบเทียบกับหนูขาวเล็กกลุ่มควบคุมและลดลงอย่างมีนัยสำคัญในหนูขาวเล็กที่ได้รับ piperine 20 มิลลิกรัม/กิโลกรัม นอกจากนี้ยังพบว่าหนูขาวเล็กที่ได้รับ piperine ทุกความเข้มข้นใช้ระยะเวลาที่ว่ายอยู่รอบๆบริเวณที่เคยมีแท่นอยู่ก่อนหน้า (retention time) เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับหนูขาวเล็กกลุ่มควบคุม



รูปที่ 1 ผลของ piperine ที่มีต่อความจำและการเรียนรู้ โดยใช้ Morris water maze test (N=6) (a) ผลของ piperine ที่มีต่อ escape latency หรือระยะเวลาที่หนูขาวเล็กใช้ในการว่ายน้ำไปยังแท่น platform (b) ผลของ piperine ที่มีต่อ retention time หรือระยะเวลาที่หนูขาวเล็กว่ายอยู่รอบๆบริเวณที่เคยมีแท่นอยู่ก่อนหน้า. Control คือหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับ normal saline, DNZ คือหนูกลุ่มที่ได้รับยารักษาโรคอัลไซเมอร์ donepezil, PIP5 คือหนูกลุ่มทดลองกลุ่มที่ 1 ที่ได้รับ piperine ขนาด 5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม, PIP10 คือหนูกลุ่มทดลองกลุ่มที่ 2 ที่ได้รับ piperine ขนาด 10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และ PIP20 คือหนูกลุ่มทดลองกลุ่มที่ 3 ที่ได้รับ piperine ขนาด 20 มิลลิกรัม/กิโลกรัม, \* $p < 0.05$  เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม



ผลของ piperine ที่มีต่อระดับของ nicotinic receptors ในสมองสัตว์ทดลองด้วยวิธี [<sup>3</sup>H]Epibatidine saturation binding assay

การศึกษาผลการเปลี่ยนแปลงค่าความหนาแน่นสูงสุด ( $B_{max}$ ) และค่าคงที่สมดุลของการแยก ( $K_d$ ) ของ nicotinic receptor ในเนื้อเยื่อของสมองหนูขาวเล็กโดยใช้ [<sup>3</sup>H]Epibatidine ซึ่งให้เห็นอย่างชัดเจนว่า หนูขาวเล็กกลุ่มที่ได้รับ donepezil มีความหนาแน่นของ nicotinic receptor binding site ที่จับกับ [<sup>3</sup>H]Epibatidine ( $B_{max}$ ) เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนหนูขาวเล็กกลุ่มที่ได้รับ piperine ทุกความเข้มข้นมีการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่า  $B_{max}$  เช่นเดียวกัน อย่างไรก็ตาม ค่า  $K_d$  ของหนูขาวเล็กกลุ่มที่ได้รับ donepezil และ piperine ไม่มีความแตกต่างกับหนูขาวเล็กกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 [<sup>3</sup>H]Epibatidine binding ในสมองของหนูขาวเล็ก (N = 6)

กลุ่มหนูขาวเล็ก	[ <sup>3</sup> H]Epibatidine binding (fmol/mg of protein)			
	$K_d$ (nM)	SEM	$B_{max}$	SEM
Control	0.99	0.33	15.97	3.04
DNZ	3.03	1.69	42.39*	17.99
PIP5	2.02	1.43	28.09*	13.73
PIP10	0.76	0.19	19.55*	2.60
PIP20	0.67	0.15	18.20*	2.13

**หมายเหตุ** Control คือหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับ normal saline, DNZ คือหนูกลุ่มที่ได้รับยารักษาโรคอัลไซเมอร์ donepezil, PIP5 คือหนูกลุ่มทดลองกลุ่มที่ 1 ที่ได้รับ piperine ขนาด 5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม, PIP10 คือหนูกลุ่มทดลองกลุ่มที่ 2 ที่ได้รับ piperine ขนาด 10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และ PIP20 คือหนูกลุ่มทดลองกลุ่มที่ 3 ที่ได้รับ piperine ขนาด 20 มิลลิกรัม/กิโลกรัม, SEM = standard error of mean, \* $p < 0.05$  เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

