



Thai Journal of Pharmacology

www.phartherst.org

วารสารเภสัชวิทยา

Official Publication of
Pharmacological and Therapeutic Society of Thailand

Contents

RESEARCH ARTICLES

Comparative Cytotoxic Activity of Oxitan and Eloxatin
in Colon Cancer Cell Line SW620

Anti-inflammatory and Analgesic Activities of Water Extract
of *Malvastrum coromandelianum* (L.) Garcke

Antidermatophytic Activity of *Piper betle* Cream

Effects of *Pueraria Mirifica* Subchronic Exposure on Hepatic
Cytochrome P450 in Rats Fed with Normal and High-
Cholesterol Diets

REVIEWS

Comparison of Two Commercially Available Pegylated
Liposomal Doxorubicin Products: Doxil/Caelyx versus Lipo-
Dox

Pharmacology of the Fluoroquinolones: the Update

DRUG EVALUATION

ZIPRASIDONE: an Atypical Antipsychotic Drug

2006, Vol. 28, No.3

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 Pravitt Akarasereenont Laddawal Phivthong-ngam
Somjai Nakornchai

Editorial Board

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

Manager Supeecha Wittayaalertpanya

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) นี้เป็นลิขสิทธิ์ของสมาคมเภสัชวิทยามหาวิทยาลัยแห่งประเทศไทย ไม่อนุญาตให้นำส่วนใดส่วนหนึ่งของเอกสารฉบับนี้ไปถ่ายเอกสาร ผลิตหรือพิมพ์ซ้ำ หรือนำไปใช้เพื่อประโยชน์ทางการค้าโดยปราศจากการยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรจากบรรณาธิการ

Thai Journal of Pharmacology

Vol. 28, No. 3, 2006

Contents

2 EDITORIAL

RESEARCH ARTICLES

- 3 Comparative Cytotoxic Activity of Oxitan and Eloxatin
in Colon Cancer Cell Line SW620
Chariya Hahnvajjanawong and Wichitra Tassaneeyakul

- 8 Anti-inflammatory and Analgesic Activities of Water Extract
of *Malvastrum coromandelianum* (L.) Garcke
*Parirat Khonsung, Saranyapin Nantsupawat,
Sukanya Nimmannit Jesadanont, Vanida Chantharateptawan,
Ampai Panthong*

- 16 Antidermatophytic Activity of *Piper betle* Cream
*Nopamart Trakranrungsie, Arinee Chatchawanchonteera,
Watcharee Khunkitti*

- 22 Effects of *Pueraria Mirifica* Subchronic Exposure on Hepatic
Cytochrome P450 in Rats Fed with Normal and High-
Cholesterol Diets
*Somsong Lawanprasert, Laddawal Phivthong-ngam,
Supatra Srichairat, Nuansri Niwattisaiwong, Kittiya Charoenkul,
Chaiyo Chaichantipyut*

REVIEWS

- 33 Comparison of Two Commercially Available Pegylated
Liposomal Doxorubicin Products: Doxil/Caelyx versus
Lipo-Dox
Praneet Opanasopit

- 42 Pharmacology of the Fluoroquinolones: the Update
Uraiwan Ketsawatsakul Panich and Weerathep Chattanachotikul

DRUG EVALUATION

- 56 ZIPRASIDONE: an Atypical Antipsychotic Drug
Chaichan Sangdee

บทบรรณาธิการ

เรียน ชาวเภสัชวิทยาและท่านผู้อ่าน

วารสารของสมาคมเภสัชวิทยานับนี้เป็นฉบับสุดท้ายของปี 2549 เช่นเคยที่ฉบับสุดท้ายมักจะออกมอล่าช้า และปีนี้ล่าช้ากว่าทุกปีที่ผ่านมา ในฐานะบรรณาธิการที่ทำหน้าที่มานานเกินไปคงไม่ขอแก้ตัวอะไรได้นอกจากขอโทษท่าน แต่ท่านก็จะได้รับทันทีสองฉบับคือฉบับนี้และฉบับที่ 1 ของปี 2550 ซึ่งเป็น Proceeding ของงานประชุมวิชาการประจำปี

ในฉบับนี้ก็ยังคงเนื้อหาที่น่าสนใจดังเช่นเคย นอกจากจะมีนิพนธ์ต้นฉบับถึง 4 เรื่องแล้ว ยังมีบทบรรณนิทัศน์หรือบททวนวรรณกรรม 2 เรื่อง และ ประเมินยาอีก 1 เรื่อง ในฉบับที่ผ่านมา เรามักจะจัดให้ส่วนนี้เป็นงานบททวนวรรณกรรมของยาใหม่ ทำให้การทบทวนประเมินยาก่อนข้างจำกัดในวงแคบ เพราะว่า ยาบางตัวที่ใช้ไปแล้วระยะหนึ่ง มักจะมีข้อมูลใหม่ๆออกมาเพิ่มเติม ในประเด็นต่างๆ ทั้งในแง่ภูมิใหม่ของแนวทางการใช้ยา ผลการศึกษาทางคลินิกเพิ่มเติมรวมทั้งผลไม่พึงประสงค์ที่อาจเกิดขึ้น และมีรายงานออกมาอย่างต่อเนื่อง สมควรที่จะนำข้อมูลใหม่เหล่านั้นมาประเมินยาดังกล่าว จึงขอเปลี่ยนเป็นหัวข้อ Drug Evaluation แทนหัวข้อเดิมที่เป็นยาใหม่

ขอขอบพระคุณท่านสมาชิกที่ให้การสนับสนุนและยังคงสนใจอ่านวารสารของสมาคมฯอย่างต่อเนื่อง จากจำนวนสมาชิกที่เพิ่มขึ้นทุกปี และผลงานที่ท่านสนใจส่งมาตีพิมพ์ในวารสารที่มากขึ้นเรื่อยๆ จะเป็นแรงผลักดันให้มีวารสารออกมาได้ปีละ 3 ฉบับตามที่ตั้งใจ แม้ว่าจะมีบางฉบับที่จัดให้ในวาระพิเศษตามที่ท่านขอมา โดยที่เนื้อหาทางวิชาการมีประโยชน์โดยรวม เราก็ยินดีจัดให้ข้อเสนอแนะจากท่านผู้อ่านมีคุณค่าเสมอ และมีส่วนช่วยในการปรับปรุงวารสารฉบับต่อไป

รศ. ดร. สุพัตรา ศรีไชยรัตน์

บรรณาธิการ

RESEARCH ARTICLES

Comparative Cytotoxic Activity of Oxitan[®] and Eloxatin[®] in Colon Cancer Cell Line SW620

Chariya Hahnvajanawong¹ and Wichitra Tassaneeyakul²

¹ Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002, Thailand

² Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002, Thailand

Abstract

Cytotoxic activities of a test formulation (Oxitan[®]) were compared to a reference formulation (Eloxatin[®]) against a colon cancer cell line *in vitro*. The sulforhodamine B (SRB) assay was used to estimate cell numbers indirectly by staining total cellular protein with the SRB. The IC₅₀ value was expressed as the concentration of the drug (in nanograms per milliliter) that caused a 50% growth inhibition compared with the control. The treatment of an SW620 colon cancer cell line with the test formulation (Oxitan[®]) and the reference formulation (Eloxatin[®]) markedly decreased cell viability with IC₅₀ values of 42.8 ± 16.0 and 88.6 ± 26.0 ng/ml, respectively. Results of statistical analysis using the Student's unpaired *t*-test revealed that the IC₅₀ value of the test formulation was significantly lower than that of the reference formulation.

Key words: cytotoxic activity, Oxitan[®], Eloxatin[®], colon cancer cell line

เปรียบเทียบฤทธิ์ความเป็นพิษของออกซิเทนและอีลอกซาตินต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ SW620

จริยา หาญจนวงศ์¹และ วิจิตรา ทศนียกุล²

¹ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 40002 ประเทศไทย

² ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 40002 ประเทศไทย

บทคัดย่อ

ฤทธิ์ความเป็นพิษของตำรับยาทดสอบ (ออกซิเทน) เปรียบเทียบกับตำรับยาอ้างอิง ต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ในหลอดทดลอง โดยใช้วิธี Sulforhodamine B (SRB) assay เพื่อหาจำนวนของเซลล์โดยทางอ้อมด้วยการย้อมโปรตีนทั้งหมดของเซลล์ด้วยสี SRB ค่า IC₅₀ เป็นค่าที่แสดงความเข้มข้นของยา (นาโนกรัมต่อมิลลิตร) ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับเซลล์ควบคุม จากการศึกษาฤทธิ์ของตำรับยาทดสอบ (ออกซิเทน) และตำรับยาอ้างอิง (อีลอกซาติน) ต่อ SW620 ซึ่งเป็นเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่พบว่าสามารถลดจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอย่างชัดเจนโดยมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 42.8 ± 16.0 และ 88.6 ± 26.0 นก./มล. ตามลำดับ ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้ Student unpaired t-test พบว่าค่า IC₅₀ ของตำรับยาทดสอบมีค่าต่ำกว่าตำรับยาอ้างอิงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

คำสำคัญ : ฤทธิ์ความเป็นพิษ, ออกซิเทน, อีลอกซาติน, เซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่

Introduction

Colorectal cancer (CRC) is among the most common malignant diseases and is also the most frequent cause of cancer-related deaths. A complete surgical resection is still possible, but many patients will experience a recurrence¹. Over the last few decades, 5-Fluorouracil and analogs administered as continuous infusion or bolus and modulated by leucovorin have been the standard therapy for both adjuvant and metastatic treatment. However, the modality treatment has now changed to other active drugs such as oxaliplatin, irinotecan, oral fluoropyrimidines, and new molecular targeted therapies that have increased the treatment options available for these patients².

Oxaliplatin is a third-generation analog of platinum compound with 1, 2-diaminocyclo-hexane carrier ligand. The difference in the molecular structure as well as in the DNA adducts formed results in a different spectrum of activity than that of cisplatin and carboplatin^{2,3}. The response rate of oxaliplatin when used as a single agent in metastatic colorectal cancer patients is approximately 12% to 24.3%⁴. The combination of oxaliplatin with 5-FU and leucovorin (FOLFOX regimens) is now considered first-line treatment in metastatic colorectal cancer. This chemotherapy regimen shows response rates of 35% to 45%, and median survival up to 14-19 months^{3,5}.

Because cancer treatment is becoming increasingly more resource-intensive in the face of severe hospital budget and spending constraints, cost-effective cancer therapies have been the focus of public health systems. Treatment costs can become the most important criterion when efficacy outcomes are similar. At present, both oxaliplatin preparations (Eloxatin[®] as the reference formulation and Oxitan[®] as the test formulation) are available in Thailand. Since comparative studies of cytotoxic activity had never been reported, the purpose of this study was to compare cytotoxic activity of oxaliplatin as a test formulation (Oxitan[®]: Dabur Pharma Limited, New Delhi, India) with that of a reference formulation (Eloxatin[®]: Sanofi-Synthelabo, Paris, France) on a colon cancer cell line *in vitro*.

Materials and Methods

Chemicals

Test formulation:

Oxitan[®] containing 50 mg oxaliplatin, 25 ml water for injection USP; Dabur Pharma Limited, New Delhi, India; Lot 5JP20; Manufactured 10/2005; Expiry 09/2007. (Oxitan[®] was in a solution form.)

Reference formulation:

Eloxatin[®] containing 50 mg oxaliplatin,

450 mg lactose monohydrate; Sanofi-Synthelabo, Paris, France; Lot 49; Manufactured 02/2005; Expiry 02/2008. (Eloxatin[®] was dissolved in 25 ml of water for injection.) RPMI 1640, penicillin, and streptomycin were purchased from Invitrogen Corp. (Carlsbad, CA, USA). Fetal bovine serum (FBS) was purchased from Seromed (Berlin, Germany). Sulforhodamine B (SRB) and trypsin-EDTA were purchased from Sigma Chemical Corp. (St. Louis, MO, USA). Tissue culture plates (96 wells) were purchased from Nunc (Roskilde, Denmark). All other chemicals were of grade AR.

Colon cancer cell line

The colon cancer cell line (SW620) used in this study was provided by Dr Chatri Ngamkitidachakul, Preclinic Unit, Faculty of Medicine, Thammasat University, Bangkok, Thailand. Cells were cultured in RPMI 1640 medium supplemented with 10% heat-inactivated fetal bovine serum (FBS), 100 U penicillin, and 100 µg streptomycin. Cells were maintained at 37°C in a 5% CO₂ humidified incubator and were subcultured weekly. The culture medium was changed twice a week.

In vitro cytotoxicity assay

The sulforhodamine B (SRB) assay was used in this study to estimate cell numbers indirectly by staining total cellular protein with the SRB. The protocol was based on that originally described by Skehan, et al. (1990)⁶ with some modifications. In brief, cells at the exponential growth phase were detached with 0.25% trypsin-EDTA to make single-cell suspensions. The viable cells were counted by trypan blue exclusion using a haemocytometer⁷ and diluted with medium to give a final concentration of 1X10⁴ cells/ml. Cell suspension was then seeded in 96-well microtiter plates and treated with various concentrations of drugs ranging from 1 to 1000 ng/ml. The plates were incubated for 72 hours at 37°C in a 5% CO₂ humidified incubator. The number of viable cells was indirectly estimated by staining total cellular protein with the SRB. The bound dye was solubilized with Tris buffer. The absorbance of each well (three replicates for each concentration) was measured using a Sunrise Tecan ELISA plate reader (International Diagnostic Systems Corp., St. Joseph, MO, USA) at 510 nm. The number of viable cells was determined by measuring the intensity of color in each well. The percentage of cell survival was calculated using equation I. IC₅₀ value was expressed as the concentration of drugs in nanograms per milliliter that caused a 50% growth inhibition compared with controls. IC₅₀ values were calculated using CalcuSyn Version 1.1.

$$\% \text{ Cell survival} = \frac{\text{OD (test sample at day 3)} - \text{OD (day 0)}}{\text{OD (vehicle control at day 3)} - \text{OD (day 0)}} \times 100 \text{---(I)}$$

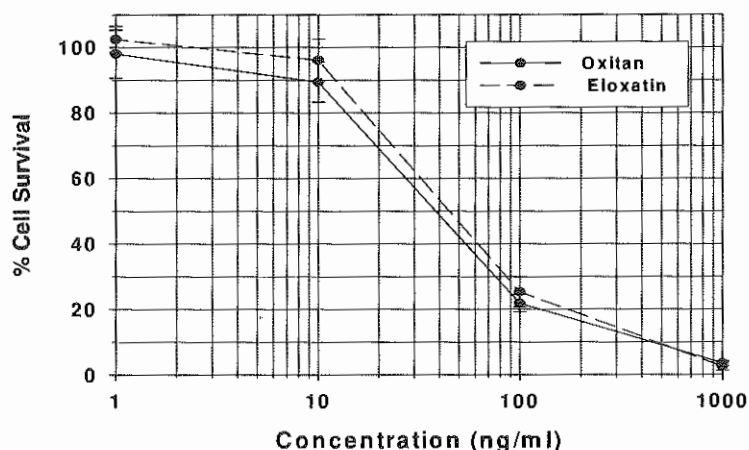


Figure 1 IC_{50} values of the test formulation (Oxitan[®]) and the reference formulation (Eloxatin[®]) on the colon cancer cell line. Cell-survival percentages were measured using SRB staining assay. Data represents mean \pm SE of four independent experiments.

Results

The treatment of an SW620 colon cancer cell line with the test formulation (Oxitan[®]) and the reference formulation (Eloxatin[®]) markedly decreased cell viability in a dose-dependent manner (Figure 1). The cell-survival percentages for SW620 cells treated with the test formulation at 1000, 100, 10, and 1 ng/ml were 3.45 ± 0.68 , 21.82 ± 2.63 , 89.40 ± 6.13 , and 97.95 ± 7.37 , respectively while the values obtained from the reference were 2.50 ± 1.25 , 25.30 ± 4.60 , 96.07 ± 6.51 , and 102.43 ± 3.95 , respectively. Pronounced cytotoxic activities were exhibited by both the test and reference formulations, with mean IC_{50} values of 42.8 ± 16.0 and 88.6 ± 26.0 ng/ml, respectively. Following statistical analysis using the Student's unpaired *t*-test, it was found that significantly lower than that of the reference formulation ($p = 0.022$).

Discussion

In the present study sulforhodamine B assay was used to determine cytotoxic activity. This assay has been widely used to indirectly estimate cell numbers by measuring the cellular protein content of adherent and suspension culture. This method has several advantages over the tetrazolium-based assay including better linearity, higher sensitivity, a stable end-point that doesn't require time-sensitive measurement, and lower cost^{6,8,9-10}. Not only is this method less time-consuming, but it also provides a sensitive measure of drug-induced cytotoxicity, well suited to high-volume, automated drug screening. Comparative cytotoxic activity of two oxaliplatin preparations – the test formulation (Oxitan[®]) and the reference formulation (Eloxatin[®]) – on a colon cancer cell line revealed that the cytotoxic activities of these two formulations differed significantly. The mean IC_{50} value of the test formulation was significantly lower than that of the reference formulation. The results suggest that the test can be used when cost-effectiveness is important.

References

1. Greenlee RT, Murray T, Bolde S, et al. Cancer statistics. *CA cancer J Clin* 2000; 50:7-33.
2. Chau I, Cunningham D: Chemotherapy in colorectal cancer: new options and new challenges. *Br Med Bull* 2002; 64:159-80.
3. Bajetta E, Beretta E, Bartolomeo MD, et al. Efficacy of treatment with irinotecan and oxaliplatin combination in FU-resistant metastatic colorectal cancer patients. *Oncology* 2004; 66:132-7.
4. Cvitkovic E, Bekradda M. Oxaliplatin: a new therapeutic option in colorectal cancer. *Seminar in Oncology* 1999; 26: 647-62.
5. Tampellini M, Bitossi R, Brizzi MP, et al. Pharmacoeconomic comparison between chronochemotherapy and FOLFOX regimen in the treatment of patients with metastatic colorectal cancer: a cost-minimization study. *Tumori* 2004; 90:44- 9.
6. Skehan P, Storeng R, Scudiero D. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. *J Natl Cancer Inst* 1990; 82:1107-12.
7. Freshny RI. Culture of animal cells. In: Alan R, editor. *A manual of basic technique*. 2nd ed. New York: Liss, 1987:227-9.
8. Rubinstein LV, Shoemaker RH, Paull KD. Comparison of *in vitro* anticancer-drug-screening data generated with a tetrazolium assay versus a protein assay against a diverse panel of human tumor cell lines. *J Natl Cancer Inst* 1990; 82:1113-8.
9. Keepers YP, Pizao PE, Peters GJ, et al. Comparison of the sulforhodamine B protein and tetrazolium (MTT) assays for *in vitro* chemosensitivity testing. *Eur J Cancer* 1991; 27:897-900.
10. Monks A, Scudiero D, Skehan P, et al. Feasibility of a high-flux anticancer drug screen using a diverse panel of cultured human tumor cell lines. *J Natl Cancer Inst* 1991; 83:757-66.

RESEARCH ARTICLES

Anti-inflammatory and Analgesic Activities of Water Extract of *Malvastrum coromandelianum* (L.) Garcke

Parirat Khonsung¹, Saranyapin Nantsupawat¹, Sukanya Nimmannit Jesadanont²,
Vanida Chantharateptawan³, Ampai Panthong¹

¹Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

²Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand

³The Government Pharmaceutical Organization, Bangkok 10400, Thailand

Abstract

Daikat, *Malvastrum coromandelianum* (L.) Garcke, family Malvaceae, is used as an anti-inflammatory, analgesic, and antidiysenteric plant. A previous study discussed the hypoglycemic effect of the *M. coromandelianum* water extract in diabetic rabbits which did not produce toxicity in rats during a 60-day oral chronic toxicity study. This study aimed to investigate the anti-inflammatory effects on carrageenin-induced hind-paw edema in rats, the analgesic effects on the formalin test, and the antipyretic effects on yeast-induced hyperthermia models of the *M. coromandelianum* water extract. The results showed that the *M. coromandelianum* water extract inhibited hind-paw edema induced by carrageenin. It reduced the licking time of rats and exhibited an analgesic effect in both the early and late phases of the formalin test. However, it did not exhibit an antipyretic effect on yeast-induced hyperthermia in rats. In conclusion, the *M. coromandelianum* water extract exhibits the antiinflammatory and analgesic activities.

Key words: *Malvastrum coromandelianum* (L.) Garcke, carrageenin-induced hind-paw edema, formalin test, yeast-induced hyperthermic rat

Address correspondence and reprints: Parirat Khonsung, Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand.
E-mail: wparirat@yahoo.com

ฤทธิ์ด้านการอักเสบและระงับปวดของสารสกัดด้วยน้ำคายซ์ด (*Malvastrum coromandelianum* (L.) Garcke)

ปรีรัตน์ คนสูง¹, ศรัณยภิญญ์ นันทสุภวัฒน์¹, สุกัญญา เจษฎานนท์², วณิดา จันทรเทพเทวัญ³,
อำไพ ปั่นทอง¹

¹ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200

²คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

³องค์การเภสัชกรรม กรุงเทพฯ 10400

บทคัดย่อ

คายซ์ด (*Malvastrum coromandelianum* (L.) Garcke) วงศ์ Malvaceae เป็นพืชที่ใช้เพื่อด้านการอักเสบ ระงับปวด และแก้ปวด การศึกษาก่อนหน้านี้แสดงผลลดน้ำตาลของสารสกัดด้วยน้ำของคายซ์ดในกระต่ายที่เป็นเบาหวาน การศึกษาความเป็นพิษเรื้อรังในหนู โดยให้สารสกัดด้วยน้ำทางปากเป็นเวลา 60 วัน ไม่แสดงความเป็นพิษ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบฤทธิ์ด้านการอักเสบจากการเหนี่ยวนำให้อู้ง่ายของหนูบวมโดยคาราจีเนน ฤทธิ์ระงับปวดจากการทดสอบด้วยฟอร์มาลิน และฤทธิ์ลดไข้จากแบบจำลองการทำให้เกิดไข้ด้วยยีสต์ของสารสกัดด้วยน้ำจากคายซ์ด ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัดด้วยน้ำของคายซ์ดสามารถยับยั้งการบวมของอู้ง่ายที่เหนี่ยวนำโดยคาราจีเนนได้ สารสกัดลดเวลาที่หนูใช้ในการเลียเท้าและแสดงฤทธิ์ระงับปวดในระยะแรกและระยะหลังของการทดสอบด้วยฟอร์มาลิน อย่างไรก็ตามสารสกัดนี้ไม่แสดงฤทธิ์ลดไข้ต่อการเหนี่ยวนำให้เกิดไข้ในหนูขาวด้วยยีสต์ จากผลการทดลองจึงสรุปได้ว่าสารสกัดด้วยน้ำของคายซ์ดมีฤทธิ์ด้านการอักเสบและระงับปวด

คำสำคัญ : *Malvastrum coromandelianum* (L.) Garcke, carrageenin, formalin,

yeast - induced hyperthermic rat

Introduction

Malvastrum coromandelianum (L.) Garcke, family Malvaceae (Thai local name: daikat) is one of the medicinal plants scientifically investigated by the Medicinal Plant Research Institute, Department of Medical Sciences. A previous study showed that the *M. coromandelianum* water extract exhibited a hypoglycemic effect in diabetic rabbits¹. The water extract of this plant at a dose of 0.2-20 g/kg given orally to Wistar rats for 60 days in a chronic-toxicity study did not produce toxicity in the animals². *M. coromandelianum* is used in traditional medicine as an antiinflammatory, analgesic, antidiysenteric plant³⁻⁵ and in the treatment of jaundice⁶ and ulcers⁷. Various extracts of the aerial parts of *M. coromandelianum* showed antinociceptive activity in the acetic acid-induced writhing test in mice⁸. This study aimed to investigate pharmacological properties of the water extract, including anti-inflammatory and analgesic effects. In addition, the antipyretic activity was also estimated.

Materials and Methods

Plant material

The whole plant was collected in Prom Buri district, Sing Buri province, in November and December 2004. The specimen was authenticated by Mrs Leena Phuphatthanaphong, a senior botanist with the Forestry Department, Ministry of Agriculture, in Bangkok and a voucher specimen (BKF 085182) was deposited at the Bangkok Forest Herbarium. The whole dry plant was pulverized, boiled in water under pressurized conditions for 30 minutes, then filtered. The procedure was repeated twice. The filtrates were pooled and concentrated under reduced pressure, with a yield of approximately 8.5% (w/w) after using the spray-dried method.

Experimental animals

Male Sprague-Dawley rats (weighing 100-120 g and 200-220 g) and male ICR mice (weighing 30-40 g) were purchased from the National Laboratory Animal Center, Nakhon Pathom, Thailand. All animals were kept in a room maintained under environmentally controlled conditions of $24 \pm 1^\circ\text{C}$ and on a 12-hour light/dark cycle. The animals had free access to water and standard diet. All experiments were conducted in accordance with ethical principles and guidelines for the use of animals prepared by the National Research Council of Thailand.

Anti-inflammatory activity: Carrageenin-induced hind-paw edema in rats⁹

Male rats of 100 to 120 g body weight were divided into five groups and received 5%

Tween 80 as vehicle, indomethacin at a dose of 10 mg/kg body weight and the *M. coromandelianum* water extract at doses of 50, 100, and 200 mg/kg body weight, respectively. Test drugs and vehicle were given orally 1 hour before carrageenin injection. A volume of 0.05 ml of 1% λ -carrageenin in sterile normal saline solution (NSS) was injected intradermally into the plantar side of the right hind paw of an unanesthetized rat which was restrained in a plastic cage. Paw volume was determined by means of a volume displacement technique using a plethysmometer (model 7150, Ugo Basile, Modena, Italy). The right hind paw was immersed into the measuring chamber containing 0.05% NaCl in distilled water, exactly to an ink mark at the anatomical hair line. Each paw volume was obtained from the average of three readings. The paw volume was measured before and 1, 3, and 5 hours after carrageenin injection. The edema volume of the paw [paw volume (ml) at time x - paw volume (ml) at time 0] and the percentage of edema inhibition for each test compound versus the control group were calculated.

Analgesic activity: Formalin test¹⁰

Six groups of male Swiss albino mice weighing 30 to 40 g were orally given 5% Tween 80 (control group), indomethacin (10 mg/kg body weight), codeine (50 mg/kg body weight), and the *M. coromandelianum* water extract (20, 40, and 80 mg/kg body weight), respectively. In the early-phase assessment, all test drugs in a volume of 0.05 ml/10 g body weight were administered orally 1 hour before 20 μl of 1% formalin in NSS was injected subcutaneously into the right dorsal hind paw of the mouse. Then between 0 and 5 minutes after formalin injection, the time in seconds the mice spent for intensive licking the right dorsal hind paw was determined. In the late-phase assessment, another group of mice was used. The formalin was injected 40 minutes after test drug treatment and the licking time was determined between 20 and 30 minutes after formalin injection. The percentage of inhibition of the licking response for the test compound in both the early and late phases was calculated.

Antipyretic activity: Yeast-induced hyperthermia in rats¹¹

Before pyrexia was induced, the rats weighing 200 to 220 g were restrained in plastic cages and the initial rectal temperatures were recorded using a ten-channel EXACON electric thermometer (model MC 8940, Exacon Scientific Instruments ApS, Roskilde, Denmark) connected to the probes (model H-RRA, Exacon Instruments ApS, Roskilde, Denmark) which were inserted into the rat's rectum to about 5

cm. To adapt the rats to the handling procedure for probe insertion, the basal rectal temperatures were taken 1 hour after probe insertion. Thereafter hyperthermia was induced by subcutaneous injection of 1 ml/100 g body weight of 25% yeast in NSS. Eighteen hours after yeast injection, the rectal temperatures were again recorded. Animals showing a rise in rectal temperature of more than 1°C were selected. The *M. coromandelianum* water extract, indomethacin, and 5% Tween 80 were then administered orally and the rectal temperatures of animals were recorded at 30 minutes and at 1, 2, and 3 hours following drug treatment.

Statistical analysis

Results were expressed as mean \pm standard error of the mean (SEM). Statistical significance was determined by one-way analysis of variance (ANOVA) and post hoc least-significant difference (LSD) test. P values of less than 0.05 were considered significant.

Results

1. Effect of *M. coromandelianum* water extract and indomethacin on carrageenin-induced hind-paw edema in rats.

The inhibitory activity on carrageenin-induced rat hind-paw edema of test drugs at various times after carrageenin injection is shown in Table 1. The paw edema of the control group was respectively augmented 1, 3, and 5 hours after carrageenin injection. Indomethacin, a cyclooxygenase inhibitor, at a dose of 10 mg/kg body weight exhibited significant edema inhibition through the experimental period. The water extract at doses of 50, 100, and 200 mg/kg body weight exhibited a significant inhibitory effect on the paw edema at hour 5 after carrageenin injection.

2. Effect of *M. Coromandelianum* water extract, indomethacin, and codeine on formalin test.

The analgesic test using formalin-induced pain at the right dorsal hind paw of mice was investigated both in the early and in the late phases using the intensive licking of the paw as a criterion for algesia. The results of the licking response on both phases are shown in Table 2. In the early phase, the licking time of the indomethacin and the codeine groups were significantly decreased compared to that of the control group. The *M. Coromandelianum* water extract at doses of 20, 40, and 80 mg/kg body weight exerted significant inhibitory effect on the licking response in a dose-related manner. However, the inhibition of the licking response for the group receiving the *M. Coromandelianum* water extract at a dose of 80

mg/kg body weight was less than that of the indomethacin and codeine groups. Similar responses to indomethacin, codeine, and the *M. Coromandelianum* water extract were found in the late phase of the formalin test.

3. Effect of *M. coromandelianum* water extract and indomethacin on yeast-induced hyperthermia in rats

Eighteen hours after yeast injection the rectal temperatures of all rats rose more than 1°C. Figure 1 shows that the rectal temperature of the control group was stable, although it slightly but not significantly declined after 120 minutes. Indomethacin at the oral dose of 10 mg/kg significantly reduced the rectal temperature back to normal within 30 minutes and lasted for 180 minutes. The oral administration of the *M. Coromandelianum* water extract at a dose of 1,600 mg/kg body weight did not decrease the rectal temperature during 180 minutes after administration.

Discussion

Carrageenin-induced rat hind-paw edema has been widely used for discovering and evaluating anti-inflammatory drugs^{12,13}. The edema after subplantar injection of carrageenin is produced by a sequential release of the pharmacological mediators; histamine serotonin, kinins (bradykinin), and prostaglandins (PGs)^{14,15}. An initial phase is mediated by the release of histamine and serotonin during the first and a half hour after the carrageenin injection. From 1.5 to 2.5 hours the second phase is mediated by the release of bradykinin, and finally during the third phase from 2.5 to 6 hours the mediator PGs are found. After the third phase, the degree of edema is retained at approximately the same level for several hours^{9,15-16}. Oral pretreatment of animals with indomethacin resulted in a significant inhibition of carrageenin-evoked hind-paw edema with the maximum effect at hour 5 after carrageenin injection. The significant inhibitory effect of the *M. coromandelianum* water extract on carrageenin-induced paw edema exhibited at hour 5 suggests that the main mechanism of *M. coromandelianum* action may involve the PGs.

The formalin test is a useful method for assessing analgesic activity¹⁷⁻¹⁸. This test consists of two distinct phases which could reflect different types of pain mechanisms^{10,19-22}. The first phase starts immediately after injection of formalin and lasts about 5 minutes. This is due to direct chemical peripheral stimulation of nociceptors that seems to be caused predominantly by C-fiber activation^{19-20,23}. In this phase, the first response is evoked by the direct formalin stimulation of the nerve endings followed by substance P release; substance P

Table 1 Effect of water extract of *M. coromandelianum* and indomethacin on carrageenin-induced hind-paw edema in rats.

Group	Time after carrageenin injection					
	1 h		3 h		5 h	
	EV (ml)	EI (%)	EV (ml)	EI (%)	EV (ml)	EI (%)
Control	0.27 ± 0.02	-	0.48 ± 0.02	-	0.67 ± 0.03	-
Indomethacin 10 mg/kg	0.15 ± 0.01*	42.75	0.23 ± 0.02*	52.11	0.22 ± 0.02*	67.25
<i>M. coromandelianum</i> 50 mg/kg	0.26 ± 0.01	1.25	0.43 ± 0.05	10.15	0.46 ± 0.05*	30.52
100 mg/kg	0.20 ± 0.03	2.64	0.42 ± 0.08	11.47	0.26 ± 0.05*	60.70
200 mg/kg	0.24 ± 0.03	9.43	0.38 ± 0.04	19.24	0.23 ± 0.04*	65.31

Values are expressed as mean ± SEM. (n = 6)

* Significantly different from control at p < 0.05

EV = edema volume (ml) at time

% EI = percentage of edema inhibition

Table 2 Effect of water extract of *M. coromandelianum*, indomethacin, and codeine on formalin test

Group	Early phase		Late phase	
	Licking time (sec)	Inhibition (%)	Licking time (sec)	Inhibition (%)
Control	98.17 ± 2.61	-	74.83 ± 3.05	-
Indomethacin 10 mg/kg	44.50 ± 2.62*	54.67	19.83 ± 2.63*	73.50
Codeine 50 mg/kg	31.50 ± 1.12*	67.91	25.50 ± 4.14*	65.92
<i>M. coromandelianum</i> 50 mg/kg	80.33 ± 2.85*	18.17	54.67 ± 5.17*	26.94
100 mg/kg	64.17 ± 2.33*	34.63	36.67 ± 4.91*	51.00
200 mg/kg	46.17 ± 2.21*	52.97	30.17 ± 3.00*	59.68

Values are expressed as mean ± SEM. (n = 6)

* Significantly different from control at p < 0.05

may play a role through cooperation with bradykinin in this phase¹⁸. The second phase begins approximately 15 to 20 minutes after formalin injection and lasts for 20 to 40 minutes^{10,24}. This phase appears to be dependent on the combination of an inflammatory reaction in the peripheral tissue and functional changes in the dorsal horn of the spinal cord^{20,23,25}. Several chemical mediators such as histamine, serotonin, PGs, and bradykinin are involved in the second phase¹⁸. These mediators take part in the inflammatory response and are also able to stimulate nociceptors and induce pain^{22,26}. The response in the early phase can be inhibited by centrally acting analgesics such as morphine and codeine, whereas the late phase (which seems to be due to an inflammatory response) is partly mediated by PGs and can be inhibited by nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), corticosteroids, as well as the centrally acting analgesics¹⁰.

