



Thai Journal of Pharmacology

www.phartherst.or.th

วารสารเภสัชวิทยา

Official Publication of
Pharmacological and Therapeutic Society of Thailand

Contents

LETTER TO EDITOR

RESEARCH ARTICLES

Effects of New Synthetic Acyl Aniline and Acyl Aminopyridine Derivatives on Calcium Entry in Rat Vas Deferens

Anxiolytic-Like Effects of *Morinda citrifolia* L. (Noni) in Rats

REVIEWS

Considerations Before Prescribing Phenytoin

Role of Specific COX-2 Inhibitors in Cancer Prophylaxis and Treatment

Polycyclic Aromatic Hydrocarbons as Contaminant in Environment and Effect to Human Body

NEW DRUGS

Rheumatoid Arthritis, DMARDs and Sulfasalazine

PHARMACOLOGICAL DIGEST

May-Aug 2004, Vol.26, No.2

ISSN 0125-3832

Thai Journal of Pharmacology

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

Board of Editors

Editor Supatra Srichairat

Associate Editors Pravitt Akarasereenont Laddawal Phivthong-ngam
Somjai Nakornchai

Editorial Board

Adisak Wongkajornsilp
Amnuay Thithapandha
Borpit Klangkalya
Bunkerd Kongyingyoes
Chaichan Sangdee
Chandhanee Itthipanichpong
Chongkol Thiengda
Karnjana Ketsa-ard
Krongtong Yoovathaworn
Monthira Tankeyoon
Nongluk Sookvanichsilp

Nisamanee Satyapan
Pornpen Pramyothin
Prasan Dhumma-Upakorn
Prasert Songkittiguna
Sopit Thamaree
Sumana Chompootaweeep
Supeecha Wittayalerpanya
Srichan Phornchirasilp
Wacharee Limpanasitthikul
Wittaya Tonsuwonnont
Yupin Sanvarinda

Manager Supeecha Wittayalerpanya

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

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

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

วารสารเภสัชวิทยา (Thai Journal of Pharmacology) นี้เป็นลิขสิทธิ์ของสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย ไม่อนุญาตให้นำส่วนใดส่วนหนึ่งของเอกสารฉบับนี้ไปถ่ายเอกสาร ผลิตหรือพิมพ์ซ้ำ หรือนำไปใช้เพื่อประโยชน์ทางการค้าโดยปราศจากการยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรจากบรรณาธิการ

Thai Journal of Pharmacology

Vol. 26, No. 2, May-Aug 2004

Contents

89 EDITORIAL

91 LETTER TO EDITOR

RESEARCH ARTICLES

95 Effects of New Synthetic Acyl Aniline and Acyl Aminopyridine Derivatives on Calcium Entry in Rat Vas Deferens
Soratiya Charoensomprasong, Prasan Dhumma-upakorn, Chamnan Patarapanich and Suree Jianmongkol

105 Anxiolytic-like effects of *Morinda citrifolia* L. (noni) in rats
Sarinee Kalandakanond, Jantarima Pandaranandaga, Siripen Komolvanich and Sutthasinee Poonyachoti

REVIEWS

113 Considerations Before Prescribing Phenytoin
Chaichan Sangdee

127 Role of Specific COX-2 Inhibitors in Cancer Prophylaxis and Treatment
Nongnit Teerawatanasuk

139 Polycyclic Aromatic Hydrocarbons as Contaminant in Environment and Effect to Human Body
Suparat Watana and Supeechea Wittayalertpanya

NEW DRUGS

149 Rheumatoid Arthritis, DMARDs and Sulfasalazine
Nisamanee Satyapan

159 PHARMACOLOGICAL DIGEST

.....

บทบรรณาธิการ

เรียนท่านผู้อ่านและสมาชิกสมาคม

ฉบับนี้กว่าจะออกมาได้ก็คงอยู่ในช่วงเดือนตุลาคม เป็นเดือนแห่งการเริ่มต้นชีวิตใหม่ของ นักเภสัชวิทยาอาวุโสถึง 5 ท่านที่ได้เกษียณอายุราชการในปีนี้ 3 ท่านมาจากภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ได้แก่ รศ.ดร.ดวงดา กาญจนโพธิ์ รศ.ดร.อำไพ ปั่นทอง และ รศ.ดร.อัมพวัน อภิสิริยะกุล จากคณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อ.ทพ.ดร.วัฒนา คนธิคามี และ รศ.น.สพ.พีระพล อยู่สวัสดิ์ จากคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ทางสมาคมฯ ได้จัดเลี้ยงแสดงมุทิตาจิตแก่ท่านทั้ง 5 ในวันที่ 15 ตุลาคมนี้

ในวันพฤหัสบดีที่ 16 กันยายน 2547 ที่ผ่านมานักเภสัชวิทยาอาวุโส ผศ.นพ.สุวัฒน์ วิมลวัฒนาภักดิ์ จากภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล ได้จากไปอย่างสงบด้วยโรคมะเร็ง แม้จะรู้จักกันในช่วงเวลาอันสั้นๆ ดิฉันประทับใจในความเป็นคนดี สมถะ ซื่อตรง และมีน้ำใจ ยิ่งรับรู้ด้วยตนเองว่าท่านเป็นอาจารย์ที่ดี มีความรู้ด้านเภสัชวิทยาเป็นอย่างดีเลิศจากที่ได้มีโอกาสทำงานร่วมกัน อาจารย์มีส่วนช่วยเหลืองานด้านวารสารของสมาคมฯ เป็นอย่างมากในช่วงเวลาหลายปีที่ผ่านมา ดิฉันยังรู้สึกสำนึกในความกรุณาที่อาจารย์ได้เสียสละเวลาช่วยอ่านและตรวจทานทุกตัวอักษรในวารสารหลายฉบับที่ผ่านมา ความสามารถด้านนี้ของอาจารย์เป็นที่ยอมรับกันในทุกวงการถึงความละเอียดรอบคอบของเนื้องานทุกชิ้นที่ผ่านสายตาท่าน จึงเป็นที่น่าเสียใจและเสียตายอย่างยิ่งที่ทรัพยากรบุคคลมีค่าท่านนี้ได้จากไปอย่างไม่วันกลับด้วยโรคร้ายที่บั่นทอนสุขภาพท่านมานานหลายเดือน ขอแสดงความเสียใจต่อครอบครัว มิตรสหาย และเพื่อนร่วมงานของท่าน และขอตั้งจิตอธิฐานให้วิญญาณอาจารย์ไปสู่สุคติ ผลงานด้านวิชาการที่อาจารย์ได้ทุ่มเทให้มาตลอดชีวิตการทำงาน เป็นเหมือนสิ่งเตือนใจเราให้ระลึกถึงคุณความดีของท่านตลอดไป

ด้วยความอาลัยรักเป็นอย่างยิ่ง

รศ.ดร.สุพัตรา ศรีไชยรัตน์

บรรณาธิการ

ชีวประวัติ

ผศ.นพ.สุวัฒน์ วัฒนวิวัฒน์

ผศ.นพ.สุวัฒน์ วัฒนวิวัฒน์ เกิดเมื่อวันที่ 11 ตุลาคม 2496 เป็นบุตรของนายชูชัย แซ่มุย และนางช้อยิน แซ่เล้ง มีพี่น้องร่วมบิดามารดาเดียวกัน 6 คน

ประวัติการศึกษา

- 2514 จบการศึกษาระดับมัธยมศึกษา รร.เตรียมอุดมศึกษา
- 2518 วท.บ สาขาวิทยาศาสตร์การแพทย์ คณะแพทยศาสตร์ ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล
- 2520 แพทยศาสตรบัณฑิต คณะแพทยศาสตร์ ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล
- 2521 ประกาศนียบัตร แพทย์ฝึกหัด สาขาแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลศิริราช
- 2535 Certificate of Postgraduate Training in Clinical Pharmacology Sackler Faculty of Medicine, Tel Aviv University, Israel

ประวัติรับราชการ

- 2521-2523 นายแพทย์ผู้อำนวยการ โรงพยาบาลดอยสะเก็ด จังหวัดเชียงใหม่
- 2523-2528 อาจารย์ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล
- 2528-2531 ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล
- 2531-2532 แพทย์โรงพยาบาลท่าเรือ การท่าเรือแห่งประเทศไทย
แพทย์สถานพยาบาลการไฟฟ้านครหลวง สาขาวัดเลียบ
- 2532-2546 ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล
- 2546-2547 แพทย์ประจำกองแพทย์หลวง สำนักพระราชวัง

เครื่องราชอิสริยาภรณ์

- 2541 ทวีติยาภรณ์ ช่างเผือก

LETTER TO EDITORS

ประวัติการค้นพบวิธีการศึกษา Receptor Binding

บพิตร กลางกัลยา

ภาควิชาเภสัชวิทยา วิทยาลัยแพทยศาสตร์พระมงกุฎเกล้า

การศึกษาด้วยวิธี receptor binding เป็นเทคนิคที่ใช้กันมากที่สุดเรื่องหนึ่งในช่วงสิบถึงยี่สิบกว่าปีที่ผ่านมา ทำให้มีองค์ความรู้เกี่ยวกับ receptor ของฮอร์โมน สารสื่อประสาทและสารอื่นๆ อีกมาก รวมทั้งนำไปสู่การค้นพบสารชนิดใหม่ๆ อีกนับร้อยชนิด มีบทบาทหลากหลายในระบบต่างๆ ของสิ่งมีชีวิต สามารถทำความเข้าใจลักษณะการทำงานของระบบต่างๆ ได้ดีขึ้น และนำความรู้ความเข้าใจเหล่านี้ไปประยุกต์ใช้ในการพัฒนาวิธีการป้องกันหรือบำบัดรักษาโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น แม้ว่าในยุคสิบปีหลังนี้ความสนใจเกี่ยวกับวิธีการศึกษาจะโน้มไปทางสาขาพันธุศาสตร์มากขึ้น แต่ผลงานการตีพิมพ์ในเรื่อง receptor ของสารต่างๆ ก็ยังคงมีมากมายทุกเดือน และเป็นพื้นฐานที่สำคัญสำหรับการศึกษาด้วยวิธีการใหม่ๆ อีกหลายๆ วิธี

เมื่อย้อนอดีตไปถึงปีที่มีการตีพิมพ์เรื่อง receptor binding ซึ่งเป็นที่ยอมรับกันในวงการอย่างกว้างขวางคือ ปี คศ. 1973¹⁻³ ก็นับได้ 31 ปี นานพอที่จะเป็นประวัติศาสตร์ได้แล้ว นักวิทยาศาสตร์ยุคใหม่หลายคนอาจไม่รู้ว่า กว่าที่จะพิสูจน์ได้ว่าเป็น receptor binding นักวิทยาศาสตร์ในยุคนั้นเขาต้องลองผิดลองถูกกันขนาดไหน มีวิธีการคิดและวิธีการพิสูจน์อย่างไร จึงนำมาสู่จุดเริ่มต้นแห่งความเจริญรุ่งเรืองของวิชาการด้านนี้ได้ ผู้เขียนพอมีประสบการณ์ในยุคเริ่มต้นนั้นอยู่บ้าง จึงขอนำมาสรุปเป็นเกร็ดประวัติศาสตร์ต่อไป

ยุคก่อน receptor binding นั้นมีผู้เรียกว่าเป็นยุค classical pharmacology วิธีการศึกษานิยมวัดการตอบสนองโดยตรง (*in vivo*) หรือใช้ organ

bath เพื่อวัดการตอบสนองของเนื้อเยื่อต่อยา *in vitro* ได้ dose response curves และหาค่า IC_{50} , K_d รวมทั้งความเป็น agonist หรือ antagonist ได้ คนไทยรุ่นแรกๆ ที่ศึกษาเรื่องนี้คืออาจารย์โรจากคณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล ซึ่งไปศึกษากับ Prof. Schild ที่เยอรมันนี่ มีผลงานเกี่ยวกับวิธีการหาค่าความเข้มข้นของ agonist ที่ต้องเพิ่มขึ้นเมื่อมี antagonist อยู่ด้วยเพื่อให้ผลเท่าเดิม (pA_x) และมี paper ที่ถูกอ้างถึงมาก⁴ คนต่อมาซึ่งน่าจะนับได้ว่าเป็นผู้ที่เข้าใจวิธีการศึกษาเรื่อง receptor ดีที่สุดผู้หนึ่งของเมืองไทยคือ อาจารย์จิรวรรณ สดางศ์วิวัฒน์⁵⁻⁶ ซึ่งใครที่ได้อ่านงานเขียนของท่านอย่างละเอียดจะเห็นได้ว่าการวิเคราะห์ได้อย่างลึกซึ้งทีเดียว

ความพยายามที่จะศึกษา receptor binding โดยการใช้ radioligand นั้น มีหลายกลุ่มที่ศึกษามาก่อนปี คศ.1973 แต่ยังมีวิธีการที่เหมาะสมที่สุดไม่ได้ เช่นกลุ่มของ Rang ซึ่งศึกษาการจับกับ muscarinic cholinergic receptor โดยใช้ ³H-atropine⁷ และ ³H-benzilylcholine⁸ กลุ่มของ Changenx⁹ และ Raftery¹⁰ ซึ่งศึกษาการจับกับ nicotinic cholinergic receptor ของปลาไหลไฟฟ้า โดยใช้ ¹²⁵I- α -bungarotoxin กลุ่มของ Cautrecasas¹¹ ซึ่งศึกษา insulin receptor binding โดยใช้ ¹²⁵I-insulin และกลุ่มของ Goldstein¹² ซึ่งหาทางวัดการจับของ ³H-levorphanol ต่อ opiate receptor ใน membrane ที่ได้จากสมองหนู วิธีการศึกษาต่างๆ เหล่านี้มีข้อจำกัดหลายอย่าง เช่นกลุ่มของ Rang⁷ และ Goldstein¹² ยังไม่สามารถพัฒนาให้ radioligand ที่ใช้มี specific activity สูงพอ จึง

จำเป็นต้องใช้สารที่ความเข้มข้นสูง ซึ่งการจับส่วนมากจะเป็นส่วน low affinity เลยไม่สามารถแสดงส่วนที่จับกับ receptor ได้ดีพอ ส่วน ligand ที่จับแบบ irreversible⁸ หรือแยกจาก receptor ช้ามาก⁹⁻¹⁰ ก็ไม่เหมาะสำหรับการวัดการจับกับ receptor ตามสมมุติฐานว่าเป็น reversible bimolecular reaction ส่วนการใช้ ¹²⁵I-insulin¹¹ หรือ ³H-levorphanol¹² ก็มีปัญหาเรื่อง specificity ซึ่งมีผู้พบว่าสามารถจับกับผนังหรือใยแก้วที่ใช้ในแผ่นกรอง หรือเนื้อเยื่อที่ไม่ใช่โปรตีนได้อย่างมีลักษณะของ specific binding ได้¹³ แต่จากประสบการณ์ของงานวิจัยที่กล่าวมาแล้วก็ทำให้กลุ่มที่ศึกษาในระยะต่อมาได้แนวคิดหลายอย่าง เช่นจะต้องมี radioligand ที่มี specific activity สูงมาก จับกับ receptor ได้แบบ reversible แต่มี high affinity และจะต้องมีวิธีการแยก radioligand ที่อิสระออกจากที่จับกับ membrane ได้อย่างรวดเร็วด้วย เช่นวิธีการแยกโดยใช้การกรองผ่าน manifold ซึ่งใช้ดูดด้วย vacuum และสามารถกรองพร้อมๆ กันหลายช่องก็ได้มาจากวิธีของ Cautrecasas¹¹ เป็นต้น

เมื่อมีแนวทางการศึกษาชัดเจนแล้ว จึงมีกลุ่มที่ต่างก็ศึกษาไปพร้อมๆ กันและตีพิมพ์พร้อมๆ กัน¹⁻³ โดยใช้ radioligand ต่างกันคือ กลุ่มของ Solomon H. Snyder¹ ที่ Johns Hopkins University ใช้ ³H-naloxone กลุ่มของ Eric J. Simon² ที่ New York University ใช้ ³H-etorphine และกลุ่มของ L. Terenius³ ที่ University of Uppsala ใช้ ³H-dihydromorphine เป็น radioligand สำหรับศึกษาการจับกับ opiate receptor

วิธีการศึกษาโดยย่อก็คือนำเนื้อสมองส่วนที่จะศึกษามาบดให้ละเอียดแล้วปั่นแยกส่วนเอาเฉพาะที่เป็น membrane (ในกรณีที่ศึกษา membrane receptor) มา resuspend ใน medium ที่ต้องการ เติม radioactive ligand ลงไปที่อุณหภูมิและเวลาซึ่งการจับกับ receptor ไปถึงภาวะสมดุลแล้วแยก membrane ออกจาก medium ซึ่ง bound ligand จะจับอยู่กับส่วน membrane นำไปวัดปริมาณของกัมมันตรังสีเป็นปริมาณการจับทั้งหมด ในขณะที่การจับกับ receptor จะมีจำนวนจำกัดและ

มีลักษณะอิ่มตัว ส่วนที่จับอย่างไม่เฉพาะเจาะจงคือจับกับจุดอื่นๆ จะมีมากกว่าและไม่อิ่มตัว จึงวัดส่วนที่จับอย่างไม่เฉพาะเจาะจงได้โดยใช้ nonradioactive ligand ใส่ลงไปให้หมดทดลองอีกชุดหนึ่งในจำนวนที่มากพอเพื่อไปแย่งจับ receptor จนหมด แล้ววัดปริมาณกัมมันตรังสีที่จับอยู่เป็น nonspecific binding หักลบจากปริมาณการจับกับทั้งหมดที่เหลือนับเป็น specific binding ซึ่งมักเปรียบเทียบว่าเป็น receptor binding แต่ทั้งนี้การที่จะสรุปว่าเป็น receptor binding จริงๆ จะต้องมีเกณฑ์อื่นๆ ประกอบอีกมาก เช่นการมี stereo-specificity และถูกแทนที่ได้ด้วย agonist หรือ antagonist ด้วยลักษณะเหมือนกับการวัดจากการตอบสนองต่อ receptor เป็นต้น¹³ นอกจากนี้วิธีการศึกษาที่กล่าวมานี้ ยังอาศัยหลักการว่าปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นแบบ reversible bimolecular reaction ที่สามารถใช้ law of mass action ได้ สภาพการณ์ในการทดลองจึงอยู่บนสมมุติฐานหลายข้อ ซึ่งถ้าผิดไปจากนั้นก็อาจทำให้การวัดค่าต่างๆ ผิดพลาดไปได้ รายละเอียดของเรื่องนี้ได้เคยตีพิมพ์ในวารสารเภสัชวิทยาแล้วเมื่อปี พ.ศ. 2522¹⁴ และ 2524¹⁵

ภายหลังจากการตีพิมพ์วิธีการจับกับ opiate receptor ได้ไม่นาน หลักการดังกล่าวนี้ได้ถูกนำไปประยุกต์ใช้กับ receptor ของสารกลุ่มต่างๆ อีกมากมาย ปริมาณการตีพิมพ์ในเรื่อง receptor binding ในปี ค.ศ. 1975 ขยายเพิ่มขึ้นมาจนแซงหัวข้ออื่นๆ มาอยู่อันดับต้นๆ และด้วยการติดตามวัดว่าสารสกัดส่วนใดมีผลต่อการจับที่ opiate receptor ได้ ก็สามารถนำไปสู่การค้นพบสารที่มีอยู่แล้วในสิ่งมีชีวิตซึ่งออกฤทธิ์ต่อ opiate receptor เป็นระบบ endogenous morphine ในเนื้อเยื่อต่างๆ ในเวลาต่อมา (ดูรายละเอียดในบทความที่ตีพิมพ์แล้ว)¹⁶ กลุ่มที่ศึกษาไปพร้อมๆ กันและแข่งขันกันตีพิมพ์ผลการค้นพบสารจากสมองวัวที่สามารถแย่งจับกับ radioligand ที่ opiate receptor ได้ คือกลุ่ม Hughes และ Kosterlitz¹⁷ ที่มหาวิทยาลัย Aberdeen กลุ่ม Pasternak และ Snyder¹⁸ ที่ Johns Hopkins และ

กลุ่มของ Terenius¹⁹ ที่มหาวิทยาลัย Uppsala ใน ขณะที่กลุ่มของ Hughes ได้รับเครดิตมากที่สามารถแยกสารจากสมองซึ่งแย่งจับที่ opiate receptor ได้นี้ออกมาจนบริสุทธิ์เป็น pentapeptide 2 ตัวคือ methionine-enkephalin และ leucine-enkephalin ต่อมากลุ่มอื่นๆ อีกหลายกลุ่มได้ค้นพบ peptide ที่มีโมเลกุลยาวกว่าจาก hypothalamus และต่อมาได้สมองเรียกรวมกันว่า endorphins ซึ่งพบว่ามียับยั้งการทำหน้าที่อย่างกว้างขวางทั้งในระบบประสาทและระบบต่อมไร้ท่อ^{20,21} รวมถึงความรู้ที่คนทั่วไปได้รับทราบกันในปัจจุบันว่าการออกก้างกายทำให้เกิดความรู้สึกปิติได้ เนื่องจากการหลั่งสาร endorphins ก็มีที่มาจากความรู้เมื่อ 30 ปีมาแล้ว

ภายหลังจากที่เขียนบทความนี้จบแล้ว ได้อ่านพบบทความใน TIPS ซึ่งตีพิมพ์เมื่อไม่นานมานี้อีก 2 เรื่อง^{22,23} มีเนื้อหาเกี่ยวข้องกับเรื่องทฤษฎีของ receptor และการค้นพบ opioid receptors แสดงว่าในระดับนานาชาติยังให้ความสำคัญกับประเด็นทางทฤษฎีและหลักการที่นำมาศึกษา receptor binding อยู่ค่อนข้างมาก ประเด็นที่กล่าวถึงในบทความ 2 เรื่องดังกล่าว มีรายละเอียดมากกว่าบทความนี้มาก มีบางประเด็นที่เห็นว่ามันจะนำมาขยายความเพิ่มเติมเพื่อให้ผู้อ่านได้รับรู้เหตุผลและวิธีการศึกษาละเอียดขึ้น

บทความของ Snyder และ Pasternak²² ได้เล่าเบื้องหลังการค้นพบวิธีวัด opioid receptor ว่ามาจากเหตุผลที่หนึ่งคือนโยบายของประธานาธิบดีนิกสัน ซึ่งประกาศ "War on Heroin" ทำให้กลุ่มของเขาได้รับทุนมาศึกษา opioid receptors และเหตุผลที่สองซึ่งนักวิทยาศาสตร์ทั้งหลายควรจะรับเป็นตัวอย่างก็คือ เขาได้ให้เครดิตว่าได้รับแนวคิดมาจากผลงาน Goldstein¹² ตามที่กล่าวถึงมาแล้ว สิ่งในกลุ่ม Snyder คิดต่อคือการหา radioligand ที่มี specific activity สูงขึ้น และการหาวิธีล้างเอา nonspecific binding ออกให้เหลือน้อยที่สุด ทำให้สามารถวัดส่วนที่เป็น specific binding ได้ถึงร้อยละ 70 ของปริมาณ binding ทั้งหมด

ประเด็นอื่นๆ ในบทความของ Synder และ Pasternak ได้กล่าวถึงงานลำดับต่อมา ซึ่งเป็นผลสืบเนื่องจากการค้นพบ opioid receptors เช่นการแสดงลักษณะการออกฤทธิ์ที่ต่างกันระหว่าง agonist และ antagonist การพัฒนาเทคนิค autoradiography เพื่อบอกตำแหน่ง receptor การค้นพบชนิดย่อยของ receptors และการค้นพบ endogenous opioid peptides อีกจำนวนมาก สิ่งที่น่าสนใจมานาน²⁴ และยังเป็นคำถามอยู่จนปัจจุบันก็คือบทบาททางสรีรวิทยาของ peptides เหล่านี้ และจะสามารถแยกบทบาทของ agonist หรือ antagonist ที่มีผลระงับปวดกับที่มีผลเสพติดได้หรือไม่ นี่ยังเป็นความหวังสำหรับอนาคตต่อไป

อีกประเด็นหนึ่งที่ได้กล่าวถึงแล้วคือการคำนวณ receptor binding อาศัยสมมุติฐานว่าเป็นปฏิกิริยาหนึ่งโมเลกุลของยากับหนึ่งโมเลกุลของ receptor แต่ข้อเท็จจริงก็เป็นที่ยอมรับกันอยู่แล้วว่าโมเลกุลของ receptor นั้นซับซ้อนและมีหลายกรณีที่ไม่ตรงกับที่สมมุติว่าเป็นโมเลกุลเดี่ยว เช่นอยู่ในหลายภาวะ (active, inactive) และควบคู่กับโมเลกุลอื่นเป็นลักษณะ complex ซึ่งมีการควบคุมกันและกัน ลักษณะเช่นนี้จะต้องมีการคิดปฏิกิริยาการจับระหว่างยากับ receptor เป็น model ที่อยู่ในหลากหลายภาวะและบทความของ Kenakin²³ ได้นำเสนอแนวทางการคำนวณและการหาปริมาณการตอบสนองเมื่อ receptor มีหลายภาวะดังกล่าว โดยใช้ข้อเท็จจริงจากลักษณะของ G-protein coupled receptors (GPCRs) แนวคิดที่น่าสนใจคือ GPCR ไม่ใช่ทำหน้าที่เป็นเพียงสวิตช์ที่เปิดปิดการสร้าง second messenger เท่านั้น แต่จะเป็น interactive information processing โดยมี protein อีกหลายตัวควบคุมกันอยู่

วิธีการคิด และการนำเสนอเป็น models และกราฟของ Kenakin นี้ตีพิมพ์แล้วหลายครั้งใน TIPS และ Annual Review of Pharmacology แต่เป็นบทความที่อ่านเข้าใจได้ยากมาก จะเห็นได้ว่าทฤษฎีการวัดเรื่อง receptor ตั้งแต่ยุคเริ่มต้นของ A.J. Clark ก็อาศัยความรู้ทางคณิตศาสตร์เป็นหลัก มาจนถึงแนวคิดของ Kenakin ก็ต้องมีความรู้

ทางคณิตศาสตร์มากพอสมควรจึงจะเข้าใจ จึง
อยากเสนอข้อคิดเห็นส่งท้ายไว้ว่าผู้จัดบัณฑิตศึกษา
ทางเภสัชวิทยาในบ้านเราน่าจะมองหาผู้เรียนที่จบ
และเก่งทางคณิตศาสตร์เข้ามาเรียนบ้าง จะได้มีผู้ที่
ศึกษาหลากหลายแนวทางต่าง ๆ กัน มิใช่ตาม
กระแสไปศึกษาเฉพาะด้านใดด้านหนึ่ง ซึ่งจะทำให้
อนาคตของวงการแคบลงได้

เอกสารอ้างอิง

1. Pert CB and Snyder SH. Opiate receptor: demonstration in nervous tissue. *Science* 1973; 179: 1011-1014.
2. Simon EJ, Hiller JM and Edelman I. Stereospecific binding of the potent narcotic analgesic ³H-etorphine to rat brain homogenate. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1973; 70: 1947-1949.
3. Terenius L. Stereospecific interaction between narcotic analgesics and a synaptic plasma membrane fraction of rat cerebral cortex. *Acta Pharmacol Toxicol* 1973; 32: 317-320.
4. Arunlakshana O and Schild HO. Some quantitative uses of drug antagonists. *Brit J Pharmacol* 1959; 14: 48-58.
5. Sadavongvivad C. Receptor theory of drug action. *J Sci Soc Thailand* 1977; 3: 61-72.
6. Sadavongvivad C. Quantitative analysis of biological responses. หนังสือชีวประวัติ รศ. ดร. จีรวัฒน์ สดางวงศ์วัฒน์ 2536: 96-110.
7. Paton WDM and Rang HP. The Uptake of atropine and related drugs by intestinal smooth muscle of the guinea-pig in relation to acetylcholine receptors. *Proc Roy Soc B* 1965; 163: 1-44.
8. Gill EW and Rang HP. An alkylating relative to benzilylcholine with specific and long-lasting parasympatholytic activity. *Mol Pharmacol* 1966; 2: 284-297.
9. Meunier J-C, Olsen RW, Menez A, Fromageot P, Boquet P, and Changeux J-P. Some physical properties of the cholinergic receptor α -toxin from *Naja nigricollis* venom. *Biochemistry* 1972; 11: 1200-1210.
10. Raftery MA, Schmidt J, Clark DG, and Wolcott RG. Demonstration of a specific α -bungarotoxin binding component in *Electrophorus electricus* electroplax membranes. *Biochem Biophys Res Commun*. 1971; 45: 1622-1629.
11. Cuatrecasas P. Insulin-receptor interaction in adipose tissue cells: Direct measurement and properties. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1971; 68: 1264-1268.
12. Goldstein A, Lowney LI, and Pal BK. Stereospecific and nonspecific interactions of the morphine congener levorphanol in subcellular fractions of the mouse brain. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1971; 68: 1742-1747.
13. Yamamura HI, Enna SJ, and Kuhar MJ. Editor: Neurotransmitter Receptor Binding. Raven Press, New York, USA, 1978.
14. Klangkalya B. Neurotransmitter receptor binding assay: theoretical considerations. *The Pharmacology* 1979; 1(3): 1-16.
15. บพิตร กลางกัลยา. Basic assumptions in the analysis of drug-receptor interaction. *วารสารเภสัชวิทยา* 2524; 3(1): 1-4.
16. บพิตร กลางกัลยา Opiate receptor และสารที่ออกฤทธิ์เหมือนฝิ่นในสมอง. *วิทยาศาสตร์เสนาธิการ* 2522; 32: 279-289.
17. Hughes J, Smith TW, Kosterlitz HW, Fothergill LA, Morgan BA and Morris HR. Identification of two related pentapeptides from the brain with potent opiate agonist activity. *Nature* 1975; 258: 577-9.
18. Pasternak GW, Goodman R and Snyder SH. An endogenous morphine-like factor in mammalian brain. *Life Sci* 1975; 16: 1765-1769.
19. Terenius L and Wahlstrom A. Search for an endogenous ligand for the opiate receptor. *Acta Physiol. Scand* 1975; 94: 74-81.
20. Costa E and Trabucchi M Ed: Advance in Biochemical Psychopharmacology V.18, 1978 Raven Press, New York, N.Y. USA.
21. บพิตร กลางกัลยา Opiate receptors and opioid peptides: สรุปความก้าวหน้าของงานวิจัยและความสำคัญทางคลินิก. *วิทยาศาสตร์เสนาธิการ* 2524; 34: 241-257.
22. Snyder SH and Pasternak GW. Historical review: opioid receptors. *Trends Pharmacol Sci* 2003; 24: 198-205.
23. Kenakin T. Principles: receptor theory in pharmacology. *Trends Pharmacol Sci* 2004; 25: 186-192.
24. บพิตร กลางกัลยา. บทบาททางสรีรวิทยาของ opioid peptides และการตีความจากผลของ naloxone. *วารสารเภสัชวิทยา* 2524; 3: 85-93.

RESEARCH ARTICLES

Effects of New Synthetic Acyl Aniline and Acyl Aminopyridine Derivatives on Calcium Entry in Rat Vas Deferens

Soratiya Charoensomprasong¹, Prasan Dhumma-upakorn², Chamnan Patarapanich³ and Suree Jianmongkol²

¹Interdepartment of Pharmacology, ² Department of Pharmacology, ³Department of Chemistry, Faculty of the Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, Bangkok.

Abstract

A number of the synthetic acyl aniline derivatives and acyl aminopyridine derivatives were shown to reduce the contraction of rabbit isolated duodenum and rat isolated aorta. Previous studies have shown that the effects of acyl-4-aniline derivatives (CU 18-07, CU 18-09) and acyl-4-aminopyridine derivative (CU 18-12) on the contraction of rat isolated aorta were attributed to their effects on disrupting Ca^{2+} entry. This study was to further investigate the potential effects of these compounds on the contraction and their pharmacological mode of actions. The contractile responses were measured isometrically in *in vitro* model of rat isolated vas deferens under various conditions. Our results showed that these three compounds were able to suppress the contraction evoked by noradrenaline (NA), KCl and BaCl_2 in Ca^{2+} -containing solution, but not in Ca^{2+} -free solution. In addition, they also suppressed CaCl_2 -induced contraction in high K^+ depolarizing solution. Of the three compounds, CU 18-09 was the most potent inhibitor. Our results suggested that all of the synthetic CU compounds in this study exerted their pharmacological actions on the contraction of rat isolated vas deferens possibly by blockade of the Ca^{2+} entry through the voltage-operated Ca^{2+} channels. In addition, the modification of molecular structure at *para*-position on the phenyl ring affected the inhibitory potency of these compounds on smooth muscle contraction.

Key words : Ca^{2+} entry, contraction, vas deferens, acyl aniline compound, acyl aminopyridine compound.

Address correspondence and reprint requests to: Suree Jianmongkol, Department of Pharmacology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand. TEL (02) 218-8318; FAX: (02) 218-8326; E-MAIL: sureejmk@yahoo.com.