## อภิปรายและสรุปผลการศึกษา

การศึกษานี้เป็นการศึกษาที่แสดงให้เห็นถึงผลของ piperine ที่มีต่อความจำและการเรียนรู้ในหนูขาวเล็กและกลไกที่อาจเกี่ยวข้องกับผลดังกล่าว จากผลการศึกษาความจำและการเรียนรู้โดยใช้ Morris water maze test พบว่า donepezil มีผลทำให้ระยะเวลาที่หนูขาวเล็กใช้ในการว่ายน้ำไปยังแท่น (platform) หรือ escape latency ลดลง นั่นคือ donepezil มีผลทำให้ความจำและการเรียนรู้ในหนูขาวเล็กเพิ่มขึ้น ซึ่งการเพิ่มการเรียนรู้และความจำของ donepezil มีรายงานทั้งในสัตว์ทดลอง (Easton et al., 2013; Callahan et al., 2013) และในผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์ (Howard et al., 2012; Sabbagh et al., 2013) นอกจากนี้ผลในการเพิ่มการเรียนรู้และความจำในการศึกษานี้ยังพบได้จากการที่หนูขาวเล็กได้รับ piperine ทั้ง 3 ขนาด โดย piperine มีผลทำให้ระยะเวลาที่หนูขาวเล็กใช้ในการว่ายน้ำไปยังแท่นลดลง และระยะเวลาระยะเวลาที่หนูขาวเล็กว่ายอยู่รอบๆบริเวณที่เคยมีแท่นอยู่ก่อนหน้าหรือ retention time เพิ่มขึ้น ซึ่งผลดังกล่าวมีความสอดคล้องกับผลการศึกษาก่อนหน้านี้ที่แสดงความสามารถของ donepezil และ piperine ในการเพิ่มการเรียนรู้และความจำในสัตว์ทดลองโดยใช้วิธีการศึกษา MWM test เช่นเดียวกัน (Chonpathompikunlert et al., 2010) ดังนั้นจึงเป็นการยืนยันได้ว่า piperine มีฤทธิ์ในการเพิ่มการเรียนรู้และความจำได้ในสัตว์ทดลอง

กลไกหนึ่งที่สำคัญในการทำให้เกิดความจำและการเรียนรู้คือการกระตุ้นการทำงานของ nicotinic receptors ของเซลล์ประสาทในสมองส่วนที่เกี่ยวข้องกับความจำและการเรียนรู้ ได้แก่ hippocampus และ frontal cortex (Dani and Bertrand, 2007) แม้ว่า donepezil ซึ่งเป็นหนึ่งในยารักษาโรคอัลไซเมอร์ในปัจจุบันจะมีการออกฤทธิ์หลักโดยการยับยั้ง cholinesterase enzyme ทำให้ acetylcholine ในสมองเพิ่มขึ้น แต่มีการศึกษารายงานว่า donepezil ยังมีฤทธิ์กระตุ้นการทำงานของ nicotinic receptor ซึ่งอาจสัมพันธ์กับการเพิ่มการเรียนรู้และความจำ (Gawel et al., 2014; Noh et al., 2013) จากผลการศึกษาที่พบว่า donepezil ทำให้ค่าความหนาแน่นสูงสุด ( $B_{max}$ ) ของ nicotinic receptor ในสมองของหนูขาวเล็กเพิ่มขึ้นนั้นแสดงให้เห็นว่า donepezil มีผลเพิ่มระดับของ nicotinic receptor ซึ่งการเพิ่มขึ้นของ NMDA receptor นี้ อาจส่งผลต่อการเรียนรู้และความจำของหนูขาวเล็กในการทดสอบโดย MWM test

ในกรณีของ piperine มีผลทำให้มีการเพิ่มค่า  $B_{max}$  ของ nicotinic receptor ได้เช่นเดียวกับ donepezil ซึ่งสัมพันธ์กับการเพิ่มการเรียนรู้และความจำในการทดสอบ MWM test ในการศึกษาที่ผ่านมาพบว่ากลไกที่อาจจะเป็นไปได้ในการเพิ่มการเรียนรู้และความจำในสัตว์ทดลองคือการลดการเกิดอนุมูลอิสระ (Banji et al., 2013; Chonpathompikunlert et al., 2010) และการลดการทำงานของ acetylcholinesterase enzyme (Chonpathompikunlert et al., 2010) โดยจากผลของการเพิ่มระดับ nicotinic receptor ของ piperine ในการศึกษาจึงสามารถแสดงกลไกที่อาจเป็นไปได้อีกหนึ่งกลไกในการเพิ่มการเรียนรู้และความจำในสัตว์ทดลอง แม้ว่า การเพิ่มระดับของ nicotinic receptor ที่ได้จากการที่สัตว์ทดลองได้รับ piperine มีค่าน้อยกว่าการได้รับ donepezil ก็ตาม



