Thai Journal of Pharmacology

www.phartherst.org

วารสารเภสัชวิทยา

Official Publication of
Pharmacological and Therapeutic Society of Thailand

Contents

RESEARCH ARTICLES

Effects of Crude Leaf Extract of *Nelumbo nucifera* Gaertn .on Blood Pressure in Normotensive and Hypertensive Rats

Bioequivalence Study of 1-G Ceftazidime Intramuscular Injections

Bioequivalence Study of Doxazosin Tablets in Healthy Thai Male Volunteers

Alpha-Lipoic Acid-Induced Apoptosis and Synergistic Effect of Aflatoxin B1 on the Generation of Reactive Oxygen Species in Hepatoma cell Line HepG2

REVIEW

Cinnamon and Diabetes Mellitus

DRUG EVALUATION

Alprazolam XR

Agomelatine : a New MASSA Antidepressant, Could it be the Ideal Antidepressant?

2007, Vol. 29, No.2 ISSN 0125-3832

Thai Journal of Pharmacology

is owed and published every four months by the Pharmacological and Therapeutic Society of Thailand.

Board of Editors

Editor Supatra Srichairat

Associate Editors Pravit Akarasereenont Laddawal Phivthong-ngam
Somjai Nakornchai

Editorial Board

Adisak Wongkajornsilp
Amnuay Thithapandha
Borpit Klangkalya
Bunkerd Kongyingyoes
Chaichan Sangdee
Chandhanee Itthipanichpong
Chongkol Thiengda
Karnjana Ketsa-ard
Krongtong Yoovathaworn
Nongluk Sookvanichsilp
Nisamanee Satyapan
Pornpen Pramyothin
Prasan Dhumma-Upakorn
Somsong Lawanprasert
Sopit Thamaree
Sumana Chompootaweep
Supeecha Wittayalertpanya
Srichan Phornchirasilp
Wittaya Janthasoot
Yupin Sanvarinda

Manager Supeecha Wittayalertpanya

Office Department of Pharmacology
Faculty of Medicine, Chulalongkorn University,
Chulalongkorn Hospital, Rama 4 Road, Bangkok 10330,
Thailand. Tel/Fax 2511965

Notice The opinions expressed here in are those of the authors and do not necessarily reflect the views of the editors or the publisher.

Printed at Ruen Kaew Press, 947 Arun-Amarin Road,Bangkok 10700.Tel: 02-4126552

วารสารเภสัชวิทยา *(Thai Journal of Pharmacology)* นี้เป็นลิขสิทธิ์ของสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย ไม่อนุญาตให้นำส่วนใดส่วนหนึ่งของเอกสารฉบับนี้ไปถ่ายเอกสาร ผลิตหรือพิมพ์ซ้ำ หรือนำไปใช้เพื่อประโยชน์ทางการค้าโดยปราศจากการยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรจากบรรณาธิการ

Thai Journal of Pharmacology

Vol. 29, No.2, 2007

Contents

2 **EDITORIAL**

RESEARCH ARTICLES

3 **Effects of Crude Leaf Extract of *Nelumbo nucifera* Gaertn .on Blood Pressure in Normotensive and Hypertensive Rats**
Petcharat Trongtorsak, Nuttinee Teerakulkittipong, Jarunee Panyajirawut, Nawachai Athipchartsiri

11 **Bioequivalence Study of 1-G Ceftazidime Intramuscular Injections**
Wichien Thanindrathar, Uthai Suvanakoot, Pornlekha Banharnsupawart

19 **Bioequivalence Study of Doxazosin Tablets in Healthy Thai Male Volunteers**
Sayam Kaewvichit , Satawat Thongsawat, Wandee Taesotikul, Chokchai Wongsinsup, Songwut Yotsawimonwat, Chadarat Duangrat, Kanokporn Niwatananun, Wirat Niwatananun

25 **Alpha-Lipoic Acid-Induced Apoptosis and Synergistic Effect of Aflatoxin B1 on the Generation of Reactive Oxygen Species in Hepatoma cell Line HepG2**
Natthakorn Rangsoi, Wongwiwat Tassaneeyakul, Samlee Mankhetkorn, Suchart Kothan, Chatchanok Loetchutinat, Pramote Mahakunakorn, Supatra Porasuphatana

REVIEW

36 **Cinnamon and Diabetes Mellitus**
Sirichai Adisakwattana

DRUG EVALUATION

45 **Alprazolam XR**
Chaichan Sangdee

57 **Agomelatine : a New MASSA Antidepressant, Could it be the Ideal Antidepressant?**
Jintana Sattayasai

บทบรรณาธิการ

เรียน ชาวเภสัชวิทยาและท่านผู้อ่าน

วารสารของสมาคมเภสัชวิทยาฉบับนี้เป็นฉบับที่สองของปี 2550 ช่วงเวลาที่ท่านได้รับวารสารฉบับนี้ก็คงใกล้ปีใหม่เข้ามาแล้ว อากาศที่เย็นสบายของฤดูหนาว (แบบไทยๆ) และความงดงามของแสงสีที่ประดับประดาไปทั่วเมือง น่าจะทำให้หลายท่านชื่นชอบและมีความสุขเล็กๆน้อยๆของบรรยากาศการเฉลิมฉลองของเทศกาลต่างๆในเดือนสุดท้ายของปีหมู เริ่มต้นปีใหม่ที่เต็มไปด้วยความหวังว่าจะได้รัฐบาลใหม่ที่นำพาประเทศให้เจริญก้าวหน้า และทำให้ประชาชนอยู่ดีมีสุขกันถ้วนหน้าเสียที ในช่วงเวลานี้ คงไม่มีอะไรดีไปกว่าคำอวยพรปีใหม่ ดังนั้น ในวาระดิถีขึ้นปีใหม่ 2551 นี้ ดิฉันขออำนาจคุณพระศรีรัตนตรัยและสิ่งศักดิ์สิทธิทั้งหลายในสากลโลก ช่วยดลบันดาลให้ท่านผู้อ่านทุกท่านประสพแต่ความสุขความเจริญ มีสุขภาพแข็งแรงทั้งกายและใจ

ในฉบับนี้ ดิฉันขอถือโอกาสประชาสัมพันธ์งานประชุมวิชาการประจำปี 2551 ของสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย ปีนี้จะจัดขึ้นในวันที่ 27-28 มีนาคม 2551 ที่ห้องประชุมสี สิริสิงห ชั้น2 อาคารสมเด็จย่า คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาฯ เดินทางสะดวกแถมยังใกล้แหล่งจับจ่ายที่มีชื่อ การประชุมวิชาการครั้งนี้จะเป็นการร่วมมือกันของภาควิชาเภสัชวิทยา ของ 4 คณะที่มีการเรียนการสอนวิชาเภสัชวิทยาภายในจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยมี รศ.พญ.สุมนา ชมพูทวีป เป็นประธานจัดงาน พวกเราตั้งใจให้การประชุมวิชาการครั้งที่ 30 นี้มีความพิเศษกว่าทุกครั้งที่ผ่านมา ไม่ว่าจะจัดให้ หัวข้อ Biosimilar ซึ่งมีเนื้อหาเกี่ยวกับการประเมินประสิทธิผลของยาในกลุ่ม biological products ที่น่าสนใจแล้ว ยังมีหัวข้อที่มีการเปิดประเด็นพิจารณา นำเอาเหตุผลทางวิชาการทางเภสัชวิทยาเข้ามามีส่วนช่วยตัดสินนโยบายการใช้ยาในระดับประเทศอย่างสมเหตุสมผล นอกจากนี้แล้วยังมีหัวข้ออื่นๆอีกที่น่าสนใจ ชวนติดตาม ท่านสามารถดูรายละเอียดได้จากแผ่นพับประชาสัมพันธ์ที่ส่งมาพร้อมวารสารฉบับนี้ ดิฉันขอเชิญชวนให้ชาวเภสัชวิทยาและนักศึกษาส่งผลงานวิจัย ไม่ว่าจะเป็นผลงานจากวิทยานิพนธ์หรืองานวิจัยในหน่วยงานของท่านมาแสดงในรูปแบบโปสเตอร์ ภายในวารสารฉบับนี้ (หน้า 66) จะลงรายละเอียดของกำหนดการประชุมไว้ด้วย ดิฉันและคณะกรรมการจัดการประชุมหวังว่าคงได้รับความร่วมมือจากท่านสมาชิกที่จะสมัครเข้ามากันมากๆจนเต็มห้องประชุม และดิฉันหวังว่าจะได้พบทุกท่านในวันประชุม สวัสดีปีใหม่ 2551 ค่ะ

รศ. ดร. สุพัดรา ศรีไชยรัตน์

บรรณาธิการ

RESEARCH ARTICLES

Effects of Crude Leaf Extract of *Nelumbo nucifera* Gaertn .on Blood Pressure in Normotensive and Hypertensive Rats

Petcharat Trongtorsak, Nuttinee teerakulkittipong, Jarunee Panyajirawut, Nawachai Athipchartsiri

Department of Medical Science, Faculty of Science, Burapha University, Chonburi 20131

Abstract

The leaves of *Nelumbo nucifera Gaertn.* (*N. nucifera*) have been used in traditional medicine for antihypertensive purpose. Scientific evidence regarding its hypotensive activity has not yet been documented. The present study was undertaken to evaluate chronic and acute effects of the crude leaf extract of *N. nucifera* (ENN) on blood pressure in rats. Hypertension was produced by constriction of left renal artery in male Sprague-Dawley rats. Systolic blood pressure (SBP) was measured weekly by a tail-cuff plethysmography. After being established in hypertensive state, rats were divided into 4 groups: non-treated, and treated with ENN 100, 400, and 800 mg/kg/d. In the treated groups, rats were fed with ENN daily for 3 weeks. It was found that the SBP of control and ENN 100 mg/kg/d treated group slightly increased by 2-6 % from initial values during the period of observation. In comparison, in the last two weeks of treatments, ENN 400 and 800 mg/kg/d significantly lowered SBP by 8-9% and 5-11% from initial values respectively ($P<0.05$ vs control). The heart rate (HR) was not significantly different between groups over the test period. The hypotensive activity of ENN was confirmed in normotensive rats by acute intravenous administration at doses of 0.1 and 1 mg/kg. Arterial blood pressure and HR were monitored from carotid artery. It was found that ENN caused a rapid and significant decrease in systolic and diastolic blood pressure (DBP) in a dose-dependent manner ($P<0.05$ vs initial BP). The hypotensive effects of ENN 1 mg/kg were completely blocked by a β-adrenergic blocker, atenolol (5 mg/kg), but not by a ganglion blocking agent, hexamethonium (3.5 mg/kg). The HR showed significant increase after ENN administration ($P<0.05$ vs initial HR). Atenolol produced a complete blockade on the chronotropic effect of ENN (1 mg/kg), whereas hexamethonium exhibited no inhibition. In conclusion, the present study showed that ENN elicited antihypertensive effect in hypertensive rats. It also exerted acute hypotensive and positive chronotropic effects which may be mediated through vascular and cardiac β-adrenergic receptors.

Key words : *Nelumbo nucifera* Gaertn., blood pressure, hypotensive activity, antihypertensive effect, chronotropic effect, hypertensive rats.

Address correspondence and reprints: Petcharat Trongtorsak, Ph.D., Department of Medical Science, Faculty of Science, Burapha University, Chonburi 20131, Thailand., Tel 038-745900 ext 3166, Fax 038-393497, Email petchara@buu.ac.th.

ผลของสารสกัดหยาบใบบัวหลวงต่อความดันโลหิตในหนูขาวที่มีความดันโลหิตปกติและความดันโลหิตสูง

เพชรรัตน์ ตรงต่อศักดิ์, ณัฏฐิณี ธีรกุลกิตติพงศ์, จารุณี ปัญญาจิรวุฒิ, นวชัย อธิปชาติศิริ

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การแพทย์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ชลบุรี 20131

บทคัดย่อ

ตามภูมิปัญญาชาวบ้านได้ใช้ใบบัวหลวงเพื่อลดความดันโลหิต แต่ยังไม่มีหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ยืนยันฤทธิ์ลดความดันโลหิตของใบบัวหลวง คณะผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาผลระยะยาวและผลแบบเฉียบพลันของสารสกัดใบบัวหลวงต่อความดันโลหิตในหนูขาว ในการศึกษาได้เหนี่ยวนำให้หนูขาวมีภาวะความดันโลหิตสูงด้วยวิธีการตีบหลอดเลือดแดงของไต ทำการวัดความดันโลหิตทางหางหนูทุกสัปดาห์จนกระทั่งหนูขาวมีภาวะความดันโลหิตสูง แบ่งหนูขาวออกเป็น 4 กลุ่ม ดังนี้ กลุ่มควบคุมซึ่งจะไม่ได้รับยาใดๆ และกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบบัวหลวงในขนาด 100, 400 และ 800 มก./กก./วัน โดยให้สารสกัดทุกวันเป็นเวลา 3 สัปดาห์ ผลการศึกษาพบว่า หนูขาวกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้สารสกัด 100 มก./กก./วัน มีความดันโลหิตเพิ่ม 2-6% ในระยะเวลาที่ศึกษา ส่วนหนูขาวกลุ่มที่ได้รับสารสกัด 400 และ 800 มก./กก./วัน นั้นในสัปดาห์ที่ 2-3 หลังให้สารสกัดมีความดันโลหิตลดลง 8-9% และ 5-11% ตามลำดับ ซึ่งต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) อัตราการเต้นของหัวใจของหนูขาวทุกกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ได้ทำการทดสอบฤทธิ์ลดความดันโลหิตแบบเฉียบพลันของสารสกัดใบบัวหลวง (ขนาด 0.1 และ 1 มก./กก./วัน) ในหนูขาวความดันโลหิตปกติโดยการฉีดเข้าหลอดเลือดดำในสภาวะหนูสลบ และวัดความดันโลหิตทางหลอดเลือดแดงคาโรติด ผลการทดลองพบว่าสารสกัดใบบัวหลวงสามารถลดความดัน systolic และ diastolic ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) นอกจากนี้สารสกัดใบบัวหลวงยังมีผลเพิ่มอัตราการเต้นของหัวใจ ผลต่อความดันโลหิตและต่อหัวใจแบบเฉียบพลันของสารสกัดใบบัวหลวงนี้สามารถถูกยับยั้งด้วย atenolol (β-adrenergic blocker) ขนาด 5 มก./กก. แต่ไม่ถูกยับยั้งด้วย hexamethonium (ganglion blocking agent) ขนาด 3.5 มก./กก. ผลการศึกษาได้เสนอแนะว่าสารสกัดใบบัวหลวงน่าจะออกฤทธิ์ลดความดันโลหิตและเร่งอัตราการเต้นของหัวใจโดยผ่านทาง β-adrenergic receptors ที่หลอดเลือดและที่หัวใจตามลำดับ

คำสำคัญ : บัวหลวง, ความดันโลหิต, ฤทธิ์ลดความดันโลหิต, ฤทธิ์ต้านความดันโลหิตสูง, ผลต่ออัตราการเต้นของหัวใจ, หนูขาวความดันโลหิตสูง

Introduction

Nelumbo nucifera Gaertn. (Nymphaeceae), known locally as "Bou Laung", is an aquatic herb distributed throughout Asia. Various parts of *N. nucifera* have been employed for medicinal proposes in traditional medicine[1]. Also numerous studies have been addressed its pharmacological actions. The rhizome extract exhibited diuretic[2], anti-inflammatory[3], and hypoglycemic activities[4]. The stalk extract showed antipyretic action in a model of yeast-induced fever in rats. The seed extract elicited hepatoprotective effect and antioxidant activity[5]. Moreover, the extract of embryo, consisting of methylcoclaurine alkaloid[6] , was shown to decrease blood pressure in rat and produce vasorelaxant effect in isolated aortic ring[7] . Previous study identified the alkaloid and flavonoid contents in *N. nucifera* leaves, and two benzylisoquinoline alkaloids, coclaurine and norcoclaurine, were isolated[8]. There is also evidence that coclaurine derivatives exhibited a vasorelaxant property[9]. These raise a possibility that *N. nucifera* leaves may possess hypotensive effect.

In Thai folk medicine, the decoction of *N. nucifera* leaves has been used for a treatment of hypertension[1]. However, pharmacological evidence supporting its blood pressure lowering property has not yet been provided. Therefore, the present study was carried out to investigate the antihypertensive effect of *N. nucifera* leaf extract in renovascular hypertensive rats and its hypotensive effect in normotensive rats.

Material and Methods

1. Preparation of Plant Extract

N. nucifera leaves were collected during December 2003 – January 2004 from Chonburi province in east Thailand and identified by Associate Professor Nantana Tanwatanakul, Burapha University. A voucher specimen has been kept for future reference at the Department of Medical Science, Faculty of Science, Burapha University. The leaves were cut into small pieces, and then dried at constant temperature 60°C for 3 hours. The dried leaves of *N. nucifera* (50 g) were boiled in 5% ethanol for 10 min, and the decoction was filtered. Then the filtrate was concentrated by rotary evaporator. Finally, the concentrate was freeze-dried to yield a dark brown extract of approximate 19% w/w. The extract of *N. nucifera* leaves (ENN) was kept in a vacuum desiccator until use.

2. Animals

Experiments were conducted following the recommendations of the Thai Code of Practice for the Care and Use of Animals for Scientific Purposes, and with the approval of the Animal Experimentation Ethics Committee of Burapha University. Male Spraque Dawley rats were obtained from the National Laboratory Animal Center, Mahidol University. Rats were housed two per cage in the animal facility of Burapha University. Rats were fed with a standard rat chow ad libitum and maintained at 25°C under a 12-hour light/dark cycle.

3. Evaluation of Antihypertensive Effect

3.1 Conscious blood pressure measurement

Systolic blood pressure (SBP) was measured in conscious rats by a tail-cuff method as previously described[10]. Briefly, rats were warmed with 60 watt lamp for 3-5 min, and then rats were gently wrapped with a towel. An automatically inflated-deflated cuff pressure with a plethysmograph (IITC Life Sciences; Woodland, CA) was place around the proximal portion of the tail for detection of arterial pulsation. The tail-cuff was connected to an interface for computer data acquisition (model MP100, BIOPAC Inc., Santa Barbara, CA). SBP was identified at the first appearance of arterial pulse during the deflation of the tail-cuff. Three to four values of SBP were averaged to obtain a pressure value for each animal every daily recording session. The overall mean for 2-3 consecutive day pressure recording was determined for each rat.

3.2 Induction of hypertension and treatments

Male rats (7-8 weeks) were used for renal artery constriction to produce hypertensive state according to methods described previously with some modification[11]. SBP were measured 2-3 days before operation by the tail-cuff method. Rat was anesthetized with pentobarbital sodium (Ceva Sante Animate) 45 mg/kg intraperitoneally. The middle laparotomy was performed and left renal artery was exposed. The renal artery was tied firmly over a stainless wire (0.3 mm external diameter) placed against the free wall. The wire was then removed, leaving a constriction equal to the outer diameter of the wire. The rat gradually developed hypertension at week 3 after surgery, and the steady hypertensive state was achieved at week 5-6. After establishing hypertension, SBP of hypertensive rats were measured as initial values prior to treatments.

The hypertensive rats were assigned to four groups (5-8 rats per group) as follow: (1) non-treated control, (2) ENN 100 mg/kg/d, (3) ENN 400 mg/kg/d, (4) ENN 800 mg/kg/d. ENN was dissolved in water and given to the hypertensive rats daily by oral feeding for three weeks. The SBP of all groups were examined weekly and compared.

4. Evaluation of Acute Hypotensive Effect

4.1 Animal preparation

Male rats (350-400g) were anaesthetized with pentobarbital sodium 45 mg/kg intraperitoneally. Anaesthesia was sustained with acepromazin-maleate (Ceva Sante Animale) 0.35 ml/kg intramuscularly whenever necessary. The trachea was intubated with a polyethylene tube (PE 200) to facilitate respiration and remove airway

secretion by suction during experimentation. A polyethylene tube (PE 35) filled with heparinized saline (50 unit/ml; Leo Pharmaceutic) was inserted into the carotid artery for blood pressure (BP) and heart rate monitoring by a pressure transducer (BIOPAC Inc.) interfaced to a computer recording system (MP100 acquisition unit, BIOPAC Inc.) The left femoral vein was cannulated for drug administration. The body temperature was maintained in the range of 36.5 – 37.0°C throughout the experimental period. After operation, rats were allowed to establish steady state condition for 45 min.

4.2 Experimental protocols

ENN was prepared as a solution in normal saline and filtered. The filtrate of ENN 0.5 ml at doses of 0.1 or 1 mg/kg was injected via the femoral vein. The BP and heart rate were continuously monitored until stable. The other sets of experiments were designed to examine the basic mechanism of ENN on BP. Atenolol (β-adrenergic receptor antagonist; Sigma) 5 mg/kg or hexamethonium (ganglionic blocking drug; Sigma) 3.5 mg/kg was administered through femoral vein 2-3 min prior to injection of ENN 1 mg/kg. The systolic blood pressure (SBP), diastolic blood pressure (DBP), and heart rate (HR) was monitored before and after each drug administration.

5. Data Analysis

SBP, DBP and HR were calculated from the pressure waves as percentages of values before treatment or before drug administration (%initial value), and expressed as mean±SEM. Statistic analysis was performed by one-way ANOVA followed by LSD for post-hoc test. A *P-value* of <0.05 was considered significant.

Results

Chronic effects on systolic blood pressure and heart rate

Rats were established in steady hypertensive state after renal artery constriction for 6 weeks. The SBP at week 6 was significantly higher than that of before surgery ($P<0.05$), whereas the HR was comparable (table 1). The result confirms that renal artery ligation can produce hypertension.

Figure 1 illustrates the SBP of non-treated control rats and hypertensive rats treated with ENN over the 3-week period of experiment. The SBP of control and ENN 100 mg/kg/d treated group were not significantly different, and slightly increased by 2-6% during the period of observation. The results indicate that ENN 100 mg/kg/d is not an effective dose for lowering BP. Then the doses of ENN were increased up to 400 and 800 mg/kg/d. It was found that after 1 weeks of treatment, the SBP of ENN 400 mg/kg/d treated group was significantly lower than those of the former two groups ($P<0.05$), and ENN 800 mg/kg/d caused a nonsignificant decrease in SBP. At week 2 and 3 of treatments, ENN 400 and 800 mg/kg/d produced a considerable reduction in SBP by 5-11% which were significantly lower than those of control and ENN 100 mg/kg/d treated group ($P<0.05$). In addition, ENN at all tested doses did not cause any significant change in HR during the experimental period (Fig 2).

Acute effects on blood pressure and heart rate

The hypotensive effect of ENN was further evaluated in anaesthetized rats. A bolus intravenous injection of ENN 0.1 or 1 mg/kg caused an abrupt and dose-dependent reduction in both SBP and DBP. The hypotension was observed in a longer period at dose of 1 mg/kg, and ENN showed a more pronounced effect on DBP than on SBP as illustrated in Fig 3A. At the maximum effect of ENN 0.1 and 1 mg/kg, DBP was decreased by 30% and 45 % respectively. In comparison, ENN at the same doses caused a reduction in SBP by 18% and 27% respectively (Fig 4). HR at the maximum hypotensive effect of ENN were increased approximately 10% at 0.1 mg/kg and 14% at 1 mg/kg (Fig 5).

Hexamethonium (3.5 mg/kg) was employed to inhibit the central autonomic discharge. Intravenous injection of hexamethonium slightly decreased BP and increased HR. Upon ganglion blocked by hexamethonium, ENN (1mg/kg) still produced a potent hypotensive effect which lowered SBP of 23% and DBP of 41% with respect to the values prior to ENN injection (Fig 4). In addition, HR at the time of maximum effect of ENN was increased by 19% (Fig 5). The further study was performed by blocking the cardiac and vascular β-adrenergic receptors with atenolol (5 mg/kg) before ENN (1 mg/kg) injection. The depressive effects of ENN on SBP and DBP were completely blocked by atenolol (Fig 3B). The SBP and DBP in the response to ENN (1 mg/kg) with atenolol were significantly higher than those of ENN 0.1 and 1 mg/kg, and ENN with hexamethonium ($P< 0.05$; Fig 4). In the present of atenolol, ENN 1 mg/kg could not cause an increase in HR (Fig 5). The HR in response to ENN (1mg/kg) with atenolol was significantly lower than those of ENN 0.1 and 1 mg/kg, and ENN with hexamethonium ($P< 0.05$; Fig 5).

Discussion

The current study demonstrated that chronic treatment with ENN caused a reduction in SBP in renovascular hypertensive rats. Moreover, acute administration of ENN to normotensive rats produced decrease in SBP and DBP, as well as an increase in HR. All the acute effects of ENN were blocked by a β-adrenergic receptor blocker (atenolol), but not by a ganglionic blocking drug (hexamethonium), suggesting that its may have direct vascular and cardiac effects mediated via the

Table 1 The systolic blood pressure (SBP) and heart rate (HR) before and after renal artery constriction at week 6. BPM, beats per min; values are mean±SEM. Student's *t* test, $^{*}P<0.05$ vs before renal artery constriction.

Parameter	Before constriction (n=25)	After constriction (n=25)
SBP (mmHg)	152.9 ± 1.1	188.3 ± 4.4*
HR (BPM)	384.7 ± 4.1	390.8 ± 4.7

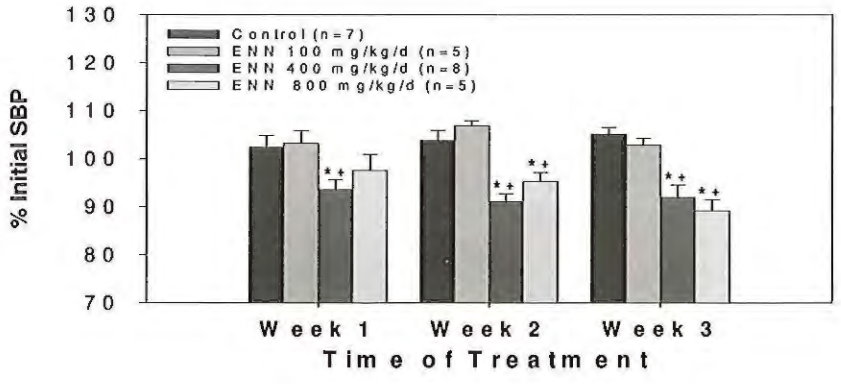


Figure 1 The systolic blood pressure (SBP) of non-treated control and hypertensive rats treated with ENN at the time period of treatment. Data are expressed as percentage of initial SBP prior to treatments. Values are mean ± SEM. $^{*}P<0.05$ vs control, $^{+}P<0.05$ vs ENN 100 mg/kg

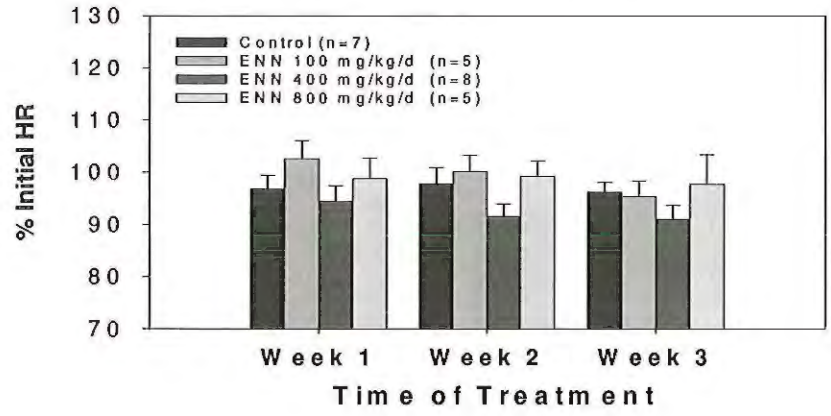


Figure 2 The heart rate (HR) of non-treated control and hypertensive rats treated with ENN at the time period of treatment. Data are expressed as percentage of initial HR prior to treatment. Values are mean ± SEM.

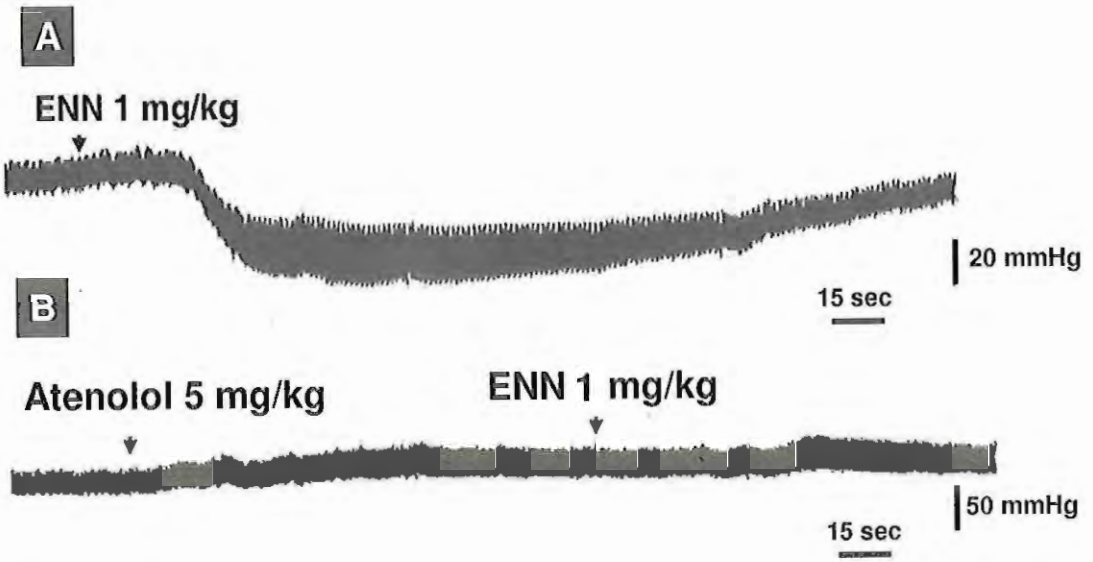


Figure 3 Blood pressure records in responses to ENN 1 mg/kg (A) and ENN 1 mg/kg after atenolol (5 mg/kg) administration (B)

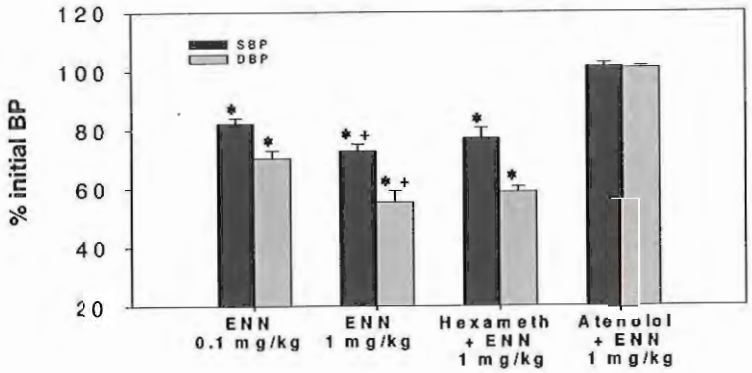


Figure 4 The acute effects of ENN on systolic blood pressure (SBP) and diastolic blood pressure (DBP). Data are expressed as percentage of initial value before ENN administration. (n=6-9). Values are mean±SEM. $^{*}P<0.05$ vs atenolol + ENN 1 mg/kg, $^{+}P<0.05$ vs ENN 0.1 mg/kg.

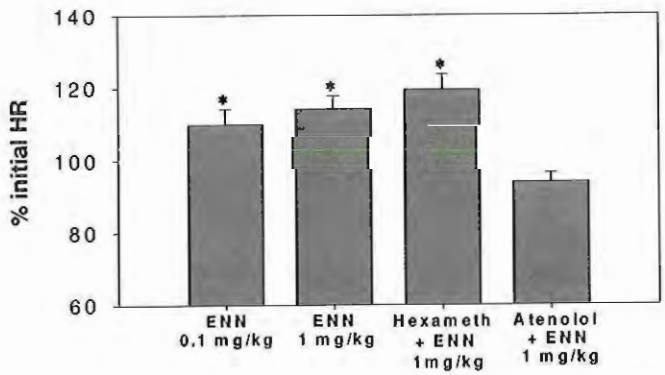


Figure 5 The acute effect of ENN on heart rate (HR). Data are expressed as percentage of initial HR before ENN administration. (n=6-9). Values are mean ± SEM. $*P<0.05$ vs atenolol + ENN 1 mg/kg

the β-adrenergic receptors.

The antihypertensive effect of ENN was demonstrated in renovascular hypertensive rats induced by renal artery constriction. The modified technique used to constrict the renal artery in this study was reproducible. All rats progressively developed hypertension within 5-6 weeks after surgery, which is consistent with other reports[12,13]. The hypertensive rats were daily treated with ENN for three weeks. The antihypertensive effect of ENN was observed at doses of 400 and 800 mg/kg/d, but not at 100 mg/kg/d. However, ENN 400 and 800 mg/kg/d could not lower the SBP in a dose-dependent manner, probably due to the difference in the severity of the hypertensive state. In the non-treated control and ENN 100 mg/kg/d treated, the high blood pressure was maintained through out the three week period of observation, confirming the antihypertensive effect of ENN of the two higher doses.

Intravenous administration of ENN to normotensive rat caused a rapid and transient reduction in blood pressure which was sustained for 1 min, and HR was increased at the maximum effect of ENN. To further gain insight into the hypotensive mechanisms of ENN, hexamethonium was used to block the ganglionic neurons, transmitting the central impulses from hypothalamus and brain stem centers to the blood vessels[14]. It was found that hexamethonium could not inhibit the effects of ENN on the blood pressure, suggesting that ENN may not act on the central nervous system. In addition, the increase in HR after ENN injection seems unlikely to be due to reflex tachycardia in response to the decrease in BP since it remained unaffected by hexamethonium, suggesting that ENN may have a direct positive chronotropic effect. This notion was confirmed in isolated rat atria, and both positive inotropic and positive chronotropic effects of ENN were obviously observed[15]. Another mechanism responsible for the hypotensive effect of ENN would be the direct vascular action since most antihypertensive drugs decrease BP by reducing peripheral vascular tone[16]. It is well known that the β-adrenergic receptors participate in blood pressure and blood flow regulation by causing vasorelaxation[17]. Evidence has been provided that *N. nucifera* leaf extract accelerated lipolysis in adipocytes via β-adrenergic receptors[18]. Atenolol was then employed to block the cardiovascular β-adrenergic receptors. It was shown that atenolol completely inhibit both hypotensive and chronotropic effects of ENN. Atenolol appears to have low lipid solubility which limited its blood brain barrier penetration[19], so most of its blocking effects are at the peripheral sites. Moreover, current study found that the effects of ENN could not be inhibited by a muscarinic receptor antagonist, atropine (data not show). This finding indicates that ENN may have direct vasorelaxant and positive chronotropic effects mediated via the vascular and cardiac β-adrenergic receptors.

A number of alkaloid and flavonoid constituents in *N. nucifera* leaves have been reported[8,20]. Two alkaloids isolated from its leaves, asimilobine and lirinidine, was demonstrated to inhibit contraction of rabbit aorta induced by serotonin[21]. Coclaurine, found in *N. nucifera* leaves[8], was shown to relax uterine smooth muscle[22] and its derivative exhibited vasorelaxant effect on aortic rings[9]. Therefore, it is likely that multi substances in *N. nucifera* leaves might come into play in lowering the blood pressure through their vasodilatory effects upon vascular smooth muscle. The observation of antihypertensive effect of ENN in the present study may not be exclusively due to its direct vascular effect. The diuretic effect might be the other possible mechanism of its antihypertensive action, since the rhizome extract of this plant has been reported to increase urine excretion[2]. Precise mechanism by which ENN produces its blood pressure lowering effect requires further investigation.