ผลของสารสังเคราะห์ใหม่ในกลุ่มเอซิลอะนิลีน และเอซิลอะมิโนไพริดีน ต่อแคลเซียมเข้าเซลล์ที่ท่อนำสุจิหนูขาว

โสรัถยา เจริญสมประสงค์¹, ประสาน ธรรมอุปกรณ์², ชำนาญ ภัทรพานิช³ และ
สุรีย์ เจียรณมงคล²

¹สหสาขาเภสัชวิทยา, ²ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะเภสัชศาสตร์, ³ภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

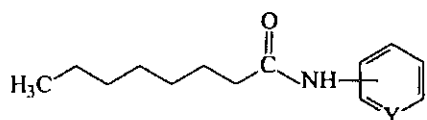
บทคัดย่อ

จากการศึกษาเบื้องต้นของสารสังเคราะห์กลุ่มอนุพันธ์ของ acyl aniline และ acyl amino-pyridine พบว่ามีฤทธิ์ต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบเช่นลำไส้เล็กส่วน duodenum ของกระต่าย และหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาว ทั้งนี้ฤทธิ์ต่อการหดตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาว ของสารสังเคราะห์กลุ่ม acyl-4-aniline (CU 18-07, CU 18-09) และ acyl-4-aminopyridine (CU 18-12) เกี่ยวข้องกับการยับยั้งการนำ Ca^{2+} เข้าสู่กล้ามเนื้อเรียบ ในการศึกษาที่มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสังเคราะห์ทั้ง 3 ดังกล่าวต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในท่อนำสุจิที่แยกจากหนูขาว โดยทำการวัดการหดตัวแบบ isometric ของกล้ามเนื้อในสภาวะต่างๆ ผลการศึกษาพบว่าสารสังเคราะห์ทั้ง 3 ชนิดมีฤทธิ์ยับยั้งผลการกระตุ้นให้เกิดการหดตัวด้วย noradrenaline (NA), KCl และ $BaCl_2$ ในสภาวะที่มี Ca^{2+} และไม่มีผลยับยั้งการหดตัวของท่อนำสุจิในสภาวะปราศจาก Ca^{2+} นอกจากนี้สารสังเคราะห์ทั้ง 3 สามารถยับยั้งการตอบสนองของกล้ามเนื้อท่อนำสุจิต่อการกระตุ้นด้วย $CaCl_2$ แบบสะสมขนาดในสภาวะที่มี K^+ สูง โดยที่ CU 18-09 เป็นสารสังเคราะห์ที่มีความแรงในการออกฤทธิ์สูงสุด ดังนั้นจึงอาจสรุปได้ว่าสารสังเคราะห์ CU 18-07, CU 18-09 และ CU 18-12 ออกฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อท่อนำสุจิโดยรบกวนกลไกการนำแคลเซียมเข้าสู่เซลล์ทาง voltage-operated Ca^{2+} channels นอกจากนี้การปรับเปลี่ยนโครงสร้างโมเลกุลที่ตำแหน่ง para-position บน phenyl ring มีผลต่อความสามารถของสารในการปิดกั้น membrane Ca^{2+} channels

คำสำคัญ: การเคลื่อนที่ผ่านเข้าออกของแคลเซียม, การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ, ท่อนำสุจิ, อนุพันธ์เอซิลอะนิลีน, อนุพันธ์เอซิลอะมิโนไพริดีน

Introduction

A number of the pinacidil-structure related compounds including the synthetic acyl aniline derivatives (CU 18-07, CU 18-08, CU 18-09, CU 18-10, CU 18-13) and the synthetic acyl aminopyridine derivatives (CU 18-11, CU 18-12) (Figure 1) were shown to directly affect the contraction of smooth muscle in various *in vitro* models such as rabbit isolated duodenum and rat isolated aorta. In the model of rat isolated aorta, we were able to show that the pharmacological actions of these compounds on the contractile responses were correlated to its effects on membrane calcium (Ca^{2+}) channels (1, 2). In addition, some discrepancies in the vasoactive properties were resulted from a modification of the substituents and the position of these substituents on the phenyl ring structure. For example, at the *meta* position on the phenyl ring, the methoxy substituent (CU 18-08) caused the compound to be more potent in inhibiting the Ca^{2+} influx than the nitro substituent (CU 18-10) (1). However, a change of the functional group at *para*-position of phenyl ring has little effect on inhibitory potencies and intrinsic properties against Ca^{2+} influx (2).



Compounds	Y	Position on Phenyl ring	MW
CU 18-07	C-OCH ₃	<i>para</i>	235
CU 18-08	C-OCH ₃	<i>meta</i>	235
CU 18-09	C-NO ₂	<i>para</i>	250
CU 18-10	C-NO ₂	<i>meta</i>	250
CU 18-11	N	<i>meta</i>	206
CU 18-12	N	<i>para</i>	206
CU 18-13	C	<i>Meta / para</i>	205

Figure 1. Structures of the synthetic CU compounds

Recently, we have characterized the vasoactive properties of the acyl-4-aniline derivatives (CU 18-07, CU 18-09) and the acyl-4-aminopyridine derivatives (CU 18-12) in rat isolated aorta (2). These three synthetic CU compounds potentiated the aortic responses to NA whereas they inhibited the responses to tetraethylammonium (a K^+ channel blocker) and KCl as well as suppressed CaCl_2 -induced contraction in high K^+ depolarizing solution. Our results suggested that these compounds might share some activities in Ca^{2+} entry blockade through voltage-operated Ca^{2+} channels.

The rat vas deferens has long been recognized as a suitable model for studying neurotransmission and the influences of xenobiotics on adrenergic and purinergic neurotransmission in smooth muscle (3, 4). It has unique features of contraction profiles which differ from aortic strips or other smooth muscles. Taking into account that rising of intracellular calcium (Ca^{2+}) is a key factor regulating the contractile responses of smooth muscle including vas deferens (5-7), the present study was carried out, in part, to further investigate the actions of the three synthetic derivatives of aniline and aminopyridine compounds including CU 18-07, CU 18-09 and CU 18-12 on the mechanism of Ca^{2+} entry in response to various contractants in the rat isolated vas deferens. We also examined the influences of methoxy ($-\text{OCH}_3$) and nitro ($-\text{NO}_2$) groups at the *para*-position of phenyl ring of the acyl aniline compounds (CU 18-07, CU 18-09) in comparison with an acyl aminopyridine compound (CU 18-12) on contraction of vas deferens and the processes of Ca^{2+} entry.

Materials and Methods

Materials

The tested compounds including CU 18-07: *N*-heptanoyl-4-methoxyaniline, MW 235; CU 18-09: *N*-heptanoyl-4-nitroaniline, MW 250; CU 18-12: *N*-heptanoyl-4-aminopyridine, MW 206

were prepared and characterized as described previously (8). All other chemicals were reagent grade or the highest-grade commercially available. For example, dimethyl sulfoxide (DMSO), (-) noradrenaline (NA), potassium chloride (KCl), and nifedipine were purchased from Sigma Chemical Company (St. Louis, MO, U.S.A.). Composition of the physiological solution was (mM): NaCl 119, KCl 4.7, CaCl_2 2.5, MgSO_4 1.0, KH_2PO_4 1.2, NaHCO_3 25, and D-glucose 11.1. Ca^{2+} -free solution had the same composition except that CaCl_2 was omitted and EDTA (0.1 mM) was added. Composition of the calcium-free depolarizing solution was (mM): NaCl 27, KCl 100, KH_2PO_4 14, MgCl_2 0.54, NaHCO_3 14, and D-glucose 10.

Methods

Male Wistar rats (250-300 g) were obtained from National Laboratory Animal Center, Mahidol University, Salaya, Nakornpathom. The animals were acclimatized in animal care facility at the Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University for 1 week prior to use. On the day of the experiment, rats were sacrificed by cervical dislocation. Both vasa deferentia were removed, cleaned of surrounding tissues, and cut into 2 pieces approximately 1.5 cm in length to obtain epididymal and prostatic parts. The tissues, then, were mounted to a transducer under the initial load of 1 g. tension in a 15 ml organ bath containing physiological solution gassed with 95% O_2 and 5% CO_2 . Tension was recorded isometrically on a recorder with electrical disperser Gilson N_2 coupled to an amplifier (Harvard Apparatus Ltd, England), using force-displacement transducers (Harvard Apparatus Ltd, England).

Contraction Studies

Each of the tested synthetic CU compounds was dissolved in DMSO. The final concentration of DMSO was 0.06% (v/v), which had no observable effects in any of our experiments. The effects of the

synthetic CU compounds were determined by adding into the bathing solution for 5 min prior to addition of various contractants including NA (10 μM), BaCl_2 (1mM) for the studies of contraction in epididymal portion and KCl (50 mM) for the studies of contraction in prostatic portion. In some experiments, the bathing solution was changed from Ca^{2+} -containing physiological solution to Ca^{2+} -free solution. The effects of synthetic CU compounds or DMSO (control) were calculated as a percentage of the agonist-induced contraction in normal Ca^{2+} -containing physiological solution.

The effects of the synthetic CU compounds on Ca^{2+} entry were also examined in the model of CaCl_2 -induced contraction in high K^+ - Ca^{2+} free solution depolarizing solution (9). The prostatic tissues were pretreated with a CU compound (100 μM) for 5 minute prior to adding cumulative CaCl_2 (1×10^{-4} M - 3×10^{-2} M) to induce the contraction. Nifedipine (a Ca^{2+} channel blocker) was used as a positive control in these studies. The apparent pA_2 values were calculated, using method of Van Rossum (10).

Data analysis

Results were presented as the mean \pm S.E.M. for n separated experiments. Statistical significances were tested either by Student's t test for paired or unpaired data. One-way ANOVA followed by a post-hoc SNK t -test was also performed, using the DMSO treatment as our control group, where it was appropriate. The p values of less than 0.05 were considered statistically significant.

Results

Effects on agonist-induced contractions

Figure 2 illustrates a typical contraction profile of rat isolated vas deferens in response to NA in the epididymal portion and KCl in the prostatic portion. NA caused a transient rising of phasic contraction followed by spikes in rhythmic features. This

contraction pattern was also observed when BaCl_2 was used instead of NA to provoke the epididymal contraction (data not shown). In contrast, KCl-induced contraction in the prostatic portion featured a transient phasic contraction followed by sustained tonic contraction. These contraction profiles are all in agreement with those reported in the literature (7, 11-13)

At the concentration of $10 \mu\text{M}$, none of the tested CU compounds suppressed the epididymal contraction evoked by NA and BaCl_2 in Ca^{2+} -containing physiological solution (Figure 3). However, an increase in the concentration to $100 \mu\text{M}$ significantly increased the inhibitory activities of these CU compounds against the contractile responses to NA and BaCl_2 . The inhibitory potency in descending order was $\text{CU 18-09} > \text{CU 18-12} > \text{CU 18-07}$.

The inhibitory effects of each CU compound in this study were more prominent in the prostatic portion where KCl was used to evoke the contraction. As seen in Figure 3, each of the synthetic CU compounds at the concentration of $10 \mu\text{M}$ was able to significantly suppress the KCl-induced prostatic contraction. Moreover, an increase in the concentration to $100 \mu\text{M}$ produced further suppression. A descending order of the inhibitory potency at the tested concentration of $100 \mu\text{M}$ was $\text{CU 18-09} > \text{CU 18-07} > \text{CU 18-12}$. Although the order of the inhibitory effects was slightly different from the above-mentioned, CU 18-09 was still the most potent compound in inhibiting agonist-induced contraction of rat vas deferens in Ca^{2+} -containing physiological solution.

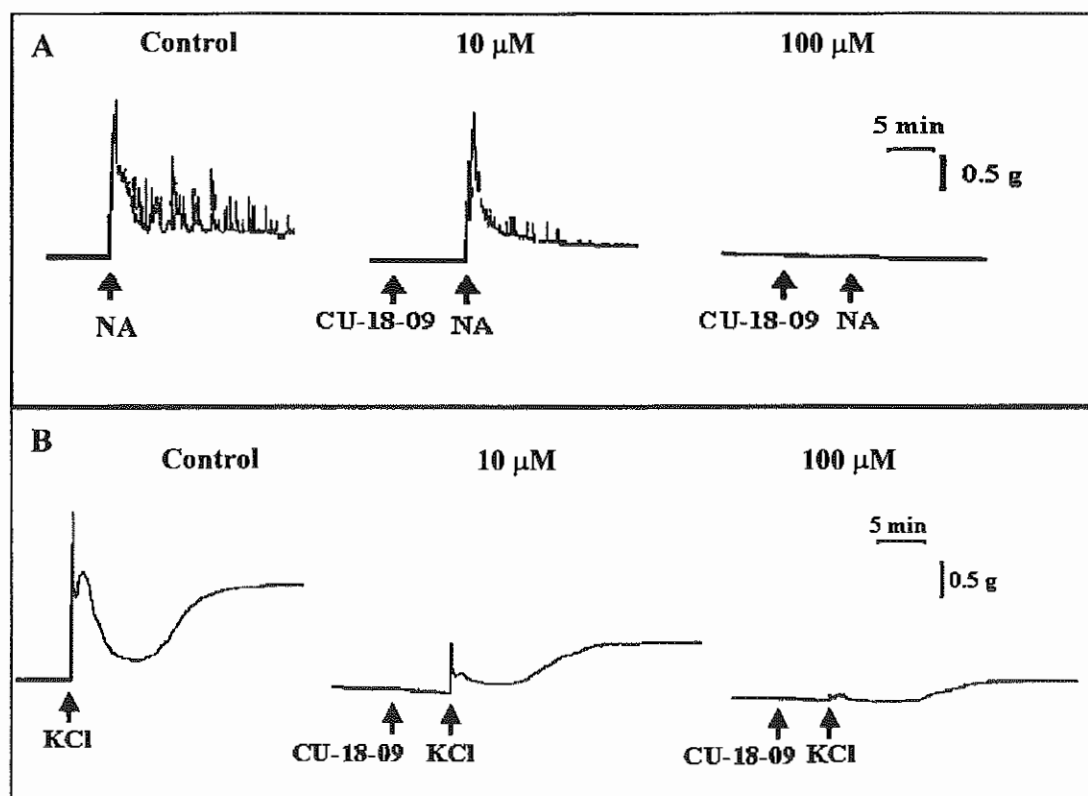


Figure 2. Representatives of the contraction profiles of (A) the epididymal portion in response to noradrenaline (NA) ($10 \mu\text{M}$) and (B) the prostatic portion in response to KCl (50 mM) in Ca^{2+} containing solution. A CU compound ($10 \mu\text{M}$, $100 \mu\text{M}$) was added 5 min prior to addition of NA or KCl.

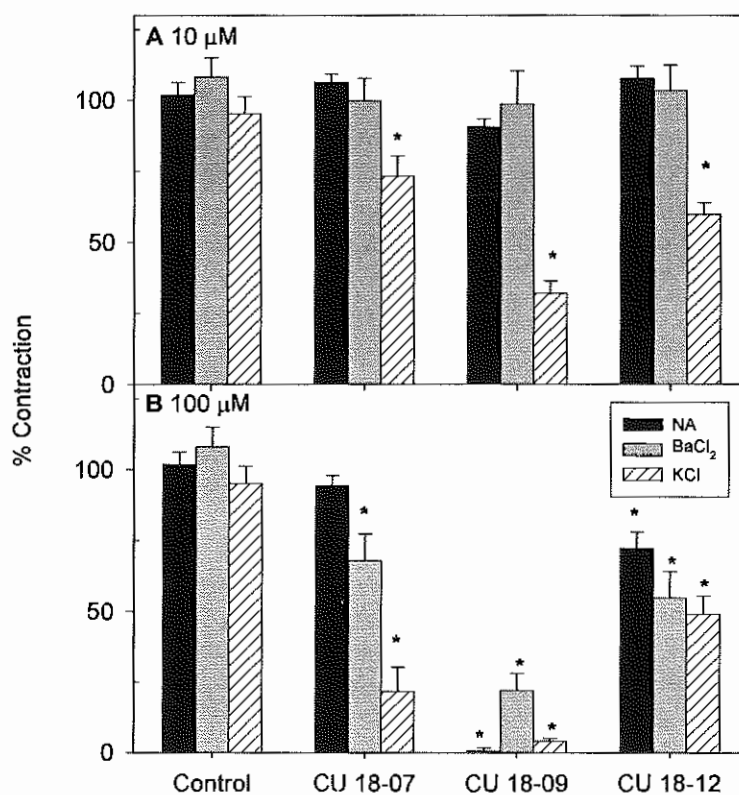


Figure 3. Effects of the CU compounds on agonist-induced phasic contraction of the rat isolated vas deferens in Ca^{2+} -containing solution. The concentrations of the tested CU compounds were (A) 10 μM and (B) 100 μM . Data represent the mean \pm S.E.M. from 6 separated experiments. * indicated significant differences in means of the % contraction in the presence and absence of each CU compound ($p < 0.05$).

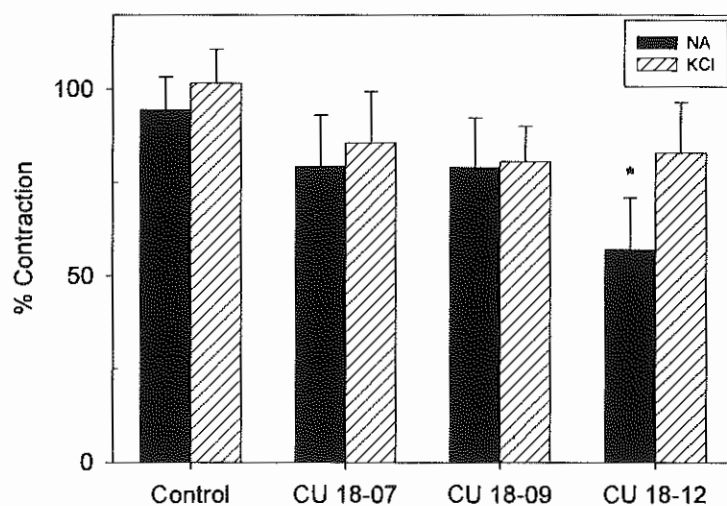


Figure 4. Effects of the CU compounds (100 μM) on agonist-induced phasic contraction of the vas deferens in Ca^{2+} free solution. Data represent the mean \pm S.E.M. from 6 separated experiments. * indicated significant differences in means of the % contraction in the presence and absence of each CU compound ($p < 0.05$).

In Ca^{2+} -free physiological solution, CU 18-09 (100 μM), the most potent CU compound in this study, lost its inhibitory effects against NA-induced contraction of the epididymal tissues (Figure 4). In addition, none of the synthetic CU compounds at the concentration of 100 μM significantly affected KCl-induced contraction of the prostatic part in Ca^{2+} -free medium. These findings strongly suggested that each CU compound exerted its inhibitory effect against agonist-induced contraction via disruption of the Ca^{2+} entry.

Contractions in a Ca^{2+} -free depolarizing solution.

Figure 5 illustrates the effect of CU 18-09 (100 μM), which was the most potent CU compound in this study, on suppression of the prostatic contraction in CaCl_2 -induced contraction in high K^+ - Ca^{2+} -free solution. Like CU 18-09, CU 18-07 and CU 18-12 were able to inhibit

the contraction in this condition. The apparent pA_2 values of CU 18-07, CU 18-09 and CU 18-12 at the concentration of 100 μM were 4.02 ± 0.19 , 5.01 ± 0.14 and 3.74 ± 0.02 , respectively ($n = 6$ separated experiments). The pA_2 values suggested that CU 18-09 was the most potent compound in blockade of Ca^{2+} entry. However, CU 18-09 elicited much less potency than nifedipine of which the apparent pA_2 value at 1 μM was 6.23 ± 0.01 .

Discussion and Conclusion

The vasoactive properties of the acyl aniline and acyl aminopyridine derivatives were described in isolated rat aorta as antagonists of calcium entry (1, 2). The data obtained in the present study confirmed that these synthetic compounds might exert its pharmacological action, in part, via blockade of the Ca^{2+} entry into smooth muscle.

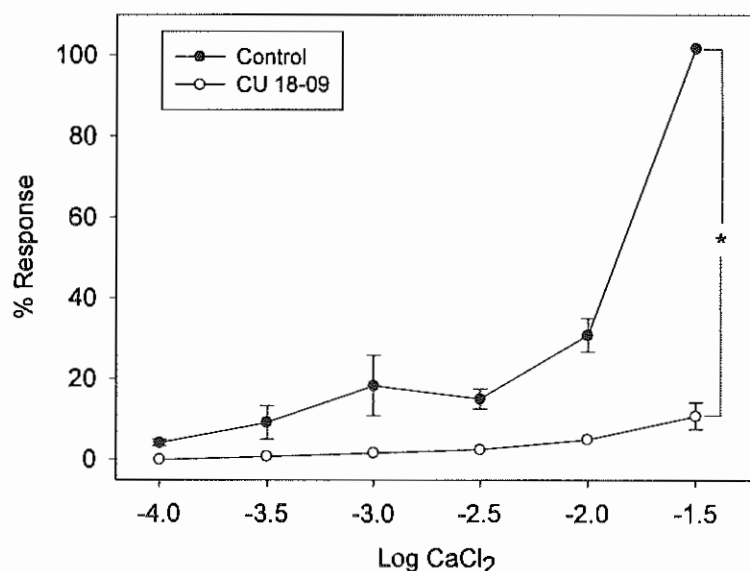


Figure 5. Dose response curve of % response and cumulative dose of CaCl_2 in the presence of CU 18-09 (100 μM). The contractile responses were expressed as an average percentage of maximum contraction induced by CaCl_2 30 mM. Data represent mean \pm S.E.M. obtained from 6 experiments. * indicated significant differences in means of the % response between the control and the CU compound ($p < 0.05$).

It was well established that the epididymal and prostatic parts of the rat vas deferens differ in mechanisms initiating the contraction including distribution of adrenoceptors and mobilization of intracellular Ca^{2+} (3, 7, 11-13). The epididymal portion enriched with α_{1A} adrenoceptors of which activation leads to the opening the membrane Ca^{2+} channel and smooth muscle contraction (12, 13). In contrast, the prostatic part expressed more sensitivity to KCl- induced contraction than the epididymal part possibly due to the higher number of membrane Ca^{2+} channels and smooth endoplasmic reticulum (12, 14). KCl induced membrane depolarization, which resulted in the opening of the voltage-dependent Ca^{2+} channels (9, 15). Hence, we investigated the influences of the synthetic CU compounds on Ca^{2+} influx mediated through adrenoceptor pathway in the epididymal part and through membrane depolarization in the prostatic part. In addition, we also examined the effects of the CU compounds on BaCl_2 -induced depolarization in the epididymal part.

In agreement with our previous report, we found that each of the tested CU compounds: CU 18-07, CU 18-09, and CU 18-12 had no intrinsic properties to activate α_1 -adrenoceptors or induce membrane depolarization (2). On the contrary, they were able to inhibit the contraction of the epididymal and prostatic tissues provoked by NA, KCl, and BaCl_2 in Ca^{2+} -containing solution. These inhibitory actions were not seen when the experiments had been performed in Ca^{2+} -free environment. Hence, it was likely that each of the tested CU compounds shared a common feature in inhibiting influx of extracellular Ca^{2+} across plasma membrane. To confirm our hypothesis, we determined the contraction in the experimental model of high K^+ , Ca^{2+} - free depolarizing solution mediated depolarized tissues. By this method, we were able to determine an inhibition of Ca^{2+} entry from the extracellular to intracellular pool when CaCl_2 was added

cumulatively to the system. We found that all of the tested CU compounds suppressed the contraction, suggesting that these compounds inherited the properties of membrane voltage-operated Ca^{2+} channel blockers.

Each of the tested CU compounds appeared to exert more inhibitory action against the contraction induced by KCl than the one induced by NA. This was evidenced by that none of the three synthetic compounds at the concentration of 10 μM inhibited the NA-induced contraction, but they significantly inhibited KCl-induced contraction. At the concentration of 100 μM , except CU 18-09 which elicited the comparable potency toward NA- and KCl- induced contraction, CU 18-07 and CU 18-12 had lesser inhibitory effects on NA-induced contraction than on KCl-induced contraction. Taken together, these findings suggested that these compounds might exert its actions specifically at voltage-operated Ca^{2+} channels.

Previous findings demonstrated that the modification of the functional group at *para*-position had little influence on inhibitory potencies against Ca^{2+} influx in the rat isolated aorta (2). On the contrary, this study showed that the difference in functional group at *para*-position of phenyl ring significantly influenced the effects of these three synthetic CU compounds on contraction of the rat isolated vas deferens. The change of functional group from $-\text{OCH}_3$ group (CU 18-07) to $-\text{NO}_2$ group (CU 18-09) on phenyl ring increased the potency in inhibiting the Ca^{2+} influx. In addition, the structure with aminopyridine ring (CU 18-12) was less potent in blocking of Ca^{2+} influx than the one with nitroaniline ring (CU 18-09).

In summary, newly 4-aniline compounds (CU 18-07, CU 18-09) and acyl 4-aminopyridine compounds (CU 18-12) exerted its pharmacological actions on the contraction of isolated rat vas deferens possibly by blocking the Ca^{2+} entry through the voltage-operated Ca^{2+} channels. In addition, the modification of

molecular structure at *para*-position on the phenyl ring affected the inhibitory potency of these compounds on smooth muscle contraction.

References

1. P. Puechprom, P. Dhumma-upakorn, C. Patarapanich, and S. Jianmongkol. Functional screening for the effects of new acyl aniline and acyl aminopyridine derivatives on calcium entry in rat aortic smooth muscle. *Thai J Pharm. Sci.* 2002;26 (3-4): 85-95.
2. A. Khayungarnawee, P. Dhumma-upakorn, C. Patarapanich, and S. Jianmongkol. Effects of new synthetic acyl aniline and acyl aminopyridine derivatives on contractility of rat aorta. *Thai J Pharm Sci* 2004 (manuscript accepted).
3. N. Mallard, R. Marshall, A. Sifers, A., and B. Spriggs. Suramin: a selective inhibitor of purinergic neurotransmission in the rat isolated vas deferens. *Eur J Pharmacol* 1992;220: 1-10.
4. I. von Kugelgen and K. Starke K. Release of noradrenaline and ATP by electrical stimulation and nicotine in guinea-pig vas deferens. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1991;344: 419-429.
5. H. Karaki, H. Ozaki, M. Hori, M. Mitsui-Saito, K. I. Amano, K. I. Harada, S. Miyamoto, H. Nakazawa, K. J. Wan, and K. Sato. Calcium movements, distribution and functions in smooth muscle. *Pharmacol Rev* 1997;49: 157-230.
6. K. Nakazawa, H. Saito, and N. Matsuki. Fast and slowly inactivating components of Ca^{2+} channel current and their sensitivity to nifedipine in isolated smooth muscle cells from rat vas deferens. *Pflügers Archs* 1988;411:289-295.
7. D. W. Hay and R. M. Wadsworth. The effects of calcium channel inhibitors on twitches and noradrenaline contractions of the rat bisected vas deferens. *Eur J Pharmacol* 1983;87: 367-78.
8. W. Thong, C. Boonwan. Synthesis and pharmacological action of acyl aminopyridine derivatives and acyl aniline derivatives. A senior project submitted in partial fulfillment of the requirement for the degree of Bachelor of pharmacy, Chulalongkorn University, (2000).
9. R. P. Hof and H. J. Vuorela. Assessing calcium antagonism on vascular smooth muscle: A comparison of three methods. *J Pharmacol Methods* 1983;9: 41-52.
10. J. M. Van Rossum. Cumulative dose-response curves. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1963;143: 299-330.
11. N. I. B. Amobi and I. C. H. Smith. Different actions in the rat prostatic and epididymal vas deferens of cyclopiazonic acid or ryanodine on noradrenaline-induced contractions. *Gen Pharmac* 1999; 32: 271-278.
12. N. Matsuki, K. Higo, H. Saito, and K. Nakazawa. Regional difference in sympathetic neurotransmitter- and Ca^{2+} channel-mediated responses in rat vas deferens. *Gen Pharmac* 1996;27:689-693.
13. D. W. Hay and R. M. Wadsworth. The effects of calcium channel inhibitors and other procedures affecting calcium translocation on drug-induced rhythmic contractions in the rat vas deferens. *Br J Pharmacol* 1983;79: 347-62.
14. D. W. Hay and R. M. Wadsworth. Potassium contractures in the rat isolated vas deferens: the role of noradrenaline release and extracellular calcium. *Br J Pharmacol* 1981;72: 143P-144P.
15. N. S. Cook and U. Quast. Potassium channel pharmacology. In N.S. Cook (ed.), Potassium channels, structure, classification, function and therapeutic potential, Ellis Horwood, Chichester, UK, 1990, pp. 181-255

สมาคมเภสัชวิทยา มอบวิชาการก้าวหน้า เพื่อนำพาประโยชน์สู่สังคม

เป็นกิจกรรมของฝ่ายวิชาการของสมาคมเภสัชวิทยาที่เริ่มดำเนินงานมาตั้งแต่ พ.ศ 2545 จนถึงปัจจุบัน ที่ผ่านมามีการจัดให้มีการบรรยายทางวิชาการแก่สมาชิกและบุคลากรทางสาธารณสุข ณ สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา โดยไม่คิดค่าลงทะเบียน และยังได้หน่วยกิตการศึกษาต่อเนื่อง

ที่ผ่านมา ได้จัดบรรยายทางวิชาการไปแล้ว 6 ครั้ง

ครั้งที่ 1 เรื่อง Current Concept in Breast Cancer Therapy

โดย นพ.อาคม เชียรศิลป์ จากสถาบันมะเร็งแห่งชาติ

ครั้งที่ 2 เรื่อง Pharmacogenomics

โดย ผศ.ดร.วิจิตรา ทศนียกุล คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ครั้งที่ 3 เรื่อง การสืบค้นข้อมูลเชิงประจักษ์เพื่อการประเมินยาครั้งที่ 1

โดย ผศ.นพ.พิสนธ์ จงตระกูล คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ครั้งที่ 4 เรื่อง Rheumatoid Arthritis and Osteoarthritis: Pathology and Treatment

โดย นพ.กิตติ โตเต็มโชคชัยการ คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล

ครั้งที่ 5 เรื่อง Cholesterol Lowering Drugs

โดย รศ.ดร.ศรีจันทร์ พรจิราศิลป์

ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

ครั้งที่ 6 เรื่อง Current and Future Management of COPD in 2004

โดย นพ.ประพันธ์ ขงชัยยุทธ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล

การบรรยายทางวิชาการที่ผ่านมามีได้ประสพผลสำเร็จเป็นอย่างดีและได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก โดยมีผู้เข้ารับฟังการบรรยายเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ ทำให้มีกิจกรรมบรรยายทางวิชาการบ่อยครั้งขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งในช่วง 3 เดือนสุดท้ายของปีนี้จะมีโปรแกรมการบรรยายทุกเดือนดังที่ประกาศไว้ในวารสารฉบับนี้ในหน้า 126

ในช่วงแรกๆที่เริ่มให้มีการกิจกรรมดีๆเช่นนี้ ทางสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทยได้รับการสนับสนุนจากบริษัทเซริงพลาว ประเทศไทย โดยไม่มีการตอบแทนเรื่องโฆษณาเภสัชภัณฑ์ของทางบริษัทแต่ประการใดและมุ่งเน้นแต่เนื้อหาทางวิชาการที่ทันสมัย ทางฝ่ายวิชาการของสมาคมฯยังคงยึดถือนโยบายนี้เป็นหลักปฏิบัติ และได้รับการสนับสนุนเพิ่มเติมจากบริษัทยาอื่นๆที่เล็งเห็นประโยชน์ของกิจกรรมเช่นนี้

RESEARCH ARTICLES

Anxiolytic-like effects of *Morinda citrifolia* L. (noni) in rats

Sarinee Kalandakanond¹, Jantarima Pandaranandaga², Siripen Komolvannich¹ and
Sutthasinee Poonyachoti¹

¹Department of Physiology, Faculty of Veterinary Science; ²Graduate student, Interdepartment of
Physiology, Graduate School; Chulalongkorn University, Bangkok Thailand.

Abstract

Noni juice (*Morinda Citrifolia* L.) had long been known as a medicinal plant in folklore medicine in tropical countries and Pacific islands. To date, the only available scientific knowledge was focused on antioxidant and anti-cancer effects, while it was claimed to have beneficial effects on stress relieved and happiness feeling by the noni juice-consumers. The central effect of noni was demonstrated from the noni root extract to contain sedative and analgesic properties. In this study, we utilized an elevated-plus maze (EPM), a standard test for anxiety in rats to determine whether noni beverages contained an anxiolytic property. We found that noni juices from two commercially available sources had marked effect on the anxiety-related behavioral parameter on EPM in rat. This effect was comparable to that of diazepam, a clinically effective anxiolytic drug. Noni juices and diazepam can increase time spent in the opened-arm of the EPM, the indicator of anxiolytic-like behaviors without effect on locomotor activity. Additionally, we did not find any detrimental effect on liver and kidney functions when the noni juice was fed for 30 days; the daily weight gain and feed intake were not affected as well.

Key words : anxiety, anxiolytic, elevated-plus maze, *Morinda citrifolia*, noni

ผลในการคลายความกังวลของน้ำลูกยอ (โนนิ) ในหนูขาว

สฤณี กลั่นทกานนท์¹ จันทริมา ปันทรนนทกะ² ศิริเพ็ญ โกมลวานิช¹ และ สุทธาสินี ปุญญโชติ¹

¹ ภาควิชาสรีรวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์, ² นิสิตปริญญาเอก สหสาขาสรีรวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ

บทคัดย่อ

น้ำลูกยอ หรือน้ำโนนิ (*Morinda Citrifolia* L.) เป็นเครื่องดื่มที่มีสรรพคุณเป็นยาพื้นบ้านที่ใช้กันแพร่หลายในประเทศแถบร้อนชื้นและหมู่เกาะแปซิฟิก ในปัจจุบันเป็นที่ทราบกันดีว่าน้ำลูกยอมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ และสามารถป้องกันการก่อมะเร็งได้ทั้งในสัตว์ทดลองและในหลอดทดลอง อย่างไรก็ตามในกลุ่มผู้บริโภคได้มีการกล่าวถึงผลของน้ำลูกยอในการลดความเครียดและทำให้หลับสบาย ซึ่งการทดลองที่มีการรายงานถึงผลของสารสกัดที่มีต่อระบบประสาทนั้น มีเพียงการทดลองที่ใช้สารสกัดจากรากต้นยอในการบรรเทาความเจ็บปวด และทำให้เกิดอาการซึมในหนูทดลอง การศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยสนใจศึกษาถึงการให้น้ำลูกยอในหนูขาวและวัดผลในการลดความกังวลโดยใช้ elevated-plus maze ซึ่งเป็นวิธีทดสอบมาตรฐานในการวัดความกังวลในหนูขาว พบว่าในหนูที่ได้รับน้ำลูกยอหรือน้ำโนนิให้ผลในการลดความกังวลไม่ต่างจากหนูที่ได้รับ diazepam ซึ่งเป็นยาที่ใช้ในการลดความกังวลทางการแพทย์ ผลที่พบคือน้ำลูกยอ และยา diazepam ทำให้หนูใช้เวลาอยู่ในส่วนเปิดของ elevated-plus maze มากกว่าหนูในกลุ่มควบคุม ซึ่งเป็นดัชนีหนึ่งที่ใช้ในการชี้วัดความกังวล โดยผลของน้ำลูกยอและยา diazepam ไม่มีผลต่ออัตราการเคลื่อนที่ของหนูในอุปกรณ์ทดสอบ นอกจากนั้นในการศึกษาครั้งนี้พบว่าหนูที่ได้รับน้ำลูกยอติดต่อกันเป็นเวลา 30 วัน ไม่มีผลต่อการทำงานของตับหรือไต หรือผลต่ออัตราการเจริญเติบโต หรือปริมาณอาหารที่กินต่อวันในหนูขาว

คำสำคัญ: ความกังวล การคลายความกังวล โนนี น้ำลูกยอ elevated-plus maze,
Morinda citrifolia

Introduction

Noni (*Morinda citrifolia* Linn. Rubiaceae) is a small evergreen plant that can be found from India through Southeast Asia to Eastern Polynesia. Its common names are noni, nonu, Indian mulberry, duppy sourso, cheese fruit, Ba Ji Tian, mergadu, yor and nhau. The noni has been used in various aspects; different parts of a plant (e.g. fruit, leaf, bark, root, flower and seed) have long been employed in folklore medicine to treat a broad range of diseases including diabetes, hypertension, infections, colds, and cancer¹.

There are more than 160 identified chemicals in noni, the major components are scopoletin, octanoic acid, terpene compounds, alkaloids, anthraquinones, β -sitosterol, carotene, vitamin A, vitamin C, potassium, flavone glycosides, linoleic acid, amino acids, acubin, asperuloside, acubin, caproic acid, caprylic acid, ursolic acid, rutin, a putative proxeronine, glycosides, and a tri-saccharide fatty acid ester¹⁻⁵. It had been proved recently that noni juice extract contained antioxidant, anti-cancer⁵ and anti-inflammatory⁶ property both *in vivo* and *in vitro*⁷ experiments. The *in vitro* experiment revealed that glycosides in noni fruit extract were responsible for the anti-cancer activity².