Codeine exhibited an anti-nociceptive effect in both phases of the formalin test by interfering with pain transmission in the central nervous system (CNS)²⁷. It is now well accepted that the antinociceptive efficacy of NSAIDs not only depends on inhibiting PGs synthesis at the site of injury but also on the prevention of nociception-induced PGs – especially PGE₂ release in the spinal cord. Apart from sensitizing peripheral nociceptors, PGs may also act in the

central nervous system to produce hyperalgesia²⁷. COX-2 is expressed constitutively in the dorsal horn of the spinal cord and becomes upregulated briefly after trauma (such as damage to a limb) in the corresponding sensory segments of the spinal cord²⁸. Indomethacin is able to cross the blood-brain barrier and possesses analgesic activity in both phases of the present study²⁹. The water extract reduced the licking time and produced the inhibitory effect in both phases of this model. The mechanisms of analgesic activity of this plant may involve its actions on the central nervous system and peripheral tissue.

Yeasts are capable of stimulating the release of endogenous pyrogens from polymorphonuclear leukocytes and monocytes as well as TNF from other cells. Antipyretic drugs appear to reduce fever by inhibiting the synthesis or release of PGs in the thermoregulatory center. The antipyretic effect of NSAIDs is due to inhibition of the synthesis of PGs within the preoptic anterior hypothalamus³⁰. The *M. coromandelianum* water extract at doses ranging from 400 to 1,600 mg/kg did not reduce the rectal temperature after inducing fever by yeast. Perhaps this is because the *M. coromandelianum* water extract can not inhibit the synthesis or release of PGs within the preoptic anterior hypothalamus.

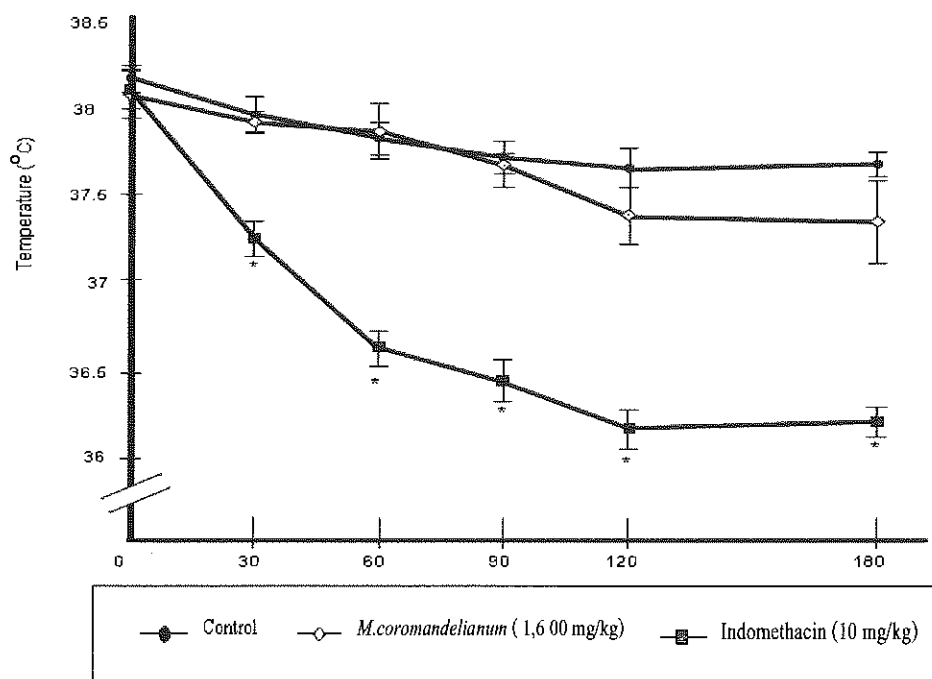


Figure 1 Effect of *M. coromandelianum* water extract and indomethacin on yeast-induced hyperthermia in rats

*Significantly different from control at $p < 0.05$

In conclusion, *M. coromandelianum* water extract given orally exhibited anti-inflammatory and analgesic effects. Its anti-inflammatory mechanisms may involve reducing the synthesis and/or the release of PGs and other inflammatory mediators. The mechanisms of analgesic activity here may act on the central nervous system and the peripheral tissue. However, the precise mechanisms involved in anti-inflammatory and analgesic effects should be further elucidated.

Acknowledgements

The authors thank Chiang Mai University for providing the research funds for this study and Mrs. Leena Phuphatthanaphong for plant identification.

References

- อุไรวรรณ เพิ่มพิพัฒน์ และคณะ.ฤทธิ์ลด น้ำตาลในเลือดของสมุนไพรในสัตว์ทดลอง. เอกสารประชุมวิชาการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ครั้งที่ 4 พ.ศ. 2534 หน้า 364-5.
- เอมมนัส อัดตวิชัย, ปราณีย์ ชวลิตธำรง, อัญชลี จูทะพุทธิ และคณะ. การศึกษาพิษเรื้อรังของสารสกัดจากพืช. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ปีที่ 40 ฉบับที่ 3 กค.-กย. 2541. หน้า 261-71.
- Kirtikar KR, Basu BD. In: *Indian medicinal plants I*. Dehra Dun, India: International Book Distributors and Publishers, Dehra Dun, India, 1995:304.
- Anonymous. In: *Dictionary of Indian medicinal plants*. Lucknow, India: CIMAP, 1992:287.
- Fyson PF. *The flora of the Nilgiris and Pulney Hill Tops*, Volume I. 1st ed. Dehra Dun, India: Bishen Singh Mahendra Pal Singh, 1974:43.
- Sebastian MK, Bhandari MM. *J Ethnopharmacol* 1984; 122:223.
- Khan MR, Ndaalio G, Nkunya MHH, et al. *Pak J Sci Ind Res* 1978; 27:189.
- Reddy YS, Venkatesh S, Suresh B. Antinociceptive activity of *Malvas-trum coromandelinum*. *Fitoterapi* 2001; 72(3):278-8
- Winter CA, Risley EA, Nuss GW. Carrageenin-induced edema in hindpaw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs. *Proc Soc Exp Biol Med* 1962; 111:544-7.
- Hunskar S, Hole K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. *Pain* 1987; 30(1): 103-14.
- Teotino UM, Friz LP, Gandini A, et al. Thio derivatives of 2,3-dihydro-4H-1,3-benzoxazin-4-one synthesis and pharmacological properties. *J Med Chem* 1963; 55: 248-50.
- Flower R, Gryglewski R, Herbaczynska CK, et al. Effect of anti-inflammatory drugs on prostaglandin biosynthesis. *Nature New Biol* 1972; 238:104-6.
- Higgs GA, Follenfant RL, Garland arachidonate 5- lipoxygenase by novel acetohydroxamic acid: effects on acute inflammatory responses. *Br J Pharmacol* 1988; 94: 547-51.
- Vinegar R, Schreiber W, Hugo R. Biphasic development of carrageenin. Rosa M. Biological properties of carrageenan. *J Pharm Pharmacol* 1972; 24(2): 89-102.
- Di Rosa M, Willoughby DA. Screens for anti-inflammatory drugs. *J Pharm Pharmacol* 1971; 23(4): 297-8.
- Hunskar S, Fasmer OB, Hole K. Formalin test in mice, a useful technique for evaluating mild analgesics. *J Neurosci Meth* 1985; 14:69-76.
- Shibata M, Ohkubo T, Takahashi H, et al. Modified formalin test: characteristic biphasic pain response. *Pain* 1989; 38: 347-52.
- Di Rosa M, Biological properties of carrageenan. *J Pharmacol* 1972; 24 (2): 89-102.
- Di Rosa M, Willoughby DA. Screens for anti-inflammatory drugs. *J Pharm Pharmacol* 1971; 23(4): 297-8.
- Hunskar S, Berge OG, Hole K. Antinociceptive effects of orphenadrine citrate in mice. *Eur J Pharmacol* 1985; 111: 221-6.
- Cowan A, Porreca F, Wheeler H. Use of the formalin test in evaluating analgesics. *NIDA Ser Monog* 1989; 95: 116-22.
- Rosland JH. The formalin test in mice: the influence of ambient temperature. *Pain* 1991; 45: 211-16.
- Tjolsen A, Berge O, Hunskar S, et al. The formalin test: an evaluation of the method. *Pain* 1992; 51:5-17.
- Rosland JH, Tjolsen A, Maehle B, et al. The formalin test in mice-effect of formalin concentration. *Pain* 1990; 42: 235-42.
- Ito S, Okuda-Ashitaka E, Minami T. Central and peripheral roles of prostaglandins in pain and their interactions with novel neuropeptides nociceptin and nocistatin. *Neurosci Res* 2001; 41: 299-332.
- Roberts II LJ, Morrow JD. Analgesic-antipyretic and anti-inflammatory agents and drugs employed in the treatment of gout. In: *Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics*. 10th ed. New York: McGraw-Hill, 2001: 687-731.

27. Seybold VS, Jia YP, Abrahams LG. Cyclooxygenase-2 contributes to central sensitization in rats with peripheral inflammation. *Pain* 2003; 105(1-2): 47-55.
28. Beich F, Scheuerer S, Brune K, et al. Up-regulation of cyclooxygenase-2 mRNA in the rat spinal cord following peripheral inflammation. *FEBS Lett* 1996; 390(2): 165-9.
29. Bannwarth B, Netter P, Lopicque F, et al. Plasma and cerebrospinal fluid concentrations of indomethacin in humans: relationship to analgesic activity. *Eur J Clin Pharmacol* 1990; 38(4): 343-6.
30. Loux JJ, DePalma PD, Yankell SL. Antipyretic testing of aspirin in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 1972; 22(4): 672-5.

RESEARCH ARTICLES

Antidermatophytic Activity of *Piper betle* Cream

Nopamart Trakranungsie¹, Arinee Chatchawanchonteera², Watcharee Khunkitti³

¹ Faculty of Veterinary Science, Mahidol University

² Faculty of Veterinary Medicine, Khon Kaen University

³ Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University

Abstract

Crude ethanolic extracts of *Piper betle* leaves (Piperaceae), *Alpinia galanga* rhizomes (Zingiberaceae), and *Allium ascalonicum* bulbs (Liliaceae) were previously tested against selected zoonotic dermatophytes (*Microsporum canis*, *Microsporum gypseum*, and *Trichophyton mentagrophyte*). The results suggested a promising antifungal property of *Piper betle* extract^{1,2}. Therefore, in this present study a 10% *Piper betle* cream (Pb cream) was formulated, subjected to physical and microbial limit tests, and evaluated for its effect against zoonotic dermatophytes *in vitro*. The freshly prepared Pb cream (pH~5.0) was dark green with a pungent odor of *P. betle* leaves. After repeated freeze-thawing, the cream was darkening and markedly thickening. Its pH also increased significantly. No bacterial or fungal contamination was detected from the Pb cream samples. The disc diffusion assay revealed comparable zones of inhibition between discs of Pb cream containing 80 µg *P. betle* extract and 80 µg ketoconazole against *M. canis*, *M. gypseum*, and *T. mentagrophyte* at 96 hours after incubation. Thereafter, the inhibitory effect of Pb cream markedly decreased and was completely lost by day 7. Meanwhile, the effect of ketoconazole cream reduced gradually but was still effective against *M. canis* and *T. mentagrophyte* after seven days of incubation. In summary, the Pb cream has potential therapeutic value for treatment of dermatophytosis. However, clinical testing as well as improving the Pb cream formulation with greater efficacy and duration of action would be of interest and await further investigation.

Key words: dermatophytes, piperaceae, antifungal activity

Address correspondence and reprints: Nopamart Trakranungsie, PhD, Faculty of Veterinary Science, Mahidol University, Salaya, Phuttamonthon, Nakhon Pathom 73170, Thailand.
E-mail: vsntk@mahidol.ac.th

ฤทธิ์ต้านเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคผิวหนังของครีมพลู

นพมาศ ตระการรังสี¹ อารินี ชัชวาลชลธีระ² วชิร คุณกิตติ³

¹คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

²คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

³คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

บทคัดย่อ

จากการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดพืชสมุนไพร 3 ชนิด คือ พลู ข่า และหอมแดง ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรากลุ่ม dermatophytes (*Microsporum canis*, *Microsporum gypsum* และ *Trichophyton mentagrophyte*) ที่เป็นสาเหตุสำคัญของโรคกลากซึ่งสามารถติดต่อสู่กันระหว่างคนและสัตว์ พบว่าสารสกัดจากใบพลูมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อราได้ดีกว่าข่าและหอมแดง ทั้งยังไม่พบฤทธิ์ก่อความระคายเคืองต่อผิวหนังส่วนหน้าท้องของสุนัข^{1,2} ในการศึกษาครั้งนี้จึงดัดรับครีมพลู 10% ทดสอบและควบคุมคุณภาพทางกายภาพและทางจุลชีววิทยา พร้อมทั้งทดสอบประสิทธิภาพในการต้านเชื้อราของครีมพลู 10% เปรียบเทียบกับยามาตรฐาน ketoconazole cream ด้วยวิธี disc diffusion method ผลการศึกษาพบว่าครีมพลูที่ได้จากการดัดรับมีเนื้อครีมสีเขียวเข้ม มีกลิ่นพลูชัดเจน และมีค่า pH~5.0 เมื่อผ่านกระบวนการ freeze-thawing เนื้อครีมมีสีคล้ำมากขึ้นเล็กน้อย ความหนืดและค่า pH เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ จากการควบคุมคุณสมบัติทางจุลชีววิทยาไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา เมื่อนำครีมพลูมาทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อรา 3 ชนิดคือ *M. canis*, *M. gypsum* และ *T. mentagrophyte* พบว่าแผ่นยาของครีมพลูที่มีพลูสกัดปริมาณ 80 ไมโครกรัม ให้ค่า inhibition zone ใกล้เคียงกับแผ่นยาที่มี ketoconazole 80 ไมโครกรัม เมื่อทำการอ่านผลที่ 96 ชั่วโมง อย่างไรก็ตามเป็นที่น่าสังเกตว่าประสิทธิภาพของครีมพลูในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราจะเริ่มลดลงภายหลังจาก 96 ชั่วโมงและหมดไปในวันที่ 7 ของการทดสอบ ในขณะที่ประสิทธิภาพของ ketoconazole cream นั้นก็ลดลงเช่นกันแต่ยังคงประสิทธิภาพได้นานกว่า 7 วัน โดยเฉพาะต่อเชื้อ *M. canis* และ *T. mentagrophyte* จากการศึกษาในครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่าครีมพลูที่ได้พัฒนาดัดรับขึ้นมามีประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของเชื้อราก่อโรคกลากได้เมื่อทำการทดสอบในหลอดทดลอง จึงเป็นสิ่งที่น่าไว้วางใจอย่างยิ่งในการพัฒนาดัดรับของครีมพลูให้สามารถออกฤทธิ์ได้ยาวนานขึ้น และทดสอบประสิทธิภาพของครีมพลูในทางคลินิกต่อไป

คำสำคัญ: dermatophytes, piperaceae, antifungal activity

Introduction

The incidence of dermatophytic infections has increased considerably during the past decade^{3,4}. Dermatophytoses, considered as zoonosis, have created more public health concerns due to close contact between humans – particularly children – and animals such as dogs, cats, birds, and small rodents or pocket pets. The clinical symptoms may not pose a serious threat, but effective treatment is usually costly and time-consuming. In addition, the increasing incidence of resistance in known fungal pathogens to the currently available antibiotics has recently become more of a therapeutic concern^{5,6}. Conventional antifungal agents such as chlorhexidine and imidazole derivatives have limited uses in the pregnant and the young and can produce many adverse effects^{7,8}.

As it becomes necessary to identify and develop novel antifungal agents, a number of plant extracts and isolated compounds have been examined for their bioactivities. Recent studies have suggested that several plant species exhibit promising antimicrobial effects^{1-2,9}. Among these, Piperaceae *Piper betle* L., found abundantly in Thailand and other tropical countries, has been implicated in both traditional human and veterinary medicines. Medicinally, the leaves are used in catarrhal and pulmonary infections. The phenolic constituent allylpyrocatechol from the leaves showed activity against obligate oral anaerobes responsible for halitosis¹⁰. The leaf extract also has a stimulatory effect on pancreatic lipase and antioxidant activity¹¹. In addition, the results from our previous study suggested antidermatophytic activity of the *P. betle* extract¹. Therefore, the aim of this current study was to formulate the 10% *P. betle* cream and evaluate its efficacy against commonly found zoonotic dermatophytes *in vitro*, compared to the conventional antifungal cream, ketoconazole.

Materials and Methods

Piper betle extract and cream preparation

Fresh plant samples were collected from NaiMuang District, Khon Kaen, Thailand. They were cleaned, dried, finely ground, then extracted three times with 95% ethanol (1:5 w/v ratio) for 24 hours each at room temperature. The mixture was filtered and the solvent was evaporated at 40°C to near dryness. The resulting heavy syrup concentrate of *P. betle* extract percent yield based on fresh raw material: 3.46% (w/w) was evaluated for antifungal activity as previously reported¹. The extract was then used to prepare 10% *P. betle*

cream (Pb cream) by adding coco-amphocarboxy-glycinate, stearic acid, mineral oil, acetyl alcohol, beeswax, DMSO, propylene glycol, paraben concentrate, EDTA, and sterile water. The Pb cream was kept in a collapsible tube at room temperature for subsequent experiments.

Physical and microbial limit test

The viscosity and pH of the Pb cream were determined before and after ten freeze-thaw cycles by Brookfield viscometer DVIII (spindle T-F) and pH meter with flat electrode, respectively. One freeze-thaw cycle was defined as depositing the Pb cream for 24 hours at 5°C, followed by another 24 hours at room temperature. Each test was performed in triplicate. The microbial limit test was carried out by mixing 1 g of Pb cream with 9 ml of lactose broth before pipetting 1 ml of the mixture into a Petri dish containing either tryptic soy agar or Sabouraud's dextrose agar. The total viable count was determined after incubation at 37°C for 48 hours. Each test was performed in triplicate.

Antifungal assay (disc diffusion method)

The fungi used in this study were chosen based primarily on their importance as zoonotic dermatophytes causing skin infection often referred to as ringworm. *M. canis*, *M. gypseum*, and *T. mentagrophyte* were clinical strains and were obtained from the Khon Kaen University Animal Hospital. All strains were cultured and maintained on Sabouraud's dextrose agar media. The method of Jessup, et al. (2000) was used for inoculum preparation³. Conidia of 2×10^5 cells were plated onto Sabouraud's dextrose agar media. Sterile paper discs (Whatman No. 4 paper, 6 mm diameter) were impregnated with either Pb cream (containing 80 µg of *P. betle*) or 80 µg of ketoconazole (Nizoral® cream, Janssen-Cilag). They were allowed to dry and were then placed on the agar surface. Control discs contained either cream base used in preparing the Pb cream or 4% ethanol used as solvent. The inhibition zones were recorded at 96 hours after incubation at room temperature. The values were the average (mm) of four measurements per disc, taken at four different directions to minimize error. Each experiment was performed in duplicate.

Statistical analysis

Data were expressed as the mean \pm SEM of four to five separate experiments. Statistical analysis was performed using independent samples *t*-test for comparison between the two groups. The value of $p < 0.05$ was considered statistically significant.

Results

The freshly prepared Pb cream, slightly acidic, was dark green, with a strong pungent odor of *P. betle* leaves. After ten freeze-thaw cycles, the cream was darkening and markedly thickening. Its pH also increased significantly (Table 1). The total viable count was found negative for both bacteria and fungi. As shown in Table 2, the disc diffusion assay revealed comparable zones of inhibition between discs of Pb cream containing 80 µg *P. betle* extract and discs containing 80 µg ketoconazole against

M. canis, *M. gypseum*, and *T. mentagrophyte* at 96 hours after incubation, although Pb cream exposed to repeated freeze-thawing showed reduced activity. It was observed that after 96 hours the inhibitory effect of Pb cream markedly decreased and was completely lost by day 7. Meanwhile, the effect of ketoconazole cream reduced gradually but was still effective against *M. canis* and *T. mentagrophyte* after seven days of incubation. Control discs of 4% ethanol and cream base had no discernable effect on the growth of tested dermatophytes.

Table 1 Physical test of 10% *P. betle* cream

Test substance	Viscosity (cps)	pH
Freshly prepared 10% <i>P. betle</i> cream	235, 965 ± 2658	5.04 ± 0.01
10% <i>P. betle</i> cream after repeated freeze-thawing	495, 050 ± 2582*	5.58 ± 0.03*

* Significantly different at $p < 0.05$

Table 2 Inhibitory effect of 10% *P. betle* cream against selected dermatophytes

Test disc	Inhibition zone (mm)*		
	<i>M. canis</i>	<i>M. gypseum</i>	<i>T. mentagrophyte</i>
Freshly prepared 10% <i>P. betle</i> cream	28.00 ± 0.12	20.30 ± 0.29	32.00 ± 0.15
10% <i>P. betle</i> cream after repeated freeze-thawing	25.10 ± 0.23*†	17.50 ± 0.12*	30.40 ± 0.47*†
Ketoconazole cream	29.30 ± 0.03	18.70 ± 0.24	35.70 ± 0.23

*Inhibition zone was measured at 96 hours after incubation at room temperature.

The values were the average (mm) of four measurements per disc. Each experiment was performed in duplicate.

* significantly different at $p < 0.05$ from freshly prepared 10% *P. betle* cream

† significantly different at $p < 0.05$ from ketoconazole cream

Discussion and Conclusion

Previous phytochemical and pharmacological studies have suggested that the amides and cinnamoyl derivatives, as well as chavicol and chavibetol found in the Piperaceae species, are responsible for their therapeutic values as antimicrobials¹². Our report on the potential antidermatophytic activity of *P. betle* extract with no skin irritation accordingly validated the therapeutic value of this plant, as previously described for *P. dilatatum*, *P. arboretum*, and *P. tuberculatum*^{13,14}. Based on a previous broth dilution study, it is noteworthy that the IC₅₀ values of ketoconazole on our clinical strains of *M. canis*, *M. gypseum*, and *T. mentagrophyte* were 14.14 ± 3.8, 8.04 ± 5.5, and 5.13 ± 1.2 µg/ml, respectively, possibly suggesting some

degree of existing drug resistance¹. Employing the broth microdilution methods, Stein and colleagues reported the much lower MIC values of ketoconazole to be 0.05 and 0.025 µg/ml for standard strains of *M. gypseum* and *T. mentagrophyte*, respectively¹⁵. However, the discrepancy between studies should be interpreted with caution since differences in testing techniques and characteristics of tested microorganisms could have a significant impact on the results obtained. The present study aimed to evaluate the efficacy of 10% *P. betle* cream against commonly found zoonotic dermatophytes *in vitro* compared to the conventional antifungal cream, ketoconazole. Because canine and feline skin are more sensitive than human skin, the 10% Pb cream formulated in this study did not contain benzoyl peroxide, which could cause skin irritation and

adverse effects^{7,8}. The preparation exhibited antidermatophytic activity comparable to that of ketoconazole cream when the inhibition zones were measured at 96 hours after incubation. This effect was dependent on the presence of *P. betle* extract since the cream base used in the preparation did not inhibit the fungal growth at any time point. The effect of the Pb cream, however, could not be maintained for a longer period (> 96 h), suggesting a possible short-life active compound(s) in the tested product. Challenging the Pb cream with repeated freeze-thaw cycling not only markedly altered physical and pH properties, but also resulted in apparently reduced antifungal activity. This may have been due to the decomposition of antifungal components during the treatments, but no direct evidence has been reported on the effect of temperature and pH on the activity of the antifungal components in Piperaceae. Thus far, only one study has suggested that heat and alkalinity could decrease the inhibitory effect of most *Allium* plants against *Aspergillus* fungi¹⁶.

In conclusion, although the *P. betle* extract formulated as 10% skin cream showed antifungal activity, the extract shelf life, method of extraction, and the cream formulation used in this present study could have affected the efficacy and duration of action of the Pb cream. It would be of interest to directly elucidate the influence of temperature, acidity, and alkalinity on the stability and activity of *P. betle* extract and Pb cream. Modifying the cream formulation would improve its efficacy and thus provide a true value-addition to agricultural-based preparations with greater clinical benefits in veterinary medicine.

Acknowledgements

This work was funded by the Ministry of University Affairs of the Royal Thai Government. We also thank Dr Wittaya Suriyasathaporn of the Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University, for his help in statistical analysis.

References

1. Trakranrungsie N, Chatchawanchonteera A, Makarapes A, et al. Susceptibility of zoonotic dermatophytes to ethanolic extract of *Piper betle* leaves. *Thai J Pharmacol* 2003; 25: 84.
2. Chatchawanchonteer A, Suriyasathaporn W, Trakranrungsie N. Antifungal activity of *Alpinia galanga* and *Allium ascalonicum* extracts. *Thai J Pharmacol* 2003; 25:85.
3. Jessup CJ, Warner J, Isham N, et al. Antifungal susceptibility testing of dermatophytes: establishing a medium for inducing conidial growth and evaluation of susceptibility of clinical isolates. *J Clin Microbiol* 2000; 38:341-4.
4. Ruengapirom P, Prapasrakul N, Niyomtum V, et al. The incidence of fungal skin diseases in companion animals. *J Thai Vet Practitioners* 2000; 12:17-31.
5. Ghannoum MA, Rice LB. Antifungal agents: mode of action, mechanisms of resistance, and correlation of these mechanisms with bacterial resistance. *Clin Microbiol Rev* 1999; 12: 501-17.
6. Neely MN, Ghannoum MA. The exciting future of antifungal therapy. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2000; 19: 897-914.
7. Curtis C. Use and abuse of topical dermatological therapy in dogs and cats: Part 1. Shampoo therapy. *In practice* 1998; May: 244-251.
8. Curtis C. Use and abuse of topical dermatological therapy in dogs and cats: Part 2. *In practice* 1999; Sept: 48-54.
9. Wannissorn B, Jarikasem S, Siri-wangchai T, et al. Antibacteriaproperities of essential oils from Thai medicinal plants. *Fitoterapia* 2005; 76: 233-6.
10. Dasgupta N, De B. Antioxidant activity of *Piper betle* L. leaf extract in vitro. *Food Chemistry* 2004; 88: 219-24.
11. Ramji N, Ramji N, Iyer R, et al. Phenolic antibacterials from *Piper betle* in the prevention of halitosis. *J Ethnopharmacol* 2002; 83:149-52.
12. Vasques da Silva R, Navickiene HM, Kato MJ, et al. Antifungal amides from *Piper arboreum* and *Piper tuberculatum*. *Phytochemistry* 2002; 59: 521-7.
13. Yin M, Tsao S. Inhibitory effect of seven *Allium* plants upon three *Aspergillus* species. *Internat J Food Microbiol* 1999; 49: 49-56.
14. Terreaux C, Gupta MP, Hostettmann K. Antifungal benzoic acid derivatives from *Piper dilatatum*. *Phytochemistry* 1998; 49: 461-4.
15. Kun-anake A. Chemicals in medicinal plants and their preliminary tests. *Bull Dept Med Sci* 1998; 40: 67-84.

RESEARCH ARTICLES

Effects of *Pueraria Mirifica* Subchronic Exposure on Hepatic Cytochrome P450 in Rats Fed with Normal and High-Cholesterol Diets

Somsong Lawanprasert¹, Laddawal Phivthong-ngam², Supatra Srichairat³,
Nuansri Niwattisaiwong¹, Kittiya Charoenkul¹, Chaiyo Chaichantipyut¹

¹ Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, Bangkok

² Faculty of Medicine, Srinakharinwirot University, Bangkok

³ Faculty of Veterinary Sciences, Chulalongkorn University, Bangkok

Abstract

Pueraria mirifica Airy Shaw and Suvatabandhu, known locally as “white kwao keur”, is a plant of the family Leguminosae. In this study, the effects of *P. mirifica* on hepatic cytochrome P450 (CYP) were investigated in male Wistar rats. Rats were randomly divided into four treatment groups: normal diet-fed; normal diet-fed supplemented with *P. mirifica*; high-cholesterol diet-fed; and high-cholesterol diet-fed supplemented with *P. mirifica*. Each group comprised ten rats. *P. mirifica* was administered orally at a dosage of 100 mg/kg/day for 90 consecutive days. At the end of the treatment, animals were anesthetized. Microsomes were prepared from the livers for enzyme assays. The results showed that *P. mirifica* significantly inhibited CYP2B1/2B2 in both normal diet and high-cholesterol diet-fed rats. Its inhibitory effect on CYP1A2 and CYP2E1 was found only in normal diet-fed rats. No effect of *P. mirifica* was found on CYP1A1 and CYP3A. Inhibitory effects of *P. mirifica* on CYP2B1/2B2 and CYP2E1 were also found in the *in vitro* study. Inhibitory effects of *P. mirifica* on CYP1A2, CYP2B1/2B2, and CYP2E1 indicated potential benefits of this plant for chemical-induced carcinogenesis, in addition to a potential role in drug-drug interaction with other medicines that are metabolized by these CYPs. Effects of *P. mirifica* at various doses as well as the mechanism of these effects should be further investigated. Effects of *P. mirifica* on human CYP should also be explored.

Key words: *P. mirifica*, cytochrome P450, normal diet-fed rat, high-cholesterol diet-fed rat

Address correspondence and reprints: Somsong Lawanprasert, PhD, Department of Pharmacology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand. Tel. 02 218-8324-5; E-mail: Lsomsong @ chula.ac.th

ผลของการได้รับกวาวเครือขาวแบบกึ่งเรื้อรังต่อเอนไซม์ไซโตโครมพี 450 ในตับของหนูขาวที่ได้รับอาหารปกติและอาหารคอเลสเตอรอลสูง

สมทรง ลาวัณย์ประเสริฐ¹, ลัดดาวัลย์ ผิวทองงาม², สุพัตรา ศรีไชยรัตน์³, นวลศรี นวัตกรรมวงศ์,
กิตติยา เจริญกุล¹ และ ชัยโย ชัยชาญทิพยุทธ¹

¹ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, ² คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ, ³
คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ ประเทศไทย

บทคัดย่อ

กวาวเครือขาว (*Pueraria mirifica* Airy Shaw and Suvatabandhu) เป็นพืชในวงศ์ Leguminosae งานวิจัยนี้
ทำการศึกษาผลของการได้รับกวาวเครือขาวแบบกึ่งเรื้อรังต่อเอนไซม์ไซโตโครม พี450 (CYP) ในตับของหนูขาว
เพศผู้พันธุ์วistarที่ได้รับอาหารปกติ และอาหารคอเลสเตอรอลสูง โดยแบ่งหนูขาวแบบสุ่มเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มละ 10
ตัว ดังนี้ กลุ่มที่ได้รับอาหารปกติ, กลุ่มที่ได้รับอาหารปกติและกวาวเครือขาว, กลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลสูง
และกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลสูงและกวาวเครือขาว ให้กวาวเครือขาวในขนาด 100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน
โดยวิธีป้อนทางปาก เป็นเวลา 90 วัน เมื่อครบระยะเวลา ทำให้หนูหมดความรู้สึกลำดับมาเตรียมไมโครโซม เพื่อวัด
ค่าสมรรถนะของเอนไซม์ ผลการทดลองพบว่า กวาวเครือขาวมีผลยับยั้งสมรรถนะของ CYP2B1/2B2 ในหนูขาวทั้ง
กลุ่มที่ได้รับอาหารปกติและอาหารคอเลสเตอรอลสูง ส่วนสมรรถนะของ CYP1A2 และ CYP2E1 ลดลงเฉพาะใน
กลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวร่วมกับอาหารปกติ กวาวเครือขาวไม่มีผลต่อสมรรถนะของ CYP1A1 และ CYP3A เมื่อ
ทำการทดสอบแบบนอกกาย พบผลของกวาวเครือขาวในการยับยั้ง CYP2B1/2B2 และ CYP2E1 เช่นเดียวกัน ผล
ของกวาวเครือขาวในการยับยั้ง CYP1A2, CYP2B1/2B2 และ CYP2E1 ชี้บ่งแนวโน้มในทางที่เป็นประโยชน์ของ
สารนี้ในเรื่องของการลดการกระตุ้นฤทธิ์ของสารก่อมะเร็ง นอกเหนือจากเป็นข้อมูลที่แสดงแนวโน้มของกวาวเครือ
ขาวว่าอาจมีอันตรกิริยากับยาอื่นๆที่ถูกเมแทบอลิซ์ โดย CYPs เหล่านี้ ควรทำการศึกษาคืบไปถึงผลของ
กวาวเครือขาวที่ขนาดต่างๆ รวมทั้งกลไกที่ใช้อธิบายผลที่เกิดขึ้นเหล่านี้ นอกจากนี้ควรทำการศึกษาผลของสารนี้ต่อ
CYP isoforms ต่างๆ ในคนที่ยังไม่ได้ครอบคลุมนำไปใช้ในการศึกษาในครั้งนี้

คำสำคัญ: กวาวเครือขาว, เอนไซม์ไซโตโครมพี 450, หนูขาวที่ได้รับอาหารปกติ,
หนูขาวที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลสูง

Introduction

Pueraria mirifica Airy Shaw and Suvatabandhu, known locally as "white kwao keur", is a plant of the family Leguminosae. Rhizomes of this plant have been used traditionally for skin enrichment, thickening and blackening hair, relief of weakness, improving appetite, treating insomnia, and breast enlargement in women¹. The uses of *P. mirifica* in traditional medicine may be attributed to the estrogenic properties of its constituents. Several previous studies demonstrated that this plant contained various compounds, including phytoestrogens the compounds with estrogen-like biological activity. Phytoestrogens found in tuberous roots of *P. mirifica* include miroestrol², kwakhurin³, puerarin⁴, coumestrol, daidzin, daidzein, mirificin⁵, genistein, genistin⁶, and deoxymiroestrol⁷. Besides phytoestrogens, this plant also contains other nonestrogenic compounds such as isomiroestrol⁸, puerimircarpene⁹, and mirificoumestan¹⁰.