In conclusion, the present study showed that ENN elicited antihypertensive effect in hypertensive rats. It also exhibited acute hypotensive and positive chronotropic effects which may be mediated through vascular and cardiac β-adrenergic receptors.

Acknowledgements

This work was supported by a grant from Faculty of Science, Burapha University. We would like to thank Associate Professor Nantana Tanwatanakul for identifying the plant material.

References

1. Kitsanaphun W. *Medicinal plant.* 3rd ed., Bangkok, Chulalongkorn University press, 1998; 115-117.
2. Mukherjee PK, Pal M, Ssha K and Saha BP. Diuretic activity of extract of the rhizomes of *Nelumbo nucifera* Gaertn. (Fam. Nymphaeceae). *Phytotherapy Res* 1996; 10: 424-425.
3. Mukherjee PK, Saha K, Das J, Pal M and Saha BP. Studies on the antiinflammatory activity of rhizomes of *Nelumbo nucifera. Planta Med* 1997; 63: 367-369.
4. Mukherjee PK, Saha K, Pal M and Saha BP. Effect of *Nelumbo nucifera* rhizome extract on blood sugar level in rats. *J Ethnophar-macol* 1997; 58: 207-213.
5. Sohn DH, Kim CY, Oh SH, Park EJ, Li X and Lee BH. Hepatoprotective and free radical scavenging effects of *Nelumbo nucifera. Phytomedicine* 2003; 10: 165-169.
6. Chuthaputti A. Pharmacological effect of lotus. *J Thai Traditional & Alternative Med* 2003; 1(1): 61-63.
7. Jittiporn K, Wongkrajang Y, Throngpraditchote S, Temsiririrkkul R, Kongsaktrakoon B, Peungvicha P and Jaiarj P. Effect of extract of *Nelumbo nucifera* Gaertn. Embryo on cardiovascular function in rats. *Thai J Physiol Sci* 2002; 15(1): 34-44.
8. Kashiwada Y, Aoshima A, Ikeshiro Y, Chen YP, Furukawa H, Itoigawa M, Fujioka T, Mihashi K, Cosentino LM, Morris-Natschke SL and Lee KH. Anti-HIV benzyliso-quinoline alkaloids and flavonoids from the leaves of *Nelumbo nucifera*, and structure-activity correlations with related alkaloids. *Bioorg Med Chem.* 2005; 13: 443-448.
9. Iturriaga-Vasquez P, Mique R, Ivorra MD, D'Ocon MP and Cassels BK. Simplified tetrandrine congeners as possible antihypertensive agents with a dual mechanism of action. *J Nat Prod* 2003; 66(7): 954-957.
10. Lovenberg W. Techniques for the measurement of blood pressure. *Hypertension.* 1987; 9 (Suppl 1): 15-16.
11. Coleman TG. *Hypertension caused by renal artery stenosis : Goldblatt hypertension, In blood pressure control.* Quebec, Medical & Scientific Publishers, 1980; 1: 30-49.
12. Mohring J, Mohring B, Naumann H, Philippi A, Orth H, Dauda G, Kazda S and Gross F. Salt and water balance and rennin activity in renal hypertension of rats. *Am J Physiol* 1975; 228(6): 1847-1855.
13. Sen S, Tarazi RC and Bumpus FM. Reversal of cardiac hypertrophy in renal hypertensive rats: medical vs surgical therapy. *Am J Physiol* 1981; 240(9): H408-H412.
14. Guyenet PG. The sympathetic control of blood pressure. *Nature Rev Neurosci* 2006; 7: 335-345.
15. Trongtorsak P, Attachit S, Sanitwong na Ayuthaya S, and Athipchatsiri N. Effects of crude leaf extract of *Nelumbo nucifera* Gaertn. on cardiac functions. Proc. STT 31th; 2005: 279.
16. White WB. Update on the drug treatment of hypertension in patients with cardiovascular disease. *Am J Med* 2005; 118: 695-705.
17. Guimaraes S and Moura D. Vascular adrenergic receptors: An update. *Pharmacol Rev* 2001; 53(2): 319-356.
18. Ono Y, Hattori E, Fukaya Y, Imai S and Ohizumi Y. Antiobesity effect of *Nelumbo nucifera* leaves extract in mice and rats. *J Ethnopharmacol* 2006; 106: 238-244.
19. Wadworth AN, Murdoch D and Brogden RN. Atenolol: a reappraisal of its phar-macological properties and therapeutic use in cardiovascular disorders. *Drugs* 1991; 42: 468-510.
20. Suwittayawat W. *Bou Laung*. Newsletter of Medicinal Plant. 1997; 14(3): 16-21.
21. Shoji N, Umeyama A, Iuchi A and Takemoto T. Asimilobine and lirinidine, serotonergic receptor antagonists, from *Nelumbo nucifera. J Nat Prod* 1987; 5(4): 773-774.
22. Martin ML, Diaz MT, Montero MJ, Prieto P, San Roman L and Cortes D. Antispasmodic activity of benzylisoquinoline alkaloids analogous to papaverine. *Planta Med* 1993; 59(1): 63-67

RESEARCH ARTICLES

Bioequivalence Study of 1-G Ceftazidime Intramuscular Injections

Wichien Thanindratharn[1], Uthai Suvanakoot[2], Pornlekha Banharnsupawart[3]

[1]*Department of Manufacturing Pharmacy, Faculty of Pharmaceutical Sciences Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand*
[2]*Department of Pharmacy, Faculty of Pharmaceutical Sciences Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand*
[3]*Office of Disease Prevention and Control 1st Region, Department of Prevention and Control, Ministry of Public Health, Bangkok 10900, Thailand*

Abstract

The bioequivalence study of 1-g ceftazidime IM injection (Cef-dime®) manufactured by Millimed Co., Ltd, relative to the innovator's product (Fortum®) was studied in 24 healthy Thai male volunteers. Each subject received a single dose of 1-g IM injection of both products in a randomized two-way crossover design. Blood samples were collected at appropriate time interval and they were quantified for ceftazidime contents by HPLC. Individual plasma ceftazidime concentration-time profile was analyzed for relevant pharmacokinetic parameters; the peak plasma ceftazidime concentration, C_{max}, the time to peak plasma ceftazidime concentration, t_{max}, and the area under the plasma ceftazidime concentration-time curve, AUC_{0-t} and $AUC_{0-\infty}$. Analysis of the data revealed that difference of t_{max} mean was 3.48%. The 90% confidence interval for the differences of C_{max}, AUC_{0-t} and $AUC_{0-\infty}$ means of Cef-dime® relative to the innovator's product based on Ln-transformed data were within 80-125%. Power of the test was greater than 80%, referring, the two products were bioequivalent in terms of both the rate and the extent of drug absorption into systemic circulation.

Key words: bioequivalence, ceftazidime, IM injections

Address correspondence and reprints: Uthai Suvanakoot, Ph.D., Department of Pharmacy, Faculty of Pharmaceutical Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand.

การศึกษาชีวสมมูลของยาฉีดเข้ากล้ามเนื้อเซฟต้าซิดีมขนาด 1 กรัม

วิเชียร ธานินทร์ธราธาร[1], อุทัย สุวรรณกูฏ[2], พรเลขา บรรหารศุภวาท[3]
[1]ภาควิชาเภสัชอุตสาหกรรม คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330
[2]ภาควิชาเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330
[3]สำนักงานป้องกันควบคุมโรค เขต 1 กรุงเทพฯ กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข กรุงเทพฯ 10900

บทคัดย่อ

ศึกษาชีวสมมูลของยาฉีดเข้ากล้ามเนื้อเซฟต้าซิดีม ขนาด 1 กรัม (Cef-dime®) ผลิตโดยบริษัทมิลลิเมด จำกัด เทียบกับยาต้นแบบ (Fortum®) ดำเนินการในอาสาสมัครชายไทยที่มีสุขภาพดี 24 คน อาสาสมัครแต่ละคนได้รับยาทั้ง 2 ตำรับ โดยการฉีดเข้ากล้ามเนื้อเพียงครั้งเดียวตามแผนการทดสอบแบบข้ามสลับชนิด 2 ทาง เก็บตัวอย่างเลือดในช่วงเวลาต่างๆที่เหมาะสมและตรวจวิเคราะห์หาความเข้มข้นของเซฟต้าซิดีมโดยใช้ HPLC นำค่าความเข้มข้นของเซฟต้าซิดีมที่เวลาต่างๆของแต่ละคนมาคำนวณหาค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ที่เกี่ยวข้องได้แก่ ความเข้มข้นสูงสุดของเซฟต้าซิดีมในพลาสมา (C_{max}), เวลาที่ความเข้มข้นของเซฟต้าซิดีมสูงสุดในพลาสมา (t_{max}) และพื้นที่ใต้โค้งของกราฟความเข้มข้นของเซฟต้าซิดีมในพลาสมา-เวลาที่เวลาสุดท้ายของการเก็บตัวอย่างเลือด (AUC_{0-t}) และที่เวลาอนันต์ ($AUC_{0-\infty}$) ผลการวิเคราะห์ข้อมูลปรากฏว่า t_{max} ของยาทั้ง 2 ตำรับมีความแตกต่างกันร้อยละ 3.48 ร้อยละ 90 ของช่วงความเชื่อมั่นสำหรับผลต่างของค่า C_{max}, AUC_{0-t} และ $AUC_{0-\infty}$ ที่แปลงอยู่ในรูปของลอการิทึมของ Cef-dime® กับยาต้นแบบอยู่ในช่วง 80-125 มีกำลังของการทดสอบแต่ละค่ามากกว่าร้อยละ 80 สรุปได้ว่ายาฉีดเข้ากล้ามเนื้อเซฟต้าซิดีมทั้ง 2 ตำรับ มีชีวสมมูลกันทั้งอัตราเร็ว และปริมาณยาที่ถูกดูดซึมเข้าสู่ระบบการไหลเวียนของโลหิต

ความสำคัญ: ชีวสมมูล, เซฟต้าซิดีม, ยาฉีดเข้ากล้ามเนื้อ

Introduction

Ceftazidime is a semisynthetic, third generation cephalosporin antibiotic. Like cefotaxime and ceftriaxone, ceftazidime is a parenteral aminothiazolyl cephalosporin. This aminothiazolyl side chain enhances antibacterial activity, particularly against Enterobacteriaceae, and generally results in enhanced stability against β-lactamase. Ceftazidime is bactericidal in action. This results from inhibition of mucopeptide synthesis in the bacterial cell wall[1].

Ceftazidime is not absorbed from the GI tract and must be given parenterally. Following IM administration of a single 1-g dose of ceftazidime in healthy adults, peak serum concentrations of the drug are attained approximately 1 hour after the dose and average 29-39 μg/mL. Ceftazidime is widely distributed into body tissues and fluids with volume of distribution at steady state averages 0.18-0.31 L/kg in healthy adults. It is 5-24% bound to serum proteins. Ceftazidime is not metabolized and is excreted unchanged principally in urine by glomerular filtration. The elimination half-life is 1.4-2 hours[1]. Ceftazidime is used for the treatment of various infections. The usual adult dosage is 1 g given IV or IM every 8 or 12 hours.The maximum dosage is 6 g daily. In patients with renal impairment, doses and/or frequency of administration of the drug should be modified[1]. Ceftazidime is well tolerated, adverse effects have been reported in about 9% of patients receiving the drug and have required discontinuance in about 2% of patients[1].

Ceftazidime IM injections are available in Thailand through a variety of trade names from different manufacturers[2]. However, the cost per unit of the products imported is excessively higher than the locally manufactured brands. In Thailand where ceftazidime is also widely prescribed, a new ceftazidime preparation intended to be used clinically must pass the bioequivalence test required by the Thai FDA. Therefore, the bioequivalence of such a ceftazidime IM injections should be evaluated.

Materials and methods

Test product

Two drug-products of 1-g ceftazidime IM injections were *in vivo* evaluated. One was a generic drug-product (Cef-dime®, Lot no CEK 508, Mfd 21/10/2005, Exp. 21/10/2007) manufactured by Millimed Co., Ltd, and another was an innovator's product (Fortum®, Lot no 5020, Mfd 21/09/2005, Exp. 20/09/2008) imported by GlaxoSmithKline (Thailand) Ltd, which was assigned as the reference standard.

Chemicals

All chemicals used were analytical and/or HPLC grade. Water was deionized and double distilled prior to use.

Subjects

Twenty-four healthy Thai male volunteers with a mean age of 33.79 years old (range 20 to 45 years old) participated in this study. They had normal body built with mean weight of 61.58 kg (range 55 to 70.0 kg) and average height of 1.66 m (range 1.58 to 1.72m). All subjects were healthy based on history, clinical examination and preentry hematologic and biochemical tests. None was allergic to ceftazidime and/or cephalosporins. All subjects abstained from other drug intake and alcoholic preparations as well as smoking two weeks prior to and throughout the study. The methods and conditions of the study were clearly explained to all subjects. Informed consent was signed and obtained from each subject before entering the experiment. Inclusion, exclusion and withdrawal criteria for the subjects were considered according to Thai-FDA Guidance.

Drug administration

Each subject received 1 g ceftazidime IM injection of test or innovator's product in a single dose. All subjects received each dose in the morning. The subjects were requested to report all adverse events after drug administration. All adverse events encountered during the clinical study were reported on the Case Report Form.

Experimental design

The study was conducted in a randomized two-way crossover design. Each subject received the drug in a randomized order. The washout period was one week. This study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki. The protocol was approved by an Ethics Committee of the Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University.

Samples collection :

Blood samples (5 mL) were drawn from the antecubital vein before and at 0.25, 0.5, 0.75, 1.0, 1.25, 1.5, 1.75, 2.0, 2.5, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0 and 8.0 hours post dose. All blood samples were collected in heparinized tubes. After centrifugation at 4000 rpm for 15 minutes. The plasma was separated and stored at -20°C until subsequent assay.

Determination of ceftazidime in plasma

Plasma ceftazidime concentrations were determined by high performance liquid chromatography (HPLC) using a method modified

from that reported by Isla A, et al[3]. The procedure was briefly described as follow:

To plasma 0.5 mL, 70 µL of 1 mg/mL of cefotaxime (as internal standard) in water and 1.0 mL of acetonitrile were added. The mixture was vortexed for 1 minute and centrifuged at 4000 rpm for 10 minute. Aqueous portion was separated and mixed with 5.0 mL of dichlorometane. Again, the mixture was vortexed for 1 minute and centrifuged at 4000 rpm for 10 minutes. A 50 µL of clear supernatant was injected into the HPLC. High performance liquid chromatography equipped with UV detector (Agilent 1100 series,USA), was used for the analysis. The wavelength was set at 257 nm. Separa-tion was performed using µ-Bondapak, C_{18}, 10 µm (300 x 4.6 mm, i.d.). column at 30°C. The mobile phase consisted of ammonium acetate buffer pH 4.0: acetonitrile at the ratio of 98:2 v/v. The flow rate was 1.5 mL/min. The ceftazidime concentration in plasma samples were quantified from the standard curve[4].

Validation of analytical method

The method modified from that reported by Isla A, et al used in this study was validated under the method of US-FDA[5].

Pharmacokinetic analysis

Individual plasma ceftazidime concentration-time profile from each treatment was analyzed for relevant pharmacokinetic parameters (C_{max}, t_{max}, AUC_{0-t} and $AUC_{0-\infty}$). The peak plasma ceftazidime concentration, C_{max}, and the time to peak plasma ceftazidime concentration, t_{max}, were observed from the plots of the plasma drug concentrationtime. The area under the plasma ceftazidime concentration-time curve from time zero to the last point of collection, AUC_{0-t}, was calculated using trapezoidal rule and that from time zero to infinite time was calculated by adding the AUC_{0-t} with C*/K term; where C* was the last measurable drug concentration and K was the terminal elimination rate constant[4]. At least three points during the terminal Ln-linear phase were used to obtain an accurate estimate of K from linear regression. In most cases, more than three points were used for best fitting. Half-life was computed from 0.693/K. The Ln C_{max}, Ln AUC_{0-t} and Ln $AUC_{0-\infty}$ were calculated.

Evaluation of bioequivalence

Analysis of variance (ANOVA) for two-way crossover design at $\alpha = 0.05$ of the C_{max}, AUC_{0-t} and $AUC_{0-\infty}$ values of both products were performed based on Ln-transformed data[6]. The differences of t_{max} mean was then computed. Finally, the 90% confidence interval (Two one-sided test) for the differences of Ln C_{max},Ln AUC_{0-t} and Ln $AUC_{0-\infty}$ means of the test product relative to the innovator's product were constructed[4]. Power to detect 20% mean parameter differences were determined. The test product was considered to be bioequivalent with the innovator's product when each 90% confidence interval was within 80-125%[6-8]. The power of the test should be greater than 80%.

Results

Validation and analysis of plasma ceftazidime concentrations

Chromatograms of the analytical method for determination of ceftazidime and cefo-taxime in plasma are shown in Figures 1 and 2. The retention times of both agents were about 6-8 and 10-14 minutes, respectively. No any interferent peaks due to the presence of plasma proteins and/or endogenous substances were observed, indicating the selectivity/specificity of the analytical method. All validated parameters for accuracy, precisions, linearity, recovery of extraction, and stabilities of the assay method used for quantifying drug contentin plasma were within the acceptance criteria. The standard curve of peak area ratios of ceftazidime to cefotaxime versus ceftazidime concentrations was linear covered the range of concentrations employed with the coefficient of determination of better than 0.999. The lower limit of quantification was found to be 3 µg/mL.

Plasma ceftazidime concentrations

The plasma ceftazidime concentrations at the time zero in all subjects were equal zero. The mean plasma ceftazidime concentration-time profiles of 24 subjects for test and innovator's product are shown graphically in Figure 3. The plasma ceftazidime concentrations at each sampling time upto 8 hours of 24 subjects following IM injection of ceftazidime 1 g of test and innovator's product were analyzed for relevant pharmacokinetic parameters. Results are presented in Tables 1 and 2 for test product and innovator's product, respectively.

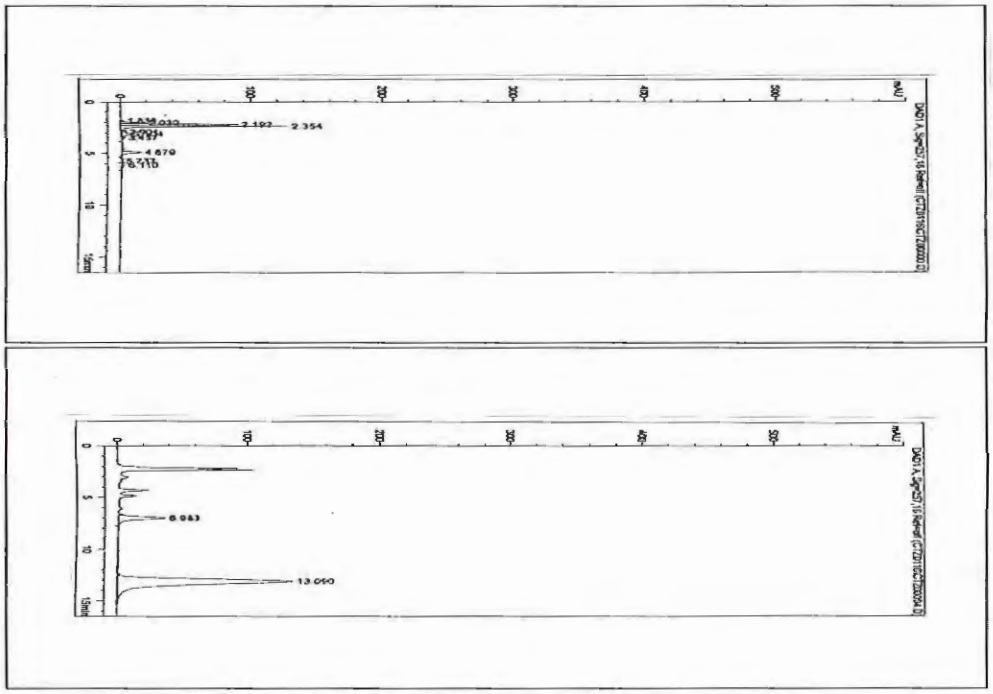


Figure 1 Chromatograms of analytical method for determination of ceftazidime and cefotaxime in plasma, blank plasma (A), plasma spiked with ceftazidime.

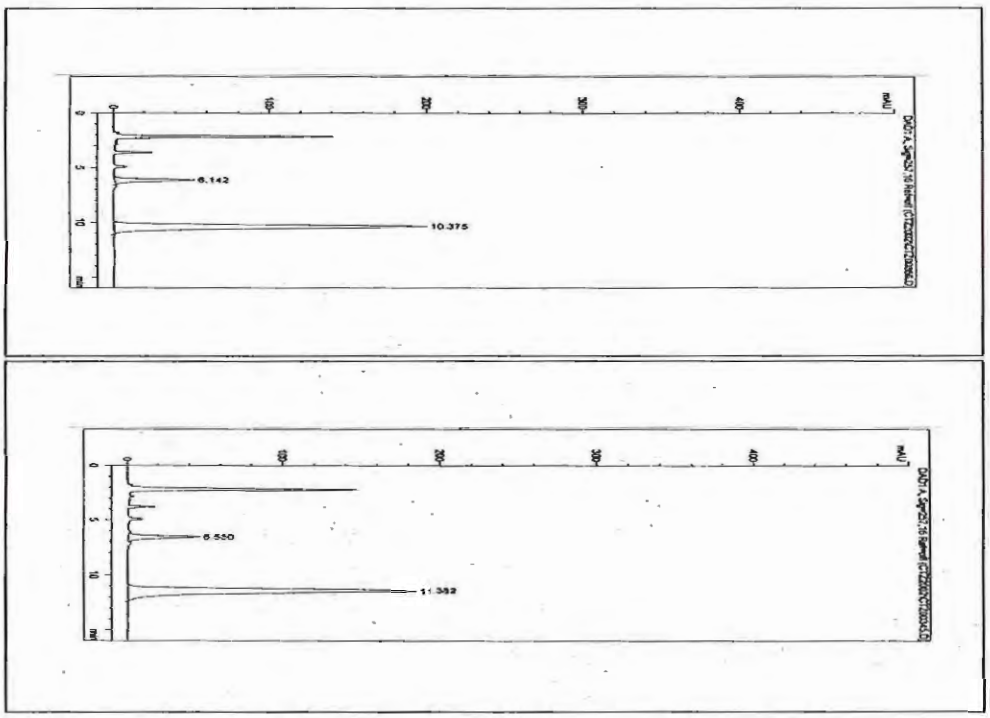


Figure 2 Phasma ceftazidime chromatograms of subject no 15 at 1.0 hr after IM administration of 1 g injections of test (A) and innovator's product (B).

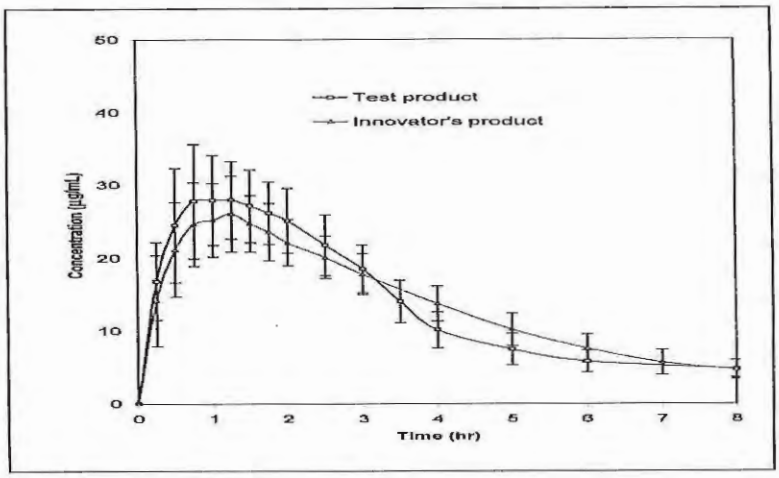


Figure 3 Mean plasma ceftazidime concentration-time profiles of 24 subjects following IM administration of 1-g injections of test and innovator's product.

Table 1 Pharmacokinetic parameters of ceftazidime of 24 subjects following IM administration of 1-g injections of test product

Subject no	t_{max} (hr)	C_{max} (µg/mL)	AUC_{0-t} (µg.hr/mL)	$AUC_{0-\infty}$ (µg.hr/mL)	$t_{1/2}$ (hr)
1	1.25	29.89	124.84	138.65	2.08
2	0.75	30.81	86.66	94.51	1.56
3	0.75	31.70	125.75	141.72	2.43
4	1.00	27.99	116.18	130.84	2.75
5	1.25	30.49	106.68	118.51	1.97
6	0.75	32.61	119.15	131.18	2.30
7	1.25	20.92	89.80	114.37	3.75
8	0.75	44.26	146.65	158.52	2.21
9	1.50	27.84	125.17	159.62	3.43
10	1.00	25.85	119.98	140.99	2.79
11	0.75	48.19	125.96	134.97	1.45
12	1.00	26.01	91.44	102.11	2.13
13	1.25	26.27	106.10	120.30	2.54
14	2.00	26.27	117.14	130.95	2.14
15	1.25	23.47	121.60	146.90	2.59
16	2.00	25.26	112.51	131.74	2.60
17	1.25	30.88	145.94	176.32	2.78
18	0.75	40.40	161.50	178.31	2.26
19	1.00	24.50	99.24	111.87	2.46
20	1.50	24.33	99.06	112.87	2.41
21	1.00	30.70	116.69	130.16	2.50
22	0.75	27.30	110.41	124.86	2.38
23	1.50	27.98	125.94	142.33	2.34
24	0.50	32.85	112.43	122.31	1.85
Mean	1.11	29.86	116.95	133.12	2.40
S.D.	0.39	6.44	17.89	20.80	0.50
% C.V.	35.13	21.57	15.30	15.63	0.83
Minimum	0.75	20.92	86.66	94.51	1.45
Maximum	2.00	48.19	161.50	178.31	3.75

Table 2 Pharmacokinetic parameter of ceftazidime of 24 subjects following IM administration of 1 g injections of innovator's product

Subject No	t_{max} (hr)	C_{max} (μg/mL)	AUC_{0-t} (μg.hr/mL)	$AUC_{0-\infty}$ (μg.hr/mL)	$t_{1/2}$ (hr)
1	1.25	30.69	118.74	150.29	3.81
2	1.25	24.01	91.26	101.47	2.30
3	0.75	27.45	105.48	124.28	2.87
4	1.25	33.75	127.64	143.64	2.70
5	1.50	26.91	107.94	122.35	2.68
6	0.75	33.01	121.70	138.59	2.54
7	1.00	24.31	94.17	107.25	2.36
8	1.25	36.41	138.11	155.31	2.39
9	1.00	31.01	140.70	170.71	2.94
10	1.00	29.99	114.31	130.10	2.76
11	0.75	40.16	118.95	126.61	1.65
12	1.00	26.31	112.56	127.11	2.12
13	1.75	22.64	97.58	110.02	1.77
14	0.75	27.28	97.90	111.25	2.23
15	1.00	21.21	107.73	128.09	2.60
16	1.50	25.71	107.21	122.84	2.55
17	1.25	28.61	135.61	171.53	3.02
18	1.00	30.01	122.13	133.75	2.24
19	1.00	19.93	96.24	104.42	1.70
20	1.25	20.75	95.35	115.32	2.83
21	1.00	22.44	90.95	103.12	2.74
22	2.00	18.61	98.35	114.06	2.25
23	1.00	22.26	115.40	130.51	2.18
24	1.25	28.76	90.76	102.29	2.11
Mean	1.15	27.18	110.28	126.87	2.47
S.D.	0.31	5.40	15.33	20.15	0.47
% C.V.	26.96	19.87	13.90	15.88	19.03
Minimum	0.75	18.61	90.76	101.47	1.65
Maximum	2.00	40.16	140.70	171.53	3.81

Table 3 Mean pharmacokinetic parameters (X ± S.D.) of ceftazidime of 24 subjects following IM administration of 1-g injections of test and innovator's product.

Parameters	Products		90% Confidence Interval*	Power
	Test product	Innovator's product		
C_{max}(μg/mL)	29.86 ± 6.44	27.18 ± 5.40	104.40 - 115.73	>99.99 %
t_{max} (hr)	1.11 ± 0.39	1.15 ± 0.31	-	-
AUC_{0-t} (μg.hr/mL)	116.95 ± 17.89	110.28 ± 15.33	100.50 - 111.45	>99.99 %
$AUC_{0-\infty}$ (μg.hr/mL)	133.12 ± 20.80	126.87 ± 20.15	100.81 - 109.27	>99.99 %

n = 24

* Ln - transformed data

Acceptance criteria : 90% CI = 80-125%

Side effects of ceftazidime

No side effects and/or any intoxications due to ceftazidime with the dose administered were observed. No subject withdrew from the study.

Evaluation of bioequivalence

The relevant pharmacokinetic parameters to be used for evaluation of bioequivalence between the test and the innovator's product are the peak plasma ceftazidime concentration, C_{max}, and the area under the plasma ceftazidime concentration time curve, AUC_{0-t} and $AUC_{0-\infty}$. The first parameter refers to the rate of drug absorption meanwhile the later indicates the extent or amount of drug absorption into systemic circulation.

All these parameters were derived from individual plasma ceftazidime concentrationtime profile. Analysis of the data revealed that the 90% confidence interval for the differences of C_{max}, AUC_{0-t} and $AUC_{0-\infty}$ means of the test relative to the innovator's product based on Ln-transformed data were within the limit of 80-125%, that is, they were within the ranges defined for acceptance of bioequivalence. All results were summarized in Table 3. Difference of t_{max} mean was 3.48%.

Discussion

Although other HPLC methods have been published in the literature for ceftazidime determination in plasma, only a few of the works provide data about using the internal standard and a complete stability study[3]. This investigation includes both studies because they are critical for proper analysis and interpretation of analytical results. Cefotaxime has been proven to be an excellent internal standard. Both agents were stable in plasma for at least three weeks at -20^{O}C. This period of storage is long enough since all plasma samples could be completely assayed within two weeks. In addition, the processed samples were stable at 4^{O}C in autosampler upto 8 hr.This information is very important for analyzing treated samples overnight. All other validation results indicated that the modified method used in this study is rugged, precise and accurate and is suitable for the determination of ceftazidime in human plasma.

The design of the study allowed demonstrating bioequivalence between two drug products. Both formulations were similarly well tolerated. There were not any quantifiable drug levels at baseline for any subjects in either study period, refering that no carryover effects were present from the first to second study period. Washout period between drug administration was acceptable. Individual AUC_{0-t} / $AUC_{0-\infty}$ ratio of subject from either product was greater than 80%, suggesting that blood samples were collected for a sufficiently long period.

Mean plasma profiles from the two products were comparable and the dispersions were within the predefined ranges.The mean extent of absorption at absorption phase and early post-absorption phase from the generic product appeared to be greater than that from the innovator's product. This is probably due to the generic formulation contained more drug than other. The lower limit of 90% confidence interval of all three parameter which were over 100%, were evident. The pharmacokinetic parameters obtained in this study; C_{max}, t_{max}, AUC and $t_{1/2}$ of individual and on average are consistent or slightly different, indicating low intra-subject and inter-subject variability of the drug. No safety problems were detected. Ceftazidime's intrasubject CVs for C_{max}, AUC_{0-t}, and $AUC_{0-\infty}$ were 10.42%, 10.47% and 8.14%, respectively and a posteriori power was over 99.99% for all these parameters.

Based on these results, both formulations can be concluded to be bioequivalent in terms of both the rate and the extent of absorption.

References

1. McEvoy GK (ed), Ceftazidime. AHFS Drug Information, Bethesda, American Society of Hospital Pharmacist, 2005 ; 137-146.
2. Fun LW, (ed). MIMS Thailand Tims, 2006 ; 104th ed, 213-222.
3. Isla A, et al, Determination of Ceftazidime and Cefepime in Plasma and DialysateUltrafiltrate from Patients Undergoing Continuous Veno-Venous Hemodiafiltration by HPLC. *J Pharm Biomed Anal.* 2005 ; 39(5) : 996-1005.
4. Steel RGD, and Torrie JH, Principles andProcedures of Statistics, A Biometrical Approach, 2nd ed, New York, McGraw Hill Book Company, 1980 ; 137-167.
5. Guidance for Industry Bioanalytical Method Validation, US-FDA, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), 2001 ; 4-10
6. หลักเกณฑ์และแนวปฏิบัติในการศึกษาชีวสมมูลของยาสามัญ. กองควบคุมยา สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยากระทรวงสาธารณสุข, 2543 ;9-12.
7. United States Pharmacopeia 29, Rockville, United States Pharmacopeial Convention, Inc, 2006 ; 2929-2934.

RESEARCH ARTICLES

Bioequivalence Study of Doxazosin Tablets in Healthy Thai Male Volunteers

Sayam Kaewvichit[1], Satawat Thongsawat[2], Wandee Taesotikul[1], Chokchai Wongsinsup[1], Songwut Yotsawimonwat[1], Chadarat Duangrat[1], Kanokporn Niwatananun[1], Wirat Niwatananun[2]

[1]*Biopharmacy Research Unit, Pharmaceutical Science Research and Service Center Faculty of Pharmacy, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200*
[2]*Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200*

Abstract

Objective: To perform a bioequivalence study of doxazosin tablets between Cazosin® tablet (Millimed Co., Ltd., Thailand) and Cardura® tablet (Pfizer Italia S.r.l., Latina, Italy), the innovative product.
Method: The study was performed in 12 healthy male volunteers who received a single dose of a 4 mg doxazosin tablet. Double blind randomized cross-over design was used. Blood samples were collected before and after drug administration for 36 hours and determined for doxazosin plasma concentration by a validated HPLC method.
Results: The results of the bioequivalence study of doxazosin tablets, Cazosin® and Cardura®, demonstrated that T_{max} of volunteers who took Cazosin® (1.58 ± 0.56 hr) was not significantly different from those who took Cardura® (1.71 ± 0.81 hr) ($p > 0.05$, t-test). When statistics were tested as stated in USP 28 guideline for bioequivalence study, 90% confidence interval of the log value of ratio of the C_{max} (0.906 – 1.070), the $AUC_{0->last}$ (0.878 – 1.041) and the $AUC_{0->inf}$ (0.868 – 1.060) between Cazosin® and Cardura® tablets were within the range of 0.80 - 1.25. The power of the study for $AUC_{0->last}$, $AUC_{0->inf}$ and C_{max} were 98.0, 91.6 and 95.5 percents, respectively.
Conclusion: It can be indicated that the 4 mg Cazosin® and Cardura® tablets used in this study are bioequivalent with respect to the extent and rate of drug approached the systemic circulation.