These scientific evidences are not only supported the knowledge of noni as a medicinal plant in folklore medicine, but also supported some health benefits of the juice claimed by the consumer. Nowadays, noni juice is commercially market as a health-promoting beverage and according to data obtained in the USA for 2001, an average number of 46,603 people purchased Tahitian Noni® Juice per month⁸. Similarly, in Thailand, the use of herbal products is also arising. Despite of becoming a popular herbal product, in 2000, there was a case report of unfavorable effect of noni juice on chronic renal failure patient⁹. It is thus likely that the consumers are sometime unaware of a serious health consequence that might occur.

In this study, we were interested in the anxiolytic action of noni juice beverage, as it is claimed to produce happiness and reduce stress. To date, the only reported central effect of noni is that the noni root extract contained sedative property along with the central analgesic activity in mice¹⁰. Unfortunately, the active substance has not been yet identified, it is therefore could not make an assumption that the fruit would have similar effect as the root; since some constituents found in the root like anthraquinone could not be detected in the juice⁸. In order to test for anxiolytic effect, the elevated plus-maze (EPM) is selected; this test is widely used and specific for anxiety. It bases on unconditioned responses to a potentially dangerous environment, the combination of height, luminosity and open space is assumed to induce fear or anxiety in the rodents. The degree of anxiety is assessed by measuring the time spent on the opened- and closed-arms, and the number of entries made into each arm¹¹⁻¹³. Additionally, the effect of noni juice on growth and the clinical chemistry specific for liver and kidney profiles were determined as well.

Materials and Methods

Noni Juice

Noni juice used in the experiments were Tahitian Noni® Juice (TNJ; Morinda International Inc, Thailand) and Siam Noni® (SNJ; Suprederm International, Thailand). TNJ was a fruit juice mixture of 89% Tahitian noni juice and 11% common grape and blueberry juice concentrates. SNJ was produced from Thai noni and composed of 99% noni juice.

Animals

Male Wistar rats weighing 200-250 gm at the beginning of the experiments were obtained from National Laboratory Animal Center, Mahidol University (NLAC-MU), Thailand. All animals were housed in shoebox cage under 12h light/dark cycle (lights on at 0700 h) at

room temperature ($25 \pm 2^\circ\text{C}$). Standard rat chow and water were supplied *ad libitum*. Body weight and amount of food consumed were measured daily. After 7-day adaptation period, rats were assigned randomly into 4 groups: control, diazepam, TNJ and SNJ ($n = 9$ per group; except $n = 12$ for SNJ group). The rats were fed with 1 ml of water or noni juices for 15 or 30 days. For the diazepam treated groups, the rats were daily gavaged with 1 ml water, and diazepam dissolved in distilled water was given orally at a single dose of 15 mg/kg on the day of behavioral test. All procedures were done under the approval of Animal Used Committee, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University.

Behavioral assessment

The behavioral experiments were performed using an EPM, the standard test to assess anxiety-like behaviors in rats¹¹⁻¹³. The EPM was made of wood, elevated 50 cm above the floor, and consisted of four arms of equal dimension (10 x 50 cm) in which two arms enclosed by high wall (30 cm) and two arms opened. The last day of experiment, rats were placed in the center of the EPM facing a corner of the platform 15 min after receiving water or noni juice. Rats treated with diazepam, a standard anxiolytic agent (Azepam 5, Macrophar Co. Ltd, Thailand) was tested on EPM within 5 min after received drug. The behavioral test was conducted during the light phase of the cycle, between 0900-1100 h in a low natural light room. Each rat was allowed to explore freely on the EPM for 5 min and recorded on video cassette recorder for later analysis. The parameters measured were time spent in opened-arm, closed-arm and center platform, including number of entries into each arm. Number of times of rearing and grooming were also recorded. An arm entry was defined as the placement of at least both forefeet into one arm.

Clinical chemistry

Blood was collected from the heart at the end of the experiment and tested for liver and kidney profiles using Reflotron® test strips for alkaline phosphatase (AP), glutamate pyruvate transaminase (GPT), glutamate oxaloacetate transaminase (GOT) and creatinine (Roche Diagnostics, Thailand). For blood urea nitrogen (BUN), the plasma concentration was determined by colorimetrically measuring the product formed in the direct reaction of urea and diacetyl mono-oxime¹⁴. Blood glucose was measured by using Accu-Chek® advantage II blood glucose test strips (Roche Diagnostics, Thailand). The plasma was analyzed for sodium and potassium concentration by flame photometry (model 410C clinical flame photometer, Corning, Halstead, Essex, UK) and for chloride concentration by chloride titration (model 925 Chloride analyzer, Corning).

Data analysis

For each rat, the total number of entries (opened + closed arm), the percentage of opened-arm entries ($100 \times \text{opened-arm entry} / \text{total entries}$), and the percentage of time spent on the opened-arm ($100 \times \text{opened-arm time} / 300$) were calculated. Then, the effects of noni juice on all parameters were analyzed using one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Student-Newman-Keuls test to compare between groups. The unpaired *t*-test was used to compare the different effects of noni fed for 15 days and 30 days. The data were expressed as mean \pm SE. A difference of the means of $p < 0.05$ was considered as statistically significant.

Results

Body weight and feed intake

There was no different in body weight, daily weight gain or daily feed intake between treatments after noni juices were given orally for 15 days. Similarly, when the treatment was extended to 30 days, there was no different in all measured parameters as shown in figure 1.

Behavioral assessment

The rats treated with diazepam (15 mg/kg, PO), the standard anxiolytic agent, spent more time in an aversive opened area compared to control ($p < 0.001$) as shown in figure 2. Similar to diazepam treated-rats, 15-day noni treated-rats spent longer time on opened-arm than control ($p < 0.001$; figure 2). Moreover, the number of total entry into both arms and the

number of rearing, the indicator of motor activity in rats fed with noni juices or diazepam were not different from control (figure 3). Interestingly, when noni juice was fed for 30 days, the percentage of time spent in opened-arm and the percentage of opened-arm entry were not significantly different from those of 15 days as shown in figure 4.

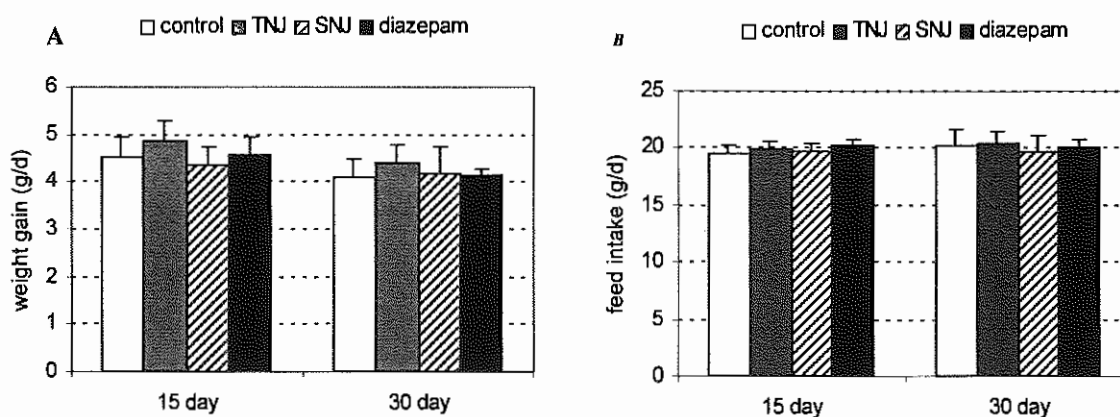


Figure 1 Effects of noni feeding on daily weight gain (A) and daily feed intake (B). There was no difference between treatments when noni juices were fed for 15- or 30- days. Data presented as mean \pm SE.

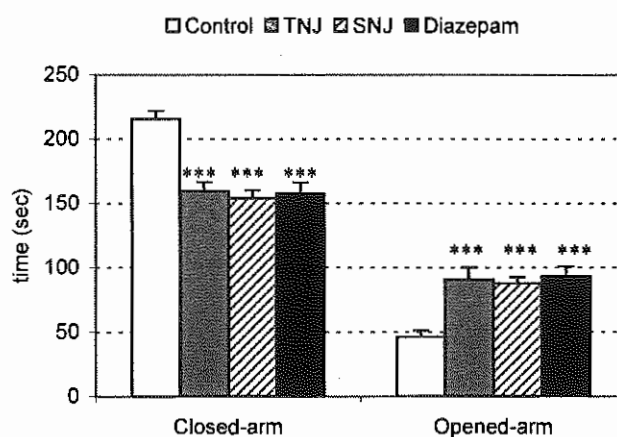


Figure 2 Effect of 15-day noni feeding on opened- and closed- arm time. Noni juice and diazepam were able to induce an anxiolytic like-behavior upon exposure to the EPM as they spent more time on the opened-arm and less time on the closed-arm compared to the controls. *** Significantly different from control at $p < 0.001$, one-way ANOVA followed by Student-Newman-Keuls test. Data presented as mean \pm SE.

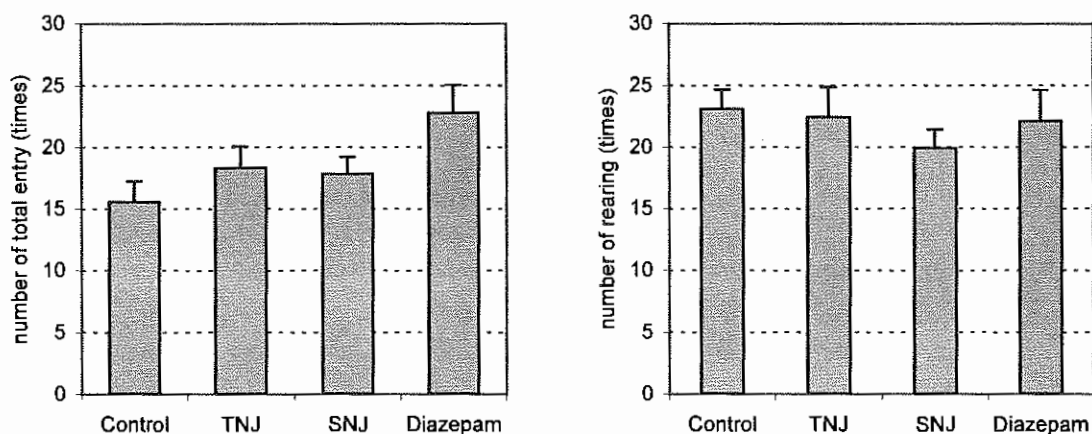


Figure 3 Effect of 15-day noni feeding on motor activity; total arm entry (A) and rearing (B). The total arm entry (A) and the number of rearing (B), the indicators of motor activity in rats tested with EPM were not different between treatments. Data presented as mean \pm SE.

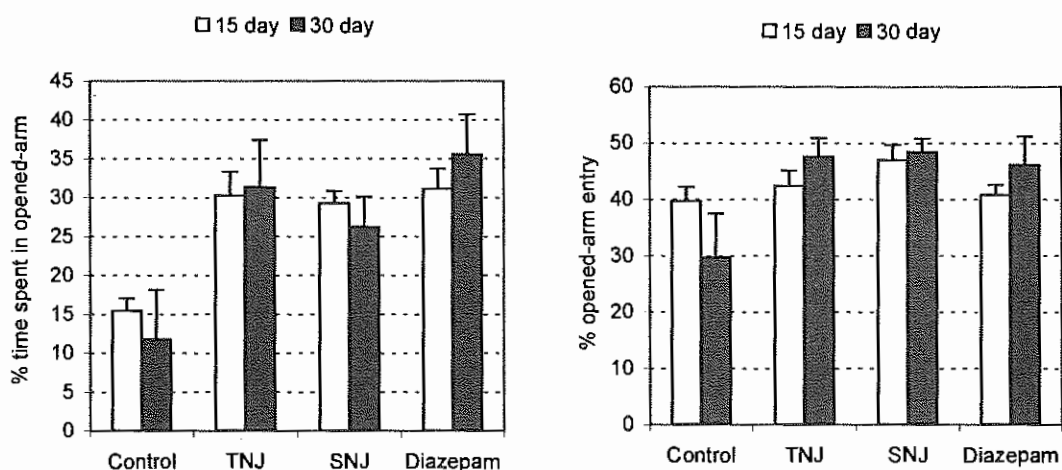


Figure 4 Effect of length of noni feeding on percentage of time spent on opened-arm (A) and percentage of opened-arm entry (B). There was no different in the percentage of time (A) or number of entry (B) into opened-arm when noni juices were fed for 15 or 30 days. Data presented as mean \pm SE.

Table 1 Clinical chemistry of rats fed with noni juice for 30 days. There was no different in clinical chemistries between treatments. Data presented as mean \pm SE.

	Control	TNJ	SNJ	Diazepam
AP (U/L)	633.00 \pm 92.47	421.25 \pm 29.08	478.75 \pm 36.32	504.75 \pm 83.25
GPT (U/L)	22.15 \pm 1.27	27.45 \pm 1.15	22.50 \pm 1.24	27.25 \pm 2.13
GOT (U/L)	68.68 \pm 6.78	81.10 \pm 8.58	85.88 \pm 14.15	77.65 \pm 5.37
BUN (mg%)	47.20 \pm 3.83	39.94 \pm 2.71	49.69 \pm 4.25	45.43 \pm 1.20
Na ⁺ (mEq/L)	137.75 \pm 4.39	137.25 \pm 2.87	139.50 \pm 2.18	138.25 \pm 4.39
K ⁺ (mEq/L)	4.33 \pm 0.15	3.90 \pm 0.07	3.95 \pm 0.21	4.25 \pm 0.29
Cl ⁻ (mmol/L)	98.00 \pm 1.68	99.75 \pm 0.75	102.00 \pm 1.08	99.25 \pm 0.75
Glucose (mg/dL)	116.75 \pm 2.50	135.50 \pm 4.33	120.75 \pm 4.31	138.25 \pm 5.25

The grooming activity recorded from the EPM was not different between treatments. However, it should be noted that the number of grooming was reduced in rat treated with noni juice and diazepam (data not shown). Moreover, when the feeding was prolonged to 30 days, the noni-fed rat had no grooming activity in all parts of the maze.

Clinical chemistry

At the end of experiments, blood was collected for measuring AP, GPT, GOT, BUN, creatinine, Na^+ , K^+ , Cl^- , glucose. There was no different in all parameters compared to control group after feeding for 15 days (data not shown). Similarly, in a 30-day treated group, all blood chemistries were not significantly different from control (table 1).

Discussion

In this study, we examined the effects of noni juice on anxiety related behavior, along with the effects on body weight gain, feed intake and blood chemistry related to liver and kidney functions. We found that noni juices in a form of supplemented beverages (TNJ[®] and SNJ[®]) contained an anxiolytic activity in rats when tested with elevated plus maze (EPM). The EPM is a valid behavioral test for the selective anxiolytic and anxiogenic agent in the rat. The correlation of behavior, physiologically and pharmacologically have been stated¹¹. Since the opened elevated area could evoke an unconditioned fear, rats usually made fewer entries into the opened arm than into the closed arm, and spent less time in opened-arm. The agents that can increase the percentage of time spent on the opened-arm and the number of entries into the opened-arm is therefore implied as an anxiolytic agent. Diazepam, a clinically effective anxiolytic had been shown previously to increase both time and number of entry into opened-arm^{11,15}. In this study, the rats treated with single oral dose of diazepam spent more time in the opened-arm when compared to control, and this finding was in agreement

with others. Similarly, we found that noni juice when given orally for 15 days could produce an effect resembling to diazepam in that rat fed with noni juices spent more time in the aversive opened area, while control rats avoid it and stayed in a protected closed-arm. Since there were some concerns that the increase in opened-arm time could be confounded by an increase in motor activity of the rats, the total number of entries into both arms and the rearing behavior were usually recorded. We did not find any different in total entries or number of rearing, suggesting that noni juices and diazepam contained an anxiolytic effect without any effect on motor activity in this test.

Additionally, the prolongation of noni juice feeding to 30 days had no greater effects than those of 15 days demonstrated by the percentage of opened-arm time and opened-arm entry were not different between 15- and 30-day treatment. Although it is likely that prolonged taking of noni juice had no more additive effect but it should be noted that the grooming activity, another indicator of anxiety, was reduced in rats treated with noni juices for 30 days.

From this study, we can conclude that the noni juices (TNJ[®] and SNJ[®]) could reduce anxiety-related behavior in rats and SNJ[®] yielded similar effect to that of TNJ[®]. In addition, body weight, daily weight gain, daily food consumption, the liver and kidney profiles were not affected as well even when the feeding was lengthened to 30 days. However, Mueller and coworkers⁹ has reported previously that noni juice caused an unfavorable effect on chronic renal patient due to high concentration of potassium in noni juice. It is possible that in healthy animal, the body can excrete unwanted materials from the body compared to sick animal. Nevertheless, it should take into account that potassium concentration in the noni juice was quite high, and this could cause an undesirable effect to patient or animal with health problem.

In conclusion, we found that noni juices in a form of supplemented beverages could reduce anxiety with no

detrimental effect on liver and kidney functions in rats. The exact mechanism or the active substance(s) responsible for this anxiolytic effect will be required further investigations.

Acknowledgements

This work was supported by Veterinary Research Fund of the Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Thailand. We would like to thank Dr. Damri Darawiroj for his helps on blood chemical analysis.

References

1. Wang MY, West BJ, Jensen CJ, et al. *Morinda citrifolia* (Noni): A literature review and recent advances in Noni research. *Acta Pharmacol Sin* 2002; 23: 1127-41.
2. Liu G, Bode A, Ma WY, et al. Two novel glycosides from the fruits of *Morinda citrifolia* (noni) inhibit AP-1 transactivation and cell transformation in the mouse epidermal JB6 cell line. *Cancer Res* 2001; 61: 5749-56.
3. Sang S, Cheng X, Zhu N, et al. Flavonol glycosides and novel iridoid glycoside from the leaves of *Morinda citrifolia*. *J Agric Food Chem* 2001; 49: 4478-81.
4. Sang S, He K, Liu G, et al. A new unusual iridoid with inhibition of activator protein-1 (AP-1) from the leaves of *Morinda citrifolia* L. *Org Lett* 2001; 3: 1307-9.
5. Wang MY, Su C. Cancer preventive effect of *Morinda citrifolia* (Noni). *Ann N Y Acad Sci* 2001; 952: 161-8.
6. McKoy ML, Thomas EA, Simon OR. Preliminary investigation of the anti-inflammatory properties of an aqueous extract from *Morinda citrifolia* (noni). *Proc West Pharmacol Soc* 2002; 45: 76-8.
7. Homick CA, Myers A, Sadowska-Krowicka H, et al. Inhibition of angiogenic initiation and disruption of newly established human vascular networks by juice from *Morinda citrifolia* (noni). *Angiogenesis* 2003; 6: 143-9.
8. Scientific Committee on Food. Opinion of the Scientific Committee on Food on Tahitian Noni® Juice (expressed on 4 December 2002). European commission: Health and Consumer Protection Directorate-General. Brussels-Belgium.
9. Mueller BA, Scott MK, Sowinski KM, et al. Noni juice (*Morinda citrifolia*): hidden potential for hyperkalemia? *Am J Kidney Dis* 2000; 35: 310-2.
10. Younos C, Rolland A, Fleurentin J, et al. Analgesic and behavioural effects of *Morinda citrifolia*. *Planta Med* 1990; 56: 430-4.
11. Pellow S, Chopin P, File SE, et al. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *Neurosci Methods* 1985; 14: 149-67.
12. Cruz APM, Frei F, Graeff FG. Ethopharmacological analysis of Rat Behavior on the Elevated Plus-Maze. *Pharm Biochem Behav* 1994; 49: 171-6.
13. Rodgers RJ, Dalvi A. Anxiety, defense and the Elevated plus-maze. *Neuro Biobehav Rev* 1997; 21: 801-10.
14. Ritcher HJ, Lapointe YS. Urea in blood, serum or urine (diacetyl mono-oxime procedure). *Clin Chem* 1962; 8: 335.
15. Rex A, Morgenstern E, Fink H. Anxiolytic-like effects of kava-kava in the elevated plus-maze test--a comparison with diazepam. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2002; 26: 855-60.

REVIEWS

Considerations Before Prescribing Phenytoin

Chaichan Sangdee

Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Cheingmai University

Abstract

Although phenytoin has been used to treat epilepsies for several decades, it is still among the drug of choice in the treatment of generalized tonic-clonic, simple partial and complex partial seizures, since it is highly efficacious and not expensive. However, phenytoin is a drug with complex pharmacokinetic properties such as its absorption and metabolism may be saturated at the conventional doses and at the upper therapeutic concentrations and high plasma protein binding (approximately 90%). These characteristics can cause serious drug interactions and has great impact on plasma phenytoin concentration. In addition, preparations of phenytoin from different manufacturers may differ significantly in bioavailability and hence are not bioequivalent and thus cannot be used interchangeably. All these can lead to problems in clinical setting if physicians and pharmacists are not aware of these special pharmacokinetic characteristics of phenytoin. There are immediate release oral phenytoin preparations such as Ditoin® and modified release preparations such as Dilantin Kapseals®. Immediate release phenytoin preparations have several advantages over those modified release preparations, they are absorbed more rapidly and the extents of absorption are greater and less fluctuation of plasma levels of phenytoin. However, immediate release phenytoin preparations need more frequent dosing, 2-3 times a day while the modified release preparation can be giving once daily. Immediate release preparations may be more suitable when loading dose is deemed necessary for the rapid control of frequent seizures.

Key words: phenytoin, bioavailability

ข้อพิจารณาก่อนจ่ายยา phenytoin

รศ. ดร. ชัยชาญ แสงดี

ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

บทคัดย่อ

แม้ phenytoin จะเป็นยาที่ใช้ในการระงับอาการโรคลมชักมานานแล้ว แต่ยังเป็นยาที่เลือกใช้ลำดับแรกในการระงับอาการของโรคลมชักชนิด generalized tonic-clonic, simple partial และ complex partial เนื่องจากมีประสิทธิภาพค่อนข้างสูง ราคาถูก แต่ phenytoin เป็นยาที่มีคุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์ที่พิเศษซับซ้อน เช่น การดูดซึมและการกำจัดยาที่มีการอิ่มตัว (saturation of absorption and elimination) มีการจับกับโปรตีนในพลาสมาค่อนข้างสูง (ประมาณ 90%) คุณสมบัติทั้งสองประการนี้ส่งผลให้เกิดปัญหาด้านปฏิกิริยาต่อกันระหว่างยา (drug interactions) ที่เมื่อเกิดขึ้นจะส่งผลกระทบต่อระดับยาในเลือดได้ค่อนข้างรุนแรง นอกจากนี้ ยาเตรียม phenytoin ของแต่ละบริษัทอาจมี bioavailability ไม่เท่ากันและไม่มีชีวสมมูลกัน และอาจไม่สามารถใช้ทดแทนกันได้ ซึ่งทำให้เกิดปัญหาในทางคลินิกถ้าแพทย์และเภสัชกรไม่ตระหนักถึงคุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์ที่พิเศษเหล่านี้ ยาเตรียมของ phenytoin ในรูปแบบของการรับประทานมีทั้งแบบที่มีการปลดปล่อยตัวยาออกจากยาเตรียมได้เร็ว (immediate release) เช่น Ditoine[®] และแบบที่มีการปรับเปลี่ยนให้ปลดปล่อยตัวยาออกจากยาเตรียมช้าลง (modified release) เช่น Dilantin Kapseals[®] ยาเตรียม phenytoin แบบ immediate release มีข้อดีคือมีการดูดซึมเร็วและมากกว่า และมีการแกว่งตัวของระดับ phenytoin ในพลาสมาน้อยกว่ายาเตรียม phenytoin แบบ modified release สามารถให้ยาวันละครั้งได้ ยาเตรียม phenytoin แบบ modified release อาจมีความเหมาะสมกว่า เมื่อจำเป็นต้องให้ยาแบบ loading dose แบบรับประทานเพื่อควบคุมการชักอย่างรวดเร็ว

บทนำ

แม้ phenytoin จะเป็นยาที่ใช้ในการระงับอาการโรคลมชักมานานแล้ว แต่ยังเป็นยาที่เลือกใช้ลำดับแรกในการระงับอาการของโรคลมชักชนิด generalized tonic-clonic, simple partial และ complex partial เนื่องจากมีประสิทธิภาพค่อนข้างสูง ราคาถูก แต่ phenytoin เป็นยาที่มีคุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์ที่พิเศษซับซ้อน เช่น การดูดซึมและการกำจัดยาที่มีการอิ่มตัว (saturation of absorption and elimination) มีการจับกับโปรตีนในพลาสมาค่อนข้างสูง (ประมาณ 90%) คุณสมบัติทั้งสองประการนี้ส่งผลให้เกิดปัญหาด้านปฏิกิริยาต่อกันระหว่างยา (drug interactions) ที่เมื่อเกิดขึ้นจะส่งผลกระทบต่อระดับยาในเลือดได้ค่อนข้างรุนแรง นอกจากนี้ ยาเตรียม phenytoin ของแต่ละบริษัทอาจมี bioavailability ไม่เท่ากัน และไม่มีชีวสมมูลกัน และอาจไม่สามารถใช้ทดแทนกันได้ ซึ่งทำให้เกิดปัญหาในทางคลินิกถ้าแพทย์และเภสัชกรไม่ตระหนักถึงคุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์ที่พิเศษเหล่านี้

แม้ว่าเมื่อ phenytoin จากต่างบริษัทถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดแล้ว วิถีทางเภสัชจลนศาสตร์ของ phenytoin จากต่างบริษัทในร่างกายของผู้ที่ได้รับยานี้จะเหมือนกันก็ตาม แต่ปัจจัยสำคัญที่สุดคืออัตราเร็วและปริมาณการดูดซึมของยาจากยาเตรียมที่ส่งผลกระทบต่อระดับยาในเลือดและการรักษาได้

การวัดระดับของ Phenytoin ในพลาสมา

Phenytoin เป็นยาที่มีข้อบ่งชี้ว่าควรวัดระดับยาในพลาสมาอย่างสม่ำเสมอเนื่องจากระดับยาในพลาสมาของยานี้จะสัมพันธ์โดยตรงกับผลการรักษาและผลข้างเคียงหรือพิษของยา โดยที่ระดับยาในพลาสมาที่ได้ผลในการรักษาโรคลมชักในผู้ป่วยส่วนใหญ่จะอยู่ในช่วง 10 มก/ลิตร อาจมีผู้ป่วยส่วนน้อยที่การควบคุมอาการชักอยู่ในช่วงที่ต่ำกว่านี้ แต่ถักระดับยาดำกว่า 7 มก/ลิตรมักจะไม่ได้ผลในการรักษา นอกจากนี้ การวัดระดับยา

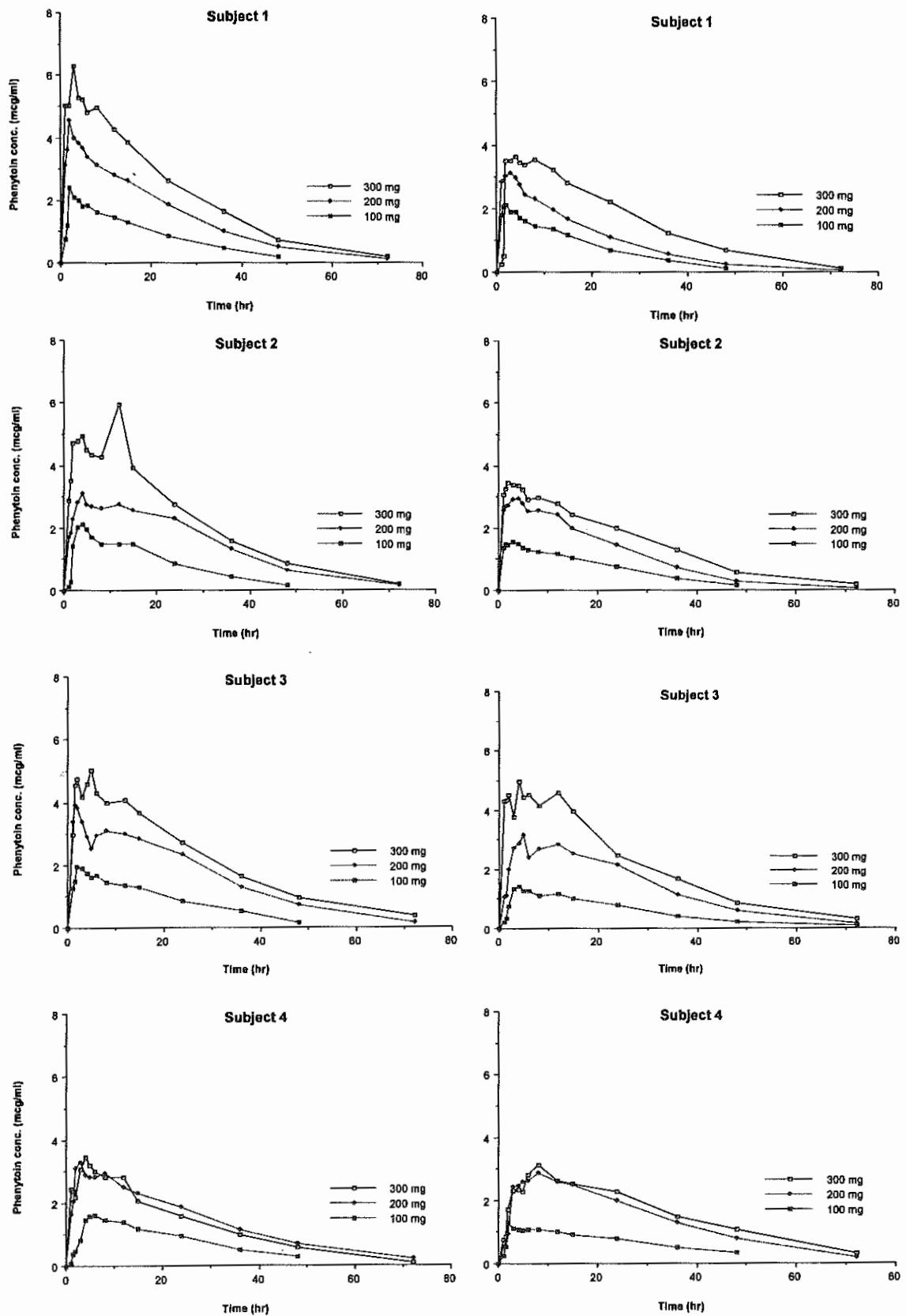
phenytoin เมื่อเริ่มต้นการรักษาโรคลมชักอาจช่วยในการปรับขนาดยาให้เหมาะสมกับผู้ป่วยแต่ละราย ซึ่งส่งผลให้ประสิทธิภาพของการรักษาสูงขึ้น และลดผลข้างเคียงหรือพิษของยา การวัดระดับยา phenytoin เมื่อสงสัยว่าเกิด drug interactions ยังช่วยในการปรับขนาดของยาให้เหมาะสมกับภาวะในขณะนั้นอีกด้วย

คุณลักษณะทางเภสัชจลนศาสตร์ของ phenytoin

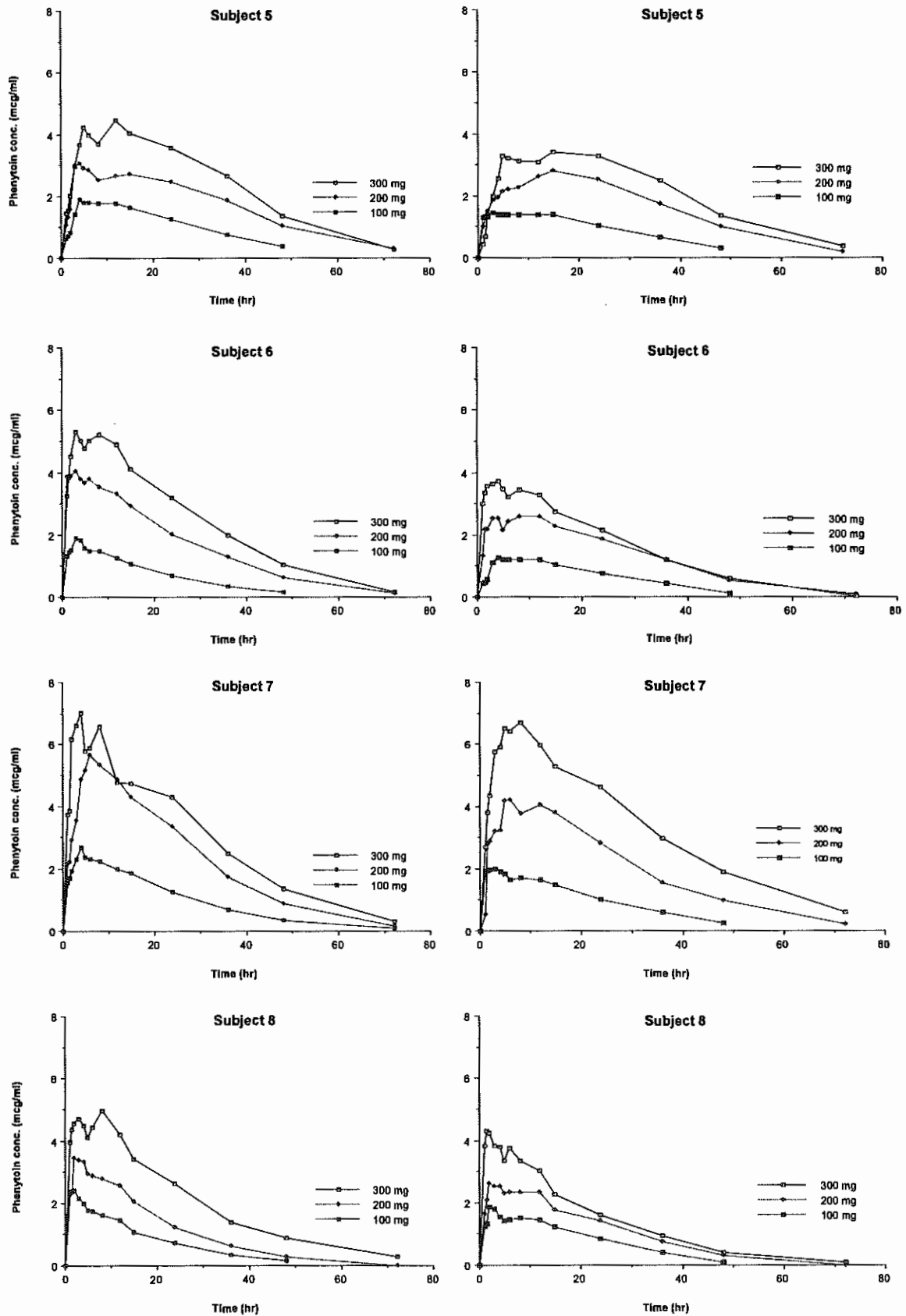
ดังที่ได้กล่าวนำมาข้างต้นว่า phenytoin มีคุณลักษณะทางเภสัชจลนศาสตร์ที่ค่อนข้างพิเศษและซับซ้อน และส่งผลต่อการรักษาได้ จึงควรเข้าใจเภสัชจลนศาสตร์ของยานี้อย่างละเอียดลึกซึ้ง