## เอกสารอ้างอิง

- Banji D, Banji OJ, Dasaroju S, Kranthi KC. Curcumin and piperine abrogate lipid and protein oxidation induced by D-galactose in rat brain. *Brain Res* 2013 Jun 17;1515:1-11.
- Barnes CA, Meltzer J, Houston F, Orr G, McGann K, Wenk GL. Chronic treatment of old rats with donepezil or galantamine: effects on memory, hippocampal plasticity and nicotinic receptors. *Neuroscience* 2000;99(1):17-23.
- Buhot MC, Wolff M, Savova M, Malleret G, Hen R, Segu L. Protective effect of 5-HT<sub>1B</sub> receptor gene deletion on the age-related decline in spatial learning abilities in mice. *Behav Brain Res* 2003 Jun 16;142(1-2):135-42.
- Boccia MM, Blake MG, Krawczyk MC, Baratti CM. Hippocampal  $\alpha 7$  nicotinic receptors modulate memory reconsolidation of an inhibitory avoidance task in mice. *Neuroscience*. 2010 Dec 1;171(2):531-43.
- Chan WK, Wong PT, Sheu FS. Frontal cortical alpha7 and alpha4beta2 nicotinic acetylcholine receptors in working and reference memory. *Neuropharmacology* 2007 Jun;52(8):1641-9.
- Callahan PM, Hutchings EJ, Kille NJ, Chapman JM, Terry AV Jr. Positive allosteric modulator of  $\alpha 7$  nicotinic-acetylcholine receptors, PNU-120596 augments the effects of donepezil on learning and memory in aged rodents and non-human primates. *Neuropharmacology* 2013 Apr;67:201-12.
- Chonpathompikunlert P, Wattanathorn J, Muchimapura S. Piperine, the main alkaloid of Thai black pepper, protects against neurodegeneration and cognitive impairment in animal model of cognitive deficit like condition of Alzheimer's disease. *Food Chem Toxicol* 2010 Mar;48(3):798-802.
- Cotter VT. The burden of dementia. *Am J Manag Care* 2007 Dec;13 Suppl 8:S193-7.
- Cummings JL. Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 2004;351:56-67.
- Dani JA, Bertrand D. Nicotinic acetylcholine receptors and nicotinic cholinergic mechanisms of the central nervous system. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2007;47:699-729.
- Easton A, Sankaranarayanan S, Tanghe A, Terwel D, Lin AX, Hoque N, et al. Effects of sub-chronic donepezil on brain Abeta and cognition in a mouse model of Alzheimer's disease. *Psychopharmacology* 2013 Nov;230(2):279-89.
- Farlow MR, Cummings JL. Effective pharmacologic management of Alzheimer's disease. *Am J Med* 2007;120:388-97.
- Faulkner JD, Bartlett J, Hicks P. Alzheimer's disease. In: DiPiro JT, Talbert RL, Yee GC, Matzke GR, Wells BG, Posey LM, editors. *Pharmacotherapy: a pathophysiologic approach*. 6th ed. New York: The McGraw-Hill Companies; 2005. p. 1157-73.