Epidemiological studies showed that frequent consumption of a phytoestrogen-rich diet, as seen in traditional Asian food, is associated with lower risks of many diseases such as breast, prostate, and colon cancers as well as cardiovascular diseases¹¹⁻¹³. Several studies have suggested that genistein and daidzein exhibit cancer chemopreventive effects¹⁴⁻¹⁷ for which the specific mechanisms have not been clearly identified. *In vitro* and *in vivo* studies found that genistein exhibited antiproliferative effects in human breast cells¹⁸. It also inhibited tyrosine-specific protein kinases¹⁹, DNA topoisomerase epidermal growth factor-induced phosphatidylinositol turnover²¹, and angiogenesis²². Inhibition of hepatic enzymes (cytochrome P450, CYP) involved in activating carcinogens and mutagens as well as stimulating hepatic enzymes in detoxification pathways (glutathione S-transferase, GST; UDP-glucuronosyltransferase, UDPGT; etc.) are among the hypotheses proposed by several group studies to explain the anticarcinogenic effects of phytoestrogens with flavonoid structures^{23,24}. For example, genistein has been shown to inhibit CYP1A1, CYP1A2, and CYP2E1²⁵. Generally, CYP is an important enzyme of phase I drug metabolism. CYP in families 1, 2, and 3 plays a significant role in xenobiotic (drugs, chemicals, pollutants, etc.) metabolism of both toxification and detoxification. CYP isoforms that play a key role in activating xenobiotics to toxic metabolites include CYPs 1A1, 2B1/2B2, 2C11/2C12, 2E1, and 3A1/3A2 in rats as well as CYP1A1/1A2, 2B6, 2E1, and 3A4 in humans^{26,27}.

To date, the cancer chemopreventive effects of *P. mirifica* have never been investigated. Likewise, no studies exist on the effects of *P. mirifica* on CYPs (the enzyme system involved in activating chemical carcinogens). If *P. mirifica* causes inhibitory effects on CYPs that play a key role in carcinogenic and mutagenic activation of many environmental chemicals, this plant could potentially reduce risks of chemical carcinogenesis (or could itself be carcinogenic if it possesses the inducing effects). Furthermore, modulating of these CYP isoforms that normally responsible for metabolizing many therapeutic drugs could provide useful information on *P. mirifica* related to drug-drug interaction. Thus the objective of this study was primarily to investigate subchronic effects of *P. mirifica* on rat hepatic CYPs such as CYPs 1A1, 1A2, 2B1, 2B2, 2E1, and 3A involved in carcinogen and mutagen activation as well as drug metabolism.

Materials and Methods

Materials

The following chemicals were obtained from Sigma Chemical Corp. (St. Louis, MO, USA): acetylacetone; 4-aminophenol; aniline hydrochloride; bovine serum albumin; cupric sulfate; ethylenediamine tetraacetic acid; Folin and Ciocalteu's phenol reagent; glucose 6-phosphate (G6P); glucose 6-phosphate dehydrogenase (G6PD); nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADP); potassium phosphate; potassium phosphate monobasic anhydrous; sodium carbonate; sodium citrate; sodium phosphate dibasic anhydrous; Trisma® base; benzyloxy-resorufin; ethoxyresorufin; methoxy-resorufin; pentoxy-resorufin; and resorufin. Magnesium chloride, phenol, potassium chloride, sodium chloride, sodium hydroxide, and trichloroacetic acid were purchased from E. Merck (Darmstadt, Germany). Absolute ethanol and glycerol were obtained from Carlo Erba (USA). Acetone and methanol (HPLC grade) were obtained from BDH Laboratory Supplies (Poole, England). Sodium dithionite was purchased from Fluka Chemic (Tokyo, Japan). Erythromycin stearate was provided by Siam Pharmaceutical (Bangkok, Thailand).

Animals

Adult male Wistar rats with body weights of 200 to 250 g were obtained from the National Laboratory Animal Center, Mahidol University, Salaya, Nakhon Pathom, Thailand. Rats were housed two per cage at the Faculty of Medicine, Srinakharinwirot University, Bangkok and acclimatized for at least seven days. They were

maintained at 25°C on a 12-hour light/dark cycle and had free access to the diet and water throughout the study. High-cholesterol rats were fed a high-cholesterol diet containing 1% cholesterol plus 2% sodium choleate. All diets were purchased from the Charoen Pokphand Group (Bangkok, Thailand). The protocol for animal housing and treatment used in this study was approved by the Ethics Committee of the Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, Bangkok.

P. mirifica

Dried fine powder of *P. mirifica* tuberous root was obtained from Dr. Amphawan Apisariyakul, Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Thailand. *P. mirifica* used in this study was cultivated at the Ban Tak and Mae Sot districts of Tak province, Thailand, with the tuberous roots collected during March and April 2000. The powder was identified for its estrogenic activity by dissolving it in water, filtering and analyzing by immunoassay. The result showed that the solution of *P. mirifica* used in this study possessed estrogenic activity in a concentration related manner (unpublished data). *P. mirifica* for animal administration was prepared freshly by dissolving 6 g of the powder with 100 ml of double distilled water, mixing it well, and filtering out any remaining fiber with a cloth filter. While drawing the suspension into the gavage tube, the suspension was thoroughly mixed by magnetic stirrer.

Experimental model: *ex vivo* study

Rats were randomly divided into four treatment groups: normal diet-fed; normal diet-fed supplemented with *P. mirifica*; high-cholesterol diet-fed; high-cholesterol diet-fed supplemented with *P. mirifica*. Each group comprised ten rats. *P. mirifica* was administered orally at a dosage of 100 mg/kg/day for 90 consecutive days.

Microsome preparation

At the end of the treatment, animals were fasted for 12 hours before being anesthetized with diethyl ether by inhalation. Livers were perfused *in situ* with ice-cooled 0.9% sodium chloride via portal vein and immediately excised. Rat liver microsomes were prepared using Lake's method²⁸ with some modifications. Liver microsomal protein concentrations were determined by modifying the method of Lowry, et al.²⁹

Enzyme assays

Hepatic microsomal total CYP contents were determined spectrophotometrically according to Omura and Sato's method³⁰. The rate

of hepatic microsomal alkoxyresorufin O-dealkylation was determined according to the method of Burke and Mayer³¹ and Lubet, et al.³² with some modifications. Benzyloxyresorufin (BR) and pentoxyresorufin (PR) were used as selective substrates of CYP 2B1/2B2. Ethoxyresorufin (ER) and methoxyresorufin (MR) were used as selective substrates of CYP 1A1 and CYP1A2, respectively. The catalytic activity of CYP2E1 was determined based on the rate of hepatic microsomal aniline 4-hydroxylation, according to the method of Schenkman, et al.³³ Aniline hydrochloride was used as a selective substrate in this reaction. The rate of hepatic microsomal erythromycin N-demethylation was determined using the method of Nash, et al.³⁴ and Friedli³⁵. Erythromycin stearate was used as a selective substrate of CYP3A.

In vitro study

To prepare microsomes for the inhibition study, four rats were induced by phenobarbital, a selective inducing agent of CYP2B1/2B2. Phenobarbital at a dosage of 80 mg/kg/day was administered intra-peritoneally to rats for three days³⁶. Another group of four rats was allowed to drink water supplemented with 1% v/v acetone for seven days for induction of liver CYP2E1²⁵. Liver microsomes were prepared from these animals as mentioned above. To investigate the inhibition effect of *P. mirifica* on CYP2B1/2B2 *in vitro*, various concentrations of *P. mirifica* were prepared and added concomitantly with benzyloxyresorufin in the incubation mixture of benzyloxyresorufin O-dealkylation as mentioned above. The final concentrations of *P. mirifica* in the reaction mixture were 0%, 1%, 2.5%, 5%, 7.5%, 10%, 15%, and 20% w/v, with the phenobarbital-induced rat liver microsomes used in the reaction. Likewise, to investigate the inhibition effect of *P. mirifica* on CYP2E1 *in vitro*, various concentrations of *P. mirifica* were added concomitantly with aniline hydrochloride in the incubation mixture of aniline 4-hydroxylation as mentioned above. The final concentrations of *P. mirifica* in the reaction mixture were 0%, 1%, 2.5%, 5%, 7.5%, and 10% w/v, with the acetone-induced rat liver microsome were used in the reaction. Inhibition percentages of CYP activities were calculated by comparing the rate of benzyloxyresorufin O-dealkylation or aniline 4-hydroxylation at various concentrations of *P. mirifica* with the corresponding rate of the reactions without *P. mirifica*.

Statistics

All quantitative data were presented as mean \pm standard error of the mean (SEM). An

independent *t*-test was used for statistical comparisons between normal diet-fed versus normal diet-fed supplemented with *P. mirifica* and high-cholesterol diet-fed versus high-cholesterol diet-fed supplemented with *P. mirifica*. A *p* value of less than 0.05 was considered significant. To estimate IC₅₀ values, the percentage of inhibition was transformed to probit units. The linear regression method was used to fit a curve between probit units and *P. mirifica* concentrations in the reaction mixture by using Sigma Plot software. The IC₅₀ value

was calculated from the linear regression equation.

Results

Effect of *P. mirifica* on hepatic CYPs in an *ex vivo* study

P. mirifica significantly decreased hepatic microsomal total CYP content in normal diet-fed rats but not in high-cholesterol diet-fed

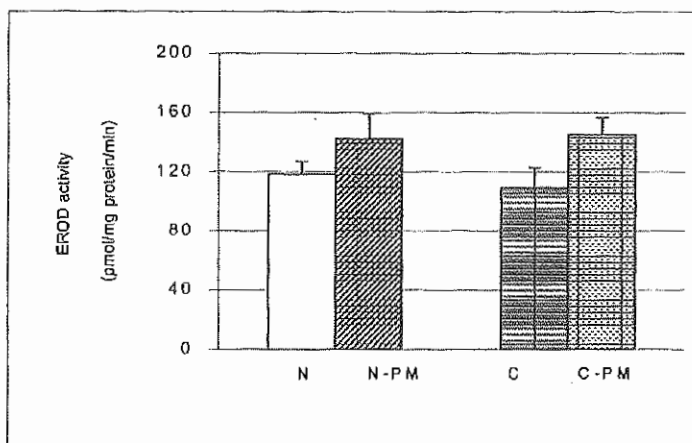


Figure 1 Effect of *P. mirifica* on hepatic microsomal total CYP contents

The individual bar represents the mean of hepatic microsomal total CYP content with an SEM error bar (n = 10)

* *p* < 0.05; Normal diet-fed supplemented with *P. mirifica* group vs. normal diet-fed group

N = Normal diet-fed group

N-PM = Normal diet-fed supplemented with *P. mirifica* group

C = High-cholesterol diet-fed group

C-PM = High-cholesterol diet-fed supplemented with *P. mirifica* group

rats when compared to the corresponding diet-fed rats without *P. mirifica* (Figure 1).

P. mirifica had no significant effect on the rate of ethoxyresorufin O-dealkylation (EROD, which represented CYP1A1 activities, under either normal or high-cholesterol diet conditions (Figure 2). Regarding the effects on CYP1A2, *P. mirifica* significantly inhibited the methoxyresorufin O-dealkylation (MROD) rate in normal diet-fed rats but not in high-cholesterol diet-fed rats (Figure 3). The rates of both benzyloxy and pentoxyresorufin O-dealkylation (BROD and PROD, respectively), representing CYP2B1/2B2 activities, were significantly decreased by *P. mirifica* in both normal diet-fed and high-cholesterol diet-fed groups compared to their corresponding diet-fed control groups (Figure 4). *P. mirifica* significantly decreased the rate of aniline 4-hydroxylation (representing CYP2E1 activity) in normal diet-fed rats, but did not affect this reaction in high cholesterol diet-fed rats (Figure 5). As for hyper-cholesterolemic effects, high-

cholesterol diet conditions caused decreased CYP2E1 activity when compared to normal diet conditions (0.209 ± 0.02 vs. 0.130 ± 0.02 ; *p* < 0.05). *P. mirifica* did not cause any significant effects on the rate of erythromycin N-demethylation (representing CYP3A activity) in either normal or high-cholesterol diet conditions (Figure 6).

Effect of *P. mirifica* on hepatic CYPs in an *in vitro* study

Consistent with the results of the *ex vivo* study (Figures 4 and 5), *P. mirifica* exhibited an *in vitro* inhibition effect on CYP2B1/2B2 and CYP2E1 in a dose-dependent manner with a median inhibition concentration (IC₅₀) of 23.09 % w/v and 5.18% w/v, respectively (Figures 7 and 8).

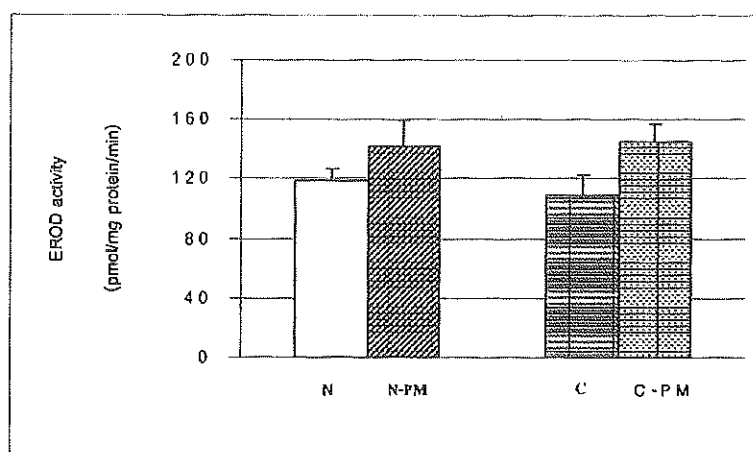


Figure 2 Effect of *P. mirifica* on hepatic microsomal EROD activity (CYP1A1 activity)

The individual bar represents the mean EROD activity with an SEM error bar (n = 10)

N = Normal diet-fed group

N-PM = Normal diet-fed supplemented with *P. mirifica* group

C = High-cholesterol diet-fed group

C-PM = High-cholesterol diet-fed supplemented with *P. mirifica* group

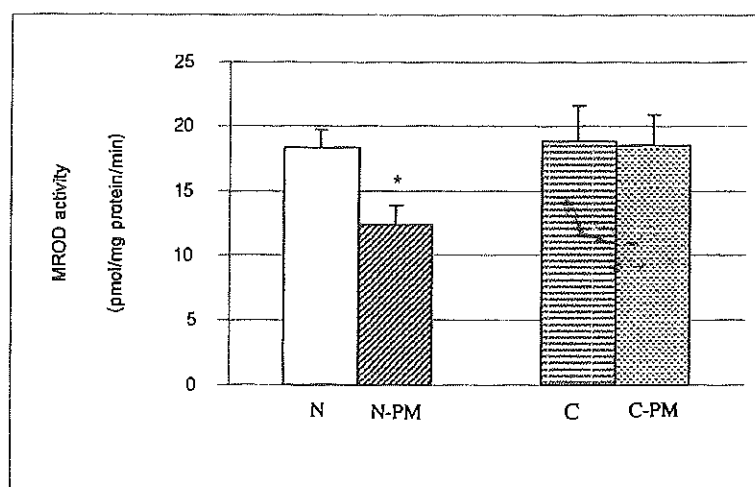


Figure 3 Effect of *P. mirifica* on hepatic microsomal MROD activity (CYP1 activity)

The individual bar represents the mean MROD activity with an SEM error bar (n = 10)

* p < 0.05; Normal diet-fed supplemented with *P. mirifica* group vs. normal diet-fed group

N = Normal diet-fed group

N-PM = Normal diet-fed supplemented with *P. mirifica* group

C = High-cholesterol diet-fed group

C-PM = High-cholesterol diet-fed supplemented with *P. mirifica* group

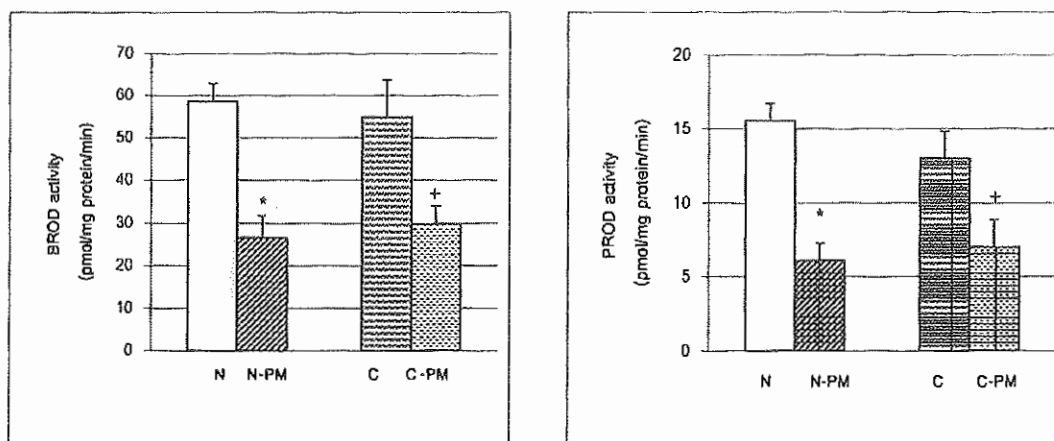


Figure 4 Effects of *P. mirifica* on hepatic microsomal BROD and PROD activity (CYP2B1&2B2 activity)

The individual bar represents the mean PROD activity with an SEM error bar (n = 10)

* p < 0.05; Normal diet-fed supplemented with *P. mirifica* group vs. normal diet-fed group

+ p < 0.05; High-cholesterol diet-fed supplemented with *P. mirifica* group vs. high-cholesterol diet-fed group

N = Normal diet-fed group

N-PM = Normal diet-fed supplemented with *P. mirifica* group

C = High-cholesterol diet-fed group

C-PM = High-cholesterol diet-fed supplemented with *P. mirifica* group

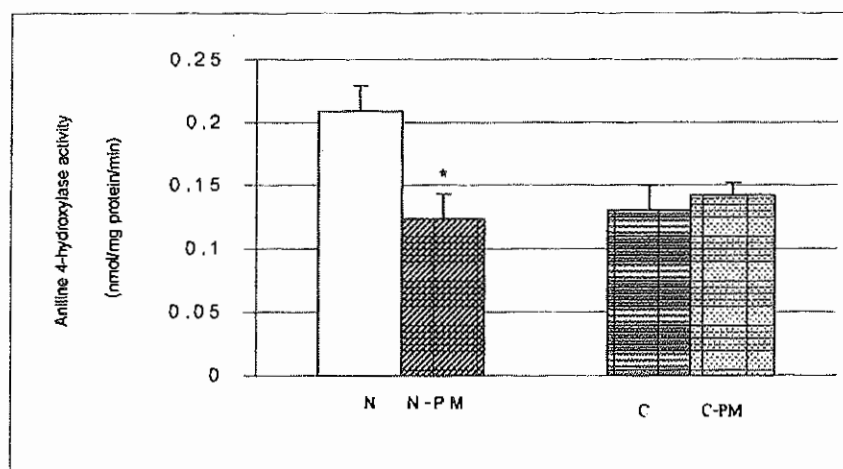


Figure 5 Effect of *P. mirifica* on rate of aniline 4-hydroxylation (CYP2E1 activity)

The individual bar represents the mean of the rate of aniline 4-hydroxylation with an SEM error bar (n = 10)

* p < 0.05; Normal diet-fed supplemented with *P. mirifica* group vs. normal diet-fed group

N = Normal diet-fed group

N-PM = Normal diet-fed supplemented with *P. mirifica* group

C = High-cholesterol diet-fed group

C-PM = High-cholesterol diet-fed supplemented with *P. mirifica* group

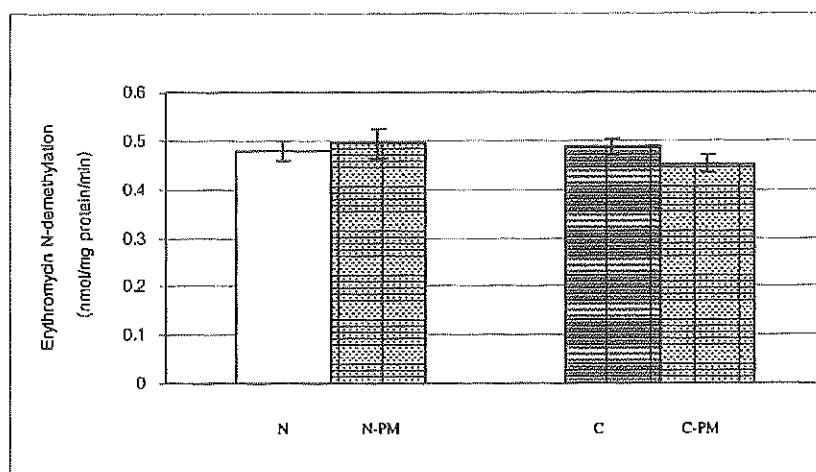


Figure 6 Effect of *P. mirifica* on rate of erythromycin N-demethylation (CYP3A activity)

The individual bar represents the mean of the rate of erythromycin N-demethylation with an SEM error bar (n = 10)

N = Normal diet-fed group

N-PM = Normal diet-fed supplemented with *P. mirifica* group

C = High-cholesterol diet-fed group

C-PM = High-cholesterol diet-fed supplemented with *P. mirifica* group

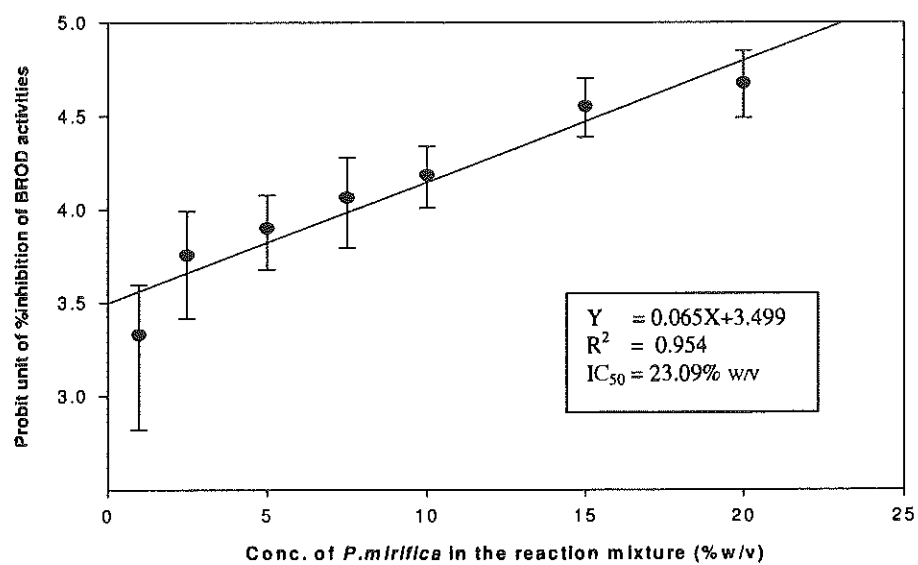


Figure 7 *In vitro* inhibition effect of *P. mirifica* on CYP2B1/ 2B2. Data shown is the

mean \pm SEM (n = 4).

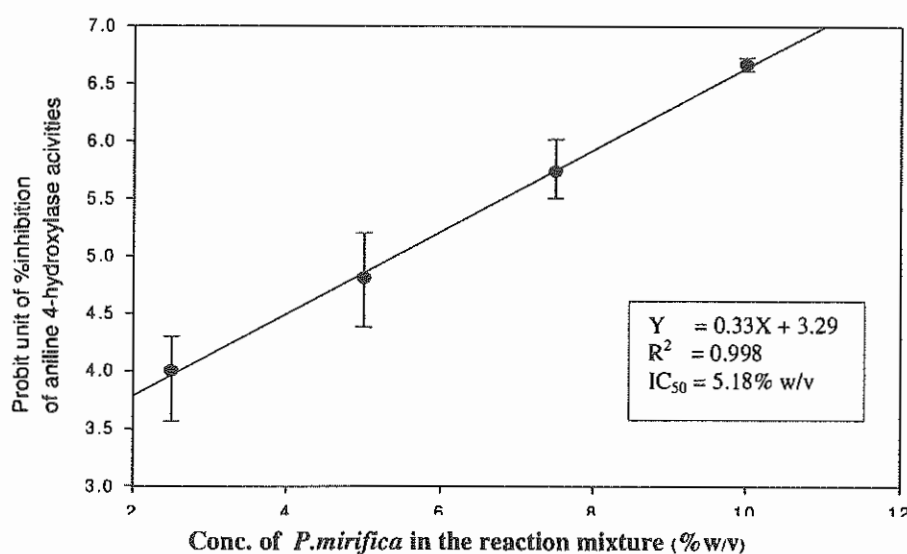


Figure 8 *In vitro* inhibition effect of *P. mirifica* CYP2E1 Data shown is the mean \pm SEM (n = 4).

Discussion and Conclusion

This study primarily investigated sub-chronic effects of *P. mirifica* on hepatic CYPs involved in drug metabolism and various metabolic activations of mutagenic and/or carcinogenic xenobiotics. This would partly give preliminary information of *P. mirifica* in term of drug-drug interaction potential and a potential either to increase risk of xenobiotic-induced mutagenesis/carcinogenesis or, in the opposite way, to afford antimutagenic/anticarcinogenic effects against xenobiotic-induced carcinogenesis. In this study *P. mirifica* was administered to rats at a dosage of 100 mg/kg/day – a dosage that was shown to decrease serum cholesterol without any serious toxic effects in a previous study³⁷. The cardiovascular advantages of phyto-estrogens attributed to their lipid-lowering effects have been well documented. Besides studying normal rats, this study was also performed on hypercholesterolemic rats, the model of which effect of *P. mirifica* on hepatic CYPs had never been investigated.

To investigate the effects of *P. mirifica* on hepatic microsomal CYPs responsible for drug metabolism as well as carcinogen activation, an *ex vivo* study was performed using treated-rat livers for microsomal preparations. Enzyme induction and some forms of enzyme inhibition can be simultaneously investigated by this experimental model. The results showed that in normal diet-fed rats *P. mirifica* decreased total CYP contents as well as the activities of CYP1A2, CYP2B/2B2, and

CYP2E1. Normally, CYP1A1/1A2, CYP2B1/2B2, CYP2E1, and CYP3A are among the CYPs that play a key role in carcinogenic and/or mutagenic activation of many environmental chemicals^{27,38-39}. Since the results showed no inducing effect of *P. mirifica* on these CYP isoforms, this suggests no increased risk of toxicity from xenobiotics whose toxic metabolites (via bioactivation of xenobiotics) are carcinogens. Inhibitory effects of *P. mirifica* on CYP1A2, CYP2B1/2B2, and CYP2E1, on the other hand, would indicate an antimutagenic or anticarcinogenic potential of this plant against many procarcinogens. In addition, the inhibitory effect of *P. mirifica* on CYP1A2, CYP2B1&2B2, and CYP2E1 implied that some constituents in *P. mirifica* may be substrates of these CYP isoforms or might only be inhibitors of these CYPs without being metabolized by these enzymes. Further study on the metabolic pathway of *P. mirifica* is needed to clarify this. A few studies have been conducted on the inhibitory effects of genistein/daidzein on hepatic CYPs²⁵ as well as the metabolism of genistein²³. Both genistein and daidzein (or its metabolite, equol) have been found to inhibit CYP1A1/1A2 and CYP2E1 using mice-liver microsomes and human-specific CYPs²⁵. Genistein has been shown to be metabolized by CYP1A1/1A2, CYP1B1, and CYP2E1²³. Besides genistein and daidzein, puerarin (another compound also found in *P. mirifica*) has been shown to have an inhibitory effect on CYPs such as CYP2E1, CYP2B1, and CYP3A⁴⁰. Therefore, the mechanism of these inhibitory effects and which plant constituents exerted these effects should be further investigated. As for drug-drug interaction implications, no *P. mirifica* effect on CYP3A (a

35. Friedli GL. Structure/activity comparison in the ability of some terpenoid food flavors to cause peroxisome proliferation. (*Master's thesis*). Surrey: University of Surrey, 1992.
36. Gibson GG, Skett P. Introduction to drug metabolism. 3rd ed. New York: Chapman, 2000.
37. ทรงพล ชีวะพัฒน์, ปราณี ขวลิทธำรง, สดุดี รัตนจรัสโรจน์, อัญชลี จูทะพุทธิ, และสมเกียรติ ปัญญามัง. การศึกษาพิษกึ่งเรื้อรังของกวางเครือขาว. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2543; 42:202-3.
38. Parkinson A. Biotransformation of xenobiotics. In: Curtis D. Klaassen, editor. *Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons*. 6th ed. New York: McGraw-Hill, 2001:133-96.
39. Rendic S, Di Carlo FJ. Human cytochrome P450 enzymes: A status report summarizing their reactions, substrates, inducers, and inhibitors. *Drug Metab Rev* 1997; 29: 413-580
40. Guerra MC, Speroni E, Broccoli M, et al. Comparison between Chinese medical herb *Pueraria lobata* crude extract and its main isoflavone puerarin antioxidant properties and effect, on rat liver CYP-catalysed drug metabolism. *Life Science* 2000; 67:2997-3006.
41. Yamao S, Nhamburo PT, Aoyama T, et al. cDNA cloning and sequence and cDNA-directed expression of human P450IIB1: identification of a normal and two variant cDNAs derived from the CYP2B locus on chromosome 19 and differential expression of the IIB mRNAs in human liver. *Biochemistry* 1989; 28: 7370-8.
42. Raucy JL, Lasker JM, Kraner JC, et al. Induction of cytochrome P450IIE1 in the obese overfed rat. *Mol Pharmacol* 1991; 39:275-80.
43. Ioannides C. Effect of diet and nutrition on the expression of cytochrome P450. *Xenobiotica* 1999; 29(2):109-54.
44. Takahashi H, Tori Y, French SW, et al. Effects of dietary fat composition on activities of the microsomal ethanol oxidizing system and ethanol-inducible cytochrome P450 (CYP2E1) in the liver of rats chronically fed ethanol. *Pharmacol Toxicol* 1992; 70: 347-52.
45. McNamara, D. J. Dietary cholesterol and atherosclerosis. *Biochimica Biophysica Acta* 2000; 1529:310-20.
46. Charoenkul K, Phivthong-ngam L, Srichairat S, et al. Subchronic exposure of *Pueraria mirifica* in normal- and high cholesterol diet-fed rats: Influence on lipid profile and toxicity. *Thai J Pharmacol* 2005; 27(2-3): 67-75.

REVIEWS

Comparison of Two Commercially Available Pegylated Liposomal Doxorubicin Products: Doxil/Caelyx versus Lipo-Dox

Praneet Opanasopit

Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, Silpakorn University, Nakhon Pathom 73000, Thailand

Abstract

The current status of newly developed polyethyleneglycol-coated liposome (PEG-liposome or pegylated liposome) is described in this review. Liposomes have demonstrated considerable promise as a carrier for delivering drugs *in vivo*. However, one drawback is that most liposomes intravenously injected into animals are rapidly removed from the blood circulation by uptake primarily in the cells of the reticuloendothelial system (RES). It has been found that PEG-liposomes are not readily taken up by the macrophages in the RES and hence remain in the circulation for a relatively long period. Pharmacokinetic analysis and therapeutic studies with tumor-bearing mice revealed that PEG-liposomes have considerable potential as drug carriers for cancer therapy. In several animal and human tumors, including breast, prostate, pancreatic, and ovarian xenografts, pegylated liposomal doxorubicin (Doxil or Caelyx) produced higher intratumoral drug concentrations and better therapeutic responses than equivalent doses of conventional (nonpegylated) liposome-encapsulated doxorubicin or free doxorubicin. The toxicity of Caelyx is dose- and schedule-dependent and well correlated with pharmacokinetic parameters. In this review, we also discuss the different lipid ratios and lipid composition of PEG-liposome influences on the pharmacokinetic, biodistribution, therapeutic activity, and toxicity. Moreover, it's obvious that higher plasma AUC may not always be advantageous to patients who receive pegylated liposomal doxorubicin. A clinical trial was required to determine the best therapeutic activity and toxicity of PEG-liposomal doxorubicin formulations.

Key words: Pegylated liposome, Doxorubicin, Solid tumors, Doxil/Caelyx, Lipo-Dox

Address correspondence and reprint requests: Praneet Opanasopit Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, Silpakorn University, Nakhon Pathom 73000, Thailand.