การดูดซึม

Phenytoin เป็นยาที่ละลายในน้ำได้น้อยมาก การละลายของยาในทางเดินอาหารจึงเกิดขึ้นอย่างช้าๆ อัตราเร็วของการดูดซึม phenytoin จากทางเดินอาหารไม่เป็นเส้นตรงหรือมีการอิ่มตัว (saturation) และสัมพันธ์กับขนาดของยาที่ได้รับในแต่ละครั้ง¹ เมื่อขนาดของยาสูงขึ้น อัตราเร็วของการดูดซึมจะช้าลง โดยพบว่าเวลาที่ใช้ในการดูดซึมเพื่อให้ระดับยาสูงสุดในพลาสมา (time to reach maximal plasma concentration หรือ T_{max}) จะเป็น 8.4 ชั่วโมงเมื่อใช้ขนาดยา 400 มก และ T_{max} และเพิ่มขึ้นเป็น 13.2 และ 31.5 ชั่วโมงเมื่อผู้ป่วยได้รับยาในขนาด 800 และ 1600 มก ตามลำดับ² การที่ T_{max} ยืงนานขึ้นเมื่อเพิ่มขนาดของ phenytoin นั้นเนื่องจากการดูดซึมของ phenytoin มีการอิ่มตัว³ ดังแสดงในรูปที่ 1 ที่ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างขนาดยาและความเข้มข้นของ phenytoin ในพลาสมาของยา 2 ตำรับ⁴ จากผลการศึกษาดังนี้ชี้ว่าการดูดซึม phenytoin ขนาด 300 มก จากตำรับ Ditoine[®] (immediate release preparation) ถึงจุดอิ่มตัวในอาสาสมัครรายที่ 4 และ 7 และจากตำรับ Dilantin Kapseals[®] (modified release preparation) ในอาสาสมัครรายที่ 2



รูปที่ 1 ความเข้มข้นของ Phenytoin ในพลาสมาหลังได้รับ Ditoine® (ซ้าย) และ Dilantin Kapseals® (ขวา)
ขนาด 100, 200 และ 300 มก ครั้งเดียว



Ditoin[®]

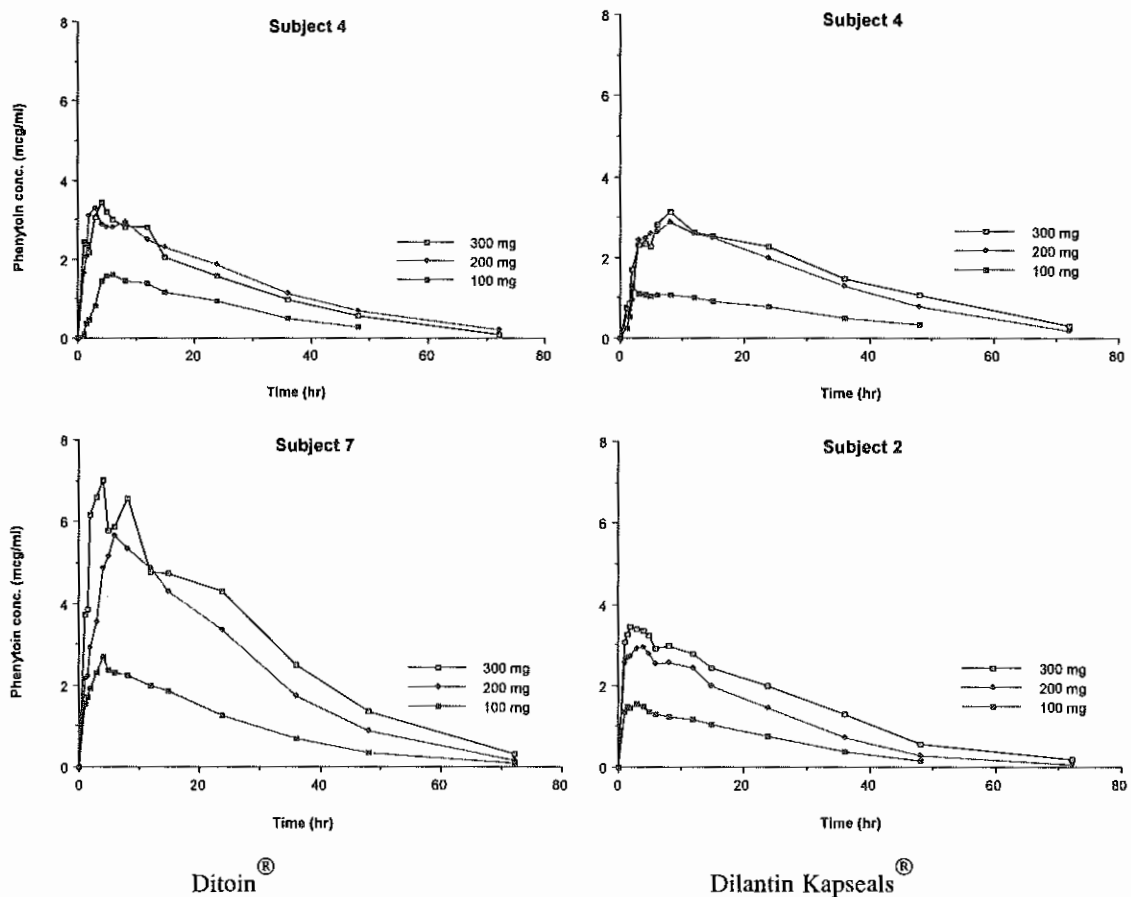
รูปที่ 1 (ต่อ)

Dilantin Kapseals[®]

และ 4 (รูปที่ 2) นอกจากนั้น มีการศึกษาที่แสดงว่าเมื่อได้รับ phenytoin ขนาด 400, 800 และ 1600 มก ครั้งเดียว ความเข้มข้นสูงสุดในพลาสมา (maximal plasma concentration หรือ C_{max}) ของ phenytoin มีค่า 3.9, 5.7 และ 10.7 มก/ลิตร ซึ่งการเพิ่มขึ้นของ C_{max} ไม่เป็นสัดส่วนกับขนาดยาที่เพิ่มขึ้น แต่เมื่อแบ่งขนาดของ phenytoin 1600 มก โดยให้แต่ละครั้งให้น้อยลง แต่ให้บ่อยขึ้น C_{max} จะมีค่า 15.3 มก/ลิตร² ซึ่งการเพิ่มขึ้น C_{max} ของการได้รับยาโดยแบ่งให้ยาครั้งหลังนี้จะเป็นส่วนกับขนาดของยาเมื่อเทียบกับขนาด 400 มก ที่ให้ครั้งเดียว ซึ่งเป็นหลักฐานเสริมที่แสดงว่าการดูดซึมของ phenytoin มีการอิ่มตัวเมื่อได้รับ phenytoin ในขนาดสูงครั้งเดียว

การกระจายตัวของ Phenytoin ในร่างกาย

หลังการดูดซึม phenytoin กระจายไปยังเนื้อเยื่อต่างๆรวมทั้งสมองได้ค่อนข้างเร็ว ประมาณ 90% ของ phenytoin ในพลาสมาจะจับกับโปรตีนอัลบูมิน ดังนั้น จึงควรใชยาน้อยอย่างระมัดระวังในผู้ป่วยที่มีอัลบูมินในพลาสมาต่ำกว่าปกติไม่ว่าจะเกิดจากสาเหตุใด รวมทั้งการใช้ phenytoin ร่วมกับยาที่จับกับอัลบูมินในพลาสมาได้สูง เนื่องจากจะเกิดการแย่งจับกับอัลบูมิน ทำให้ความเข้มข้นของ phenytoin ในรูปอิสระในพลาสมาสูงขึ้นจนทำให้เกิดผลข้างเคียงหรือพิษขึ้นได้แม้ความเข้มข้นรวมของ phenytoin ในพลาสมาอาจมีค่าอยู่ในช่วงได้ผลในการรักษาก็ตาม^{5,6} ค่าปริมาตรการกระจายตัว (volume of distribution) ของ phenytoin ในผู้ป่วยที่มีการทำงานของไตปกติและมีระดับอัลบูมินในเลือดปกติคือ 0.6-0.8 ลิตร/กก¹



รูปที่ 2 หลักฐานแสดงว่าการดูดซึมของ phenytoin มีการอิ่มตัวเมื่อได้รับครั้งเดียวในขนาดสูง (300 มก)

การแปรสภาพยาและการกำจัดยา

Phenytoin ส่วนใหญ่ในร่างกายจะถูกแปรสภาพโดยเอนไซม์ในตับ เอนไซม์ที่มีส่วนสำคัญในการแปรสภาพ phenytoin คือ cytochrome P450 ชนิด CYP2C9/10 (90%) และ CYP2C19 (8-10%) เมแทบอลิท์ (metabolite) หลักของยานี้คืออนุพันธ์ของพาราไฮดรอกซีฟีนิล (parahydroxyphenyl derivative) ซึ่งไม่มีฤทธิ์อีกต่อไป⁶ ประเด็นสำคัญเกี่ยวกับการแปรสภาพ phenytoin คือกระบวนการนี้มีจุดอิ่มตัวที่ระดับ phenytoin อยู่ในช่วงการรักษา เมื่อระดับของ phenytoin ในพลาสมาใกล้เคียงจุดอิ่มตัว การเพิ่มขนาดของ phenytoin อาจทำให้ระดับของ phenytoin ในพลาสมาเพิ่มขึ้นอย่างมากและไม่เป็นสัดส่วนกับขนาดของยาที่เพิ่มขึ้น^{7,8} ซึ่งเป็นอีกสาเหตุหนึ่งที่ทำให้แพทย์ผู้ซึ่งไม่ตระหนักถึงเภสัชจลนศาสตร์ของการกำจัด phenytoin ที่มีการอิ่มตัว อาจทำให้ผู้ป่วยเกิดผลข้างเคียงหรือพิษของยานี้ขึ้นโดยไม่ตั้งใจและไม่ทราบสาเหตุที่ทำให้เกิดผลเสียดังกล่าวเมื่อระดับของ phenytoin ในเลือดยิ่งสูง การเพิ่มขนาดของ phenytoin ยิ่งเพิ่มขึ้นได้น้อยลง⁹ การวัดระดับ phenytoin ในกรณีนี้จะช่วยบ่งชี้ว่าระดับยาในขณะนั้นสูงกว่าที่ควรจะเป็น และช่วยให้แพทย์ปรับขนาดยาได้ถูกต้องมากขึ้น กรณีเช่นนี้เป็นอีกเหตุผลหนึ่งที่ช่วยสนับสนุนถึงความสำคัญของการวัดระดับยา phenytoin เพื่อการวินิจฉัยสาเหตุของผลข้างเคียงหรือพิษของยาที่เกิดขึ้น

เมแทบอลิท์ของ phenytoin ส่วนหนึ่งจะถูกขับออกทางน้ำดี และถูกขับกลับเข้ามาในทางเดินอาหาร และมีการดูดซึมยาจากทางเดินอาหารกลับเข้าสู่กระแสโลหิตอีก (enterohepatic recycling)¹⁰ ในที่สุดเมแทบอลิท์ของยานี้จะถูกกำจัดออกจากร่างกายทางปัสสาวะ ครึ่งชีวิตของ phenytoin ในร่างกายจะมีค่าประมาณ 14-22 ชั่วโมง (พิสัย 7-42 ชั่วโมง) ขึ้นอยู่กับขนาดยาที่ใช้หรือระดับของ phenytoin ในพลาสมา โดยที่ระดับของยานี้ในพลาสมาที่สูง ครึ่งชีวิตของ phenytoin ก็ยิ่งนาน

ผลข้างเคียง/พิษของ Phenytoin

ผลข้างเคียง/พิษของ phenytoin ที่เกิดกับระบบประสาทส่วนกลางส่วนใหญ่จะสัมพันธ์กับระดับของยาในพลาสมา โดยที่ระดับของ phenytoin 20-30 มก/ลิตร จะเกิดอาการกลอกตาไปด้านข้าง (nystagmus on lateral gaze) ส่วนระดับ 30-40 มก/ลิตรมักเกิดอาการเดินเซ (ataxia) และระดับสูงกว่า 40 มก/ลิตรจะทำให้มีอาการง่วงนอนและอ่อนเพลียจากฤทธิ์กดสมอง (sedation, dysarthria and lethargy) การใช้ phenytoin ระยะยาวเพื่อรักษาโรคลมชักอาจทำให้เกิดโรคกับเส้นประสาทส่วนปลายหลายเส้นพร้อม ๆ กัน (peripheral polyneuropathy) และทำให้ผู้ป่วยอายุน้อยมีเหงื่อหนาขึ้น โดยเฉพาะเด็กที่มีอนามัยช่องปากไม่ดี ผู้ป่วยบางรายอาจมีต่อมน้ำเหลืองโต ส่วนอาการผื่นขึ้นที่ผิวหนังอาจเกิดจากการแพ้ยานี้¹¹

การเกิดปฏิกิริยาคู่กันของยา

เนื่องจากกระบวนการกำจัด phenytoin ที่มีการอิ่มตัว ดังนั้น การเกิดปฏิกิริยากับยาอื่นที่ได้รับร่วมกันจะส่งผลต่อระดับยาในเลือดมากกว่ายาอื่นที่การกำจัดยาไม่มีการอิ่มตัว ยาที่สามารถเพิ่มระดับ phenytoin ในพลาสมาได้แก่ยาที่แย่ง phenytoin ในการจับกับพลาสมาอัลบูมิน เช่น phenylbutazone, valproate และยาที่ลดอัตราการแปรสภาพ phenytoin โดยยับยั้งเอนไซม์ที่มีหน้าที่กำจัด phenytoin เช่น valproate, cimetidine, phenylbutazone ส่วนยาที่สามารถลดระดับของ phenytoin ในพลาสมาเป็นยาที่เร่งการแปรสภาพ phenytoin โดยกระตุ้นเอนไซม์ที่กำจัด phenytoin เช่น carbamazepine, phenobarbital, แอลกอฮอล์ เป็นต้น สิ่งที่ต้องระวังคือยาที่มีปฏิกิริยากับ phenytoin หลายตัว เช่น valproate, phenobarbital และ carbamazepine เป็นยาที่ใช้รักษาโรคลมชักเช่นเดียวกับ phenytoin และมีโอกาสที่จะใช้ร่วมกับ phenytoin ในการรักษาโรคลมชักได้ การเกิดปฏิกิริยาของยาเหล่านี้กับ phenytoin จึงอาจเกิดขึ้นได้เสมอ^{6,12} เมื่อจำเป็นต้องใช้ยาเหล่านี้ร่วมกับ

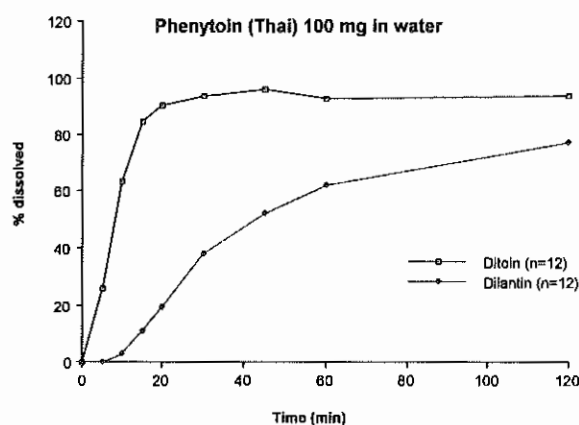
phenytoin การวัดระดับ phenytoin ในพลาสมาจึงช่วยในการปรับขนาดยาของ phenytoin ใหม่ให้เหมาะสมเพื่อหลีกเลี่ยงผลเสียต่างๆ ที่อาจเกิดขึ้นได้

ยาเตรียมของ phenytoin

ยาเตรียมของ phenytoin ในรูปแบบของการรับประทานจะมีทั้งแบบที่มีการปลดปล่อยตัวยาออกจากยาเตรียมได้เร็ว (immediate release) และแบบที่มีการปรับเปลี่ยนให้ปลดปล่อยตัวยาออกจากยาเตรียมช้าลง (modified release) ในการทดสอบการปลดปล่อยตัวยาออกจากแคปซูลและการละลายตัวของยาเตรียม phenytoin ทั้งสองแบบนี้พบว่า Ditoine® มีการละลายตัวได้เร็วมาก โดยที่มีการละลายตัวได้ถึง 93.74% ที่ 30 นาที ซึ่งเข้าเกณฑ์ของการเป็นยาเตรียมแบบ immediate release ในขณะที่ Dilantin Kapseals® มีการละลายตัว 37.92, 61.91 และ 77.32% ที่เวลา 30, 60 และ 120 นาทีตามลำดับ⁴ ซึ่งเข้าเกณฑ์ของการเป็นยาเตรียมแบบ modified หรือ sustained release (รูปที่ 3)

เนื่องจาก Dilantin Kapseals® เป็นยาเตรียมแบบ modified release การละลายตัวของ

phenytoin ในของเหลวของทางเดินอาหารจึงช้า ส่งผลให้การดูดซึม phenytoin เกิดขึ้นอย่างช้าๆ และระดับยาสูงสุดในเลือดจะเกิดขึ้นในช่วง 4-12 ชั่วโมงหลังรับประทานยา ส่วนการดูดซึมของ phenytoin จากยาเตรียมที่เป็น immediate release เช่น Ditoine® จะเกิดขึ้นค่อนข้างเร็ว โดยระดับยาสูงสุดในเลือดเกิดขึ้นที่ประมาณ 1.5-3 ชั่วโมงหลังรับประทานยา จากเหตุผลที่ยาเตรียมทั้งสองแบบนี้มีลักษณะการดูดซึมยาที่ไม่เหมือนกัน และ phenytoin มีช่วงระดับยาที่ได้ผลในการรักษาค่อนข้างแคบ การเปลี่ยนยาเตรียมรูปแบบหนึ่งไปเป็นยาเตรียมอีกรูปแบบหนึ่งโดยไม่เปลี่ยนวิธีการให้ยาอาจต้องทำอย่างระมัดระวังเพราะอาจส่งผลให้ระดับยาเปลี่ยนแปลงได้ ในกรณีที่จะเปลี่ยนยาจาก modified release มาเป็น immediate release วิธีการให้ยาจำเป็นต้องเปลี่ยนจากการให้วันละครั้งมาเป็นการให้วันละ 2-3 ครั้ง⁶ Dilantin Kapseals® มีข้อดีคือการดูดซึมยาจะเกิดขึ้นอย่างช้าๆและสม่ำเสมอ ทำให้สามารถให้ยาวันละครั้งได้ ซึ่งสะดวกต่อผู้ป่วยและผู้ป่วยให้ความร่วมมือในการรักษาดี แต่ก็มีข้อเสียคือการแกว่งตัวของระดับยาในเลือดอาจมาก⁴ (ตารางที่ 1)



เวลา (นาที)	% การละลาย Ditoine®	% การละลาย Dilantin Kapseals®
30	93.74 (≥85%)	37.92 (<40%)
60	92.94	61.91 (<55%)
120	93.56	77.32 (<70%)

รูปที่ 3 แสดงข้อมูลการละลายตัวของ Ditoine® และ Dilantin Kapseals® ซึ่งบ่งชี้ว่าลักษณะการละลายตัวของ Ditoine® เป็นแบบ immediate release (ละลายได้มากกว่า 85% ที่ 30 นาที) และของ Dilantin Kapseals® เป็นแบบ modified release (ละลายได้น้อยกว่า 40% ที่ 30 นาที น้อยกว่า 55% ที่ 60 นาที และน้อยกว่า 70% ที่ 120 นาที)

ตารางที่ 1 ข้อมูลการแก่งตัวของความเข้มข้นของ phenytoin ในพลาสมาหลังได้รับ Ditoin 100 มก วันละ 3 ครั้ง และ Dilantin Kapseals 300 มก วันละครั้ง

ผู้ป่วย	C_{max}		C_{min}		การแก่งตัวของ		AUC_{0-24}		C_{av}	
No.	(มก/ลิตร)		(มก/ลิตร)		ของระดับยา (%)		(มคก/ชม/มล)		(มก/ลิตร)	
	Ditoin	DK	Ditoin	DK	Ditoin	DK	Ditoin	DK	Ditoin	DK
S9	12.88	16.05	10.25	9.64	25.67	66.50	285.40	304.52	11.89	12.69
S10	19.68	13.73	14.27	7.80	37.91	76.08	400.70	264.66	16.70	11.03
S11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S12	14.36	11.64	11.57	8.77	24.12	32.64	312.39	240.94	13.02	10.04
S13	21.62	23.43	16.06	16.46	34.63	42.33	459.59	494.57	19.15	20.61
S14	14.65	10.96	9.83	6.93	49.06	58.04	291.94	215.80	12.16	8.99
S15	10.13	13.17	8.11	8.44	24.92	56.12	218.81	269.37	9.12	11.22
S16	10.11	8.79	7.18	4.37	40.70	101.34	211.90	157.53	8.83	6.56
Mean	15.55	14.10	11.53	9.00	35.35	62.82	326.99	279.67	13.62	11.65
SD	4.31	5.20	3.21	4.08	9.42	24.60	88.81	116.21	3.70	4.84

C_{max} = ความเข้มข้นสูงสุดในพลาสมา; C_{min} = ความเข้มข้นต่ำสุดในพลาสมา; C_{av} = ความเข้มข้นเฉลี่ยในพลาสมา;
 AUC_{0-24} = พื้นที่ใต้เส้นกราฟระหว่างความเข้มข้นของยาในพลาสมาตั้งแต่เวลา 0-24 ชั่วโมง

ตารางที่ 2 แสดงความแปรปรวนของความเข้มข้นของ phenytoin ในพลาสมาหลังได้รับยานี้ในขนาดวันละ 250-300 มก

ความเข้มข้นของ Phenytoin ในพลาสมา (มก/ลิตร)	จำนวนผู้ป่วย (คน)	เปอร์เซ็นต์ผู้ป่วย
0-5	26	23
>5-10	23	20
>10-20	41	36
>20-30	18	16
>30	7	6

ขนาดและวิธีการให้ยา

ขนาดปกติของ phenytoin ที่ใช้รักษาโรคลมชักจะประมาณ 300 มก/วัน แต่อาจจำเป็นต้องปรับขนาดยาให้เหมาะสมสำหรับผู้ป่วยแต่ละราย เนื่องจากผู้ป่วยแต่ละรายจะมีอัตราเร็วของการดูดซึม และปริมาณการดูดซึม phenytoin ที่แตกต่างกันมาก นอกจากนี้ยังมีความสามารถในการแปรสภาพ phenytoin ที่แตกต่างกันอย่างมากอีกด้วย

จากการตรวจวัดระดับ phenytoin ในหน่วยวัดระดับยาในเลือดของภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ให้บริการแก่โรงพยาบาลมหาราชนครเชียงใหม่และโรงพยาบาลในเขตภาคเหนือพบว่า จากจำนวนผู้ป่วย 115 รายที่ได้รับ phenytoin ในขนาด 250-300 มก/วัน พบว่ามีระดับ phenytoin ในพลาสมาแตกต่างกันมาก และมีผู้ป่วยเพียง 36% ที่ระดับ

phenytoin อยู่ในช่วงที่ได้ผลในการรักษา ผู้ป่วย 43% ที่มีระดับยาในพลาสมาอยู่ในช่วงที่ไม่ได้ผลในการรักษา ส่วนผู้ป่วยอีก 22% มีระดับยาในพลาสมาอยู่ในช่วงที่เกิดผลข้างเคียง/พิษดังแสดงในตารางที่ 2

ถ้าใช้ phenytoin ขนาด 300 มก./วัน ต้องรอ 7-10 วันระดับยา phenytoin ในเลือดจึงจะถึงภาวะที่เริ่มคงที่ (steady state)¹³ อย่างไรก็ตามจากการที่จลนศาสตร์ในการกำจัด phenytoin มีการอิ่มตัวได้ ดังนั้น ระยะเวลาที่ใช้เพื่อให้ระดับ phenytoin ในเลือดถึงภาวะคงที่จะขึ้นอยู่กับขนาดของ phenytoin ที่ใช้และความสามารถของตับของแต่ละบุคคลในการกำจัดยานี้ เมื่อมีการปรับเพิ่มขนาดยาโดยขนาดยาที่ได้รับต่อวันสูงกว่า 300 มก ระยะเวลาที่ระดับยาจะถึงภาวะคงที่ครั้งใหม่อาจจะเป็น 14 วัน ยิ่งใช้ยาในขนาดสูงมากขึ้น ระยะเวลาที่ระดับยาจะถึงภาวะคงที่จะยิ่งนานขึ้นด้วย

ในกรณีที่ผู้ป่วยมีการชักที่ค่อนข้างถี่และแต่ละครั้งที่ชักมีอาการรุนแรง ซึ่งจำเป็นต้องหยุดการชักให้เร็วที่สุด การใช้ขนาดสูงในการให้ยาครั้งแรก (loading dose) ในผู้ป่วยเหล่านี้จึงสมเหตุผล ในอดีตนิยมฉีด phenytoin แบบ loading dose (15 มก/กก) เข้าทางหลอดเลือดดำ และในเวลาต่อมา มีการใช้ fosphenytoin ซึ่งละลายในน้ำดีกว่าและเป็น prodrug ของ phenytoin ฉีดเข้าทางหลอดเลือดดำแบบ loading dose ด้วย⁶ แม้ว่าการให้ phenytoin แบบ loading dose เช่นนี้จะให้ผลในการระงับการชักได้ดีและเร็ว แต่ก็มีข้อเสียมากมาย เนื่องจากมีพิษต่อระบบหัวใจและการไหลเวียนโลหิต (หัวใจเต้นช้าลง ความดันโลหิตลดต่ำลง หัวใจเต้นผิดจังหวะ และหัวใจหยุดเต้น) นอกจากนี้ยังกดสมองและการหายใจมาก และการฉีด phenytoin เข้าทางหลอดเลือดดำนั้นต้องทำอย่างช้าๆโดยแนะนำให้ฉีดในปริมาณไม่เกิน 50 มก/นาที่^{1,11} เมื่อต้องฉีดในขนาด 15 มก/กก ซึ่งในผู้ป่วยโดยเฉลี่ยต้องฉีดทั้งหมด 600-1000 มก ดังนั้นจึงต้องใช้เวลานัดประมาณ 15-20 นาที และในระหว่างเดินยาเข้าหลอดเลือดดำจะต้องสังเกตสัญญาณชีพ (vital signs) เช่น อัตราการเต้นของ

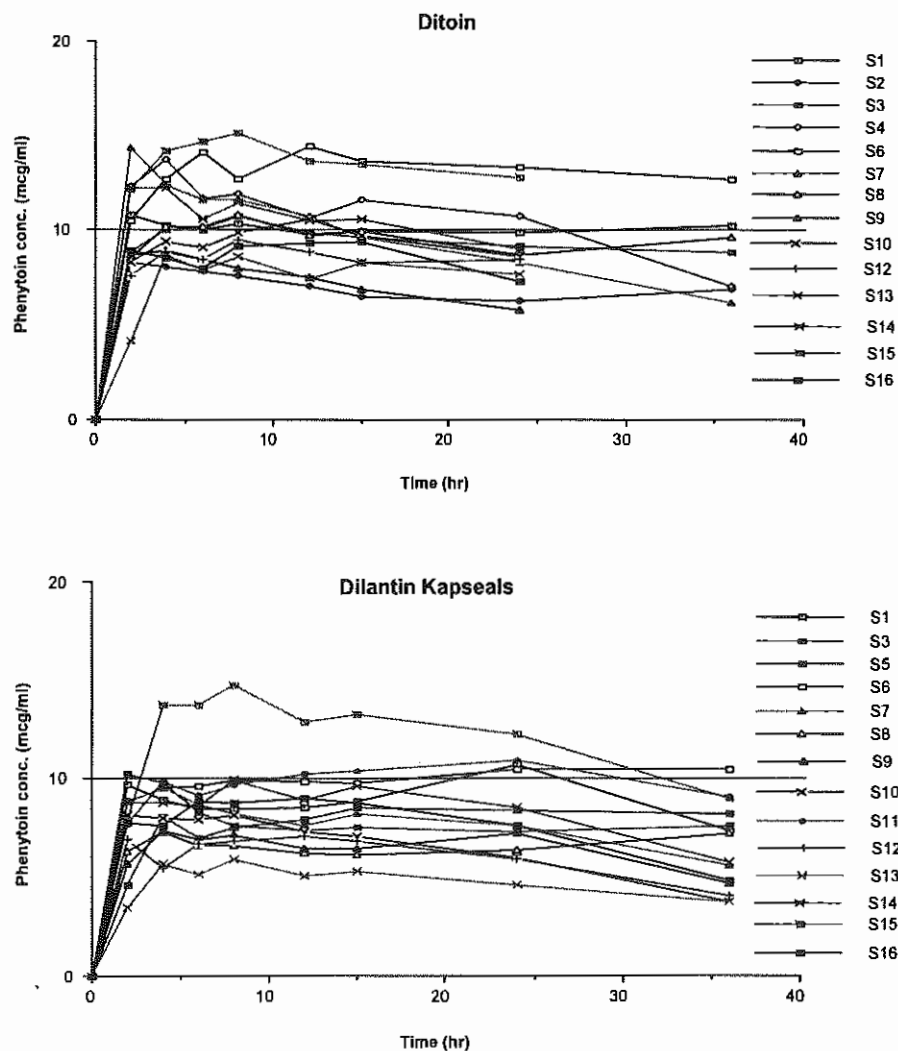
หัวใจ จังหวะการเต้นของหัวใจ ความดันโลหิต อัตราการหายใจตลอดเวลา มิฉะนั้นผู้ป่วยอาจเสียชีวิตจาก phenytoin ขนาดสูงที่ให้ทางหลอดเลือดดำเช่นนี้ได้ การให้ loading dose ของ phenytoin ทางหลอดเลือดดำจึงมักสงวนไว้สำหรับผู้ป่วย status epilepticus ในปัจจุบันจึงเปลี่ยนมาให้ phenytoin แบบ loading dose โดยการรับประทาน โดยแบ่งทยอยให้ phenytoin ให้หมดภายใน 4 ชั่วโมง เช่นถ้าต้องให้ขนาด 1000 มก จะให้ครั้งแรก 400 มก และ 2 ชั่วโมงถัดมาจะให้อีก 300 มก และให้อีก 300 มก ในชั่วโมงที่ 4¹⁴ เพื่อหลีกเลี่ยงผลข้างเคียงและพิษของยา เช่น อาการคลื่นไส้อาเจียน ฤทธิ์กดหัวใจที่ทำให้หัวใจเต้นช้าลงหรือเต้นผิดจังหวะ เป็นต้น

ดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้นแล้วว่า Dilantin Kapseals[®] เป็นยาเตรียมในรูปแบบ modified release ที่มีการดูดซึมค่อนข้างช้า การให้ phenytoin แบบ loading dose โดยการรับประทานนั้น ระดับยาในเลือดจะสูงขึ้นอย่างช้าๆ ทำให้ประสิทธิภาพในการระงับการชักเกิดขึ้นช้าด้วย จึงอาจไม่ทันการณ์ในกรณีที่ต้องการให้ผู้ป่วยหยุดชักอย่างรวดเร็ว การให้ loading dose ด้วยยาเตรียมในรูปแบบ immediate release เช่น Ditoine[®] ซึ่งการดูดซึมยาเร็วกว่าและให้ระดับยาในเลือดเร็วกว่า สูงกว่า ระดับยาเข้าสู่ช่วงที่ได้ผลการรักษามากกว่าแบบ modified release ดังแสดงในรูปที่ 4⁴

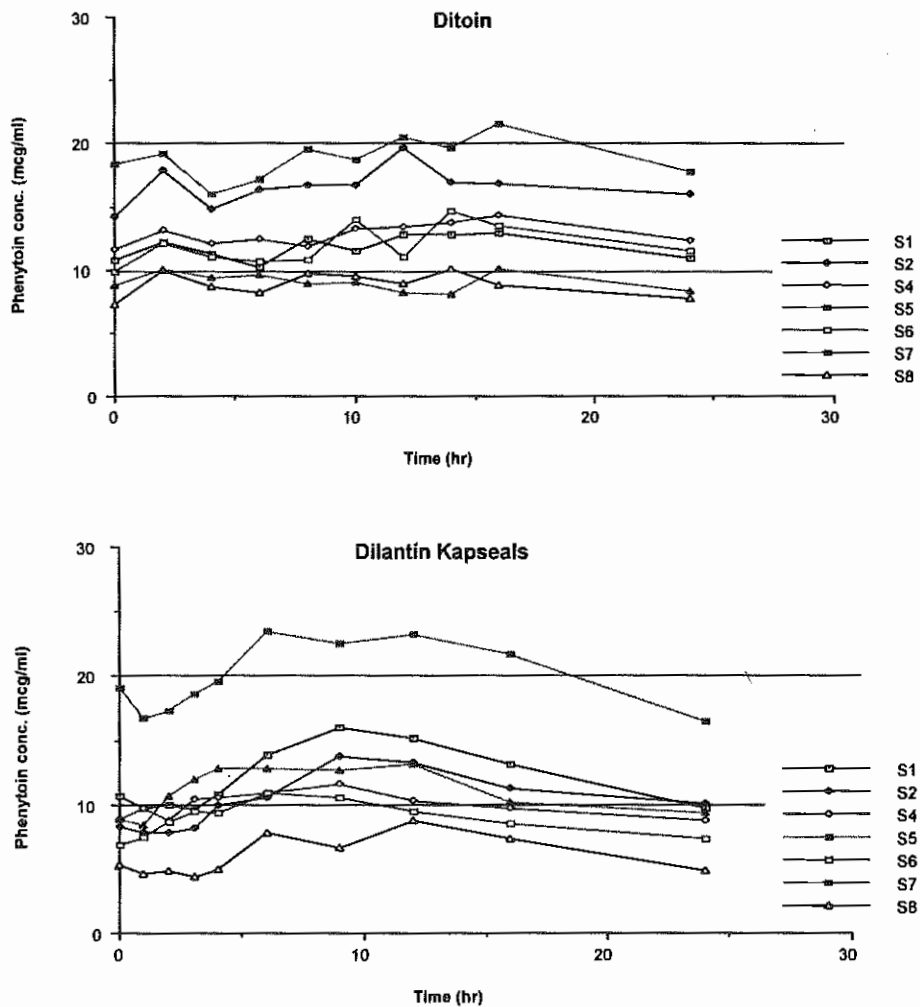
การเปรียบเทียบการให้ phenytoin ขนาด 300 มก./วัน โดยการรับประทาน Dilantin Kapseals[®] 300 มก วันละครั้งตามหลังการให้ loading dose ด้วย Dilantin Kapseals[®] 15 มก/กก และ Ditoine[®] 100 มก วันละ 3 ครั้งตามหลังการให้ loading dose ด้วย Ditoine[®] 15 มก/กก พบว่าการรับประทาน Ditoine[®] 100 มก วันละ 3 ครั้งทำให้จำนวนผู้ป่วยที่มีระดับของ phenytoin ในเลือดอยู่ในช่วงการรักษามากกว่าการรับประทาน Dilantin Kapseals[®] 300 มก วันละครั้ง (รูปที่ 5)⁴ สาเหตุที่เป็นเช่นนี้เพราะว่าการรับประทาน phenytoin แม้ในขนาด 300 มก ครั้ง