- Ferri CP, Prince M, Brayne C, Brodaty H, Fratiglioni L, Ganguli M, et al. Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study. *Lancet*. 2005 Dec;366(9503):2112-7.
- Gawel K, Labuz K, Jenda M, Silberring J, Kotlinska JH. Influence of cholinesterase inhibitors, donepezil and rivastigmine on the acquisition, expression, and reinstatement of morphine-induced conditioned place preference in rats. *Behav Brain Res* 2014 Jul 15;268:169-76.
- Hellström-Lindahl E, Mousavi M, Zhang X, Ravid R, Nordberg A. Regional distribution of nicotinic receptor subunit mRNAs in human brain: comparison between Alzheimer and normal brain. *Brain Res Mol Brain Res* 1999 Mar 20;66(1-2):94-103.
- Hernandez CM, Gearhart DA, Parikh V, Hohnadel EJ, Davis LW, Middlemore ML, et al. Comparison of galantamine and donepezil for effects on nerve growth factor, cholinergic markers, and memory performance in aged rats. *J Pharmacol Exp Ther* 2006 Feb;316(2):679-94.
- Howard R, McShane R, Lindesay J, Ritchie C, Baldwin A, Barber R, et al. Donepezil and memantine for moderate-to-severe Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 2012 Mar 8;366(10):893-903.
- Johnson JW, Kotermanski SE. Mechanism of action of memantine. *Curr Opin Pharmacol* 2006;6:61-7.
- Jönsson L, Wimo A. The cost of dementia in Europe: a review of the evidence, and methodological considerations. *Pharmacoeconomics* 2009;27(5):391-403.
- Kamat PK, Tota S, Saxena G, Shukla R, Nath C. Okadaic acid (ICV) induced memory impairment in rats: a suitable experimental model to test anti-dementia activity. *Brain Res* 2010 14;1309:66-74.
- Leo A, Greenberg SM, Growdon JH. Current pharmacotherapy for Alzheimer's disease. *Annu Rev Med* 2006;57:513-33.
- Mangialasche F, Solomon A, Winblad B, Mecocci P, Kivipelto M. Alzheimer's disease: clinical trials and drug development. *Lancet Neurol* 2010 Jul;9(7):702-16.
- Naseri MK, Yahyavi H. Antispasmodic effect of Piper nigrum fruit hot water extract on rat ileum. *Pak J Biol Sci* 2008 Jun 1;11(11):1492-6.
- Noh MY, Koh SH, Kim SM, Maurice T, Ku SK, Kim SH. Neuroprotective effects of donepezil against A $\beta$ 42-induced neuronal toxicity are mediated through not only enhancing PP2A activity but also regulating GSK-3 $\beta$  and nAChRs activity. *J Neurochem* 2013 Nov;127(4):562-74.
- Ogawa M, Iida Y, Nakagawa M, Kuge Y, Kawashima H, Tominaga A, et al. Change of central cholinergic receptors following lesions of nucleus basalis magnocellularis in rats: search for an imaging index suitable for the early detection of Alzheimer's disease. *Nucl Med Biol* 2006 Feb;33(2):249-54.



- Perry EK, Court JA, Johnson M, Piggott MA, Perry RH. Autoradiographic distribution of [<sup>3</sup>H]nicotine binding in human cortex: relative abundance in subicular complex. *J Chem Neuroanat* 1992 Sep-Oct;5(5):399-405.
- Piyachaturawat P, Glinsukon T, Toskulkao C. Acute and subacute toxicity of piperine in mice, rats and hamsters. *Toxicol Lett* 1983 May;16(3-4):351-9.
- Querfurth HW, LaFerla FM. Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 2010 Jan;362(4):329-44.
- Sabbagh M, Cummings J, Christensen D, Doody R, Farlow M, Liu L, et al. Evaluating the cognitive effects of donepezil 23 mg/d in moderate and severe Alzheimer's disease: analysis of effects of baseline features on treatment response. *BMC Geriatr* 2013 Jun 6;13:56.
- Saraf MK, Anand A, Prabhakar S. Scopolamine induced amnesia is reversed by *Bacopa monniera* through participation of kinase-CREB pathway. *Neurochem Res* 2010;35(2):279-87.
- Sihver W, Gillberg PG, Nordberg A. Laminar distribution of nicotinic receptor subtypes in human cerebral cortex as determined by [<sup>3</sup>H](-)nicotine, [<sup>3</sup>H]cytisine and [<sup>3</sup>H]epibatidine in vitro autoradiography. *Neuroscience* 1998 Aug;85(4):1121-33.
- Svedberg MM, Bednar I, Nordberg A. Effect of subchronic galantamine treatment on neuronal nicotinic and muscarinic receptor subtypes in transgenic mice overexpressing human acetylcholinesterase. *Neuropharmacology* 2004;47(4):558-71.
- Waldemar G, Dubois B, Emre M, Georges J, McKeith IG, Rossor M, et al. Recommendations for the diagnosis and management of Alzheimer's disease and other disorders associated with dementia: EFNS guideline. *Eur J Neurol* 2007;14(1):e1-26.
- Wattanathorn J, Chonpathompikunlert P, Muchimapura S, Priprem A, Tankamnerdthai O. Piperine, the potential functional food for mood and cognitive disorders. *Food Chem Toxicol* 2008 Sep;46(9):3106-10.
- Wevers A, Burghaus L, Moser N, Witter B, Steinlein OK, Schütz U, et al. Expression of nicotinic acetylcholine receptors in Alzheimer's disease: postmortem investigations and experimental approaches. *Behav Brain Res* 2000 Aug;113(1-2):207-15.
- Wong EH, Kemp JA, Priestley T, Knight AR, Woodruff GN, Iversen LL. The anticonvulsant MK-801 is a potent N-methyl-D-aspartate antagonist. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986 Sep;83(18):7104-8.
- World Health Organization. Alzheimer's disease: The brain killer: when old age becomes a disease. World Health Organization, 2001.
- Yan H, Li L, Tang XC. Treating senile dementia with traditional Chinese medicine. *Clin Interv Aging* 2007;2(2):201-8.