เปรียบเทียบเภสัชภัณฑ์เพคไจเลทลิโปโซมดอกโซรูบิซิน:

Doxil/Caelyx กับ Lipo-Dox

รศ.ดร.ปราณี เต โอปณะโสภิต

ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร 73000 ประเทศไทย

บทคัดย่อ

ในบทบรรณนิทัศน์ได้รวบรวมการพัฒนาระบบนำส่งยาแบบใหม่โดยใช้ พอลิเอทิลีนไกลคอลเคลือบบนพื้นผิวของลิโปโซม (PEG-liposome หรือ pegylated liposome) ลิโปโซมเป็นระบบนำส่งยาที่ได้รับการยอมรับว่าสามารถนำส่งยาในร่างกายได้ดี แต่อย่างไรก็ตามระบบนี้มีข้อจำกัดในการบริหารยาทางฉีดเข้าหลอดเลือดดำ กล่าวคือลิโปโซมถูกกำจัดออกจากกระบบไหลเวียนโลหิตอย่างรวดเร็วโดยถูกกำจัดโดยมาโครฟาจในระบบ reticuloendothelial (RES) พบว่าเพคไจเลท ลิโปโซมไม่ถูกทำลายโดยมาโครฟาจในระบบ RES จึงทำให้สามารถอยู่ในกระแสเลือดได้นานกว่าระบบลิโปโซมแบบเก่า การวิเคราะห์ผลทางคลินิกโดยศึกษาจากค่าเภสัชจลนศาสตร์ และดัชนีการรักษามะเร็งในหนูทดลองที่เป็นเนื้องอกพบว่าเพคไจเลท ลิโปโซมมีประสิทธิภาพในการนำส่งยารักษามะเร็งหรือเนื้องอกได้ ผลจากหลายการทดลองในสัตว์ทดลองและในมนุษย์ที่เป็นเนื้องอกหรือมะเร็ง เช่นที่ เต้านม ต่อมลูกหมาก ตับอ่อน และ รังไข่ พบว่า เพคไจเลทลิโปโซมดอกโซรูบิซินหรือชื่อการค้าคือ Doxil/Caelyx สามารถนำส่งยาดอกโซรูบิซินไปบริเวณที่เป็นเนื้องอกหรือมะเร็งได้โดยมีค่าความเข้มข้นของยาในเนื้องอกสูงและค่าดัชนีการรักษาที่ดีกว่าการให้ยาดอกโซรูบิซินที่เตรียมโดยใช้ระบบลิโปโซมแบบเก่า (ไม่ได้เคลือบด้วย พอลิเอทิลีนไกลคอล หรือ PEG) หรือการให้ยาดอกโซรูบิซินโดยไม่มียาระบบนำส่งยา ในขนาดยาที่สมมูลกัน ค่าความเป็นพิษของ Doxil/Caelyx จะขึ้นกับขนาดยา และตารางการให้ยาซึ่งมีความเกี่ยวข้องกันกับค่าเภสัชจลนศาสตร์ ในบทบรรณนิทัศน์นี้จึงได้มีการอภิปรายความแตกต่างกันของการเตรียม เพคไจเลทลิโปโซม จากทั้งสองบริษัท โดยเตรียมจากไขมันที่ต่างกันและในสัดส่วนที่ต่างกันนี้ ส่งผลให้ค่าเภสัชจลนศาสตร์ การกระจายยาในร่างกาย การรักษา และความเป็นพิษจากตัวยาดอกโซรูบิซินที่ใส่ไว้ในระบบนำส่งยาเพคไจเลทลิโปโซมแตกต่างกัน พบว่า การที่เพคไจเลทลิโปโซมอยู่ในกระแสเลือดได้นานมากเกินไปก็อาจจะไม่ใช่ข้อดีเสมอไปสำหรับคนไข้ที่ได้รับยาเพคไจเลทลิโปโซมดอกโซรูบิซิน การทดลองทางคลินิกจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการสรรหาคำรับยาที่ให้ผลการรักษาที่ดีและมีความเป็นพิษต่ำ

คำสำคัญ: Pegylated liposome, Doxorubicin, Solid tumors, Doxil/Caelyx, Lipo-Dox

Introduction

Many attempts have been made to achieve good selectivity for targeted tumor cells by preparing specialized carrier agents that are therapeutically beneficial for anticancer therapy. Among these, liposomes are the most studied colloidal particles thus far applied in medicine – particularly in antitumor therapy. Although they were first described in the 1960s¹, only at the beginning of the 1990s did the first therapeutic liposomes appear on the market. The first-generation liposomes (conventional liposomes) comprised a liposome-containing amphotericin B, AmBisome used as an antifungal drug² and TLC D-99 (Myocet®: Elan Pharma Int, Princeton, NJ, USA), a doxorubicin-containing liposome, used in clinical trials to treat metastatic breast cancer³. The second-generation liposomes (pure lipid approach) were long-circulating liposomes, such as Daunoxome, a daunorubicin-containing liposome approved in the United States and Europe to treat AIDS-related Kaposi's sarcoma⁴. The third-generation liposomes were surface-modified liposomes with gangliosides or sialic acid, which can evade the immune system responsible for removing liposomes from circulation⁵. The fourth-generation liposomes, pegylated liposomal doxorubicin (Doxil®: ALZA Corporation, Palo Alto, CA, also known as Caelyx®: Schering-Plough, Madison, NJ, USA; and Lipo-Dox®: TTY Biopharm Company, Ltd, Taiwan), were called "stealth liposomes" because of their ability to evade removal from the circulation by the immune system⁶. Several clinical studies didn't support the use of conventional liposomes in cancer treatment⁷⁻⁸. Although it's still not clear whether such liposomes can be of benefit in cancer therapy, it has been demonstrated that small, stable liposomes can passively target several different tumors⁹⁻¹⁰ because they can circulate for prolonged periods and extravasate into tissues with enhanced vascular permeability¹¹.

Various kinds of liposomes show differences in biological properties, such as half-life in blood, disposition, rate and site of drug release, and target. Liposomes can be useful for prolonging circulation time, isolating the agents at the target site from the systemic background, and reducing toxicity and side effects of the encapsulated materials – all of which result in enhanced clinical efficacy of the drugs. One attractive application of liposomes is for cancer chemotherapy, since most anticancer drugs are very toxic to normal as well as to tumor cells. Therefore, liposomes would be quite a useful carrier if they could be targeted to the appropriate site.

In this review, we describe and discuss: (1) long-circulating liposomes; (2) passive targeting

of long-circulating liposomes to solid tumor tissues; (3) pegylated liposomal doxorubicin; and (4) a comparison of the different lipid ratios and lipid composition of PEG-liposome influences on pharmacokinetics, biodistribution, therapeutic activity, and toxicity (Doxil/Caelyx vs Lipo-Dox). We focus especially on the factor determining the toxicity of PEG-liposomal doxorubicin formulations.

1. Long-circulating liposomes

The tendency for liposomes to be trapped by the reticuloendothelial system (RES) is very useful for passive targeting of liposomes to the RES and for delivering encapsulated materials to the liver and spleen. However, if the target site isn't the RES, this tendency can be a strong disadvantage of liposomal drug delivery systems (DDS). Therefore, if widespread use of liposomes is considered, liposomal formulation or strategies for avoiding RES-trapping would be essential. Since the RES is responsible for much of the clearance of liposomes from the circulation, reducing RES-trapping of liposomes endows them with long-circulating characteristics – thus the term "long-circulating liposomes".

Conventional liposomes are opsonized by plasma proteins and trapped by the RES. To avoid or reduce RES-trapping of liposomes, two major approaches have been considered¹². The first approach designs liposomes that mimic blood cells in the circulation and reduce the host recognition of liposomes as foreign substances. Another approach aims to reduce opsonization of liposomes by increasing the hydrophilicity of the liposomal surface. To avoid RES-trapping of liposomes, a great deal of research has examined liposomal formulations based on stability and the liposome clearance rate. Subsequently, small, less-fluid liposomes were revealed to be suitable among conventional formulations without specially modifying the surface with polyethylene glycol or other residues. Liposomes composed of saturated phospholipids such as distearoyl-phosphatidylcholine (DSPC) and cholesterol (Cho) have been shown to be stable in plasma and are retained longer in the circulation¹³. Liposomes containing sphingomyelin (SM) have similar characteristics. In both cases, small, less-fluid liposomes have a longer half-life by avoiding RES-trapping.

Glycoproteins and glycolipids especially sialoglycoconjugates on the surface of erythrocytes are thought to play an important role in the recognition as self. Thus various modifications of liposomes with natural glycolipids, gangliosides, or synthetic sialoglyco derivatives were attempted. Allen and coworkers first reported that modifying liposomes with monosialoganglioside (GM1)

prolonged their circulation time in mice¹⁴. The effect of lipid composition, including GM1 liposomes, on the tissue distribution of liposomes in normal mice was examined by Gabizon⁵. Even a small change in liposome formulation caused a significant increase in circulation time, resulting in up to more than a 200-fold difference in the RES/blood ratio. Several other glycolipids (either alone or in combination with GM1) were tested to see if they could decrease the RES uptake of liposomes after IV injection. Only GM1 was effective in significantly increasing the blood/RES ratio¹⁵ and liposomes with a diameter ranging from 90 nm to 200 nm were retained longer in the blood of normal mice¹⁶. Unfortunately, the effect of GM1 on the RES-trapping of liposomes was observed only in mice. In fact, GM1-modified liposomes didn't show any long-circulating activity in rats¹⁷ or rabbits¹⁸.

In 1989, liposomes modified with a glucuronic acid derivative, palmityl-D-glucuronide (PGLcUA), were shown to cause long circulation times in the bloodstreams of both rats and mice¹⁹. Glucuronic acid was chosen as a liposome modifier instead of sialic acid because this was less expensive. Moreover, both sugars contain a carboxyl group and are biocompatible. The recognition and uptake of liposomes by macrophages were also reduced by modifying liposomes with PGLcUA²⁰. In the 1990s another approach for preparing long-circulating liposomes was successfully employed by several groups. Liposomes were endowed with high hydrophilicity. This approach doesn't require knowledge of the recognition mechanisms of self and non-self, but only the availability of highly hydrophilic molecules and a method for modifying liposomes with them. Furthermore, these liposomes were expected to be useful in humans because they lack species specificity. For this purpose, polyethylene glycol (PEG) was originally used, and liposomes modified with PEG showed long-circulating characteristics²¹⁻²³. A hydrophilic surface layer of liposomes may reduce opsonization by plasma proteins and recognition by the RES. In fact, opsonization of liposomes by complements²⁴ and other plasma proteins as well as interaction of liposomes with macrophages²⁵ were suppressed by PEG coating.

Various PEG derivatives were synthesized, and the effect of these derivatives on liposomal circulation was determined. Incorporating 10% PEG (1900)-DSPE into liposomes composed of saturated phospholipids such as DSPC/Cho or SM/PC/Cho resulted in substantially elevated blood levels. Incorporating PEG-DSPE also resulted in elevated blood levels of liposomes when they were composed of unsaturated phospholipids

such as PC/Cho²³. In general, the *in vivo* fate of PEG-liposomes is little affected by the fluidity and net charge on the liposomal surface. However, it is affected by the density of sterically active hydrophilic head groups²⁶. This is different from GM1 liposomes, since GM1 liposomes composed of unsaturated phospholipids did not show as high a blood/RES ratio as liposomes composed of GM1 and saturated phospholipids²⁷.

2. Passive targeting of long-circulating liposomes to solid tumors

Passive targeting is a methodology that increases the target/non-target ratios of delivered drugs by adjusting the physical and chemical properties of the carriers to physiological and histological characteristics of the target and non-target tissues, organs, and cells. Passive targeting can be achieved by minimizing nonspecific interactions with and delivery to non-target organs, tissues, and cells as well as maximizing delivery to the target.

Maeda et al., 1986 presented a new concept of targeting drugs to solid tumors using a passive-targeting mechanism²⁸. The concept is called the "enhanced permeability and retention effect" (EPR effect)²⁹. Cancer and inflammatory tissues have various common vascular mediators, such as nitric oxide (NO), bradykinin (BK), and prostaglandins (PGs); their most predominant physiological effect is to enhance vascular permeability. These effects are now referred as "the EPR effect" in solid tumors, but this extravasation is observed only for macromolecular or polymeric substances as well as lipid formulation (liposomes, micelles). Recovery of these macromolecules extravasated into the interstitial tissues of tumors moves very slowly and takes a prolonged period, while in normal tissues these macromolecules are cleared more rapidly³⁰. As a result of this increased vascular permeability, both polymers and low molecular-weight compounds increase their transport from blood vessels to tumor tissues. However, low molecular-weight compounds are more diffusible out of tumor tissue and back into blood circulation than macromolecular compounds. Therefore, enhanced accumulation at tumor tissues is prominent only for macromolecules. The lymphatic drainage system doesn't operate effectively in tumor tissues, and macromolecules are retained and accumulate to a greater extent at tumor sites. According to the EPR effect, any synthetic and natural macromolecules can selectively accumulate at solid tumor sites. However, carrier polymers must fulfill two requirements to avoid nonspecific capture at nontumor sites: First, they must be of appropriate size or molecular weight. Carrier diameters must be

smaller than 200 nm to allow them to evade RES uptake³¹. A molecule with a molecular weight of about 40,000 or less is subjected to glomerular filtration in the kidney and rapidly disappears from the circulation³². Thus molecular weights above a critical value (40,000) are favorable for evading renal filtration. Second, carrier polymers shouldn't allow strong interactions with or uptake by normal organs. This characteristic is typically seen for cationic and hydrophobic polymers³³. These requirements are effectively achieved in long-circulating liposome carrier systems as described below.

3. Pegylated liposomal doxorubicin (PLD)

Doxorubicin is the best known and most widely used member of the anthracycline antibiotic group of anticancer agents. It was first introduced in the 1970s and has since become one of the most commonly used drugs for treating both hematological and solid tumors. The therapy-limiting toxicity for this drug is cardiomyopathy, which may lead to congestive heart failure and death. Approximately 2% of patients who have received a cumulative (lifetime) doxorubicin dose of 450-500 mg/m² will experience this condition. An approach to ameliorating doxorubicin-related toxicity is to use drug carriers that change the pharmacological distribution of the drug, resulting in reduced drug levels in the heart. Examples of these carrier systems include lipid-based (liposome) formulations that improve doxorubicin biodistribution, with two formulations approved for clinical use. Preclinical (animal) and clinical (human) studies showing that liposomes can preferentially accumulate in tumors have provided a rationale for improved activity. Liposomes represent ideal drug delivery systems, as the microvasculature in tumors is typically discontinuous, with pore sizes (100-780 nm) large enough for liposomes to move from the blood compartment into the extravascular space surrounding the tumor cells³⁴. Liposomes ranging from 100-200 nm readily extravasate within the tumor growth site to provide locally concentrated drug delivery – a primary role of liposomal formulations. While other liposomal drugs have been prepared and characterized by their potential for liposomes to improve the antitumor potency of the encapsulated drug, the studies on liposomal doxorubicin have been developed primarily to address issues of acute and chronic toxicity resulting from this drug. It will be most interesting to observe how the approved formulations of liposomal doxorubicin are integrated into combination regimes for cancer treatment.

Polyethylene glycol (PEG)-coated liposomes (pegylated or stealth liposomes) are

stable, long-circulating drug carriers useful for delivering doxorubicin to solid tumor sites. Unlike conventional liposomes, pegylated liposomes are less extensively taken up by RES cells and have a reduced tendency to leak drug while in circulation. The pharmacokinetics of PEG liposome-encapsulated doxorubicin are characterized by an extremely long circulating half-life, slow plasma clearance, and a reduced volume of distribution when compared with conventional liposomal doxorubicin or free doxorubicin. Preclinical studies demonstrated one- or two-phase plasma concentration-time profiles. Most of the drug is cleared with an elimination half-life of 20-30 hours. The volume of distribution is close to the blood volume, and the area under the concentration-time curve (AUC) is sixty times greater than for free doxorubicin. Studies of tissue distribution indicated preferential accumulation in various implanted tumors and human tumor xenografts, with greater drug concentrations in the tumor than with free drug. Clinical studies of pegylated liposomal doxorubicin (PLD; Doxil[®]) in humans have included patients with AIDS-related Kaposi's sarcoma (ARKS) and with a variety of solid tumors, including ovarian, breast, and prostate carcinomas. The pharmacokinetic profile in humans at doses between 10 and 80 mg/m² is similar to that in animals, with one or two distribution phases: an initial phase with a half-life of 1-3 hours, and a second phase with a half-life of 30-90 hours. The AUC after a dose of 50 mg/m² is approximately 300-fold greater than that with free drug. Clearance and volume of distribution are drastically reduced (at least 250-fold and 60-fold, respectively). Preliminary observations indicate that using the distinct pharmacokinetic parameters of PLD in dose scheduling could be an attractive option³⁶. In agreement with the preclinical findings, the ability of pegylated liposomes to extravasate through the leaky vasculature of tumors, as well as their extended circulation time, results in enhanced delivery of liposomal drugs and radiotracers to the tumor site in cancer patients. There is evidence of selective tumor uptake in malignant effusions, ARKS skin lesions, and a variety of solid tumors. The toxicity profile of PLD is characterized by dose-limiting mucosal and cutaneous toxicities, mild myelosuppression, decreased cardiotoxicity versus free doxorubicin, and minimal alopecia. The mucocutaneous toxicities such as palmar-plantar erythrodysesthesia (PPE) and mucositis or stomatitis are dose-limiting toxicity (DLT) per injection; however, the reduced cardiotoxicity allows a larger cumulative dose than that acceptable for free doxorubicin. Therefore, the rationale for using PLD in solid tumors may be summarized thus: change in the toxicity profile

with less acute adverse effects (such as nausea and vomiting) and reduced incidence of alopecia; greater activity in highly angiogenic tumors (such as Kaposi's sarcoma); and effective treatment of tumors moderately sensitive to doxorubicin (such as breast and ovarian carcinomas), with possible increased tumor response due to enhanced drug accumulation. PLD also appeared to be less myelotoxic than doxorubicin. Typical forms of associated toxicity are acute infusion reaction, mucositis, and PPE, which occur especially at high doses or with short dosing intervals³⁷. PPE primarily affects the palms of the hands and the soles of the feet. Patients who develop PPE experience erythema and edema that can lead to blistering desquamation if the next dose is not delayed or reduced.

The current hypothesis for developing PPE is that the small size (100-nm diameter) and long circulation time of PLD ($t_{1/2}$ is approximately 48 h in humans) of PLD allow liposomes to accumulate in the skin. The basal layers of the skin are damaged with prolonged exposure to doxorubicin as the liposomes slowly release their contents. This hypothesis is further supported by the observation that Myocet (another liposome formulation of doxorubicin) doesn't produce PPE and has myelo-suppression as its dose-limiting toxicity. Myocet differs from Doxil in having a larger mean diameter (160 nm vs 100 nm), a shorter plasma $t_{1/2}$ (6.7 vs 45.2 h), and a larger volume of distribution (18.8 vs 4 liters)³⁸. Thus, PLD represents a new class of chemotherapy delivery system that may significantly improve the therapeutic index of doxorubicin.

4. Doxil/Caelyx versus Lipo-Dox

Actually, the first PLD on the market was Caelyx/Doxil (Schering-Plough, Madison, NJ, USA) used to treat AIDS-related Kaposi's sarcoma, resistant ovarian cancer, and metastatic breast cancer. The second was Lipo-Dox (TTY Biopharm Company, Ltd, Taiwan). Caelyx/Doxil consists of single lamellar vesicles with an approximate mean size of 100 nm. The lipid compositions are hydrogenated soybean phosphatidylcholine (HSPC), cholesterol (Cho), and PEG-DSPE in a molar ratio of 56:39:5³⁹. On the other hand, the lipid composition of Lipo-Dox is disearoyl phosphatidylcholine (DSPC), cholesterol (Cho), and PEG-DSPE in a molar ratio of 3.0:2.0:0.3⁴⁰. The formulation of Lipo-Dox is similar to Caelyx/Doxil in drug/phospholipids ratio, cholesterol content, percentage of PEG, and liposome particle size, except that

DSPC was used instead of HSPC (Table 1). The pharmacokinetic parameters of both PLD were compared and are shown in Table 2⁴⁰. Twenty-six patients with recurrent or metastatic solid tumors were studied with Lipo-Dox. A minimum of three patients were enrolled per dose level, except that the first nine patients were all entered at a dose of 30 mg/m² every three weeks. All patients receiving one or more courses of PLD were evaluated for toxicity. The initial concentration and the AUC were dose-dependent, but the $\beta_{1/2}$, Vss, and the clearance were dose-independent. Lipo-Dox had a smaller volume of distribution (Vss), a longer $\beta_{1/2}$, and a lower clearance rate than Doxil. These differences in pharmacokinetic properties increased the plasma AUC of Lipo-Dox. At the same dose level of 50 mg/m², its plasma AUC is approximately twice that of Doxil⁴⁰.

Compared with free drug, the change in pharmacokinetic properties accounted for the reduced side effects such as nausea, emesis, alopecia, and myelosuppression. PLD caused no (or only mild) nausea, vomiting, or alopecia.

In the phase II trial of Doxil in patients with metastatic breast cancer (MBC), both grades 3 and 4 neutropenia and stomatitis occurred in only 10% of cycles (27% and 32% of patients respectively)⁴¹. The incidence of grade 3/4 skin toxicity (PPE) at a dose of 60 mg/m² every three weeks occurred in 25% cycles (54% of patients) and was greatly reduced at doses of 45 mg/m² every four weeks, affecting only 5% of 126 treatment cycles (16% of patients). However, in the phase I Lipo-Dox study on a schedule of every three weeks⁴⁰ grade 3/4 leucopenia began to occur at 30 mg/m² and affected 30% of cycles at 45 mg/m² and 25% of cycles at 50 mg/m². Unfortunately, stomatitis became the new dose-limiting toxicity (DLT) of Lipo-Dox. Stomatitis was common at doses as low as 30 mg/m² and increased in severity and frequency with incremental dose increases. Stomatitis as the DLT stopped the dose escalation for Doxil at 80 mg/m² – much higher than the 50 mg/m² with Lipo-Dox⁴². Therefore, it was concluded that the dose-limiting toxicity shifted from neutropenia with conventional liposome doxorubicin (Myocet) to PPE with Doxil and to stomatitis with Lipo-Dox as the AUC increased⁴³. This comparison indicated that prolonging plasma stability of PLD such as Lipo-Dox may not be efficacious considering the increased stomatitis and the reduced achievable dose intensity.

Table 1 Characteristics of Doxil/Caelyx and Lipo-Dox

	Lipo-Dox	Doxil/Caelyx
Drug	Doxorubicin HCl	Doxorubicin HCl
Lipid composition	DSPC: Cho: DSPE-PEG2000	HSPC: Cho: DSPE-PEG2000
(Lipid ratio)	(3:2:0.3)	(56:39:5)
Liposome size	~100 nm	~100 nm
Liposome type	Small unilamellar vesicles (SUV)	Small unilamellar vesicles (SUV)
Half-life	69 hours	46 hours

Table 2 Comparison of pharmacokinetic parameters ⁽⁴⁰⁾

Parameters	Lipo-Dox (mg/m ²)			Doxil/Caelyx (mg/m ²)	
	30	40	50	25	50
Co (mg/L)	17	23.2	26.8	12.6	21.2
$\alpha_{1/2}$	6.2	6.8	5.4	3.2	1.4
$\beta_{1/2}$	59.3	70.9	69.3	45.2	45.9
AUC (mg.h/L)	1124	1786	2115	609	902
Residence time (h)	82.2	97.9	97.5	62.7	65.0
Clearance (L/h)	0.03	0.023	0.025	0.08	0.09
V_{ss} (L)	2.3	2.1	2.6	4.1	5.9

Co: initial concentration; AUC: area under the concentration curve; Vss: volume of

the distribution at steady state; $\alpha_{1/2}$: alpha half-life; $\beta_{1/2}$: beta half life.

Conclusion

Polyethylene glycol (PEG)-coated liposomes are stable, long-circulating drug carriers useful for delivering doxorubicin to the sites of solid tumors. Moreover, different lipid compositions have been formulated and affect pharmacokinetics, biodistribution, therapeutic activity, and toxicity. Higher plasma AUC may not always benefit patients who receive liposomal doxorubicin. A clinical trial is required to determine the best therapeutic

activity and toxicity of PEG-liposomal doxorubicin formulations.

References

1. Lasic DD. Novel applications of liposomes. *Trends Biotechnol* 1998;16: 307-21.
2. Hiemenz JW, Walsh TJ. Lipid formulations of amphotericin B: recent progress and future directions. *Clin Infect Dis* 1996 May; 22 Suppl 2: S133-44.

3. Batist G, Barton J, Chaikin P, Swenson C, et al. Myocet (liposome-encapsulated doxorubicin citrate): a new approach in breast cancer therapy. *Expert Opin Pharmacother* 2002; 3: 1739-51.
4. Food and Drug Administration. FDA approves DaunoXome as first-line therapy for Kaposi's sarcoma. *J Int Assoc Physicians AIDS Care* 1996; 2: 50-1.
5. Gabizon A, Papahadjopoulos D. Liposome formulations with prolonged circulation time in blood and enhanced uptake by tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 6949-53.
6. Oku N, Namba Y. Long-circulating liposomes. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst* 1994;11: 231-70.
7. Gabizon A, Chisin R, Amselem S, et al. Pharmacokinetic and imaging studies in patients receiving a formulation of liposome-associated adriamycin. *Br J cancer* 1991; 64: 1125-32.
8. Barenholz Y, Amselem S, Goren D, et al. Stability of liposomal doxorubicin formulations: problems and prospects. *Med Res Rev* 1993;13: 449-91.
9. Mayhew EG, Lasic D, Babbar S, et al. Pharmacokinetics and antitumor activity of epirubicin encapsulated in long-circulating liposomes incorporating a polyethylene glycol-derivatized phospholipid. *Int J Cancer* 1992;51:302-9.
10. Vaage J, Mayhew E, Lasic D, et al. Therapy of primary and metastatic mouse mammary carcinomas with doxorubicin encapsulated in long circulating liposomes. *Int J Cancer* 1992; 51: 942-8.
11. Jain RK. Delivery of molecular and cellular medicine to solid tumors. *Adv Drug Deliv Rev* 1997; 26: 71-90.
12. Oku N. Anticancer therapy using glucuronate modified long-circulating liposomes. *Adv Drug Deliv Rev* 1999; Nov 10; 40(1-2): 63-73.
13. Senior JH. Fate and behavior of liposomes in vivo: a review of controlling factors. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst* 1987; 3: 123-93.
14. Allen TM, Chonn A. Large unilamellar liposomes with low uptake into the reticuloendothelial system. *FEBS Lett* 1987; 223: 426.
15. Allen TM, Hansen C, Rutledge J. Liposomes with prolonged circulation times: factors affecting uptake by reticuloendothelial and other tissues. *Biochim Biophys Acta* 1989; 981: 27-35.
16. Liu D, Mori A, Huang L. Role of liposome size and RES blockade in controlling biodistribution and tumor uptake of GM1-containing liposomes. *Biochim Biophys Acta* 1992;1104: 95-101.
17. Hitoshi Yamauchi, Toshiro Yano, Takashi Kato, et al. Effects of sialic acid derivative on long circulation time and tumor concentration of liposomes. *Int J Pharm* 1995; 113: 141-8.
18. Tilcock C, Ahkong QF, Fisher D. Polymer-derivatized technetium 99mTc-labeled liposomal blood pool agents for nuclear medicine applications. *Biochim Biophys Acta* 1993;1148: 77-84.
19. Oku N, Namba Y, Okada S. Tumor accumulation of novel RES-avoiding liposomes. *Biochim Biophys Acta* 1992;1126: 255-60.
20. Namba Y, Oku N, Ito F, et al. Liposomal modification with uronate, which endows liposomes with long circulation in vivo, reduces the uptake of liposomes by J774 cells in vitro. *Life Sci* 1992;50: 1773-9.
21. Blume G, Cevc G. Liposomes for the sustained drug release in vivo. *Biochim Biophys Acta* 1990; 1029: 91-7.
22. Klivanov AL, Maruyama K, Torchilin VP, et al. Amphipathic polyethyleneglycols effectively prolong the circulation time of liposomes. *FEBS Lett* 1990; 268: 235-7.
23. Allen TM, Hansen C, Martin F, et al. Liposomes containing synthetic lipid derivatives of poly(ethylene glycol) show prolonged circulation half-lives in vivo. *Biochim Biophys Acta* 1991;1066:29-36.
24. Moribe K, Maruyama K, Iwatsuru M. Estimation of surface state of poly(ethylene glycol)-coated liposomes using an aqueous two-phase partitioning technique. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 1997; 45: 1683-7.
25. Ishiwata H, Sato SB, Kobayashi S, et al. Poly(ethylene glycol) derivative of cholesterol reduces binding step of liposome uptake by murine macrophage-like cell line J774 and human hepatoma cell line HepG2. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 1998; 46: 1907-13.
26. Blume G, Cevc G. Molecular mechanism of the lipid vesicle longevity in vivo. *Biochim Biophys Acta* 1993;1146: 157-68.
27. Allen TM, Chonn A. Large unilamellar liposomes with low uptake into the reticuloendothelial system. *FEBS Lett* 1987; 223: 42-6.
28. Matsumura Y, Maeda H. A new concept for macromolecular therapeutics in cancer chemotherapy: mechanism of tumorotropic accumulation of proteins and the antitumor agent smancs. *Cancer Res* 1986; 46: 6387-92.
29. Maeda H. The enhanced permeability and retention (EPR) effect in tumor vasculature: the key role of tumor-selective macromolecular drug targeting. *Adv Enzyme Regul* 2001;41: 189-207.

30. Maeda H, Fang J, Inutsuka T, et al. Vascular permeability enhancement in solid tumor: various factors, mechanisms involved and its implications. *Int Immunopharmacol* 2003; 3: 319-28.
31. Litzinger DC, Buiting AM, van Rooijen N, et al. Effect of liposome size on the circulation time and intraorgan distribution of amphipathic polyethylene glycol-containing liposomes. *Biochim Biophys Acta* 1994; 1190: 99-107.
32. Schlepper-Schafer J, Hulsmann D, Djovkar A, et al. Endocytosis via galactose receptors in vivo. Ligand size directs uptake by hepatocytes and/or liver macrophages. *Exp Cell Res* 1986; 165: 494-506.
33. Takakura Y, Hashida M. Macro-molecular carrier systems for targeted drug delivery: pharmacokinetic considerations on biodistribution. *Pharm Res* 1996;13: 820-31.
34. Hobbs SK, Monsky WL, Yuan F, et al. Regulation of transport pathways in tumor vessels: role of tumor type and micro-environment. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95: 4607-12.
35. Forssen EA, Tokes ZA. In vitro and in vivo studies with adriamycin liposomes. *Biochem Biophys Res Commun* 1979; 91:1295-301.
36. Gabizon A, Shmeeda H, Barenholz Y. Pharmacokinetics of pegylated liposomal Doxorubicin: review of animal and human studies. *Clin Pharmacokinet* 2003; 42: 419-36.
37. Gabizon A, Martin F. Polyethylene glycol-coated (pegylated) liposomal doxorubicin. Rationale for use in solid tumours. *Drugs* 1997; 54 Suppl 4: 15-21.
38. Lotem M, Hubert A, Lyass O, et al. Skin toxic effects of polyethylene glycol-coated liposomal doxorubicin. *Arch Dermatol* 2000;136: 1475-80.
39. Gabizon AA, Barenholz Y, Bialer M. Prolongation of the circulation time of doxorubicin encapsulated in liposomes containing a polyethylene glycol-derivatized phospholipid: pharmacokinetic studies in rodents and dogs. *Pharm Res* 1993;10: 703-8.
40. Hong RL, Tseng YL. Phase I and pharmacokinetic study of a stable, polyethylene-glycolated liposomal doxorubicin in patients with solid tumors: the relation between pharmacokinetic property and toxicity. *Cancer* 2001; 91:1826-33.
41. Ranson MR, Carmichael J, O'Byrne K, et al. Treatment of advanced breast cancer with sterically stabilized liposomal doxorubicin: results of a multicenter phase II trial. *J Clin Oncol* 1997; 15: 3185-91.
42. Chao TC, Wang WS, Yen CC, et al. A dose-escalating pilot study of sterically stabilized, pegylated liposomal doxorubicin (Lipo-Dox) in patients with metastatic breast cancer. *Cancer Invest* 2003; 21:837-47.

REVIEWS

Pharmacology of the Fluoroquinolones: the Update

Uraiwan Ketsawatsakul Panich and Weerathep Chattanachotikul

Department of Pharmacology, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University

Abstract

At present, fluoroquinolones are extensively and widely used in the treatment of several infectious diseases. Over the past few years, they have been developed to have greater pharmacological properties including potency and pharmacokinetic. New fluoroquinolones yield an expanded antimicrobial activity against gram-positive, gram-negative, atypical and anaerobic organisms, thereby serving as a broad-spectrum therapy for patients with a variety of infections, particularly, those of respiratory tract. Moreover, improved pharmacokinetic properties including good oral bioavailability and long half-life provide better patient compliance. However, problems of drug safety and potential resistance could occur due to widespread uses of new fluoroquinolones with lack of enough caution and understanding. For instance, there are greater incidences of their adverse effects (such as cardiac arrhythmia due to prolonged QT interval and phototoxicity) in clinical uses. Moreover, an increase in prevalence of antimicrobial resistance has also been reported when using fluoroquinolones to treat some infections, particularly, sexually transmitted infections. Therefore, it is important to understand the pharmacology of new fluoroquinolones developed in order to provide an appropriate therapeutic approach with effectiveness and safety to patients.

Key words: fluoroquinolones, antimicrobial activity, pharmacokinetic, adverse effect

Address correspondence and reprints: Uraiwan Ketsawatsakul, MD, PhD, Department of Pharmacology, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University, Bangkok 10400, Thailand.