เดี่ยวอาจทำให้กระบวนการดูดซึมมีการอิมตัวขึ้น ดังที่ได้กล่าวถึงและแสดงไว้ในรูปที่ 2 ก่อนหน้านี้ แล้ว จึงเป็นผลให้ระดับของ phenytoin ในเลือดต่ำกว่าการรับประทาน Ditoin[®] 300 มก ที่แบ่งให้วันละ 3 ครั้งซึ่งจะลดโอกาสที่กระบวนการดูดซึม phenytoin จะมีการอิมตัว ปริมาณ phenytoin ที่ถูกดูดซึมจากการรับประทาน Ditoin[®] 100 มก วัน

ละ 3 ครั้งจึงมากกว่าการรับประทาน Dilantin Kapseals[®] 300 มก วันละครั้ง นอกจากนั้น การรับประทาน Dilantin Kapseals[®] 300 มก วันละครั้ง ระดับ phenytoin ในเลือดมีการแกว่งตัวมากกว่าการรับประทาน Ditoin[®] 100 มก วันละ 3 ครั้ง (ตารางที่ 2)⁴



รูปที่ 4 ความเข้มข้นของ phenytoin ในพลาสมาหลังได้รับ loading dose (15 มก/กก) ของ Ditoin[®] และ Dilantin Kapseals[®]



รูปที่ 5 ความเข้มข้นของ phenytoin ในพลาสมาหลังได้รับ Ditoine[®] 100 มก วันละ 3 ครั้ง (ที่ 0, 6 และ 12 ชั่วโมง) และ Dilantin Kapseals[®] 300 มก วันละครั้งตามหลังการได้รับ loading ของยาแต่ละตำรับตามลำดับ

โดยสรุปมีหลักการที่สำคัญในการใช้ยา Phenytoin เพื่อรักษาโรคลมชักซึ่งได้แก่

1. พิจารณาเลือกใช้ยาเตรียมของ phenytoin และวิธีการให้ยา (immediate release หรือ modified release) ให้เหมาะสมกับผู้ป่วยแต่ละราย
2. สิ่งและปรับขนาดของ phenytoin ให้เหมาะกับผู้ป่วยแต่ละราย
3. พึงระลึกอยู่เสมอว่าเภสัชจลนศาสตร์ของ phenytoin มีความซับซ้อนมากและแตกต่างกันในผู้ป่วยแต่ละราย โดยเฉพาะการดูดซึม

และการกำจัด phenytoin มีการอิ่มตัวได้แม้ในขนาด/ระดับ phenytoin ที่ได้ผลในการรักษา

4. ควรวัดระดับ phenytoin ในเลือดในช่วงเวลาที่เหมาะสมหรือเมื่อสงสัยว่าเกิดปฏิกิริยากับยาอื่นที่ผู้ป่วยได้รับร่วมอยู่ในขณะนั้น
5. ระวังการเกิดปฏิกิริยากับยาอื่น ผลข้างเคียงและพิษของ phenytoin ที่อาจเกิดขึ้นกับผู้ป่วย
6. แนะนำวิธีการดูแลตนเองให้แก่ผู้ป่วย เช่น หลีกเลี่ยงการขับขี่ยานหรือทำงานกับเครื่องกับเครื่องจักรกล การว่ายน้ำคนเดียว รับประทานยาตามที่สั่งอย่างเคร่งครัด

เอกสารอ้างอิง

1. Bruni J. Phenytoin. In: Taylor W, Diers Caviness MH, editors. A textbook for the clinical application of therapeutic drug monitoring; 1986. P. 253-68.
2. Jung D, Powell JR, Walson P, Perrier D. Effect of dose on phenytoin absorption. Clin Pharmacol Ther 1980; 28(4):479-485.
3. McCauley DL, Tozer TN, Winter ME. Time for phenytoin concentration to peak: consequences of first-order and zero-order absorption. Ther Drug Monit 1989; 11 (5):540-542.
4. Chaichana N. The comparative single- and multiple-dose pharmacokinetic studies of immediate- and modified-release phenytoin capsule. [dissertation]. Chiang Mai (Thailand): Chiang Mai Univ.; 2004.
5. Hooper WD, Bochner F, Eadie MJ, et al. Plasma protein binding of diphenhydantoin. Effects of sex hormones, renal, and hepatic disease. Clin Pharmacol Ther 1973; 15: 276-82.
6. McNamara JO. Drugs effective in the therapy of the epilepsies. In: Hardman JG, Limbird LE, Gilman AG, editors. Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics. 10th ed. New York: McGraw-Hill Medical Publishing Division; 2001. P. 521-48.
7. Winter ME. Basic clinical pharmacokinetics. 3rd ed. Vancouver, Washington: Applied Therapeutics Inc.; 1994.
8. Wilkinson GR. Pharmacokinetics: The dynamics of drug absorption, distribution, and elimination. In: Hardman JG, Limbird LE, Gilman AG (editors). Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics. 10th ed. New York: McGraw-Hill; 2001. p 3-29.
9. Jabbari B. Management of epileptic seizures in Adults. Am Fam Physician 1985; 162-72.
10. Booker HE. Clinical use and interpretation of serum phenytoin levels. In: Pipenger CE, Penry JK, Kutt H, editors. Antiepileptic drugs: Quantitative analysis and interpretation. New York: Raven Press; 1978. p. 253-60.
11. Rall TW, Schleifer LS. Drugs effective in the therapy of the epilepsies. In: Gilman AG, Rall TW, Neis AS, Taylor P, editors. Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics. 8th ed. New York: Pergamon Press; 1991. p. 436-62.
12. Patsalos PN, Perucca E. Clinical important drug interactions in epilepsy: interactions between antiepileptic drugs and other drugs. Lancet Neurol 2003; 2 (8): 473-81.
13. Sifton DW. Physicians' desk reference. Montvale, New Jersey: Medical Economics, 2001, p 2425-2430.
14. Wilder BJ, Serrano EE, Ramsay RE. Plasma diphenylhydantoin levels after loading and maintenance doses. Clin Pharmacol Ther 1973; 14: 798-801.

กิจกรรมทางวิชาการของโครงการ

สมาคมเภสัชวิทยา มอบวิชาการก้าวหน้า เพื่อนำพาประโยชน์สู่สังคม

บรรยายทางวิชาการครั้งที่ 7 วันที่ 20 ตุลาคม 2547 เวลา 9.00-12.00 น.

เรื่อง New Target of Anticancer Drugs

**โดย รศ.สมใจ นครชัย ภาควิชาเภสัชศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์
มหาวิทยาลัยมหิดล**

บรรยายทางวิชาการครั้งที่ 8 วันที่ 23 พฤศจิกายน 2547 เวลา 9.00-12.00 น.

เรื่อง Depression and Brain

**โดย นพ.นิพัทธ์ กาญจนานิล ภาควิชาจิตเวชศาสตร์
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย**

บรรยายทางวิชาการครั้งที่ 9 วันที่ 15 ธันวาคม 2547 เวลา 9.00-12.00 น.

เรื่อง อาการเจ็บหน้าอก.....เรื่องสำคัญที่ควรรู้

**โดย รศ.นพ.ดำรง สตรีสุโกศล หน่วยโรคหัวใจและหลอดเลือด
คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล**

**สถานที่ ห้องประชุมชั้น 6 สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา
กระทรวงสาธารณสุข**

**ติดต่อสำรองที่นั่งได้ที่ ฝ่ายวิชาการสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย(รศ.ดร.ศรีจันทร์ พรจิราศิลป์)
สง.คลังข้อมูลยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล โทรศัพท์/โทรสาร 02-3544325**

REVIEWS

Role of Specific COX-2 Inhibitors in Cancer Prophylaxis and Treatment

Nongnit Teerawatanasuk, BSc.(Pharm), Ph.D.

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Ubonrajathani University

Abstract

Increasing evidence suggests that upregulation of cyclooxygenase-2 (COX-2) gene expression is implicated in colorectal carcinogenesis. Large epidemiologic studies as well as clinical studies consistently show that long-term use of aspirin and other nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) reduces the relative risk of colorectal cancer. The effect of NSAIDs on chemoprevention and tumor regression has also been demonstrated in a range of experimental models in animals. Recently, specific COX-2 inhibitors such as celecoxib, rofecoxib, and valdecoxib have been developed and marketed. These compounds have been shown in several clinical trials to produce fewer gastrointestinal adverse effects than classical COX inhibitors. To date, celecoxib is the first specific COX-2 inhibitor approved by the United States Food and Drug Administration (US FDA) for the prophylaxis and treatment of familial adenomatous polyposis (FAP), a benign colorectal tumor that would eventually progress to malignancy.

Key words: cyclooxygenase, specific COX-2 inhibitors, colorectal cancer, familial adenomatous polyposis, FAP, celecoxib

บทบาทของ Specific COX-2 inhibitors ในการป้องกันและรักษามะเร็ง

นนนิตย์ ธีระวัฒนสุข คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

บทคัดย่อ

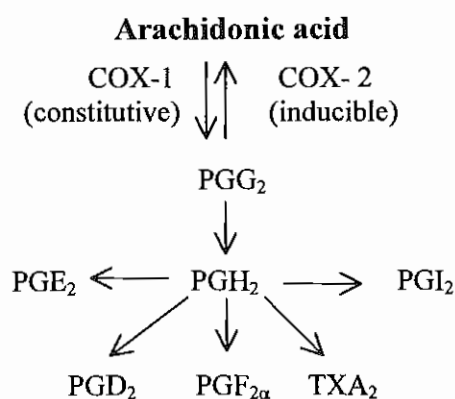
มีหลักฐานเพิ่มมากขึ้นซึ่งชี้ให้เห็นว่าการเพิ่มการแสดงออกของยีน COX-2 เป็นปัจจัยหนึ่งที่น่าไปสู่การเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่ การศึกษาทางระบาดวิทยาตลอดจนการศึกษาทางคลินิกจำนวนมากพบว่า การใช้ aspirin และ nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) ติดต่อกันเป็นเวลานานจะลดความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่ นอกจากนี้ผลการศึกษาในสัตว์ทดลองได้แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพของ NSAIDs ในการป้องกันและรักษามะเร็งเช่นกัน และเมื่อไม่นานมานี้ได้มีการพัฒนายาใหม่ซึ่งออกฤทธิ์จำเพาะต่อ COX-2 ออกวางจำหน่ายในท้องตลาด ได้แก่ celecoxib, rofecoxib, และ valdecoxib ผลการศึกษาทางคลินิกพบว่ายาเหล่านี้ก่อให้เกิดอาการข้างเคียงต่อระบบทางเดินอาหารน้อยกว่า NSAIDs รุ่นเก่า ในปัจจุบัน celecoxib เป็น specific COX-2 inhibitor ตัวแรกที่ได้รับการรับรองจากองค์การอาหารและยาของประเทศสหรัฐอเมริกา (US FDA) ให้ใช้ป้องกันและรักษา familial adenomatous polyposis (FAP) หรือติ่งเนื้อเมือกในลำไส้ ซึ่งเป็นเนื้องอกชนิดไม่ร้ายซึ่งมักกลายไปเป็นมะเร็งในที่สุด

1. บทนำ

ยาต้านการอักเสบกลุ่ม nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) เป็นยาที่ใช้กันอย่างแพร่หลายมานานเพื่อบรรเทาอาการอักเสบ อาการปวด และลดไข้ ยากลุ่มนี้ออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ cyclooxygenase (COX) หรือ prostaglandin G/H synthases¹ ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เปลี่ยน arachidonic acid ไปเป็น prostaglandin (PG) PGG_2 และ PGH_2 จากนั้น PGG_2 และ PGH_2 จะถูกเปลี่ยนต่อไปเป็น prostanoids ชนิดต่างๆ แตกต่างกันไปในเซลล์แต่ละชนิด ได้แก่ PGE_2 , PGD_2 , $\text{PGF}_{2\alpha}$, PGI_2 , TXA_2 (รูปที่ 1) สารเหล่านี้มีบทบาทเกี่ยวข้องกับสรีรวิทยาการทำงานของเนื้อเยื่อและอวัยวะต่างๆ เช่น กล้ามเนื้อเรียบ ไต ระบบทางเดินอาหาร ระบบทางเดินหายใจ ระบบหัวใจและหลอดเลือด ระบบประสาท และระบบสืบพันธุ์ เป็นต้น (ตารางที่ 1) และมีบทบาทสำคัญทางพยาธิวิทยาในกระบวนการอักเสบ การเกิดไข้ และการกระตุ้นความรู้สึกเจ็บปวด^{2,3,4}

ปัจจุบันพบว่าเอนไซม์ COX มีอย่างน้อยสอง isoforms คือ COX-1⁵ และ COX-2^{6,7} เอนไซม์สองชนิดนี้มีบทบาทแตกต่างกัน กล่าวคือ COX-1 เป็น constitutive หรือ house keeping enzyme ที่พบในเซลล์เกือบทุกชนิด ทำงานในสภาวะปกติเพื่อรักษาสมดุลการทำงานของเนื้อเยื่อ

และอวัยวะต่างๆ ส่วน COX-2 นั้นเป็น inducible enzyme เซลล์สร้างขึ้นเมื่อถูกกระตุ้นด้วยสารบางอย่าง⁴ เช่น bacterial lipopolysaccharides (LPS), cytokines, tumor promoters, growth factors และ oncogenes การทำงานของ COX-2 ทำให้มีการสร้าง prostanoids บางชนิดในปริมาณมากเกินไป จึงนำไปสู่การเกิดพยาธิสภาพ เช่น การอักเสบ การเกิดไข้ และการกระตุ้นความรู้สึกเจ็บปวด เมื่อไม่นานมานี้มีหลักฐานบ่งชี้ว่า COX-2 อาจเกี่ยวข้องกับการเกิดมะเร็งและโรคสมองเสื่อม (Alzheimer's disease)^{2,8}



รูปที่ 1 บทบาทของ cyclooxygenase (COX) ใน arachidonic acid metabolism
(PG, prostaglandin; TX, thromboxane)

ตารางที่ 1: บทบาททางสรีรวิทยาของ prostanoids ในมนุษย์³

Prostanoids	Physiologic functions
PGE_2 , $\text{PGF}_{2\alpha}$, PGI_2	Relax vascular smooth muscle
PGE_2 , PGI_2	Relax brochial smooth muscle
$\text{PGF}_{2\alpha}$	Contract brochial smooth muscle
PGI_2	Relax uterine smooth muscle
PGE_2 , $\text{PGF}_{2\alpha}$	Contract uterine smooth muscle
TXA_2	Promote platelet aggregation
PGI_2	Inhibit platelet aggregation
PGE_2 , PGI_2	Increase renal blood flow
PGE_2 , PGI_2	Protect gastric mucosa
PGD_2	Regulation of the sleep/wake cycle

ตารางที่ 2 Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs)^{4,9}

1) Classical COX inhibitors⁹ [$IC_{50}(COX-1) < IC_{50}(COX-2)$]

Acetic acid	Oxicam	Pyrazole
Indomethacin	Isoxicam	Phenylbutazone
Acemetacin	Piroxicam	Oxyphenbutazone
Tolmetin	Tenoxicam	
Sulindac		Naphthylalkanone
Diclofenac	Propionic acid	Nabumetone
Zomepirac	Ketoprofen	
	Naproxen	Salicylate
Fenamate	Indoprofen	Aspirin
Meclofenomic acid	Ibuprofen	Diflunisal
Mefenamic acid	Flurbiprofen	Acetamidophenol
Flufenamic acid	Suprofen	Acetaphenetidin
Niflumic acid	Fenbufen	

2) Selective COX-2 inhibitors [$IC_{50}(COX-1) > IC_{50}(COX-2)$]

Meloxicam
Nimesulide
Etodolac
Carprofen

3) Specific COX-2 inhibitors⁵⁷ [$IC_{50}(COX-1) \gg IC_{50}(COX-2)$]

COX-2 inhibitor	50% inhibitory concentration (IC_{50}), μM		$IC_{50}(COX-1)/IC_{50}(COX-2)$
	COX-1	COX-2	
Celecoxib	6.7	0.87	7.6
Rofecoxib	18.8	0.53	35
Valdecoxib	26.1	0.87	30
Etoricoxib	116	1.1	106

ยา NSAIDs ในปัจจุบันมีมากกว่า 30 ชนิด⁹ (ตารางที่ 2) ส่วนใหญ่มีฤทธิ์ไม่จำเพาะ คือสามารถยับยั้งทั้ง COX-1 และ COX-2 มีข้อบ่งใช้หลักคือ ด้านการอักเสบ ลดไข้ แก้ปวด ฤทธิ์ไม่พึงประสงค์ที่สำคัญของยาในกลุ่มนี้คือ ทำให้เกิดแผลเปปติกและเลือดออกในทางเดินอาหาร และเลือดแข็งตัวช้า ต่อมาได้มีการพัฒนายากลุ่ม specific COX-2 inhibitors^{4,10} เช่น celecoxib, rofecoxib

และ valdecoxib เพื่อลดฤทธิ์ข้างเคียงต่างๆ ซึ่งเชื่อว่าการเกิดจากการยับยั้ง COX-1 การศึกษาวิจัยในระยะต่อมาพบว่า COX-2 มีบทบาททางพยาธิวิทยาอื่นๆ ที่สำคัญคือเกี่ยวข้องกับการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่ ทำให้ยาในกลุ่มนี้ได้รับความสนใจอย่างกว้างขวางในวงการวิจัยเพื่อศึกษาบทบาทใหม่ของ specific COX-2 inhibitors ในการป้องกันและรักษาโรคมะเร็ง ซึ่งจะได้กล่าวต่อไป

2. บทบาทของ COX-2 ในการเกิดมะเร็ง

2.1 มะเร็งลำไส้ใหญ่

มะเร็งลำไส้ใหญ่ (colorectal cancer) เป็นโรคที่มีอุบัติการณ์สูงและเป็นสาเหตุการตายที่สำคัญ จากสถิติในปี พ.ศ. 2543 ทั่วโลกมีผู้เสียชีวิตด้วยโรคนี้อย่างน้อย 550,000 คน¹¹ ในประเทศสหรัฐอเมริกา อุตการณ์ของมะเร็งลำไส้ใหญ่สูงเป็นอันดับ 4 แต่อัตราการเสียชีวิตสูงเป็นอันดับสองในบรรดามะเร็งทุกชนิด¹² ประมาณร้อยละ 25 ของมะเร็งลำไส้ใหญ่เป็นชนิดที่ถ่ายทอดทางพันธุกรรม¹³ ซึ่งได้แก่ familial polyposis of the colon, hereditary non-polyposis colon cancer (HNPCC) หรือ Lynch syndrome และ familial adenomatous polyposis (FAP) ส่วนอีกร้อยละ 75 เป็นชนิดที่ไม่ได้ถ่ายทอดทางพันธุกรรม หรือมักเรียกว่า sporadic colon cancer ในปัจจุบันการรักษาหลักสำหรับมะเร็งลำไส้ใหญ่คือการผ่าตัดเอาลำไส้ส่วนที่เป็นมะเร็งออกไป ร่วมกับการให้ยาหลังการผ่าตัด ยาที่นิยมใช้ในการรักษามะเร็งชนิดนี้นานกว่า 40 ปี และจัดว่าเป็น first-line drug ได้แก่ 5-fluorouracil โดยให้ร่วมกับ leucovorin และยารุ่นใหม่ที่จะจัดเป็น second- และ third-line drugs เช่น oxaliplatin (third-generation platinum), irinotecan (topo-isomerase I inhibitor) และ raltitrexed (thymidylate synthetase inhibitor) ซึ่งใช้รักษามะเร็งลำไส้ใหญ่ที่มีความรุนแรงหรือไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วย first-line drugs¹⁴

หลักฐานแรกสุดที่บ่งชี้ว่า NSAIDs อาจมีประโยชน์ในการป้องกันการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่เป็นรายงานของแพทย์ซึ่งสังเกตพบว่าผู้ป่วยที่ได้รับยา indomethacin และ sulindac เพื่อรักษาอาการปวด ทำให้ rectal polyps หายไป¹⁵ ต่อมาการศึกษาทางระบาดวิทยาในผู้ป่วยจำนวนมากพบว่า การรับประทานยาแอสไพริน และ NSAIDs ตัวอื่นๆ ติดต่อกันหลายปีสามารถลดอัตราการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่¹⁶⁻²⁰ แต่หลักฐานที่แสดงให้เห็น

อย่างชัดเจนว่า NSAIDs สามารถลดอัตราการเกิดมะเร็งตั้งแต่ในระยะเริ่มแรกนั้น ได้จากการศึกษาวิจัยทางคลินิกในกลุ่มผู้ป่วย FAP ผู้ป่วยเหล่านี้มีความผิดปกติทางพันธุกรรมคือการสูญเสียหน้าที่ของยีน adenomatous polyposis coli (APC) ซึ่งเป็น tumor suppressor gene ผู้ป่วย FAP จะมี polyps ในทางเดินอาหารจำนวนมาก (polypolyps) และในที่สุด polyps จำนวนหนึ่งจะเปลี่ยนไปเป็นมะเร็ง²¹ ผลการศึกษาวิจัยทางคลินิกโดยผู้วิจัยสามกลุ่ม พบว่า sulindac สามารถลดขนาดและจำนวน polyps ในผู้ป่วย FAP ได้ แต่เมื่อหยุดยาจะกลับมาเป็นใหม่อีก²²⁻²⁴ จากข้อมูลนี้ทำให้เชื่อว่า NSAIDs ออกฤทธิ์ยับยั้งการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่ตั้งแต่ระยะแรกที่เริ่มเกิด adenomatous polyps

ข้อมูลจากการศึกษาในคนดังกล่าวข้างต้นได้รับการพิสูจน์ยืนยันด้วยผลการศึกษาวิจัยในสัตว์ทดลองที่สำคัญคือ การทดลองในหนูซึ่งยีน APC ถูกทำลาย ($Apc^{\Delta 716}$ truncation deletion) พบว่าถ้าหากมีการทำลายยีน COX-2 ร่วมด้วย ($Apc^{\Delta 716}/Cox-2^{-/-}$) หนูจะมีจำนวน polyps ในลำไส้ น้อยกว่า และขนาดของ polyps เล็กกว่าหนูกลุ่มที่มียีน COX-2 ปกติหรือเสียเพียงหนึ่ง allele ($Apc^{\Delta 716}/COX-2^{+/+}$ หรือ $Apc^{\Delta 716}/Cox-2^{-/+}$)²⁵ และการทดลองปลูกถ่ายเซลล์มะเร็ง Lewis lung carcinoma เข้าไปใน nude mice พบว่าถ้าหนูสูญเสียยีน COX-2 ($Cox-2^{-/-}$) ก่อนมะเร็งที่ปลูกถ่ายจะเติบโตช้ากว่าในหนูที่มียีนนี้ปกติ ($COX-2^{+/+}$)²⁶ ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่า COX-2 มีบทบาทในการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่ นอกจากนี้การศึกษาระบาดวิทยาของ NSAIDs ในการป้องกันและรักษามะเร็งในหนูที่ถูกกระตุ้นให้เป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่โดยใช้รูปแบบการทดลองต่างๆ ได้แก่ การทำลายยีน APC²⁷ การกระตุ้นให้หนูเป็นมะเร็งลำไส้โดยใช้สารก่อมะเร็ง azoxymethane^{28,29} และการปลูกเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่เข้าไปที่ผิวหนังของ nude mice^{26,30} พบว่า NSAIDs สามารถลดจำนวน polyps และลดอัตราการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่ได้ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ผลของ NSAIDs ในการป้องกันและรักษา colorectal cancer ในหนู

Model/ NSAID treatment	Outcome	Reference
<i>Apc</i>⁷¹⁶ mouse model		
<i>Rofecoxib</i> [#]	↓ polyp multiplicity	27
Azoxymethane (AOM) treated-rat		
<i>Aspirin</i> *	↓ tumor incidence and multiplicity	28
<i>Celecoxib</i> [#]	↓ tumor incidence and multiplicity	29
Nude mouse xenograft		
<i>Meloxicam</i> **	↓ colon carcinoma cell growth	30
<i>Celecoxib</i> [#]	↓ colon carcinoma cell growth	26

* Classical COX inhibitor, ** selective COX-2 inhibitor, [#] Specific COX-2 inhibitor

การแสดงออกของ COX-2 ในมะเร็งลำ

ไส้ใหญ่: การศึกษาการแสดงออกของ COX-2 โดยเทคนิคการย้อมเนื้อเยื่อด้วยแอนติบอดีจำเพาะ (immunohistochemistry) ทำให้ทราบว่าปริมาณโปรตีน COX-2 ในเนื้อเยื่อมะเร็งนั้นมีมากกว่าที่พบในเนื้อเยื่อปกติชนิดเดียวกัน การศึกษาในผู้ป่วย colorectal carcinoma และ colorectal adenoma พบว่า COX-2 มีปริมาณเพิ่มขึ้นในเนื้อเยื่อมะเร็งทั้งสองชนิดกว่าร้อยละ 85 และ 50 ตามลำดับ ในขณะที่ COX-1 ไม่มีการเปลี่ยนแปลง³¹ นอกจากนี้การศึกษาในผู้ป่วย colorectal carcinoma จำนวนมาก พบว่าปริมาณ COX-2 ที่เพิ่มขึ้นมีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรคและอัตราการตายของผู้ป่วย³² ข้อมูลที่กล่าวมานี้ล้วนสนับสนุนความเชื่อที่ว่า COX-2 มีบทบาทเกี่ยวข้องกับกำเนิดมะเร็ง อย่างไรก็ตามอย่างไรก็ดีเซลล์ที่พบ COX-2 นั้นมีหลายชนิด เช่น tumor epithelial cells, stroma, macrophage, fibroblast^{21,32} จึงยังไม่ทราบแน่ชัดว่า ปริมาณ COX-2 เพิ่มขึ้นในเซลล์ชนิดใดที่เป็นสาเหตุนำไปสู่การเกิดมะเร็ง หรือว่าการที่ COX-2 เพิ่มขึ้นในเซลล์ต่างๆ นั้นเป็นผลจากการเหนี่ยวนำโดยสารที่เนื้อเยื่อมะเร็งสร้างขึ้น

2.2 มะเร็งชนิดอื่นๆ

นอกจากมะเร็งลำไส้ใหญ่แล้ว มีรายงานว่า NSAIDs สามารถป้องกันการเกิดมะเร็งของอวัยวะอื่นๆ ด้วย เป็นต้นว่า เต้านม³³, ศีรษะและคอ³⁴, ปอด^{35,36}, ตับอ่อน³⁷, กระเพาะปัสสาวะ³⁸, หลอดอาหารและกระเพาะอาหาร^{39,40} และพบว่า COX-2 อาจมีบทบาทในการเกิดมะเร็งเหล่านี้ อย่างไรก็ตามข้อมูลที่เรามีในปัจจุบันยังไม่ชัดเจนนักและบางครั้งผลการศึกษาวิจัยของผู้วิจัยแต่ละคณะมีความแตกต่างกัน

3. กลไกระดับโมเลกุลในการเกิดมะเร็งโดย COX-2

กลไกระดับโมเลกุลซึ่ง COX-2 ไปเกี่ยวข้องในขั้นตอนของการเกิดมะเร็งนั้นไม่เป็นที่ทราบชัดเจน แต่มีสมมุติฐานอธิบายเรื่องนี้ ดังนี้

1) COX-2 สร้างสาร prostanoids ซึ่งทำให้เกิดการอักเสบ เชื่อว่าการอักเสบเรื้อรังนั้นทำให้เกิดการทำลายสารชีวโมเลกุลต่างๆ ภายในเซลล์ที่สำคัญคือดีเอ็นเอและโปรตีน ซึ่งนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงของเซลล์ไปเป็นมะเร็ง^{41,42} พบว่าการอักเสบเรื้อรังสัมพันธ์กับการเกิดมะเร็งหลายชนิด เช่น การอักเสบของลำไส้ใหญ่เรื้อรัง (ulcerative colitis) ทำให้ผู้ป่วยมีโอกาสเป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่

สูงกว่าคนทั่วไป 5-7 เท่า⁴³ และถ้าการอักเสบเรื้อรังนานถึง 35-40 ปี ผู้ป่วยจะมีโอกาสเป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่ถึงร้อยละ 20-35^{43,44} ที่น่าสนใจคือบริเวณที่มีการอักเสบของลำไส้จะพบปริมาณ COX-2 สูงกว่าเซลล์ที่ไม่มีการอักเสบ⁴¹ สำหรับในอวัยวะอื่นๆ พบว่าการอักเสบเรื้อรังเป็นปัจจัยเสี่ยงของการเกิดมะเร็งเช่นกัน เช่น ผู้ที่มีการอักเสบของตับอ่อนเรื้อรังมีโอกาสเสี่ยงสูงขึ้นในการเป็นมะเร็งตับอ่อน^{45,46} ผู้ที่เป็นโรคหืดและมีปอดอักเสบเรื้อรังมีโอกาสเสี่ยงสูงขึ้นในการเป็นมะเร็งที่ปอด⁴⁷

2) สาร prostanoids โดยเฉพาะอย่างยิ่ง PGE₂ ซึ่งถูกสร้างโดย COX-2 มีฤทธิ์โดยตรงในการเหนี่ยวนำให้เซลล์เปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์มะเร็ง โดยกลไกต่างๆ ได้แก่ กระตุ้นการเจริญเติบโตและการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์⁴⁸ ยับยั้งการตายของเซลล์ (apoptosis)⁴⁹ และกระตุ้นการงอกของหลอดเลือดใหม่เพื่อไปเลี้ยงเนื้อเยื่อมะเร็ง (tumor angiogenesis)⁵⁰ มีหลักฐานงานวิจัยจำนวนมากพบว่า COX-2 มีการแสดงออกเพิ่มขึ้นในเซลล์เยื่อหลอดเลือดที่งอกใหม่ (angiogenic vasculature) ในมะเร็งของอวัยวะหลายชนิด เช่น ลำไส้ใหญ่ ปอด เต้านม หลอดอาหาร และต่อมลูกหมาก และยับยั้ง COX-2 สามารถลดการสร้าง angiogenic growth factors และยับยั้งการสร้างหลอดเลือดใหม่ในหลอดทดลองได้ แสดงให้เห็นว่า COX-2 มีบทบาทสำคัญในการเกิด tumor angiogenesis และอาจเป็นกลไกสำคัญของยาในกลุ่มนี้ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของมะเร็ง⁵¹

3) สาร intermediates ซึ่งเกิดขึ้นในระหว่างปฏิกิริยาที่ COX-2 สลาย arachidonic acid ไปเป็น PGs เช่น peroxy radicals และ malondialdehyde (MDA) เป็นสารที่มีความสามารถสูงในการทำปฏิกิริยา (highly reactive substances) จึงก่อให้เกิดการทำลายสารชีวโมเลกุลต่างๆ เช่น ดีเอ็นเอ โปรตีน และไขมัน ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ที่นำไปสู่การเกิดมะเร็ง⁵²

4) เป็นผลทางอ้อมจากการที่ COX ไปย่อย arachidonic acid ทำให้ปริมาณของสารนี้ในเซลล์ลดลง โดยที่ arachidonic acid มีฤทธิ์กระตุ้นเอนไซม์ sphingomyelinase ให้เปลี่ยน sphingomyelin ไปเป็น ceramide⁵³ ซึ่งมีฤทธิ์กระตุ้นให้เซลล์เกิด apoptosis⁵³⁻⁵⁶ ดังนั้นการที่ปริมาณ arachidonic acid ลดลงจึงเป็นปัจจัยหนึ่งที่นำไปสู่การเกิดมะเร็ง

4. Specific COX-2 inhibitors

ยา NSAIDs รุ่นใหม่ซึ่งมีฤทธิ์จำเพาะต่อ COX-2 ที่วางจำหน่ายในท้องตลาดคือกลุ่ม coxibs ได้แก่ celecoxib (Celebrex[®] Pharmacia Corporation, USA), rofecoxib (Vioxx, Merck & Co. Inc. USA) valdecoxib (Bextra[®] Pharmacia Corporation, USA) และ etoricoxib (Arcoxia[®] Merck & Co. Inc. USA) ยาสามตัวแรกได้รับการรับรองจากองค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา ส่วนยาตัวที่สี่วางจำหน่ายในอังกฤษ เม็กซิโก เปรู และบราซิล

ความจำเพาะของ COX inhibitors นั้นเป็นการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้งการทำงานของ COX-1 และ COX-2 ซึ่งสามารถศึกษาได้ในหลอดทดลองโดยวิธีวิเคราะห์มาตรฐานคือ human whole blood assay (WBA)⁵⁷ ประสิทธิภาพในการยับยั้ง COX-1 นั้นวัดจากการที่ยับยั้งการแข็งตัวของเลือด ซึ่งเป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นเมื่อมีการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดเมื่อถูกกระตุ้นด้วย TXA₂ สารนี้ถูกสร้างจากเกล็ดเลือดโดย COX-1 หรืออาจวิเคราะห์หาปริมาณ TXB₂ ซึ่งเป็นสารที่ได้จากการสลายตัวของ TXA₂ ก็ได้ สำหรับประสิทธิภาพในการยับยั้ง COX-2 นั้นวัดจากปริมาณ PGE₂ ที่สร้างขึ้นโดย COX-2 ในเม็ดเลือดขาวเมื่อถูกกระตุ้นด้วย lipopolysaccharide (LPS) การวิเคราะห์ COX-2 นี้ทำในเลือดซึ่งใส่สารยับยั้งการแข็งตัว (heparinized blood) ประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์นิยมนำมาแสดงด้วยค่า 50% inhibitory concentration (IC₅₀) คือความ

เข้มข้นของยาซึ่งสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้ครึ่งหนึ่ง ยาที่มีประสิทธิภาพสูงจะมีค่า IC_{50} ต่ำ ส่วนความจำเพาะต่อ COX-2 นั้นประเมินจากอัตราส่วน $IC_{50}(COX-1)/IC_{50}(COX-2)$ นอกจากนี้ได้มีผู้ดัดแปลงวิธีวิเคราะห์เพื่อให้ได้ผลที่น่าเชื่อถือมากขึ้น เรียกว่า William Harvey Human Modified Whole Blood Assay (WHMA)⁵⁸ ซึ่งวิธีนี้แสดงประสิทธิภาพของยาด้วยค่า IC_{80}