Key words: Bioequivalence, doxazosin, Cazosin®, Cardura®

Address correspondence and reprints: Wandee Taesotikul. Biopharmacy Research Unit, Pharmaceutical Science Research and Service Center, Faculty of Pharmacy, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand. Phone: 0-5394-4351, E-mail: wandee @ pharmacy.cmu.ac.th

การศึกษาชีวสมมูลของยาเม็ด DOXAZOSIN ในอาสาสมัครชายไทยสุขภาพดี

สยาม แก้ววิชิด [1], ศตวรรษ ทองสวัสดิ์ [2], วรรณดี แต้โสตถิกุล [1], โชคชัย วงศ์สินทรัพย์ [1]
ทรงวุฒิ ยศวิมลวัฒน์ [1], ชฎารัตน์ ดวงรัตน์ [1], กนกพร นิวัตเนนันท์ [1], วิรัตน์ นิวัตเนนันท์ [1]

[1] *หน่วยวิจัยชีวเภสัชกรรม, ศูนย์วิจัยวิทยาศาสตร์เภสัชกรรม, คณะเภสัชศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, อ.เมือง, จ. เชียงใหม่ 50200*

[2] *คณะแพทยศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, อ.เมือง, จ. เชียงใหม่ 50200*

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาชีวสมมูลของยาเม็ด Doxazosin ระหว่างผลิตภัณฑ์ที่ผลิตในประเทศไทย คือ ยา Cazosin® ของบริษัท Millimed Co.,Ltd. ประเทศไทย กับผลิตภัณฑ์ต้นแบบ คือยา Cardura® ของบริษัท Pfizer Italia S.r.l. ประเทศอิตาลี

วิธีการศึกษา ทำการศึกษาในอาสาสมัครชายไทยสุขภาพดี 12 คน โดยการให้อาสาสมัครรับประทานยาเพียงครั้งเดียวในขนาด 4 มิลลิกรัม จำนวน 1 เม็ด การศึกษาเป็นแบบสุ่มสลับ ปกปิดสองด้าน เก็บตัวอย่างเลือดของอาสาสมัครก่อนให้ยาและที่เวลาต่างๆ ในช่วง 36 ชั่วโมง หลังการให้ยา และวิเคราะห์หาความเข้มข้นของยาในพลาสมาโดยวิธี ไฮเพอฟอร์มานลิควิดโครมาโตกราฟี

ผลการศึกษา พบว่าเวลาที่ความเข้มข้นของยาในเลือดสูงสุด (T_{max}) ของยา Doxazosin จากการให้ยา Cazosin® (1.58 $\pm$ 0.56 ชม.) และ Cardura® (1.71 $\pm$ 0.81 ชม.) ไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$, t- test) และเมื่อนำค่าตัวแปรทางเภสัชจลนศาสตร์ ของยา Cazosin® และ Cardura® ไปทดสอบทางสถิติโดยวิธีที่กำหนดไว้ใน USP 28 พบว่า ค่าตัวแปรทางเภสัชจลนศาสตร์ของยาทั้งสองไม่แตกต่างกัน โดยมีช่วงค่าความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 90 ของอัตราส่วนของความเข้มข้นสูงสุดของยาในพลาสมา (C_{max}, 0.906 – 1.070) พื้นที่ใต้เส้นโค้งของกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของยาในพลาสมากับเวลาถึงเวลาที่เก็บตัวอย่างครั้งสุดท้าย ($AUC_{0->last}$, 0.878 – 1.041) และถึงเวลาอนันต์ ($AUC_{0->inf}$, 0.868 – 1.060) ในรูปลอการิทึมระหว่างยาเม็ด Cazosin® กับยาเม็ด Cardura® อยู่ในช่วงที่ USP กำหนด (0.80 – 1.25) โดยมีกำลังของการทดสอบสำหรับ $AUC_{0->last}$ $AUC_{0->inf}$ และ C_{max} เท่ากับร้อยละ 98.0, 91.6 และ 95.5 ตามลำดับ

สรุป ยา Cazosin® และ Cardura® ในขนาด 4 มิลลิกรัม / เม็ด ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้มีชีวสมมูลกันทั้งในด้านปริมาณและอัตราเร็วในการเข้าสู่ระบบไหลเวียนโลหิต

คำสำคัญ: ชีวสมมูล, Doxazosin, Cazosin®, Cardura®

Introduction[1, 2, 3, 4]

Doxazosin, a quinazoline derivative with selective α_1 – adrenoceptor antagonistic activity, is presently marketed for the treatment of hypertension. Doxazosin has been recently approved by the United State Food and Drug Administration (FDA) for use in treatment of benign prostatic hyperplasia and has been found to be well tolerated by both normotensive and hypertensive patients with this condition and by elderly patients.

Pharmcokinetics data show that after oral administration, doxazosin is rapidly and well absorbed. After oral administration of therapeutic doses, peak plasma levels of doxazosin mesylate occur at about 2 to 3 hours. Bioavailability is approximately 65%, reflecting first pass metabolism of doxazosin mesylate by the liver. Doxazosin mesylate is extensively metabolized in the liver, mainly by O-demethylation of the quinazoline nucleus or hydroxylation of the benzodioxan moiety. Although several active metabolites of doxazosin mesylate have been identified, the pharmacokinetics of these metabolites have not been characterized. In a study of two subjects administered radiolabelled doxazosin mesylate 2 mg orally and 1 mg intravenously on two separate occasions, approximately 63% of the dose was eliminated in the feces and 9% of the dose was found in the urine. On average only 4.8% of the dose was excreted as unchanged drug in the feces and only a trace of the total radioactivity in the urine was attributed to unchanged drug. At the plasma concentrations achieved by therapeutic doses approximately 98% of the circulating drug is bound to plasma proteins. Plasma elimination of doxazosin mesylate is biphasic, with a terminal elimination half-life of about 22 hours. Steady-state studies in hypertensive patients given doxazosin mesylate doses of 2 to 16 mg once daily showed linear kinetics and dose proportionality.

The objective of this study is to perform a bioequivalence study of generic doxazosin product made in Thailand, Cazosin® tablet from Millimed Co., Ltd. in comparison with the innovative product, Cardura® tablet from Pfizer Italia S.r.l., Latina, Italy in healthy Thai male volunteers.

Materials and methods

Refereuce and test products:

A test product is 4 mg/tablet Cazosin®, Lot NO. : CZT401, Mfg. Date : 06.09.04, Exp. Date : 06.09.06, Millimed Co., Ltd., Thailand. A reference product is 4 mg/tablet Cardura®, Control/Lot No. : 410380830, Mfg. Date : 08.2004, Exp. Date: 07.2009, Pfizer Italia S.r.l., Latina, Italy.

Bioequivalence Study

The bioequivalence study protocol between Cazosin® and Cardura® tablets was approved by the Ethical Clearance Human Experimentation Committee, Research Institute for Health Sciences, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand. The study was performed at Chiang Mai Ram 1 Hospital, Chiang Mai. Plasma doxazosin analysis and data analysis were executed at the Faculty of Pharmacy, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand.

Subjects

Volunteers were 12 healthy Thai males; their ages were in the range of 21 - 25 years old. Their body mass indexes were within the range of 18 – 24 kg/m^2. The demographic data of the volunteers were shown in Table 1. All subjects were abstinent from any medications for at least 1 week prior to the study. They were free from any medical illnesses or underlying diseases judged by physical examination and routine blood test including complete blood count, blood urea nitrogen and creatinine, liver function test, and special blood test for viral hepatitis and HIV. Before joining the study, all volunteers were informed the details, and signed written consent form to participate the study.

Study Design [1, 4]

Double blind, single dose, two treatment, two period, two sequence, randomized cross over design was used with one week washout period.

One week before and in the period of the study, all volunteers took no medicine and consumed no alcoholic beverages. Food had been abstained from 10.00 pm the night before the study. About 8.00 am, one 4 mg tablet of either Cazosin® or Cardura® was taken by each volunteer with 240 mL water.

Five milliliters of blood samples were taken at 0, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 6, 8, 12, 24 and 36 hours after drug taking and, then, centrifuged to separate plasma within 30 minutes. Plasma samples were stored at -40 °C. The plasma samples were analyzed for doxazosin content within five days after blood sample collection.

Analytical Method for Doxazosin in Plasma

Doxazosin content was analyzed using a validated high performance liquid chromato-graphy (HPLC), modified from published HPLC analysis methods for plasma doxazosin[5, 6]. The HPLC system consisted of a C18 column (Hypersil®, 250 x 4 mm, 5 µm, (Agilent Technologies, USA)

Table1. The demographic data of the volunteers

	Age (years)	Height (m)	Weight (kg)	Body Mass Index (kg/m^2)
Mean	22.49	1.72	62.58	21.21
SD	0.81	0.05	7.04	1.64
Max	24.4	1.80	77.00	23.88
Min	21.7	1.65	54.00	18.71

with column temperature of 25 °C. The mobile phase was acetonitrile:10 mM ammonium acetate (40:60) with a flow rate 1.0 ml/min. Fluorescence detector was set at Ex wavelength = 246 nm and Em wavelength = 376 nm Injection volume was 50 µL. The plasma sample was prepared by liquid-liquid extraction. Briefly, a 250 µl of plasma and 25 µl of 1000 µg/ml diazepam (internal standard) in acetronitrile were mixed in a microcentrifuge tube. A 500 µl of acetronitrile was added before vortex-mixed for 15 minutes, and then the mixture was centrifuged at 10900 rpm for 15 minutes. The 750 µl of 10 mM ammonium acetate was added, then the sample was vortex-mixed for 1 minutes. Each tube was centrifnged at 10900 rpm for 10 minutes. A portion of 50 µl of the supernatant was injected into the HPLC column (C18 ODS, Hypersil®, 125 x 4 mm, 5 µm column, Agilent Technologies, USA). The mobile phase was acetonitrile:10 mM ammonium acetate (40:60) at a flow rate of 1.0 ml/min. The fluorescence detector was set at excitation wavelength = 246 nm and emission wavelength = 376 nm. Validation of the analysis method e.g. specificity, accuracy, precision, lower limit of quantification (LLOQ), linearity, stability, extraction recovery, was performed before drug analysis. Standard curves were performed every day of analysis.

Data Analysis[1,4]

Plasma concentration - time curves were plotted. Pharmacokinetic parameters were determined. Maximum plasma concentration (C_{max}) which represents the extent of drug approached blood circulation and time to reach the peak concentration (T_{max}) which represents the rate of drug approached blood circulation were taken from the raw data. Area under the concentration time curve (AUC), with represents the extent of drug approached blood circulation was determined using trapezoidal rule. 90% confidence interval was calculated as follow.

90% confidence interval $= \Delta \pm t_{0.10,\nu}\sqrt{EMS\ (2/n)}$

Where Δ is a difference in means of log transformed pharmacokinetic parameters (C_{max} or AUC) between the test product and the reference, $t_{0.10,\nu}$ is the tabulated one-tail t value for a 90 % confidence interval, v is a degree of freedom of the error mean sqnare obtained from the ANOVA table, EMS is the error mean square from the ANOVA table and n is the number of subjects. Antilogarithm of the calculated confidence interval will yield an exact confidence interval for the ratio. Bioequivalence between the test and reference products would be stated if 90% confidence interval of the ratio of the log transform of the pharmacokinetic parameters, i.e. C_{max} and AUC, were in the range of 0.80 –1.25 (USP28). The power of the study for $AUC_{0->last}$, $AUC_{0->inf}$ and C_{max} were 98.0, 91.6 and 95.5 percents, respectively.

Results

For the analysis of doxazosin in human plasma by reversed-phase HPLC with fluorescence detecter, retention time of doxazosin and diazepam (internal standard) were about 5.0 and 6.8 minutes respectively. Intraday variation and interday variation of the analysis method were low with relative standard deviations (RSD) less than 5 %. Linear relationship between response and concentrations ($r^2 > 0.999$) was observed for doxazosin concentrations ranged from 1 to 50 ng/mL. The lower limit of quantification (LLOQ) was 1 ng/mL. The method has been found to be precise, accurate and suitable for the analysis of plasma samples from the bioequivalence study of doxazosin tablets (1 x 4 mg oral dose of doxazosin).

No side effect was noticed in all volunteers received either Cazosin® or Cardura® tablets. Average doxazosin plasma concentration – time curves of Cazosin® and Cardura® tablets are shown in Figure 1. Pharmacokinetic parameters, i.e. $AUC_{0->last}$, $AUC_{0->inf}$, C_{max}, T_{max}, are collated in Table 2.

T_{max} of volunteers who took Cazosin® (1.58 ± 0.56 hr) was not significantly different from those who took Cardura® (1.71 ± 0.81 hr) ($p > 0.05$, t-test). $AUC_{0->last}$ were 433.94 ± 97.25 and 455.57 ± 109.75 ng.hr/mL and $AUC_{0->inf}$ were 475.70 ± 112.19 and 499.11 ± 129.93 ng.hr/mL for Cazosin® and Cardura®, respectively. Average C_{max} were 40.62 ± 10.56 ng/mL and 41.53 ± 10.85 ng/mL for Cazosin® and Cardura®,

respectively. 90 % confidence interval of the ratio of $AUC_{0->last}$, $AUC_{0->inf}$ and C_{max} between Cazosin® and Cardura® were 0.878 – 1.041, 0.868 – 1.060 and 0.906 – 1.070 respectively.

Discussion

90 % confidence interval of the ratio of $AUC_{0->last}$, $AUC_{0->inf}$ and C_{max} between Cazosin®and Cardura® tablets were in the range of 0.80 to 1.25 as required by USP 28. Therefore, bioequivalence is able to indicate between Cazosin® and Cardura® 4 mg/tablet. The pharmcokinetics data from this study show that after oral administration, doxazosin is rapidly and well approached to the systemic circulation

The peak plasma levels of doxazosin (T_{max}) demonstrated within 2 hours which T_{max} of volunteers who took Cazosin® (1.58 ± 0.56 hr) was not significantly different from those who took Cardura® (1.71 ± 0.81 hr). The elimination half-life of doxazosin was approximately 10 hours [Cazosin® (10.34 ± 1.41 hr), Cardura® (10.21 ± 1.83hr)]. Both T_{max} and elimination half-life of doxazosin obtained from this study were close to the data previously reported which also studied in Thai volunteers[7].

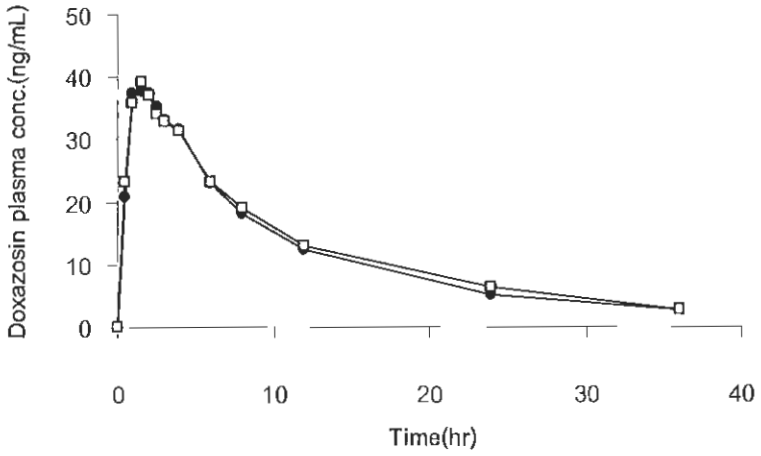


Figure 1 Average doxazosin plasma concentration at various sampling times of all volunteers after taking 1x4 mg/tablet. (•) Cazosin® (□) Cardura ® (n=12)

Table 2 Pharmacokinetic parameters of Cazosin® and Cardura® tablets and 90 % confidence interval (n=12)

Pharmacokinetic Parameters	Cazosin®	Cardura®	90 % Confidence Interval**
$AUC_{0->last}$ * (ng.hr/mL)	433.94 ± 97.25	455.57 ± 109.75	0.878 – 1.041
$AUC_{0->inf}$ * (ng.hr/mL)	475.70 ± 112.19	499.11 ± 129.93	0.868 – 1.060
C_{max} * (ng/mL)	40.62 ± 10.56	41.53 ± 10.85	0.906 – 1.070
T_{max} (hr)	1.58 ± 0.56	1.71 ± 0.81	
k_e (hr^{-1})	0.07 ± 0.01	0.07 ± 0.01	
$t_{1/2}$ (hr)	10.34 ± 1.41	10.21 ± 1.83	

* Log (base 10) data transformation

** A range of 0.80 – 1.25 is required by the United States Pharmacopeia (USP28)

Conclusion

The pharmacokinetic parameters of both Cazosin® and Cardura®, 1x4 mg/tablet, in 12 Thai healthy male volunteers were determined. C_{max} of Cazosin® and Cardura® tablets were 40.62 ± 10.56 ng/mL and 41.53 ± 10.85 ng/mL, respectively. $AUC_{0->last}$ were 433.94 ± 97.25 and 455.57 ± 109.75 ng.hr/mL, respectively. $AUC_{0->inf}$ were 475.70 ± 112.19 and 499.11 ± 129.93 ng.hr/mL, respectively. When statisties were tested as stated in USP guideline for bioequivalence study, 90% confidence interval of the log value of ratio of either C_{max}, $AUC_{0->last}$ or $AUC_{0->inf}$ between Cazosin® and Cardura® tablets were in the range of 0.80 - 1.25. Therefore, it can be concluded that the Cazosin® and Cardura® tablets used in this study are bioequivalent.

It should be noted that this finding was limited only to the lot used in the study. In addition, this study was designed as a single dose administration in healthy volunteers, therefore long term use in patients should be considered regarding the therapeutic effect.

References

1. *The United States Pharmacopeia 28: The National Formulary 23 (2005)*, Rockville, MD: The United States Pharmacopeial Convention, 2005: 2641-2681.
2. Sweetman SC, *Martindale: the Complete Drug Reference*. 33th ed., London, Pharmaceutical Press, 2002: 883.
3. *Drug Facts and Comparisons 2002. edition*, 56th ed., St. Louis, MO: Facts and Comparisons, 2002: 537-540.
4. กองควบคุมยา สำนักงานคณะกรรมการอาหาร และยา กระทรวงสาธารณสุข *หลักเกณฑ์และแนวปฏิบัติในการศึกษาชีวสมมูลของยาสามัญ (2543)* กองควบคุมยา สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข, 2543.
5. Fouda HG, Twomey TM, Schneider RP Liquid chromatographic analysis of doxazosin in human serum with manual and robotic sample preparation. *J Chromatography Sci*, 1988; 26:570 – 3.
6. Hughes MA, Meredith PA, Elliott HL The determination of trimazosin and its metabolite CP23445 in whole blood by high performance liquid chromatography using fluorescence detection. *J Pharmacol Methods*, 1984; 12: 29-34.
7. Sripalakit, P, Nermhom, P, Maphanta, S et al. A Bioequivalence Evaluation of Two Formulations of Doxazosin Tablet in Healthy Thai Male Volunteers. *Drug Dev Ind Pharm*, 2005; 31: 1035-40.

RESEARCH ARTICLES

Alpha-Lipoic Acid-Induced Apoptosis and Synergistic Effect of Aflatoxin B1 on The Generation of Reactive Oxygen Species in Hepatoma cell Line HepG2

Natthakorn Rangsoi[1], Wongwiwat Tassaneeyakul[1], Samlee Mankhetkorn[2], Suchart Kothan[2], Chatchanok Loetchutinat[2], Pramote Mahakunakorn[1], Supatra Porasuphatana[1]

[1]*Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002, Thailand*
[2]*Department of Radiologic Technology, Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University, Chiang Mai, 50200, Thailand.*

Abstract

Alpha-lipoic acid (ALA), a natural thiol-containing antioxidant has been shown to protect against oxidative stress in various conditions as well as demonstrated its actions to to induce apoptosis and inhibit proliferation of cancer cells. In this study, we investigated the pro-oxidant and antioxidant effects ALA on hepatoma cell line HepG2 as well as its effect on induction of apoptosis. Results showed that long-term exposure of HepG2 to ALA dose-dependently decreased cell number whereas contents of intracellular reduced glutathione (GSH) and intracellular reactive oxygen species (ROSi) were found to be elevated. Co-treatment with aflatoxin B1 (AFB1) not only prevented the increase of GSH but also promoted the generation of ROSi by ALA. Pro-oxidant and antioxidant actions of ALA were observed during immediate measurement of ROSi by using fluorescent probe, DCFH-DA. Increased apoptotic cell death in concomitant with increased generation of ROSi was also reported. In conclusion, our findings suggest biphasic approach of ALA in HepG2 and its capability of inducing apoptosis in this cancer cell line, supporting the potential role of this antioxidant in cancer therapy.

Key words : alpha-lipoic acid, aflatoxin B1, reactive oxygen species, hepatoma cell line, apoptosis

Address correspondence and reprints: Supatra Porasuphatana, Ph.D. Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002, Thailand. Phone/Fax : 66-4336-2089
Email address : psupatra@kku.ac.th

ฤทธิ์เหนี่ยวนำ apoptosis ของกรดแอลฟ่าไลโปอิก และการเสริมฤทธิ์กับสารพิษ aflatoxin B1 ในการสร้างสารออกซิเจนที่ไวปฏิกิริยาในเซลล์มะเร็งตับชนิดเพาะเลี้ยง HepG2

ณัฐฤากรณ์ รังสร้อย[1], วงศ์วิวัฒน์ ทัศนียกุล[1], สำรี มั่นเขตกรณ์[2], สุชาติ โกทันย์[2], ชัชนก เลิศชัยนาท[2], ปราโมทย์ มหคุณากร[1], สุพัตรา ปรศุพัฒนา[1]

[1]*คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 40002,*

[2]*ภาควิชารังสีเทคนิค คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 50200*

บทคัดย่อ

กรดแอลฟ่าไลโปอิก (ALA) ตัวต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติซึ่งมีโครงสร้าง thiol มีฤทธิ์ป้องกันความเครียดจากภาวะออกซิเดชันที่เกิดจากเหตุต่างๆ ได้ดี รวมทั้งมีฤทธิ์กระตุ้น apoptosis และยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งได้ ในงานวิจัยนี้เราได้ศึกษาฤทธิ์สนับสนุนและต้านออกซิเดชันของ ALA ต่อเซลล์มะเร็งตับชนิดเพาะเลี้ยง HepG2 ผลการทดลองพบว่าเซลล์ HepG2 ที่ได้รับสัมผัส ALA เป็นเวลานานพอ มีผลลดจำนวนเซลล์ลงโดยแปรตามขนาดการได้รับ ขณะที่ปริมาณ reduced glutathione (GSH) และออกซิเจนที่ไวปฏิกิริยาภายในเซลล์ (ROSi) เพิ่มมากขึ้น เมื่อให้ ALA พร้อมกับสารพิษaflatoxin B1 (AFB1) พบว่าสามารถลดการเพิ่ม GSH ได้ แต่กลับเพิ่มปริมาณ ROSi มากขึ้น ฤทธิ์สนับสนุนและต้านออกซิเดชันของ ALA ยังสามารถตรวจพบได้โดยเทคนิควิธีตรวจวัด ROSi อย่างรวดเร็วด้วยสารเรืองแสง DCFH-DA นอกจากนี้ยังพบการตายของเซลล์แบบ apoptosis เพิ่มมากขึ้นร่วมกับการเพิ่มปริมาณ ROSi ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า ALA สามารถออกฤทธิ์ได้ทั้งแบบสนับสนุนและต้านออกซิเดชันต่อเซลล์มะเร็งตับชนิดเพาะเลี้ยง HepG2 และยังกระตุ้นให้เกิดการตายของเซลล์แบบ apoptosis ต่อเซลล์มะเร็งชนิดนี้ได้ ซึ่งเป็นการสนับสนุนว่าสารต้านออกซิเดชันชนิดนี้อาจมีประโยชน์ในการรักษาโรคมะเร็งบางชนิดได้

คำสำคัญ : alpha-lipoic acid, aflatoxin B1, reactive oxygen species, hepatoma cell line, apoptosis

Introduction

Growing evidence of oxidative stress to be responsible in some chronic diseases including cancer has been well highlighted in the past decades[1-3]. Antioxidants, a group of agents either from natural or synthetic compounds, have shown pharmacological benefits on various kinds of cancer cells[4-5]. Among these, alpha-lipoic acid (ALA) is of particular interest and provides promising therapeutic role for various cancer types[6-8]. ALA is a naturally occurring thiol-containing molecule commonly found in mammals. It functions as an essential coenzyme in mitochondrial multienzyme complexes, and catalyzes the oxidative decarboxylation of α-keto acids such as pyruvate, α-ketoglutarate and branched-chain α-keto acid[9]. ALA has been shown to exert its antioxidant activity via several mechanisms such as radical scavenging, regenerating of other intracellular antioxidants and enhancing reduced glutathione (GSH) synthesis[10-11]. Not only antioxidant but also pro-oxidant actions of ALA have been reported, indicating sophisticated actions of ALA activities. Molecular mechanisms of ALA in cancer treatment has been more emphasized in which ALA has been shown to trigger apoptosis in many types of human cancer cell lines while it exerts a protective effect again apoptosis in normal cells[12], suggesting different biological actions in tumor and non-tumor cells.

Hepatocellular carcinoma (HCC) is the fifth most common cancer worldwide and the third most common cause of cancer mortality[13]. So far, no effective cure of HCC has yet been verified. Understanding of molecular mechanisms of chemoprevention associated with HCC could ultimately improve the current concept for preventing and treatment of the disease. Therefore, the study of ALA may provide informative details useful for the development of anticancer therapeutic strategies by using natural occurring compound to selectively eliminate cancer cells.

The aim of this study was to investigate the effects of ALA on human HCC cell line (HepG2). Besides sole action of ALA to induce cancer cell death, we put forwards the efforts to establish the effects of ALA in the presence of aflatoxin B1 (AFB1), a potent carcinogen found to induce HCC in several species, in terms of intracellular oxidative stress associated with cytoxicity and apoptosis in HepG2 cells.

Materials and Methods

Chemicals

ALA, AFB1, GSH, and bovine serum albumin (BSA) were purchased from Sigma (Sigma-Aldrich, USA). Fetal bovine serum, Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM), penicillin/streptomycin, and trypsin EDTA were purchased from GIBCO (USA). 3-(4,5-dimethythiazol-2-y)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) was from Molecular Probes Inc (Eugene, Oregon, USA), dimethyl sulfoxide (DMSO) was purchased from Aldrich (Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH. Germany), 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid (DTNB) was purchased from Fluka Analytical (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Switzerland), protein assay reagent was from Bio-Rad (USA), 2',7'-dichlorofluororescin diacetate (DCHF-DA) was obtained from Invitrogen (CA, USA), Annexin V-FITC kit (Annexin V-FITC solution 0.2 ml, 10x binding buffer 1.7 ml, propidium iodide 0.25 mg) was obtained from Imumunotach Backman Company (France).

Cell culture

Human HepG2 hepatoma cells were cultured at 37°C, 5% CO_2 in DMEM supplemented with 10% fetal bovine serum, 3.7 g/l sodium bicarbonate, 100 U/ml penicillin and 100 µg/ml streptomycin.

Cell viability assay : MTT assay

Cell proliferation was measured by MTT assay. Exponentially growing cells were plated into 96- well plates containing $1x10^4$ cells/well in 200 µl medium for 24 h. Then cells were treated with different concentrations of ALA (0-500 µM), AFB_1 10 µM and ALA in the combination with AFB_1 for 24 h. One-hundred fifty µl of MTT stock solution (5 mg/ml) was added into each well, and cells were further incubated at 37°C for 1 h. The supernatant was replaced with 200 µl DMSO to dissolve the formazan product. The absorbance at wavelength 550 nm was measured with a micro-ELISA reader (Bio-Rad Model 680, USA). The negative control well, into which only the medium had been added, was used for zeroing the absorbance. Each assay was performed in triplicates. The ratio of the absorbance of treated cells relative to that of the control cells were calculated and expressed as percentage of cell viability.

Flow cytometer

HepG2 cells were plated at $5x10^4$ cell/well into 24 well plates before treating with various concentrations of ALA (0-500 µM) for 72 h. Before analysis, cells were washed twice with PBS. The cell viability was immediately analyzed with the flow cytometer (Coulter Epics Xl-MCL, Beckman Coulter, USA).

Measurements of GSH contents

Cellular GSH measurement was determined following the method as previously reported[14]. Briefly, HepG2 cells ($4x10^5$cells/well) were seeded in each well of 24-well culture plates

and incubated for 24 h before treating with ALA and/or AFB1. At the end of designated treatment, cells were washed with PBS, harvested and lysed by three cycles of freezing and thawing in 10 mM HCl. Cell lysate was precipitated of protein by 0.5% SSA and subsequent centrifugation. The supernatants were assayed for GSH contents by spectrophotometric determination using a micro-ELISA reader (Bio-Rad Model 680 USA) of the reduction of DTNB to 5-thio-2-nitrobenzoic acid at a wavelength of 412 nm and protein concentration was determined by Bradford protein assay with BSA as a standard. The data were expressed as nmol/mg protein.

Measurements of intracellular reactive oxygen species (ROSi)

The formation of ROSi was measured using a fluorescent probe, DCFH-DA as described by Wang et al[14]. as an inactive marker of intracellular oxidation. DCFH-DA was hydrolyzed by intracellular esterases to non-fluorescent dichlorodihydrofluorescin (DCFH), the latter then reacted with ROSi to form highly fluorescent product 2',7'-dichlorofluorescein (DCF) which remained trapped inside the cells and fluorescence intensity could then be measured. Briefly, HepG2 cells were seeded at $1x10^5$ cells into 24-well plates, and treated with the indicated compounds (ALA, AFB1). After 24-h incubation at 37°C in 5% CO_2, cells were incubated with 10 µM DCFH-DA for another 30 min in darkness. Cells were collected using trypsin-EDTA and washed twice with PBS (pH 7.0). Fluorescence intensity in each cuvette containing cell suspensions per 3 ml of PBS was then immediately monitored on a spectrofluorometer (Perkin-Elmer Luminescence Spectrometer LS 50B) at the excitation wavelength of 485 nm and the emission wavelength of 535 nm.

In a first approximation, the uptake of DCHF-DA into cells and the subsequently observed DCF fluorescence intensity are assumed to proceed via the following mechanisms: (i) DCHF-DA is readily taken up by cells via passive diffusion across the plasma membrane, (ii) DCHF-DA is then deacetylated by cellular esterase enzymes to yield the oxidant sensitive DCHF, and (iii) Subsequent oxidation of DCHF by ROSi generates the highly fluorescent DCF. The overall scheme can be modeled by the consecutive reactions *(1)* and *(2)*:

$$\text{DCHF-DA} \xrightarrow[\text{Esterase } (E_0)]{k_1,\ \text{slow}} \text{DCHF} \quad \text{..... (1)}$$

$$\text{DCHF} + \text{ROS} \xrightarrow{k_2,\ \text{fast}} \text{DCF} \quad \text{..... (2)}$$

where $k_e = k_1[E]_0$ is the pseudo-first-order rate constant for reaction *(1)* (s^{-1}). The model is mathematically expressed in equation *(3)*.

$$[DCF] = \frac{[DCHF\text{-}DA]_0 \times (k_2[ROSi](1-e^{-k_1}) - k_e(1-e^{k_2[ROSi]_1}))}{k_2[ROSi]-k_e} \quad \text{.....(3)}$$

$k_2[ROSi]$ = the secondary order rate constant for reaction DCHF + ROS $\xrightarrow{k_2}$ DCF

The parameters intervening in DCF formation, k_e and $k_2[ROSi]$, can be quantitatively determined by fitting equation *(3)* to the experimental spectrofluorometric data. Considering the cell culture system, some amounts of ROS, notably H_2O_2, were detected in the extracellular environment or in the medium. In order to localize the interaction of ROSi and DCHF that occurred only inside of the cells, a quencher Co^{2+} was used to remove extracellular DCF fluorescence. In the presence of 20 mM Co^{2+}, an increase in fluorescence intensity was due to an increase in DCF formation inside the cells.

HepG2 cells ($2x10^5$ cells) were collected into a cuvette containing glucose 20 mM, *Luckhoff* buffer pH 7.25, and Co^{2+} and centrifuged at 7,000 *g* for 1 min. After the exposure to ALA, cells were loaded with DCHF-DA at a final concentration of 20 mM. Then cells were monitored as function of time on a Perkin-Elmer spectrofluorometer LS-50B with excitation and emission wavelengths of 485 and 535 nm respectively[15].

Apoptosis assay

To measure apoptotic cell death, an Annexin V-FITC apoptosis detection kit was used according to the manufacturer's protocol to analyze the extracellular facing plasma membrane phosphatidylserine residues with the confocal microscope and the flow cytometer. Briefly, cells were grown in 24-well microtiter plate at concentration of approximately $5x10^4$ cells/ml. After treated with ALA for 44 h, cells were harvested and suspended in the provided media binding reagent with subsequent centrifugation at 7,000 *g* for 1 min. Flow cytometry for detection of apoptosis was performed with propidium iodide (PI) and fluorescein isothiocyanate (FITC) labeled Annexin V in an Annexin V-FITC kit. Samples were washed in cooled PBS at 4°C and centrifuged at 7,000 *g* for 1 min. The pellets were resuspended and adjusted to $1x10^6$ cells/ml with the binding buffer of the kit. FITC labeled Annexin V (1 µl) and PI (5 µl) were added to the suspension (394 µl). After incubation for 10 min at room temperature, the suspensions were analyzed with flow cytometer[16].

Data analysis

All data were entered into SPSS 11.5 statistical software and analyzed using one way ANOVA. All *p* values of less than 0.05 were considered to be statistically significant.

Results

Effects of ALA on viability of human hepatoma *cell line (HepG2)*

Since ALA was dissolved in DMSO, the toxic effect of DMSO on cell viability was performed in this study and results showed that percents cell viability were found to be 89.5% and 76% at 0.2% and 0.5% of DMSO, respectively. The concentration of DMSO at 0.2% was then chosen to dissolve ALA in which it provided sufficient dissolubility of ALA without excessive cell death. 24 h exposure of HepG2 to various concentrations of ALA (50–500 μM) resulted in a concentration-dependent decrease of HepG2 cells following the incubation for 24 hrs. Upon the exposure of HepG2 cells to ALA, significant cell loss was observed when ALA concentration reached 300 μM both by MTT assay and flow cytometry. Increasing concentration of ALA further accelerated the loss of cell numbers (Figure 1). Non-corresponding degree in declining of HepG2 cell numbers compared between the MTT assay and flow cytometry was noticed. At the highest dose of ALA (500 μM), percents viability of cells determined by the MTT assay and the flow cytometry were found to be 85% and 60%, respectively.

Effects of ALA on GSH contents

Results demonstrated that cells exposed to ALA showed a concentration-dependent increase of GSH contents in which significant increases were observed at the ALA concentrations of 300–500 μM (Figure 2). At the highest concentration of ALA, GSH level was increased up to 50% compared to control. However, the treatment with 10 μM AFB1 significantly reduced the GSH levels by 33% in the absence of ALA. Subsequent study to verify the effect of ALA in combination of AFB1 showed that the presence of 10 μM AFB1 in the culture media prevented the enhancement of GSH by ALA (Table 1).

Effects of ALA on ROS generation in HepG2 cell line

A significant increase of ROSi in HepG2 cells within 30 min following the treatment of ALA indicated an immediate stimulation of ROSi generation in HepG2 cells by ALA. Further exposure of ALA up to 24 h led to higher levels of ROSi, showing a time-dependent manner of ALA-induced ROSi generation in HepG2 cells (Figure 3). Treatment of HepG2 cells with various concentrations of ALA for 24 h caused a concentration-dependent increase of ROSi generation. When compared to ALA alone, additional generation of ROSi was detected when cells were co-incubated with 10 μM AFB1 (Figure 4). The combined exposure of HepG2 cells to ALA and AFB1 clearly demonstrated the synergistic effect of these two compounds to generate ROSi. When the concentration of AFB1 was fixed at 10 μM, increasing concentration of ALA showed greater increase of ROSi when compared to the effect of either ALA or AFB1 alone. Figure 4 shows that fluorescence intensity increased approximately 1.5 folds compared to control through out the concentration range of 0-500 μM of ALA. The presence of 10 μM AFB1 in combination of ALA at various concentrations enhanced the fluorescence intensity of HepG2 cells by additional 1.45 folds over the effect of either ALA or AFB1 alone.