Pharmacology of the Fluoroquinolones: the Update

ดร.พญ. อุไรวรรณ เกศสวัสดิ์สกุล พานิช, นพ. วีระเทพ นัตรชนโชติกุล

ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล

บทคัดย่อ

ในปัจจุบัน fluoroquinolones เป็นยาต้านจุลชีพกลุ่มหนึ่งที่มีการใช้อย่างแพร่หลาย ในการรักษาโรคติดเชื้อ เนื่องจากไม่กี่ปีที่ผ่านมา มีการพัฒนา fluoroquinolones ขนานใหม่ๆ ที่มีคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาดีขึ้นรวมทั้งฤทธิ์ต้านจุลชีพและเภสัชจลนศาสตร์ Fluoroquinolones ขนานใหม่มีวงฤทธิ์กว้างขึ้นในการกำจัด gram-positive, gram-negative, atypical และ anaerobic organisms ในการรักษาโรคติดเชื้อระบบต่างๆ โดยเฉพาะมีประสิทธิภาพสูงขึ้นในการรักษาโรคติดเชื้อของระบบทางเดินหายใจ ส่วนการพัฒนาด้านเภสัชจลนศาสตร์ทำให้ยาคูดซึมทางระบบทางเดินอาหารได้ดีขึ้นและค่าครึ่งชีวิตนานขึ้น ทำให้มีความสะดวกต่อการบริหารยา อย่างไรก็ตาม การใช้ fluoroquinolones ขนานใหม่อย่างแพร่หลายโดยขาดความระมัดระวังและความเข้าใจในการใช้ยา อาจก่อให้เกิดปัญหาตามมา โดยเฉพาะปัญหาทางด้านความปลอดภัยและการดื้อยา พบว่ามีรายงานเพิ่มขึ้นเกี่ยวกับอาการไม่พึงประสงค์จากยาคืออาการใหม่ เช่น การเต้นของหัวใจผิดปกติที่เกิดจาก prolonged QT interval และพิษจากแสง (phototoxicity) เป็นต้น นอกจากนั้นยังพบอุบัติการณ์การดื้อยาสูงขึ้นเมื่อใช้ fluoroquinolones อย่างกว้างขวาง ในการรักษาโรคติดเชื้อบางชนิด โดยเฉพาะกลุ่มโรคติดเชื้อทางเพศสัมพันธ์ ดังนั้น จึงมีความสำคัญในการติดตามและเข้าใจความรู้ใหม่ๆ ทางด้านเภสัชวิทยาของยาในกลุ่มนี้ เพื่อการใช้ยาในการดูแลรักษาผู้ป่วยอย่างมีประสิทธิภาพและปลอดภัย

คำสำคัญ: fluoroquinolones, ฤทธิ์ต้านจุลชีพ, เภสัชจลนศาสตร์, อาการไม่พึงประสงค์

บทนำ (Introduction)

Quinolones เป็นยาต้านจุลชีพที่ได้มาจากการสังเคราะห์ทางเคมี Nalidixic acid เป็นยาขนานแรกในกลุ่มนี้ ซึ่งใช้สำหรับรักษาโรคติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะที่เกิดจากแบคทีเรียแกรมลบ แต่เนื่องจากยานี้ทำให้เกิดอาการไม่พึงประสงค์ค่อนข้างมาก และมีอุบัติการณ์การดื้อยาสูง จึงมีการพัฒนาและผลิต fluoroquinolones รุ่นใหม่หลายรุ่น¹ (ตารางที่ 1) จากการเปลี่ยนแปลงสูตรโครงสร้างของ quinolones ทำให้ยารุ่นใหม่มีคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาดีขึ้น เช่น ฤทธิ์ต้านจุลชีพ (antimicrobial activity) และเภสัชจลนศาสตร์ (pharmacokinetics) การพัฒนาฤทธิ์ต้านจุลชีพทำให้ยารุ่นใหม่มีฤทธิ์ครอบคลุมจุลชีพกว้างกว่า จึงสามารถใช้ในการรักษา systemic infection ได้ ตัวอย่างของ fluoroquinolones รุ่นใหม่ ได้แก่ levofloxacin, moxifloxacin และ gatifloxacin ซึ่งเรียกว่าเป็น “respiratory quinolones” เนื่องจากครอบคลุมเชื้อแกรมบวกได้ดีกว่ายารุ่นเก่า

Respiratory quinolones สามารถกำจัด *Streptococcus pneumoniae* ที่ดื้อยาและเป็นสาเหตุของ pneumococcal diseases โดยเฉพาะ community-

acquired pneumonia (CAP) ที่รุนแรงซึ่งมีอุบัติการณ์สูงขึ้นในปัจจุบัน² การพัฒนาทาง pharmacokinetics ทำให้ยามีครึ่งชีวิตนานขึ้น, ถูกดูดซึมทางระบบอาหารดีขึ้นและมีการกระจายยาในร่างกายดีขึ้น ทำให้มีข้อบ่งใช้ในการรักษา systemic infection และ respiratory infection ได้ โดยที่ยารุ่นเก่าจำกัดการใช้เพียงใน urinary tract infection อย่างไรก็ตามมีรายงานว่า โครงสร้างของ fluoroquinolones มีความสัมพันธ์กับอาการไม่พึงประสงค์ และพบว่ายารุ่นใหม่ (โดยเฉพาะ sparfloxacin และ trovafloxacin) ทำให้เกิดอาการไม่พึงประสงค์ที่เป็นอันตราย^{3,4} เช่น การเต้นของหัวใจผิดปกติที่เกิดจาก prolonged QT interval, พิษจากแสง (phototoxicity), ความผิดปกติที่กระดูกและข้อ (เช่น arthralgia และ tendonitis) และความผิดปกติของ metabolic system ดังนั้นจึงมีความสำคัญในการติดตามข้อมูลและความรู้ใหม่ๆ ของยาในกลุ่มนี้เพื่อที่ผู้ป่วยจะได้รับการรักษาอย่างมีประสิทธิภาพและปลอดภัย

ตารางที่ 1 Generations and formulation of fluoroquinolones⁵

First	Second	Third	Fourth
Nalidixic acid (oral)	Norfloxacin (oral) Pefloxacin (oral, IV) Enoxacin (oral) Ofloxacin (oral, IV) Ciprofloxacin (oral, IV) Lomefloxacin (oral)	Sparfloxacin* (oral) Levofloxacin (oral, IV)	Trovafloxacin* (oral, IV) Gatifloxacin (oral, IV) Moxifloxacin (oral) Gemifloxacin (oral, IV)

- ยาที่มีข้อจำกัดในการใช้หรือถูกถอนจากท้องตลาดใน USA เนื่องจากอาการไม่พึงประสงค์

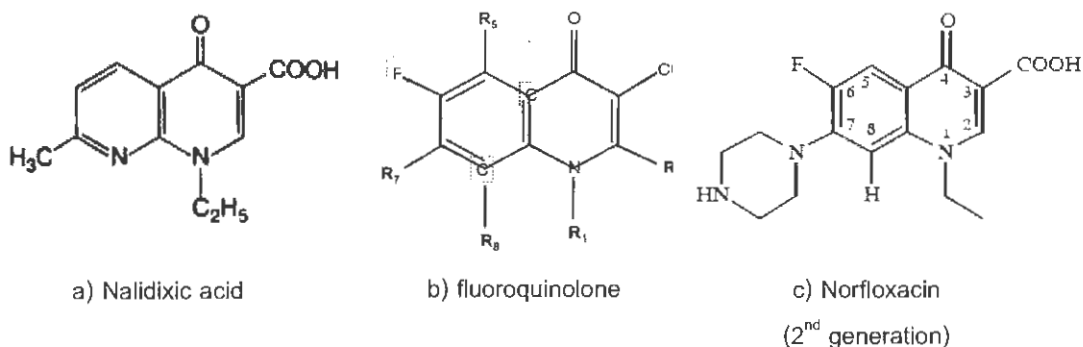
โครงสร้างทางเคมี (Chemical structure)

Nalidixic acid เป็น quinolone ขนานแรก มีโครงสร้างทางเคมีพื้นฐานที่ประกอบด้วย naphthayridone nucleus และเป็นสารต้นแบบในการ

สังเคราะห์ fluoroquinolones รุ่นใหม่¹ (รูปที่ 1a) เริ่มจากปี 1980's มีการพัฒนา norfloxacin จาก nalidixic acid ซึ่งเป็น fluoroquinolone ขนานแรกโดยมี fluorine atom จับกับ Carbon atom ที่ตำแหน่งที่ 6 (รูปที่ 1b) และจัดอยู่ในกลุ่มของ fluoroquinolones⁵

รุ่นที่ 2 (รูปที่ 1c) การพัฒนา fluoroquinolones รุ่นใหม่ขึ้นอยู่กับเปลี่ยนแปลงสูตรโครงสร้าง ทำให้มีคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาดีขึ้น ได้แก่ฤทธิ์ต้านจุล-

ชีพ, เกษังจนศาสตร์และฤทธิ์ด้านการดื้อยาของแบคทีเรีย⁴⁻⁷



รูปที่ 1 สูตรโครงสร้างของ nalidixic acid (a), สูตรโครงสร้างพื้นฐานของ fluoroquinolones (b) และสูตรโครงสร้างของ norfloxacin ซึ่งเป็น quinolone ขนานแรกในรุ่นที่ 2 (c)

ฤทธิ์ต้านจุลชีพ⁷⁻⁹: เช่น การเติม fluorine atom โดยจับกับ carbon atom ที่ตำแหน่งที่ 6 (C-6) ทำให้มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมลบได้แรงขึ้นเนื่องจากเพิ่มฤทธิ์ยับยั้ง gyrase enzyme และขาดั้งแต่รุ่น 2 ขึ้นไปครอบคลุมแบคทีเรียแกรมบวกบางชนิดได้ โดยมีการเติม piperazine ring ที่ C-7 ทำให้มีฤทธิ์ต้าน *P. aeruginosa* เพิ่มขึ้น (เช่น ciprofloxacin)

เภสัชจลนศาสตร์¹: การเติม methyl group ที่ piperazine ring ที่จับกับ C-7 มีผลต่อ pharmacokinetics ของยารุ่นใหม่บางชนิด (เช่น sparfloxacin) ทำให้มีค่าครึ่งชีวิตนานขึ้น และ bioavailability ดีขึ้นจึงมีระดับความเข้มข้นในเลือดสูงพอในการรักษา systemic infection และสามารถบริหารยาได้วันละครั้ง อย่างไรก็ตามพบว่า sparfloxacin⁴ ทำให้เกิดอาการไม่พึงประสงค์ที่เป็นอันตราย (ที่พบบ่อยคือ phototoxicity)

ฤทธิ์ด้านการดื้อยา: การเติม methoxy group ที่ C-8 ใน moxifloxacin¹⁰ และ gatifloxacin¹¹ ทำให้เพิ่มฤทธิ์ต้าน pneumococcal bacteria ที่ดื้อต่อ beta-lactams และ macrolides

กลไกการออกฤทธิ์ (Mechanisms of action)

Fluoroquinolones มีฤทธิ์กำจัดแบคทีเรียแบบ bactericidal โดยยับยั้งการสังเคราะห์ DNA โดยออกฤทธิ์ที่ subunit A ของ DNA-gyrase (topoisomerase II) และ topoisomerase IV (Topo IV) ซึ่งเอนไซม์ ทั้ง 2 ชนิดมีความสำคัญต่อการดำรงชีวิตของแบคทีเรีย โดยทำหน้าที่ในการสังเคราะห์และซ่อมแซม DNA (DNA replication และ repair) หน้าที่สำคัญของ DNA gyrase ในกระบวนการสังเคราะห์ DNA คือ^{12,13} การควบคุมให้ chromosome ของแบคทีเรียคงอยู่ในสภาพ negative supercoiling ภายใน DNA สายคู่ (double-stranded DNA) เพื่อให้ chromosome นั้นมีขนาดเล็กพอที่จะบรรจุภายในเซลล์ได้ การตัดและต่อ (catenation หรือ decatenation) DNA ของแบคทีเรียซึ่งมีลักษณะเป็นวงกลม 2 วงซ้อนพันกัน (two duplex DNA circles) กลไกในการยับยั้งการสังเคราะห์ DNA ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด อย่างไรก็ตามพบว่า fluoroquinolones ทำปฏิกิริยากับ DNA gyrase และ topoisomerase IV ได้เป็น topoisomerase-cleaved DNA complexes (cleavage complex) ซึ่งเป็น cleavage complex ที่เป็นสาเหตุสำคัญทำให้ DNA เสียรูปร่างและแยกออกจากกัน DNA จึงไม่สามารถอยู่ในสภาพ negative super-

coiling และทำให้กระบวนการสังเคราะห์ DNA ผิดปกติ^{12,13}

การดื้อยา (Fluoroquinolone resistance)

จากการศึกษาพบว่า fluoroquinolones ที่มีตำแหน่งออกฤทธิ์ที่ DNA gyrase เป็นหลักจะมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมลบได้ดี ส่วนยาที่มีตำแหน่งออกฤทธิ์ที่ Topo IV เป็นหลักจะมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียชนิดแกรมบวกได้ดี

สาเหตุสำคัญที่ทำให้แบคทีเรียดื้อต่อยากลุ่มนี้ เกิดจากการมี mutation ที่ DNA gyrase (มีผลต่อการดื้อยาของแบคทีเรียแกรมลบ เช่น *E. coli*) หรือ Topo IV (มีผลต่อการดื้อยาของแบคทีเรีย แกรมบวก เช่น *S. aureus*)^{13,14} จึงมีการพัฒนายารุ่นใหม่ที่มีออกฤทธิ์ได้ทั้งที่ DNA gyrase และ Topo IV เพื่อแก้ปัญหาการดื้อยาและเพิ่มวงฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย^{12,13} ส่วนสาเหตุการดื้อยาอื่นๆได้ การเปลี่ยนแปลงที่ cell membrane โดยเฉพาะการเปลี่ยนแปลงของ porins และการสร้าง efflux pump หรือ multidrug resistance pump มีผลให้ปริมาณยาในแบคทีเรียน้อยลง^{15,16}

วงฤทธิ์ต้านจุลชีพ (Antimicrobial activity)

ในปี 1980s มีการพัฒนา ciprofloxacin ที่มีประสิทธิภาพสูงในการต้าน *P. aeruginosa* ต่อมา มีการพัฒนา fluoroquinolones ให้มีฤทธิ์ครอบคลุมแบคทีเรียแกรมบวก (เช่น *S. pneumoniae*) ได้มีการแบ่งรุ่นของ fluoroquinolones ตามลำดับของการพัฒนาและตามวงฤทธิ์ต้านจุลชีพ^{5-9,18-22} ซึ่งยาแต่ละรุ่นมีวงฤทธิ์ที่แตกต่างกันดังนี้ (ตารางที่ 2)

รุ่นที่ 1: Nalidixic acid ไม่เป็นที่นิยมใช้ในปัจจุบันเนื่องจากมีฤทธิ์ปานกลางในการต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมลบนอกจากนั้นยากระจายไปสู่ส่วนต่างๆของร่างกายได้น้อยมากจึงให้ประสิทธิภาพไม่ดีในการรักษา systemic infection^{5,6}

รุ่นที่ 2: มีวงฤทธิ์ครอบคลุมแบคทีเรียแกรมลบมากขึ้น (โดยเฉพาะ aerobic gram-negative bacilli) มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมบวกได้บ้าง (โดยเฉพาะ *S. pneumoniae*) แต่ก็ยังมีฤทธิ์จำกัด ciprofloxacin ได้รับการยอมรับว่าเป็นยาในกลุ่ม

fluoroquinolone ที่ให้ประสิทธิภาพดีที่สุดในการต้าน *P. aeruginosa*^{5,8}

รุ่นที่ 3: มีวงฤทธิ์กว้างขึ้นในการต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมลบที่รุนแรง เช่น แบคทีเรียที่มี atypical activity แต่ยังมีฤทธิ์จำกัดในการต้าน extended spectrum betalactamases/ESBL-producing gram negative bacteria ที่พบใน *E. coli* และ *K. pneumoniae* ชนิดรุนแรง¹⁷ นอกจากนี้ยารุ่นนี้มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมบวกเพิ่มขึ้น เช่น sparfloxacin มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมบวกได้ดี แต่มีข้อห้ามใช้ในปัจจุบันเนื่องจากทำให้เกิดอาการไม่พึงประสงค์ (phototoxicity และ QT prolongation ที่เป็นอันตรายถึงชีวิต)

รุ่นที่ 4: มีฤทธิ์ครอบคลุมแบคทีเรียแกรมบวกดีขึ้น (โดยเฉพาะ pneumococci) และสามารถต้าน anaerobic bacteria ได้¹⁷ ส่วนฤทธิ์ครอบคลุมแบคทีเรียแกรมลบ ใกล้เคียงกับยารุ่นที่ 3 อย่างไรก็ตามยาบางชนิดในรุ่นนี้ทำให้เกิดอาการไม่พึงประสงค์ที่เป็นอันตราย จึงมีการถอนยาบางชนิด ในรุ่นนี้ออกจากตลาด เช่น trovafloxacin ที่มีฤทธิ์ต้าน anaerobic bacteria ได้ดีและมีประสิทธิภาพสูงในการรักษา anaerobic infections แต่ทำให้เกิดพิษต่อตับและระบบประสาท (hepatotoxicity และ neurotoxicity)^{3,4} Levofloxacin (ยารุ่นที่ 3) และยาในรุ่นที่ 4 (moxifloxacin, gatifloxacin และ gemifloxacin) มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมบวก (เช่น penicillin-resistant *S. pneumoniae*, *S. aureus* และ enterococcus strains) ได้ดีกว่ายาในรุ่นอื่น^{11,14} นอกจากนั้นยังมีฤทธิ์ต้าน intracellular pathogens ได้ดี โดยเฉพาะ Chlamydia pneumoniae, Mycoplasma pneumoniae และ Legionella pneumophila¹⁸ รวมทั้ง Mycobacterium tuberculosis Fluoroquinolones ดังกล่าวจึงได้รับการพิจารณาว่าเป็น 2nd-line antituberculous agents และมีข้อบ่งใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อจาก *M. tuberculosis* ที่ดื้อต่อ 1st-line agents เท่านั้น อย่างไรก็ตามข้อด้อยของยารุ่นใหม่คือมีฤทธิ์ต้าน *P. aeruginosa* ต่ำกว่า ciprofloxacin⁸

Gemifloxacin (ยา รุ่นที่ 4) ให้ฤทธิ์ต้าน *S. pneumoniae* ที่ดีต่อ penicillins และ macrolides ดีกว่ายา รุ่นอื่น และมีประสิทธิภาพสูงในการต้าน แบคทีเรียแกรมลบ และ atypical respiratory

pathogens เช่น *C. pneumoniae*, *M. pneumoniae* และ *L. pneumophila* ที่ก่อให้เกิดโรคติดเชื้อของ ระบบทางเดินหายใจ¹⁹

ตารางที่ 2 Antibacterial activities of quinolones^{5,8,18-22}

Generation		Gram-negative	Gram-positive	Mycoplasma Chlamydia Legionella	Anaerobes	Mycobacteria
First	Nalidixic acid	++	-	-	-	-
Second	Ofloxacin	+++	++	++	-	++
	Ciprofloxacin	++++	++			++
	Lomefloxacin	+++	+			-
Third	Sparfloxacin	+++	+++	+++	-	+++
	Levofloxacin					
Fourth	Gatifloxacin	+++	+++	++++	+	++
	Moxifloxacin		++++		++	++++
	Gemifloxacin		++++		++	++

+ = mild, ++ = moderate, +++ = high, ++++ = very high

เภสัชพลศาสตร์ (pharmacodynamics)

ฤทธิ์ต้านจุลชีพของ fluoroquinolones แปรผันโดยตรงกับความเข้มข้นของยา (concentration-dependent) และยังคงมีฤทธิ์อยู่ภายหลังยา ถูกขับออกจากร่างกายและไม่สามารถตรวจพบยา เหลืออยู่ในร่างกาย (postantibiotic effect/PAE หรือ persistent effect) โดยทั่วไป fluoroquinolones มี PAE ประมาณ 0.5-5 ชั่วโมง ขึ้นอยู่กับชนิดของยา, (pathogens), ปริมาณยาในเลือด และระยะเวลาที่ ร่างกายได้รับยา^{20,23} 24-hour AUC/MIC ratio (AUC = area under curve และ MIC = minimum inhibitory concentration) หรือ the area under the inhibitory curve (AUIC) เป็นค่าที่พิจารณาจากความสัมพันธ์ ระหว่างความเข้มข้นของยาในกระแสเลือด (pharmacokinetics)

และฤทธิ์ต้านจุลชีพของ fluoroquinolones (pharmacodynamics) เป็นค่า (parameter) ที่ให้ความแม่นยำ มากที่สุดในการบ่งชี้ถึงประสิทธิภาพของยาและ อุบัติการณ์การดื้อยาของการใช้ fluoroquinolones ใน ผู้ป่วย เนื่องจากพบว่าค่า AUIC แปรผกผันกับ อุบัติการณ์ของการดื้อยา โดยพบว่า ค่า AUIC ที่สูงจะ ให้อุบัติการณ์การดื้อยาลด²⁴ มีรายงานพบว่า fluoroquinolones ที่ให้ประสิทธิผลสูง (high efficacy) ในการต้าน gramnegative bacilli และ grampositive pneumococci และให้อุบัติการณ์การดื้อ ยาลด ควรมี 24-hour AUC/MIC ratios > 100 และ > 30 ตามลำดับ⁸ ยา รุ่นใหม่ เช่น moxifloxacin และ gemifloxacin สามารถให้ค่าดังกล่าวในการกำจัด แบคทีเรีย (เช่น *S. pneumoniae* และ *L. pneumophila*)²⁵

ตารางที่ 3 Pharmacokinetic parameters of common fluoroquinolones^{8,26-32}

Fluoro-quinolones	Serum peak (µg/ml)	AUC ₂₄ (µg.h/ml)	HL. (h)	Renal excretion (%unchange)	Protein binding (%)	Bio-availability (%)
Norfloxacin	0.8 (200 mg) 1.5 (400 mg)	5.4 (400 mg)	3.5-5	26-40	15	30-40
Enoxacin	0.8 (200 mg) 2 (400 mg)	16 (400 mg)	3-6	40-60	40-60	90
Ofloxacin	1.5 (200 mg) 2.4 (300 mg) 2.9 (400 mg)	14.1 (200 mg) 21.2 (300 mg) 31.4 (400 mg)	5-7	70-95	25-40	90-98
Ciprofloxacin	1.2 (250 mg) 2.4 (500 mg) 4.3 (750 mg) 5.4 (1 g)	4.8 (250 mg) 11.6 (500 mg) 20.2 (750 mg) 30 (1 g)	3-5	30-40	20-40	70-85
Lomefloxacin	1.4 (200 mg) 3.2 (400 mg)	10.9 (200 mg) 26.1 (400 mg)	8	60-80	10	95-98
Levofloxacin	2.8 (250 mg) 5.1 (500 mg)	27.2 (250 mg) 47.9 (500 mg)	5-7	79-87	47-50	99
Gatifloxacin	2.4 (200 mg) 4.2 (400 mg)	16.8 (200 mg) 35 (400 mg)	7-8	72	20	96-98
Moxifloxacin	3-4.5 (400 mg)	48	9-12	20	45-50	86-92
Gemifloxacin	1.5 (320 mg)	9.3	6-8	20-40	60-70	70

เภสัชจลนศาสตร์ (pharmacokinetics)

รวบรวมสรุปไว้ในตารางที่ 3

การดูดซึม (absorption)

ยาถูกดูดซึมในทางเดินอาหารได้ดี แต่ต่างกันเล็กน้อยแตกต่างกันตามชนิดของยา Norfloxacin ถูกดูดซึมในทางเดินอาหารได้น้อยที่สุด (ประมาณ ร้อยละ 30-40) ในขณะที่ ofloxacin และ fluoroquinolones รุ่นใหม่ เช่น levofloxacin และ gatifloxacin ถูกดูดซึมได้มากกว่าร้อยละ 90 (norfloxacin < ofloxacin < levofloxacin)²⁶ อาหารไม่ขัดขวางการดูดซึมของ fluoroquinolones ส่วนใหญ่ แต่ fluoroquinolones ทำปฏิกิริยากับ cations เช่น แคลเซียม แมกนีเซียม อลูมิเนียม เหล็กและสังกะสี เป็น cation-quinolone complex ซึ่งสามารถขัดขวางการดูดซึมของยาได้ จึงไม่ควรรับประทานอาหารหรือยาที่มีส่วนผสมของ cations ดังกล่าว หรือควรเว้นระยะเวลาห่างกันอย่างน้อย 4 ชม.²⁶

การกระจายยา (distribution)

ยาในกลุ่มนี้จับกับโปรตีน (protein binding) ในเลือดค่าน้อยแตกต่างกันในช่วงประมาณร้อยละ 10-70 norfloxacin, lomefloxacin และ gatifloxacin จับกับโปรตีนได้ค่อนข้างน้อย และ gemifloxacin จับกับโปรตีนได้มากกว่ายาชนิดอื่น^{23,27} Fluoroquinolones ส่วนใหญ่ ยกเว้น norfloxacin กระจายไปส่วนต่างๆของร่างกายได้ดี (high volumes of distribution) พบว่า norfloxacin ให้ระดับยาในเลือดสูงไม่เพียงพอในการรักษา systemic infection จึงมีข้อบ่งใช้ในการรักษา urinary tract infection (UTI), gastrointestinal tract infection และ sexually transmitted diseases เท่านั้น²⁶ ส่วนยาดังแต่รุ่นของ ciprofloxacin เป็นต้นมา มีการกระจายไปสู่ส่วนต่างๆของร่างกายและมีการสะสมในเซลล์เม็ดเลือดขาวได้ดีมาก²⁸ พบการกระจายยาดีในเลือด, น้ำดี, ระบบทางเดินหายใจ, ระบบทางเดินปัสสาวะและต่อมลูกหมาก และระบบทางเดินอาหาร ดังนั้นยารุ่นใหม่

จึงให้ รับประทานเข้มข้นสูงพอในการรักษาโรคติดเชื้อที่นอกเหนือจากระบบทางเดินปัสสาวะได้²⁹

นอกจากนั้น levofloxacin, moxifloxacin และ gatifloxacin เข้าสู่ cornea และ aqueous fluid ของตาได้ดี จึงมีที่ใช้เป็นยาเฉพาะที่ในการรักษา conjunctivitis³⁰ อย่างไรก็ตาม fluoroquinolones ส่วนใหญ่ผ่านเข้า cerebrospinal fluid (CSF) ได้ไม่ดีจึงไม่ควรใช้ยาในกลุ่มนี้ในการรักษา meningitis ยกเว้น ciprofloxacin และ ofloxacin สามารถผ่านเข้า CSF ได้ และจะเข้าได้ดีขึ้นถ้ามีการอักเสบของเยื่อหุ้มสมอง³¹

การกำจัดยา (elimination)

การกำจัดยาเกิดขึ้นได้ทั้งที่ไตและตับ ยาส่วนใหญ่ผ่านทางไตในรูปเดิมโดยกรองผ่านทางกรวยไต (glomerular filtration) และขับออกทางท่อไต (tubular secretion) แต่ fluoroquinolones บางชนิดจะถูกเปลี่ยนแปลงที่ตับก่อนแล้วจึงถูกขับออกในปัสสาวะ ดังนั้นควรปรับขนาดยาในผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของไตและตับ เพื่อหลีกเลี่ยงความเป็น

พิษของยา³² Ofloxacin, levofloxacin, lomefloxacin และ gatifloxacin ถูกกำจัดออกทางไตเป็นส่วนใหญ่ (>70%) ส่วน nalidixic acid, pefloxacin, sparfloxacin, moxifloxacin และ trovafloxacin ถูกกำจัดโดยตับเป็นส่วนใหญ่ (>35%)^{21,22} Fluoroquinolones มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อ (bactericidal) แตกต่างกันประมาณ 1.5 ถึง 16 ชั่วโมง^{31,33} (ตารางที่ 3) ดังนั้นจึงควรให้ยาทุกๆ 12 หรือ 24 ชั่วโมง ยาในรุ่นที่ 2 (เช่น norfloxacin, ofloxacin และ ciprofloxacin) มีค่าครึ่งชีวิตสั้นกว่ายาในรุ่นที่ 3 และ 4 (เช่น levofloxacin, gatifloxacin, moxifloxacin และ gemifloxacin) จึงบริหารยาวันละ 1 ครั้งได้²⁰

FDA approved indications³³⁻⁴²

คณะกรรมการอาหารและยา (Food and Drug Administration: FDA) ได้มีการกำหนดข้อบ่งใช้ในการรักษาของยาในกลุ่ม fluoroquinolones แต่ละขนานไว้ดังที่แสดงในตารางที่ 4 ดังนี้

ตารางที่ 4 ข้อบ่งใช้ในการรักษาของยาในกลุ่ม fluoroquinolones กำหนดโดย FDA

Site	Ciprofloxacin	Enoxacin	Gatifloxacin	Levofloxacin	Lomefloxacin	Moxifloxacin	Norfloxacin	Ofloxacin
Urinary Tract	X	X	X	X	X		X	X
Lower Respiratory Tract	X		X	X	X	X		X
Bone and Joint	X							
Infectious Diarrhea	X							
Skin & Skin Structure	X		unlabeled	X				X
Sexually Transmitted Diseases	X	X	X				X	X
Prostatitis	X		unlabeled	unlabeled			X	X
Pelvic Inflammatory Disease								X
Acute Sinusitis	X		X	X				
Intra-Abdominal Infections	X					X		
Typhoid Fever	X							
Pyelo-nephritis				X				

Drug interaction of fluoroquinolones⁴³

1. ยาที่ทำให้ปัสสาวะเป็นด่าง (Urinary alkalinizers)⁴⁴ เช่น sodium bicarbonate, ยาขับปัสสาวะกลุ่ม carbonic anhydrase inhibitors ยาเหล่านี้จะทำให้ความสามารถในการละลายของ ciprofloxacin และ norfloxacin ลดลง จนเกิดภาวะ crystalluria และเป็นพิษต่อไต (nephrotoxicity) ได้

2. ยาขยายหลอดลมในกลุ่ม methylxanthines เช่น theophylline, aminophylline พบการลดลงของ hepatic metabolism และ clearance ของ theophylline เมื่อใช้ร่วมกับ ciprofloxacin และ enoxacin^{45,46} ทำให้ระดับของ theophylline เพิ่มขึ้นและทำให้เกิดพิษจากยาได้

3. ยาที่ทำให้เกิด torsades de pointes เช่น amiodarone, tricyclic antidepressants, astemizole, terfenadine, cisapride, disopyramide, erythromycin, antipsychotics (phenothiazines), procainamide, quinidine, sotalol การใช้ sparfloxacin ร่วมกับยาดังกล่าวทำให้เกิดภาวะ prolongation of the QTc interval เพิ่มขึ้น จึงเป็นสาเหตุให้มีการถอน sparfloxacin ออกจากท้องตลาด นอกจากนี้การใช้ gatifloxacin และ levofloxacin ร่วมกับยากลุ่ม antiarrhythmic drugs ที่ออกฤทธิ์แบบ class Ia และ class III เพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิด torsades de pointes จึงเป็นยาที่ไม่ควรใช้ร่วมกัน⁴⁷⁻⁴⁹

4. ยาที่มีธาตุประจุบวก (cation) เป็นองค์ประกอบ เช่น ยาลดกรด (antacids: Al^{3+} , Mg^{2+}), ยาเสริมสร้างกระดูก (Ca^{2+}), ยาบำรุงเลือด (ferrous sulfate), ยาเคลือบแผลในกระเพาะอาหาร (sucralfate) รวมถึงยาที่มี Zn^{2+} เป็นองค์ประกอบ เนื่องจาก cation จะไปจับกับ fluoroquinolones ทำให้ลดการดูดซึมของยา^{26,47}

5. ยาระงับชัก (anticonvulsants) โดยเฉพาะ phenytoin พบว่าการใช้ ciprofloxacin ร่วมกับ phenytoin ทำให้ลดระดับของ phenytoin ในเลือดร้อยละ 34-80 ผู้ป่วยจะมีอาการชักซ้ำได้บ่อยขึ้น

6. ยารักษาโรคเบาหวาน (Antidiabetic agents) ได้แก่ ยาในกลุ่ม sulfonylurea (โดยเฉพาะอย่างยิ่ง

glibenclamide) และอินซูลิน การใช้ยาดังกล่าวร่วมกับ fluoroquinolones ทำให้เกิดภาวะ hypoglycemia และ hyperglycemia

7. ยาด้านการอักเสบชนิดที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ (non-steroidal anti-inflammatory drugs: NSAIDs) พบอัตราการชักเพิ่มขึ้นและมีการกระตุ้นระบบประสาทส่วนกลางเพิ่มขึ้นถ้ารับยาในกลุ่ม NSAIDs ร่วมกับ enoxacin และ norfloxacin⁵¹ เนื่องจาก fluoroquinolones และ NSAIDs เป็น competitive inhibitors ต่อ binding site ของ gamma-aminobutyric acid (GABA) receptor ทำให้กระตุ้นการส่งสัญญาณประสาทมากขึ้น

8. ยาหรือเครื่องดื่มที่มีส่วนผสมของ caffeine เช่น ยารักษาโรคไมเกรน (Cafergot[®]), กาแฟ พบว่าการใช้ caffeine ร่วมกับ enoxacin และ norfloxacin ทำให้ลด hepatic metabolism และเพิ่ม half-life ของ caffeine⁵²

10. Probenecid เนื่องจาก probenecid ลด renal tubular secretion ของ fluoroquinolones จึงมี half-life นานขึ้น และเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดพิษจาก fluoroquinolones