จากการศึกษาประสิทธิภาพของ etoricoxib⁵⁹ และ COX-2 inhibitors อื่นๆ โดยวิธี human WBA พบว่า celecoxib มีความจำเพาะต่อ COX-2 มากกว่า COX-1 ประมาณ 7.6 เท่า rofecoxib และ valdecoxib มีความจำเพาะสูงถึง 30-35 เท่า และ etoricoxib มีความจำเพาะสูงถึง 106 เท่า (ตารางที่ 2) อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพในการต้านการอักเสบของยากลุ่มนี้โดยเฉพาะ celecoxib และ rofecoxib ค่อนข้างใกล้เคียงกันและใกล้เคียงกับ classical NSAIDs⁶⁰⁻⁶² การศึกษาทางคลินิกโดย CLASS Study Group⁶³ ในผู้ป่วยจำนวน 7,968 ราย เปรียบเทียบการใช้ยา celecoxib 400 มิลลิกรัม วันละ 2 ครั้ง กับ ibuprofen 800 มิลลิกรัม วันละ 3 ครั้ง หรือ diclofenac 75 มิลลิกรัม วันละ 2 ครั้ง เพื่อรักษาอาการข้ออักเสบในผู้ป่วย osteoarthritis และ rheumatoid arthritis เป็นระยะเวลา 6 เดือน พบว่าผู้ป่วยที่ได้รับยา celecoxib เกิดอาการข้างเคียงของระบบทางเดินอาหาร (perforation, gastric outlet obstruction, bleeding) น้อยกว่าผู้ที่ได้รับยา nonspecific NSAIDs ทั้ง 2 ตัว ในทำนองเดียวกันการศึกษาโดย VIGOR Study Group⁶⁴ ในผู้ป่วย 8,076 คน เปรียบเทียบการใช้ยา rofecoxib 50 มิลลิกรัม วันละครั้ง กับ naproxen 500 mg วันละ 2 ครั้ง เพื่อบำบัดรักษาโรค rheumatoid arthritis พบว่ายาสองตัวมีประสิทธิภาพในการรักษาใกล้เคียงกัน เมื่อติดตามการใช้ยานาน 9 เดือน พบว่าผู้ที่ได้รับยา rofecoxib เกิดอาการข้างเคียงในระบบทางเดินอาหาร (upper

GI perforations or obstructions, symptomatic ulcers, and bleeds) ร้อยละ 2.1 ในขณะที่ naproxen พบมากกว่าคือร้อยละ 4.5 และการใช้ยาสองตัวนี้ทำให้ผู้ป่วยเกิดอาการข้างเคียงในระบบทางเดินอาหารที่รุนแรง (complicated upper GI perforations or obstructions, and severe upper gastrointestinal bleeds) ร้อยละ 0.6 และ 1.4 ตามลำดับ ส่วนอุบัติการณ์ในการเกิดกล้ามเนื้อหัวใจตายในผู้ป่วยที่ได้รับยา naproxen กลับต่ำกว่า rofecoxib กล่าวคือ ร้อยละ 0.1 และ 0.4 ตามลำดับ อย่างไรก็ตามการเสียชีวิตซึ่งมีสาเหตุจากโรคหัวใจในผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มไม่แตกต่างกัน

ข้อบ่งใช้ของ specific COX-2inhibitors ในการป้องกันและรักษามะเร็ง

ปัจจุบันองค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกาประกาศรับรองการใช้ celecoxib (Celebrex[®], Pharmacia Corporation, USA) เพื่อรักษา familial adenomatous polyposis (FAP)⁶⁵ เนื่องจากมีรายงานผลการศึกษาในผู้ป่วย FAP จำนวน 83 คน ซึ่งได้รับยา celecoxib 400 มิลลิกรัม วันละ 2 ครั้ง หรือ 100 มิลลิกรัม วันละ 2 ครั้ง นาน 6 เดือน พบว่าจำนวน polyps ลดลงร้อยละ 28 และ 12 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับยาหลอกซึ่งลดลงเพียงร้อยละ 5 อย่างไรก็ตามการใช้ COX-2 inhibitors ในผู้ป่วย FAP สามารถป้องกันการเพิ่มจำนวน polyps ในลำไส้ใหญ่ได้ แต่ polyps ที่เกิดขึ้นแล้วส่วนใหญ่ไม่หายไปแม้ว่าจะใช้ยาเป็นเวลานาน⁶⁶ สำหรับมะเร็งลำไส้ใหญ่ชนิดอื่น เช่น sporadic colorectal cancer และ colorectal cancer in inflammatory bowel disease ยังไม่มีข้อมูลทางคลินิกเพียงพอที่จะยืนยันประโยชน์ของ COX-2 inhibitors²¹

นอกจากนี้มีการศึกษาวิจัยทางคลินิกจำนวนหนึ่งกำลังดำเนินการอยู่เพื่อประเมินประสิทธิภาพของ COX-2 inhibitors ในการรักษามะเร็งชนิดอื่นๆ โครงการวิจัยส่วนหนึ่งได้รับการสนับสนุนจาก US National Cancer Institute (NCI)⁶⁷

ได้แก่การศึกษาประสิทธิภาพของ celecoxib ในการรักษามะเร็งเต้านม มะเร็งกระเพาะปัสสาวะ มะเร็งผิวหนัง และมะเร็งหลอดอาหาร (Barrett's esophagus) ซึ่งส่วนหนึ่งเป็นการใช้ COX-2 inhibitors เสริมการรักษาร่วมกับยากลุ่มอื่น อาทิใช้ร่วมกับยาเคมีบำบัดในการรักษามะเร็งปอดชนิด NSCLC พบว่า COX-2 inhibitors ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการรักษายา paclitaxel และ carboplatin⁶⁸ และใช้ร่วมกับยากลุ่ม tyrosine kinase inhibitors คือ trastuzumab ในการรักษามะเร็งเต้านมระยะแพร่กระจาย⁶⁹

บทบาทที่น่าสนใจอีกประการหนึ่งของ COX-2 inhibitors คือการใช้เพื่อป้องกันการเกิดมะเร็ง (chemoprevention) โดยเฉพาะอย่างยิ่งมะเร็งลำไส้ใหญ่⁷⁰ และมะเร็งเต้านม^{71,72} มีการวิจัยทางคลินิกระยะ phase III เพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการป้องกันมะเร็งลำไส้ใหญ่ในผู้ที่เคยมีประวัติเป็น sporadic adenomas มาก่อน เปรียบเทียบระหว่างการรับประทานยา celecoxib วันละ 400-800 มก หรือ rofecoxib วันละ 25 มก⁷⁰ ในมะเร็งเต้านม มีการศึกษาทางคลินิกระยะ phase II เพื่อประเมินประสิทธิภาพของ celecoxib ในการป้องกันมะเร็งเต้านมในสตรีวัยเจริญพันธุ์อายุ 18-55 ปีที่มีความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งชนิดนี้ โดยให้รับประทาน celecoxib วันละ 2 ครั้งเป็นเวลานาน 12 เดือน ติดตามผู้ป่วยปีละครั้งเป็นระยะเวลา 5 ปี เพื่อตรวจดูการเปลี่ยนแปลงและการเจริญเติบโตของ benign breast epithelial cells⁷¹

จากงานวิจัยทางวิทยาศาสตร์พื้นฐานและงานวิจัยทางคลินิกจำนวนมากที่กำลังดำเนินอยู่ในปัจจุบัน คาดได้ว่าในอนาคตอันใกล้ บทบาทของ COX-2 inhibitors ในการป้องกันและรักษามะเร็งจะมีความชัดเจนและทวีความสำคัญมากขึ้น

บทสรุป

จากหลักฐานทางคลินิกและในสัตว์ทดลองแสดงให้เห็นว่า COX-2 มีบทบาทสำคัญในการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่และอาจมีบทบาทเกี่ยวข้องกับมะเร็งชนิดอื่นด้วย การยับยั้งเอนไซม์

COX-2 ด้วยยากลุ่ม NSAIDs สามารถป้องกันและลดอัตราการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่บางชนิดได้ ในปัจจุบันได้มีการพัฒนายาที่ออกฤทธิ์จำเพาะต่อ COX-2 (specific COX-2 inhibitors) ได้แก่ celecoxib, rofecoxib, valdecoxib และ etoricoxib ข้อดีของยากลุ่มใหม่นี้คือไม่ทำให้เกิดอาการข้างเคียงรุนแรงต่อระบบทางเดินอาหาร โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อต้องใช้ยาติดต่อกันเป็นเวลานาน อย่างไรก็ตามก็ยังมีหลักฐานยืนยันว่า specific COX-2 inhibitors มีความปลอดภัยเหนือกว่า classical COX inhibitors ในด้านผลกระทบต่อการทำงานของไต และการทำงานของเกล็ดเลือด ปัจจุบัน celecoxib ได้รับการรับรองจากองค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกาให้ใช้ในการป้องกันและรักษา familial adenomatous polyposis (FAP) สำหรับมะเร็งลำไส้ชนิดอื่นและมะเร็งของอวัยวะอื่น ๆ นั้นยังอยู่ในระหว่างการศึกษาดังกล่าว

เอกสารอ้างอิง

1. Vane JR. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nature* 1971; 231:232-235.
2. Dubois RN, Abramson SB, Grofford L, et al. Cyclooxygenase in biology and disease. *FASEB* 1998; 12:1063-1073.
3. Kaplan-Machlis B, Klostermeyer BS. The cyclooxygenase-2 inhibitors: safety and effectiveness. *Ann Pharmacotherapy* 1999; 33: 979-988.
4. Mardini IA, FitzGerald GA. Selective inhibitors of cyclooxygenase-2: A growing class of anti-inflammatory drugs. *Mol Interventions* 2001; 1:30-38.
5. Miyamoto T, Ogino N, Yamamoto S, et al. Purification of prostaglandin endoperoxide synthetase from bovine vesicular gland microsomes. *J Biol Chem* 1976; 251:2629-2636.
6. Rosen GD, Birkenmeier TM, Raz A. et al. Identification of a cyclooxygenase-related gene and its potential role in prostaglandin formation. *Biochem Biophys Res Commun* 1989; 164:1358-1365.
7. Kujubu DA, Fletcher BS, Varnum BC, et al. TIS10; a phorbol ester tumor promoter-inducible mRNA from Swiss 3T3 cells, encodes a novel prostaglandin synthase/

- cyclooxygenase homologue. *J Biol Chem* 1991; 266:12866-12872.
8. Bazan NG. COX-2 as a multifunctional neuronal modulator. *Nat Med* 2001; 7:414-415.
9. Moore BC, Simmons DL. COX-2 inhibition, apoptosis, and chemoprevention by nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Curr Med Chem* 2000; 7:1131-1144.
10. FitzGerald GA, Patrono C. The coxibs, selective inhibitors of cyclooxygenase-2. *N Engl J Med* 2001; 345:433-442.
11. Greenlee RT, Murray T, Bolden S, et al. Cancer statistics, 2000. *CA Cancer J Clin* 2000; 50:7-33.
12. http://www.nci.nih.gov/cancer_information/
13. Mayor RJ. Gastrointestinal tract cancer. In: Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL et al., editors. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 15th ed. New York: McGraw-hill, 2001:578-589.
14. National Institute for Clinical Excellence. Guidance on the use of irinotecan, oxaliplatin and raltitrexed for the treatment of advanced colorectal cancer. March 2002. [<http://www.nice.org.uk>]
15. Waddell WR, Loughry RW. Sulindac for polyposis of the colon. *J Surg Oncol* 1983; 24: 83-87.
16. Thun MJ, Namboodiri MM, Heath CW. Aspirin use and reduced risk of fatal colon cancer. *New Engl J Med* 1991; 325:1593-1596.
17. Marnett LJ. Aspirin and the potential role of prostaglandins in colon cancer. *Cancer Res* 1992; 52:5575-5589.
18. Giovannucci E, Rimm EB, Stampfer MJ, et al. Aspirin use and the risk for colorectal cancer and adenoma in male health professionals. *Ann Intern Med* 1994; 121:241-246.
19. Giovannucci E, Egan KM, Hunter DJ, et al. Aspirin and the risk of colorectal cancer in women. *New Engl J Med* 1995; 333: 609-614.
20. Vainio H, Morgan G, Kleihues P. An international evaluation of the cancer-preventive potential of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1997; 6:749-753.
21. Gupta RA, Dubois RN. Colorectal cancer prevention and treatment by inhibition of cyclooxygenase-2. *Nat Rev* 2001; 1:11-21.
22. Labayle D, Fischer D, Vielh P, et al. Sulindac causes regression of rectal polyps in familial adenomatous polyposis. *Gastroenterology* 1991; 101:635-639.
23. Nugent KP, Farmer KC, Spigelman AD, et al. Randomized controlled trial of the effect of sulindac on duodenal and rectal polyposis and cell proliferation in patients with familial adenomatous polyposis. *Br J Surg* 1993; 80:1618-1619.
24. Giardiello FM, Hamilton SR, Krush AJ, et al. Treatment of colonic and rectal adenomas with sulindac in familial adenomatous polyposis. *N Engl J Med* 1993; 328:1313-1316.
25. Oshima M, Dinchuk JE, Kargman SL, et al. Suppression of intestinal polyposis in *Apc*⁷¹⁶ knockout mice by inhibition of prostaglandin endoperoxide synthase-2 (COX-2). *Cell* 1996; 87:803-809.
26. Williams CS, Tsujii M, Reese J, et al. Host cyclooxygenase-2 modulates carcinoma growth. *J Clin Invest* 2000; 105:1589-1594.
27. Oshima M, Murai N, Kargman S, et al. Chemoprevention of intestinal polyposis in the *APC*^{delta716} mouse by rofecoxib, a specific cyclooxygenase-2 inhibitor. *Cancer Res* 2001; 61:1733-1740.
28. Reddy BS, Rao CV, Rivenson A, et al. Inhibitory effect of aspirin on azoxymethane-induced colon carcinogenesis in F344 rats. *Carcinogenesis* 1993; 14:1493-1497.
29. Kawamori T, Rao CV, Seibert K, et al. Chemopreventive activity of celecoxib, a specific cyclooxygenase-2 inhibitor, against colon carcinogenesis. *Cancer Res* 1998; 58: 409-412.
30. Goldman AP, Williams CS, Sheng H, et al. Meloxicam inhibits the growth of colorectal cancer cells. *Carcinogenesis* 1998; 19:2195-2199.
31. Eberhart CE, Coffey RJ, Radhika A, et al. Up-regulation of cyclooxygenase-2 gene expression in human colorectal adenomas and adenocarcinomas. *Gastroenterology* 1994; 107:1183-1188.
32. Sheehan KM, Sheahan K, O'Donoghue DP, et al. The relationship between cyclooxygenase-2 expression and colorectal cancer. *JAMA* 1999; 282:1254-1257.
33. Subbaramaiah K, Telang N, Ramonetti JT, et al. Transcription of cyclooxygenase-2 is enhanced in transformed mammary epithelial cells. *Cancer Res* 1996; 56:4424-4429.
34. Chan G, Boyle JO, Yang EK, et al. Cyclooxygenase-2 expression is up-

- regulated in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer Res* 1999; 59:991-994.
35. Wolff H, Saukkonen K, Anttila S, et al. Expression of cyclooxygenase-2 in human lung carcinoma. *Cancer Res* 1998; 58:4997-5001.
 36. Hida T, Yatabe Y, Achiwa H, et al. Increased expression of cyclooxygenase-2 occurs frequently in human lung cancers, specifically in adenocarcinomas. *Cancer Res* 1998; 58:3761-3764.
 37. Tucker ON, Dannenberg AJ, Yang EK, et al. Cyclooxygenase-2 expression is up-regulated in human pancreatic cancer. *Cancer Res* 1999; 59:987-990.
 38. Grubbs CJ, Lubet RA, Koki AT, et al. Celecoxib inhibits N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)-nitrosamine-induced urinary bladder cancers in male B6D2F1 mice and female Fischer-344 rats. *Cancer Res* 2000; 60:5599-5602.
 39. Ristimäki A, Honkanen N, Jankala H, et al. Expression of cyclooxygenase-2 in human gastric carcinoma. *Cancer Res* 1997; 57:1276-1280.
 40. Farrow DC, Vaughan TL, Hansten PD, et al. Use of aspirin and other nonsteroidal-anti-inflammatory drugs and risk of esophageal and gastric cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1998; 7:97-102.
 41. Brentnall TA, Crispin DA, Bronner MP, et al. Microsatellite instability in non-neoplastic mucosa from patients with chronic ulcerative colitis. *Cancer Res* 1996; 56:1237-1240.
 42. Prescott SM, Fitzpatrick FA. Cyclooxygenase-2 and carcinogenesis. *Biochim Biophys Acta* 2000; 1470:M69-M78.
 43. Ekblom A, Helmick C, Zack M, et al. Ulcerative colitis and colorectal cancer. A population based study. *N Engl J Med* 1990; 323:1228-1233.
 44. Lashner BA. Colorectal cancer in ulcerative colitis patients: survival curves and surveillance. *Cleveland Clin J Med* 1994; 61:272-275.
 45. Bansal P, Sonnenberg A. Pancreatitis is a risk factor for pancreatic cancer. *Gastroenterology* 1995; 109:247-251.
 46. Cylwik B, Nowak HF, Puchalski Z, et al. Epithelial anomalies in chronic pancreatitis as a risk factor of pancreatic cancer. *Hepatogastroenterology* 1998; 45:528-532.
 47. Vesterinen E, Pukkala E, Timonen T, et al. Cancer incidence among 78,000 asthma patients. *Int J Epidemiol* 1993; 22:976-982.
 48. Tsujii M, DuBois RN. Alterations in cellular adhesion and apoptosis in epithelial cells overexpressing prostaglandin endoperoxide synthase 2. *Cell* 1995; 83:493-501.
 49. Sheng H, Shao J, Morrow JD, et al. Modulation of apoptosis and Bcl-2 expression by prostaglandin E2 in human colon cancer cells. *Cancer Res* 1998; 58:362-366.
 50. Tsujii M, Kawano S, Tsuji S, et al. Cyclooxygenase regulates angiogenesis induced by colon cancer cells. *Cell* 1998; 93:705-716.
 51. Thun MJ, Henley SJ, Patrono C. Non-steroidal anti-inflammatory drugs as anticancer agents: mechanistic, pharmacologic, and clinical issues. *J Natl Cancer Inst* 2002; 94:252-266.
 52. Shiff SJ, Rigas B. The role of cyclooxygenase inhibition in the antineoplastic effects of nonsteroidal antiinflammatory drugs (NSAIDs). *J Exp Med* 1999; 190:445-450.
 53. Chan TA, Morin PJ, Vogelstein B, et al. Mechanisms underlying nonsteroidal anti-inflammatory drug-mediated apoptosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 681-686.
 54. Surette ME, Winkler JD, Fonteh AN, et al. Relationship between arachidonate-phospholipid remodeling and apoptosis. *Biochemistry* 1996; 35:9187-9196.
 55. Surette ME, Fonteh AN, Bernatchez C, et al. Perturbations in the control of cellular arachidonic acid levels block cell growth and induce apoptosis in HL-60 cells. *Carcinogenesis* 1999; 20:757-763.
 56. Longo WE, Grossmann EM, Erickson B, et al. The effect of phospholipase A2 inhibitors on proliferation and apoptosis of murine intestinal cells. *Surg Res* 1999; 84:51-56.
 57. Patrignani P, Panara MR, Greco A, et al. Biochemical and pharmacological characterization of the cyclooxygenase activity of human blood prostaglandin endoperoxide synthases. *J Pharmacol Exp Ther* 1994; 271:1705-1712.
 58. Warner TD, Giuliano F, Vojnovic I, et al. Nonsteroid drug selectivities for cyclooxygenase-1 activity rather than cyclooxygenase-2 are associated with human gastrointestinal toxicity: a full in vitro analysis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96:7563-7568.

59. Riendeau D, Percival MD, Charleston S, et al. Etoricoxib (MK-0663): Preclinical profile and comparison with other agents that selectively inhibit cyclooxygenase-2. *J Pharmacol Exp Ther* 2001; 296:558-566.
60. Simon LS, Weaver AL, Graham DY, et al. Anti-inflammatory and upper gastrointestinal effects of celecoxib in rheumatoid arthritis: a randomized controlled trial. *JAMA* 1999; 282:1821-1828.
61. Langman MJ, Jensen DM, Watson DJ, et al. Adverse upper gastrointestinal effects of rofecoxib compared with NSAIDs. *JAMA* 1999; 282:1929-1933.
62. Laine L, Harper S, Simon T, et al. A randomized trial comparing the effect of rofecoxib, a cyclooxygenase 2-specific inhibitor, with that of ibuprofen on the gastroduodenal mucosa of patients with osteoarthritis. *Gastroenterology* 1999; 117:776-783.
63. Silverstein FE, Faich G, Goldstein JL, et al. Gastrointestinal toxicity with celecoxib vs nonsteroidal anti-inflammatory drugs for osteoarthritis and rheumatoid arthritis: the CLASS study: a randomized controlled trial. *JAMA* 2000; 284:1247-1255.
64. Bombardier C, Laine L, Reicin A, et al. Comparison of upper gastrointestinal toxicity of rofecoxib and naproxen in patients with rheumatoid arthritis. VIGOR Study Group. *N Engl J Med* 2000; 343:1520-1528.
65. Henry JE. Celecoxib indicated for FAP. *JAMA* 2000; 283:1131.
66. Steinbach G, Lynch PM, Phillips RKS, et al. The effect of celecoxib, a cyclooxygenase-2 inhibitor, in familial adenomatous polyposis. *N Engl J Med* 2000; 342:1946-1952.
67. <http://www.newscenter.cancer.gov/press-release/celecoxibupdate.html>
68. Altorki NK, Keresztes RS, Port JL, et al. Celecoxib, a selective cyclo-oxygenase-2 inhibitor, enhances the response to preoperative paclitaxel and carboplatin in early-stage non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*, 2003;21:2645-2650.
69. Dang CT, Dannenberg AJ, Subbaramaiah K et al. Phase II study of celecoxib and trastuzumab in metastatic breast cancer patients who have progressed after prior trastuzumab-based treatments. *Clin Cancer Res*. 2004; 15:4062-4067.
70. Kelloff GJ, Schilsky RL, Alberts DS. Colorectal adenomas: a prototype for the use of surrogate end points in the development of cancer prevention drugs. *Clin Cancer Res* 2004;10: 3908-3918.
71. Arun B, Goss P. The role of COX-2 inhibition in breast cancer treatment and prevention. *Semin Oncol* 2004;31:22-29.
72. <http://www.clinicaltrials.gov/ct/show/NC T00056082>

**รับสมัครทุนอุดหนุนการศึกษา
ระดับบัณฑิตศึกษา จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย**

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ได้จัดสรรทุนอุดหนุนการศึกษา ระดับบัณฑิตศึกษาของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยซึ่งตั้งขึ้นเพื่อเฉลิมฉลองในวโรกาสที่พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวทรงเจริญพระชนมายุครบ 72 พรรษา สำหรับนิสิตที่กำลังศึกษาอยู่ในปีการศึกษาสุดท้าย ระดับปริญญาตรีหรือโท หรือผู้ที่สำเร็จการศึกษาไปแล้ว

เปิดโอกาสให้ทุกสาขาวิชาในระดับบัณฑิตศึกษา (รวมทั้งหลักสูตร วท.ม และ วท.ค สาขาวิชาเภสัชวิทยา)

ผู้สนใจขอรับใบสมัครและยื่นใบสมัครได้ที่บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ระหว่างวันที่ 26 ตุลาคม 2547 ถึงวันที่ 17 พฤศจิกายน 2547

**ติดต่อขอทราบรายละเอียด ได้ที่ หน่วยส่งเสริมและพัฒนากิจการทาง
วิชาการ งานบริการการศึกษา บัณฑิตวิทยาลัย โทร. 02-2183502-5**

REVIEWS

Polycyclic Aromatic Hydrocarbons as Contaminant in Environment and Effect to Human Body

Suparat Watana¹ and Supeecha Wittayalertrpanya²

¹ Master of Medical Science program, ² Department of Pharmacology,
Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand

Abstract

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are hydrocarbon compounds which originated from the incomplete combustion or organic compounds during industrial and other human activities. The most important sources of PAHs are coal tars and derived product. A second source of PAHs is petroleum distillates. Roasted, grilled or smoked foods are also important source of PAHs. PAHs are present throughout the environment, human may be exposed to these substances at home, outside, or at the workplace. The distribution of PAHs in the environment depends on properties of each PAHs. In human, PAHs are absorbed and distributed to internal organs especially organs rich in adipose tissue which can contain high level of PAHs and metabolites. PAHs can be changed a multistep metabolic activation by specific enzymes which are bioactivated to reactive metabolites. The metabolites can bind covalently to DNA and subsequently initiate mutation and carcinogenesis which may cause harmful health effects. Industrial and technological countries have set regulations for health protection in high risk PAHs exposure by suggesting amount of each PAHs in human body which will be harmful.

Key words: Polycyclic aromatic hydrocarbons

Polycyclic Aromatic Hydrocarbons

สารปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมและผลกระทบต่อร่างกายมนุษย์

สุภารัตน์ วัฒนา¹ สุพีชา วิทยเลิศปัญญา²

¹หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต วิทยาศาสตร์การแพทย์, ²ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

โพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน(พีเอเอช) เป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่เกิดขึ้นจากกระบวนการเผาไหม้ไม่สมบูรณ์ของเชื้อเพลิงหรือของสารประกอบอินทรีย์ซึ่งเกิดขึ้นได้ในระหว่างการประกอบอุตสาหกรรมหรือจากกิจกรรมต่าง ๆ ของมนุษย์ แหล่งสำคัญที่สุดที่พบสารพีเอเอชคือถ่านหินและอนุพันธ์ของถ่านหิน รองลงมาคือสารสกัดจากน้ำมันปิโตรเลียม อาหารประเภทปิ้งย่าง ทอด รมควัน ก็ถือเป็นแหล่งสำคัญของสารพีเอเอช สารพีเอเอชพบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม โดยมนุษย์มีโอกาสได้รับหลายทาง ทั้งจากภายในบ้าน นอกบ้าน และที่ทำงาน ซึ่งการแพร่กระจายของสารพีเอเอชขึ้นอยู่กับคุณสมบัติเฉพาะตัวของสาร เมื่อสารพีเอเอชเข้าสู่ร่างกายจะดูดซึมเข้าสู่ส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย และแพร่กระจายไปได้ในอวัยวะต่าง ๆ โดยเฉพาะอวัยวะที่มีเนื้อเยื่อไขมันมาก ซึ่งจะพบสารพีเอเอชและเมแทบอลิท์ของสารพีเอเอชสะสมอยู่มาก สารพีเอเอชจะถูกเปลี่ยนแปลงในหลายขั้นตอนโดยเอนไซม์ที่จำเพาะเจาะจงซึ่งอาจถูกเปลี่ยนแปลงได้เมแทบอลิท์ที่มีพิษ โดยเมื่อจับกับดีเอ็นเอมีผลทำให้เกิดการแปรผันทางพันธุกรรมและก่อให้เกิดโรคมะเร็งได้ อันอาจก่อให้เกิดผลกระทบต่อระบบต่าง ๆ ของร่างกาย ในประเทศที่มีการพัฒนาด้านอุตสาหกรรมและเทคโนโลยีจึงได้มีการควบคุมเกี่ยวกับการป้องกันสุขภาพของมนุษย์ที่มีความเสี่ยงสูงต่อการได้รับสารพีเอเอช โดยเสนอแนะระดับสารพีเอเอชที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพ

คำสำคัญ : โพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน

บทนำ

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) เป็นสารอินทรีย์ที่พบปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม เช่น อากาศ ดิน น้ำ เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ หรือเกิดจากกระบวนการเผาไหม้ไม่สมบูรณ์ของเชื้อเพลิงหรือกระบวนการ pyrolysis ของสารอินทรีย์ เช่น ถ่านหิน น้ำมันดิบ ก๊าซธรรมชาติ ขยะมูลฝอย การเผาไหม้ของซากดึกดำบรรพ์ (fossil fuels)¹⁻³ นอกจากนี้ PAHs ยังพบเป็นส่วนประกอบในควันบุหรี่ ควันจากท่อไอเสียรถยนต์⁴⁻⁶ อาหารประเภทปิ้งย่าง ทอด ร่มควัน เป็นต้น⁷ สาร PAHs สามารถเข้าสู่สิ่งแวดล้อมได้หลายทาง ซึ่งการแพร่กระจายของสาร PAHs เข้าสู่สิ่งแวดล้อมนั้น ขึ้นอยู่กับคุณสมบัติเฉพาะตัวของสาร เช่น ความสามารถในการละลายน้ำ ความสามารถในการระเหยได้ในอากาศ เป็นต้น มนุษย์มีโอกาสได้รับสาร PAHs ได้หลายทางทั้งระบบทางเดินหายใจ ระบบทางเดินอาหาร และทางผิวหนัง⁸ ซึ่งเมื่อสาร PAHs เข้าสู่ร่างกายจะถูกเปลี่ยนแปลงโดยเอนไซม์ที่จำเพาะเจาะจง อาจก่อให้เกิดเมแทบอลิท์ที่มีฤทธิ์ให้เกิดมะเร็งต่อระบบต่างๆ ของร่างกาย⁹ ในประเทศที่มีการพัฒนาด้านอุตสาหกรรมและเทคโนโลยี พบสาร PAHs ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมอยู่เป็นปริมาณมาก จึงได้มีข้อแนะนำเกี่ยวกับการป้องกันสุขภาพของมนุษย์ ซึ่งเกี่ยวข้องกับระดับสาร PAHs ที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพ⁸

ลักษณะทั่วไปของสารประกอบ PAHs

PAHs เป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่ประกอบด้วยธาตุคาร์บอน และธาตุไฮโดรเจนรวมตัวกันเป็นวงแหวนอะโรมาติก (aromatic ring) หรือวงแหวนเบนซีน (benzene ring) อาจมี 2 วง หรือมากกว่า 2 วงขึ้นไป^{1,8} สาร PAHs ที่มีวงแหวนเบนซีนน้อยกว่า 3 วง (น้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 128-178) มีสถานะเป็นก๊าซ ส่วนสาร PAHs ที่มีวงแหวนเบนซีนตั้งแต่ 4 วงขึ้นไป (น้ำหนักโมเลกุลมากกว่าหรือเท่ากับ 202) จะพบได้ทั้ง 3 สถานะคือ ก๊าซ ของเหลว และของแข็ง^{1,4,8}

สาร PAHs ที่มีน้ำหนักโมเลกุลน้อย มักจะพบเป็นอนุภาคที่ระเหยได้ในอากาศ เช่น pyrene ในขณะที่ PAHs ที่มีน้ำหนักโมเลกุลมาก มักจะจับกับอนุภาคต่างๆ ในชั้นบรรยากาศ แล้วตกตะกอนลงบนพื้นดินหรือแหล่งน้ำ⁵

สาร PAHs ที่พบได้ทั่วไปอาจจะเป็นสารที่ไม่มีสี มีสีขาว หรือเป็นของแข็งที่มีสีเขียวแกมเหลืองอ่อนๆ และเป็นสารที่มีกลิ่น สาร PAHs มีความสามารถในการละลายน้ำได้น้อยมาก แต่ละลายได้ดีในไขมัน^{1,8,9} นอกจากนี้ PAHs ยังจัดเป็นสารปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมที่เผาไหม้ยาก สลายตัวช้า และคงสภาพอยู่ในสิ่งแวดล้อมนาน⁸

PAHs เป็นสารประกอบที่มีมากกว่า 500 ชนิด แต่มีประมาณ 17 ชนิดที่นิยมทำการศึกษา กัน และพบว่าสาร PAHs ที่มนุษย์มีโอกาสได้รับมากกว่าชนิดอื่นๆ ได้แก่ acenaphthene, acenaphthylene, anthracene, benzo[a]anthracene, benzo[a]pyrene, benzo[e]pyrene, benzo[b]fluoranthene, benzo[g,h,i]perylene, benzo[j]fluoranthene, benzo[k]fluoranthene, chrysene, dibenz[a,h]anthracene, fluoranthene, fluorene, indeno[1,2,3-c,d]pyrene, phenanthrene และ pyrene⁸

แหล่งที่พบสารประกอบ PAHs

สาร PAHs พบอยู่ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม โดยมนุษย์มีโอกาสได้รับหลายทาง ทั้งจากภายในบ้าน นอกบ้าน และที่ทำงาน ซึ่งสาร PAHs ที่ได้รับอยู่ในรูปที่ผสมอยู่กับสาร PAHs ชนิดอื่นๆ (PAH-mixtures)^{6,11} โดยแบ่งตามแหล่งที่ได้รับสารดังนี้

1. การได้รับสาร PAHs จากสิ่งแวดล้อม เช่น อากาศ น้ำ และดิน โดยทั่วไปสิ่งมีชีวิตจะได้รับโดยการหายใจนำอากาศที่มีสาร PAHs ปนเปื้อนเข้าสู่ปอด เช่น ควันจากการสูบบุหรี่ ควันจากท่อไอเสียรถยนต์ ควันจากการเผาถ่านหิน การเผาไหม้จากแหล่งเกษตรกรรม ควันจากโรงงานอุตสาหกรรม และควันจากการเผาขยะมูลฝอย เป็นต้น^{12,13} ในประเทศสหรัฐอเมริกา มีรายงานว่าระดับสาร PAHs ในอากาศเขตชนบทมีค่าเท่ากับ

0.02–1.2 ng/m³ และในเขตเมืองมีค่าเท่ากับ 0.15–0.93 ng/m³ สาร PAHs ที่พบปนเปื้อนในน้ำดื่มมีค่าระหว่าง 4–24 ng/L⁶ ส่วนสาร PAHs ที่พบปนเปื้อนในดินพบว่า ในเขตชนบทและเขตเมืองหลวงมีค่าเท่ากับ 1,000 µg/kg และ 600 – 3,000 µg/kg ตามลำดับ¹

2. การได้รับสาร PAHs ในบ้านพักอาศัย สิ่งมีชีวิตมีโอกาสได้รับสาร PAHs จากควันบุหรี่ ควันธูป ควันจากการเผาไหม้ หรือได้รับสาร PAHs ที่ปนเปื้อนในอาหาร เช่น เนื้อสัตว์ ผัก ผลไม้ นม โดยเฉพาะการปรุงอาหารโดยใช้ความร้อนสูง เช่น อาหารประเภทปิ้งย่าง ทอด ร่มควัน^{10,14}

3. การได้รับสาร PAHs จากที่ทำงาน เช่น ในโรงงานอุตสาหกรรมที่ผลิตถ่าน^{15,16} อะลูมิเนียม

ยางมะตอย โรงกลั่นน้ำมัน หรือจากเผาขยะ เหมืองแร่ เป็นต้น^{17,18} ซึ่งคนงานมีโอกาสได้รับสาร PAHs โดยการหายใจเอาอากาศที่ปนเปื้อนสารนี้ นอกจากนี้ คนที่อาศัยอยู่ใกล้แหล่งที่มีสาร PAHs ก็มีโอกาสดูดต่อการได้รับสารนี้เช่นกัน⁶