The first-order rate constant, $k_1E_o(K_e)$, representing the deacetylation by cellular esterase enzymes to yield the oxidant sensitive DCHF was found to gradually decrease when ALA concentrations were increased from 50 μM to 500 μM, attending significant differences at concentrations of 300 μM and 500 μM (Figure 5). The secondary order rate constant for reaction of DCFH to react with ROS, k_2[ROSi], was found to increase at ALA concentrations from 0–500 μM and reached the highest level at 200 μM. In contrast, at higher concentrations of ALA from 300–500 μM, k_2[ROSi] started to decline, suggesting a slower reactions between DCFH and ROS at high ALA concentrations (Figure 6).

ALA-induced apoptosis in HepG2 cell line

After treated HepG2 cells with ALA (0–500 μM) for 44 h, the increase of apoptotic cell death was significant only at 500 μM, indicating that ALA induced apoptosis in HepG2 cells at a very high concentration. Etoposide, a positive control, caused a 2-fold higher increase in apoptotic cell death than that of 500-μM ALA.

Discussion

In this study we utilized two different techniques, the MTT and the flow cytometry assays to investigate biological activities of ALA in HepG2 cells. While the flow cytometer measures actual viable cell numbers, the MTT assay relies on the conversion of MTT to formazan by mitochondrial enzyme in living cells as an indicative marker of cell viability. We observed enormous decrease of cell viability as determined by flow cytometer whereas cell viability in terms of mitochondrial activity demonstrated less reduction as compared to untreated control cells despite the fact that values from both techniques were found to be significantly different. It is possible that, regardless of the great reduction of cell number, the overall mitochondrial activity of the remaining cells were still maintained. Therefore, either up-regulated mitochondrial en-

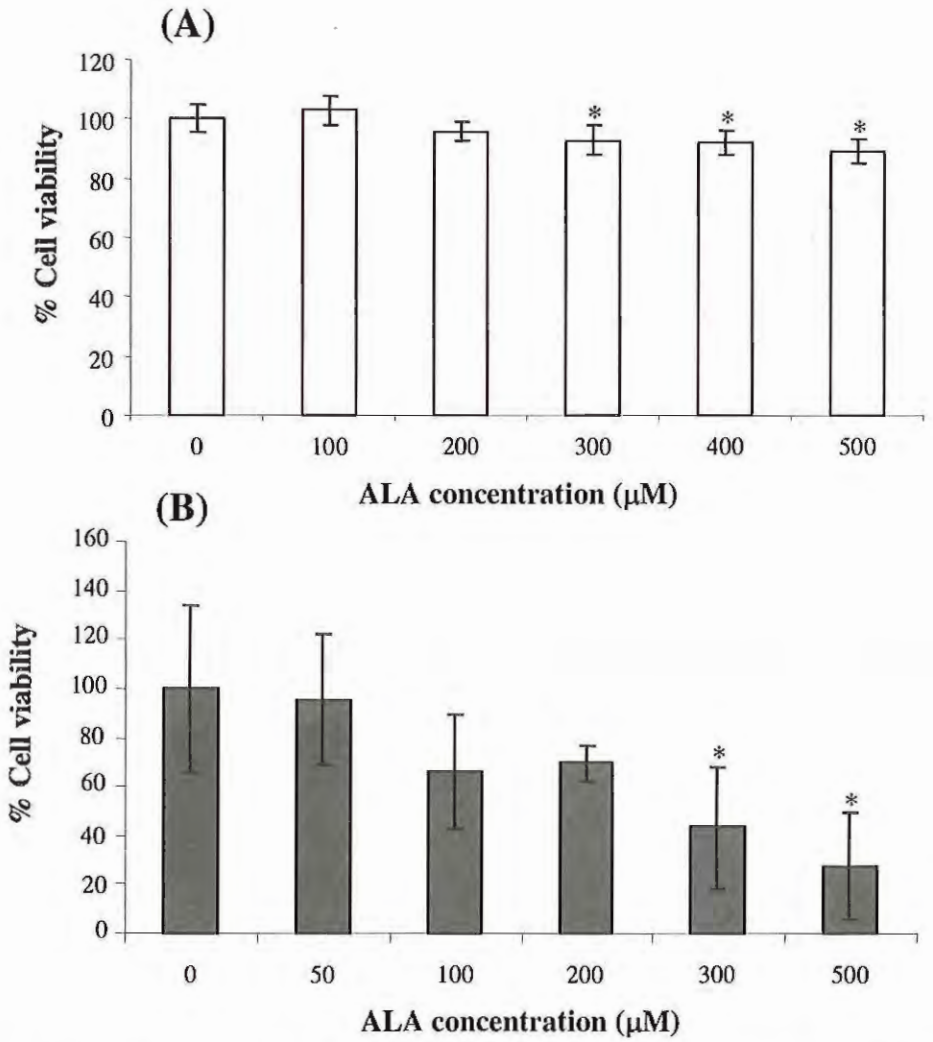


Figure 1 Viability of HepG2 cells after 24-h incubation with ALA at various concentrations (0–500 μM) as assayed by MTT (A), and by flow cytometry technique (B). Results are expressed as percent of control and significant difference from control cells: # $p<0.05$, * $p<0.01$) ($n = 3$).

Table 1. Intracellular GSH contents of HepG2 cells following exposure to AFB1 alone or in combination with various concentrations of ALA.

Treatment	GSH contents (% of control)
Control (without AFB1)	100 ± 0.4
10 μM AFB1	67.0 ± 0.3
10 μM AFB1 + 200 μM ALA	65.0 ± 0.3
10 μM AFB1 + 300 μM ALA	67.0 ± 0.3
10 μM AFB1 + 400 μM ALA	68.0 ± 0.1

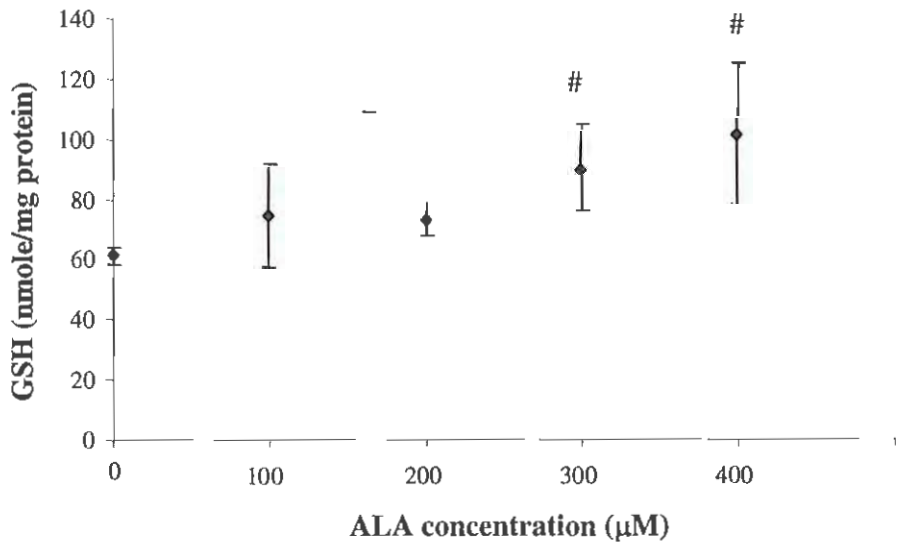


Figure 2 Increase of GSHi contents of HepG2 cells exposed to ALA at various concentrations (0–500 μM) for 24 h. Significant difference from control cells: # $p<0.05$) (n = 3).

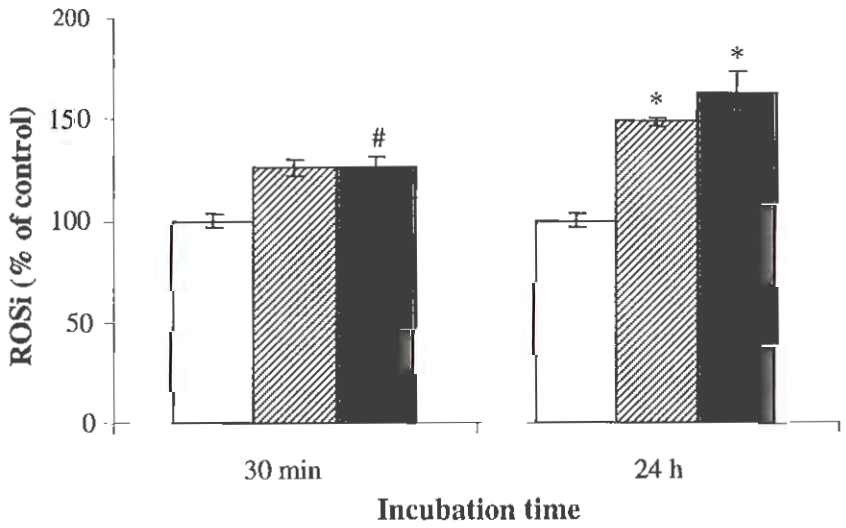


Figure 3 Percent ROSi as determined by fluorescent intensity of HepG2 cells incubated with 200 μM ALA (▨ or 10 μM AFB1 (■ for 30 min and 24 h. Significant difference from control cells: #$p<0.05$, * $p<0.01$) (n = 3).

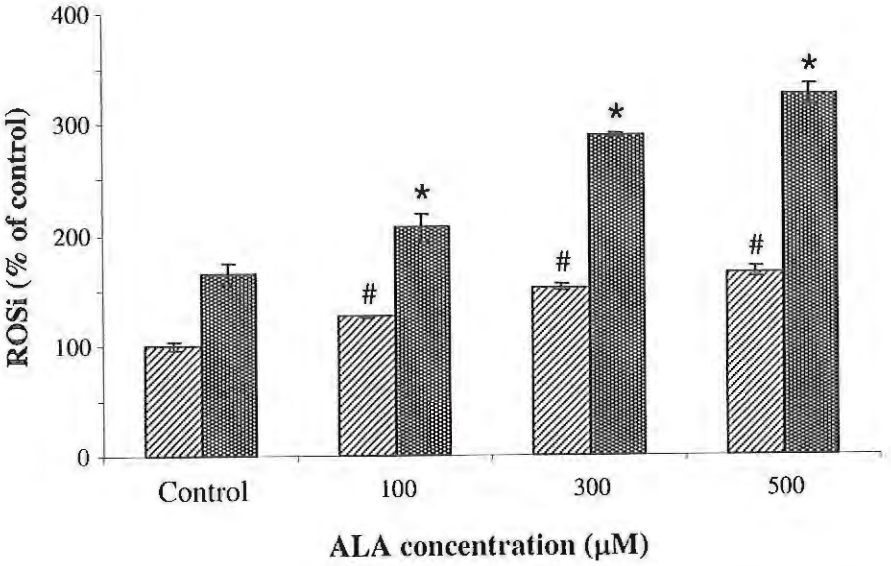


Figure 4 Percent ROSi as determined by fluorescent intensity of HepG2 cells incubated with various concentrations of ALA (0-500 μM) alone (▨) or in combination with 10 μM AFB1 (▩) for 24 h. Significant difference from control cells: # $p<0.01$ (ALA), * $p<0.01$ (AFB1) ($n = 3$).

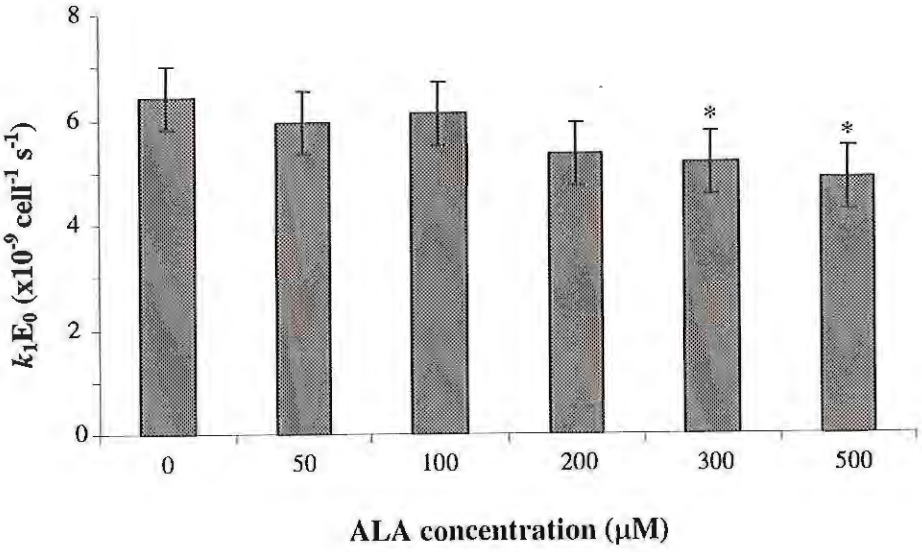


Figure 5 Effects of increasing concentrations of ALA on $k_1E_0(K_e)$ of HepG2 cells. Significant difference from control cells: # $p<0.05$, * $p<0.01$) ($n = 3$).

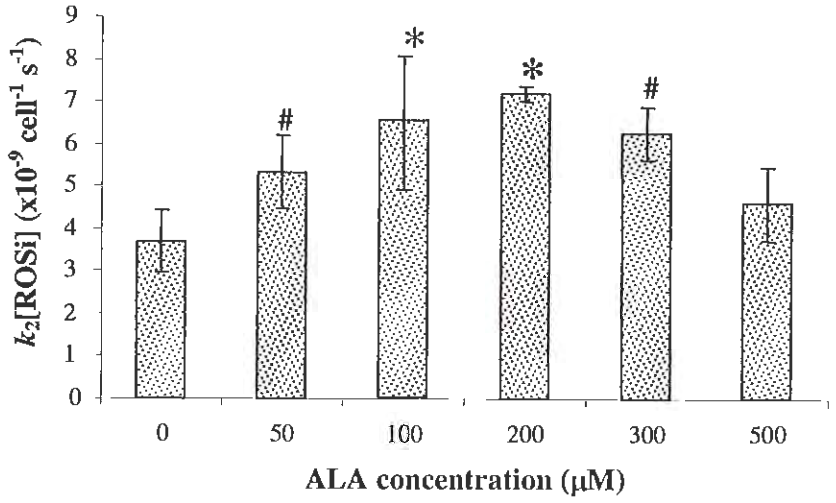


Figure 6 Effects of increasing concentrations of ALA on k_2[ROSi] of HepG2 cells. Significant difference from control cells: # $p<0.05$, * $p<0.01$) (n = 3).

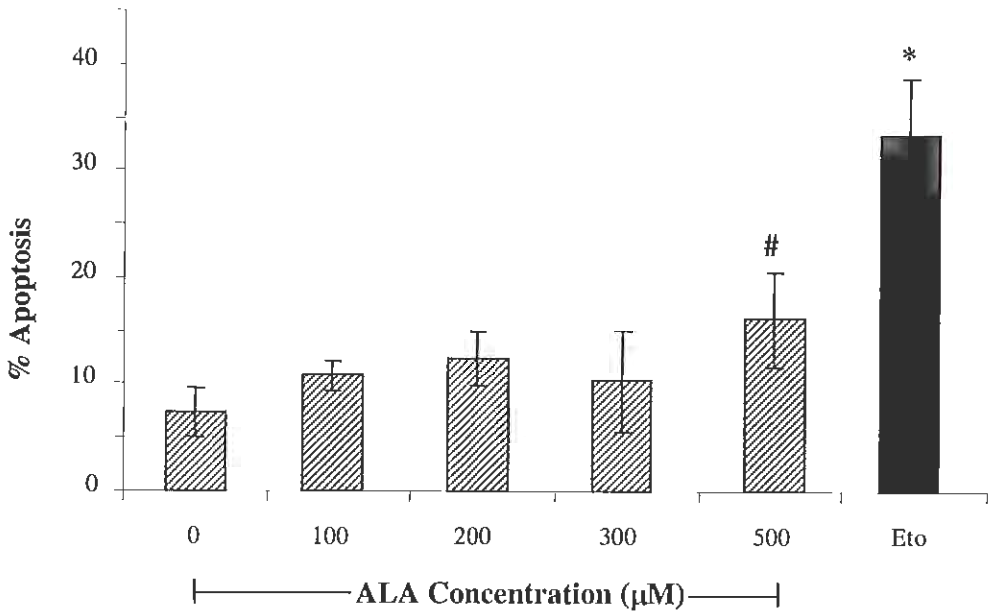


Figure 7 Apoptosis of HepG2 cells induced by ALA (100–500 μM) compared to etoposide (100 μM) as a positive control. Significant difference from control cells: for # $p<0.05$, * $p<0.01$) (n = 3).

zyme or increase of mitochondrial activity of those individual survived cells could be responsible for the observed effects. To solve this hypothesis, determination of single cell mitochondrial activity upon the exposure of ALA could help providing insight into detailed mechanism at molecular levels.

Numerous studies conducted in human cells have demonstrated that, following intracellular reduction of ALA to its reduced form, dihydrolipoic acid (DHLA). DHLA is then rapidly released into the extracellular space where it subsequently reduces cystine to cysteine. Cysteine is then taken up by the neutral amino acid transporters and is used in intracellular glutathione synthesis. Enhancement of intracellular availability of cysteine, by bypassing the rate-limiting cystine transport system, has been proposed to be the underlying mechanism of ALA to elevate GSH levels observed in the cell[17-18]. Hultberg, *et al*[19]. reported the increase of GSH in HepG2 0.8 and 2.3 folds when cells were incubated with ALA for 3 days at the concentrations of 100 and 500 μM, respectively. We showed here that the presence of AFB1, co-incubated with ALA, considerably prevented ALA-induced elevation of GSH levels. This appears to be due to excessive oxidative stress provoked by the presence of AFB1 that accelerates a rapid utilization of GSH in the detoxifying processes, thus preventing the enhancement of GSH by ALA.

The formation of ROSi in HepG2 cells was found to be enhanced by the exposure of ALA or AFB1 within the first 30 min. Time-dependent increase of ROSi was shown when incubation of HepG2 cells with ALA and AFB1 was extended to 24 h and led to 50% and 70% increase in ROSi compared to control, respectively. AFB1-associated increase of ROSi has been well correlated to its capacity to induce oxidative stress as well as DNA damage in hepatocytes and hepatoma cell lines[20] whereas treatment of ALA on HepG2 cells has recently been found to alter the redox state of the cells as demonstrated by the increase of ROSi[8]. This present study confirmed the concentration-dependent increase of ROSi and that the increase of ROSi formation caused by ALA was responsible for the reduction of cell viability. Our results also demonstrated the synergistic actions of the co-exposure of ALA and 10 μM AFB1 in ROSi formation after 24-h incubation.

Determination of ROSi immediately after the addition of ALA to HepG2 cells showed reduction of $k_1E_o(K_e)$, the first-order rate constant for the deacetylation by cellular esterase enzymes to yield the oxidant sensitive DCHF, when concentrations of ALA were increased. This might be due to the reduction of de-acetylation activity of intracellular esterase at high concentrations of ALA (300–500 μM). Since esterase is required for the conversion of DCFH-DA to DCFH, reduction of esterase activity could lead to a lesser amount of DCFH available to react with ROSi and thereby causing a decline of measurable fluorescence intensity. However, k_2[ROSi], the secondary order rate constant for reaction of DCFH to react with ROSi, was found to exhibit biphasic approach, supporting the roles of pro-oxidant and antioxidant actions of ALA which are dependent of cell types and redox status inside the cells[18,21]

Taken together, results of immediate reactions showed that, although reduction of $k_1E_o(K_e)$ was observed at high concentration of ALA, degree of the reduction of k_2[ROSi] was found to be more pronounced. It was suggested that esterase activity alone may not be solely responsible for a slower reaction between DCFH and ROSi at high ALA concentrations. Accordingly, antioxidant action of ALA is most likely to play a role in these circumstances. We also demonstrated here that ALA induced apoptosis in HepG2 cells in a concentration-dependent manner. Increase in ROSi generation could possibly contribute to the alteration of redox state of the cells, leading to triggering of apoptotic pathway. Based on its cytotoxic actions to induce apoptosis and cell death in tumor cells[6-8], ALA has been well recognized in the cancer research field as a potential adjunctive agent for cancer therapy. More studies are required to put forward an effective utilization of ALA in clinical oncology.

Acknowledgements

The authors gratefully acknowledge the financial support from the Graduate School, Khon Kaen University. We thank Department of Radiologic Technology, Faculty of Associated Medical Science, Chiang Mai University for allowing us to access to laboratory facilities, Dr. Chanwit Leelayuwat for providing HepG2 cell line and Drs. Udom Chantharaksri and Wichitra Tassaneeyakul for their excellent comments on the study results.

References

1. Klaunig JE, Kamendulis LM. The role of oxidative stress in carcinogenesis. *Annual Rev Pharmacol Toxicol* 2004; 44:239-67.
2. Valko M, Izakovic M, Mazur M, et al. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Mol Cell Biochem* 2004; 266: 37-56.
3. De Flora S, Ferguson LR. Overview of mechanisms of cancer chemoprevention agents. *Mut Res* 2005; 591:8-15.
4. Willcox JK, Ash SL, Catignani GL. Antioxidants and prevention of chronic diseases. *Crit Rev Food Sci Nutri* 2004; 44: 275-95.

5. Serafini M, Villano D, Spera G, Pellegrini N. Redox molecules and cancer prevention: the importance of understanding the role of the antioxidant network. *Nutri Cancer* 2006; 56: 232-40.
6. Wenzel U, Nickel A, Daniel H. α-Lipoic acid induces apoptosis in human colon cancer cells by increasing mitochondrial respiration with a concomitant $O_2^{\bullet-}$-generation. *Apoptosis* 2005;10: 359-68.
7. Moungjaroen J, Nimmannit U, Callery PS, et al. Reactive oxygen species mediate caspase activation and apoptosis induced by lipoic acid in human lung epithelial cancer cells through Bcl-2 down regulation. *J Pharmacol Exp Ther* 2006; 319: 1062-9.
8. Simbula G, Columbano A, Ledda-Columbano GM, et al. Increased ROS generation and p53 activation in α-lipoic acid-induced apoptosis of hepatoma cells. *Apoptosis* 2007;12:113-23.
9. Packer L, Witt EH, Tritschler HJ. Alpha-lipoic acid as a biological antioxidant. *Free Rad Biol Med* 1995;19:227-50.
10. Jones W, Li X, Qu ZC, et al. Uptake, recycling, and antioxidant actions of alpha-lipoic acid in endothelial cells. *Free Rad Biol Med* 2002;33:83-93.
11. Bharat S, Cochran BC, Hsu M, et al. Pre-treatment with R-lipoic acid alleviates the effects of GSH depletion in PC12 cells; implications for Parkinson's disease. *Neurotoxicol* 2002; 23: 479-86.
12. van de Mark K, Chen JS, Steliou K, et al. Alpha-lipoic acid induces p27Kip-dependent cell cycle arrest in non-transformed cell lines and apoptosis in tumor cell lines. *J Cell Physiol* 2003; 194: 325-40.
13. El-Serag HB, Rudolph KL. Hepatocellular carcinoma: epidemiology and molecular carcinogenesis. *Gastroenterology* 2007; 132: 2557-76.
14. Wang YM, Peng SQ, Zhou Q, et al. Depletion of glutathione mediates butenolide-induced cytotoxicity in HepG2 cells. *Toxicol Lett* 2006;164:231-8.
15. Loetchutinata C, Kothan S, Dechsupa S, et al. Spectrofluorometric determination of intracellular levels of reactive oxygen species in drug-sensitive and drug-resistant cancer cells using the 2',7'dichlorofluorescein diacetate assay. *Rad Phys Chem* 2004; 72: 323–31.
16. Xiadong M, Tian X, Huang X, et al. Resveratrol-induced mitochondrial dysfunction and apoptosis are associated with Ca^{2+} and mCICR-mediated MPT activation in HepG2 cells. *Mol Cell Biol* 2007;302:99-109.
17. Han D, Handelman G, Marcocci L, et al. Lipoic acid increases de novo synthesis of cellular glutathione by improving cystine utilization. *Biofactors* 1997;6:321-8.
18. Moini H, Packer L, Saris NE. Antioxidant and prooxidant activities of α-lipoic acid and dihydrolipoic acid. *Toxicol Appl Pharmacol* 2002;182:84-90.
19. Hultberg B, Andersson A, Isaksson A. Lipoic acid increases glutathione production and enhances the effect of mercury in human cell lines. *Toxicology* 2002;175:103-10.
20. Guindon KA, Bedard LL, Massey TE. Elevation of 8-hydroxydeoxyguanosine in DNA from isolated mouse lung cells following in vivo treatment with aflatoxin B1. *Toxicol Sci* 2007;98:57-62.
21. Cakatay U, Kayali R, Sivas A, et al. Prooxidant activities of alpha-lipoic acid on oxidative protein damage in the aging rat heart muscle. *Arche Gerontol Ger* 2005; 40:231-40.

REVIEWS

Cinnamon and Diabetes Mellitus

Sirichai Adisakwattana

Department of Transfusion Medicine, Faculty of Allied Health Sciences, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand
The Halal Science Center, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

Abstract

Diabetes mellitus is a chronic metabolic disease that has a significant impact on the health and quality of life, as well as on the health care system. Recently, an alternative approach of herbal medicine with antihyperglycemic activities has been increasingly sought by diabetic patients. Cinnamon, one of the herbs, has been shown to increase glucose uptake and glycogen synthesis and improve glucose and lipid profiles of type 2 diabetes patients. Cinnamon polyphenols with doubly linked procyanidin type-A polymers, isolated from cinnamon, display insulin like activity by increasing the activity of autophosphorylation of the insulin receptor and decreasing the activity of tyrosine phosphatase. Moreover, this compound also stimulates glucose uptake and glycogen biosynthesis, activate glycogen synthase, and inhibit glycogen synthase kinase-3β. There are very few clinical trials evaluating the efficacy of cinnamon in type 2 diabetes mellitus. There were 2 clinical studies reported the effects of cinnamon to lower blood glucose levels in type 2 diabetes. However, there were conflicting results that showed no significant reduction of blood glucose in cinnamon- treated type 2 diabetes patients. More clinical trials with larger populations are needed to confirm its effects and to determine the extent of its effects on blood glucose and lipids. Because of its relative safety, low cost, and potential efficacy, cinnamon may be an alternative for diabetic patients who may be interested in using cinnamon alone or in combination with modern anti-diabetic agents.

Key words: Diabetes Mellitus, cinnamon, herbal medicine

Address correspondence and reprints: Sirichai Adisakwattana, Department of Transfusion Medicine, Faculty of Allied Health Sciences, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand. Tel: +662-218-1054 Fax:+662-218-1053

อบเชยกับโรคเบาหวาน

สิริชัย อดิศักดิ์วัฒนา
ภาควิชาเวชศาสตร์การธนาคารเลือด คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

โรคเบาหวานเป็นโรคที่เกี่ยวข้องกับความผิดปกติทางระบบเมตาบอลิสมของร่างกายที่รักษาไม่หายขาด ส่งผลเสียต่อสุขภาพและคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยรวมทั้งส่งผลกระทบโดยตรงกับระบบสาธารณสุข ในปัจจุบันการใช้สมุนไพรที่มีฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลเป็นหนทางเลือกหนึ่งของผู้ป่วยเบาหวานเพื่อควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด อบเชยเป็นสมุนไพรตัวหนึ่งที่มีรายงานการศึกษาถึงความสามารถในการเพิ่มกระบวนการนำกลูโคสไปใช้ในเซลล์ เพิ่มการสังเคราะห์ไกลโคเจน ลดระดับน้ำตาลและไขมันในเลือดในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่2 สารสำคัญที่พบในอบเชยคือ ซินนามอนโพลีฟีนอลในรูปของ doubly linked procyanidin type-A polymers ซึ่งสารดังกล่าวมีฤทธิ์คล้ายกับฮอร์โมนอินสุลิน โดยกลไกการออกฤทธิ์ของซินนามอนโพลีฟีนอลจะกระตุ้นให้เกิดการเติมฟอสเฟตบนตัวรับฮอร์โมนอินสุลิน และลดการทำงานของไทโรซีนฟอสฟาเทส นอกจากนี้สารดังกล่าวกระตุ้นการให้เกิดกระบวนนำกลูโคสไปใช้ในเซลล์ เร่งการสังเคราะห์ไกลโคเจน โดยการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ไกลโคเจนซินเทส และยับยั้งการทำงานของไกลโคเจน ซินเทสไคเนสเบต้า มีการศึกษาทางคลินิกประเมินถึงประสิทธิภาพของการใช้อบเชยกับผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 จำนวนมาก ซึ่งมีจำนวน 2 การศึกษาที่รายงานว่าอบเชยสามารถลดระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดของผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 แต่ในทางตรงกันข้ามมีบางการศึกษาระบุว่า อบเชยไม่สามารถลดระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ได้ ดังนั้นเพื่อให้ได้ข้อมูลยืนยันชัดเจนถึงประสิทธิภาพของอบเชยในการลดระดับน้ำตาลกลูโคสและไขมันในเลือดจึงจำเป็นต้อง มีการศึกษาทางคลินิกโดยเพิ่มจำนวนผู้ป่วยมากขึ้น เนื่องจากอบเชยมีความปลอดภัย ราคาถูกและมีประสิทธิภาพในการลดน้ำตาลในเลือดที่ดี อบเชยอาจเป็นทางเลือกอีกทางหนึ่งสำหรับผู้ป่วยเบาหวานที่สนใจในการใช้สมุนไพรเพื่อควบคุมระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดอย่างเดียวหรืออาจการใช้อบเชยร่วมกับยาควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดแผนปัจจุบันได้

คำสำคัญ: โรคเบาหวาน, อบเชย, สมุนไพร

บทนำ

โรคเบาหวานเป็นภาวะที่เมตาบอลิสึมของร่างกายผิดปกติ โดยตับอ่อนไม่สามารถสร้างอินซูลินให้เพียงพอหรือเกิดจากภาวะที่อินสุลินไม่สามารถทำงานได้ตามปกติ ส่งผลให้ระดับน้ำตาลกลูโคสในกระแสเลือดสูงขึ้น ในปัจจุบันโรคเบาหวานเป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญและจำเป็นต้องได้รับการแก้ไขอย่างเร่งด่วน ประเทศสหรัฐอเมริกาเป็นหนึ่งในประเทศที่กำลังประสบปัญหาด้านสาธารณสุขจากการเพิ่มขึ้นของจำนวนผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวาน ซึ่งคาดกะเนได้ว่าจำนวนผู้ป่วยเบาหวานจะสูงถึง 20 ล้านคนขึ้นไป และในปี ค.ศ. 2005 ที่ผ่านมามีผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคเบา-หวานเพิ่มขึ้นอีก 1.5 ล้านคน[1] เมื่อปี ค.ศ. 1999 มีการสำรวจและคาดกะเนถึงจำนวนผู้ป่วยเบาหวานในประเทศไทย พบว่ามีผู้ป่วยเบาหวานอยู่ประมาณ 9.6% ของคนที่มีอายุ 35 ปีขึ้นไปและในจำนวนนี้มีผู้ป่วยที่มีภาวะ impaired fasting glucose ถึง 5.6%[2]

ปัจจุบันนี้ โรคเบาหวานได้ส่งผลกระทบโดยตรงต่อเศรษฐกิจในบางประเทศที่พัฒนาแล้ว เช่น ประเทศสหรัฐอเมริกา ซึ่งค่าใช้จ่ายในการดูแลรักษาผู้ป่วยเบาหวานสูงถึง 132,000 ล้านบาท ต่อปี จากค่าใช้จ่ายทั้งหมดนี้เป็นค่ายารักษาถึง 92,000 ล้านบาท[1] ดังนั้นทางวงการแพทย์จึงพยายามค้นหาหนทางในการรักษาโรคเบาหวานแนวทางใหม่ โดยมุ่งเน้นไปสู่การใช้สมุนไพรและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติเพื่อมาบำบัดรักษาและใช้ในการควบคุมระดับน้ำตาลกลูโคสในกระแสเลือด ช่วยลดภาวะโรคแทรกซ้อนต่าง ๆ ที่จะเกิดขึ้นจากโรคเบาหวานในอนาคตได้ เช่น โรคไต โรคหัวใจ ความดันโลหิตสูง และโรคไขมันอุดตันในเส้นเลือด เป็นต้น

อบเชย หรือ ซินนามอน (Cinnamon) เป็นเครื่องเทศสีน้ำตาล กลิ่นหอมหวาน ได้มาจากเปลือกไม้ชั้นในของต้นอบเชย โดยทั่วไปจัดว่าอบเชยเป็นเครื่องเทศที่ผู้คนทั่วโลกรู้จักกันเป็นอย่างดี และนำอบเชยไปใช้เป็นส่วนผสมในอาหารนานาชนิด ในทางการแพทย์สมัยก่อน อบเชยยังถูกนำมาใช้เป็นยารักษาโรคโดยมีสรรพคุณทางยา ได้แก่ แก้อาการจุกเสียด แน่นท้อง ขับลม ช่วยรักษาแผลในกระเพาะอาหาร ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย ลดระดับน้ำตาลในเลือด อบเชยที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบันได้มาจากอบเชยสองสายพันธุ์ ได้แก่ *Cinnamomum verum* หรือรู้จักในชื่อวิทยาศาสตร์อีกชื่อหนึ่ง คือ *Cinnamomum zeylanicum* (อบเชยเทศ) และอีกชนิดคือ *Cinnamomum cassia* หรือ *Cinnamomum aromaticum* (อบเชยจีน) อบเชยชนิดนี้มักนำมาใช้ในการปรุงอาหารและพบได้ทั่วไปตามร้านค้า

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของอบเชยในการลดระดับน้ำตาลในเลือด

ในเปลือกของต้นอบเชยประกอบไปด้วยสารเคมีหลากหลายชนิด โดยพบว่า cinnamic acid, cinnamyl alcohol และ cinnamaldehyde (รูปที่ 1) เป็นสารเคมีที่เป็นองค์ประกอบหลัก[3] ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของ cinnamaldehyde ต่อการลดระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือด พบว่าเมื่อให้ cinnamaldehyde ในขนาด 5 -20 mg/kg ทางปากเป็นระยะเวลานาน 45 วันแก่หนูขาวที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานด้วย streptozotocin (STZ) สามารถลดระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดได้ โดยเฉพาะที่ขนาดมากที่สุดของ cinnamaldehyde คือ 20 mg/kg สามารถลดระดับ glycosylated hemoglobin (HbA_{1C}) ระดับ cholesterol, triglyceride และยังเพิ่มระดับฮอร์โมนอินสุลินและปริมาณของ high-density lipo-protein [(HDL)–cholesterol] นอกจากนี้ การให้ cinnamaldehyde ในขนาดดังกล่าว ยังช่วยลดระดับ alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), lactate dehydrogenase (LDH), alkaline phosphatase (ALP) และ acid phosphatase (ACP) ซึ่งจากการทดสอบพิษเฉียบพลันโดยให้ cinnamaldehyde ทางปาก พบว่ามีค่า LD_{50} อยู่ที่ 1850 mg/kg[4]

นอกจากนี้มีการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดอบเชยที่ใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในการลดระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดทั้งในหลอดทดลองและสัตว์ทดลอง ในปี ค.ศ. 2006 Kim และคณะ ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดอบเชยจีนโดยใช้น้ำเป็นตัวสกัดต่อการลดระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดของหนูเบาหวานชนิดที่ 2 เป็นระยะเวลา 6