11. Warfarin เมื่อใช้ warfarin ร่วมกับ ciprofloxacin หรือ norfloxacin พบของฤทธิ์ด้านการแข็งตัวของเลือดจาก warfarin มากขึ้น จึงเพิ่มโอกาสการเกิด bleeding⁵³ ยังไม่ทราบกลไกการเกิดภาวะนี้ จึงมีความจำเป็นต้องติดตามค่า pro-thrombin time (PT) ในผู้ป่วยที่ได้รับ warfarin ร่วมกับ fluoroquinolones

12. Cyclosporine การใช้ ciprofloxacin หรือ norfloxacin ร่วมกับ cyclosporine ทำให้เพิ่มระดับของ serum creatinine และ serum cyclosporine concentration⁵⁴

13. Bismuth พบการลดลงของ bioavailability ของ enoxacin ประมาณ 25% หากมีการใช้ยาร่วมกัน

Special considerations of fluoroquinolones

Cross-sensitivity: ผู้ป่วยที่มีประวัติแพ้ fluoroquinolones ขนานใดขนานหนึ่ง และการแพ้ยาที่มี

โครงสร้างคล้ายคลึงกับยาในกลุ่ม quinolones (nalidixic acid, cinoxacin) จะมีโอกาสแพ้ยานานอื่นๆ ในกลุ่มนี้เช่นกัน

Carcinogenicity/Tumorigenicity: การศึกษาในสัตว์ทดลองส่วนใหญ่ไม่พบความเสี่ยงต่อการเกิดเนื้องอกหรือมะเร็งจากการใช้ fluoroquinolones ติดต่อกันเป็นระยะเวลานาน อย่างไรก็ตามแพทยกรรมมะเร็งจากการใช้ยากลุ่มนี้ติดต่อกันเป็นระยะเวลานาน เนื่องจากมี 1 รายงานพบว่าหนูทดลองที่ได้รับ gatifloxacin ขนาดสูง (100 mg/kg/day) ติดต่อกันเป็นเวลานาน 2 ปี มีอุบัติการณ์เกิดโรค large granular lymphocytic leukemia สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ

Pregnancy⁵⁵: fluoroquinolones ทุกขนานจัดอยู่ใน FDA Pregnancy Category C ซึ่งแพทย์ควรใช้อย่างระมัดระวังในหญิงตั้งครรภ์และควรใช้ในกรณีที่จำเป็นเท่านั้น ถึงแม้ว่ายังไม่มีข้อมูลชัดเจน แต่มีผลการศึกษาในสัตว์ทดลองหลายชนิดพบว่าการใช้ยากลุ่มนี้มีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิด arthropathy ในสัตว์ทดลองที่กำลังตั้งครรภ์ Breast-feeding⁵⁵:

ciprofloxacin, ofloxacin และ sparfloxacin ผ่านทางน้ำนมไปทารกได้ แต่ยังไม่มีรายงานแน่ชัดสำหรับ fluoroquinolones ขนานอื่น พบว่าสัตว์ทดลองที่เป็นตัวอ่อนที่ได้รับยากลุ่มนี้มีอาการเริ่มต้นของ arthropathy ผู้ที่ได้รับยาจึงควรหลีกเลี่ยงการให้นมบุตร

Pediatrics⁵⁶: ยังไม่มีการศึกษาอย่างชัดเจนในคน แต่ผลข้างเคียงที่ควรระวังคือ arthropathy จึงมีข้อตกลงร่วมกันว่าไม่ควรใช้ fluoroquinolones ในผู้ป่วยเด็กและวัยรุ่นที่มีอายุต่ำกว่า 18 ปี แต่กรณีที่มีความจำเป็นต้องใช้ยา ควรใช้ในระยะเวลสั้น

Geriatrics⁵⁷: ถึงแม้ว่า fluoroquinolones นับว่าเป็นยาที่ปลอดภัยสำหรับผู้สูงอายุ แต่แพทย์ควรระวังการเกิดอาการไม่พึงประสงค์ เช่น tendon rupture, tendonitis, CNS (central nervous system) disorder (เช่น hallucination)

Adverse effects of fluoroquinolones

อาการไม่พึงประสงค์ที่พบบ่อยจากการใช้ยากลุ่ม fluoroquinolones ได้แก่ ถ่ายอุจจาระเหลว, คลื่นไส้อาเจียน, ปวดจุดแน่นท้อง, เวียนศีรษะ, ปวดศีรษะ พบได้ประมาณ 1-5% แต่ไม่จำเป็นต้องรักษาด้วยการหยุดยา นอกจากนั้นยังมี adverse effects ที่พบได้ไม่บ่อย แต่มีความสำคัญทางคลินิกทำให้เกิดอันตรายถึงชีวิตได้ เช่น ความผิดปกติของระบบหัวใจและหลอดเลือด (cardiovascular system/CVS disorder) และระบบประสาทส่วนกลาง (CNS disorder) เช่น ชัก มี fluoroquinolones บางขนานถูกถอนออกจากท้องตลาดเนื่องจากทำให้เกิดอาการไม่พึงประสงค์ที่เป็นอันตราย เช่น ปี 1992 มี การถอน temafloxacin จากท้องตลาด เนื่องจากมีรายงานผู้ป่วยเสียชีวิตจากภาวะ hemolytic uremic syndrome และ ปี 1999 มีการถอน trovafloxacin เนื่องจากมีรายงานผู้ป่วยที่เสียชีวิตจาก serious hepatic events

อาการไม่พึงประสงค์ต่างๆ ของยากลุ่มนี้มีความสัมพันธ์กับโครงสร้างทางเคมีของยา ดังสรุปไว้ในตารางที่ 5

อาการไม่พึงประสงค์ต่อระบบหัวใจและหลอดเลือด: ได้แก่ ภาวะความดันโลหิตต่ำ (hypotension), ใจสั่น (palpitation), หัวใจเต้นผิดจังหวะ (cardiac arrhythmia) จากภาวะ QTc interval prolongation และ torsades de pointes ทั้งกลุ่ม fluoroquinolones ที่ทำให้เกิดภาวะ QTc interval prolongation และ torsades de pointes ได้ ซึ่งเรียกว่าเป็น class effect แต่ยาแต่ละขนานให้ความเสี่ยงในการเกิดมากน้อยต่างกขึ้นกับโครงสร้างของยาเนื่องจากยายับยั้ง HERG (human ether-a'-go-go-related gene)-encoded rapid component of delayed rectifier potassium current/channel (I_{Kr}) ทำให้เกิดการสะสมของ potassium ในเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจ ทำให้ cardiac action potential อยู่ในระยะ depolarization นานขึ้น จะพบ คลื่นไฟฟ้าหัวใจ (EKG) มีลักษณะเป็น

ตารางที่ 5 กลุ่มแทนที่ในโครงสร้างหลักของยาที่ทำให้เกิดอาการไม่พึงประสงค์^{3,4}

สูตรโครงสร้าง (กลุ่มแทนที่ในโครงสร้างหลักของยาที่ทำให้เกิดอาการไม่พึงประสงค์เรียงลำดับ จากมากไปน้อย)	อาการไม่พึงประสงค์
<ul style="list-style-type: none"> - C-7: piperazinyl > pyrrolidinyl >> substituent piperazinyl หรือ pyrrolidinyl - C-7: pyrrolidinyl > piperazinyl > substituent pyrrolidinyl > substituent piperazinyl - X-8: CF > CCl > CH - aphthyridone nucleus (X-8 เป็น) เช่น nalidixic acid, enoxacin, trovafloxacin และ gemifloxacin 	<p>ระบบประสาทส่วนกลางโดยจับกับตัวรับ γ-aminobutyric acid (GABA) เช่น ชัก</p> <p>การยับยั้งกระบวนการเปลี่ยนสภาพของ theophylline ทำให้เกิดอาการไม่พึงประสงค์ต่อระบบประสาทส่วนกลางได้</p> <p>พิษจากแสง (phototoxicity)</p> <p>อาการไม่พึงประสงค์โดยรวม</p>

prolongation of QTc interval การเกิดภาวะนี้ต่อเนื่องกันเป็นเวลานานนำไปสู่ premature ventricular contraction (PVC) และ torsades de pointes ในที่สุด ซึ่งทำให้ผู้ป่วยเสียชีวิตได้

โครงสร้างของยามีผลต่อความสามารถในการจับ (affinity) และยับยั้ง HERG-encoded I_{Kr} channel ที่กล้ามเนื้อหัวใจ จึงทำให้ยาแต่ละขนานมี affinity แตกต่างกันและทำให้อุบัติการณ์การเกิดภาวะดังกล่าวต่างกัน โดยพบว่า หากกลุ่มแทนที่ที่ตำแหน่งที่ 5 ($-R_5$) เป็น methyl group (grepafloxacin) หรือ amino group (sparfloxacin) จะทำให้มี affinity ในการจับและยับยั้ง HERG-encoded I_{Kr} channel ก่อนข้างมาก แต่ถ้า $-R_5$ เป็น hydrogen group เช่น ciprofloxacin, หรือ amino group (sparfloxacin) จะทำให้มี affinity ในการจับและยับยั้ง HERG-encoded I_{Kr} channel ก่อนข้างมาก แต่ถ้า $-R_5$ เป็น hydrogen group เช่น ciprofloxacin, gemifloxacin, gatifloxacin, levofloxacin, lomefloxacin, moxifloxacin, norfloxacin, ofloxacin จะทำให้มี affinity น้อยกว่า ดังนั้น ผลต่อระบบหัวใจและหลอดเลือดจึงพบน้อย⁵⁸⁻⁶⁰

อย่างไรก็ตาม โอกาสการเกิด QTc interval prolongation และ torsades de pointes ขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่นๆ อีก⁷² ได้แก่ การได้รับยาร่วมกับกลุ่มอื่นที่ทำให้

เกิดภาวะ QTc interval prolongation และ torsades de pointes, ประวัติ congenital long QT syndrome, ประวัติความผิดปกติทางระบบหัวใจ เช่น hypertrophic cardiomyopathy, myocardial infarction, มีความผิดปกติทางโภชนาการ (anorexia nervosa, starvation, alcoholism), cerebrovascular disorders (hemorrhage, infection or tumour), metabolic disorder (เช่น DM, electrolyte imbalance (ระดับ K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} ต่ำกว่าปกติ), hypoglycemia, hypothyroidism) และ obesity นอกจากนั้นยังพบความเสี่ยงของภาวะนี้ในผู้สูงอายุและผู้หญิง

พิษจากแสง (phototoxicity): พบได้จากการใช้ fluoroquinolones ทุกขนาน เป็นปฏิกิริยาจากยาเกิดขึ้นที่ผิวหนังซึ่งถูกกระตุ้นจากแสง ultraviolet อุบัติการณ์เกิดพิษจากแสงเนื่องจากยาแต่ละขนานเรียงตามลำดับดังนี้: sparfloxacin > enoxacin > ciprofloxacin > norfloxacin, ofloxacin, levofloxacin, gatifloxacin, moxifloxacin

อาการไม่พึงประสงค์ต่อ metabolic system⁶¹: ได้แก่ hypoglycemia และ hyperglycemia กลไกการเกิด hypoglycemia เกิดจากการยับยั้ง ATP-sensitive K^+ -channels ที่ β -cell ของตับอ่อน ส่งผลให้มีการกระตุ้นการหลั่ง insulin ตามมา ส่วนกลไกการเกิด hyperglycemia ยังไม่ทราบแน่ชัด

อาการไม่พึงประสงค์ต่อระบบกระดูกและข้อ⁶²: ได้แก่ arthralgia, joint swelling, rupture of tendon (มักเกิดที่ข้อเท้า (Achilles tendon), ข้อไหล่ และข้อมือ), tendinitis, permanent erosion of cartilage พบว่า การใช้ fluoroquinolones ร่วมกับ corticosteroids ทำให้เกิดความเสี่ยงของเส้นเอ็นอักเสบและการขาดของเส้นเอ็นมากขึ้น

สรุป

จากการที่แพทย์มีทางเลือกมากขึ้นในการใช้ยาต้านจุลชีพขนานใหม่ๆ ที่มีการพัฒนาให้มีความต้านจุลชีพมากขึ้น Fluoroquinolones เป็น ยาต้านจุลชีพอีกกลุ่มหนึ่งที่มีการพัฒนาคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้นในการรักษาโรคติดเชื้อในระบบต่างๆ ในปัจจุบัน จึงมีการใช้ยาในกลุ่มนี้อย่างแพร่หลาย ข้อควรพิจารณาที่สำคัญในการเลือกใช้ยาก่อนนี้ในผู้ป่วย คือ ความปลอดภัยและการระวังฤทธิ์ข้างเคียงที่เกิดขึ้นจากยา โดยเฉพาะการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ fluoroquinolones นั้นมีความสัมพันธ์กับอาการไม่พึงประสงค์ และอาจทำให้เกิดอาการที่รุนแรงและเป็นอันตรายถึงชีวิต ดังที่มีในรายงานถึงการระงับใช้และถอนยาบางขนาน (เช่น sparfloxacin และ trovafloxacin) ออกจากท้องตลาด นอกจากปัญหาด้านความปลอดภัยการนำ fluoroquinolones มาใช้อย่างแพร่หลายหรือการใช้ที่ไม่ถูกต้องอาจนำไปสู่ปัญหาการดื้อยา จึงควรมีการปรับปรุง clinical strategies ของการใช้ fluoroquinolones เช่น การให้แนวทางหรือ clinical guidelines ที่เหมาะสมไม่ว่าจะเป็นขนาด (dose), ระยะเวลา(duration) และการใช้ยาควบคู่กับยาขนานอื่น (combination) เพื่อป้องกันปัญหาการดื้อยา ดังนั้น เพื่อป้องกันและหลีกเลี่ยงปัญหาที่เกิดขึ้นจากการใช้ยาก่อนนี้ จึงมีความจำเป็นในการติดตามความรู้ใหม่ๆ ทางเภสัชวิทยา ของ fluoroquinolones ตลอดจนการใช้ยาทางคลินิกอย่างระมัดระวัง

เอกสารอ้างอิง

1. Bhanot SK, Singh M and Chatterjee NR. The chemical and biological aspects of fluoroquinolones: reality and dreams. *Curr Pharm Des* 2001; 7: 313-337.
2. Cubbon MD and Masterton RG. New quinolones – a fresh answer to the pneumococcus. *J Antimicrob Chemother* 2000; 46: 869-872.
3. Rouveix B. Antibiotic safety assessment. *Int J Antimicrob Agents* 2003; 21: 215-221.
4. Ball P. Adverse drug reactions: implications for the development of fluoroquinolones. *J Antimicrob Chemother* 2003; 51: 21-27.
5. Emmerson AM and Jones AM. The quinolones: decades of development and use. *J Antimicrob Chemother* 2003; 51 Suppl 1: S13-S20.
6. Oliphant CM and Green GM. Quinolones: a comprehensive review. *Am Fam Physician* 2002; 65: 455-464.
7. Peterson LR. Quinolone molecular structure-activity relationships: what we have learned about improving anti-microbial activity. *Clin Infect Dis* 2001; 33 Suppl 3: S180-S186.
8. Andersson MI and MacGowan AP. Development of the quinolones. *J Antimicrob Chemother* 2003; 51 Suppl 1: S1-S11.
9. Sable D and Murakawa GJ. Quinolones in dermatology. *Dis Mon* 2004; 50: 381-394.
10. Stass H, Dalhoff A, Kubitz D and Schuhly U. Pharmacokinetics, safety, and tolerability of ascending single doses of moxifloxacin, a new 8-methoxy quinolone, administered to healthy subjects. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42: 2060-2065.
11. Kishii R, Takei M, Fukuda H, Hayashi K, Hosaka M. Contribution of the 8-methoxy group to the activity of gatifloxacin against type II topo-isomerases of *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 77-81.
12. Hooper DC. Mechanisms of action of antimicrobials: focus on fluoro-quinolones. *Clin Infect Dis* 2001; 15 Suppl 1: S9-S15.
13. Blondeau JM. Fluoroquinolones: mechanism of action, classification, and development of resistance. *Surv Ophthalmol* 2004; 49 Suppl 2: S73-S78.
14. Ryszkewicz S, Catemich CE, McIntosh EJ, McKeever HD, Makin KM, Koenigs PM and Ledoussal B. Quinolone resistance in *Staphylococci*: activities of new non-fluorinated quinolones against molecular targets in whole cells and clinical isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45: 1115-1120.

15. Hawkey PM. Mechanisms of quinolone action and microbial response. *J Antimicrob Chemother* 2003; 51 Suppl 1: 29-35.
16. Hooper DC. Emerging mechanisms of fluoroquinolone resistance. *Emerg Infect Dis* 2001; 7: 337-341.
17. Appelbaum PC, Gillespie SH, Burley CJ and Tillotson GS. Antimicrobial selection for community-acquired lower respiratory tract infections in the 21st century: a review of gemifloxacin. *Int J Antimicrob Agents* 2004; 23: 533-46.
18. Jonas D, Engels I, Friedboff C, Spitzmüller B, Daschner FD and Frank U. Efficacy of moxifloxacin, trovafloxacin, clinafloxacin and levofloxacin against intracellular *Legionella pneumophila*. *J Antimicrob Chemother* 2001; 47: 147-152.
19. Garcia-Garrote F, Cercenado E, Martin-Pedroviejo J, Cuevas O & Bouza E. Comparative in vitro activity of the new quinolone gemifloxacin (SB-265805) with other fluoroquinolones against respiratory tract pathogens. *J Antimicrob Chemother* 2001; 47: 681-4.
20. Dalhoff A and Schmitz FJ. In vitro antibacterial activity and pharmacodynamics of new quinolones. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2003; 22: 203-221.
21. Saravolatz LD and Leggett J. Gatifloxacin, gemifloxacin, and moxifloxacin: the role of 3 newer fluoroquinolones. *Clin Infect Dis* 2003; 37: 1210-1215.
22. Blondeau JM. Expanded activity and utility of the new fluoroquinolones: a review. *Clin Ther* 1999; 21:3-40.
23. Mueller M, de la Pena A and Derendorf, H. Issues in Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Anti-Infective Agents: Kill Curves versus MIC. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48: 369-377.
24. Paladino JA and Callen WA. Fluoroquinolone benchmarking in relation to pharmacokinetic and pharmacodynamic parameters. *J Antimicrob Chemother* 2003; 51 Suppl 1: S43-S7.
25. Wright DH, Brown GH, Peterson ML & Rotschafer JC. Application of fluoroquinolone pharmacodynamics. *J Antimicrob Chemother* 2000; 46: 669-683.
26. Hooper DC and Wolfson JS. The fluoroquinolones: pharmacology, clinical uses, and toxicities in humans. *Antimicrob Agents Chemother* 1985; 28: 716-21.
27. Zlotos G, Bucker A, Kinzig-Schippers M, Sorgel F and Holzgrabe U. Plasma protein binding of gyrase inhibitors. *J Pharm Sci* 1998; 87: 215-220.
28. Ginsburg AS, Grosset JH and Bishai WR. Fluoroquinolones, tuberculosis, and resistance. *Lancet Infect Dis* 2003; 3: 432-442.
29. Chin A, Okamoto MP, Gill MA, Sclar DA, Berne TV, Yellin AE, Heseltine PN and Appleman MD. Intraoperative concentrations of ofloxacin in serum, bile fluid, and gallbladder wall tissue. *Antimicrob Agents Chemother* 1990; 34: 2354-7.
30. Hwang DG. Fluoroquinolone resistance in ophthalmology and the potential role for newer ophthalmic fluoroquinolones. *Surv Ophthalmol* 2004; 49 Suppl 2: S79-S83.
31. Bitar N, Claes R and Van der Auwera P. Concentrations of ofloxacin in serum and cerebrospinal fluid of patients without meningitis receiving the drug intravenously and orally. *Antimicrob Agents Chemother* 1989; 33: 1686-1690.
32. Blum RA. Influence of renal function on the pharmacokinetics of lomefloxacin compared with other fluoroquinolones. *Am J Med* 1992; 92:18-21.
33. Adhami ZN, Wise R, Weston D and Crump B. The pharmacokinetics and tissue penetration of norfloxacin. *J Antimicrob Chemother* 1984; 13: 87-92.
34. Leroy A, Fillastre JP, Humbert G. Lomefloxacin pharmacokinetics in subjects with normal and impaired renal function. *Antimicrob Agents Chemother* 1990; 34: 17-20.
35. Cipro[®] (ciprofloxacin) product information. West Haven, CN: Bayer Corporation 2001.
36. Peuetrex[®] (enoxacin) product information. Collegeville, PA: Aventis Pharmaceuticals 2001.
37. Levaquin[®] (levofloxacin) product information. Raritan, NJ: Ortho-McNeil Pharmaceutical 2001.
38. Maxiquin[®] (lomefloxacin) product information. Buffalo Grove, IL: Unimed Pharmaceuticals 2001.
39. Noroxin[®] (norfloxacin) product information. West Point, PA: Merck 2001.
40. Floxin[®] (ofloxacin) product information. Raritan, NJ: Ortho Pharmaceutical 2001.
41. Avelox[®] (moxifloxacin) West Haven, CN: Bayer Corporation 2001.
42. Teqin[®] (gatifloxacin) : New York, NY Bristol-Myers Squibb, 2001.
43. Hebel SK, ed. Drug Facts and Comparisons 2001, and Hansten PD, ed. Drug Interactions Analysis and Management 1999.
44. Swanson BN, et al. Norfloxacin disposition after sequentially increasing oral doses. *Antimicrob Agents Chemother* 1983; 23(2): 284-8.
45. Grasela TH, Dreis MW. An evaluation of the quinolone-theophylline interaction using the Food and Drug Administration spontaneous reporting system. *Arch Intern Med* 1992; 152: 617-21.

46. Radandt JM, Marchbanks CR, Dudley MN. Interactions of fluoroquinolones with other drugs: mechanisms, variability, clinical significance, and management. *Clin Infect Dis* 1992; 14(1): 272-84.
47. Product Information: Avelox™ (moxifloxacin), Bayer Pharmaceutical, West Haven, CT, rev. 1/2000, reviewed 2/2000.
48. Product Information: Tequin™ (gatifloxacin) tablets and intravenous solution, Bristol-Myers Squibb, Princeton, NJ. rev 12/99, reviewed 2/2000.
49. Product Information: Levaquin®, levofloxacin. Ortho-McNeil Pharmaceutical, Inc., Raritan, New Jersey, (PI revised 9/2001) reviewed 12/2001.
50. Brouwers PJ, de Boer LE, Guchelaar H-J. Ciprofloxacin-phenytoin interaction. *Ann Pharmacother* 1997; 31: 498.
51. Mandell GL, Petri WA Jr. Anti-microbial agents: sulfonamides, trimethoprim sulfamethoxazole, quinolones. In: Hardman JG, Limbird LE, editors. Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics. 9th ed. New York: McGraw-Hill; 1996. p. 1065-8.
52. Church DA, Kanga JF, Kuhn RJ, et al. Sequential ciprofloxacin therapy in pediatric cystic fibrosis: comparative study vs. ceftazidime/tobramycin in the treatment of acute pulmonary exacerbations. *Pediatr Infect Dis J* 1997; 16(1): 97-105.
53. Bianco TM, Bussey HI, Farnett LE, et al. Potential warfarin-ciprofloxacin interaction in patients receiving long-term anticoagulation. *Pharmacotherapy* 1992; 12(6): 435-9.
54. Avent CK, Krinsky D, Kirklin JK, et al. Synergistic nephrotoxicity due to ciprofloxacin and cyclosporine. *Am J Med* 1988; 85: 452-3.
55. Giamarellou H, Kolokythas E, Petrikos G, et al. Pharmacokinetics of three newer quinolones in pregnant and lactating women. *Am J Med* 1989; 87 Suppl 5A: 49S-51S.
56. Gurpinar AN, Balkan E, Kilic N, et al. The effects of a fluoroquinolone on the growth and development of infants. *J Int Med Res* 1997; 25: 302-6.
57. Lipsky BA, Baker CA. Fluoroquinolone toxicity profiles: a review focusing on newer agents. *Clin Infect Dis* 1999; 28: 352-64.
58. Owen Jr RC. QT prolongation with antimicrobial agents. *Drugs* 2004; 64: 1091-124.
59. Crouch MA, Limon L, Cassauo AT. Clinical relevance and management of drug-related QT interval prolongation. *Pharmacotherapy* 2003; 23: 881-908.
60. Tamargo J, Caballero R, Gomez R, et al. Pharmacology of cardiac potassium channels. *Cardiovasc Res* 2004; 62: 9-33.
61. Zunckler BJ, Wos M. Effects of lomefloxacin and norfloxacin on pancreatic β -cell ATP-sensitive K^+ channels. *Life Sci* 2003; 73: 429-35.
62. Hooper DC. Pharmacology of the fluoroquinolones. Up to Date. March 2, 2000.

Drug Evaluation

ZIPRASIDONE: AN ATYPICAL ANTIPSYCHOTIC DRUG

Chaichan Sangdee

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

Abstract

Ziprasidone is the fifth atypical antipsychotic drug approved by the US FDA in 2001. It has a unique pharmacological profile of atypical antipsychotic drugs by blocking 5-HT_{2A} and 5-HT_{2c} in addition to blocking of D₂ receptors thereby exerting antipsychotic effects equivalent to conventional and other atypical antipsychotic drugs with minimal EPS. Ziprasidone shares its efficacy with other atypical antipsychotic drugs on the superiority to conventional antipsychotic drugs on improving negative symptoms common in schizophrenic patients. It also stimulates 5-HT_{1A} and blocking reuptake of 5-HT and NE into the corresponding nerve terminals and these actions contributing to its anti-anxiety and antidepressant effects unique to ziprasidone. Ziprasidone has minimal blocking effects at muscarinic, α_1 , and H₁ receptors and hence exhibiting minimal anticholinergic effects and memory disturbances, postural hypotension and sedative effects. In addition, ziprasidone has superior profiles on tolerability over other atypical antipsychotic drugs since it has neutral effect on weight and serum lipid, glucose, insulin and prolactin levels. Adverse effects of ziprasidone are usually mild and are well tolerated. All these favorable pharmacological, clinical and tolerability profiles make ziprasidone well accepted by the patients and the use of ziprasidone in the treatment of schizophrenia and schizoaffective disorder is accompanied by low discontinuation and relapsing rates and therefore is more cost-effective.

Key words: Ziprasidone, atypical antipsychotic

ZIPRASIDONE: AN ATYPICAL ANTIPSYCHOTIC DRUG

รศ. ดร. ชัยชาญ แสงดี

ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

บทคัดย่อ

Ziprasidone เป็นยารักษาโรคจิตกลุ่ม atypical ตัวที่ 5 ที่ได้รับการอนุมัติจดทะเบียนให้จำหน่ายได้โดยองค์การอาหารและยาแห่งประเทศสหรัฐอเมริกาในปี 2001 ยานี้มีคุณสมบัติที่เป็นเอกลักษณ์ของยารักษาโรคจิตกลุ่ม atypical โดยสกัดกัน 5-HT_{2A} และ 5-HT_{2C} รีเซพเตอร์นอกเหนือจากการสกัดกัน D₂ รีเซพเตอร์ ดังนั้นจึงทำให้ ziprasidone มีผลในการรักษาโรคจิตที่เทียบเท่ากับหรือดีกว่ายารักษาโรคจิตกลุ่ม conventional และ atypical อื่นๆ โดยทำให้เกิดอาการ extrapyramidal น้อยมาก Ziprasidone เหมือนกับยารักษาโรคจิตกลุ่ม atypical อื่นในประเด็นที่มีประสิทธิผลเหนือกว่ายารักษาโรคจิตกลุ่ม conventional ในการระงับ negative symptoms ที่มักพบในผู้ป่วยโรคจิตเภท (schizophrenia) Ziprasidone ยังกระตุ้น 5-HT_{1A} รีเซพเตอร์และยับยั้งการนำ 5-HT และ NE กลับเข้าสู่ปลายประสาทที่หลังสารสื่อประสาทเหล่านี้ด้วย และฤทธิ์เหล่านี้ส่งผลที่เป็นเอกลักษณ์โดดเด่นของ ziprasidone ในการระงับอาการวิตกกังวลและซึมเศร้า ยานี้สกัดกัน muscarinic, α_1 , and H₁ รีเซพเตอร์น้อยมาก จึงไม่ทำให้เกิดผลข้างเคียงต่อระบบประสาท cholinergic การทำให้ความจำเสื่อม การทำให้ความดันเลือดลดลงจากการเปลี่ยนอิริยาบถ (postural hypotention) และง่วงนอนเหมือนกับยารักษาโรคจิตอื่นๆ นอกจากนี้ ziprasidone ยังมีคุณสมบัติที่เหนือกว่ายารักษาโรคจิตกลุ่ม atypical ในด้านที่ไม่ทำให้น้ำหนักตัวเพิ่ม และไม่ทำให้ระดับของไขมัน กลูโคส ฮอร์โมนอินซูลินและโพรแลคติน (prolactin) ในซีรัมเปลี่ยนแปลงไปจากปกติ ผลข้างเคียงของ ziprasidone มักไม่รุนแรงและผู้ป่วยทนผลข้างเคียงได้ดี คุณสมบัติที่ดีของ ziprasidone ด้านเภสัชวิทยา ด้านผลการรักษา และด้านผลข้างเคียง ทำให้ผู้ป่วยให้การยอมรับยานี้เป็นอย่างดี และการใช้ ziprasidone เพื่อรักษาโรคจิตและ schizoaffective ส่งผลให้ผู้ป่วยมีอุบัติการณ์การหยุดใช้ยาและการกลับมาเป็นซ้ำของโรคน้อยมาก ดังนั้น การใช้ ziprasidone จึงมีความคุ้มค่า-คุ้มทุนสูงกว่ายารักษาโรคจิตอื่นๆ

คำสำคัญ: Ziprasidone, atypical antipsychotic

บทนำ

ยาโรคจิตสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ conventional และ atypical ยากลุ่ม conventional เป็นยาที่ใช้กันมานานแล้วและมีผลไม่พึงประสงค์มากมาย โดยเฉพาะผลไม่พึงประสงค์ทางด้าน extrapyramidal side effects (EPS) เช่น parkinsonism, acute dystonia, akathisia และที่สำคัญคือ tardive dyskinesia ซึ่งส่งผลกระทบต่อคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยลดลงอย่างมากและเป็นสาเหตุที่ทำให้การรักษาล้มเหลวเนื่องจากผู้ป่วยปฏิเสธการรักษาด้วยยาดังกล่าว แม้จะมียาบางตัวในกลุ่ม conventional เช่น thioridazine ที่ทำให้เกิด EPS ก่อนข้างต่ำ แต่ยานี้สามารถทำให้ผู้ป่วยเสียชีวิตอย่างกะทันหัน (sudden death) จากภาวะหัวใจเต้นผิดจังหวะ (cardiac arrhythmias) ในรูปแบบของ torsade de pointes (หรือ polymorphic ventricular arrhythmias) ซึ่งเกิดจากการที่ยาทำให้ corrected QT interval ยาวขึ้น (prolongation of QTc interval) โดยการลด potassium conductance ของกล้ามเนื้อหัวใจ นอกจากนี้ ผลไม่พึงประสงค์ที่เกิดบ่อยอีกด้านหนึ่งคือการทำให้ฮอร์โมน prolactin เพิ่มขึ้น ซึ่งเกรงว่าอาจเป็นสาเหตุของการเกิดมะเร็งเต้านม อย่างไรก็ตาม ความเชื่อมโยงนี้ยังไม่ได้รับการพิสูจน์หรือยืนยันอย่างแน่ชัด จากเหตุผลดังกล่าว จึงมีความพยายามที่จะพัฒนายาใหม่ให้มีผลไม่พึงประสงค์น้อยลง โดยเฉพาะในการลด EPS ซึ่งในระยะต่อมา มีการพัฒนายาที่ทำให้เกิด EPS น้อยกว่ายาโรคจิตกลุ่ม conventional มาก แต่ยังประสิทธิผลในการรักษา schizophrenia ทดเทียบกับยากลุ่ม conventional และในระยะหลังกลับมีรายงานว่ายาในกลุ่ม atypical มีประสิทธิผลสูงกว่ายากลุ่ม conventional ในการระงับอาการบางอย่างของ schizophrenia โดยเฉพาะในการระงับ negative symptoms ผลดีทั้งสองประการนี้เกิดจากการที่ยาในกลุ่ม atypical มีฤทธิ์ในการสกัดกั้น 5-hydroxytryptamine-2 (5-HT₂) receptor ได้ค่อนข้างดี แต่ที่คาดไม่ถึงคือยาในกลุ่ม atypical กลับมีผลเสียหรือ

ผลไม่พึงประสงค์ในบางด้านสูงกว่ายากลุ่ม conventional โดยเฉพาะในด้าน metabolic side effects เช่น ผลในการเพิ่มระดับกลูโคสและไขมันในเลือด และผลในการเพิ่มน้ำหนักตัว ซึ่งส่งผลกระทบต่อสุขภาพและคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยในมุมที่แตกต่างจากยากลุ่ม conventional และจะได้กล่าวโดยละเอียดต่อไป

ยาในกลุ่ม conventional ได้แก่ chlorpromazine, thioridazine, mesoridazine, fluphenazine, perphenazine, trifluoperazine, chlorprothixene, thiothixene, haloperidol, pimozide, loxapine, molindone เป็นต้น ยาเหล่านี้ออกฤทธิ์รักษาโรคจิตโดยการสกัดกั้น dopamine-2 (D₂) receptor ในสมองส่วน limbic forebrain ทำให้สามารถระงับอาการโรคจิตด้าน positive symptoms ได้ดี นอกจากนี้ ยาเหล่านี้ยังมีฤทธิ์ในการสกัดกั้น histamine-1 (H₁), alpha-1, muscarinic receptors รวมทั้งยาบางตัวมีฤทธิ์ในการสกัดกั้น potassium channel อีกด้วย ซึ่งฤทธิ์เหล่านี้ส่งผลให้เกิดผลไม่พึงประสงค์ที่หลากหลาย