การแพร่กระจายของสาร PAHs มีความสัมพันธ์กับความหนาแน่นของประชากร พบว่าในเขตเมืองหลวงที่มีประชากรอาศัยอยู่อย่างหนาแน่นจะมีระดับของสาร PAHs สูงกว่าในเขตชนบทที่มีประชากรน้อยกว่า¹ ในประเทศอุตสาหกรรมเช่นประเทศแคนาดามีรายงานการเกิดปัญหามลภาวะเป็นพิษอันเนื่องมาจากสารประกอบ PAHs ซึ่งได้แสดงเป็นความเข้มข้นของสาร PAHs ชนิดต่างๆ ในอากาศดังตารางที่ 1⁸

ตารางที่ 1 ความเข้มข้นของสารประกอบ PAHs บริเวณถนนที่มีการจราจรหนาแน่นเปรียบเทียบกับถนนที่มีการจราจรเบาบางกว่า ในกรุงโคเปนเฮเกน ประเทศแคนาดา ปี ค.ศ.1992¹

สารประกอบ PAHs	ความเข้มข้น (ng/m ³)	
	ถนนที่มี การจราจรคับคั่ง	สวนสาธารณะ ในตัวเมือง
Anthanthrene	1.6	0.27
Anthracene	0.6	0.18
Benz[a]anthracene	4.1	1.0
Benzo[a]fluoranthene	1.5	0.4
Benzo[a]pyrene	4.4	1.4
Benzo[b]naphtho[2,1-d]thiophene	0.55	0.18
Benzo[b]k]fluoranthene	9.3	2.9
Benzo[ghi]fluoranthene + benzo[c]phenanthrene	7.0	1.5
Benzo[ghi]perylene	8.0	1.5
Chrysene + triphenylene	7.9	2.3
Coronene	5.8	1.1
Cyclopentena[cd]pyrene	6.1	1.5
Dibenzothiophene	0.28	0.07
Fluoranthene	5.6	1.3
Indeno[1,2,3-cd]pyrene	4.5	1.1
Methylphenanthrenes	7.0	1.4
Perylene	1.2	0.14
Phenanthrene	2.4	0.9
Pyrene	7.3	1.3

พิษวิทยาจลนศาสตร์ (Toxicokinetics)

ของสารประกอบ PAHs

1. การดูดซึม (Absorption)

สาร PAHs ละลายได้ดีในไขมัน และดูดซึมเข้าสู่ส่วนต่างๆ ของร่างกาย เช่น ปอด ลำไส้ และผิวหนัง พบว่าการหายใจเอาสาร PAHs เข้าไป อาจจะถูกกำจัดออกได้โดยถุงลม หรือ cilia ที่อยู่บนผิว mucosa มีรายงานการศึกษาพบว่า การได้รับสาร benzo[a]pyrene โดยการหายใจ จะทำให้สารนี้เข้าไปสะสมตามระบบทางเดินหายใจ และส่งผลให้การได้รับปริมาณ O_2 ในอากาศลดลง นอกจากนี้ สาร PAHs จะถูกดูดซึมตามระบบทางเดินอาหารได้ดี เนื่องจากบริเวณเหล่านี้มีเนื้อเยื่อไขมัน สะสมอยู่ปริมาณมาก มีการทดลองในหนูถีบจักร และหนูขาว พบว่า benzo[a]pyrene และสาร PAHs บางชนิด เช่น phenanthrene และ pyrene สามารถซึมผ่านเข้าสู่ผิวหนังได้อย่างรวดเร็ว ด้วยวิธี passive diffusion^{1,19}

2. การแพร่กระจายตัว (Distribution)

สาร PAHs แพร่กระจายไปได้ในอวัยวะต่างๆ โดยเฉพาะอวัยวะที่มีไขมันมากจะเก็บสะสมสาร PAHs ได้ดี เช่น ตับ ปอด เต้านม ระบบทางเดินอาหาร ระบบทางเดินปัสสาวะ เป็นต้น²⁰ ระบบทางเดินอาหารจะพบสาร PAHs และเมแทบอลิท์ของสาร PAHs สะสมอยู่มาก เนื่องจากมีการกำจัดสารดังกล่าวที่ตับและขับออกทางน้ำดี^{7,21} มีการทดลองในหนูถีบจักรและหนูขาว พบว่า benzo[a]pyrene สามารถผ่านจากแม่ไปสู่ตัวอ่อนได้ทางรก ทำให้ตัวอ่อนมีความผิดปกติ เช่น พิการแต่กำเนิด น้ำหนักตัวแรกเกิดน้อย เป็นต้น²⁰

3. เมแทบอลิซึม (Metabolism)

เมแทบอลิซึมของสาร PAHs เกิดขึ้นสูงสุดที่ตับ รองลงมาคือ ปอด ชั้น mucosa ในลำไส้ ผิวหนังและไต นอกจากนี้ ยังพบได้บ้างที่เนื้อเยื่อในจมูก ต่อมไขมัน ม้าม สมอง เม็ดเลือดแดง เม็ด

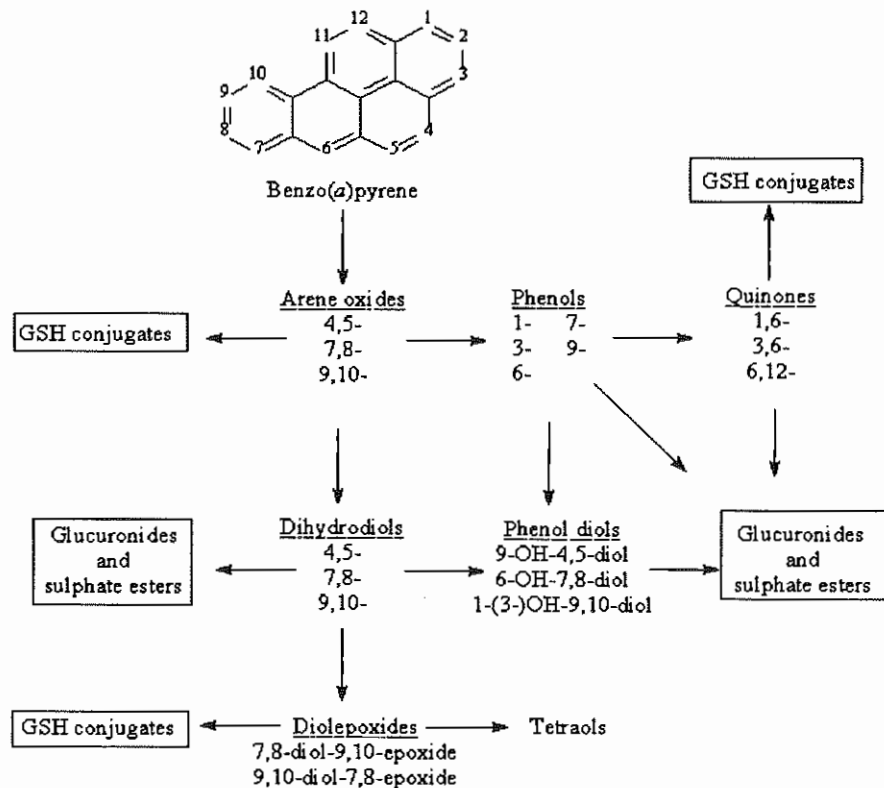
เลือดขาวและมดลูก ส่วนในเนื้อเยื่อของตัวอ่อนพบว่า อัตราการเปลี่ยนแปลงของสาร PAHs ต่ำกว่าในผู้ใหญ่¹

สาร PAHs จะถูกเปลี่ยนแปลงในหลายขั้นตอนโดยเอนไซม์ที่เฉพาะเจาะจง และเป็นเอนไซม์ที่ต้องการ NADH หรือ NADPH และก๊าซออกซิเจน เพื่อเปลี่ยนสาร PAHs ที่ไม่มีขั้วให้เป็นสารที่มีขั้วซึ่งเป็นสารพวก hydroxy derivative และ arene oxide หรือ epoxide มีการศึกษาพบว่า benzo[a]pyrene จะเกิดการเปลี่ยนแปลงโดยเกิดปฏิกิริยา epoxidation โดยการทำงานของเอนไซม์ CYP 1A1 ได้เป็นสารประกอบ arene oxide หรือ epoxide จากนั้นจะถูกเอนไซม์ epoxide hydrolase เปลี่ยนไปเป็นสารประกอบ dihydrodiol จากนั้น dihydrodiol จะถูกเร่งปฏิกิริยาโดยเอนไซม์ CYP 3A4 ได้เป็นสารประกอบ diol-epoxide ซึ่งเป็นเมแทบอลิท์ที่ก่อให้เกิดมะเร็ง⁷ การเปลี่ยนแปลงของ benzo[a]pyrene ดังแสดงในรูปที่ 1⁷

4. การขับถ่าย (Excretion)

เมแทบอลิท์ส่วนใหญ่ของสาร PAHs จะถูกขับออกทางอุจจาระและปัสสาวะ^{1,22,23} อาจจะมีอยู่ในรูปอิสระหรือเป็นสารประกอบที่ถูก conjugate กับ glutathione โดยเอนไซม์ glutathione transferase (GST) ชนิด GSTM1 ส่วน epoxide ที่ไม่ conjugate กับ glutathione จะถูกเปลี่ยนไปเป็นสารตัวอื่น เช่น phenol, phenol diols, quinones เป็นต้น แต่เมแทบอลิท์ของสาร PAHs เหล่านี้ ยังไม่มีขั้วพอที่จะถูกขับออก จึง conjugate กับ glucuronic acid หรือ sulfuric acid เพื่อที่จะทำให้ถูกขับออกได้⁷

มีการศึกษาในสัตว์ทดลอง เช่น ในหนู ตรวจพบเมแทบอลิท์ในอุจจาระ 85-95% หลังจากที่ได้รับสารพิษแล้ว มีเพียงเล็กน้อยเท่านั้นที่ถูกขับออกทางปัสสาวะ หนูที่ได้รับ ¹⁴C pyrene ตรวจพบเมแทบอลิท์ในอุจจาระและปัสสาวะมีปริมาณใกล้เคียงกัน⁸ ส่วนในมนุษย์นั้น ปัจจุบันพบว่า การขับสาร PAHs ออกจากร่างกายส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปเมแทบอลิท์ที่สำคัญชนิดหนึ่ง



รูปที่ 1 กระบวนการเปลี่ยนแปลงของ benzo[a]pyrene เมื่อเข้าสู่ร่างกาย⁷

ของ pyrene คือ 1-hydroxypyrene หรือ 1-hydroxypyrene glucuronide ซึ่งตรวจพบได้ในปัสสาวะ^{1,4,8} ซึ่ง pyrene นั้นเป็นสารประกอบ PAHs ที่พบได้ในสารผสมของ PAHs ทุกชนิด (PAH-mixtures)²⁴⁻²⁶ นอกจากนี้ยังพบว่าค่าครึ่งชีวิตของสาร PAHs มีความแตกต่างกันในแต่ละบุคคล โดยมีค่าประมาณ 18 ชั่วโมง²⁴ แต่มีบางรายงานพบว่า ค่าครึ่งชีวิตของสาร PAHs มีค่าระหว่าง 6-35 ชั่วโมง²⁵

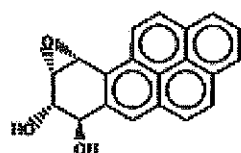
คุณสมบัติของสารประกอบ PAHs

สารประกอบ PAHs หลายตัวเป็นทั้งสารก่อการกลายพันธุ์ (mutagen) และสารก่อมะเร็ง (carcinogen) ในมนุษย์^{4,16,27,28} ตัวอย่างของสาร PAHs ที่พบได้บ่อยและมีคุณสมบัติเป็น carcinogen หรือไม่เป็น แสดงไว้ในตารางที่ 2⁶ โดยทั่วไปสาร PAHs เป็นสารที่ไม่มีฤทธิ์ เมื่อถูกเปลี่ยนแปลงโดยเอนไซม์จะได้สารที่มีฤทธิ์คือ vicinal

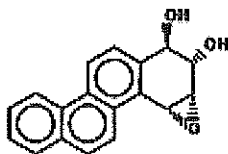
หรือที่เรียกว่า bay-region diol epoxides ดังรูปที่ 2²⁹ จะเกิดการเปลี่ยนแปลงโดยเปิด epoxide ring ได้เป็น electrophilic carbonium ion ซึ่งเป็นสาร alkyl group แล้วจะเกิดการจับกับ nucleophilic site ในเบสของ DNA ด้วยพันธะ covalent เกิดเป็น DNA adduct^{1,30} ทำให้เกิดความผิดปกติในกระบวนการ replication และ transcription หาก DNA ไม่ได้รับการซ่อมแซม จะส่งผลให้เกิดการแปรผันทางพันธุกรรม โครโมโซมถูกทำลาย³¹⁻³³ ถ้าเหตุการณ์ดังกล่าวเกิดขึ้นกับยีนที่ควบคุมการเกิดมะเร็ง ได้แก่ proto-oncogenes หรือ tumor suppressor gene มีผลทำให้เกิดมะเร็งได้ในที่สุด²⁹ มีรายงานการศึกษาพบว่า diol-epoxide ที่มี bay-region ในโครงสร้างทำให้เกิดการกลายพันธุ์ได้มากกว่า diol-epoxide ที่ไม่มี bay-region มีการศึกษาต่อมาพบว่า ถ้ามีสารที่สามารถยับยั้งการทำงานของบริเวณ bay-region จะไม่ทำให้เกิดการกลายพันธุ์หรือเกิดมะเร็ง³⁴

ตารางที่ 2 ตัวอย่างสารประกอบ PAHs ที่เป็น carcinogen และ non-carcinogen⁶

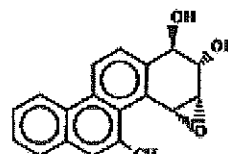
Carcinogenic PAHs	Non-carcinogenic PAHs
Benz(a)anthracene	Acenaphthylene
Benzo(a)pyrene	Anthracene
Benzo(b)fluoranthene	Benzo(g,h,i)perylene
Benzo(k)fluoranthene	Fluoranthene
Chrysene	Fluorene
Dibenz(a,h)anthracene	Phenanthrene
Indeno(1,2,3-c,d)pyrene	Pyrene



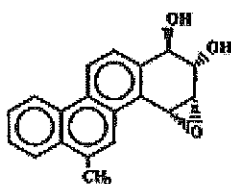
Benzo[a]pyrene-7,8-diol-9,10-epoxide



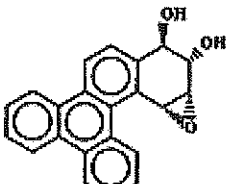
Chrysene-1,2-diol-3,4-epoxide



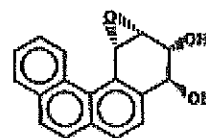
5-Methylchrysene-1,2-diol-3,4-epoxide



6-Methylchrysene-1,2-diol-3,4-epoxide



Benzo[g]chrysene-11,12-diol-13,14-epoxide



Benzo[c]phenanthrene-3,4-diol-1,2-epoxide

รูปที่ 2 แสดงลักษณะโครงสร้างของ epoxide ที่มี bay-region ในโครงสร้าง²⁹

นอกจากนี้ สาร PAHs ยังเป็นสารเหนี่ยวนำ (inducer) การทำงานของเอนไซม์ CYP 1A1 และ CYP 1A2¹

ผลกระทบจากการได้รับสาร PAHs

สาร PAHs ก่อให้เกิดผลเสียต่างๆ ต่อร่างกาย ดังนี้

1. ระบบผิวหนัง

มีรายงานทั้งในมนุษย์และสัตว์ทดลองพบว่า สาร PAHs ทำให้เกิดความผิดปกติที่ผิวหนัง เช่น เกิดแผลติดเชื้อที่ผิวหนัง hyperplasia, hyperkeratosis เซลล์ชั้นใต้ผิวหนังมีการเจริญเติบโตอย่างผิดปกติจนกลายเป็นมะเร็งผิวหนังได้³⁴

2. ระบบหัวใจและหลอดเลือด

มีการศึกษาพบว่า สาร PAHs มีผลทำให้เกิด atherosclerosis เนื่องจากมีการแบ่งตัวของเซลล์หลอดเลือดแดง มีการสร้าง collagen เพิ่มขึ้น มีการสะสมของไขมัน เกิด cellular necrosis ทำให้เกิด atherosclerotic plaque ซึ่งพบมากในผู้ที่สูบบุหรี่³⁵

3. ระบบทางเดินปัสสาวะ

อาจก่อให้เกิดมะเร็งกระเพาะปัสสาวะได้ และมีการศึกษาในสัตว์ทดลองที่ได้รับสาร PAHs พบว่า ท่อไตมีการขยายตัว แต่ไม่มีรายงานในมนุษย์³⁶

4. ระบบทางเดินหายใจ

มีการศึกษาในหนู hamster พบว่า ถ้าหายใจเอา benzo[a]pyrene บริสุทธิ์ ความเข้มข้น 10 mg/m^3 เข้าไปในร่างกายเป็นระยะเวลานาน จะทำให้เกิดโรคมะเร็งในระบบทางเดินหายใจประมาณ 35%¹ ส่วนหนูที่ได้รับควันจากเครื่องจักร ความเข้มข้น 4 mg/m^3 เป็นระยะเวลานาน จะทำให้เกิดมะเร็งปอดประมาณ 16% นอกจากนี้ยังมีการศึกษาในคนงานที่ทำงานเกี่ยวกับเครื่องจักร ซึ่งได้รับสารพวก PAHs และ asbestos จะมีอัตราเสี่ยงสูงต่อการเป็นมะเร็งปอด³⁶

5. ระบบทางเดินอาหาร

อาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการทำงานของเยื่อเมือกในลำไส้ หรือเกิดการกระตุ้นการแบ่งตัวของเยื่อเมือก ทำให้เกิดเป็นมะเร็งได้ และยังมีการศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่า สาร PAHs เหนียวทำให้เกิด hepatic regeneration น้ำหนักตับเพิ่มขึ้น แต่ยังไม่มียารายงานในมนุษย์¹

6. ระบบภูมิคุ้มกัน

สาร PAHs ก่อกวนภูมิคุ้มกันของร่างกาย³⁷ นอกจากนี้ สาร PAHs ยังมีผลกระทบต่อตัวอ่อนด้วย โดยมีการศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่า สาร PAHs ส่งผลให้ตัวอ่อนมีความพิการแต่กำเนิด แต่ยังไม่มียารายงานในมนุษย์⁷

ในประเทศที่มีการพัฒนาด้านอุตสาหกรรมและเทคโนโลยี ได้มีข้อแนะนำเกี่ยวกับการป้องกันสุขภาพของมนุษย์ที่มีความเสี่ยงสูงต่อการได้รับสาร PAHs จากการกิน การดื่ม และการหายใจ โดยเสนอแนะว่า ระดับสาร PAHs ที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพไม่ควรเกินจากระดับดังนี้คือ anthracene 0.3 mg, acenaphthene 0.06 mg, fluoranthene 0.04 mg, fluorene 0.04 mg และ pyrene 0.03 mg ต่อน้ำหนักของร่างกาย 1 kg มีรายงานการได้รับสาร PAHs ในคนงานโรงงานทำถ่านที่มีความเข้มข้นของสาร PAHs ในอากาศ 0.1 mg/m^3 และจากคนงานในโรงงานผลิตน้ำมันที่มีความเข้มข้นของสาร PAHs ในอากาศ 5 mg/m^3 โดยได้รับเป็นเวลา 10 ชั่วโมงต่อวัน หรือ 40 ชั่วโมงต่อสัปดาห์

มีอัตราเสี่ยงสูงต่อการเป็นโรคมะเร็งปอด⁶ และมนุษย์ที่ได้รับสาร benzo[a]pyrene จากอากาศปริมาณ 1.2, 0.12 และ 0.012 mg/m^3 จะมีความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็ง 1/10,000, 1/100,000 และ 1/1,000,000 คน ตามลำดับ¹ ส่วนการได้รับสาร benzo[a]pyrene จากน้ำดื่มที่มีความเข้มข้น 0.2, 0.02 และ $0.002 \text{ } \mu\text{g/L}$ จะมีความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็ง 1/100,000, 1/1,000,000 และ 1/10,000,000 คน ตามลำดับ³⁸

สรุป

สาร PAHs เป็นสารพิษปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมที่พบได้มากในปัจจุบัน สามารถเกิดขึ้นได้เองจากธรรมชาติหรือจากการกระทำของมนุษย์ซึ่งมนุษย์มีโอกาสได้รับหลายทาง โดยเมื่อเข้าสู่ร่างกายอาจเกิดการเปลี่ยนแปลงทำให้ได้เมแทบอไลต์ที่มีฤทธิ์ก่อมะเร็ง นอกจากนี้ยังเป็นสารเหนียวงานการทำงานของเอนไซม์ จากผลการศึกษาต่างๆ แสดงให้เห็นว่า สาร PAHs ก่อให้เกิดผลเสียต่อระบบต่างๆ ของร่างกาย ดังนั้นการได้ศึกษาเกี่ยวกับคุณสมบัติและความเป็นพิษของสาร PAHs ที่มีต่อร่างกายจะทำให้สามารถป้องกันอันตรายอันเกิดจากสาร PAHs ได้

เอกสารอ้างอิง

1. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). Chapter 5.9 In: Air Quality Guidelines [online]. 2nded. Copenhagen: World Health Organization Regional Office for Europe, 2000. Available from: http://www.who.dk/document/aiq/5_9pah.pdf
2. Boogaard PJ, Sittert NJ van. Exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in petrochemical industries by measurement of urinary 1-hydroxypyrene. Occup Environ Med. 51,4(1994): 250-8.
3. Sherson D, Sabro P, Sigsgaard T, Johansen F, Autrup H. Biological monitoring of foundry workers exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons. Br J Ind Med. 47(1990): 488-453.
4. Jongeneelan FJ. Benchmark guideline for urinary 1-hydroxypyrene as biomarker of

- occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. *Ann Occup Hyg.* 45(2001) :3-13.
5. Ruchirawat M, Mahidol C, Tangjarukij C, Pui-ock S, Jensen O, Kampeera-wipakorn O, et al. Exposure to genotoxins present in ambient air in Bangkok, Thailand - particle associated polycyclic aromatic hydrocarbons and biomarker. *Sci Total Environ.* 287,1-2 (2002):121-32.
6. ATSDR. Toxicological profile for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) [online]. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Atlanta, 1995. Available from: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp69-c1.pdf>
7. ATSDR. Polycyclic aromatic hydrocarbons: toxicology [online]. U.S. Department of health & human service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry: U.S. Government printing office, 1995. Available From: <http://cdfc.rug.ac.be/HealthRisk/PAHs/toxicology.htm>
8. Jongeneelan FJ. Chapter 4.2: Biological monitoring of polycyclic aromatic hydrocarbons: 1-hydroxypyrene in urine. In: Biological monitoring of chemical exposure in the workplace, volume 2 [online]: WHO-Geneve, 1996. Available from: <http://www.industox.nl/ARTHP/WHO.htm>
9. Hu L, Robert IK. Improved HPLC method for analysis of 1-hydroxypyrene in human urine specimens of cigarette smokers. *Sci Total Environ.* 257, 2-3 (2000):147-153.
10. Strickland P, Kang D. Urinary 1-hydroxypyrene and other PAH metabolites as biomarkers of exposure to environmental PAH in air particulate matter. *Toxicology Letters.* 108 (1999): 191-199.
11. Scherer G, Frank S, Riedel K, Kossien IM, Renner T. Biomonitoring of exposure to polycyclic aromatic Hydrocarbons of nonoccupationally exposed persons. *Cancer Epidemiol Biomark.* 9 (2000) : 373-80.
12. Goen Th, Gundel J, Schaller KH, Angerer J. The elimination of 1-hydroxypyrene in the urine of the general population and workers with different occupational exposures to PAH. *Sci Total Environ.* 163 (1995) : 195-201.
13. Angerer J, Heinzow B, Reimann DO, Knorz W, Lehnert G. Internal exposure to organic substances in a municipal waste incinerator. *Int Arch Occup Environ Health.* 64 (1992) : 265-273.
14. Lijinsky W, Shubik P. Benzo[a]pyrene and other polynuclear hydrocarbons in charcoal-broiled meal. *Science.* 145 (1964) : 53-55.
15. Quinlan R, Kowalczyk G, Gardiner K, Calvert I. Exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in coal liquefaction workers : impact of a workwear policy on excretion of urinary 1-hydroxypyrene. *Occup Environ Med.* 52,9 (1995) : 600-5.
16. Wu MT, Mao IF, Ho CK, Wypij D, Lu PL, Smith TJ, et al. Urinary 1-hydroxypyrene concentrations in coke oven workers. *Occup Environ Med.* 55 (1998) : 461-467.
17. Levin JO. First international workshop on hydroxypyrene as a biomarker for PAH exposure in man-summary and conclusion. *Sci Total Environ.* 163 (1995) : 165-168.
18. Jongeneelan FJ, Anzion RBM, Scheepers PTJ, Bos RP, Henderson PTh, Nijenhuis EH, et al. 1-hydroxypyrene in urine as a biological indicator of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in several work environments. *Ann Occup Hyg.* 32 (1988) : 35-43.
19. Sander CL. Percutaneous absorption of benzo[a]pyrene and dimethylbenzo[a]anthracene in mice. *Environ Res.* 33 (1984) : 353-360.
20. Modica R. Comparative Kinetics of benz[a]anthracene, chrysene and triphenylene in rat after oral administration. I. Study with single compound. *Toxicology Letters.* 18 (1983) : 103-109.
21. Schleder E. Stimulatory effect of benzo[alpha]pyrene and phenobarbital pre-treatment on the biliary excretion of benzo[alpha]pyrene metabolites in the rat. *Cancer research.* 30 (1970) : 2898-2904.
22. Lafontaine M, Payan JP, Delsaut P, Morele Y. Polycyclic aromatic hydrocarbon exposure in an artificial shooting target factory : Assessment of 1-hydroxypyrene urinary excretion as a biological indicator of exposure. *Ann Occup Hyg.* 44,2 (2000) : 89-100.
23. Breznicki S, Jakubowski M, Czerski B. Elimination of 1-hydroxypyrene after

- human volunteer exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. *Int Arch Occup Environ Health*. 70 (1997) : 257-260.
24. Buchet JP, Gennart JP, Mercado-Calderon F, Delavignette JP, Cupers L, Lauwerys R. Evaluation of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in a coke production and a graphite electrode manufacturing plant: assessment of urinary excretion of 1-hydroxypyrene as a biological indicator of exposure. *Br J Ind Med*. 49 (1992) : 761-768.
 25. Jongeneelan FJ, Anzion R B, Handerson PT. Determination of hydroxylated metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons in urine. *J Chromatogr*. 413 (1987) : 227-32.
 26. Whiton RS, Witherspoon CL, Buckley TJ. Improved high-performance liquid chromatographic method for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons metabolites in human urine. *J Chromatogr B Biomed Appl*. 665,2 (1995) : 390-4.
 27. Boogaard PJ, Sittert NJ van. Urinary 1-hydroxypyrene as biomarker of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in workers in petrochemical industries : baseline values and dermal uptake. *Sci Total Environ*. 163,1-3 (1995) : 203-9.
 28. Chau N, Bertrand JP, Figueredo A. Mortality in retired coke oven plant workers. *Br J Ind Med*. 47(1990): 454-461.
 29. Braithwaite E, Wu X, Wang Z. Repair of DNA lesions induced by polycyclic aromatic hydrocarbons in human cell-free extracts: involvement of two excision repair mechanisms in vitro. *Carcinogenesis*. 19 (1998) : 1239-1246.
 30. Kostra A. Formation and removal of B[a]P diol epoxide-DNA adducts in human fibroblasts. *Carcinogenesis*. 3 (1982) : 953-955.
 31. Venkatachalam S, Denissenko M, Wani AA. DNA repair in human cells: quantitative assessment of bulky anti-BPDE-DNA adducts by non-competitive immunoassays. *Carcinogenesis*. 16 (1995) : 2029-2039.
 32. Osborne MR, Jacobs S, Harvey RG, Brookes P. Minor products from the reaction of (+) and (-) benzo[a]pyrene-anti-diolepoxide with DNA. *Carcinogenesis*. 12 (1981) : 553-558.
 33. Meehan T, Wolfe AR, Negrete GR, Song Q. Benzo[a]pyrene diol epoxide-DNA cis adduct formation through a trans chlorohydrin intermediate. *Proc Natl Acad Sci*. 94 (1997) : 1749-1754.
 34. Jerina DM, Daly JW. Oxidation at carbon. In: D.v. farke and R.L. Smith (eds), *drug metabolism from microbe to man*, pp 13-32. London : Taylor and Francis, 1997.
 35. Sherson D, Siggaurd T, Overgaard ES, Poulsen HE, Jongeneelan FJ. Interaction of smoking, uptake of polycyclic aromatic hydrocabons, and cytochrome P450 1A2 activity among foundry workers. *Br J Ind Med*. 49 (1992) : 197-202.
 36. Bente EM. Assessment of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in engine rooms by measurement of urinary 1-hydroxypyrene. *Occup Environ Med*. 53 (1996) : 692-696.
 37. Szcseklik A, Szcseklik J, Galuszka Z. Humoral immunosuppression in man exposed to PAHs and related carcinogen in polluted environment. *Environ Health Perspect*. 102,3 (1994) : 302-304.
 38. Benzo(a)pyrene [online] 1988. Available from: [http://www.hc-sc.gc.ca/ehp/ehd/catalogue/bch_pubs/dwgsup.doc/benzo\(a\).pdf](http://www.hc-sc.gc.ca/ehp/ehd/catalogue/bch_pubs/dwgsup.doc/benzo(a).pdf)

NEW DRUGS

Rheumatoid Arthritis, DMARDs and Sulfasalazine

Nisamanee Satyapan

Department of Pharmacology, Phramongkutklao College of Medicine, Bangkok 10400, Thailand

Abstract

Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic, disabling autoimmune disease characterized by progressive joint destruction and functional decline, together with a significant increase in morbidity and mortality. Along with an improved understanding of the disease and advances in technology, the treatment of RA has evolved from a pyramid-based approach to the early and aggressive use of conventional disease-modifying antirheumatic drugs (DMARDs) such as methotrexate (MTX), gold, hydroxychloroquine, d-penicillamine and sulfasalazine as the cornerstone of therapy.

Although the new and expensive biologic DMARDs that have more specificity to cytokines have shown promise in the treatment of RA at present, further evidence is needed to demonstrate their superiority over conventional DMARDs as initial therapy. Thus, conventional DMARDs still remain the first choice for monotherapy or combination treatment in patients with RA.

Several clinical trials demonstrated the effectiveness of combination among conventional DMARDs in patients with RA and supported their use. The findings summarized that the combination with MTX as triple therapy (eg MTX, hydroxychloroquine and sulfasalazine) or double therapy (eg MTX plus either hydroxychloroquine or sulfasalazine) demonstrated superiority over monotherapy. While combination with sulfasalazine (a derivative of less absorbable sulfonamides) has shown fewer adverse events and provide better tolerability in long-term use. The action of sulfasalazine on RA depends mainly on one of its metabolites.