สัปดาห์ ซึ่งสารสกัดดังกล่าวที่ขนาด 50-200 mg/kg สามารถลดระดับน้ำตาลกลูโคสในกระแสเลือดได้โดยที่เป็นไปตามขนาดของสารสกัดอบเชยที่ได้รับ สารสกัดอบเชยจีนขนาด 200 mg/kg มีฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลกลูโคสมากที่สุดแล้วยังลดระดับ cholesterol และ triglyceride ในหนูเบาหวานได้อีกด้วย นอกจากนี้สารสกัดอบเชยจีนสามารถลดปริมาณเอนไซม์อัลฟากลูโคซิเดส (α-glucosidase) ได้แก่ เอนไซม์มอลเตส (maltase) และซูเครส (sucrase) ที่บริเวณลำไส้เล็กเมื่อเปรียบเทียบกับหนูขาวที่ไม่ได้รับสารสกัด โดยเอนไซม์เหล่านี้ทำหน้าที่ย่อยคาร์โบไฮเดรตให้กลายเป็นน้ำตาลกลูโคสก่อนดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือด ดังนั้นเมื่อเอนไซม์เหล่านี้ลดปริมาณลงหรือถูกยับยั้งการทำงาน จะช่วยชะลอการดูดซึมน้ำตาลกลูโคสให้ช้าลง การดูดซึมน้ำตาลกลูโคสเข้าสู่กระแสเลือดก็จะช้าลงเช่นกัน[5]

ในหนูเบาหวานที่เกิดภาวะ insulin resistance จะมีการเพิ่มกระบวนการ gluconeogenesis โดยการกระตุ้นให้เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนนี้ทำงานมากขึ้น ในทางกลับกันมีการเพิ่มการสลายไกลโคเจนที่สะสมในตับและกล้ามเนื้อให้เปลี่ยนเป็นกลูโคสเพิ่มมากขึ้น มีการศึกษาหนึ่งที่น่าสนใจคือ สารสกัดน้ำของอบเชยเทศสามารถป้องกันภาวะ insulin resistance ในหนูเบาหวานชนิดที่ 2 ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยการได้รับน้ำตาลฟรุกโตสในปริมาณสูงได้ โดยหนูเบาหวานที่ได้รับสารสกัดน้ำอบเชยเทศขนาด 2 มิลลิลิตร ต่อวัน นาน 44 วัน มีระดับน้ำตาลกลูโคสและ HbA_{1c} ในเลือดต่ำกว่าหนูเบาหวานที่ไม่ได้สารสกัดซึ่งระดับน้ำตาลกลูโคส และ HbA_{1c} ในเลือดนี้ใกล้เคียงกับหนูขาวปกติที่ไม่ได้รับน้ำตาลฟรุกโตส[6] นอกจากนี้การศึกษานี้ยังพบว่าหนูขาวที่ได้รับสารสกัดน้ำอบเชยเทศมีการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการ gluconeogenesis ลดลง เช่น glucose-6-phosphatase, fructose 1,6-biphosphatase และ glucose-6-phaphate dehydrogenase และการได้รับสารสกัดอบเชยเทศนี้ยังเพิ่มการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการ glycogenesis ได้แก่ hexokinase และเร่งการสร้างไกลโคเจนที่ตับและกล้ามเนื้อด้วย[6]

การกระตุ้นการหลั่งฮอร์โมนอินสุลินจากตับอ่อนเป็นกลไกหนึ่งที่สำคัญในการควบคุมระดับน้ำตาลในกระแสเลือดให้ปกติ ซึ่ง Verspohl และคณะ ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดอบเชยจีนและอบเชยเทศต่อการกระตุ้นการหลั่งฮอร์โมนอินสุลินจากเบต้าเซลล์ชนิด INS-1 พบว่า ทั้งอบเชยจีนและเทศสามารถกระตุ้นการหลั่งฮอร์โมนอินสุลินได้โดยตรง และที่ความเข้มข้นเดียวกันนั้นอบเชยจีนมีฤทธิ์กระตุ้นฮอร์โมนอินสุลินได้มากกว่าอบเชยเทศ แต่อย่างไรก็ตามการศึกษานี้เป็นการศึกษากับเซลล์มะเร็งตับอ่อนของสัตว์ทดลอง ซึ่งยังไม่มีการศึกษาใดที่ยืนยันแน่ชัดว่า สารสกัดอบเชยทั้งสองชนิดสามารถกระตุ้นการหลั่งฮอร์โมนอินสุลินจากเซลล์ปกติได้[7]

ในเซลล์ไขมันหรือเซลล์กล้ามเนื้อมีกระบวนการนำกลูโคสกลับเข้าสู่ภายในเซลล์ (glucose uptake) เพื่อนำไปใช้สร้างพลังงานหรือเก็บสะสมกลูโคสในรูปไกลโคเจน ซึ่งการเพิ่มกระบวนการนี้เป็นกลไกหนึ่งสำหรับควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดมีหลายการศึกษาที่รายงานถึงฤทธิ์ของสารสกัดอบเชยและสารบริสุทธิ์ที่แยกจากอบเชยต่อการกระตุ้นให้เกิดกระบวนการ glucose uptake ทั้งในเซลล์กล้ามเนื้อลายและเซลล์ไขมัน ในปี ค.ศ. 2004 Anderson และคณะได้สกัดและแยกสารสำคัญจากอบเชยจีน[8] ซึ่งสารดังกล่าวเป็นพวก polyphenol polymer ประกอบด้วย 2 trimer โดยในแต่ละ trimer มีมวลโมเลกุลเท่ากับ 864 และ 1 tetramer ที่มีมวลโมเลกุล 1152 จากการวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีโดยใช้เทคนิค mass spectrometry สารดังกล่าวคือ doubly linked procyanidin type A-polymers ซึ่งภายในโครงสร้างจะประกอบด้วย catechins หรือ epicatechins ดังรูปที่ 2

ในโครงสร้างของ 1 trimer นั้นประกอบไปด้วย Terminal(T), Middle(M) และ Base(B) unit เมื่อเปรียบเทียบโครงสร้าง trimer กับ tetramer มีความแตกต่างกันคือ M-unit ของโครงสร้าง trimer จะพบเพียง 1 โมเลกุลของ catechin เท่านั้นแต่ในโครงสร้าง tetramer จะพบ 2 โมเลกุลของ catechin เมื่อพิจารณาเฉพาะส่วนของ M และ B-unit ในโครงสร้างมีการเชื่อมโยงกันในโมเลกุลที่ตำแหน่งคาร์บอนที่ 4 และ 8 ตามรูปโครงสร้าง

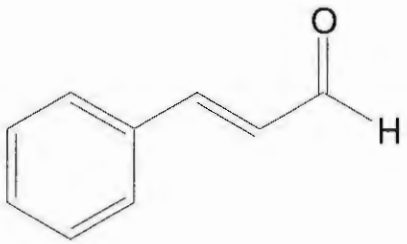
ซึ่งโครงสร้าง 2 unit ที่เชื่อมกันนี้มีโครงสร้างโมเลกุลเหมือนกับโมเลกุล proanthocyanidin B-1 dimers ซึ่งสารชนิดนี้เป็นสารที่พบในเมล็ดองุ่น[9] และมีฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือดโดยผ่านการกระตุ้นกระบวน glucose uptake ในเซลล์กล้ามเนื้อ[10] เมื่อนำมาทดสอบฤทธิ์กับเซลล์ไขมันในหลอดทดลองพบว่า doubly linked procyanidin type A-polymers สามารถกระตุ้นและสามารถเสริมฤทธิ์ร่วมกับฮอร์โมนอินสุลินในการเกิดกระบวนการ glucose uptake ได้

ภายหลังที่ทราบฤทธิ์กระตุ้นกระบวนการ glucose uptake แล้ว Jarvill-Taylor และคณะได้ศึกษากลไกการออกฤทธิ์ในเซลล์ไขมัน ซึ่งพบว่า สาร doubly linked procyanidin type A-polymers ทำหน้าที่เสมือนฮอร์โมนอินสุลิน (insulin mimetic) โดยกระตุ้นให้เกิดการเติมหมู่phosphate บน tyrosine residue ภายใน β-subunit ของ insulin receptor ซึ่งเป็นการส่งสัญญาณต่อไปยังโปรตีนตัวอื่นๆ ให้ทำงานอย่างต่อเนื่อง และกระตุ้นให้ Phosphatidylinositol-3-kinase (PI-3-kinase) ทำงานเพิ่มขึ้น และทำให้ glucose transporter 4 (GLUT4) เคลื่อนที่จากภายในเซลล์ไขมันไปสู่ cell membrane เพื่อนำกลูโคสกลับเข้ามาใช้ภายในเซลล์ นอกจากนี้สาร doubly linked procyanidin type A-polymers ยังมีกลไกที่ยับยั้งการทำงานของ glycogen synthase kinase-3- β (GSK-3 β) ซึ่งการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ตัวนี้ส่งผลให้ glycogen synthase ทำงานได้เพิ่มขึ้น และเร่งกระบวนการสร้างไกลโคเจนให้เก็บสะสมในเซลล์มากยิ่งขึ้น[11] Cao และคณะ[12] ได้ศึกษาเพิ่มเติมจากการศึกษาของ Jarvill-Taylor โดยใช้สารสกัดน้ำของอบเชยจีนและสาร doubly linked procyanidin type A-polymers ซึ่งได้ผลการทดลองลักษณะเช่นเดียวกับ Jarvill-Taylor แต่สิ่งที่ค้นพบเพิ่มเติมก็คือ สาร doubly linked procyanidin type A-polymers สามารถสร้างโปรตีน Tristetraprolin ซึ่งโปรตีนชนิดนี้ทำหน้าที่ยับยั้งการสร้าง cytokines ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบ เช่น tumor necrosis factor-α (TNF-α), eicosanoids (ที่สร้างเอนไซม์ cyelo-oxygenase-2) เป็นต้น Cao และคณะได้เสนอกลไกการออกฤทธิ์ของสาร doubly linked procyanidin type A-polymers ในเซลล์ไขมันดังรูปที่ 3

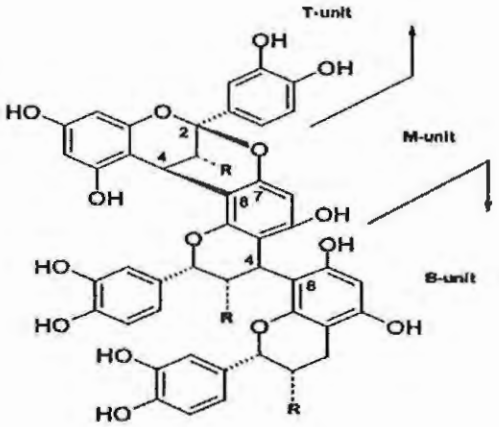
นอกเหนือจากสาร doubly linked procyanidin type A-polymers ยังมีสารชนิดอื่นๆ ที่พบในอบเชย ซึ่งในปี ค.ศ. 2006 Kim และคณะได้ทำการแยกสาร dihydroxyhydrocinnamic acid (DHH) และทำการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ dihydroxyhydrocinnamic acid เพิ่มขึ้นทั้งสิ้น 14 ชนิด[13] จากการทดสอบฤทธิ์ในการกระตุ้นกระบวนการ glucose uptake ของสารทั้งหมดพบว่า มีเพียงสาร 3 ชนิดเท่านั้นที่ให้ฤทธิ์ดังกล่าวสูงที่สุด ได้แก่ DHH, DHH103 และ DHH105 แต่ภายหลังนำสารทั้งสามชนิดไปฉีดแก่หนูเบาหวานที่ถูกเหนี่ยวด้วย STZ เพื่อตรวจวัดประสิทธิภาพในการลดระดับน้ำตาลในเลือดโดยให้สารทางช่องท้องในขนาด 100 mg/kg ต่อวันเป็นเวลา 2 วัน มีเพียงสาร DHH105 เท่านั้นที่สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ ซึ่งสาร DHH105 มีชื่อว่า naphthalenemethyl ester 3,4-dihydroxyhydrocinnamic acid ดังรูปที่ 4 และสารชนิดนี้มีกลไกการออกฤทธิ์ในการกระตุ้นกระบวนการ glucose uptake เช่นเดียวกับสาร doubly linked procyanidin type A-polymers

การศึกษาทางคลินิกของสารสกัดอบเชย

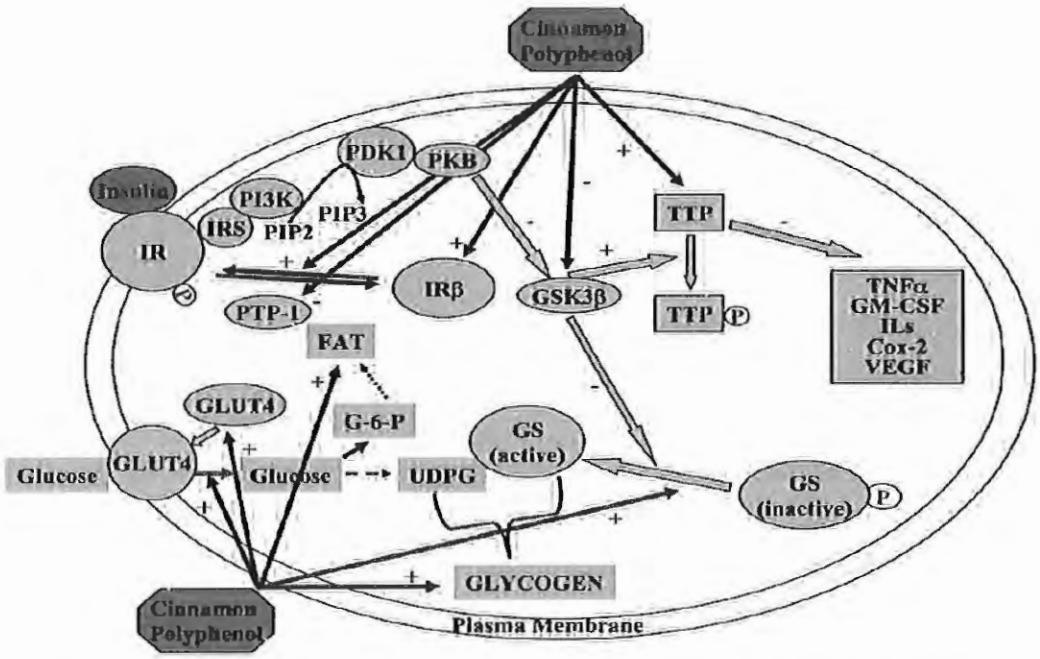
ปี ค.ศ. 2003 Khan และคณะได้ศึกษาผลของการให้อบเชยจีนแก่อาสาสมัครผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ทั้งชายและหญิง จำนวน 60 คน โดยกลุ่มผู้ป่วยมีอายุตั้งแต่ 40 ปีขึ้นไป และผู้ป่วยมีการใช้ยากลุ่ม sulphonylureas แต่ไม่มีการใช้ฮอร์โมนอินสุลินในการควบคุมระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือด นอกเหนือจากนี้ผู้ป่วยที่เข้าร่วมในการการศึกษาไม่มีอาการป่วยเป็นโรคอื่นๆ นอกเหนือจากโรคเบาหวาน และมีค่า fasting blood glucose อยู่ระหว่าง 140 ถึง 400 mg/dl (เฉลี่ยในแต่ละกลุ่มมากกว่า 200 mg/dl) การศึกษาได้แบ่งผู้ป่วยเป็นหกกลุ่ม โดยสามกลุ่มแรก ได้รับยาหลอกขนาด 1, 3 และ 6 กรัมต่อวัน และอีกสามกลุ่มได้รับอบเชยจีนบรรจุแคปซูลขนาด 1, 3 และ 6 กรัมต่อวัน เป็นระยะเวลาทั้งสิ้น 40 วัน ซึ่งพบว่า ผู้ป่วยที่ได้รับอบเชยจีนมีระดับน้ำตาลในเลือด



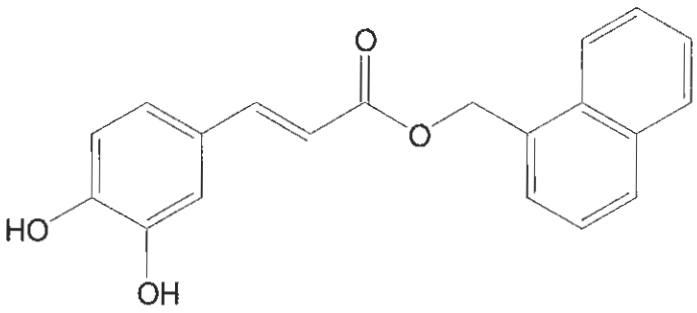
รูปที่ 1 cinnamaldehyde



รูปที่ 2 สูตรโครงสร้าง doubly linked procyanidin type A-polymers



รูปที่ 3 แสดงกลไกของสาร doubly linked procyanidin type A-polymers(cinnamon polyphenol) ในการเกิดกระบวนการ glucose uptake ภายในเซลล์ไขมัน โดย doubly linked procyanidin type A-polymers กระตุ้นให้เกิดกระบวนการ phosphorylation ที่ insulin receptor และลดการทำงาน PTP-1 (Protein tyrosine phosphatase-1) ส่งผลให้กระตุ้นการส่งสัญญาณในระดับเซลล์มากขึ้น มีผลให้ PKB (Protein kinase B) ยับยั้งการทำงานของ GSK-3 β (glycogen synthase kinase-3- β)กระตุ้นให้ glucose transporter 4 (GLUT4) เคลื่อนที่มาที่ plasma membrane มากขึ้น สาร linked procyanidin type A-polymers ยังสามารถกระตุ้นให้มีการสร้างโปรตีน Tristetraprolin มากขึ้น มีผลลดการสร้าง TNF- α, Interleukins, COX-2 เป็นต้น[10]



รูปที่ 4 naphthalenemethyl ester 3,4-dihydroxyhydrocinnamic acid

ลดลง18 -29% ระดับ triglyceride ลดลง 23-30% ระดับ cholesterol ลดลง 23-30% และระดับ LDL cholesterol ลดลง 7-27% แต่พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงของระดับ HDL cholesterol ในผู้ป่วยที่ได้รับอบเชยจีน จากนั้นผู้ป่วยหยุดได้รับอบเชยจีน และเมื่อผ่านไป 20 วัน ทำการวัดระดับของน้ำตาลกลูโคส, triglycerides, total cholesterol และ LDL cholesterol อีกครั้ง ซึ่งพบว่ามีระดับที่คงที่ไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อเปรียบเทียบวันที่ 40 การที่อบเชยจีนยังคงสามารถควบคุมระดับน้ำตาลกลูโคสในผู้ป่วยได้ดีแม้ว่าผู้ป่วยจะไม่ได้รับอบเชยจีนก็ตาม ผู้วิจัยจึงแนะนำว่าผู้ป่วยอาจไม่จำเป็นต้องรับประทานอบเชยจีนทุกวันก็สามารถควบคุมระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดได้ดีเช่นกัน และจากที่อบเชยจีนขนาด 1 ถึง 6 กรัม ต่อวัน ให้ผลในการลดน้ำตาลที่ดีเท่ากัน ผู้วิจัยจึงแนะนำเพิ่มเติมว่า ผู้ป่วยเบาหวานสามารถใช้อบเชยจีนในขนาด 1 กรัม ต่อวันเพื่อควบคุมระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดได้[14]

แต่อย่างไรก็ดีมีการศึกษาของ Vanschoonbeek[15] ซึ่งให้ผลการศึกษาที่ขัดแย้งกับ Khan ซึ่ง Vanschoonbeek ศึกษาผลของการให้อบเชยจีนแก่ผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ในเพศหญิงวัยหมดประจำเดือน จำนวน 25 คน โดยแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ได้รับและไม่ได้รับอบเชย ผู้ป่วยได้รับอบเชยจีนในรูปแคปซูลในขนาด 1.5 กรัมต่อวันเป็นเวลา 6 สัปดาห์ ก่อนหน้าทำการศึกษาผู้ป่วยเบาหวานมีการใช้ยาลดระดับน้ำตาลหลากหลายชนิด ในขณะเดียวกันมีผู้ป่วยบางคนไม่ได้ใช้ยาแต่ใช้วิธีการควบคุมอาหารอย่างเดียว ซึ่งภายหลังการได้รับอบเชยจีน 6 สัปดาห์พบว่า ผู้ป่วยเบาหวานทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างของระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือด, ค่า HbA_{1c}, triglycerides, cholesterol และระดับฮอร์โมนอินซูลิน การที่อบเชยจีนไม่สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ในการศึกษานี้ อาจมีสาเหตุมาจากจำนวนผู้ป่วยเบาหวานที่ใช้ศึกษามีจำนวนน้อย รวมทั้งผู้ป่วยเป็นเพศหญิงทั้งหมด นอกจากนี้ผู้ป่วยเบายังมีการใช้ยาควบคุมระดับน้ำตาลที่หลากหลายกันออกไป

ต่อมา Mang และคณะ[16] ได้ศึกษาการให้สารสกัดน้ำของอบเชยจีนในรูปผงบรรจุในแคปซูลแก่ผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 จำนวน 79 คน เพศชายและหญิง โดยผู้ป่วยถูกแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม จะได้รับและไม่ได้รับสารสกัดของอบเชยจีน ขนาด 3 กรัม ต่อวัน โดยใน 1 แคปซูลจะบรรจุสารสกัดน้ำของอบเชยจีนขนาด 112 มิลลิกรัมซึ่งเทียบเท่ากับน้ำหนักของอบเชยจีน 1 กรัม และก่อนหน้าทำการศึกษาผู้ป่วยเบาหวานได้มีการใช้ยาลดระดับน้ำตาลในเลือด และระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดเริ่มต้นของผู้ป่วยในการศึกษานี้มีค่าเฉลี่ยต่ำกว่าของการศึกษาของ Khan (ค่าเฉลี่ยของ fasting blood glucose เริ่มต้นของผู้ป่วยเบาหวานจากการศึกษาของ Mang ไม่เกิน 200 mg/dl) ภายหลังการให้สารสกัดน้ำของอบเชยเป็นเวลา 4 เดือน พบว่าผู้ป่วยเบาหวานที่ได้รับสารสกัดมีระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดลดลง 12% เมื่อเปรียบเทียบกับก่อนได้รับสารสกัดดังกล่าว แต่อย่างไรก็ตามค่า HbA_{1c} triglyceride, cholesterol, HDL และ LDL ไม่มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อเปรียบเทียบก่อนและหลังได้รับสารสกัด

ถัดมาในปี ค.ศ. 2007 Altschuler และคณะ[17] ได้ศึกษาการให้อบเชยจีนแก่ผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 1 ต่อการลดค่า HbA_{1c} ในผู้ป่วยเบาหวานช่วงอายุ 14-18 ปี โดยผู้ป่วยได้รับอบเชยจีนขนาด 1 กรัมต่อวัน เป็นระยะเวลา

นาน 90 วัน จากผลการศึกษาพบว่าสารสกัดอบเชยจีนไม่สามารถลดค่า HbA_{1c} ปริมาณการได้รับอินสุลินต่อวันของผู้ป่วย และลดภาวะการเกิดน้ำตาลต่ำ(hypoglycemia) ได้เลย นอกจากนี้ Brevins และคณะ[18] ทำการศึกษาผลของอบเชยจีนในการลดระดับน้ำตาลในเลือดกับประชากรในประเทศสหรัฐอเมริกา โดยใช้จำนวนตัวอย่าง 57 คน มีความหลากหลายของเชื้อชาติ ซึ่งผู้ป่วยเบาหวานได้รับอบเชยจีน ขนาด 1 กรัมต่อวัน นาน 3 เดือน ซึ่งพบว่า อบเชยจีนไม่สามารถลดระดับน้ำตาล ระดับ cholesterol และ triglyceride ในเลือด ซึ่งจากการศึกษานี้ขัดแย้งกับของ Khan และคณะ โดยการศึกษานี้ผู้ป่วยเบาหวานจะมีระดับน้ำตาลในเลือดต่ำกว่าการศึกษาของ Khan (ค่าเฉลี่ยของ fasting blood glucose เริ่มต้นของผู้ป่วยเบาหวานจากการศึกษาของ Brevins ไม่เกิน 200 mg/dl) และผู้ป่วยเบาหวานยังมีการใช้ยาควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดที่หลากหลายชนิด รวมทั้ง 93%ของผู้ป่วยทั้งหมดใช้ยาควบคุมระดับไขมันในเลือดร่วมด้วย ดังนั้นจากข้อสรุปของหลายการศึกษาที่ผ่านมาจึงเป็นไปได้ว่าการที่อบเชยจีนสามารถลดระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดได้นั้น ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ โดยเฉพาะอย่างยิ่งค่าเฉลี่ยเริ่มต้นของระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดของผู้ป่วยเบาหวาน รวมทั้งปัจจัยด้านอื่นๆ เช่น อายุของผู้ป่วยเบาหวาน เพศ และชนิดของการใช้ยาลดระดับน้ำตาล

ใน ปี ค.ศ. 2007 Hlebowicz และคณะ[19] ได้ศึกษาผลของการให้อบเชยจีนแก่อาสาสมัครสุขภาพปกติ จำนวน 14 คน ต่อการเปลี่ยนแปลงระดับ postprandial blood glucose, gastric emptying และ ความอยากอาหาร พบว่าการให้อบเชยจีนขนาด 6 กรัมเมื่อให้พร้อมอาหารแก่อาสาสมัครสามารถลดระดับ postprandial blood glucose ได้ และเพิ่มเวลาของ gastric emptying นานขึ้น แต่อย่างไรก็ตาม อบเชยจีนไม่มีผลต่อความอยากอาหาร

ความปลอดภัยและอาการไม่พึงประสงค์ของอบเชยจีน

ยังไม่มีการศึกษาใดที่ระบุถึงอาการไม่พึงประสงค์ที่เกิดจากการได้รับอบเชยจีนของผู้ป่วยเบาหวานที่นานเกิน 4 เดือนขึ้นไป มีเพียงรายงานถึงการศึกษาทางคลินิกที่ให้อบเชยจีนแก่ผู้ป่วยเบาหวานเป็นเวลานาน 3 เดือน ซึ่งไม่พบว่า ผู้ป่วยเบาหวานที่ได้รับอบเชยจีนนานถึง 3 เดือนแสดงอาการผิดปกติและอาการไม่พึงประสงค์แต่อย่างไร[20] แต่มีรายงานการศึกษาหนึ่งรายงานว่า มีผู้ป่วยอายุ 70 ปีรายหนึ่งเมื่อได้รับน้ำมันดังกล่าวขนาด 60 มิลลิลิตร เกิดอาการคลื่นไส้อาเจียน ท้องเสีย เวียนศีรษะ และหมดสติ[21] คาดว่าอาการดังกล่าวน่าจะเกิดจากสารประกอบพวกน้ำมันที่เป็นมีอยู่ในอบเชยจีน

ข้อควรระวังในการใช้อบเชย คือ ควรหลีกเลี่ยงการใช้อบเชยร่วมกับยาต้านการแข็งตัวของเกร็ดเลือด เนื่องจากในอบเชยจีนมีสารประกอบในกลุ่ม coumarin มีฤทธิ์ละลายการแข็งตัวของเกร็ดเลือด[22] แต่อย่างไรก็ดียังไม่มีข้อมูลทางคลินิกที่ยืนยันการเกิดปฏิกิริยาระหว่างยาดังกล่าวกับอบเชย นอกจากนี้หญิงตั้งครรภ์และที่ให้นมบุตรควรหลีกเลี่ยงการใช้รับอบเชยจีนในขนาดสูง

ปัจจุบันผู้ป่วยเบาหวานจำนวนมากได้เลือกการใช้อบเชยเป็นทางเลือกในการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด เนื่องจากผู้ป่วยเบาหวานบางคนมีความประสงค์ที่จะเลือกใช้ผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติมากกว่าการใช้ยาแผนปัจจุบัน ประกอบกับอบเชยมีราคาถูก หาได้ง่าย แต่เนื่องจากการศึกษาทางคลินิกยังให้ผลไม่ชัดเจนถึงเรื่องขนาดใช้ของอบเชยที่จะให้ผลการควบคุมระดับน้ำตาลได้ดีและมีประสิทธิภาพ เพื่อให้ได้ข้อมูลที่ชัดเจนขึ้น จึงจำเป็นต้องศึกษาฤทธิ์ของอบเชยต่อการลดระดับน้ำตาลในเลือดกับประชากรในจำนวนมากขึ้น แต่หากผู้ป่วยเบาหวานต้องการที่ใช้อบเชย เพื่อควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด ควรเลือกใช้อบเชยจีน เนื่องจากมีรายงานการศึกษาถึงฤทธิ์และประสิทธิภาพของอบเชยจีนทั้งในคนปกติและผู้ป่วยเบาหวานมากกว่าอบเชยเทศ ที่สำคัญ ผู้ป่วยเบาหวานที่ต้องการใช้อบเชยจีนสำหรับควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด ควรอยู่ภายใต้การดูแลของแพทย์เพื่อความปลอดภัยและประเมินประสิทธิภาพของอบเชยต่อการลดระดับน้ำตาล

เอกสารอ้างอิง

1. American Diabetes Association. Diabetes statistics.www.diabetes.org/ diabetes-statistics.jsp (accessed 2006 Sep1)

2. Aekplakorn W, Stolk RP, Neal B, Suriyawongpaisal P, Chongsuvivatwong V, Cheepudomwit S, Woodward M; INTERASIA Collaborative Group. The prevalence and management of diabetes in Thai adults: the international collaborative study of cardiovascular disease in Asia. *Diabetes Care* 2003; 26(10): 2758-63
3. Morozumi S. Isolation, purification, and antibiotic activity of *o*-methoxy-cinnamaldehyde from cinnamon, *Appl Environ Microbiol 1978; 36 :577–583*
4. Subash Babu P, Prabuseenivasan S, Ignacimuthu S. Cinnamaldehyde-a potential antidiabetic agent. *Phytomedicine* 2007; 14(1): 15-22.
5. Kim SH, Hyun SH, Choung SY. Antidiabetic effect of cinnamon extract on blood glucose in db/db mice. *J Ethnopharmacol* 2006; 104(1-2): 119-123.
6. Kannappan S, Jayaraman T, Rajasekar P, Ravichandran MK, Anuradha CV. Cinnamon bark extract improves glucose metabolism and lipid profile in the fructose-fed rat. *Singapore Med J* 2006; 47(10): 858-863
7. Verspohl EJ, Bauer K, Neddermann E. Antidiabetic effect of *Cinnamomum cassia* and *Cinnamomum zeylanicum in vivo and in vitro. Phytother Res* 2005; 19(3): 203-206
8. Anderson RA, Broadhurst CL, Polansky MM, Schmidt WF, Khan A, Flanagan VP, Schoene NW, Graves DJ. Isolation and characterization of polyphenol type-A polymers from cinnamon with insulin-like biological activity. *J Agric Food Chem* 2004; 52(1): 65-70
9. Wren AF, Cleary M, Frantz C, Melton S, Norris L. 90-day oral toxicity study of a grape seed extract (IH636) in rats. *J Agric Food Chem* 2002 ;50(7): 2180-2192
10. Pinent M, Blay M, Blade MC, Salvado MJ, Arola L, Ardevol A. Grape seed-derived procyanidins have an antihyperglycemic effect in strep-tozotocin-induced diabetic rats and insulinomimetic activity in insulin-sensitive cell lines. *Endocrinology* 2004; 145(11): 4985-4990
11. Jarvill-Taylor KJ, Anderson RA, Graves DJ. A hydroxychalcone derived from cinnamon functions as a mimetic for insulin in 3T3-L1 adipocytes. *J Am Coll Nutr* 2001; 20(4): 327-336
12. Cao H, Polansky MM, Anderson RA. Cinnamon extract and polyphenols affect the expression of tristetraprolin, insulin receptor, and glucose transporter 4 in mouse 3T3-L1 adipocytes. *Arch Biochem Biophys* 2007; 459(2): 214-222
13. Kim W, Khil LY, Clark R, Bok SH, Kim EE, Lee S, Jun HS, Yoon JW. Naphtha-lenemethyl ester derivative of dihy-droxyhydrocinnamic acid, a component of cinnamon, increases glucose disposal by enhancing translocation of glucose transporter4. *Diabetologia* 2006; 49(10): 2437-2448
14. Khan A, Safdar M, Ali Khan MM, Khattak KN, Anderson RA. Cinnamon improves glucose and lipids of people with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2003; 26(12): 3215-3218
15. Vanschoonbeek K, Thomassen BJ, Senden JM, Wodzig WK, van Loon LJ. Cinnamon supplementation does not improve glycemic control in postmenopausal type 2 diabetes patients. *J Nutr* 2006; 136(4): 977-980
16. Mang B, Wolters M, Schmitt B, Kelb K, Lichtinghagen R, Stichtenoth DO, Hahn A. Effects of a cinnamon extract on plasma glucose, HbA, and serum lipids in diabetes mellitus type 2. *Eur J Clin Invest* 2006; 36(5): 340-344
17. Altschuler JA, Casella SJ, MacKenzie TA, Curtis KM. The effect of cinnamon on A1C among adolescents with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2007; 30(4): 813-816.
18. Blevins SM, Leyva MJ, Brown J, Wright J, Scofield RH, Aston CE. Effect of Cinnamon on Glucose and Lipid Levels in Non-insulin Dependent Type 2 Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 2007; 30: 813-816
19. Hlebowicz J, Darwiche G, Bjorgell O, Almer LO. Effect of cinnamon on postprandial blood glucose, gastric emptying, and satiety in healthy subjects. *Am J Clin Nutr* 2007; 85(6): 1552-1556
20. Chase CK, McQueen CE. Cinnamon in diabetes mellitus. *Am J Health Syst Pharm* 2007; 64(10): 1033-1035
21. Natural Medicine Comprehensive Database. www.naturaldatabase.com (accessed 2007 Feb 22)
22. Dentali F, Ageno W, Crowther M. Treatment of coumarin - associated coagulopathy: a systematic review and proposed treatment algorithms. *J Thromb Haemost* 2006; 4(9): 1853-1863.

DRUG EVALUATION

Alprazolam XR

Chaichan Sangdee

Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

Abstract

Alprazolam is considered to be one of the most efficacious and widely used drugs for the treatment of generalized anxiety disorder (GAD), panic disorder, and phobias. Although the original immediate-release alprazolam (alprazolam IR) is very effective in treating these disorders but it has few limitations such as short therapeutic action, marked fluctuations of drug levels and hence side effects and marked variation in therapeutic effects between dosing, difficulty in withdrawal of the drug, and potential of drug dependence in long-term use. The development of extended-release preparation of alprazolam (alprazolam XR) not only can offset most of these limitations and also promotes more favorable profiles in clinical setting. Patients currently on alprazolam IR can be switched to alprazolam XR with ease and with minor dosage modification. Alprazolam XR also increases patient compliance with once daily dosing, reduces clock watching phenomenon associated with alprazolam IR, and is safe for long-term use with less relapse rate of GAD, panic attack, and other phobias both between dosing and when taper off drug use. It is much safer and cause much less fatality than tricyclic antidepressants (TCAs) and monoamine oxidase inhibitors (MAOIs) when overdose and it therapeutic effect is attained faster than TCAs, MAOIs, and selective serotonin reuptake inhibitors. All these favorable characteristics make alprazolam XR a very attractive alternative drug for long-term use in GAD, panic disorder, phobias and other chronic disorders when indicated.