ในปี 1990 องค์การอาหารและยาแห่งประเทศสหรัฐอเมริกา (US FDA) ได้อนุมัติให้ clozapine ใช้รักษา schizophrenia ได้ ซึ่งเป็นการเริ่มศักราชของยา atypical หรือ second-generation antipsychotics หลังจากนั้น มีการพัฒนายาในกลุ่ม atypical และได้รับการอนุมัติเพื่อใช้ในการรักษา schizophrenia เพิ่มขึ้น เช่น risperidone (1993), olanzapine (1996), quetiapine (1997), ziprasidone (2001), และ aripiprazole (2002)

คุณสมบัติทางเภสัชวิทยา

ยาใหม่ที่พัฒนาขึ้นใหม่ที่มีเรียกกันว่า atypical antipsychotic drugs มีกลไกการออกฤทธิ์ที่ต่างไปจากยาในกลุ่ม conventional โดยยาเหล่านี้มีฤทธิ์สกัดกั้น D₂ (ยกเว้น aripiprazole ที่เป็น partial agonist ที่ D₂ receptors) และ 5-HT₂ receptors ทำให้ยาเหล่านี้สามารถระงับทั้ง positive และ negative symptoms ได้ นอกจากนี้ การที่ยาเหล่านี้จับกับ D₂

receptors ได้เห็นยืนยันน้อยกว่าและจับในระยะเวลาที่สั้นกว่ายาในกลุ่ม conventional และสามารถสกัดกัน 5-HT₂ receptor ได้เชื่อว่ามีส่วนในการทำให้ผลข้างเคียงด้าน EPS ลดลงน้อยกว่ายาในกลุ่ม conventional แต่ยาในกลุ่ม atypical ยังคงคุณสมบัติหลายอย่างของกลุ่ม conventional เช่น การสกัดกัน H₁, alpha-1 และ muscarinic receptors ซึ่งฤทธิ์ต่อ receptors เหล่านี้มากน้อยแตกต่างกันไปตามชนิดของ atypical antipsychotics ทำให้ยาในกลุ่มนี้มีคุณสมบัติทางเภสัชวิทยา ผลข้างเคียง และการรักษาไม่เหมือนกันและไม่สามารถใช้ทดแทนกันได้ทุกกรณี แต่ควรเลือกใช้ให้เหมาะสมกับผู้ป่วยแต่ละรายตามภาวะหรือโรคที่ผู้ป่วยเป็นอยู่ก่อนแล้ว

ตารางที่ 1 ข้างล่างนี้สรุปความแรงของยา atypical antipsychotics ในการสกัดกัน receptors ชนิดต่างๆ ซึ่งส่งผลทั้งด้านประสิทธิภาพการรักษาและผลข้างเคียงของยา ฤทธิ์ในการสกัดกัน D₂ และ 5-HT_{2A} receptors จะสัมพันธ์กับฤทธิ์ในการรักษา psychosis/schizophrenia และสัดส่วนของการสกัดกัน 5-HT_{2A}/D₂ receptors (ค่าที่ต่ำจะทำให้เกิด EPS ต่ำด้วย) ร่วมกับความแรงในการสกัดกัน muscarinic receptors จะสะท้อนถึงความเป็นไปได้ในการเกิด EPS ดังนั้น ถ้าเรียงความแรงในการทำให้เกิด EPS จากน้อยไปหามากจะเป็นดังนี้คือ clozapine = quetiapine = aripiprazole (D₂ partial agonist) < ziprasidone ≤ olanzapine < risperidone แม้ว่าฤทธิ์ในการสกัดกัน muscarinic receptors จะส่งผลต่อการลดการเกิด EPS แต่ฤทธิ์นี้จะสัมพันธ์กับการเกิดผลข้างเคียงที่เป็นเอกลักษณ์ของ anticholinergic drugs คือ การทำให้เกิดอาการปากแห้ง ท้องผูก ปัสสาวะลำบาก อาหารไม่ย่อย เห็นภาพพร่ามัว รู้สึกสับสน และทำให้เกิดอาการความจำเสื่อม ซึ่งผลข้างเคียงในด้าน anticholinergic side effects จะรบกวนต่อคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยอย่างมาก แต่ผลข้างเคียงเหล่านี้เกิดน้อยมากกับยา ziprasidone,

risperidone และ aripiprazole ฤทธิ์ในการสกัดกัน α₁ และ H₁ receptors เป็นดัชนีบ่งชี้ถึงผลข้างเคียงในการทำให้เกิด postural hypotension และง่วงนอน ซึ่งอาจเป็นปัญหาสำคัญในผู้ป่วยสูงอายุในการทำให้เป็นลมง่ายและหกล้มกระตุกหัก และฤทธิ์ในการสกัดกัน α₁ และ H₁ receptors มีส่วนสัมพันธ์กับฤทธิ์ในการให้น้ำหนักตัวเพิ่มขึ้น⁽¹⁾ เพิ่มระดับไขมันและกลูโคสในเลือดได้ ถ้าเรียงตามความสามารถในการให้น้ำหนักตัวเพิ่มระดับไขมันและกลูโคสในเลือดจากน้อยไปหามากจะเป็น ziprasidone = aripiprazole << quetiapine = risperidone << clozapine = olanzapine

นอกจากนี้ ziprasidone ยังมีคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาที่ต่างจากยาโรคจิตอื่นคือ มีฤทธิ์สกัดกัน 5-HT_{2C}, 5-HT_{1D} receptors แต่มีฤทธิ์กระตุ้น 5-HT_{1A} receptors และมีฤทธิ์ยับยั้ง reuptake ของทั้ง 5-HT และ norepinephrine (NE) อีกด้วย ฤทธิ์ในการสกัดกันที่ 5-HT_{2C} receptors ของ ziprasidone มีส่วนทำให้ cognition ของผู้ป่วยดีขึ้น⁽¹⁾ ฤทธิ์ในการสกัดกันที่ 5-HT_{1D} ทำให้ ziprasidone มีฤทธิ์ในการระงับอาการวิตกกังวล (anxiety) ได้⁽¹⁾ ส่วนฤทธิ์ในการกระตุ้น 5-HT_{1A} ทำให้ ziprasidone มีฤทธิ์ในการระงับอาการวิตกกังวลลดอารมณ์ร้ายที่อยากทำร้ายผู้อื่น (hostility) รวมทั้งทำให้ cognition ของผู้ป่วยดีขึ้น⁽²⁾ นอกจากนั้น การที่ ziprasidone มีฤทธิ์ยับยั้ง reuptake ของทั้ง 5-HT และ NE ทำให้ยานี้มีฤทธิ์ในการระงับอาการซึมเศร้าได้เช่นเดียวกับยาในกลุ่ม tricyclic antidepressants เช่น imipramine และ amitriptyline⁽¹⁾ คุณสมบัติเหล่านี้ทำให้ ziprasidone มีฤทธิ์ในการรักษา positive และ negative symptoms และระงับอาการซึมเศร้า วิตกกังวล และ cognitive ของผู้ป่วย schizophrenia ได้หลากหลายและแตกต่างจากยาโรคจิตอื่นๆ

ตารางที่ 1. เปรียบเทียบความแรง (Ki หน่วย nM) ของฤทธิ์ของ atypical antipsychotics
ในการสัดกัน receptors ต่างๆ

ยา	D ₂	5-HT _{2A}	5-HT _{2A} /D ₂	Muscarinic	α ₁	H ₁
Ziprasidone	4.79	0.42	0.09	≥10,000	10	47
Clozapine	180	1.60	0.01	7.50	9	2.75
Risperidone	3.30	0.16	0.05	≥10,000	2	59
Olanzapine	11	4	0.36	1.89	19	7.14
Quetiapine	160	294	1.84	120	62	11
Aripiprazole	3.40	3.40	1	≥10,000	57	61

ประสิทธิภาพในการรักษา Schizophrenia

อุบัติการณ์ของ schizophrenia เกิดประมาณ 1% ของประชากรโลก โดยไม่มีความแตกต่างของอุบัติการณ์ตามเพศหรือเชื้อชาติ⁽³⁾ อายุที่ผู้ป่วยเริ่มแสดงอาการจะค่อนข้างน้อย (16-30 ปี) แต่อาการของโรคมักจะเรื้อรังตลอดชีวิต แม้ว่าอุบัติการณ์ของโรคจะค่อนข้างต่ำ แต่โรคนี้นักจะก่อปัญหาแก่ผู้ป่วยบุคคลใกล้ชิด และสังคมที่รุนแรง โดยเป็นสาเหตุหลักที่ทำให้ผู้ป่วยไม่สามารถดำรงชีวิตเป็นปกติสุข ทำงานไม่ได้ เป็นภาระแก่บุคคลในครอบครัวซึ่งต้องอุทิศทั้งกำลังใจ กำลังกาย กำลังทรัพย์ และเวลาในการให้การดูแลทำให้คุณภาพชีวิตของทั้งผู้ป่วยและบุคคลในครอบครัวลดลงอย่างมาก และเป็นภาระของสังคมเนื่องจากต้องใช้งบประมาณสูงในการรักษาผู้ป่วยเหล่านี้ นอกจากนี้ ผู้ป่วยยังมักมีปัญหาอื่นร่วมด้วย เช่น น้ำหนักเกินและไขมันในเลือดสูงจากการรับประทานอาหารไม่ถูกสุขลักษณะ ภาวะซึมเศร้า การแยกตัวจากสังคม การไม่ร่วมมือในการรักษา ภาวะผิดปกติอื่นที่ตนเองเป็นอยู่และผลข้างเคียงของยาที่ผู้ป่วยได้รับปัญหาทั้งหมดนี้ทำให้ผู้ป่วยโรค schizophrenia ไม่ร่วมมือในการรักษา ซึ่งนำไปสู่ความล้มเหลวของการรักษาโรคนี้และการกลับมาเป็นโรคซ้ำที่สูงมาก

แม้ว่า schizophrenia จะเป็นโรคเรื้อรังและต้องรักษาตลอดชีวิต แต่การรักษาด้วยยาร่วมกับพฤติกรรมบำบัดจะช่วยลดอาการและปัญหาต่างๆที่

กล่าวมาข้างต้นได้มากขึ้นตอนการรักษาขึ้นอยู่กับการประเมินผู้ป่วยแต่ละรายอย่างถี่ถ้วนเพื่อช่วยในการเลือกชนิดและขนาดของยาที่เหมาะสม รวมทั้งผลข้างเคียงของยาที่ต้องการหลีกเลี่ยง อย่างไรก็ตาม มีผู้ป่วยเพียง 30% เท่านั้นที่การรักษาเป็นที่น่าพอใจ และสามารถกลับเข้าทำงานหรืออยู่ในสังคมได้อย่างปกติสุข⁽⁴⁾ ส่วนผู้ป่วยที่เหลือมักจะเกิดผลข้างเคียงจากยาซึ่งผู้ป่วยรับไม่ได้และปฏิเสธการรักษา ซึ่งปัญหานี้นำไปสู่การที่ผู้ป่วยมีอาการกำเริบขึ้นและต้องกลับเข้ารับรักษาในโรงพยาบาลซ้ำๆ และค่าใช้จ่ายในการรักษาพยาบาลจึงเพิ่มขึ้นอย่างมาก

ในอดีตยาในกลุ่ม conventional จะเป็นยาหลักที่ใช้รักษา schizophrenia โดยแพทย์ผู้รักษาจะปรับขนาดยาตามผลการรักษาหรือผลข้างเคียงทาง EPS และบรรเทาอาการทาง EPS ด้วยยา anticholinergics ที่ใช้รักษา parkinsonism แต่จากการที่ยาในกลุ่มนี้มีผลข้างเคียงมากและจากการที่มียาในกลุ่ม atypical เป็นทางเลือกใหม่ ทำให้แนวทางการรักษาเริ่มเปลี่ยนไปโดยที่ยาในกลุ่ม atypical กลายเป็นยาหลักที่เลือกใช้เป็นอันดับแรก โดยทั่วไป ยาในกลุ่ม atypical มีประสิทธิภาพในการระงับ positive symptoms ทดเทียมกับยาในกลุ่ม conventional และยังสามารถระงับ negative symptoms เช่น อาการแยกตัวจากสังคม การไม่มีอารมณ์ตอบสนองหรืออาการซึมเศร้าที่ไม่สามารถระงับได้ด้วยยาในกลุ่ม conventional นอกจากนี้ การที่ยาในกลุ่ม atypical มี

ผลข้างเคียงด้าน EPS ก่อนข้างคำ จึงทำให้สามารถปรับขนาดยาให้เหมาะแก่การควบคุมอาการ schizophrenia ได้ง่ายและเร็วกว่ายาในกลุ่ม conventional ที่เมื่อปรับขนาดยาให้สูงขึ้น อาการ EPS จะสูงตามขึ้นด้วยซึ่งเป็นข้อจำกัดในการปรับขนาดยาให้เหมาะสำหรับการควบคุมผู้ป่วยให้ปลอดภัยจากอาการ schizophrenia ได้ นอกจากนั้น การใช้ยาในกลุ่ม atypical ยังลดความจำเป็นที่จะต้องให้ยาในกลุ่ม anticholinergic เพื่อระงับหรือป้องกัน EPS อีกด้วย ดังนั้น เมื่อจัดแพทย์เลือกยา atypical และขนาดยาที่เหมาะสมได้แล้ว การรักษาอาจเริ่มด้วยขนาดยาที่ต่ำก่อนและประเมินผลการรักษา และปรับขนาดยาตามผลการรักษาหรือผลข้างเคียงที่เกิดขึ้น ถ้ายาที่เลือกให้ผลการรักษาไม่เป็นที่พอใจหรือเกิดผลข้างเคียงที่ต้องการหลีกเลี่ยงทั้งที่ได้พยายามปรับขนาดยาให้เหมาะสมแล้ว ทางเลือกต่อไปคือการเพิ่มยาชนิดอื่นเข้าไปในแผนการรักษาหรือเปลี่ยนไปใช้ยา atypical ตัวอื่นแทน

Ziprasidone ได้รับการพิสูจน์แล้วว่ามีประสิทธิภาพในการรักษา schizophrenia และ schizoaffective disorders ในการศึกษาทางคลินิกระยะสั้น ziprasidone สามารถระงับ positive และ negative symptoms⁽⁵⁾ และระงับ 2 อาการนี้ร่วมกับการระงับอาการซึมเศร้าและ affective components อีกด้วย⁽⁶⁻⁹⁾ ส่วนการศึกษาระยะยาว 0.5-1 ปี แบบ placebo-controlled, randomized และ double-blind ในผู้ป่วยที่เป็น schizophrenia เรือจริง ziprasidone สามารถระงับอาการของ schizophrenia ได้ดีโดยที่ผู้ป่วยเกิดผลข้างเคียงค่อนข้างน้อยและมักไม่รุนแรง โดยผู้ป่วยทนต่อผลข้างเคียงเหล่านี้ได้ค่อนข้างดี⁽¹⁰⁻¹²⁾ ถ้าเริ่มต้นการรักษา schizophrenia ด้วย ziprasidone ในขนาดสูง (120-160 มก./วัน) จะควบคุมอาการของผู้ป่วยได้ดีและเร็วกว่าในขนาดต่ำ^(13,14) นอกจากนั้นยังพบว่า ziprasidone สามารถลดอัตราอาการกลับมามีอาการของ schizophrenia เป็นซ้ำอีก⁽⁵⁻⁹⁾ พบว่า ziprasidone ช่วยลดอัตราการที่ผู้ป่วยประสงค์จะหยุด

การรักษาก่อนเวลาอันควรได้อีกด้วย^(8,15) โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อใช้ยาที่ขนาด 120-160 มก./วัน^(16,17)

ประสิทธิภาพระยะสั้นของ ziprasidone ในการรักษา schizophrenia จะทัดเทียมกับ haloperidol⁽⁵⁾, olanzapine⁽¹⁸⁾ และ risperidone⁽⁹⁾ ส่วนประสิทธิภาพในระยะยาวของ ziprasidone ในการรักษา schizophrenia จะทัดเทียมกับ haloperidol⁽¹¹⁾, olanzapine⁽¹⁹⁾ และ risperidone⁽²⁰⁾

การศึกษาถึงประสิทธิผลของการเปลี่ยนการรักษาโรคจิตจากชนิดหนึ่งเป็นอีกชนิดหนึ่งยังมีค่อนข้างน้อย จากการศึกษาของ Weiden และคณะ (2003)⁽²¹⁾ ที่ได้เปรียบเทียบประสิทธิผลของการเปลี่ยนการรักษาโรคจิตจากยาในกลุ่ม conventional หรือ olanzapine หรือ risperidone ที่ใช้รักษาผู้ป่วย schizophrenia มาเป็นการรักษาด้วย ziprasidone ขนาด 40-160 มก./วัน โดยมีการปรับขนาดยา ziprasidone ให้เหมาะสมกับผู้ป่วยแต่ละราย ผลการศึกษาพบว่า การเปลี่ยนยาจากกลุ่ม conventional หรือ olanzapine หรือ risperidone มาเป็น ziprasidone ทำให้ลด total positive and negative symptom scores (PANSS total) ลงอย่างมีนัยสำคัญภายใน 1-3 สัปดาห์ การศึกษาในทำนองเดียวกันนี้โดย Loebel และคณะ (2004)⁽²²⁾ พบว่าการเปลี่ยนการรักษาโรคจิตจากกลุ่ม conventional หรือ risperidone มาเป็น ziprasidone ทำให้ cognitive function และอาการ anxiety-depression ของผู้ป่วยดีขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ แต่ผลเหล่านี้ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปลี่ยนจาก olanzapine มาเป็น ziprasidone ในปีเดียวกัน Harvey และคณะ (2004)⁽²³⁾ พบว่าการเปลี่ยนการรักษาโรคจิตจากยาในกลุ่ม conventional หรือ risperidone หรือ olanzapine มาเป็น ziprasidone ทำให้ cognitive function โดยเฉพาะในด้าน verbal skills, attention and short-term memory, and executive function ดีขึ้นจากก่อนการเปลี่ยนยาอย่างมีนัยสำคัญ

นอกจากจะใช้รักษา schizophrenia แล้ว ยาในกลุ่ม atypical ยังใช้ในการรักษา bipolar

disorders ได้อีกด้วย โดยทั้ง the Texas Implementation of Medication Algorithms expert consensus panel⁽²⁴⁾ และ the American Psychiatric Association's guidelines⁽²⁵⁾ ต่างก็แนะนำให้เลือกใช้ atypical antipsychotics ในการรักษา bipolar ทั้งแบบ monotherapy หรือใช้ร่วมกับ lithium หรือ valproate ในกรณีที่มีอาการรุนแรงที่ไม่สามารถควบคุมได้โดย atypical antipsychotics ตามลำดับ

ผลข้างเคียง

E S (Extrapyramidal Side Effects)

จุดเด่นประการหนึ่งของยารักษาโรคจิตกลุ่ม atypical คือการที่เกิดผลข้างเคียงด้าน EPS รวมทั้ง tardive dyskinesia ต่ำกว่ากลุ่ม conventional อย่างไรก็ดีตามมีรายงานว่าอุบัติการณ์การเกิด EPS ของ risperidone, olanzapine และ ziprasidone จะสัมพันธ์กับขนาดของยาโดยที่จะเกิดน้อยถ้าใช้ในขนาดต่ำและเกิดมากขึ้นถ้าใช้ในขนาดสูง ในขณะที่ clozapine และ quetiapine ทำให้เกิด EPS ต่ำมาก⁽²⁷⁾

ผลต่อหัวใจ

ฤทธิ์ที่สำคัญและอันตรายที่สุดที่เกิดกับหัวใจโดยทำให้เกิดการเสียชีวิตอย่างเฉียบพลันซึ่งมีรายงานเมื่อประมาณ 35 ปีที่แล้ว⁽²⁸⁾ และมีรายงานถึงความสัมพันธ์ระหว่างยารักษาโรคจิตกลุ่ม phenothiazines โดยเฉพาะ thioridazine ในการทำให้เกิดเสียชีวิตแบบเฉียบพลันที่มีลักษณะของหัวใจเต้นผิดจังหวะในรูปแบบของ torsade de pointes^(29,30) กลไกของยารักษาโรคจิตในการทำให้หัวใจเต้นผิดจังหวะนี้เข้าใจว่าเกิดจากการสกดกัน potassium channel ทำให้เกิด delayed repolarization และส่งผลให้ QTc interval ยาวขึ้นโดยเฉพาะถ้านานกว่า 500 ms ในที่สุดจะทำให้เกิดภาวะหัวใจเต้นผิดจังหวะและการเสียชีวิตอย่างเฉียบพลันตามมาได้ ยารักษาโรคจิตที่ทำให้เกิดผลนี้สูงสุดคือ thioridazine⁽²⁸⁻³⁴⁾, mesoridazine และ ziprasidone^(35,36) อย่างไรก็ตามการศึกษาส่วนใหญ่พบว่าแม้ ziprasidone จะทำให้ QTc interval ยาวขึ้นจากก่อนการใช้ยาแต่มักไม่เพิ่ม

มากไปกว่า 60 ms ทำให้ค่า QTc interval ที่วัดได้เป็นประมาณ 400 ms ซึ่งไม่ถึงช่วงที่วิกฤต (>500 ms) แต่ก็ควรหลีกเลี่ยงยานี้ในกรณีที่หัวใจผู้ป่วยมี conduction deficit หรือมีโรคของหัวใจอื่นๆอยู่ก่อนแล้ว เช่น myocardial infarction

ระบบเลือด

ยารักษาโรคจิตสามารถทำให้เกิดความผิดปกติของระบบเลือดได้เกือบทุกตัว แต่อุบัติการณ์ค่อนข้างต่ำ (1 ใน 10,000) ความผิดปกติที่เกิดขึ้น เช่น leukocytosis, leukopenia และ eosinophilia ยาที่ทำให้เกิดความผิดปกติของระบบเลือดได้แก่ thioridazine, chlorpromazine และ phenothiazines อื่นๆ⁽³⁷⁾ แม้ว่า clozapine จะเป็นยากกลุ่ม atypical ตัวแรกที่ไม่แสดงให้เห็นว่าทำให้เกิด EPS ต่ำมาก อย่างไรก็ตาม ยานี้มีผลเสียที่สำคัญคือ การทำให้เกิด agranulocytosis ในบรรดาการรักษาโรคจิต clozapine ทำให้เกิด agranulocytosis ได้สูงที่สุด^(38,39) โดยมียาอุบัติการณ์ประมาณ 1 ใน 100 ราย และชาวเอเชียจะเสี่ยงต่ออุบัติการณ์นี้สูงกว่าชาวตะวันตกถึง 2.4 เท่า⁽⁴⁰⁾ ขณะนี้ยังไม่มีรายงานผลไม่พึงประสงค์ของยา ziprasidone ที่มีต่อระบบเลือด

น้ำหนักตัวเพิ่ม

ยารักษาโรคจิตหลายตัวทำให้ผู้ป่วยมีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นได้เมื่อใช้ยาเป็นเวลานาน แม้ว่ายารักษาโรคจิตกลุ่ม atypical จะมีข้อดีที่ต่ำกว่ากลุ่ม conventional ในการลดการเกิด EPS แต่ยากกลุ่ม atypical หลายตัวมีผลไม่พึงประสงค์ที่สำคัญที่ทำให้ผู้ป่วยไม่ร่วมมือกับการรักษาและการรักษาในระยะยาว เกิดความล้มเหลวคือการที่น้ำหนักตัวเพิ่มขึ้น ซึ่งต่างจากยากกลุ่ม conventional ที่ทำให้น้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นน้อยกว่า ยาที่ทำให้เกิดปัญหาน้ำหนักตัวเพิ่มมากที่สุดและบ่อยได้แก่ clozapine^(38,41-51), olanzapine⁽⁴²⁻⁵¹⁾, risperidone^(19,51-56), quetiapine⁽⁵⁰⁾ ยา กลุ่ม conventional ทำให้น้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นได้ แต่ไม่มากและบ่อยเท่า clozapine, olanzapine หรือ risperidone ส่วนยารักษาโรคจิตที่มีผลต่อน้ำหนักตัวค่อนข้างน้อยคือ quetiapine^(47,57), หรือไม่เพิ่มขึ้นเลยได้แก่

ziprasidone^(19,55,58,59) และ aripiprazole^(45,58-62) การที่ยารักษาโรคจิตมีผลทำให้น้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นจะเกิดผลเสียมากมายต่อสุขภาพของผู้ป่วย รวมทั้งเป็นปัจจัยเสี่ยงของโรคหัวใจ โรคข้อเข่า ความดันโลหิตสูง insulin resistance เบาหวาน เป็นต้น จึงอาจจำเป็นต้องให้ความรู้แก่ผู้ป่วย รวมทั้งให้ผู้ป่วยควบคุมอาหาร ออกกำลังกาย เป็นต้น ยากลุ่ม atypical ที่ทำให้น้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นจากน้อยไปหามากคือ ziprasidone < aripiprazole << risperidone ≤ quetiapine <<< olanzapine << clozapine ผลของยารักษาโรคจิตต่อการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัวเมื่อใช้ขนาดมาตรฐานเป็นเวลา 10 สัปดาห์ แสดงอยู่ในรูปที่ 1 ข้างล่างนี้

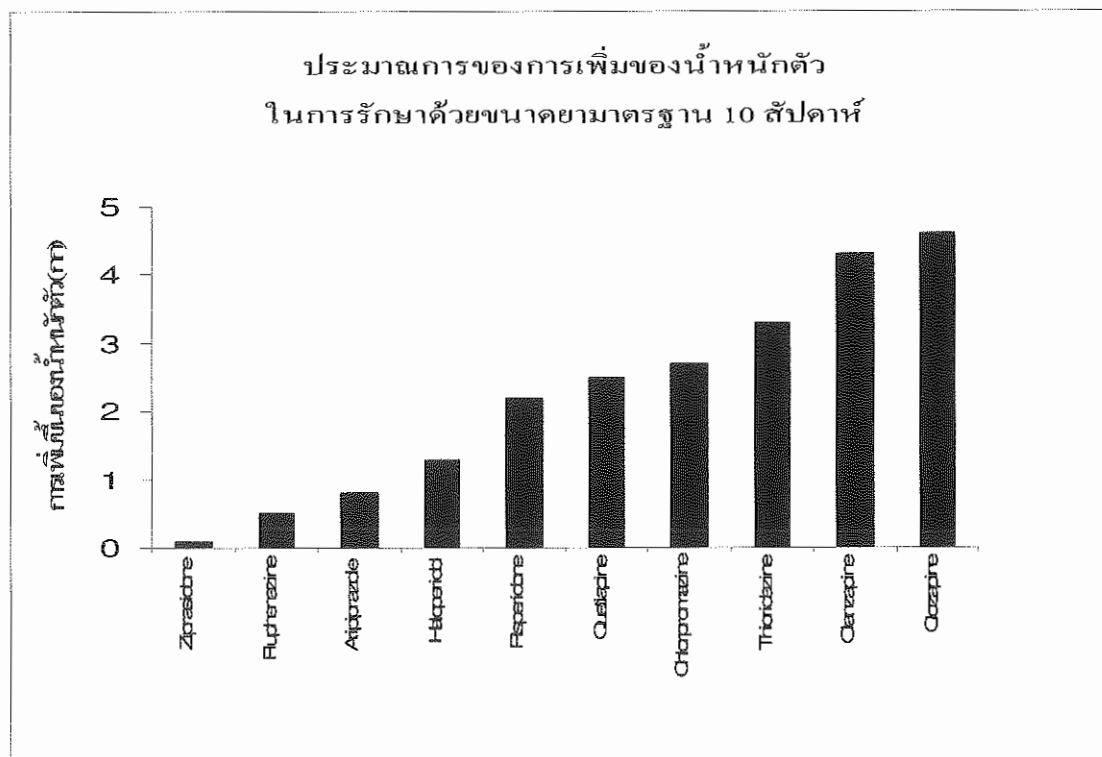
โดยทั่วไป การรักษาโรค schizophrenia ด้วย ziprasidone จะทำให้น้ำหนักตัวผู้ป่วยเพิ่มขึ้นน้อยมาก Allison และคณะ (1999)⁽⁵²⁾ วิเคราะห์ผลการรักษาที่ตีพิมพ์ในวารสารต่างๆ พบว่า การใช้ ziprasidone เป็นเวลา 10 สัปดาห์ทำให้น้ำหนักตัวผู้ป่วยเพิ่มขึ้นประมาณ 0.04 กก. ในการศึกษาที่ใช้ยา ziprasidone เป็นเวลา 6 สัปดาห์เพื่อระงับอาการเฉียบพลันของ schizophrenia หรือ schizoaffective disorder พบว่า ziprasidone ขนาด 80 มก./วัน เพิ่มน้ำหนักของผู้ป่วยประมาณ 1 กก. แต่ในขนาด 16 มก./วัน กลับไม่เพิ่มน้ำหนักตัวของผู้ป่วย⁽⁷⁾

การศึกษาเพื่อเปรียบเทียบผลต่อดัชนีมวลกาย (body mass index) ของ ziprasidone และ olanzapine ในระหว่างการรักษาผู้ป่วย schizophrenia หรือ schizoaffective disorder 269 ราย นาน 6 สัปดาห์พบว่า ziprasidone เพิ่มน้ำหนักตัวของผู้ป่วย 0.5 กก. ในขณะที่ olanzapine เพิ่มน้ำหนักตัวผู้ป่วย 3.3 กก. เทียบกับก่อนการรักษา⁽⁶²⁾ การรักษาผู้ป่วยนอก schizophrenia ที่มีอาการคงตัวเป็นเวลา 28 สัปดาห์ ziprasidone ทำให้น้ำหนักตัวผู้ป่วยเพิ่มขึ้น 0.31 กก. ซึ่งใกล้เคียงกับ haloperidol ที่เพิ่มน้ำหนักตัวผู้ป่วย 0.22 กก.⁽¹¹⁾ การใช้ ziprasidone เพื่อรักษาผู้ป่วย schizophrenia ที่มีอาการเรื้อรังนาน 1 ปี พบว่า ziprasidone ขนาด 40, 80 และ 160 มก./วัน ทำ

ให้น้ำหนักตัวผู้ป่วยลดลงจากก่อนการรักษา 2.7, 3.2 และ 2.9 กก. ตามลำดับ⁽¹⁰⁾ ส่วนการศึกษาที่มีการเปลี่ยนยาที่ใช้จาก olanzapine หรือ risperidone มาเป็น ziprasidone และใช้ ziprasidone ต่อเป็นเวลา 6 สัปดาห์จะทำให้น้ำหนักตัวผู้ป่วยลดลง 1.76 และ 0.86 กก. จากก่อนการเปลี่ยนยาตามลำดับ⁽²¹⁾ การศึกษาของ Cohen และคณะ (2003)⁽⁶³⁾ ที่ผู้ป่วยที่มีการพัฒนาการของสมองช้า (mental retardation) หรือมีพฤติกรรมที่ผิดปกติ (behavioral disturbances) 40 ราย ในจำนวนนี้มีผู้ป่วย 36 รายที่แพทย์เปลี่ยนยามาเป็น ziprasidone เนื่องจากผู้ป่วยมีน้ำหนักตัวเพิ่มมากหรือไม่ตอบสนองต่อยา ผู้ป่วย 28 รายเคยได้รับยา risperidone มี 5 รายที่เคยได้รับ quetiapine มี 2 รายที่เคยได้รับ olanzapine และ 1 รายเคยได้รับ haloperidol ร่วมกับ clozapine โดยเฉลี่ยแล้ว ผู้ป่วยเหล่านี้มีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้น 1.8 กก. ก่อนที่จะได้รับ ziprasidone หลังจากที่ได้รับยา ziprasidone แล้ว 6 เดือน น้ำหนักตัวผู้ป่วยลดลงเฉลี่ย 3.6 กก. และเป็นการลดลงของน้ำหนักอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสอดคล้องกับงานทบทวนวรรณกรรมที่เสนอโดย Newcomer (2005)⁽⁶⁴⁾

การเพิ่มไขมันในเลือด

ยารักษาโรคจิตส่วนใหญ่สามารถเพิ่มไขมันชนิดต่างๆ ในเลือดได้ เช่น triglycerides, low-density lipoprotein (LDL), total cholesterol, แต่อาจลด high-density lipoprotein (HDL) ซึ่งจะทำให้เกิดผลเสียหรือเป็นปัจจัยเสี่ยงของการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด ความดันโลหิตสูง เป็นต้น ยารักษาโรคจิตที่เพิ่มระดับไขมันในเลือดได้มากคือ ยารักษาโรคจิตกลุ่ม low potency, conventional antipsychotics เช่น chlorpromazine และ thioridazine⁽⁷⁸⁻⁸⁰⁾ และยากลุ่ม atypical เช่น clozapine และ olanzapine^(72,78-89) รองลงมาได้แก่ quetiapine^(72,81,83,89) ยารักษาโรคจิตที่เพิ่มระดับไขมันในเลือดน้อยได้แก่ risperidone^(72,81,82,84,86) และที่ไม่พบรายงานว่าทำให้ไขมันในเลือดสูงคือ ziprasidone และ aripiprazole^(62,68,82,89) หรือ haloperidol⁽⁸²⁾ นอกจากนี้ olanzapine ยังทำให้



รูปที่ 1. ผลของยาโรคจิตต่อการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัวเมื่อใช้ขนาดมาตรฐานเป็นเวลา 10 สัปดาห์