Key words: alprazolam, generalized anxiety disorder, panic disorder, extended-release

Address correspondence and reprints: Chaichan Sangdee, Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand.
E-mail: csangdee@mail.med.cmu.ac.th

ประสิทธิผลของการรักษาจะคงอยู่ได้นานเพียงไร และยังยากที่จะตัดสินว่ายาเหล่านี้สามารถป้องกันการกำเริบของอาการวิตกกังวลได้จริง เนื่องจากมีการทนต่อฤทธิ์ของยาเมื่อใช้เป็นเวลานานและโอกาสที่อาการวิตกกังวลอาจหายไปเองได้มีค่อนข้างสูง

alprazolam ได้รับการอนุมัติจาก FDA ประเทศสหรัฐอเมริกาและประเทศต่างๆทั่วโลกให้ใช้รักษา GAD และ agoraphobia นอกจากนั้น alprazolam ยังเป็นยาตัวแรกที่ได้การยอมรับว่าใช้รักษา panic disorder ได้ผลดีและเป็นยาหลักที่เลือกใช้ในการรักษาโรคนี้[5-10] alprazolam เป็นยาตัวแรกที่ได้รับอนุมัติจากองค์การอาหารและยาแห่งประเทศสหรัฐอเมริกา (US FDA) ในปี 1990 ให้ใช้รักษา panic disorder โรคเหล่านี้มักรักษาไม่หายขาดและอาการจะเป็นๆหายๆ โดยไม่สามารถทำนายได้ว่าอาการจะกำเริบขึ้นเมื่อใด แต่โดยทั่วไปอาการอาจกำเริบขึ้นได้เมื่อผู้ป่วยอยู่ในภาวะที่เครียดหรือสิ่งแวดล้อมที่กดดัน บางครั้งอาการอาจกำเริบขึ้นโดยไม่มีสาเหตุ ทำให้การรักษาเป็นไปด้วยความลำบาก โดยทั่วไป การควบคุมอาการของ GAD หรือ panic attack มักทำโดยการรับประทานยาเพื่อระงับอาการที่กำเริบขึ้นอย่างเฉียบพลันหรือรับประทานยาเพื่อป้องกันเมื่ออยู่ในภาวะที่เสี่ยงต่อการกำเริบของโรค ทั้ง GAD และ panic disorder ทำให้คุณภาพชีวิตของผู้ป่วยลดลงอย่างมาก ทำให้ผู้ป่วยขาดสมาธิ รบกวนต่อการทำงานและการดำรงชีวิตประจำวันของผู้ป่วยอย่างยิ่ง รวมทั้งอาจทำให้เกิดภยันตรายขึ้นได้ง่ายเมื่อขับยวดยาน ทำงานกับเครื่องจักรกล หรืองานที่เสี่ยงภัยอื่นๆ

alprazolam ตำรับดั้งเดิมเป็นตำรับที่มุ่งให้ออกฤทธิ์เร็วโดยตัวยาจะถูกปลดปล่อยเร็ว (immedate-release) ซึ่งในที่นี้จะเรียกยาตำรับดั้งเดิมว่า alprazolam IR แม้ว่า alprazolam IR จะมีประสิทธิผลสูงในการระงับอาการ GAD และ panic attack แต่ยานี้มักใช้ในระยะสั้น เนื่องจากเกรงว่าการใช้ alprazolam IR นานเกินไปอาจเสี่ยงต่อการเสพติดยาได้ ทำให้การรักษาได้ผลไม่ได้ผลดีเท่าที่ควรและมีอัตราการหวนคืนกลับของอาการเหล่านี้ค่อนข้างสูงหลังจากหยุดยา Alprazolam IR มีการออกฤทธิ์ที่เร็วเนื่องจากยาถูกดูดซึมเร็ว ระดับยาในเลือดจึงสูงขึ้นเร็ว ซึ่งนอกจากจะส่งผลให้ประสิทธิผลในการรักษา GAD หรือ panic disorder เกิดขึ้นเร็วแล้ว ยังส่งผลให้เกิดผลข้างเคียงที่ทำให้มีอาการง่วงนอน เวียนศีรษะ มึนงง สับสน ทำให้ reaction time นานขึ้น กล้ามเนื้อทำงานไม่ประสานกัน ซึ่งผลไม่พึงประสงค์เหล่านี้มีส่วนสัมพันธ์กับคุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์ของ alprazolam ที่มีการดูดซึมเร็ว ทำให้ระดับยาในเลือดสูงขึ้นเร็ว[11,12] การที่ alprazolam IR มีครึ่งชีวิตที่ค่อนข้างสั้นยังทำให้ต้องรับประทานยาวันละ 3-4 ครั้ง และทำให้เกิดอาการถอนยา (withdrawal syndrome) เมื่อหยุดยาเร็วเกินไปอีกด้วย นอกจากนี้ ผู้ป่วย GAD หรือ panic disorder ส่วนใหญ่เป็นผู้ป่วยนอก การต้องรับประทานยาวันละ 3-4 ครั้งอาจไม่สะดวกและอาจหลงลืมการรับประทานยาหรืออาจเกิดอาการกำเริบในช่วงต่อของมื้อยาได้ โดยทั่วไป ยาที่มีโอกาสทำให้เสพติดได้ มักจะเป็นยาที่มีการออกฤทธิ์เร็วและหมดฤทธิ์เร็ว อาจทำให้เสพติดได้ง่ายกว่ายาที่ออกฤทธิ์ช้าและหมดฤทธิ์ช้า จากเหตุผลดังกล่าวทำให้มีการพัฒนาตำรับยา alprazolam ใหม่เป็นชนิดปลดปล่อยตัวยาสำคัญออกมาอย่างช้าๆและต่อเนื่อง (extended-release หรือ XR) ขึ้นมาอีกตำรับหนึ่งนอกเหนือจากตำรับชนิดปลดปล่อยตัวยาสำคัญออกมาเร็วที่ใช้กันอย่างแพร่หลายมานานแล้ว และได้รับการพิสูจน์แล้วว่า alprazolam XR มีประสิทธิภาพในการรักษาทัดเทียมกับ alprazolam IR ตำรับดั้งเดิม[13] แต่มีคุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์และผลทางคลินิกด้านต่างๆที่เหนือกว่าตำรับดั้งเดิม

เภสัชจลนศาสตร์ของ alprazolam IR และ XR

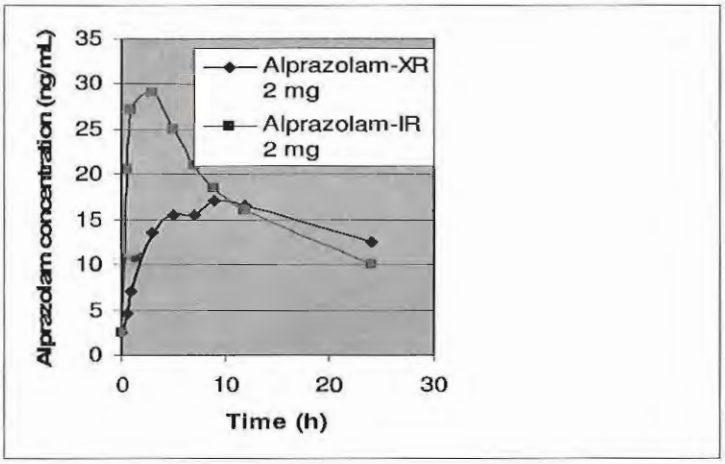
alprazolam ถูกดูดซึมค่อนข้างเร็ว จับกับพลาสมาโปรตีนประมาณ 70% และถูกกำจัดโดยกระบวนการแปรสภาพที่ตับโดยเอนไซม์ CYP3A4 ค่าครึ่งชีวิต (half-life หรือ $t_{1/2}$) ของ alprazolam จะประมาณ 12 ชั่วโมง alprazolam มีค่า oral bioavailability ค่อนข้างสูงคือประมาณ 90% คุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์ของ alprazolam ในตำรับ IR และ XR จะแตกต่างกันหลายด้าน เช่น (1) เวลาที่ระดับยาสูงสุดในพลาสมา (time to maximum plasma concentration หรือ T_{max}) ของ

alprazolam IR เกิดขึ้นที่ประมาณ 0.7-2.5 ชั่วโมง ในขณะที่ T_{max} ของ alprazolam XR มีค่า 9-10 ชั่วโมงซึ่งจะช้ากว่ามาก (2) ระดับยาในพลาสมาของตำรับ IR จะลดลงเร็วกว่าตำรับ XR มาก (3) เนื่องจาก alprazolam ในตำรับ XR จะค่อยๆปลดปล่อยยาออกมาอย่างสม่ำเสมอ จึงมีการดูดซึมยาเข้าสู่กระแสเลือดอย่างต่อเนื่องทำให้ระดับของ alprazolam สามารถคงตัวอยู่ได้นาน[14,15] (4) เมื่อได้รับยาในขนาดเท่ากัน ค่าความเข้มข้นสูงสุดในพลาสมา (maximum plasma concentration หรือ C_{max}) ที่เกิดจากการได้รับ alprazolam IR ในขนาดเท่ากันจะสูงกว่า alprazolam XR โดยเมื่อให้ alprazolam IR หรือ XR ขนาด 2 มก ค่า C_{max} ของ alprazolam จากตำรับ IR และ XR จะเป็น 31.7 $\pm$ 6.3 และ 18.3 $\pm$ 3.7 นาโนกรัม/มล ตามลำดับ[14] (รูปที่ 1) และค่า C_{max} ของตำรับ XR จะเกาะกลุ่มและมีความแปรปรวนน้อยกว่าตำรับ IR[16] (รูปที่ 2) ค่าต่างๆทางเภสัชจลนศาสตร์ของ alprazolam XR ในวัยรุ่น (อายุ 13-17 ปี) ไม่แตกต่างจากในผู้ใหญ่ไม่ว่าจะเป็นค่า C_{max}, T_{max}, $T_{1/2}$ หรือพื้นที่ใต้กราฟของความเข้มข้นของยาในพลาสมา-เวลา (area under the plasma concentration-time curve (AUC)[17]

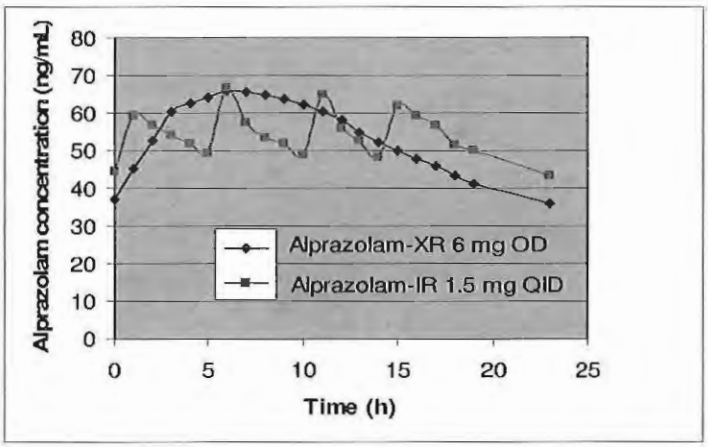
แม้ว่าค่า T_{max} ของ alprazolam XR จะช้ากว่าของ alprazolam IR มาก แต่ประสิทธิผลของ alprazolam XR ในการระงับอาการของ GAD หรือ panic disorder มิได้ช้ากว่า alprazolam IR มากนัก เนื่องจากระดับยาของ alprazolam จากตำรับ XR สามารถขึ้นถึงระดับที่ได้ผลในการระงับอาการภายใน 2-3 ชั่วโมงแม้ว่าระดับยาสูงสุดในเลือดจะเกิดขึ้นอีกหลายชั่วโมงหลังจากนั้นก็ตาม (รูปที่ 2) แต่การที่ระดับยาในเลือดคงอยู่ในระดับที่ได้ผลในการรักษาเป็นเวลานานโดยไม่มีการแกว่งขึ้นและลงมากเหมือนกับที่เกิดขึ้นเมื่อรับประทานตำรับยา IR วันละหลายครั้ง (รูปที่ 2) ทำให้การระงับอาการของโรคเป็นไปอย่างราบรื่นและผู้ป่วยไม่ต้องวิตกเรื่องการลืมรับประทานยาหรืออาการของโรคจะกลับคืนมาก่อนที่จะรับประทานยามื้อต่อไปเพราะระดับยาในขณะนั้นอาจไม่สูงพอที่จะระงับอาการของโรคได้ ผู้ป่วยที่รับประทาน alprazolam IR จะเฝ้าจ้องมองนาฬิกาเพื่อจะได้ไม่ลืมรับประทานยาครั้งต่อไปเนื่องจากไม่อยากเสี่ยงต่อการหวนคืนกลับของโรค ปรากฏการณ์นี้มักจะเรียกกันว่าปรากฏการณ์เฝ้ามองนาฬิกาหรือ clock-watching phenomenon

ประสิทธิผลทางคลินิกของ Alprazolam XR

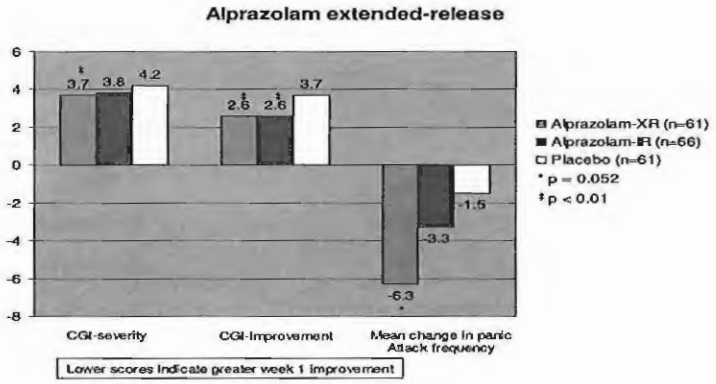
ในปี 1993 มีอย่างน้อย 3 การศึกษาทางคลินิกที่พิสูจน์ประสิทธิผลของ alprazolam XR ในการรักษา panic disorder ที่ออกแบบการศึกษาที่คล้ายคลึงกันโดยมีช่วงปรับขนาดของยา 21 วันให้ได้ขนาดที่ใช้จริงในช่วงรักษา การศึกษาของ Pecknold และคณะ[18] ศึกษาในผู้ป่วย 215 รายโดยใช้ alprazolam XR 6 มก/วัน เปรียบเทียบกับ alprazolam IR ที่ให้วันละ 4 ครั้งเป็นเวลา 3 สัปดาห์ และควบคุมด้วยกลุ่มที่ได้รับยาหลอก แต่การศึกษาของ Schweizer[19] ใช้ alprazolam XR ขนาด 10 มก/วันเทียบกับยาหลอก หลังจากนั้นจะค่อยๆลดขนาดยาลงโดยใช้เวลานาน 16 สัปดาห์จนหยุดยา และติดตามผู้ป่วยอีก 4 สัปดาห์เพื่อประเมินผลการกลับมาเกิดอาการ panic disorder ซ้ำอีกและอาการถอนยา (withdrawal syndrome) ที่อาจเกิดขึ้น อีก 1 การศึกษาที่ดำเนินการโดย Alexander[20] ในผู้ป่วยจำนวน 231 ราย โดยเปรียบเทียบ alprazolam XR ขนาด 4 มก/วัน และ 6 มก/วัน ควบคุมด้วยยาหลอกและมีช่วงปรับขนาดของยา 21 วันให้ได้ขนาดที่ใช้จริงในช่วงรักษา เช่นเดียวกับการศึกษาของ Pecknold[18] แต่ช่วงการรักษาจะนาน 6 สัปดาห์และใช้เวลาลดขนาดยาลงจนหยุดยาสั้นกว่าเพียง 4 สัปดาห์และติดตามผู้ป่วยอีก 4 สัปดาห์เพื่อประเมินผลการกลับมาเกิดอาการ panic disorder ซ้ำอีกและอาการถอนยาที่อาจเกิดขึ้น ผลการประเมินประสิทธิผลในการรักษาโดยใช้เกณฑ์ของ Hamilton Rating Scale for Anxiety (HAM-A), phobia rating และ work disability measures พบว่าทั้ง alprazolam IR และ alprazolam XR ให้ผลการรักษาที่ดีกว่ายาหลอกอย่างมีนัยสำคัญและได้ผลค่อนข้างเร็ว โดยเฉพาะการศึกษาของ Schweizer[19] ที่พบว่าผลการรักษาเกิดขึ้นภายในสัปดาห์แรกและยังคงอยู่ตลอดการใช้ยา ผู้ป่วยส่วนใหญ่ (มากกว่า 80%)



รูปที่ 1 เปรียบเทียบความเข้มข้นของ alprazolam ในพลาสมาหลังจากให้ aprazolam IR ขนาด 2 มก กับเมื่อให้ alprazolam XR 2 มก (ดัดแปลงมาจาก Mumford et al., 1994[14])



รูปที่ 2 ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของ alprazolam ในพลาสมาที่ steady state หลังได้รับ alprazolam XR ขนาด 6 มก/วัน และ alprazolam IR ขนาด 1.5 มก วันละ 4 ครั้ง (ดัดแปลงมาจาก Wright CE et al., 1997[16])



รูปที่ 3 การเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของค่าตัววัด cognitive global impression (CGI)-severity, CGI-improvement และค่าเฉลี่ยความถี่ของ panic attack ใน 1 สัปดาห์หลังจากได้รับยา alprazolam XR, alprazolam IR และยาหลอก (คัดลอกมาจาก Rickels K, 2004[15])

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบประสิทธิผลของ alprazolam IR และ XR กับ TCAs, MAOIs และ SSRIs ที่ใช้รักษา GAD และ panic disorder

ยา	ความเร็วในการออกฤทธิ์	ประสิทธิผลในการรักษาโรค		
		GAD	Panic disorder	Phobic avoidance
TCAs	~ 3 สัปดาห์	+++	+++	+++
MAOIs	~ 3 สัปดาห์	+++	+++	+++
SSRIs	2-4 สัปดาห์	+++	+++	+++
Alprazolam (IR, XR)	~ 1 สัปดาห์	+++	+++	+++

คัดแปลงมาจาก Rickels K, 2004[15]

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบผลข้างเคียงและปฏิกิริยาระหว่างยาของ alprazolam IR และ XR กับ TCAs, MAOIs และ SSRIs ที่ใช้รักษา GAD และ panic disorder

ยา	ง่วงนอน[Ψ]	น้ำหนักตัวเพิ่ม	พิษต่อ CVS	รบกวนความรู้สึก/สมรรถนะทางเพศ	ผลต่อทางเดินอาหาร	การเสพติด	อาการถอนยา
TCAs	++	++	+++	+	+	0	++
MAOIs	+	++	+++	+	+	0	++
SSRIs	+	+	+	++	+++	0	0/+/++*
Alprazolam (IR, XR)	+++	0	0	0	0	+	+++

[Ψ] รวม psychomotor impairment ด้วย

* Fluoxetine = 0, Sertraline = 0/+, Paroxetine = ++ , คัดแปลงมาจาก Rickels K, 2004[15]

พอใจผลการรักษาด้วยยา alprazolam XR ผลการศึกษาของ Alexander[20] มีปัญหาจากการที่ผู้ป่วยในกลุ่มยาหลอกมีการตอบสนองต่อยาหลอกสูงมาก แต่เมื่อตัดผลของกลุ่มยาหลอกที่มีการตอบสนองสูงเกิน 75% ออกแล้ว ผลการรักษาด้วย alprazolam XR จะสูงกว่ากลุ่มยาหลอกอย่างมีนัยสำคัญ

Schweizer และคณะ[21] ทำอีกหนึ่งการศึกษาที่ใช้การปรับขนาด alprazolam XR ตามการตอบสนองของผู้ป่วย และรักษาผู้ป่วย panic disorder เป็นเวลา 6 สัปดาห์ด้วยขนาดเฉลี่ยของ alprazolam XR 4.2 ± 2.5 มก/วัน เทียบกับยาหลอก การรักษาด้วย alprazolam XR ทำให้ความถี่ของการเกิดอาการ panic ลดลง 87% เทียบกับก่อนการรักษา ส่วนยาหลอกทำให้ความถี่ของอาการลดลงเพียง 16% alprazolam XR ยังทำให้ความรุนแรงของอาการ phobic avoidance, GAD, และอาการซึมเศร้าที่เป็นผลต่อเนื่องของอาการดังกล่าวต่างลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับก่อนการได้รับยา นอกจากนี้ ยังมีการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิผลของ alprazolam IR กับตำรับ XR และยาหลอกในผู้ป่วย panic disorder 209 รายเป็นเวลา 6 สัปดาห์ โดยให้ผู้ป่วยรับประทาน alprazolam IR วันละ 4 ครั้ง และ alprazolam XR (เฉลี่ย 4.2 ± 2.5 มก) วันละครั้งหลังอาหารเช้า เมื่อสิ้นสุดการศึกษา 6 สัปดาห์ มีผู้ป่วยที่อยู่ตลอดการศึกษาในกลุ่ม alprazolam IR 94%, ในกลุ่ม alprazolam XR 97%, และ 87% ในกลุ่มที่ได้รับยาหลอก จากการประเมินผลโดยรวมโดยใช้เกณฑ์ของ Hamilton Rating Scale for Anxiety (HAM-A), phobia rating และ work disability measures พบว่า ทั้ง alprazolam IR และ alprazolam XR ต่างออกฤทธิ์เร็วและมีประสิทธิผลในการระงับอาการ panic disorder ทัดเทียมกันและดีกว่ายาหลอกอย่างมีนัยสำคัญตลอด 6 สัปดาห์ที่ศึกษา ส่วนผลข้างเคียงที่เกิดบ่อยคืออาการง่วงนอนโดยเกิดกับ 86% ของผู้ป่วยที่ได้รับ alprazolam IR, 79% ที่ได้รับ alprazolam XR ในขณะที่กลุ่มยาหลอกเกิดประมาณ 49% ผลการศึกษานี้สรุปว่า alprazolam XR มีประสิทธิผลในการรักษา panic disorder ทัดเทียมกับ alprazolam IR แต่ทำให้เกิดผลข้างเคียงน้อยกว่า[22] อีกการศึกษาหนึ่งที่ใช้ alprazolam XR รักษาผู้ป่วย GAD 68 รายเป็นเวลา 21 สัปดาห์ โดยประเมินผลการรักษาและผลข้างเคียงของยาเป็นระยะ รวมทั้งปรับขนาดของยาให้เหมาะสมกับผู้ป่วยแต่ละราย ค่าที่ใช้ในการประเมินประสิทธิผลของการรักษาได้แก่ HAM-A, cognitive global impression (GCI), CGI-Improvement (CGI-I) ผลของการศึกษาพบว่า alprazolam XR มีประสิทธิผลในการรักษาที่ดีโดยทำให้ค่าตัววัด HAM-A, CGI และ CGI-Improvement ดีขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับก่อนได้รับยา และลดความถี่ของการเกิดอาการ panic attack และลดความรุนแรงของ agoraphobia ลง ทั้งแพทย์ผู้รักษาและผู้ป่วยต่างประเมินผลตรงกันว่า 75% ของผู้ป่วยมีอาการดีถึงดีขึ้นมาก มีผู้ป่วยครึ่งหนึ่งที่เกิดอาการข้างเคียงซึ่งส่วนใหญ่มีอาการง่วงนอน แต่อาการไม่รุนแรงและอาการคงอยู่ไม่นาน และมีผู้ป่วย 58% ที่ต้องปรับขนาดยาโดยปรับขนาดยาให้สูงขึ้นเพื่อเพิ่มประสิทธิผลในการรักษาและอีกส่วนปรับขนาดยาลงเพื่อลดอาการข้างเคียง มีผู้ป่วย 16 รายที่เคยได้รับการรักษาด้วย alprazolam IR มาก่อนและการปรับเปลี่ยนมาใช้ยา alprazolam XR ไม่เกิดปัญหาอะไรนอกจากต้องปรับขนาดยาให้สูงกว่าเดิมเล็กน้อย[23]

การศึกษาผลการรักษาของ alprazolam XR ขนาด 2 มก/วัน แบบ double-blind, randomized, parallel group โดยให้วันละครั้งก่อนนอนเปรียบเทียบกับ bromazepam ขนาด 9 มก/วัน แบ่งให้วันละ 3 ครั้งในผู้ป่วย GAD หลังจากการให้ยาไปแล้ว 21 วันจะเข้าสู่ช่วง 1 สัปดาห์ของการปรับลดขนาดของยาทั้งสองลงครึ่งหนึ่ง (alprazolam XR เหลือ 1 มก/วัน และ bromazepam เหลือ 4.5 มก/วัน) และประเมินผลการรักษาทุกสัปดาห์เทียบกับก่อนได้รับยาเป็นเวลา 5 สัปดาห์ alprazolam XR และ bromazepam ให้ผลในการรักษาทัดเทียมกันโดยทำให้อาการ GAD ลดลงประมาณ 70% และผลข้างเคียงเกิดขึ้นค่อนข้างน้อย และผู้ป่วยสามารถหยุดยาทั้งสองหลังสิ้นสุดการศึกษาโดยไม่มีผลต่อเนื่องตามมา[24]

การเปลี่ยนยาจาก Alprazolam IR เป็น Alprazolam XR

ในกรณีที่ผู้ป่วยหรือแพทย์ที่รักษาประสงค์จะเปลี่ยนการรักษาจากตำรับ alprazolam IR มาเป็น alprazolam XR จะทำได้ไม่ยากนัก โดยยึดขนาดเดิมที่ใช้ต่อวัน ในช่วงแรกอาจต้องประเมินผลการรักษาและปรับขนาดของยาถ้าจำเป็นเพื่อให้เกิดประสิทธิผลการรักษาสูงสุด ผู้ป่วยอาจมีอาการของโรคกำเริบขึ้นได้ ซึ่งอาจไม่ใช่เกิดจากผลการรักษาโดยตรง แต่เป็นความกังวลที่เกิดขึ้นจากความไม่มั่นใจว่ายาตำรับใหม่ (alprazolam XR) จะให้ประสิทธิผลเท่ากับยาตำรับเดิม (alprazolam IR) ที่ผู้ป่วยเคยได้รับอยู่และให้ผลการรักษาเป็นที่พอใจหรือไม่ รวมทั้งผลที่ผู้ป่วยเคยรู้สึกหรือได้รับจากยา alprazolam IR ที่ทำให้เกิดอาการง่วงนอนมากและอาการของโรคที่เคยระงับได้เร็ว ดังนั้น การให้ความมั่นใจว่าเป็นยาตัวเดียวกัน มีประสิทธิผลในการรักษาทัดเทียมกันและให้ความรู้กับผู้ป่วยที่ถูกต้องจะช่วยลดปัญหาจากการเปลี่ยนยาได้

ผลข้างเคียงของ Alprazolam XR

ผลข้างเคียงที่เกิดจาก alprazolam XR จะคล้ายคลึงกับ alprazolam IR แต่โดยทั่วไปจะมีอาการรุนแรงน้อยกว่า อาการข้างเคียงที่เกิดขึ้นได้แก่ ง่วงนอน อ่อนเพลีย กล้ามเนื้อทำงานไม่สัมพันธ์กัน ระยะเวลาตอบสนองจะนานขึ้น (prolong reaction time) สับสน รบกวนการทำงานทั้งด้านจิตและกาย เวียนศีรษะ ความรุนแรงของอาการข้างเคียงเหล่านี้จะสัมพันธ์โดยตรงกับขนาดของ alprazolam, C_{max} และ T_{max} เนื่องจากในขนาดยาที่เท่ากัน alprazolam IR จะให้ C_{max} ที่สูงกว่าและ T_{max} ที่สั้นกว่า alprazolam XR ดังนั้น แม้ผลการรักษาของ จะเกิดขึ้นเร็ว แต่โดยทั่วไป ผลข้างเคียงจะเกิดขึ้นเร็วและรุนแรงกว่า alprazolam XR ด้วย เช่น alprazolam IR จะลดความสามารถของการขับรถและการทำงานของสมองลงมากกว่า alprazolam XR เท่าหนึ่ง[25]

มีความเชื่อที่ยึดถือกันมานานว่าการใช้ยากลุ่ม benzodiazepines ติดต่อกันเป็นเวลานานจะทำให้การทำงานของสมองและสติปัญญาของผู้ป่วยเสื่อมลง แต่การศึกษาทางคลินิกได้ผลโต้แย้งความเชื่อดังกล่าว การศึกษานี้ทำในผู้ป่วย panic disorder 38 ราย โดยให้ผู้ป่วยได้รับการรักษาด้วย cognitive behavioral therapy ร่วมกับรับประทานยา alprazolam XR 4 มก/วัน เทียบกับยาหลอกเป็นเวลา 6 สัปดาห์ การตรวจวัดการทำงานของสมองทางคลินิก เช่น สมาธิ การตัดสินใจ ความสัมพันธ์ของการทำงานของสมองและกล้ามเนื้อ ความจำกำพูดที่ได้ยิน การเรียนรู้ และความเร็วในการตอบสนองต่อคำสั่ง ผลการศึกษาพบว่าไม่มีผู้ป่วยรายใดที่ได้รับยา alprazolam XR หรือยาหลอกมีการทำงานของสมองหรือมีสติปัญญาลดลงจากก่อนได้รับยาเลย[26]

การถอนยา Alprazolam XR

เนื่องจากโรคทางจิตเวชมักเป็นโรคเรื้อรังที่มีอาการกลับมาเป็นซ้ำค่อนข้างสูง การรักษาจึงต้องใช้เวลานาน อาการของโรคอาจกำเริบขึ้นได้เมื่อหยุดยาที่รักษา โรค GAD และ panic disorder ต่างก็เป็นโรคเรื้อรัง มีการกลับมาเป็นซ้ำค่อนข้างสูง โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อหยุดยาที่ใช้รักษาโรคเหล่านี้ alprazolam ที่เป็นยาที่นิยมใช้รักษาโรคเหล่านี้ ก็เป็นยาที่มีฤทธิ์กดสมองซึ่งเมื่อใช้กับผู้ป่วยเป็นเวลานานอาจทำให้เกิดอาการถอนยาได้เมื่อหยุดยา อาการถอนยา alprazolam จะคล้ายคลึงกับอาการของ GAD และ panic disorder ที่ผู้ป่วยเป็นอยู่แล้ว ทำให้การวินิจฉัยแยกแยะอาการถอนยาออกจากอาการกำเริบของโรคเมื่อหยุดยา (relapse) จึงทำได้ยากมาก และอาจทำให้การประเมินอุบัติการณ์ของการถอนยาสูงเกินความเป็นจริงได้ มีบางการศึกษาที่พบว่าอาการที่กำเริบขึ้นเมื่อหยุดยา alprazolam IR และ alprazolam XR มีอุบัติการณ์ที่ใกล้เคียงกัน อาการที่เกิดจากการถอนยามักมีความรุนแรงน้อย-ปานกลาง และจะค่อยๆบรรเทาลงจนกลับมาเป็นปกติในเวลาไม่นานนัก[18] โดยทั่วไป การถอนยา alprazolam ทั้งตำรับ IR หรือ XR จากผู้ป่วย panic disorder ทำได้ยากกว่า GAD ซึ่งอาจเป็นเพราะว่าผู้ป่วย panic disorder ตอบสนองต่อการถอนยาไวกว่า และอาการถอนยาที่เกิดขึ้นจะเสริมให้อาการ panic disorder รุนแรงมากขึ้น โดยเฉพาะถ้าการถอนยาทำโดยลดขนาดยาเร็วเกินไป[27] หรือถ้ามีการใช้ยา alprazolam นานเกิน 4 เดือนขึ้นไป เมื่อติดตามการใช้ยา alprazolam IR ของผู้ป่วย GAD และ panic disorder ต่อไปอีก 12-18

เดือนหลังจากสิ้นสุดการศึกษา ผลการติดตามประเมินผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มพบว่า มีผู้ป่วย 25% ที่ไม่จำเป็นต้องใช้ยาอีกเลยและปลอดจากอาการของโรค ส่วนผู้ป่วยที่ยังคงใช้ alprazolam IR ขนาดยาที่ผู้ป่วยใช้ลดลงจากขนาดเฉลี่ย 3.4 มก/วัน มาเป็นขนาด 1 มก/วัน โดยไม่มีผู้ป่วยรายใดใช้ยา alprazolam IR ในขนาดที่สูงขึ้นจากที่เคยใช้ในระหว่างการศึกษาเลย ประมาณ 78% ของผู้ป่วยรายงานว่าอาการ GAD ลดลงหรือไม่มีอาการอีกเลย แต่ผู้ป่วย panic disorder หยุด alprazolam IR ได้ยากกว่า ผลการศึกษาเหล่านี้ชี้ว่าการถอนยา alprazolam อาจไม่ยากอย่างที่คาด แต่การถอนยาต้องทำโดยลดขนาดของยาอย่างช้าๆ และการถอนยา alprazolam XR อาจง่ายกว่าการถอนยา alprazolam IR เนื่องจากระดับ alprazolam ในพลาสมาลดลงช้ากว่า[28]

การเสพติด Alprazolam XR

แม้จะเป็นที่ยอมรับกันทั่วไปว่ายากลุ่ม benzodiazepines มีประสิทธิภาพสูงมากในการรักษา GAD, panic disorder และอาการนอนไม่หลับ โดยยากลุ่มนี้มีผลข้างเคียงค่อนข้างต่ำ ทำให้ benzodiazepines เป็นยาที่มีการใช้ในทางคลินิกมากที่สุดกลุ่มหนึ่ง ปัญหาที่เกิดจากการใช้ยากลุ่ม benzodiazepines ระยะยาวที่มีการถกเถียงโดยยังไม่มีข้อยุติที่ชัดเจนคือ การใช้ยานี้ในระยะยาวจะทำให้เกิดการเสพติดหรือไม่ แม้ว่าจะมีข้อแนะนำว่าไม่ควรใช้ยากลุ่มนี้ติดต่อกันนานเกินกว่า 4 เดือนเพื่อหลีกเลี่ยงปัญหาดังกล่าว แต่ในบางสภาวะการณ์ การใช้ยา benzodiazepines อาจมีประโยชน์และมีความจำเป็น เช่น การรักษา panie disorder แม้ว่าแพทย์และนักวิชาบางกลุ่มเชื่อว่าผู้ที่ใช้ยา benzodiazepines ระยะยาวจะเป็นผู้ที่เสพติดและไม่สามารถหยุดยาเหล่านี้ได้ ข้อกล่าวอ้างนี้จะมีส่วนที่เป็นจริงอยู่บ้าง แต่มักจำกัดอยู่กับบุคคลบางรายที่มีปัจจัยเสี่ยงอยู่ก่อนแล้ว เช่น ผู้ที่กำลังเสพติดยาอื่นหรือมีประวัติการเสพติดยาอยู่ก่อนแล้ว อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีข้อบ่งห้ามการใช้ยา benzodiazepines กับผู้ที่มีประวัติการเสพติดยาเนื่องจากการเสพติดยาอื่นหรือมีประวัติการเสพติดยามิใช่ปัจจัยบ่งชี้ว่าผู้นั้นจะมีการเสพติดยา benzodiazepines เสมอไป[29]

มีนักวิทยาศาสตร์กลุ่มหนึ่งวิเคราะห์ประเด็นที่ว่าการใช้ benzodiazepines เป็นเวลานานจะทำให้เกิดการเสพติดหรือไม่ และรายงานผลว่าไม่มีหลักฐานที่แสดงว่าการใช้ benzodiazepines เป็นเวลานานจะทำให้เกิดการเสพติดและมีการเพิ่มขนาดยาที่ใช้โดยไม่มีข้อบ่งชี้หรือเหตุผลทางการแพทย์[30] (Woods et al 1988) ข้อสรุปนี้ได้รับการสนับสนุนจาก 3 การศึกษาขนาดเล็ก 3 การศึกษาที่ทำในผู้ป่วย panic disorder ไม่เกิน 60 รายต่อการศึกษา โดยผู้ป่วยได้รับการรักษาด้วยยา benzodiazepines ติดต่อกันนานประมาณ 1 ปี ผลของทั้ง 3 การศึกษาสอดคล้องกัน โดยในช่วงระยะเวลาที่ศึกษาผู้ป่วยเหล่านี้ไม่มีการเพิ่มขนาดยาหรือในบางรายขนาดยาที่ใช้กลับลดลง[31-33] ซึ่งช่วยบ่งชี้ว่าผู้ป่วยไม่เกิดการเสพติดยา เนื่องจากผู้ที่เสพติดยามักจะเพิ่มขนาดยาขึ้นไปเพื่อให้ได้ฤทธิ์ที่ตนเองพึงประสงค์โดยไม่เกี่ยวข้องกับผลทางการรักษาแต่อย่างใด ในปี 1998 มีการศึกษาขนาดใหญ่ที่ทำในผู้ป่วยนอก 862 รายที่ได้รับยา benzodiazepines เป็นเวลานานและมีผู้ป่วยประมาณ 68 รายที่ได้รับยานานถึง 3 ปีโดยที่ไม่ต้องปรับขนาดยาเพิ่มขึ้น[34] เมื่อเร็วๆนี้ มีอีก 1 การศึกษาขนาดใหญ่ที่ติดตามการใช้ยา benzodiazepines ในผู้ป่วย 2,440 รายที่เป็นโรคเรื้อรังต่างๆ เช่น โรคจิตเภท bipolar disorder, panic disorder และโรคลมชัก เป็นเวลา 2 ปี โดยผู้ป่วยเกือบทั้งหมดไม่มีการเพิ่มขนาดยาที่ใช้ มีผู้ป่วยเพียง 1.6% (60 รายจาก 2,440 ราย) ที่มีการเพิ่มขนาดยาที่ใช้สูงขึ้น และผู้ป่วยที่เพิ่มขนาดยาจะเป็นผู้ที่มีการใช้ยา benzodiazepines ที่มีครึ่งชีวิตสั้น มีประวัติการใช้ยาต้านโรคซึมเศร้า ยาระงับปวดกลุ่ม opioids และผู้ที่มีประวัติเสพติดยาอยู่ก่อนแล้ว แต่ผู้ป่วยสูงอายุที่ช่วยตัวเองได้น้อยจะไม่มีการเพิ่มขนาดยาเลย[4] ผลการศึกษานี้สนับสนุนผลการศึกษาก่อนนี้ว่าการใช้ยา benzodiaze[ines เป็นเวลานานจะไม่ทำให้มีการเพิ่มขนาดยาที่ใช้ และขัดแย้งกับข้อสันนิษฐานที่ว่าการใช้ benzodiazepines นานๆจะทำให้เสพติดและมีการเพิ่มขนาดของยาขึ้น แม้ว่าจะมีการศึกษาการเสพติดยา alprazolam ทั้งชนิด IR และ XR ค่อนข้างน้อย แต่พอจะ

อนุมานได้ว่าอัตราการเสพติดยา alprazolam จะเหมือนกับการเสพติด benzodiazepines ชนิดอื่นซึ่งค่อนข้างต่ำ โดยเฉพาะตำรับ XR ที่มีความผันผวนของระดับยาที่ได้รับในแต่ละครั้งค่อนข้างน้อยและระดับยาเปลี่ยนแปลงอย่างช้าๆ ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่จะเอื้อให้มีการเสพติดยาดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น

นอกจากยากลุ่ม benzodiazepines โดยเฉพาะ alprazolam IR และ alprazolam XR ที่นิยมใช้ในการรักษา GAD, panic disorder และ phobia อย่างกว้างขวางแล้ว ยังมียารักษาโรคซึมเศร้าที่ใช้ได้ผลในโรคเหล่านี้ เช่น TCAs, SSRIs, และ monoamine oxidase inhibitors (MAOIs)[15] ความแตกต่างทางคลินิกระหว่าง alprazolam IR และ XR กับยารักษาโรคซึมเศร้าได้แก่ ความเร็วในการออกฤทธิ์รักษา ผลข้างเคียงของยา และการเกิดปฏิกิริยากับยาอื่น โดยทั่วไป alprazolam IR และ XR ออกฤทธิ์ในการรักษาภายใน 1 สัปดาห์ซึ่งเร็วกว่ายารักษาโรคซึมเศร้าที่ออกฤทธิ์รักษาประมาณ 2-4 สัปดาห์ และalprazolam IR และ XR ยังใช้ระงับอาการ GAD, panic disorder และ phobia ที่เกิดอย่างเฉียบพลันได้อีกด้วย ซึ่งเป็นข้อได้เปรียบที่เหนือกว่ายารักษาโรคซึมเศร้ามากและเป็นสาเหตุที่ alprazolam IR และ XR ได้รับความนิยมอย่างสูง ในด้านผลข้างเคียงนั้น alprazolam IR และ XR ทำให้ง่วงนอน/psychomotor impairment มากกว่า จึงอาจเสพติดได้มากกว่า และมีอาการถอนยารุนแรงกว่ายารักษาโรคซึมเศร้าเล็กน้อย แต่ alprazolam IR และ XR ไม่ทำให้น้ำหนักตัวเพิ่ม ไม่รบกวนต่อความรู้สึกหรือสมรรถนะทางเพศ และไม่มีผลข้างเคียงต่อทางเดินอาหาร ในขณะที่ยารักษาโรคซึมเศร้าทำให้เกิดผลข้างเคียงเหล่านี้ค่อนข้างมาก ซึ่งทำให้ผู้ป่วยชื่นชอบ alprazolam IR และ XR มากกว่ายารักษาโรคซึมเศร้า ในกรณีที่ได้รับยาเกินขนาดไม่ว่าจะโดยไม่ตั้งใจหรือจงใจก็ตาม ความเป็นพิษของ alprazolam IR และ XR จะต่ำกว่า TCAs, MAOIs และ SSRIs มาก โดยเฉพาะต่อระบบหัวใจและหลอดเลือดและการชักซึ่งเป็นสาเหตุให้ผู้ป่วยเสียชีวิตได้ โอกาสการเกิดปฏิกิริยากับยาอื่นของ alprazolam IR และ XR จะพอๆกับ TCAs แต่น้อยกว่า MAOIs และมากกว่า SSRIs[15] ผลการเปรียบเทียบคุณสมบัติด้านต่างๆของ alprazolam IR และ XR กับ TCAs, MAOIs และ SSRIs แสดงอยู่ในตารางที่ 1 และ 2 ข้างล่างนี้

บทสรุป

alprazolam XR มีประสิทธิภาพเท่าเทียมกับ alprazolam IR ในการรักษา GAD, panic disorder, และ phobia ต่างๆ รวมทั้งอาการวิตกกังวลที่เกิดเป็นส่วนหนึ่งของโรคอื่นๆ alprazolam XR ต่างจากตำรับ IR ในด้านที่ออกฤทธิ์ได้ยาวนานกว่าและรับประทานยาเพียงวันละครั้ง ซึ่งจะลดความแปรปรวนของระดับยาในพลาสมาและสะดวกต่อผู้ป่วย การที่ระดับยาไต่ขึ้นช้าและระดับยาในร่างกายก่อนข้างคงที่ตลอดทั้งวันทำให้โอกาสที่อาการของโรคจะกำเริบก่อนได้รับยาครั้งต่อไปน้อยลงมาก และการที่ระดับยาลดลงอย่างช้าๆทำให้การถอนยาทำได้ง่ายและเกิดอาการถอนยาไม่รุนแรงเท่ากับ alprazolam IR ผลข้างเคียงและการเสพติดยาเกิดน้อยเนื่องระดับยาสูงสุดในพลาสมาจะต่ำกว่าที่เกิดจาก alprazolam IR ผลและคุณสมบัติเหล่านี้ทำให้ alprazolam XR เป็นทางเลือกที่ดีสำหรับผู้ที่จำเป็นต้องได้รักษาโดยการใช้ยาเป็นเวลานาน

References

1. Taylor CB. Treatment of anxiety disorders. In: The American Psychiatric Press Textbook of Psychopharmacology. 2nd ed. Schatzberg AF, Nemeroff CB, eds. American Psychiatric Press, Washington, D.C., 1998; 775-89.
2. Argyropoulos SV, Nutt DJ. The use of benzodiazepines in anxiety and other disorders. *Eur Neuropsychopharmacol* 1999; 9(suppl 6): S407-12.
3. Hollister LE, Muller-Oerlinghausen B, Rickels K, Shader RI. Clinical uses of benzodiazepines. *J Clin Psychopharmacol* 1993; 13:1S-169S.
4. Soumerai SB, Simoni-Wastila L, Singer C, Mah C, Gao X, Salzman C, Ross-Degnan D. Lack of relationship between long-term use of benzodiazepines and escalation to high dosages. *Psychitr Serv* 2003; 54:1006-11.
5. Chouinard G,Annable L, Fontaine Sol R, Solyom L. Alprazolam in the treatment of generalized anxiety and panic disorders: A double-blind, placebo-controlled study. *Psychopharmacology* 1982; 77:229-33.
6. Ballenger JC, Burrows GD, DuPont Jr RL, Lesswe LM, Noyes Jr R, Pecknold JC, et al.

Alprazolam in panic disorder and agoraphobia: Results from a multicenter trial: I. Efficacy in short-term treatment. Arch Gen Psychitr 1988; 45:413-22.
7. Klerman GL. Overview of the cross-national collaborative panic study. *Arch Gen Psychiatr* 1988; 45:407-12.
8. Noyes Jr R, DuPont Jr RL, Pecknold JC, Rifkin A, Rubin RT, Swinson RP, et al. Alprazolam in panic disorder and agoraphobia: Results from a multicenter trial: II. Patient acceptance, side effects, and safety. *Arch Gen Psychiatr* 1988; 45: 423-8.
9. Cross-National Collaborative Study, Second Phase Investigators. Drug treatment of panic disorder: Comparative efficacy of alprazolam, imipramine, and placebo. *Brit J Psychiatr* 1992; 160:191-202.
10. Shader RI, Greenblatt DJ. Use of benzodiazepines in anxiety disorders. *N Engl J Med* 1993; 328: 1398-405.
11. Ferguson JM, Alprazolam-XR: Patient acceptability, safety, and tolerability. Psychiatr Ann 1993; 23(Suppl 10): 20-6.
12. Sheehan DV. Why sustained release medication? Practical considerations in the management of patients with anxiety. *Psychiatr Ann* 1993; 23(Suppl 10): 3-7.
13. Stahl SM. Alprazolam XR: dosage considerations. *Psychiatr Ann* 1993; 23(10 suppl): 27-31.
14. Mnmford GK, Evans SM, Fleishaker JC, Griffiths RR. Alprazolam absorption kinetics affects abuse liability. *Clin Pharmacol Ther* 1994; 57: 356-65.
15. Rickels K. Alprazolam extended-release in panic disorder. *Expert Opin Pharmacother* 2004; 5:1599-11.
16. Wright CE, Sisson TL, Fleishaker JC, Antel EJ. Pharmacokinetics and psychomotor performance: concentration effect relationship. *J Clin Pharmacol* 1997; 37: 321-9
17. Glue P, Fang A, Gandelman K, Klee B. Pharamcokinetics of an extended release formulation of alprazolam (Xanax XR) in healthy normal adolescent and adult volunteer. *Am J Ther* 2006; 13: 418-22.
18. Pecknold J, Alexander PE, Munjack D. Alprazolam-XR in the management of anxiety: discontinuation. *Psychiatr Ann* 1993; 23(10 suppl): 38-44.
19. Schweizer E. Once-daily control of panic disorder: evidence from a placebo-controlled study of alprazolam XR. *Psychiatr Ann* 1993; 23(10 suppl): 32-37.
20. Alexander PE. Alprazolam-XR in the treatment of panic disorder: results of a multicenter study. *Psychiatr Ann* 1993; 23(10 suppl): 14-19.
21. Schweizer E, Patterson W, Rickels K, Rosenthal M. Double-blind, placebo-controlled study of a once-a-day, sustained-release preparation of alprazolam for the treatment of panic disorder. *Am J Psychiatr* 1993; 150: 1210-5.
22. Pecknold J, Luthe L, Munjack D, Alexander P. A double-blind, placebo-controlled, multicenter study with alprazolam and extended-release alprazolam in the treatment of panic disorder. *J Clin Psychopharmacol* 1994; 14: 314-21.
23. De La Gandara Martin JJ, Sanz Granado O, Varona Martinez A, Such P. Clinical use of sustained release of alprazolam: a naturalistic stuffy. *Actas Esp Psiquiatr* 1999; 27:191-7.
24. Figueira ML. Alprazolam SR in the treatment of generalized anxiety: a multicentre controlled study with bromazepam. *Hum Psychopharmacol Clin Exp* 1999; 14: 171-7.
25. Leufkens TR, Vermeeren A, Smink BE, van Ruitenbeek P, Ramaeker JG. Cognitive, psychomotor and actual driving performance in healthy volunteers after immediate and extended release formulations of alprazolam 1 mg. *Psychopharmacology* (Berl) 2007; 191: 951-9.
26. Gladsjo JA, Rapaport MH, McKinney R, Auerbach M, Hahn T, Rabin A, Oliver T, Haze A, Judd LL. Absence of neuropsychologic deficits in patients receiving long-term treatment with alprazolam-XR for panic disorder. J Clin *Psychopharmacol* 2001; 21:131-8.
27. Klein E, Colin V, Stolk J, Lennox RH. Alprazolam withdrawal in patients with panic disorder and generalized anxiety disorder: vulnerability and effect of carbamazepine. *Am J Psychiatr* 1994; 151: 1760-6.
28. Klein E. Discontinuation of benzodiazepines in patients with anxiety disorder: a focus on alprazolam and alprazolam extended release. *Curr Ther Res* 1995; 56:969-74.
29. Postermark MA, Mueller TI. Assessing the risk and benefits of benzodiazepines for anxiety disorder in patients with a history of substance abuse or dependence. *Am J Addict* 2001; 10:48-58.
30. Woods JH, Katz JL, Winger G. Use and abuse of benzodiazepines: issues relevant to prescribing. *JAMA* 1988; 260:3476-80.
31. Pollack MH, Tesar GE, Rosenbuam JF, et al. Clonazepam in the treatment of panic disorder and agoraphobia: a one-year follow-up. *J Clin Psychop*harmacol 1986; 6:302-4.
32. Sheehan DV. Benzodiazepines in panic disorder and agoraphobia. *J Affect Dis* 1987; 13:169-81.
33. Davidson JR. Continuation treatment of panic disorder with high-potency benzodiazepines. *J Clin Psychitr* 1990; 51(Suppl A):31-7.
34. Ishigooka J, Sugiyama T, Suzuki M, et al. Survival analytic approach to long-term prescription of benzodiazepine hypnotics. *Psychitr Clin Neurosci* 1998; 52:541-5.

DRUG EVALUATION

Agomelatine: a New MASSA Antidepressant, Could it be the Ideal Antidepressant?

Jintana Sattayasai
Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Khon Kaen University

Abstract

Despite the effectiveness of most currently available antidepressants, many of them have a delay responses after initiating treatment and a number of undesirable side effects. Agomelatine is a new antidepressant with an innovative pharmacological profile. It is a potent melatonin agonist (MT_1 and MT_2) and also has 5-HT_{2C} antagonist properties classified as a melatonin agonist and selective serotonin antagonist or MASSA. Agomelatine has specific advantages in promoting the ability to go to sleep and the quality of sleep without suffering the daytime drowsiness. The antidepressant and antianxiety efficacy of agomelatine has been demonstrated in many studies. The clinical advantage of agomelatine is attributed to its unique mechanism of action, which accounting for its effective antidepressant action and relative lack of side effects in particular it is not associated with the impairment of sexual function. Agomelatine appears as a clear option in the treatment of depressive patients without tolerability problems.

Key words: Agomelatine, antidepressant, MASSA, melatonin agonist, serotonin antagonist

Address correspondence and reprint requests: Jintana Sattayasai, Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Khon Kaen University, Khon Kaen, 40002, Thailand.

Agomelatine: ยาแก้ภาวะซึมเศร้าตัวใหม่ในกลุ่ม MASSA จะเป็น ideal antidepressant ได้หรือไม่

จินตนา สัตยาศัย

ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

บทคัดย่อ

ในปัจจุบันถึงแม้ว่ายารักษาภาวะซึมเศร้าที่ใช้อยู่จะมีประสิทธิภาพดีในการรักษา แต่หลังการได้รับยาก็ยังคงใช้เวลาที่ค่อนข้างนานกว่าจะเห็นการตอบสนองในผู้ป่วย และก่อให้เกิดอาการข้างเคียงที่หลากหลาย Agomelatine เป็นยารักษาภาวะซึมเศร้าตัวใหม่ที่มีคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาที่เปลี่ยนแปลงไปจากยารักษาภาวะซึมเศร้าทั่วๆ ไป โดยมีฤทธิ์กระตุ้น melatonin receptor ทั้ง MT_1 และ MT_2 และยับยั้ง 5-HT_{2C} receptor จึงสามารถจัดเป็นกลุ่ม MASSA Agomelatine มีข้อได้เปรียบพิเศษในการส่งเสริมการนอนหลับทั้งในแง่การหลับง่ายและมีคุณภาพของการหลับดีขึ้น โดยไม่ทำให้ง่วงซึมในช่วงกลางวัน จากการศึกษาทางคลินิกพบว่า agomelatine มีฤทธิ์รักษาทั้งภาวะซึมเศร้า และวิตกกังวล ผู้ป่วยส่วนใหญ่สามารถทนต่อยาได้ดี มีอาการข้างเคียงต่ำ และไม่พบปัญหาด้านเพศ Agomelatine จึงน่าจะเป็นยาใหม่ที่มีประโยชน์ในการรักษาภาวะซึมเศร้าโดยมีอาการข้างเคียงต่ำ

คำสำคัญ : Agomelatine, antidepressant, MASSA, melatonin agonist, serotonin antagonist

บทนำ

ภาวะซึมเศร้า (depression) จัดเป็นปัญหาทางจิตเวชที่พบได้บ่อยและมีผลกระทบต่อพื้นอารมณ์ (mood) ความสามารถในการเรียนรู้ (cognition) รวมทั้งการประกอบกิจต่าง ๆ ในชีวิตประจำวัน ซึ่งยารักษาภาวะซึมเศร้า (antidepressants) ยังคงเป็นยาหลักที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน การใช้ยากลุ่มนี้รักษาภาวะซึมเศร้าเริ่มต้นตั้งแต่การค้นพบผลแก้ภาวะซึมเศร้าของ imipramine ในปี ค.ศ. 1957 เป็นต้นมา จนกระทั่งเปลี่ยนมาสู่ยารุ่นใหม่มากมายหลายชนิดที่จัดเป็น second generations โดยมีกลไกการออกฤทธิ์ที่หลากหลาย อย่างไรก็ตามถึงแม้ว่าการพัฒนายารักษาภาวะซึมเศร้ามีความก้าวหน้าค่อนข้างมาก แต่ก็ยังไม่มียาใดที่สามารถเพิ่มอัตรา และ/หรือ ความเร็วในการตอบสนองต่อการรักษาได้ สิ่งที่พัฒนามากขึ้นเมื่อเทียบกับยากลุ่มแรกๆ (กลุ่ม tricyclic) มีเพียงลดผลข้างเคียงทำให้ผู้ป่วยร่วมมือในการรักษามากขึ้นเท่านั้น เหตุผลประการหนึ่งที่อาจมีส่วนเกี่ยวข้องกับปัญหาดังกล่าวได้แก่การที่ความรู้เกี่ยวกับสาเหตุของการเกิดภาวะซึมเศร้ายังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด นอกจากนี้ยาในกลุ่ม second generations หลาย ๆ ตัวยังคงมีผลเพิ่มความวิตกกังวล (anxiety) ในช่วงแรก ๆ ของการใช้ยา ผู้ป่วยอาจเกิดอาการคลื่นไส้ นอนไม่หลับหรือง่วงนอน น้ำหนักเพิ่มหรือลด รวมทั้งมีปัญหาเกี่ยวกับ sexual functions อีกด้วย[1,2,3,4]

จากการที่คลุ่มอาการที่พบในภาวะซึมเศร้ามีส่วนสัมพันธ์กับความผิดปกติของ homeostatic rhythms[3] ดังตัวอย่างเช่น ผู้ป่วยที่มีภาวะซึมเศร้าแบบ major depressive disorder (MDD) มักมีความผิดปกติของระดับ melatonin ในพลาสมา รวมทั้งลักษณะการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิร่างกายในช่วงตลอด 24 ชั่วโมง โดยมีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างชัดเจน (รูปที่ 1) นอกจากนี้ผู้ป่วย MDD ยังมีปัญหาเกี่ยวกับการนอน เช่นนอนหลับได้ยาก และยังตื่นบ่อย ๆ อีกด้วย เป็นที่ทราบกันดีว่า melatonin เป็น neurohormone ที่มีความสำคัญในการปรับความสมดุลของ biological rhythms ซึ่งในผู้ป่วยที่มีภาวะซึมเศร้ามักจะมีความผิดปกติในการหลั่ง melatonin (ดังแสดงในรูปที่ 1ก) นอกจากนี้จากการทดลองทำให้หนูถีบจักรขาด melatonin receptor ก็พบว่าหนูจะแสดงอาการเหมือนมีภาวะซึมเศร้าและมีการเปลี่ยนแปลงของ hippocampal synaptic plasticity เกิดขึ้น ดังนั้นจึงเป็นที่น่าเชื่อได้ว่าการมีความผิดปกติของ melatonin functions น่าจะสัมพันธ์กับภาวะซึมเศร้า จากข้อมูลดังกล่าวจึงมีผู้ให้ความสนใจในการที่จะพัฒนายาที่มีฤทธิ์เลียนแบบ melatonin ซึ่งควรต้องผ่าน blood-brain-barrier ได้อย่างดีเพื่อนำมาใช้ปรับ rhythms ที่เสียไปและน่าจะส่งผลแก้ไขภาวะซึมเศร้าได้ จากทฤษฎีดังกล่าวจึงได้มีการสังเคราะห์สาร agomelatine (S-20098; N[2-(7-metboxy-1-naphthyl)ethyl] acetamide) (รูปที่ 2) ซึ่งมีคุณสมบัติเป็น melatonin agonist โดยสามารถจับและกระตุ้น melatonin receptor ทั้งชนิด MT_1 และ MT_2 ได้อย่างดี

คุณสมบัติทางเภสัชวิทยาของ agomelatine

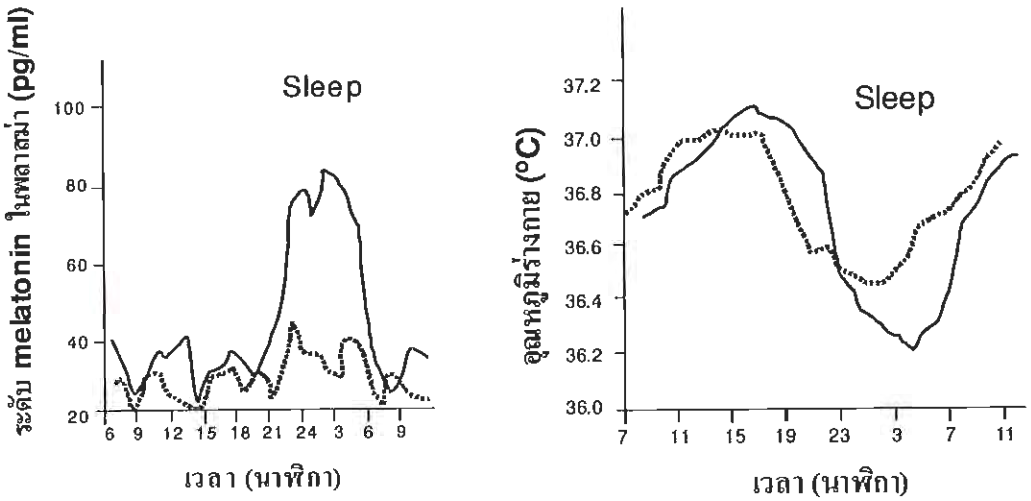
คุณสมบัติทางเภสัชพลศาสตร์ (Pharmacodynamic Properties)

Receptor binding profile

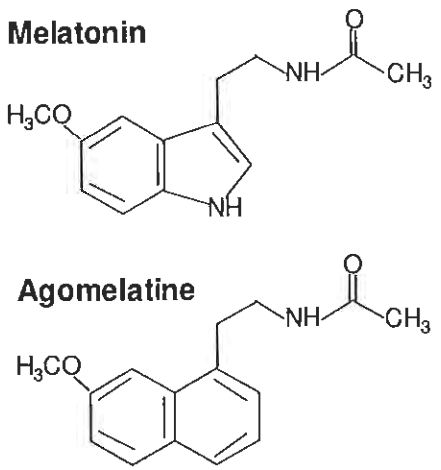
ข้อมูลที่ได้จากการทดลองทั้งทางปรีคลินิกและคลินิกเสนอแนะว่า agomelatine เป็นยากระตุ้น (agonist) melatonin receptor ทั้งชนิด MT_1 และ MT_2 ที่เฉพาะเจาะจง และยังเป็นยาต้าน (antagonist) serotonin receptor ชนิด 5-HT_{2C} อีกด้วย[1,3,5] จากการที่ MT_1/MT_2 reeeptors มีบทบาทสำคัญในการควบคุม supra-chiasmatic nucleus circadian clock จึงเชื่อได้ว่าน่าจะเป็นกลไกสำคัญที่ทำให้agomelatine สามารถแก้ไขปัญหาที่เกิดกับ sleep-wake cycle และ circadian rhythms อื่น ๆ โดยเฉพาะการกระตุ้น MT_1 receptor ใน suprachiasmatic nucleus และ limbic regions จะช่วยเสริมการนอนหลับ และ MT_2 receptor ทำให้มีการปรับ circadian rhythms

จากการศึกษาคุณสมบัติในการจับกับ recaptors และ enzymes ที่สำคัญชนิดต่าง ๆ รวมมากกว่า 80 ชนิด พบว่า agomelatine แสดงคุณสมบัติเป็นยากระตุ้นที่ MT_1 ($Ki = 0.1 \pm 0.1$ nM) และ MT_2 ($Ki = 0.12 \pm 0.02$ nM) นอกจากนี้ยังเป็นยาต้านต่อ 5-HT_{2C} ($IC_{50} = 0.27$ nM) ซึ่ง 5-HT_{2C} receptor จะพบมากที่สมองส่วน frontal cortex,

ก ข



รูปที่ 1 ความผิดปกติของ circadian rhythms ในผู้ป่วยที่มีภาวะซึมเศร้า (เส้นประ) เทียบกับกลุ่มควบคุม (เส้นทึบ) (ดัดแปลงจาก Kennedy, 2007[1])



รูปที่ 2 โครงสร้างของ melatonin และ agomelatine (คัดลอกจาก Kennedy, 2007[1])

hippocampus และ amygdala อย่างไรก็ตาม agomelatine ($IC_{50} > 10^{-5}$ M) ไม่สามารถจับกับ receptors และ enzymes อื่น ๆ ที่ทำการทดลอง[3]

ผลต่อระดับสารส่งผ่านประสาท (neurotransmitter level)

ข้อมูลจากการศึกษา *in vivo* ในโมเดลที่ใช้ หนูขาวที่ให้เกลื่อนไหวได้โดยอิสระ แสดงให้เห็นว่า agomelatine สามารถเพิ่มระดับของ dopamine ในสมองส่วน frontal cortex โดยไม่มีผลต่อระดับ dopamine ใน nucleus accumbens และ striatum[3] ทั้งนี้ระดับ dopamine ใน frontal cortex จะเพิ่มขึ้นในลักษณะที่ขึ้นกับขนาดของ agomelatine ที่ใช้ agomelatine ยังมีผลเร่งการปล่อยสัญญาณ (firing rate) ของ adrenergic cell bodies ใน locus ceruleus อีกด้วย การเพิ่มขึ้นของทั้ง noradrenaline และ dopamine น่าจะเป็นผลมาจากการยับยั้ง $5\text{-}HT_{2C}$ receptorsทั้งนี้เนื่องจาก $5\text{-}HT_{2C}$ มีส่วนสำคัญในการส่งสัญญาณยับยั้งไปยัง frontocortical dopamine และ adrenergic pathway และผลดังกล่าวยังไม่สามารถยับยั้งโดยยาต้าน MT_1/MT_2 receptor (S-22153)[3]

ผลต่อภาวะซึมเศร้าและวิตกกังวลในสัตว์ทดลอง

ได้มีการศึกษาถึงผลของ agomelatine ในสัตว์ทดลองโดยทำการศึกษาในหลากหลายโมเดล สรุปได้ว่า agomelatine มีฤทธิ์แก้ภาวะซึมเศร้า และลดความวิตกกังวลได้[1,3,6]

ในโมเดลที่ทำให้เกิดภาวะความเครียดระดับอ่อนแบบเรื้อรังในหนูขาวพบว่า agomelatine ในขนาด 10 หรือ 25 มิลลิกรัม/กิโลกรัม เป็นเวลา 7 วัน สามารถแก้ไขผลของความเครียดได้ในแบบที่ขึ้นกับขนาดของยาที่ใช้ นอกจากผลของ agomelatine จะมีประสิทธิภาพเทียบเคียงได้กับ imipramine และ fluoxetine แล้ว agomelatine ยังให้ผลตอบสนองได้เร็วกว่าคุณสมบัติในการลดภาวะวิตกกังวลของ agomelatine สามารถพบได้ในหลาย ๆ โมเดลของการทดลองซึ่งแตกต่างจาก melatonin และการให้ MT_1/MT_2 antagonist ก็ไม่มีผลต้านฤทธิ์ของ agomelatine ดังนั้นจึงเชื่อได้ว่าฤทธิ์ดังกล่าวน่าจะมีส่วนมาจากการเป็น antagonist ที่ $5\text{-}HT_{2C}$ receptor คุณสมบัติในการลดภาวะวิตกกังวลของ agomelatine ยังมีความแตกต่างจากยาในกลุ่ม benzodiazepines เช่น chlorazepate โดยที่ agomelatine ไม่มีผลยับยั้งการหลั่งของ 5-HT และ noradrenaline ที่ corticolimbic[6] เป็นเหตุให้มีส่วนในการเสริม cognitive - attentional functions ในผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของพื้นอารมณ์

ผลต่อการเกิดเซลล์ประสาทใหม่ (neurogenesis)

ในปัจจุบันเป็นที่ทราบกันดีแล้วว่าการเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้างของสมองและการลดลงของ neuroplasticity (ความยืดหยุ่นของเซลล์ประสาท) มีส่วนสัมพันธ์กับการเกิดปัญหาทางอารมณ์ ไม่ว่าจะเป็นภาวะซึมเศร้า หรืออาการต่าง ๆ ที่เกิดจากความเครียด อันนำมาสู่การอธิบายการเกิดภาวะซึมเศร้าด้วย neuroplasticity hypothesis และการศึกษาถึงผลของยาแก้ซึมเศร้า ในปัจจุบัน มีผู้ให้ความสนใจเกี่ยวกับผลของยาที่มีต่อ neuroplasticity กันอย่างมาก

ยาแก้ภาวะซึมเศร้าหลายตัว ตัวอย่างเช่น tianeptine ซึ่งเป็นยาในกลุ่ม SSRE (selective serotonin reuptake enhancer) จัดเป็นยาที่มีรายงานมากมายเกี่ยวกับผลเพิ่ม neuroplasticity ทั้งการเพิ่มการเกิดเซลล์ประสาทใหม่และการปรับโครงสร้างของรอยประสานประสาท (synaptic plasticity หรือ synaptic remodeling)[7,8] การเกิดเซลล์ประสาทใหม่ในสมองจะพบได้มากที่ dentate gyrus ของ hippocampus ซึ่งมีความสำคัญในการเกิดการเรียนรู้และความจำ

จากการศึกษาโดย Banasr และคณะ[9] ในปี ค.ศ. 2006 โดยทำในหนูขาวพบว่า การให้ agomelatine ในขนาด 40 มิลลิกรัม/กิโลกรัม เป็นเวลา 3 สัปดาห์ สามารถเพิ่มการแบ่งตัวของเซลล์ (cell proliferation) และเกิดเซลล์ประสาทใหม่ได้ในส่วนของ ventral dentate gyrus ซึ่งเป็นบริเวณที่มีความสำคัญในการตอบสนองต่อความวิตกกังวลและอารมณ์ การให้ agomelatine สามารถเพิ่มความอยู่รอด (survival) ของเซลล์ที่เกิดใหม่ได้อีกด้วย จากการศึกษาดังกล่าวทำให้ agomelatine สามารถ

เพิ่มความอยู่รอด (survival) ของเซลล์ที่เกิดใหม่ได้อีกด้วย จากการศึกษาดังกล่าวทำให้เชื่อว่าฤทธิ์แก้ภาวะซึมเศร้าและความวิตกกังวลของ agomelatine น่าจะมีส่วนมาจากการเพิ่มการสร้างเซลล์ประสาทใหม่ที่ ventral dentate gyrus ร่วมด้วย

คุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์ (Pharmacokinetic Properties)

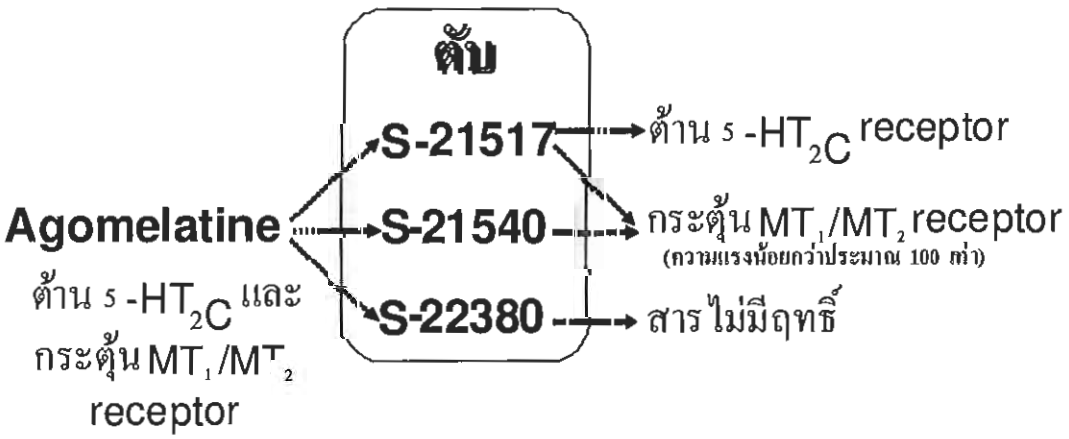
การดูดซึมและการกระจายตัว

Agomelatine สามารถถูกดูดซึมได้อย่างรวดเร็วจากทางเดินอาหาร โดยระดับยาสูงสุดในเลือดจะเกิดในช่วงระหว่าง 1-2 ชั่วโมงหลังรับประทานยา ปริมาณยาที่เข้าสู่กระแสเลือดจะมีไม่น้อยกว่าร้อยละ 78 ของยาที่ได้รับ ประมาณไม่น้อยกว่าร้อยละ 95 ของยาที่อยู่ในพลาสมาจะจับกับโปรตีน ได้แก่ albumin และ alpha-1 acid glycoprotein ความสามารถในการกระจายตัวของ agomelatine จัดอยู่ในระดับปานกลางโดยมีค่าปริมาตรการกระจายตัว (volume of distribution) ที่ steady state ประมาณ 35 ลิตร