หลอดเลือดแข็งตัวได้สูงถึง 33% อีกด้วย⁽⁸⁷⁾ ในการทบทวนการศึกษาซ้อนหลังการใช้ ziprasidone เพื่อรักษาผู้ป่วยที่มีการพัฒนาการของสมองช้า 40 รายพบว่า ในช่วง 6 เดือนที่รักษานั้น ziprasidone เปลี่ยนแปลงระดับของ fasting HDL- และ LDL-cholesterol น้อยมาก แต่จะลด fasting triglyceride และ total cholesterol อย่างมีนัยสำคัญ⁽⁸⁹⁾ การศึกษาที่ให้ผู้ป่วยเปลี่ยนการรักษาจากยาโรคจิตอื่นมาเป็น ziprasidone พบว่าทำให้ random non-fasting serum cholesterol และ triglyceride ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ โดยที่การลดลงของไขมันเหล่านี้ไม่สัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของดัชนีมวลกาย⁽⁹⁰⁾ จากการทบทวนการศึกษาทางคลินิกระยะสั้นของ ziprasidone ในการรักษา schizophrenia ได้รายงานว่า ziprasidone ทำให้ระดับของ total cholesterol และ triglyceride ลดลงจากก่อนการรักษาอย่างมีนัยสำคัญ และลดลงมากกว่าผู้ป่วยที่ได้รับ olanzapine อย่างมีนัยสำคัญ⁽⁹¹⁾ ซึ่งผลนี้สอดคล้องกับผลที่ได้จาก

การศึกษาระยะสั้น 6 สัปดาห์ที่พบว่า ziprasidone เปลี่ยนแปลงระดับของ fasting total cholesterol, LDL-cholesterol และ triglyceride ของผู้ป่วยเพียงเล็กน้อยจากก่อนการรักษา ซึ่งต่างจาก olanzapine ที่ทำให้ระดับไขมันเหล่านี้เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ยาทั้งสองนี้เปลี่ยนแปลงระดับของ HDL-cholesterol เพียงเล็กน้อยและไม่แตกต่างกันระหว่างยาทั้งสอง⁽⁶²⁾ การศึกษาผลต่อไขมันในผู้ป่วย schizophrenia หรือ schizo-affective disorder ที่เปลี่ยนยาจากยาโรคจิตกลุ่ม conventional หรือ olanzapine หรือ risperidone มาเป็นได้รับ ziprasidone 6 สัปดาห์เนื่องจากผลการรักษาไม่น่าพอใจ หรือผู้ป่วยทนต่อผลข้างเคียงของยาเหล่านั้นไม่ได้นั้น หลัง 6 สัปดาห์ระดับ non-fasting triglyceride ลดลงอย่างมีนัยสำคัญมากกว่าขณะได้รับ olanzapine (-50 มก./คล.) และขณะได้รับ risperidone (-29 มก./คล.) ส่วนระดับของ non-fasting total cholesterol ก็ลดลงอย่างมีนัยสำคัญกว่าในขณะที่ได้รับ olanzapine (-17 มก./

คล.) และในขณะที่ได้รับ risperidone (-12 มก./คล.) แต่ระดับของไขมันของผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วยยา รักษาโรคจิตกลุ่ม conventional ก่อนหน้านี้จะไม่แตกต่างจากเมื่อเปลี่ยนมาใช้ ziprasidone⁽⁸⁹⁾ ขณะนี้ ยังไม่ทราบกลไกที่แน่ชัดว่ายา รักษาโรคจิตเพิ่มไขมัน ในเลือดได้อย่างไร แต่คาดว่าน่าจะมีส่วนสัมพันธ์กับฤทธิ์ในการเพิ่มน้ำหนักตัว เพิ่มกลูโคสในเลือด หรือ การเพิ่ม prolactin เนื่องจากยารักษาโรคจิตที่เพิ่ม ไขมันในเลือดส่วนใหญ่ต่างก็สามารถเพิ่มน้ำหนักตัว กลูโคสและ prolactin ในเลือดได้ ในเวลาเดียวกัน ฤทธิ์เหล่านี้ทำให้เกิดผลเสียโดยทำให้เกิดโรคของ ระบบหัวใจและหลอดเลือด โรค เบาหวาน เกิดความ ผิดปกติต่อระบบสืบพันธุ์ และมีผลต่อความรู้สึกหรือ สมรรถนะทางเพศได้ทั้งหญิงและชาย ผู้ป่วยบางราย อาจจำเป็นต้องได้รับยาลดไขมันในเลือดร่วมกับยา รักษาโรคจิตเพื่อควบคุมไม่ให้ระดับไขมันในเลือด สูงเกินไป

การเพิ่มระดับ prolactin

มียารักษาโรคจิตหลายตัวที่ทำให้ระดับของ สอร์โโมน prolactin ในเลือดของผู้ป่วยสูงขึ้นอย่าง ต่อเนื่อง (persistent hyperprolactinemia) ผลนี้ทำให้ แพทย์หลายท่านวิตกว่าอาจเป็นสาเหตุของมะเร็งเต้านมในภายหลังได้ อาการอื่นที่เกิตร่วมได้แก่ การมี ความผิดปกติของรอบเดือนและระบบสืบพันธุ์ การ เป็นหมันในขณะที่ใช้ยาอยู่ อาการน้ำหนักไม่ลด ตลอดเวลา ช่องคลอดแห้ง มีความรู้สึกทางเพศลดลง น้ำหนักตัวเพิ่มขึ้น ความหนาแน่นของกระดูกลดลง มีระดับสอร์โโมนเพศหญิง estrogen ลดลง ผลที่ เกิดในผู้ชายได้แก่ อวัยวะเพศไม่แข็งตัว หย่อน สมรรถภาพทางเพศ ความรู้สึกทางเพศลดลง มีการ สร้าง sperm ลดลง⁽⁹²⁾ ยาที่ทำให้ระดับ prolactin ใน เลือดสูงขึ้น ได้แก่ ยารักษาโรคจิตกลุ่ม conventional⁽⁹²⁻⁹⁵⁾ เช่น haloperidol^(92,96) ยารักษาโรค จิตกลุ่ม atypical ที่ทำให้ระดับ prolactin เพิ่มขึ้นคือ risperidone^(71,92,94,96,97) ส่วนยารักษาโรคจิตที่ไม่เพิ่ม หรือเพิ่มระดับ prolactin ค่อนข้างน้อย ได้แก่ clozapine^(92,94,95), quetiapine^(92,94-96), olanzapine⁽⁹³⁻

^{95,98)}, ziprasidone^(92,94,95), aripiprazole^(95,99) กลไก สำคัญที่ทำให้ระดับของ prolactin ในเลือดสูงขึ้นคือ การที่ยารักษาโรคจิตสั้กักกัน D₂ receptor ใน tuberoinfundibular system ทำให้มีการหลั่งของ prolactin release inhibitory hormone ลดลงการหลั่ง ของ prolactin จึงสูงขึ้น ซึ่งอาจสูงขึ้นได้ 6-10 เท่าเมื่อ ใช้ยารักษาโรคจิตกลุ่ม conventional ซึ่งมีฤทธิ์สั้กัก กัน D₂ receptor มาก ยารักษาโรคจิตกลุ่ม atypical (ยกเว้น risperidone) ซึ่งมีฤทธิ์สั้กักกัน D₂ receptor ไม่สูงนัก ประกอบกับการมีฤทธิ์ในการสั้กักกัน 5-HT₂ receptor ร่วมด้วย ซึ่งมีส่วนช่วยในการต้านฤทธิ์ การเพิ่ม prolactin ที่เกิดจากการสั้กักกัน D₂ receptor หรือขึ้นกับอัตราส่วนความสามารถในการจับกับ 5-HT₂:D₂ (5-HT₂:D₂ binding ratio)⁽⁹⁴⁾ จึงทำให้ยารักษา โรคจิตกลุ่ม atypical มีฤทธิ์ในการเพิ่มระดับ prolactin ในเลือดได้น้อย

Sexual dysfunction

ยารักษาโรคจิตทำให้เกิด sexual dysfunction ได้เกือบทุกตัว มีรายงานว่ายารักษาโรคจิตกลุ่ม atypical เช่น olanzapine, risperidone, quetiapine ก็ ทำให้เกิดปัญหานี้ได้เช่นเดียวกันและในอัตรา เดียวกันกับ haloperidol⁽⁹⁶⁾ แต่รายงานส่วนใหญ่ พบว่ายารักษาโรคจิตกลุ่ม atypical ครอบคลุม sexual function หรือมีผลข้างเคียงต่อระบบสืบพันธุ์ต่ำกว่า ยารักษาโรคจิตกลุ่ม conventional มาก (ดูผลต่อ ระดับ prolactin ข้างบน)

สรุป

ziprasidone เป็น atypical antipsychotic ที่มี ประสิทธิภาพสูงในการควบคุม positive และ negative symptomis ของผู้ป่วย schizophrenia นอกจากนั้นยังสามารถใช้ได้ดีกับผู้ป่วย schizo-affective disorder รวมทั้งยังช่วยบรรเทาอาการวิตก กังวลและซึมเศร้าที่เกิดขึ้นกับผู้ป่วยเหล่านี้ zipra-sidone มีผลข้างเคียงค่อนข้างน้อย เนื่องจากยานี้ทำให้เกิด EPS ค่อนข้างต่ำ ไม่ทำให้น้ำหนักตัวเพิ่ม ไม่ ครอบคลุมระดับของกลูโคส ไขมัน และ prolactin

ในเลือด ผู้ป่วยจึงให้การยอมรับยานี้ดี ซึ่งสะท้อนให้เห็นจากการที่ผู้ป่วยให้ความร่วมมือกับการรักษาด้วยยานี้ดี มีอัตราการเลิกใช้ยาก่อนข้างต่ำ และการต้องกลับเข้ารับรักษาในโรงพยาบาลต่ำกว่ายารักษาโรคจิตอื่นๆ

เอกสารอ้างอิง

- Schmidt AW, Lebel LA, Howard HR Jr, Zom SH. Aiprasidone: a novel antipsychotic agent with a unique human receptor binding profile. *Eur J Pharmacol* 2001; 425(3):197-201.
- Millan MJ. Improving the treatment of schizophrenia: focus on serotonin (5-HT)_(1A) receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 2000; 295(3):853-61.
- Goodson WH, Litkenhous EE Jr. Sudden unexplained death in a psychiatric patient taking thioridazine. *South Med J* 1976; 69: 311, 315, 320.
- Mueser KT, McGurk SR. Schizophrenia. *Lancet* 2004; 363:2063-72.
- Alam DA, Janicak PG. The role of psychopharmacotherapy in improving the long-term outcome of schizophrenia. *Essent Psycho-pharmacol* 2005; 6:127-40.
- Goff DC, Posever T, Herz L, Simmons J, Kletti N, Lapierre K, Wilner KD, Law CG, Ko GN. An exploratory, haloperidol-controlled, dose-finding study of ziprasidone in hospitalized patients with schizophrenia or schizoaffective disorders. *J Clin Psychopharmacol* 1998; 18:296-304.
- Keck P Jr, Buffenstein A, Ferguson J, Feighner J, Jaffe W, Harrigan EP, Morrissey MR. Ziprasidone 40 and 120 mg/day in the acute exacerbation of schizophrenia and schizoaffective disorders: a 4-week placebo-controlled trial. *Psychopharmacology (Berl)* 1998; 140: 173-84.
- Daniel DG, Zimbroff DL, Potkin SG, Reeves KR, Harrigan, Laksh-minarayanan M. Ziprasidone 80 mg/day and 160 mg/day in the acute exacerbation of schizophrenia and schizoaffective disorder: a 6-week placebo-controlled trial. *Neuro-psychopharmacology* 1999; 20:491-505.
- Keck PE Jr, Reeves KR, Harrigan EP and the Ziprasidone Study Group. Ziprasidone in the short-term treatment of patients with schizoaffective disorder: Results from two doubleblind, placebo-controlled, multicenter studies. *J Clin Psychopharmacol* 2001; 21:27-35.
- Addington DE, Pantelis C, Dineen M, Bemettia I, Romano SJ. Efficacy and tolerability of ziprasidone versus risperidone in patients with acute exacerbation of schizophrenia or schizoaffective disorder: an 8-weeks, double-blind, multicenter trial. *J Clin Psychiatry* 2004; 65:1624-33.
- Arato M, O'Connor R, Meltzer HY, ZEUS Study Group. A 1-year, doubleblind, placebocontrolled trial of ziprasidone 40, 80 and 160 mg/day in chronic schizophrenia: the Ziprasidone Extended Use in Schizophrenia (ZEUS) study. *Int Clin Psychopharmacol* 2002; 17:207-15.
- Hirsch SR, Kissling W, Banml J, Power A, O'Connor R. A 28-week comparison of ziprasidone and haloperidol in outpatients with stable schizophrenia. *J Clin Psychiatry* 2002; 63:516-23.
- Arango C, Gomez-Beneyto M, Brenlla J, Gasto C, Sarraimea-Crespo, Chamorro L, Masramon X, Diez T on behalf of the ZIS Study Group. A 6-month prospective, observational, naturalistic, uncontrolled study to evaluate the effectiveness and tolerability of oral ziprasidone in patients with schizophrenia. *Eur Neuropsychopharmacol* 2007; 17(6-7):456-63.
- Murray S, Siu CO, Romano SJ. Optimal dosing of oral aiprasidone: clinical trial data. Presented at the 54th Annual Meeting

- of the Institute on Psychiatric Services; October 29-November 2, 2003; Boston, MA.
15. Masand PS, Nemeroff CB, Lieberman JA, Weiden PJ, Harvey PD, Newcomer JW, Schatzberg AF, Kells CD, Daniel DG. From clinical research to clinical practice: a 4-year review of ziprasidone. *CNS Spectr* 2005; 10 (11 Suppl 17):1-19.
16. Murray S, Mandel FS, Loebel A. Optimal initial dosing of ziprasidone: clinical trial data. Presented at the 157th Annual Meeting of the American Psychiatric Association; May 1-6, 2004; New York, NY.
17. Joyce AT, Harrison DJ, Loebel AD, Carter CT, Ollendorf DA. Effect of initial ziprasidone on length of therapy in schizophrenia. *Schizophr Res* 2006; 83:2 85-92.
18. Mullins CD, Shaya FT, Magno Zito J, Obeidat N, Naradzy J, Harrison DJ. Effect of initial ziprasidone dose on treatment persistence in schizophrenia. *Schizophr Res* 2006; 83: 277-84.
19. Simpson GM, Glick ID, Weiden PJ, Romano SJ, Siu CO. Randomized, controlled, double-blind multicenter comparison of the efficacy and tolerability of ziprasidone and olanzapine in acutely ill patients with schizophrenia or schizoaffective disorder. *Am J Psychiatry* 2004; 161: 1837-47.
20. Addington DE, Pantelis C, Dineen M, Benattia I, Romano SJ. Efficacy and tolerability of ziprasidone versus risperidone in patients with acute exacerbation of schizophrenia or schizoaffective disorder: an 8-weeks, double-blind, multicenter trial. *J Clin Psychiatry* 2004; 65: 1624-33.
21. Simpson GM, Weiden PJ, Pigott T, Murray S, Siu CO, Romano SJ. Six-month, blinded, multicenter continuation study of ziprasidone versus olanzapine in schizophrenia. *Am J Psychiatry* 2005; 162:1535-8.
22. Addington DE, Pantelis C, Dineen M, Benattia I, Romano SJ, Murray SR. Ziprasidone vs risperidone in schizophrenia: 52 weeks' comparative data. Presented at the 156th annual meeting of the American Psychiatric Association; May 17-22, 2003; San Francisco, California.
23. Weiden PJ, Simpson GM, Potkin SG, O'Sullivan RL. Effectiveness of switching to ziprasidone for stable but symptomatic outpatients with schizophrenia. *J Clin psychiatry* 2003; 64:580-8.
24. Loebel A, Siu C, Romano S. Improvement in prosocial functioning after a switch to ziprasidone treatment. *CNS Spectr* 2004; 9: 357-63.
25. Harvey PD, Meltzer HY, Simpson GM, Potkin SG, Loebel A, Siu C, Romano SJ. Improvement in cognitive function following a switch to ziprasidone from conventional antipsychotics, olanzapine, or risperidone in outpatients with schizophrenia. *Schizophr Res* 2004; 66:101-14.
26. Suppes T, Dennehy EB, Hirschfeld RM, et al. The Texas Implementation Algorithms: update to the algorithms for treatment of bipolar I disorder. *J Clin Psychiatry* 2005; 66: 870-86.
27. Practice guideline for the treatment of patients with bipolar disorder (revision). *Am J Psychiatry* 2002; 159(4 suppl): 1-50.
28. Gerlach J. Improving outcome in schizophrenia: the potential importance of EPS and neuroleptic dysphoria. *Ann Clin Psychiatry* 2002; 14:47-57.
29. Goodson WH, Likelihood EE Jr. Sudden unexplained death in a psychiatric patient taking thioridazine. *South Med J* 1976; 69:311, 315, 320.
30. Lipscomb PA. Cardiovascular side effects of phenothiazines and tricyclic antidepressants. A review with precautionary

- measures. *Postgrad Med* 1980; 67: 189-92, 195-6.
31. Liberatore MA, Robinson DS. Torsade de pointes: a mechanism for sudden death associated with neuroleptic drug therapy? *J Clin Psychopharmacol* 1984; 4:143-6.
 32. Donatini B, Le Blaye I, Krupp P. Transient cardiac pacing is insufficiently used to treat arrhythmia associated with thioridazine. *Cardiology* 1992; 81: 340-1.
 33. Buckley NA, Whyte IM, Dawson AH. Cardiotoxicity more common in thioridazine overdose than with other neuroleptics. *J Toxicol Clin Toxicol* 1995; 33:199-204.
 34. Buckley NA, Sanders P. Cardiovascular adverse effects of antipsychotic drugs. *Drug Saf* 2000; 23: 215-28.
 35. Glassman AH, Bigger JT Jr. Antipsychotic drugs: prolonged QTc interval, torsade de pointes, and sudden death. *Am J Psychiatry* 2001; 158: 1774-82.
 36. Haddad PM, Anderson IM. Antipsychotic-related QTc prolongation, torsade de pointes and sudden death. *Drugs* 2002; 62:1649-71.
 37. Labellarte MJ, Crosson JE, Riddle MA. The relevance of prolonged QTc measurement to pediatric psychopharmacology. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2003; 42: 642-50.
 38. King DJ, Wagner E. Haematological safety of antipsychotic drugs. *J Psychopharmacol* 1998; 12:283-8.
 39. Levoyer D, Martinet JP, Badiche A, Millet B. Ten years of clinical experience with clozapine about 170 patients. *Encephale* 2004; 30:285-95.
 40. Gaszner P, Makkos Z, Kosza P. Agranulocytosis during clozapine therapy. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2002; 26:603-7.
 41. Munro J, O'Sullivan D, Andrews C, Arana A, Mortimer A, Kerwin R. Active monitoring of 12,760 clozapine recipients in the UK and Ireland. Beyond pharmacovigilance. *Br J Psychiatry* 1999; 175: 576-80.
 42. Covell NH, Weissman EM, Essock SM. Weight gain with clozapine compared to first generation antipsychotic medications. *Schizophr Bull* 2004; 30:229-40.
 43. Lambert M, Haro JM, Novick D, Edgell ET, Kennedy L, Ratcliffe M, Naber D. Olanzapine vs other antipsychotics in actual out-patient settings: six months tolerability results from the European Schizophrenia Out-patient Health Outcomes study. *Acta Psychiatr Scand* 2005; 111: 232-43.
 44. Potenza MN, Holmes JP, Kanes SJ, McDougale CJ. Olanzapine treatment of children, adolescents, and adults with pervasive developmental disorders: an open-label pilot study. *J Clin Psychopharmacol* 1999; 19:37-44.
 45. Hennen J, Pertis RH, Sachs G, Tohen M, Baldessarini RJ. Weight gain during treatment of bipolar I patients with olanzapine. *J Clin Psychiatry* 2004; 65:1679-87.
 46. McQuade RD, Stock E, Marcus R, Jody D, Gharbia NA, Vanveggel S, Archibald D, Carson WH. A comparison of weight change during treatment with olanzapine or aripiprazole. *J Clin Psychiatry* 2004; 65 Suppl 18:47-56.
 47. Murashita M, Kusami I, Inoue T, Takahashi Y, Hosoda H, Kangawa K, Koyama T. Olanzapine increases plasma ghrelin level in patients with schizophrenia. *Psychoneuroendocrinology* 2005; 30:106-10.
 48. Patel NC, Kistler JS, James EB, Crismon ML. A retrospective analysis of the short-term effects of olanzapine and quetiapine. *Pharmacotherapy* 2004; 24:824-30.
 49. Lee E, Leung CM, Wong E. Atypical antipsychotics and weight gain in Chinese

- patients: a comparison of olanzapine and risperidone. *J Clin Psychiatry* 2004; 65:564-6.
50. Haberfellner EM, Rittmannsberger H. Weight gain during long-term treatment with olanzapine: a case series. *Int Clin Psychopharmacol* 2004; 19: 251-3.
51. Lasser RA, Mao L, Gharabawi G. Smokers and nonsmokers equally affected by olanzapine-induced weight gain: metabolic applications. *Schizophr Res* 2004; 66: 163-7.
52. Ascher-Svanum H, Stenstand M, Zhao Z, Kinon BJ. Acute weight gain, gender, and therapeutic response to antipsychotics in the treatment of patients with schizophrenia. *BMC Psychiatry* 2005; 5:3.
53. Allison DB, Mentore JL, Heo M, Chandler LP, Capelleri JC, Infante MC, Weiden PJ. Antipsychotic-induced weight gain: a comprehensive research synthesis. *Am J Psychiatry* 1999; 156: 1686-96.
54. Werapongset W, Chaisirikul S, Chrujiorn W, Visanuyothin T, Kassawai D, Charisilp C, Ratanachata N, Sanichwannakul K, Wangdee P, Bunditchate A, Ukranand P. Efficacy and tolerability of risperidone in chronic schizophrenic Thai patients. *J Med Assoc Thai* 1998; 81: 324-8.
55. Mnkaddes NM, Abali O, Gurkan K. Short-term efficacy and safety of risperidone in young children with autistic disorder (AD). *World J Biol Psychiatry* 2004; 5: 211-4.
56. Safer DJ. A comparison of risperidone-induced weight gain across age span. *J Clin Psychopharmacol* 2004; 24: 429-36.
57. Gupta S, Masand PS, Virk S, Schwartz T, Hameed A, Frank BL, Lockwood K. Weight decline in patients switching from olanzapine to quetiapine. *Schizophr Res* 2004; 70:57-62.
58. Ananth J, Parameswaran S, Gunatilake S. Side effects of atypical antipsychotic drugs. *Curr Pharm Des* 2004; 10: 2219-29.
59. Stigler KA, Potenza MN, Posey DJ, McDougle CJ. Weight gain associated with atypical antipsychotic use in children and adolescents: prevalence, clinical relevance, and management. *Paediatr Drugs* 2004; 6:33-44.
60. DeLeon A, Patel NC, Crismon ML. Aripiprazole: a comprehensive review of its pharmacology, clinical efficacy, and tolerability. *Clin Ther* 2004; 26:649-66.
61. Lieberman JA. Dopamine partial agonists: a new class of antipsychotic. *CNS Drugs* 2004; 18: 251-67.
62. Argo TR, Camahan RM, Perry PJ. Aripiprazole, a novel atypical antipsychotic drug. *Pharmacotherapy* 2004; 24: 212-28.
63. Glick ID, Romano SJ, Simpson G, et al. Insulin resistance in olanzapine- and ziprasidone-treated patients: results of a double-blind, controlled 6-week trial. Presented at the *Annual Meeting of the American Psychiatric Association*, May 5-10, 2001; New Orleans, LA.
64. Cohen S, Fitzgerald B, Okos A, Khan S, Khan A. Weight, lipids, glucose, and behavioral measures with ziprasidone treatment in a population with mental retardation. *J Clin Psychiatry* 2003; 64: 60-2
65. Newcomer JW. Second-generation (atypical) antipsychotics and metabolic effects: A comprehensive literature review. *CNS Drugs* 2005; 19 Suppl. 1:1-93.
66. Newcomer JW. Abnormalities of glucose metabolism associated with atypical antipsychotic drugs. *J Clin Psychiatry* 2004; 65 Suppl 18: 36-46.
67. Henderson DC. Atypical antipsychotic-induced diabetes mellitus: how strong is the evidence? *CNS Drugs* 2002; 16:77-89.
68. Wu G, Dias P, Chun W, Li G, Kumar S, Singh S. Hyperglycemia, hyperlipidemia, and periodic paralysis: a case report of new side effects of clozapine. *Prog*

- Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2000; 24:1395-400.
69. Liebrecht KA, Markowitz JS, Caley CF. New onset diabetes and atypical antipsychotics. *Eur Neuropsychopharmacol* 2001; 11:25-32.
 70. Gianfrancesco F, White R, Wang RH, Nasrallah HA. Antipsychotic-induced type 2 diabetes: evidence from a large health plan database. *J Clin Psychopharmacol* 2003; 23:328-35.
 71. Kropp S, Grohmann R, Hauser U, Ruther E, Degner D. Hyperglycemia associated with antipsychotic treatment in a multicenter drug safety project. *Pharmacopsychiatry* 2004; 37 Suppl 1: S79-83.
 72. Melkersson K, Dahl ML. Adverse metabolic effects associated with atypical antipsychotics: literature review and clinical implications. *Drugs* 2004; 64:701-23.
 73. Lu MI, Lane HY, Lin SK, Chen KP, Chang WH. Adjunctive fluvoxamine inhibits clozapine-related weight gain and metabolic disturbances. *J Clin Psychiatry* 2004; 65:766-71.
 74. Wirshing DA, Pierre JM, Eyeler J, Weinbach J, Wirshing WC. Risperidone-associated new-onset diabetes. *Biol Psychiatry* 2001; 50:148-9.
 75. Hedenmalm K, Hagg S, Stahl M, Mortimer O, Spigset O. Glucose intolerance with atypical antipsychotics. *Drug Saf* 2002; 25:1107-16.
 76. Daniel DG. Tolerability of ziprasidone: an expanding perspective. *J Clin Psychiatry* 2003; 64 Suppl 19: 40-9.
 77. Lund BC, Perry PJ, Brooks JM, Arndt S. Clozapine use in patients with schizophrenia and the risk of diabetes, hyperlipidemia, and hypertension: a claims-based approach. *Arch Gen Psychiatry* 2001; 58:1172-6.
 78. Stimmel GL, Gutierrez MA, Lee V. Ziprasidone: an atypical antipsychotic drug for the treatment of schizophrenia [review]. *Clin Ther* 2002; 24: 21-37.
 79. Alexopoulos GS, Streim J, Carpenter D, Docherty JP; Expert Consensus Panel for Using Antipsychotic Drugs in Older Patients. Using antipsychotic agents in older patients. *J Clin Psychiatry* 2004; 65 Suppl 2: 5-99.
 80. Meyer JM, Koro CE. The effects of antipsychotic therapy on serum lipids: a comprehensive review. *Schizophr Res* 2004; 70:1-17.
 81. Ghaeli P, Dufresne RL. Elevated serum triglycerides with clozapine resolved with risperidone in four patients. *Pharmacotherapy* 1999; 19: 1099-101.
 82. Haupt DW, Newcomer JW. Hyperglycemia and antipsychotic medication. *J Clin Psychiatry* 2001; 62 Suppl 27:15-26.
 83. Meyer JM. Novel antipsychotics and severe hyperlipidemia. *J Clin Psychiatry* 2001; 21: 369-74.
 84. Baptista T, Kin NM, Beaulieu S, de Baptista EA. Obesity and related metabolic abnormalities during antipsychotic drug administration: mechanisms, management and research perspectives. *Pharmacopsychiatry* 2002; 35: 205-19.
 85. Koro CE, Fedder DO, L'Italien GJ, Weiss S, Magder LS, Kreyenbuhl J, Revicki D, Buchanan RW. An assessment of the independent effects of olanzapine and risperidone exposure on the risk of hyperlipidemia in schizophrenic patients. *Arch Gen Psychiatry* 2002; 59:1021-6.
 86. Wirshing DA, Boyd JA, Meng LR, Ballon JS, Marder SR, Wirshing WC. The effects of novel antipsychotics on glucose and lipid levels. *J Clin Psychiatry* 2002; 63: 856-63.
 87. Almeras N, Despres JP, Villeneuve J, Demers MF, Roy MA, Cardin C, Mottard JP, Bouchard RH. Development of an

- atherogenic metabolic risk factor profile associated with the use of atypical antipsychotics. *J Clin Psychiatry* 2004; 65:557-64.
88. Cassey DE. Dyslipidemia and atypical antipsychotic drugs. *J Clin Psychiatry* 2004; 65 Suppl 18:27-35.
89. Nasrallah HA, Newcomer JW. Atypical antipsychotics are a major advance in the management of schizophrenia. *J Clin Psychiatry* 2004; 24(5 Suppl 1):S7-14.
90. Weiden PJ, Daniel DG, Simpson G, Romano SJ. Improvement in health indices of health status in outpatients with schizophrenia switched to ziprasidone. *J Clin Psychopharmacol* 2003; 23: 595-600.
91. Kingsbury SJ, Fayek M, Trufasiu D, Zada J, Simpson GM. The apparent effects of ziprasidone on plasma lipids and glucose. *J Clin Psychiatry* 2001; 62: 347-9.
92. Romano S, Cutler N, Weiden PJ, Simpson GM. Ziprasidone's effects on weight and lipids in patients with schizophrenia [abstract]. *Int J Neuropsychopharmacol* 2002; 5 Suppl 1:S171.
93. Petty RG. Prolactin and antipsychotic medications: mechanism of action. *Schizophr Res* 1999; 35(Suppl): S67-73.
94. Cassey DE. Side effects of new antipsychotic agents. *J Clin Psychiatry* 1996; 57(Suppl 11): 40-5.
95. Compton MT, Miller AH. Antipsychotic-induced hyperprolactinemia and sexual dysfunction. *Psychopharmacol Bull* 2002. 36:143-64.
96. Hadda PM, Wieck A. Antipsychotic-induced hyperprolactinemia: mechanisms, clinical features and management. *Drugs* 2004; 64: 2291-314.
97. Bobes J, Garc A-Portilla MP, Rejas J, Hernandez G, Garcia-Garcia M, Ricovillademoros F, Porras A. Frequency of sexual dysfunction and other reproductive side-effects in patients with schizophrenia treated with risperidone, olanzapine, quetiapine, or haloperidol: the results of the EIRE study. *J Sex Marital Ther* 2003; 29:125-47.
98. Kim KS, Pae CU, Chae JH, Bahk WM, Jun TY, Kim DJ, Dickson RA. Effects of olanzapine on prolactin levels of female patients with schizophrenia treated with risperidone. *J Clin Psychiatry* 2002; 63: 408-13.
99. Crawford AMK, Beasley CM Jr, Tollefson GD. The acute and long-term effect of olanzapine compared with placebo and haloperidol on serum prolactin concentrations. *Schizophr Res* 1997; 26: 41-54.
100. Green B. Focus on aripiprazole. *Curr Med Res Opin* 2004; 20: 207-13.

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 (font: 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

- (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 reved. 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.



สมาคมเวชวิทยาทานแห่งประเทศไทย

ใบสมัครเข้าเป็นสมาชิก

เขียนที่

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

นาย

ข้าพเจ้า นาง ชื่อสกุล.....

นางสาว

อาชีพ ขอสมัครเข้าเป็นสมาชิกสมาคมเวชวิทยาทานแห่งประเทศไทย
และขอรับรองว่า จะปฏิบัติตามระเบียบข้อบังคับของสมาคมทุกประการ

ข้าพเจ้ายินดีจะชำระค่าบำรุงสมาคมโดย

- ☐ เป็นรายปี ปีละ 200 บาทถ้วน
☐ ครั้งเดียว 1,000 บาทถ้วนสำหรับสมาชิกตลอดชีพ

ลงชื่อ

()

เรียน

รศ.สมใจ นครชัย

ภาควิชาเวชวิทยาทาน คณะเภสัชศาสตร์

มหาวิทยาลัยมหิดล

ถนนศรีอยุธยา

กทม. 1040

ทะเบียนประวัติ

นาย

1. ชื่อ ชื่อสกุล

นางสาว

ชื่อภาษาอังกฤษ (ตัวพิมพ์ใหญ่).....

2. เกิดวันที่ เดือน พ.ศ.

3. ตำแหน่งหน้าที่หรือตำแหน่งทางวิชาการ ในปัจจุบัน

4. สถานที่ทำงาน

.....

.....

..... โทรศัพท์/ แฟกซ์

e-mail address

5. ที่อยู่ปัจจุบัน

.....

.....

6. ประวัติการศึกษาชั้นอุดมศึกษา (เรียงลำดับจากวุฒิสูงสุด)

ปี พ.ศ.

ชื่อสถานศึกษา

วุฒิที่ได้รับ

.....

.....

.....

7. สาขาหรือแขนงวิชาที่สนใจหรือเชี่ยวชาญเป็นพิเศษ

.....

.....

.....

.....

the Solution for convenience
in the treatment
of colorectal cancer



OXITAN[®]
Oxaliplatin



บริษัท ดาเบอร์ ฟาร์มา (ไทยแลนด์) จำกัด
444 อาคารโอลิมเปียไทยทาวเวอร์ ชั้น 18 ถนนรัชดาภิเษก
แขวงสามเสนนอก เขตห้วยขวาง กรุงเทพฯ 10310 โทร. 0-2938-3121-2