การเปลี่ยนแปลงและการกำจัดยา

ตับเป็นอวัยวะที่สำคัญในการเปลี่ยนแปลง agomelatine ทำให้ได้เมแทบอไลท์ หลายตัวแล้วจึงกำจัดออกทางปัสสาวะกระบวนการที่ใช้ในการเปลี่ยนแปลง agomelatine ที่ตับมีทั้ง o-demethylation และ hydroxylation สารเมแทบอไลท์ที่สำคัญ ๆ ได้แก่ S-21517, S-21540 และ S-22380 ซึ่งสารเมแทบอไลท์ ทั้ง 3 ตัวจะมีคุณสมบัติที่แตกต่างกันไป (รูปที่ 3) S-21517 สามารถจับกับ 5-HT_{2C} receptor ได้เช่นเดียวกับ agomelatine แต่จับกับ MT_1/MT_2 receptor ได้น้อยกว่า agomelatine ประมาณ 100 เท่า S-21540 จับกับ MT_1/MT_2 receptor ได้น้อยกว่า agomelatine ประมาณ 100 เท่าเช่นเดียวกับ S-21517 แต่ไม่สามารถจับกับ 5-HT_{2C} receptor ได้ ส่วน S-22380 เป็นสารเมแทบอไลท์ที่แทบจะไม่มีฤทธิ์เลย[3]

ภายในเวลา 24 ชั่วโมง สารเมแทบอไลท์ที่เกิดขึ้นจะถูกขับออกทางปัสสาวะคิดเป็นประมาณร้อยละ 61-81 ของขนาดยาที่ได้รับ ปริมาณเล็กน้อยของ S-22380 จะถูกกำจัดออกทางอุจจาระ และระยะเวลาครึ่งชีวิต (half-life) ของ agomelatine ค่อนข้างสั้นโดยมีค่าประมาณ 2 ชั่วโมง



รูปที่ 3 ภาพแสดงการเปลี่ยนแปลงของ agomelatine ในตับ และคุณสมบัติในการจับกับ receptor ชนิดต่าง ๆ ของเมแทบอไลท์ที่เกิดขึ้น เมื่อเทียบกับ agomelatine

การศึกษาทางคลินิก

ประสิทธิภาพของ agomelatine ในการแก้ภาวะซึมเศร้านั้นได้มีการศึกษาในหลายการศึกษา โดยใช้ double-blind, randomized, placebo-controlled ผลจากการศึกษาพบว่าฤทธิ์แก้ภาวะซึมเศร้าของ agomelatine เกิดจากการต้านที่ 5-HT_{2C} receptor เป็นหลัก โดยมีฤทธิ์กระตุ้นที่ MT_1/MT_2 receptor เป็นส่วนร่วมแต่เป็นส่วนสำคัญในการปรับ circadian rhythms แบบแผนของการนอนหลับ ระยะเวลาการนอนหลับ และคุณภาพของการนอนหลับ[1,3,10,11] จากผลดังกล่าวทำให้ agomelatine กลายเป็นยาแก้ซึมเศร้าที่มีความน่าสนใจอย่างมาก

ในภาวะMDD, bipolar disorder และ วิตกกังวล

จากผลการศึกษาทางคลินิกแสดงให้เห็นว่า agomelatine ให้ผลในการแก้ภาวะซึมเศร้าได้เมื่อเทียบกับการให้ยาหลอก โดยมีประสิทธิภาพเช่นเดียวกับยาในกลุ่ม SSRI (selective serotonin reuptake inhibitor) และ SNRI (serotonin and noradrenaline reuptake inhibitor) อย่างไรก็ตามผู้ป่วยที่ได้รับ agomelatine จะทนต่อยาได้ดีกว่ายาตัวอื่นโดยเปรียบเทียบทั้งในแง่ผลต่อการนอนหลับ และสมรรถภาพทางเพศ ส่งผลให้อัตราการเลิกใช้ยาลดน้อยลง

การศึกษา randomized, multicenter, double-blind, fixed dose ในผู้ป่วยซึมเศร้า 711 รายโดยให้ยา agomelatine ขนาด 1, 5 หรือ 25 มิลลิกรัม/วัน เทียบกับยาหลอก หรือ paroxetine ขนาด 20 มิลลิกรัม/วัน ติดต่อกันเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า agomelatine ในขนาด 25 มิลลิกรัม/วันให้ผลในการรักษาที่แตกต่างจากยาหลอกอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้จำนวนผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วย agomelatine ยังสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับ paroxetine อีกด้วย ทั้งนี้การประเมินทำโดยการดูค่า Hamilton Rating Scale for Depression (HAM-D) ลดลงมากกว่าร้อยละ 50 เมื่อเทียบกับค่าก่อนการรักษา จากการศึกษาครั้งนี้ยังแสดง agomelatine 25 มิลลิกรัม / วัน จะทำให้ค่า HAM-D score ของผู้ป่วยลดลงอย่างมีนัยสำคัญภายใน 2 สัปดาห์หลังได้รับยาเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ paroxetine ซึ่งใช้เวลาประมาณ 4 สัปดาห์[12,13] agomelatine ในขนาด 25 มิลลิกรัม/วัน ยังมีประสิทธิภาพในการรักษาผู้ป่วยที่มีปัญหาทางจิตในลักษณะ bipolar[14] หรือวิตกกังวลที่สัมพันธ์กับภาวะซึมเศร้า[6] อีกด้วย

ฤทธิ์ในการปรับวงจรการหลับตื่น

ปัญหาในการนอนหลับจัดเป็นกลุ่มอาการที่พบได้บ่อยในผู้ป่วยที่มีภาวะซึมเศร้า นอกจากนี้ความผิดปกติของ internal circadian rhythm system และวงจรการหลับตื่นยังอาจมีส่วนในพยาธิกำเนิด (pathogenesis) ของภาวะซึมเศร้าอีกด้วย ยาแก้ซึมเศร้าที่ออกฤทธิ์ต่อระบบ serotonin ก็สามารถลดปัญหานี้ได้บ้าง อย่างไรก็ตามยาเหล่านั้นมักจะมีฤทธิ์ที่ receptor อื่น ๆ อีกมาก เช่น มีฤทธิ์ antimuscarinic และ antihistaminic ทำให้ผู้ป่วยเกิดอาการปากแห้ง ง่วงซึมในระหว่างวัน และน้ำหนักตัวเพิ่ม

Agomelatine สามารถปรับ circadian rhythm ได้อย่างดี[15-18] จากการศึกษาแบบ open-label ในผู้ป่วยซึมเศร้าจำนวน 15 ราย พบว่าการได้รับ agomelatine ในขนาด 25 มิลลิกรัม/วัน ติดต่อกันเป็นเวลา 6 สัปดาห์จะทำให้ลดการตื่น เพิ่ม total slow-wave sleep และผู้ป่วยรายงานว่า มีคุณภาพของการนอนหลับที่ดีขึ้น โดยไม่ง่วงนอนในช่วงกลางวัน นอกจากนี้อีกหลายการศึกษาก็ให้ผลสนับสนุนว่า ผู้ป่วยที่ได้รับ agomelatine จะหลับง่ายขึ้นและมีคุณภาพของการนอนหลับดีขึ้น

ผลต่อ sexual function

ในผู้ป่วยที่มีภาวะซึมเศร้ามักพบว่ามีปัญหาเกี่ยวกับ sexual function ทั้งทางด้านความกำหนัดและสมรรถภาพ นอกจากนี้การรักษาด้วยยาแก้ซึมเศร้า ยังมีส่วนทำให้เกิดปัญหาด้านเพศมากยิ่งขึ้น โดยมักมีผลกระทบความตื่นตัว (arousal) การถึงจุดสุดยอด (orgasm) และการหลั่ง (ejaculation) [1,3,5] ทั้งนี้ผลดังกล่าวจะพบได้แม้จะใช้ยาในกลุ่ม SSRI และ SNRI ถึงแม้ว่ายาแก้ซึมเศร้าในกลุ่ม NaSSA (alpha$_2$ adrenoceptor and 5-HT_3 antagonist) เช่น mirtazapine จะมีฤทธิ์ยับยั้ง 5-HT_{2C}

receptor ซึ่งช่วยลดการเกิดปัญหาทางเพศได้ อย่างไรก็ตามยาในกลุ่มนี้มีผลทำให้น้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นได้จากการยับยั้ง histamine receptor

เป็นที่เชื่อกันว่าการยับยั้ง 5-HT_{2C} receptor จะเสริมผลของ dopaminergic transmission ในสมองและป้องกันการหลั่ง prolactin ซึ่งการเพิ่มระดับ prolactin จะส่งผลให้เกิดภาวะ galactorrhea, menstrual changes และ sexual dysfunction โดยเฉพาะทำให้เกิดภาวะหมดสมรรถภาพทางเพศในผู้ชาย เนื่องจาก agomelatine สามารถยับยั้ง 5-HT_{2C} receptor จึงมีผู้ให้ความสนใจในการศึกษาถึงผลของ agomelatine ที่มีต่อ sexual function ในผู้ป่วยซึมเศร้า จากการศึกษาผลข้างเคียงด้านเพศของ agomelatine เปรียบเทียบกับ venlafaxine ในผู้ป่วยซึมเศร้าโดยให้ยาติดต่อกันเป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าจำนวนผู้ป่วยที่ไม่เกิดปัญหาทางเพศเมื่อได้รับ agomelatine หรือ venlafaxine คิดเป็นร้อยละ 80 และ 50 ตามลำดับ อาการข้างเคียงอื่นๆเกี่ยวกับ sexual function ที่อาจพบได้จากกลุ่ม agomelatine จะไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ได้ยาหลอก[1,3,5,12]

ความปลอดภัยและความทนต่อยา

จากการศึกษาในระดับคลินิกหลายการศึกษาพบว่าการได้รับ agomelatine ทำให้เกิดผลข้างเคียงที่ไม่แตกต่างจากการใช้ยาหลอกและน้อยกว่า paroxetine ทั้งนี้ยังไม่พบผลต่อระบบหัวใจร่วมหลอดเลือด (cardiovascular effects) การทำงานของตับ ไต และความผิดปกติอื่น ๆ ทางห้องปฏิบัติการ รวมทั้งการหยุดยาหลังจากได้รับยาติดต่อกันเป็นเวลา 12 สัปดาห์ ก็ไม่พบการเกิดอาการหรืออาการแสดงของการขาดยา[19]

ตารางที่1 ข้อมูลทางเภสัชวิทยาของ agomelatine[1]

กลไกการออกฤทธิ์ agomelatine เป็น melatonergic antidepressant โดยเป็น agonist ที่ MT_1/MT_2 receptor และยังเป็น antagonist ที่ 5-HT_{2C} receptor อีกด้วย
คุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์ agomelatine มีระยะเวลาครึ่งชีวิตสั้น (ประมาณ 2 ชั่วโมง) ดูดซึมได้อย่างรวดเร็วจากทางเดินอาหาร ถูกเปลี่ยนแปลงโดยตับผ่าน cytochrome P450 1A2 และ 2C9 isoenzymes นอกจากนี้ metabolites ที่ได้จะถูกกำจัดออกทางปัสสาวะ
ประสิทธิผลทางคลินิก, การทนต่อยา และความปลอดภัยของยา จากการศึกษาแบบ randomized, placebo-controlled trial แสดงให้เห็นว่า agomelatine มีประสิทธิภาพในการรักษา MDD ทัดเทียมกับ venlafaxine และมีอัตราการหายจากโรคไม่แตกต่างกัน agomelatine ทำให้เกิดผลข้างเคียงต่ำ โดยพบว่าเกิดอาการข้างเคียงเทียบเคียงได้กับกลุ่มยาหลอก และต่ำกว่ายาตัวอื่นๆที่นำมาศึกษาเปรียบเทียบ
ข้อได้เปรียบพิเศษของ agomelatine ข้อมูลจากการศึกษาเกี่ยวกับข้องกับการนอนหลับเสนอแนะว่า agomelatine สามารถช่วยให้วงจรการหลับตื่นของผู้ป่วยกลับเข้าสู่ปกติได้ โดยไม่มีผลทำให้เกิดปัญหาด้านเพศ และน่าจะมีผลดีในผู้ป่วยที่มีอาการ bipolar หรือวิตกกังวลอีกด้วย
ขนาดของยา และคำแนะนำ การให้ agomelatine ควรให้วันละ 1 ครั้งก่อนนอน โดยเริ่มด้วย 25 มิลลิกรัม/วัน และถ้าการตอบสนองยังไม่ดีพอตามที่ต้องการอาจเพิ่มขนาดเป็น 50 มิลลิกรัม/วัน

บทสรุป

Agomelatine เป็นยาแก้ภาวะซึมเศร้าซึ่งมีลักษณะการออกฤทธิ์ที่ไม่เหมือนยาตัวอื่น ๆ ที่มีใช้อยู่ในปัจจุบันโดยจัดเป็นกลุ่ม melatonin agonist selective serotonin antagonist (MASSA)[20] เนื่องจาก agomelatine ออกฤทธิ์กระตุ้นที่ MT_1/MT_2 receptor และต้านที่ $5\text{-}HT_{2C}$ receptor ซึ่งจาก pharmacological profile ของ agomelatine (ตารางที่ 1) ทำให้ agomelatine น่าจะเป็นยาแก้ภาวะซึมเศร้าที่มีประสิทธิภาพที่ดีในการรักษาภาวะซึมเศร้าทั้งที่มีภาวะวิตกกังวลร่วมด้วยหรือไม่ และผู้ป่วยสามารถทนต่อยาได้ดีกว่ายาอื่นๆ

References

1. Kennedy SH. Agomelatine: an antidepressant with a novel mechanism of action. *Future Neurol* 2007;2:145-51.
2. Norman TR. Prospect for the treatment of depression. *Aust N Z J Psychiatry* 2006;40:394-401.
3. Zupancic M, Guilleminault C. Agomelatine: a preliminary review of a new antidepressant. *CNS Drugs* 2006;20(12): 981-92.
4. Norman TR, Burrows GD. Emerging treatments for major depression. *Expert Rev Neurother* 2007;7(2):203-13.
5. Hamon M, Bourgoin S. Pharmacological profile of antidepressants: a likely basis for their efficacy and side effects? *Eur Neuropsychopharmacol* 2006;16:S625-32.
6. Millan MJ, Brocco M, Gobert A, Dekeyne A. Anxiolytic properties of agomelatine, an antidepressant with melatoninergic and serotoninergic properties: role of $5\text{-}HT_{2C}$ receptor blockade. *Psychopharmacology* 2005;177:448-58.
7. Sattayasai J. Neuroplasticity and psychotropic drugs. *Thai J Pharmacol* 2004;26 (Suppl):18-36.
8. Sattayasai J. Drugs and brain plasticity. *Thai J Pharm Sci* 2004;28 (Suppl):132-42.
9. Banasr M, Soumier A, Hery M, Mocaer E, Daszuta A. Agomelatine, a new antidepressant, induces regional changes in hippocampal neurogenesis. *Biol Psychiatry* 2006;59:1087-96.
10. Delagrange P, Boutin JA. Therapeutic potential of melatonin ligands. *Chronobiol Int* 2006;23 (1-2):413-8.
11. Fuchs E, Simon M, Schmelting B. Pharmacology of a new antidepressant: benefit of the implication of the melatonergic system. *Int Clin Psychopharmacol* 2006;21(Suppl1):S17-20.
12. Montgomery SA. Major depressive disorders: clinical efficacy and tolerability of agomelatine, a new melatonergic agonist. *Eur Neuropsychopharmacol* 2006;16:S633-8
13. Olie JP, Kasper S. Efficacy of agomelatine, a MT1/MT2 receptor agonist with 5-HT2C antagonist properties, in major depressive disorder. *Int J Neuropsychopharmacol* 2007; published online by Cambridge University Press May 04:1-13.
14. CalabresesJR, Guelfi JD, Perdrizet-Chevallier C.Agomelatine adjunctive therapy for acute bipolar depression: preliminary open data. *Bipolar Disord* 2007;9(6):628-35.
15. Kupfer DJ. Depression and associated sleep disturbances: patient benefits with agomelatine. *Eur Neuropsychopharmacol* 2006;16(2):S639-43.
16. Salva MA, Vanier B, Laredo J, Hartley S, Chapotot F, Moulin C, Lofaso F, Guilleminault C. Major depressive disorder, sleep EEG and agomelatine: an open-label study. *Int J Neuropsychopharmacol* 2007; published online by Cambridge University
17. Pjrek E, Winkler D, Konstantinidis A, Willeit M, Praschak-Reider N, Kasper S. agomelatine in the treatment of seasonal affective disorder. *Psychopharmacology* 2007;190(4):575-9.
18. Srinivasan V, Smits M, Spence W, Lowe AD, Kayumov L, Pandi-Perumal SR, Parry B, Cardinali DP. Melatonin in mood disorders. *World J Biol Psychiatry* 2006; 7(3):138-51.
19. Pandi-Perumal SR, Srinivasan V, Cardinali DP, Monti MJ. Could agomelatine be the ideal antidepressant? *Expert Rev Neurother* 2006;6(11):1595-608.
20. Farce A, Dilly S, Yous S, Berthelot P, Chavatte P. Homology modeling of the serotoninergic 5-HT2C receptor. *J Enzyme Inhib Med Chem* 2006; 21(3):285-92.

กำหนดการประชุมวิชาการประจำปี ครั้งที่ 30
สมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย
ร่วมกับภาคเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์/คณะเภสัชศาสตร์/
คณะสัตวแพทยศาสตร์/ คณะทันตแพทยศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
วันที่ 27-28 มีนาคม 2551

ห้องประชุมสี สิริสิงห อาคารสมเด็จย่า ชั้น 2 คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

From Pharmacology to National Drug Policy

วันพฤหัสบดีที่ 27 มีนาคม 2551

8.00 - 8.45 น.	ลงทะเบียน
8.45 - 9.00 น.	ประธาน กล่าวรายงาน พิธีเปิดการประชุม โดย อธิการบดี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย นายกสมาคมฯ กล่าวต้อนรับผู้เข้าร่วมการประชุม
9.00 - 10.15 น.	The 15th Dr.Chiravat Sadavongvivad Memorial Lecture: ยากับระบบประกันสุขภาพ วิทยากร : ศ.นพ.ธาดา ยิบอินซอย
10.15 - 10.30 น.	พัก- อาหารว่างและเครื่องดื่ม
10.30 - 12.00 น.	Symposium I : Rational drug use and update on essential drug list วิทยากร : ศ.พญ.สยมพร ศิรินาวิน ภญ.อรวรรณ เกตุเจริญ ผู้ดำเนินการอภิปราย : ผศ.นพ.พิสนธิ์ จงตระกูล
12.00 – 13.00 น.	Luncheon Symposium I : Adding an ARB or ACEI to your well controlled cardiovascular risk patients : Is there any Paradox in clinical practice ? วิทยากร : รศ.นพ.ดร.ศุภนิมิต ทีฆชุณหเถียร พญ.คุณหญิง มัลลิกา วรรณไกรโรจน์
13.00 – 14.00 น.	Poster Session นำเสนอผลงานโดย: นิสิต/นักศึกษาบัณฑิตศึกษา พิจารณาผลงานโดย: คณะกรรมการพิจารณาผลงานวิจัย

14.00 – 15.45 น.	Symposium II : World wide viral infection and antiviral agents วิทยากร : ศ.นพ.ยง ภู่วรวรรณ ศ.นพ.เกียรติ รักษ์รุ่งธรรม ผู้ดำเนินการอภิปราย : รศ.นพ.ประสิทธิ์ ผลิตผลการพิมพ์
15.45 – 17.00 น.	ประชุมธุรการสมาคมฯ และเลือกผู้รั้งตำแหน่งนายกสมาคมฯ งานเลี้ยงต้อนรับผู้เข้าร่วมประชุม

วันศุกร์ที่ 28 มีนาคม 2551

8.30-9.45 น.	Plenary Lecture : Biosimilar : Concept in the quality assurance of generic biological products วิทยากร : Oranee T. Daniels , MD.
9.45-10.00 น.	พัก - อาหารว่างและเครื่องดื่ม
10.00-12.00 น.	Symposium III : Clinical experiences of biological products วิทยากร : ศ.นพ.สุทัศน์ ปู่เจริญ ผศ.นพ.เกื้อเกียรติ ประดิษฐ์พรศิลป์ ผู้ดำเนินการอภิปราย : ผศ.ดร.วัชรี ลิมปนสิทธิกุล / Oranee T. Daniels , MD.
12.00-13.00 น.	Luncheon Symposium II : Unmet medical need in the treatment of Depression : How far we go ? วิทยากร : รศ.ดร.จินตนา สัตยาศัย รศ.นพ.ชัยชนะ นิ่มนวล
13.00-15.00 น.	Symposium IV : Stem Cell : Facts and issues of concern วิทยากร : ศ.นพ.สุรพล อิสรไกรศีล อ.นพ.ภาคภูมิ เขียวละม้าย
15.00 - 15.15 น.	พัก - อาหารว่างและเครื่องดื่ม
15.15 - 16.00 น.	ประกาศและมอบรางวัลการนำเสนอผลงานวิจัย นำเสนอผลงานโดยนิสิต/นักศึกษาผู้ได้รับรางวัล
16.00 น.	พิธีปิดการประชุมโดยนายกสมาคมฯ

Instruction for Authors

The Thai Journal of Pharmacology serves as the official journal of the Pharmacological and Therapeutic Society of Thailand. The journal is designed to contribute to the publication of researches and information exchanges in the field of pharmacology and related fields. The manuscripts should not have been published before. Original full length scientific research papers, short communication, case report, letter to editor, minireviews, pharmacological digest and new drugs profile will be included in this journal .

Manuscripts

Three copies of manuscripts, diskette(s) and illustration(s) are required. Manuscript of research articles should be written in English, the others can be either English or Thai. The preparation of the manuscript should be in the form of Microsoft Word (front: Times New Roman size 10). Pages should be numbered consecutively, including the title page.

Table and illustration should be numbered with Arabic figures consecutively in the order of first citation in the text and supply a brief title for each. Explain in footnotes all non-standard abbreviation that are used. Illustrations should be professionally drawn and photographed or produced on a laser printer. Nomenclature should follow the recommendations of the International Union for Pure and Applied Chemistry (IUPAC), and the International Union for Biochemistry (IUB). All measurements must be in System International (SI) units.

Research articles

The research papers should contain a) title, b) abstract, c) keywords, d) introduction, e) material and methods, f) result, g) discussion, h) references.

The title page: Should contain the title of the article, author(s) name and affiliation (s) laboratory or institute of origin and address. Name and complete address of author responsible for correspondence about the manuscript should be also placed at the foot of the title page. ***An abstract*** limited to approximately 250 words should be carried in this page. It should be informative and state concisely what was done, results obtained and conclusion. Three to ten ***keywords*** or short phrases appropriate for subject indexing should be typed at the bottom of abstract.

Introduction: State clearly the purpose of article, the rationale for the study or observation. Relevant previous study should be cited and do not review the subject extensively .

Materials and Methods: Describe the sufficient detail of the method, experimental subjects (patients or experimental animals, including controls) clearly. Identify the method, apparatus (manufacturer's name and address in parenthesis). Give references to established method, study design and statistical method .

Results: Present your results in logical sequence in the text, tables, and illustrations. Only important observations should be summarized and emphasized. Do not repeat in the text all the data in the table or illustrations.

Discussion: Comment on the results and integrate them with the existing knowledge and point out the field. Recommendation may also be included.

Acknowledgment: Persons, financial or technical helps which have contributed to the paper should be acknowledged in a paragraph.

References: Place the number references consecutively in the order in which they are first mention in the text. Use the style of the examples below:

Examples

Articles in journals

(1) Standard journal article (List all authors, but if the number exceeds three give three followed by et al)

You CH, Lee KY, Chen RY, et al. Electrogastrographic study of patients with unexplained nausea, blotting and vomitting . *Gastroenterology* 1980; 79:311-4.

(2) Organisation as author

The Royal Marsden Hospital Bone-marrow Transplantation Team. Failure of syngeneic bone-marrow graft without preconditioning in post-hepatitis marrow aplasia. *Lancet* 1977;2:742-4.

(3) No author given

Coffee drinking and cancer of the pancreas (editorial). *BMJ* 1981;283-628.

(4) Volume with supplement

Magni F, Borghi S, Berti F. BN-52021 protects guinea-pig from heart anaphylaxis. *Pharmacol Res Commun* 1988;20 suppl 5:75-8.

(5) Books and other monographs

5.1 Personal author(s)

Colson JH, Armour WJ. *Sports injuries and their treatment.* 2nd rev ed. London: S Paul, 1986.

5.2 Editor(s), compiler as author

Diener HC, Wilkinson M, editors. *Drug-induced headache.* New York Springer-Verlag, 1988.

5.3 Chapter in a book

Jaffe JH, Martin WR. Opioid analgesics and antagonists. In: Gilman AG, Goodman LS, Gilman A, editors. *The Pharmacological basic of therapeutics.* 6th ed. New York: MacMillan Publishing, 1980:494-543.

5.4 Conference proceedings

Vivian VL, editor. Child abuse and neglect: a medical community response. *Proceeding of the first AMA National Conference on Child Abuse and Neglect*; 1984; Mar 30-31; Chicago. Chicago: American Medical Association, 1985.

(6) Dissertation

Youseff NM. *School adjustment of children with congenital heart disease* (dissertation). Pittsburg (PA): Univ of Pittsburg, 1988.

(7) In press
Lillywhite HB, Donald JA. Pulmonary blood flow regulation in an aquatic snake. *Science*. In press.

Reviews

All reviews are usually peer-reviewed. If the manuscript is written in Thai, English title and abstract are also required.

Short communication

Short communication should contain new and unpublished results in a short form. It should not exceed 2 print pages and may contain one table and one illustration.

Manuscript submission

All manuscripts are to be submitted to editor or associate editors, Thai Journal of Pharmacology, Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Chulalongkorn Hospital, Rama IV Road, Bangkok 10330, Thailand. All paper are critically reviewed by the invited referees. Reviewers' comments are usually returned to the authors. The editorial board will decide upon the time of publication and retain the right to modify the style of contribution. However, major changes will be agreed with the authors. Authors will receive 25 reprints free.

Copyright

The Pharmacological and Therapeutic Society of Thailand holds the copyright on all material appearing in the journal.

ประกาศ

ท่านที่สนใจศึกษาต่อ...ในสาขาวิชาเภสัชวิทยา

ขณะนี้ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กำลังขายใบสมัครเพื่อเข้าศึกษาในภาคต้นปีการศึกษา 2551 นี้

หลักสูตร วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต และดุษฎีบัณฑิต สหสาขาวิชาเภสัชวิทยา

ผู้รับผิดชอบหลักสูตร สหสาขาเภสัชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผู้สอน คณาจารย์จาก ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ คณะทันตแพทยศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ และ คณะสัตวแพทยศาสตร์

หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

จำนวนนิสิตที่คาดว่าจะรับ 15 คน

คุณสมบัติของผู้มีสิทธิ์สมัคร

1. สำเร็จปริญญาบัณฑิตในสาขาวิทยาศาสตร์ด้านสุขภาพ ชีวภาพ และเคมี จากสถาบันอุดมศึกษาที่กระทรวงศึกษาธิการรับรอง
2. คณะกรรมการบริหารหลักสูตรฯ พิจารณาแล้ว เห็นสมควรให้มีสิทธิ์เข้าสมัครศึกษาได้

หลักสูตรวิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต

จำนวนนิสิตที่คาดว่าจะรับ 3 คน

คุณสมบัติของผู้มีสิทธิ์สมัคร

สำหรับผู้สำเร็จปริญญาตรี

1. สำเร็จปริญญาบัณฑิตในสาขาวิทยาศาสตร์ด้านสุขภาพ ชีวภาพ และเคมี จากสถาบันอุดมศึกษาที่กระทรวงศึกษาธิการรับรอง และได้รับเกียรตินิยม
2. คณะกรรมการบริหารหลักสูตรฯ พิจารณาแล้ว เห็นสมควรให้มีสิทธิ์สมัครเข้าศึกษาได้

สำหรับผู้สำเร็จปริญญาโท

1. สำเร็จปริญญามหาบัณฑิตสาขาวิชาเภสัชวิทยา และสาขาวิทยาศาสตร์ชีวภาพอื่นๆ
2. คณะกรรมการบริหารหลักสูตรฯ พิจารณาแล้ว เห็นสมควรให้มีสิทธิ์สมัครเข้าศึกษาได้

วิธีการคัดเลือก ผู้สมัครทั้งสองหลักสูตรต้องผ่านการสอบคัดเลือก ดังต่อไปนี้

1. สอบข้อเขียน วิชาภาษาอังกฤษ (CU-TEP) และวิชาเฉพาะทาง (ทดสอบความสามารถเชิงวิเคราะห์ ทางวิทยาศาสตร์)

2. สอบสัมภาษณ์

วิชาที่สอบ	วันและเวลาที่ทำการสอบ	สถานที่สอบ
1. ทดสอบความสามารถเชิงวิเคราะห์ ทางวิทยาศาสตร์	24 มีนาคม 2551 (08.30 – 11.30 น.)	ห้อง 319 ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ จุฬา ฯ
2. สอบสัมภาษณ์	24 มีนาคม 2551 (13.00-16.30 น.)	ห้อง 318 ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาฯ

ผู้ที่ไม่มีผลสอบภาษาอังกฤษ (CU-TEP) ดูรายละเอียดได้จากประกาศ เรื่อง
การทดสอบความรู้ความสามารถทางภาษาอังกฤษ และสมัครได้ที่ www.atc.chula.ac.th
(ส่งผลการทดสอบภาษาอังกฤษ (CU-TEP) ที่หลักสูตรสหสาขาวิชาเภสัชวิทยา ภายในวันที่ 24 มีนาคม 2551)

ประกาศรายชื่อผู้มีสิทธิ์สอบ 10 มีนาคม 2551 ที่ บัณฑิตวิทยาลัย หรือ www.grad.chula.ac.th
ประกาศผลการสอบคัดเลือก 4 เมษายน 2551 ที่ บัณฑิตวิทยาลัย หรือ www.grad.chula.ac.th

หากผู้สมัครมีข้อสงสัยเกี่ยวกับคุณสมบัติของผู้มีสิทธิ์สมัคร ติดต่อได้ที่ คุณวราภรณ์ มีศาสตร์
สหสาขาวิชาเภสัชวิทยา ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โทร. 0-2218-8325
โทรสาร. 0-2218-8324 ระหว่างเวลา 09.00 – 15.30 น.

ดูรายละเอียดได้ที่ www.grad.chula.ac.th

สมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย

ใบสมัครเข้าเป็นสมาชิก

เขียนที่ .....

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

นาย

ข้าพเจ้า นาง ..... ชื่อสกุล.....

นางสาว

อาชีพ ..... ขอสมัครเข้าเป็นสมาชิกสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย และขอรับรองว่า จะปฏิบัติตามระเบียบข้อบังคับของสมาคมทุกประการ

ข้าพเจ้ายินดีจะชำระค่าบำรุงสมาคมโดย

O เป็นรายปี ปีละ 200 บาทถ้วน

O ครั้งเดียว 1,000 บาทถ้วนสำหรับสมาชิกตลอดชีพ

ลงชื่อ .....

( )

เรียน

รศ.สมใจ นครชัย

ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะเภสัชศาสตร์

มหาวิทยาลัยมหิดล

ถนนศรีอยุธยา

กทม. 1040

ทะเบียนประวัติ

นาย

1. ชื่อ นาง ..... ชื่อสกุล .....

นางสาว

ชื่อภาษาอังกฤษ (ตัวพิมพ์ใหญ่).....

2. เกิดวันที่ .....เดือน.....พศ.....

3. ตำแหน่งหน้าที่หรือตำแหน่งทางวิชาการในปัจจุบัน .....

.....

4. สถานที่ทำงาน

.....

.....

..... โทรศัพท์/ แฟกซ์ .....

e-mail address .....

5. ที่อยู่ปัจจุบัน

.....

.....

6. ประวัติการศึกษาขั้นอุดมศึกษา (เรียงลำดับจากวุฒิสูงสุด)

ปี พ.ศ.	ชื่อสถานศึกษา	วุฒิที่ได้รับ
.....		
.....		
.....		

7. สาขาหรือแขนงวิชาที่สนใจหรือเชี่ยวชาญเป็นพิเศษ

.....

.....

.....

.....

รายนามคณะกรรมการที่ปรึกษาและบริหารสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย

วาระประจำปี พ.ศ. 2549-2551

คณะกรรมการที่ปรึกษา	ภก.พลตรี สุนันท์ โรจนวิภาต
	รศ. พลตรี ดร.ทัศนัย สุริยจันทร์
	รศ.พญ.สุมนา ชมพูทวีป
	รศ.พ.อ.ดร.บพิตร กลางกัลยา
คณะกรรมการบริหาร	
นายกสมาคม	ดร.อุดม จันทรารักษ์ศรี
ผู้รั้งตำแหน่งนายกสมาคม	รศ.ภญ.ดร.จินตนา สัตยาศัย
อุปนายก	ผศ.นพ.ดร.วิทยา ตันสุวรรณนนท์
เลขาธิการ	รศ.ภญ.สุพีชา วิทยเลิศปัญญา
ฝ่ายวิชาการ	ผศ.ภญ.ดร.วัชรี ลิมปนสิทธิกุล
เหรัญญิก	ดร.นพ.สุรินทร์ พลเสน
ปฏิคม	ผศ.ยุคลพร สินรัชตานนท์
นายทะเบียน	รศ.ภญ.สมใจ นครชัย
บรรณาธิการวารสาร	รศ.ภญ.ดร.สุพัตรา ศรีไชยรัตน์
กรรมการกลาง	รศ.ภก.ดร.ชัยชาญ แสงดี
	รศ.นพ.ประวิทย์ อัครเสรีนนท์
	ผศ.ดร.ลัดดาวัลย์ ผิวทองงาม
	รศ.ภญ.ดร.ชวนี ทองโรจน์
	รศ.ดร.พิศมัย เหล่าภัทรเกษม
	รศ.ภญ.ดร.มยุรี ดันติสิระ
	ผศ.ดร.เบญจมาศ จันทร์ฉวี

การประชุมวิชาการประจำปี
สมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 30
27 - 28 มีนาคม 2551

The 15th Dr. Chiravat Sadavongvivad Memorial Lecture
"ยากับระบบประกันสุขภาพ"
ศาสตราจารย์ นายแพทย์ธาดา ยิบอินซอย

Topics

- Stem cell : facts and issues of concern
- Clinical experiences of biological products
- Biosimilar : concept in the quality assurance of generic biological products
- World wide viral infection and antiviral agents
- Rational drug use and update on essential drug list
- Unmet medical need in the treatment of depression: how far we go ?
- Adding an ARB or ACEI to your well controlled cardiovascular risk patients : is there any paradox in clinical practice ?

SERVIER
Life through Discovery
www.servier.com

จัดโดย สมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย ร่วมกับ ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ณ ห้องประชุม สี สิริสิงห อาคารสมเด็จย่า คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สอบถามข้อมูลเพิ่มเติม http://www.phartherst.org หรือ โทร 02-256-4481, 02-251-1965