Key words: rheumatoid arthritis, DMARD, sulfasalazine

โรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ (Rheumatoid arthritis, RA)

ข้ออักเสบเป็นภาวะที่มีการอักเสบของข้อ ซึ่งจะมีอาการและอาการแสดงคือ ปวด บวม แดง ร้อน และมีการสูญเสียหน้าที่การทำงานของข้อ กลุ่มโรคข้ออักเสบนี้อาจมีอาการ หรืออาการแสดง ในระบบอื่นๆ ของร่างกายได้ด้วย เช่น ผิวหนัง ตา ปาก ไต ปอด และระบบเลือด เป็นต้น

โรคข้ออักเสบสามารถเป็นได้ทุกอายุ ตั้งแต่ เด็ก หนุ่มสาว ไปจนถึงวัยสูงอายุ แต่ลักษณะการกระจายของโรคข้ออักเสบแต่ละชนิดในแต่ละกลุ่มอาการแตกต่างกันไป โรคข้ออักเสบส่วนใหญ่จะเป็นเรื้อรัง โดยโรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ เป็นโรคข้ออักเสบชนิดเรื้อรังที่พบได้บ่อย อายุที่เริ่มพบโรคมักจะอยู่ในช่วง 30 - 50 ปี พบในเพศหญิงได้บ่อยกว่าเพศชาย ข้ออักเสบมักกระจายกันอยู่ทั้ง ซีกขวาและซ้ายของร่างกายในข้อขนาดเล็กและขนาดใหญ่ มีลักษณะการดำเนินโรคแตกต่างกันไปในผู้ป่วยแต่ละราย^{1,2}

การรักษา

การดูแลรักษาโรคข้ออักเสบประกอบไปด้วยการรักษาหลายฝ่าย เริ่มต้นด้วยการให้ยาเพื่อลดการอักเสบของข้อและควบคุมโรคให้สงบ การดูแลและระวังในการใช้ข้อและป้องกันข้อ โดยการปฏิบัติตนให้ถูกต้อง เพื่อให้เกิดความสมดุลที่ถูกต้องระหว่างการพักและการออกกำลังกาย การพักการใช้งานของข้อที่กำลังอักเสบอย่างมากจะช่วยให้อาการอักเสบน้อยลง การบริหารร่างกายเพื่อให้ข้อมีการเคลื่อนไหวได้มากที่สุด จะเป็นการเพิ่มความแข็งแรงของกล้ามเนื้อ ถ้าไม่เคลื่อนไหวข้อเลยข้อจะติดและกล้ามเนื้อจะลีบ การรักษาทางกายภาพบำบัดด้วยความร้อนและความเย็นเพื่อช่วยลดความเจ็บปวด การใช้อุปกรณ์ทางการแพทย์เพื่อป้องกันไม่ให้ข้อต้องทำงานมากกว่าปกติ เป็นการผ่อนแรงที่กระทำต่อข้อ และการผ่าตัดแก้ไขจะใช้ในกรณีที่มีภาวะแทรกซ้อนที่เกิดขึ้น หรือกรณีข้อถูกทำลายไปมากหรือการรักษาทางยาไม่ได้ผล³

ในการรักษาทางยาจะใช้ยาระงับการอักเสบ ซึ่งอาจต้องใช้ยาหลายขนานและให้ติดต่อกันเป็นเวลานาน โรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ มียารักษาถึง 4 กลุ่มด้วยกัน คือ

1. ยาแก้ปวด (analgesic) อาจใช้ยาพาราเซตามอล หรือยาแก้ปวดที่ผสมกับยาคลายกล้ามเนื้อ ในรายที่มีการเกร็งของกล้ามเนื้อร่วมด้วย หรือพาราเซตามอลที่ผสมโคเดอีน (codeine) ซึ่งอาจทำให้เกิดอาการท้องผูก บางรายมีอาการเวียนศีรษะได้⁴

2. ยาด้านการอักเสบที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ (nonsteroidal antiinflammatory drugs: NSAIDs) กลุ่มแรกที่ใช้คือแอสไพริน แต่ต้องใช้จำนวนมาก 10-12 เม็ด/วัน ระวังผลข้างเคียงต่อกระเพาะอาหาร และบางรายอาจมีอาการหอบหืด เลือดออกไม่หยุดหลังการผ่าตัดจึงจำเป็นต้องหยุดยาก่อนผ่าตัด⁴

3. ยาด้านรูมาติซึมที่ปรับเปลี่ยนการดำเนินของโรค (disease modifying antirheumatic drugs; DMARD) เป็นยากลุ่มที่ยับยั้งหรือหยุดการอักเสบของโรค ลดการทำลายของข้อและกระดูก เป็นกลุ่มยาที่ออกฤทธิ์ค่อนข้างช้า อาจใช้เวลา 3-6 เดือนจึงจะเห็นผล และจำเป็นต้องใช้เป็นระยะเวลายาวนาน จึงจำเป็นต้องได้รับการรักษาติดตามด้วยการตรวจเลือด และปัสสาวะเป็นระยะเพื่อป้องกันผลข้างเคียง กลุ่มยาเหล่านี้ ได้แก่ hydroxychloroquine (ยารักษามาลาเรีย), สารเกลือทอง (gold), sulfasalazine, d-penicillamine และ methotrexate⁴

4. ยาสเตียรอยด์ จะทำให้อาการต่างๆ ดีขึ้นอย่างรวดเร็วแต่ไม่ได้มีการยับยั้งการดำเนินของโรค ดังนั้น อาจเกิดผลข้างเคียงถ้าใช้ในขนาดสูง เช่น กระดูกพรุน ต้อกระจก โรคติดเชื้อ ในรายที่เหมาะสมแพทย์อาจใช้ฉีดเข้าข้อ หรือรับประทาน 2.5-5 มก. ต่อวันในระยะแรกที่ใช้การรักษา หรือจำเป็นต้องให้ในรายที่เกิดเส้นเลือดอักเสบ กล้ามเนื้อหัวใจอักเสบ ปอดอักเสบ⁴

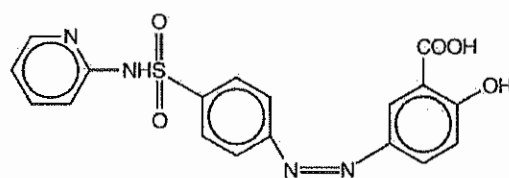
ทั้งนี้การให้ยาแก่ผู้ป่วยในอดีตจะเป็นการรักษาแบบลำดับขั้นที่เรียกว่า "pyramid" หรือ sequential strategy โดยเริ่มด้วย NSAIDs และให้ใช้ยากลุ่ม DMARDs เช่น gold, sulfasalazine, hydroxychloroquine และ d-penicillamine เฉพาะเมื่อมีอาการข้อต่อถูกทำลาย แต่ตลอดเวลาหลายปีที่ผ่านมากลับพบว่าเป็นวิธีการรักษาที่มีผลลัพธ์ในระยะยาวที่ไม่ดี เช่น ข้อทำงานแย่ลงอย่างมาก โรคดำเนินไปเรื่อยๆ พิกการ และเสียชีวิตก่อนวัยอันควร การรักษาในปัจจุบันจึงเน้นการควบคุมการอักเสบอย่างเข้มงวดเพื่อป้องกันความเสียหายที่จะเกิดขึ้นในระยะยาว โดยใช้ยา methotrexate ร่วมกับยาตัวอื่นๆ ในกลุ่ม DMARDs ตั้งแต่ระยะต้นๆ⁵

ยากลุ่ม DMARDs ที่มีใช้ในปัจจุบันจะมีทั้งกลุ่มดั้งเดิมดังที่กล่าวแล้ว และกลุ่มใหม่ที่เป็น biologic DMARDs ออกฤทธิ์เฉพาะเจาะจงต่อ cytokines หรือ cytokine antagonists ซึ่งแม้ปัจจุบันจะมีการนำมาใช้หลายตัวแล้ว แต่ก็ยังสรุปไม่ได้ชัดเจนว่าจะมีประสิทธิภาพเหนือกว่า DMARDs กลุ่มดั้งเดิมเพียงไร^{6,7} อีกทั้งยังมีราคาสูงมาก จึงใช้ได้กับผู้ป่วยที่มีฐานะดีเท่านั้น ในผู้ป่วยทั่วไปจึงยังจำเป็นต้องให้การรักษาด้วยยากลุ่ม DMARD ชนิดดั้งเดิมอยู่ ดังนั้นในที่นี้จะขอลำดับถึงแต่ sulfasalazine ซึ่งเป็นยาตัวหนึ่งในกลุ่ม DMARD ชนิดดั้งเดิมต่อไป

Sulfasalazine (SSZ)^{8,9}

Sulfasalazine หรือในชื่ออื่น ได้แก่ salazosulfapyridine, salicylazosulfapyridine, sulphasalazine, salazopyrin เป็นยาในกลุ่มซัลฟา (sulfonamides) ซึ่งมีสูตรโครงสร้างทางเคมีดังรูปที่ 1 ประกอบด้วย sulfapyridine และ 5-aminosalicylic acid เชื่อมต่อกันด้วย diazo bond จัดอยู่ในกลุ่มซัลฟาที่ดูดซึมน้อย (less absorbable sulfonamides) ใช้ป้องกันและรักษาโรคที่ทำให้เกิดการอักเสบของลำไส้ (inflammatory bowel disease) เช่น ulcerative colitis. และใช้รักษาโรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ด้วย ซึ่งเชื่อว่าเมตาบอไลต์

ของยาจะมีส่วนในการออกฤทธิ์ต้านอักเสบ โดยทำหน้าที่เก็บกวาด oxygen free radical และยับยั้ง prostanooids ทั้งนี้เชื่อว่า 5-aminosalicylic acid จะเป็นตัวสำคัญในการรักษา ulcerative colitis ในขณะที่ sulfapyridine จะเป็นตัวสำคัญในการรักษา RA



Molecular Formula: C₁₈H₁₄N₄O₅S

รูปที่ 1 สูตรโครงสร้างทางเคมีของ sulfasalazine

เภสัชจลนศาสตร์

การดูดซึม: ค่าชีวสมมูลของ SSZ เมื่อให้ทางปากมีค่าน้อยกว่าร้อยละ 15 โดย SSZ ส่วนหนึ่งจะถูกเปลี่ยนโดยแบคทีเรียในลำไส้ ได้เป็น sulfapyridine (SP) และ 5-aminosalicylic acid (5-ASA) ก่อน ในผู้ที่สุขภาพแข็งแรงเมื่อให้ยาแล้วจะตรวจพบระดับยา (SSZ) ในซีรัมได้ภายใน 90 นาที และจะให้ความเข้มข้นสูงสุดที่ระหว่าง 3 และ 12 ชม. โดยค่าเฉลี่ยของระดับ SSZ สูงสุด มีค่าเป็น 6 มคก./มล. ที่ 6 ชม. ส่วนระดับสูงสุดของ SP และ 5-ASA จะเกิดภายในประมาณ 10 ชม. ซึ่งช้ากว่า SSZ เพราะต้องใช้เวลาในการถูกเปลี่ยนแปลงที่ลำไส้ก่อน SP ถูกดูดซึมได้ดีที่ลำไส้ใหญ่ส่วน colon และมีค่าชีวสมมูลประมาณร้อยละ 60 แต่ 5-ASA ถูกดูดซึมได้น้อยและมีค่าชีวสมมูลประมาณร้อยละ 10 - 30

การกระจายตัว: เมื่อให้ยาทางหลอดเลือดดำ ปริมาตรการกระจายตัว (V_{dss}) ของ SSZ มีค่าเป็น 7.5 ± 1.6 ลิตร SSZ จับกับโปรตีนสูง (>ร้อยละ 99.3) ในขณะที่ SP จับกับอัลบูมินเพียงร้อยละ 70 และ acetylsulfapyridine (AcSP) ซึ่งเป็นเมตาบอไลต์ที่สำคัญของ SP จับกับโปรตีนประมาณร้อยละ 90

การเปลี่ยนแปลง: SSZ ที่ถูกดูดซึมจะถูกเปลี่ยนแปลงที่ตับได้เป็น SP และ 5-ASA เช่นเดียวกับในลำไส้ ค่าครึ่งชีวิตของ SSZ เป็น 7.6 ± 3.4 ชม. โดยส่วนใหญ่ SP จะถูกเปลี่ยนแปลงโดยกระบวนการ acetylation ได้เป็น AcSP อัตราการเปลี่ยนแปลงจะขึ้นกับชนิดของ acetylator phenotype โดยใน fast acetylators ค่าครึ่งชีวิตโดยเฉลี่ยของ SP เป็น 10.4 ชม. ส่วนใน slow acetylators มีค่าเป็น 14.8 ชม. นอกจากนี้ SP ยังถูกเปลี่ยนแปลงได้เป็น 5-hydroxy-sulfapyridine (SPOH) และ N-acetyl-5-hydroxy-sulfapyridine ด้วย สำหรับ 5-ASA จะถูกเปลี่ยนแปลงทั้งที่ตับและที่ลำไส้ได้ N-acetyl-5-aminosalicylic acid โดยกระบวนการอื่นที่ไม่ใช่ acetylation แต่ระดับ 5-ASA ในเลือดจะมีปริมาณน้อยจึงไม่สามารถหาค่าครึ่งชีวิตที่เชื่อถือได้

การขับถ่าย: ทั้ง SP, 5-ASA และเมตาบอไลต์ทั้งหมด ถูกขับถ่ายส่วนใหญ่ทางปัสสาวะทั้งในรูปอิสระ และ glucuronide conjugates ปริมาณ 5-ASA ส่วนใหญ่ที่เหลืออยู่ใน colon จะถูกขับออกทางอุจจาระทั้งในรูปเดิมและ acetyl-5-ASA ค่า clearance ของ SSZ ที่คำนวณได้หลังจากให้ยาทางหลอดเลือดดำเท่ากับ 1 ลิตร/ชม. renal clearance มีค่าโดยประมาณร้อยละ 37 ของ total clearance

ในผู้ป่วยสูงอายุที่เป็น RA จะมีค่าครึ่งชีวิตของ SSZ, SP และ เมตาบอไลต์ยาวขึ้น โดยยังอธิบายสาเหตุไม่ได้ชัดเจน

ชาวคอเคเซียนประมาณร้อยละ 60 เป็น slow acetylator phenotype ซึ่งจะมีค่าครึ่งชีวิตของ SP ยาวขึ้น (14.8 ชม. vs 10.4 ชม.) และมีระดับ SP ในเลือดสูงกว่าใน fast acetylators ในการทดลองบางแห่งพบว่า ผู้ที่เป็น slow acetylators มีอุบัติการณ์ของอาการไม่พึงประสงค์สูงกว่า แต่ยังไม่แน่ชัด

ข้อห้ามใช้

ในรายที่แพ้ sulfasalazine และ เมตาบอไลต์, sulfonamides หรือ salicylates เด็กที่อายุ

น้อยกว่า 2 ขวบ (ซึ่งอาจทำให้เกิดปัญหาทางสมอง) ผู้ที่มีลำไส้อุดตัน ปัสสาวะขัด ผู้ป่วยที่เป็น porphyria (ซึ่งจะทำให้เกิด acute attack ได้)

คำเตือน

เมื่อใช้เป็นเวลานานอาจเกิดปัญหาต่อระบบเลือดได้ ซึ่งอาจทำให้มีโรคโลหิตจางเกิดขึ้น ทำให้แผลหายช้า และมีเลือดออกตามเหงือก ดังนั้นเมื่อแปรงฟัน หรือเมื่อใช้ไหมขัดฟัน ไม้จิ้มฟัน ต้องกระทำอย่างระมัดระวัง ถ้าค่า blood counts ไม่ปกติควรหลีกเลี่ยงการทำฟัน และควรตรวจกระทั่งค่า blood counts กลับสู่ปกติก่อน ถ้ามีอาการเจ็บคอ มีไข้ ชีต เป็นจ้ำสีม่วง (purpura) หรือ ดีซ่าน แสดงว่าอาจเกิดปัญหาต่อระบบเลือด ในเพศชายอาจพบ oligospermia และมีบุตรยาก แต่เมื่อหยุดยาจะกลับเป็นปกติ

Sulfasalazine อาจทำให้ผิวหนังไวต่อแสงมากกว่าปกติ โดยอาจทำให้เกิดผื่นแดง คัน หรือไหม้เกรียมได้ แม้เมื่อสัมผัสแสงแดดในช่วงสั้นๆ

นอกจากนี้ยังอาจทำให้มีนิ่ว จึงต้องระวังในการขับหรือปฏิบัติงานกับเครื่องจักร

ข้อควรระวัง

โรคติดต่อ

ต้องดื่มน้ำให้เพียงพอเพื่อหลีกเลี่ยงการเกิด crystalluria เช่นเดียวกับยาในกลุ่มซัลฟาทุกตัว

ผู้ป่วยที่ขาด glucose-6-phosphate

dehydrogenase (G6PD) ควรได้รับการเฝ้าตรวจการเกิด hemolytic anemia อย่างใกล้ชิด ซึ่งมักขึ้นกับขนาดของยาที่ได้รับ และต้องหยุดยาทันทีเมื่อเกิดอาการ

ในคนไข้ที่อาการของโรคตับหรือระบบทำงานของไตถูกทำลายหรือเสื่อมลง จะให้น้ำยาลดเมือได้ทำการตรวจสอบคนไข้แล้วว่าร่างกายอยู่ในภาวะที่หายจากโรคดังกล่าวแล้ว

ผู้ที่มีประวัติแพ้ยาที่มีโครงสร้างทางเคมีสัมพันธ์กันยากกลุ่มซัลฟา ได้แก่ ยาขับปัสสาวะพวก furosemide, thiazide ยากินสำหรับโรคต่อ

หิน เช่น acetazolamide, dichlorphenamide, methazolamide และในผู้ที่แพ้อาหารหรือสีย้อม

ยากลุ่มซัลฟาถูกขับออกทางน้ำนมเล็กน้อย และอาจทำให้เกิดอาการไม่พึงประสงค์ในทารกที่ขาดเอนไซม์ G6PD ซึ่งกินนมแม่

ปฏิกิริยากับยาอื่น

ที่สำคัญคือจะทำให้การดูดซึมของกรดโฟลิกและ digoxin ลดลง และอาจทำให้เกิดอาการข้างเคียงต่อดับของ methotrexate เพิ่มขึ้น

อาการข้างเคียง

ที่พบบ่อยได้แก่ ปวดข้อ มีไข้ ปวดศีรษะ คัน มีผื่น อาเจียน (ซึ่งอาจแก้ไขได้เมื่อเปลี่ยนไปใช้ยาในรูป enteric coated tablet แทน) และในบางรายอาจทำให้ปัสสาวะหรือผิวหนังมีสีเหลืองส้ม

อาการเมื่อได้รับยาเกินขนาด อาจมีคลื่นไส้อาเจียน แน่นท้อง ปวดท้อง ในรายที่รุนแรงอาจพบอาการทางสมอง เช่น มึนงง ชัก ซึ่งอาจดูการทุเลาจากการได้ยาเกินขนาดได้โดยวัดระดับ SP ในซีรัม ยังไม่เคยมีรายงานการเสียชีวิตจากการกิน sulfasalazine ขนาดมากครั้งเดียว เพราะขนาดสูงสุดต่อวันที่ทดลองให้ในหนู (mice) คือ 12 กรัม/กก. ยังไม่ทำให้เสียชีวิต ในขณะที่ขนาดปกติที่ให้ในผู้ป่วยมีค่าเพียงวันละ 16 กรัม

จากการศึกษาในหนู (rat) และกระต่าย ในขนาดที่สูงกว่าขนาดที่ให้ในคน 6 เท่า ไม่พบว่า sulfasalazine ทำให้เกิดความพิการของตัวอ่อนเมื่อคลอด

ข้อคำแนะนำเมื่อใช้ยา

1. ควรกินยาหลังอาหารทันที เพื่อลดการกวนกระเพาะ
2. หลังกินยาควรดื่มน้ำตามอย่างน้อย 1 แก้ว (8 ออนซ์) และดื่มน้ำอีกวันละหลายแก้ว
3. ยาในรูป enteric-coated tablet ต้องกลืนทั้งเม็ด ห้ามหักหรือเคี้ยวก่อนกลืน

ขนาดยาที่ใช้

ในการรักษาโรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ ชนิดกินสำหรับผู้ใหญ่ให้เริ่มด้วยขนาดวันละ 500 มก. - 1 กรัม และอาจเพิ่มได้ถึง 3 กรัม

ผลการศึกษาทางคลินิกของ sulfasalazine ในการรักษาโรคข้ออักเสบรูมาตอยด์

1. ปี ค.ศ. 1989 Desiree M. van der Heijde และคณะ ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบการให้ hydroxychloroquine (HCQ) และ sulfasalazine (SSZ) ในการทดลองแบบ randomized, double-blind ในผู้ป่วย RA ที่ไม่เคยได้รับการรักษาด้วย slow-acting antirheumatic drugs มาก่อน จำนวน 60 คน แบ่งเป็นกลุ่มที่ได้รับ SSZ และ HCQ จำนวน 22 และ 28 คนตามลำดับ เมื่อดูจากการเอ็กซเรย์ พบว่าหลังจากสัปดาห์ที่ 24 และ 48 ของการรักษา กลุ่มที่ได้รับ HCQ มีการลุกลามของการทำลายข้อและความเสื่อมหน้าที่ของข้อ สูงกว่ากลุ่มที่ได้รับ SSZ อย่างเด่นชัดในสัปดาห์ที่ 48¹⁰

2. ปี ค.ศ. 1999 Daniel O. Clegg และคณะ ได้ทำการศึกษาแบบ double blind, randomized, placebo controlled, multicenter trials เป็นเวลา 36 สัปดาห์ เปรียบเทียบระหว่างการให้ sulfasalazine 2,000 มก.ต่อวันกับยาหลอกในการระงับปวดจาก axial และ peripheral articular ใน ankylosing spondylitis (AS), psoriatic arthritis (PsA) และผู้ป่วย reactive arthritis (ReA; Reiter's syndrome) โดยศึกษาในผู้ป่วยทั้งหมด 619 ราย แบ่งเป็นกลุ่ม AS 264 ราย, PsA 221 ราย, ReA 134 ราย พบว่าผู้ป่วยทนต่อ sulfasalazine ได้ดี และมีประสิทธิภาพดีในการระงับปวดข้อส่วนปลายในผู้ป่วย seronegative spondyloarthropathies (SNSA)¹¹

3. ปี ค.ศ. 1999 Desiree M. van der Heijde และคณะ ทำการศึกษาเปรียบเทียบผลการรักษาของ hydroxychloroquine และ sulfasalazine แบบ randomized, double-blind ในผู้ป่วย RA

จำนวน 50 คน เป็นเวลา 48 สัปดาห์ และติดตามรักษาต่อเฉลี่ยอีก 38 เดือน (30-50 เดือน) พบว่าการลุกลามของการทำลายข้อในผู้ป่วยที่ได้รับยา sulfasalazine ยังคงลดลงถึง 2 ปีต่อมา¹²

4. ปี ค.ศ. 1999 Dougados และคณะได้ทำการศึกษาแบบ double blind randomized เป็นเวลา 52 สัปดาห์ในผู้ป่วย 209 คนที่ได้รับยา methotrexate ร่วมกับ sulfasalazine เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับยา methotrexate หรือ sulfasalazine เดี่ยวๆ พบว่าการให้ยาร่วมกันให้ผลดีกว่าการให้ยาเดี่ยว ทั้งในการวัดอัตราการตอบสนองตามแบบของ American College of Rheumatology และ European League Against Rheumatism รวมทั้งการให้คะแนนความแปรปรวนของการดำเนินโรค (variable disease activity score) โดยดูจากการเอ็กซเรย์ และพบว่าในกลุ่มที่ให้ยาร่วมกัน ข้อถูกทำลายน้อยกว่า¹³

5. ปี ค.ศ. 2000 จากการศึกษาของ Peri Hickman Pepmuller และ Terry L. Moore ซึ่งได้ทำการทบทวนประสิทธิผลและความปลอดภัยในการใช้ยา sulfasalazine ในผู้ป่วยเด็กที่เป็นข้ออักเสบเรื้อรัง และ juvenile spondyloarthritis พบว่า sulfasalazine มีความปลอดภัยและมีประสิทธิภาพในการรักษา juvenile rheumatoid arthritis (JRA) และ juvenile spondyloarthritis (JSpA) โดยใช้เป็นยาเลือกอันดับแรกใน JSpA และมีอาการพิษน้อยกว่า methotrexate¹⁴

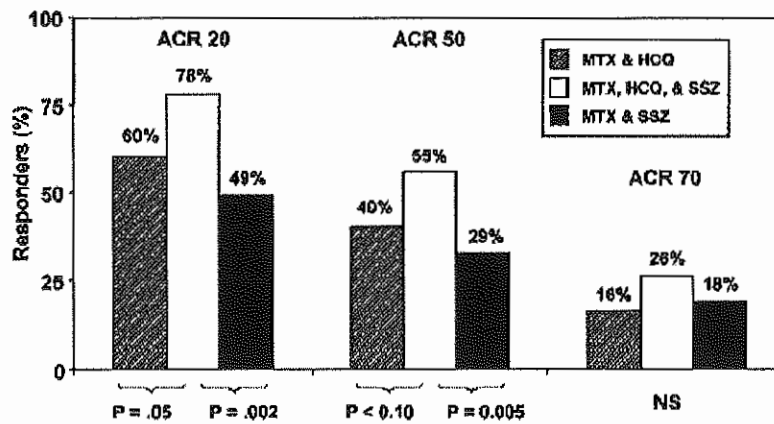
6. ปี ค.ศ. 2001 จากการศึกษารวบรวมของ Maxime Dougados พบว่าในการศึกษาแบบ double blind, randomized, placebo controlled, multicenter trials ในผู้ป่วย spondyloarthritis (SpA) sulfasalazine มีประสิทธิภาพดีในการระงับปวดและบรรเทาอาการข้อติดในตอนเช้าลงได้ ซึ่งเป็นผลที่ได้จากการประเมินโดยแพทย์และตัวผู้ป่วยเอง รวมทั้งผลทางห้องปฏิบัติการ¹⁵ โดย sulfasalazine ชนิด enteric-coated tablet สามารถลดอาการระคายเคืองทางเดินอาหาร ทำให้ผู้ป่วย

ยอมรับยาได้ดีกว่า^{15,16} นอกจากนี้ยังมีหลักฐานจาก meta-analysis data เกี่ยวกับการศึกษาแบบ randomized controlled trials จำนวน 5 การทดลองที่พบว่า sulfasalazine มีความปลอดภัยและมีประสิทธิภาพในการรักษาผู้ป่วย ankylosing spondylitis (AS) ในระยะสั้น 3-6 เดือน¹⁵

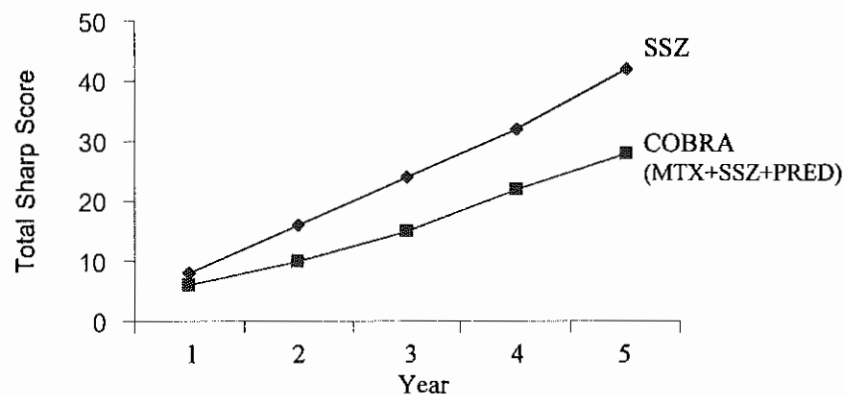
7. ปี ค.ศ. 2001 จากการศึกษาของ Yvonne P.M. Goekoop และคณะ พบว่าการรักษาโรค RA ตั้งแต่ระยะเริ่มต้นสามารถป้องกันการลุกลามของการถูกทำลายของข้อต่อ และข้อต่อทำงานแย่ลง โดย rheumatologist หลายรายนิยมใช้ยากลุ่ม DMARD หลายตัวร่วมกับ methotrexate ช่วงหลังมีการใช้ methotrexate, sulfasalazine, hydroxychloroquine และ prednisolone ร่วมกัน ซึ่งให้ผลการรักษาดีกว่าใช้ยาตัวใดตัวหนึ่งเดี่ยวๆ¹⁷

8. ปี ค.ศ. 2002 O'Dell JR และคณะได้ทำการศึกษาแบบ double-blind, placebo-controlled trial เป็นเวลา 2 ปี ในผู้ป่วย RA 171 คน พบว่าการรักษาโดยให้ยาร่วมกัน 3 ชนิด คือ methotrexate (MTX), sulfasalazine (SSZ) และ hydroxychloroquine (HCQ) มีการตอบสนองสูงกว่าการให้ยาร่วมกัน 2 ชนิด คือ MTX ร่วมกับ SSZ หรือ HCQ¹⁸ โดยการให้ยาร่วมกัน 3 ชนิด รักษาได้ผล ที่ ACR20 (อาการแสดงลดลงร้อยละ 20) คิดเป็นร้อยละ 78 ในขณะที่การให้ MTX ร่วมกับ HCQ และการให้ MTX ร่วมกับ SSZ ได้ผลคิดเป็นร้อยละ 60 และ 49 ตามลำดับ ส่วนที่ ACR50 (อาการแสดงลดลงร้อยละ 50) ก็ได้ผลคล้ายกันคือ ร้อยละ 55, 40, และ 29 ตามลำดับ และที่ ACR70 (อาการแสดงลดลงร้อยละ 70) ได้ผลร้อยละ 26, 16, และ 18 ตามลำดับ (รูปที่ 2)

9. แนวทางการรักษาล่าสุด (ปี ค.ศ. 2002) ที่กำหนดโดย ACR (American College of Rheumatology) แนะนำให้เริ่มรักษาด้วย DMARDs ภายใน 3 เดือนหลังจากได้รับการวินิจฉัยแล้วว่าเป็น RA โดยต้องเลือกใช้ DMARDs ให้เหมาะกับการดำเนินของโรคและปลอดภัยกับผู้ป่วยที่สุด อาจเลือกใช้ยาตัวเดียว



รูปที่ 2 เปรียบเทียบการรักษาผู้ป่วยโรคข้ออักเสบรูมาตอยด์แบบ double และ triple-drug therapy¹⁸



รูปที่ 3 Long-term disease progression in the COBRA trial²⁰

หรือรวมกันก็ได้¹⁹ แต่จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่า ผู้ป่วยที่รักษาด้วย MTX เพียงอย่างเดียวได้ผลไม่ดีพอ แต่การรักษาด้วย DMARDs กลุ่มดั้งเดิมเดี่ยวๆหรือรวมกันหลายตัวอาจมีประสิทธิภาพผลพอกๆกับการใช้ biologic DMARDs

10. ปี ค.ศ. 2002 จาก Combinatie-therapie Bij Reumatoide Arthritis (COBRA) trial พบว่าเมื่อติดตามการรักษาต่อไปอีก 4-5 ปี ในผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วย prednisolone, MTX และ SSZ ร่วมกันตั้งแต่เริ่มแรก จะมีการลุกลามของโรคน้อยกว่าการรักษาด้วย SSZ เดี่ยวๆอย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 3) แสดงว่าการใช้สเตรียรอยด์

ขนาดสูงระยะสั้นๆตอนเริ่มต้นร่วมกับยาอื่นจะช่วยยับยั้งการดำเนินโรคใน RA ระยะเริ่มต้น^{20, 21}

สรุป

Sulfasalazine สามารถออกฤทธิ์ป้องกันและชะลอการเกิดข้อเสื่อมในผู้ป่วย RA ซึ่งมีผลการทดลองทางคลินิกจำนวนมาก ที่สนับสนุนผลการรักษาในผู้ป่วย RA และ spondyloarthropathy โดยเมื่อใช้เดี่ยวๆจะได้ผลการรักษาดีกว่าเมื่อใช้ HCQ เดี่ยวๆ แต่การให้ร่วมกับ MTX หรือ MTX และยากลุ่มดั้งเดิมตัวอื่นจะได้ผลดีกว่าใช้เดี่ยวๆ จึงมักให้ร่วมกับ MTX หรือ MTX และ HCQ ทั้งนี้เพื่อช่วยลดอาการข้างเคียงของ MTX ด้วย

และอาจให้กรดโฟลิกเสริมซึ่งจะช่วยลดอาการข้างเคียงของ MTX เพราะ sulfasalazine ทำให้กรดโฟลิกดูดซึมลดลง และการให้ MTX ร่วมกับ sulfasalazine จะได้ผลการรักษาเร็วกว่าการใช้ MTX ร่วมกับ DMARDs ตัวอื่น ได้แก่ 6-8 สัปดาห์ และ 4-6 เดือน ตามลำดับ

Sulfasalazine สามารถใช้ได้ปลอดภัยในระยะยาว โดยอาการข้างเคียงส่วนใหญ่ที่เกิดขึ้นมักไม่ค่อยรุนแรง และจะหายไปภายหลังหยุดยาหรือลดขนาดของยา และถ้าเกิดอาการข้างเคียงส่วนใหญ่จะเกิดภายใน 3 เดือนแรกของการได้รับยา²² จากการทดลองทางคลินิกยังไม่พบอุบัติการณ์ในการเกิดของความผิดปกติของทารกในครรภ์ หรือการแท้ง (spontaneous abortion) นอกจากนี้ sulfasalazine ยังจัดเป็นยาเลือกอันดับแรกของยาในกลุ่ม DMARDs ในการรักษา rheumatic ในผู้ป่วยที่มีแผนจะตั้งครรภ์หรือกำลังตั้งครรภ์²³

เอกสารอ้างอิง

- Goronzy J, et al. Rheumatoid arthritis. In: Klippel JH, Weyand CM, Wormann R, eds. *Primer on the Rheumatic Diseases*. Atlanta, Ga: Longstreet Press Inc; 1998: 155-174.
- El-Gabalawy HS, Duray P, Goldbach-Mansky R. Evaluating patients with arthritis of recent onset: studies in pathogenesis and prognosis. *JAMA*. 2000;284:2368-2373.
- Clemens LE. The role of the rheumatologist in managing arthritis. *Med J Aust*. 2001;175(Suppl):S97-S101.
- Hoffman K. Medical Management of Rheumatoid Arthritis. *Clinician Reviews* 2003 ;13(3):48-53
- Sadovsky R. Preventing progression of rheumatoid arthritis. *Am Fam Physician* 2000;61:1810.
- Kavanaugh A. Combination cytokine therapy: the next generation of rheumatoid arthritis therapy? *Arthritis Rheum* 2002; 47:87-92.
- Kremer JM. Rational use of new and existing disease-modifying agents in rheumatoid arthritis. *Ann Intern Med*. 2001;134:695-706.
- Katzung BG. *Basic & Clinical Pharmacology* 8 th. edition Lange Medical Books/McGraw-Hill, New York, 2001: 612
- Physicians' Desk Reference* 2001, 55th ed. Montvale, NJ: Medical Economics Company, Inc., 2001
- van der Heijde DM, van Riel PL, Nuyes-Zwart IH, et al. Effects of hydroxychloroquine and sulphasalazine on progression of joint damage in rheumatoid arthritis. *Lancet*. 1989;1:1036-1038.
- Clegg DO, Reda DJ, Abdellatif M. Comparison of sulfasalazine and placebo for the treatment of axial and peripheral articular manifestations of the seronegative spondylarthropathies. *Arthritis & Rheumatism* 1999;42:2325-2329.
- van der Heijde DM, van Riel PL, Nuyes-Zwart IH, et al. Sulphasalazine versus hydroxychloroquine in rheumatoid arthritis: 3-year follow-up. *Lancet* 1999; 335:539.
- Dougados M, Combe B, Cantagrel A., et al. Comparison therapy in early rheumatoid arthritis : a randomized, controlled, double blind 52 week clinical trial of sulphasalazine and methotrexate compared with the single components. *Ann Rheum Dis* 1999; 58 : 220-225
- Pepmueller PH, Moore TL. Juvenile spondyloarthropathies. *Current Opinon in Rheumatology* 2000;12:269-273.
- Dougados M, Disease Controlling Antirheumatic Therapy in spondyloarthropathy. *J Rheumatol* 2001; 28 Supple 62:16-20.
- Weaver A, Chatwell R, Churchill M, et al. Improved Gastrointestinal Tolerance and Patient Preference of Enteric-Coated Sulfasalazine Tablets in Patients with Rheumatoid Arthritis. *Journal of Clinical Rheumatology* 1999;5:193-200.
- Goekoop YP, Allaart CF, Breedveld FC, Dijkmans BA. Combination therapy in rheumatoid arthritis. *Current Opinion in Rheumatology* 2001;13:177-183.
- O'Dell JR, Leff R, Paulsen G, et al. Treatment of rheumatoid arthritis with methotrexate and hydroxychloroquine, methotrexate and sulfasalazine, or a combination of the three medications: results of a two-year, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum* 2002; 46:1164-1170.
- American College of Rheumatology Subcommittee on Rheumatoid Arthritis Guidelines. Guidelines for the management of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2002; 46:328-346.

20. Landewe RB, Boers M, Verhoeven AC, et al. COBRA combination therapy in patients with early rheumatoid arthritis: long-term structural benefits of a brief intervention. *Arthritis Rheum* 2002; 46:347-356.
21. van Everdingen AA, Jacobs JW, Siewertsz Van Reesema DR, Bijlsma JW. Low-dose prednisone therapy for patients with early active rheumatoid arthritis: clinical efficacy, disease-modifying properties, and side effects: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med*. 2002;136:1-12.
22. Sokka T, Möttönen T, Hannonen P. Disease-modifying anti-rheumatic drug use according to the "sawtooth" treatment strategy improves the functional outcome in rheumatoid arthritis: results of a long-term follow-up study with review of the literature. *Rheumatology* (Oxford). 2000;39:34-42.
23. Janssen NM, Genta MS. The Effects of Immunosuppressive and Anti-inflammatory Medications on Fertility, Pregnancy, and Lactation . *Arch Intern Med*. 2000;160:610-619.

สมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย

ร่วมกับ

ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

จัดประชุมวิชาการประจำปีครั้งที่ 27

เรื่อง

“New Era in Pharmacotherapy”

พบกับการบรรยายในหัวข้อ

Immunopharmacology

Pharmacogenomics

Molecular Target of Drug Response

Anti HIV Drugs

.....etc.....

ระหว่างวันที่ 17-18 มีนาคม 2548

ณ โรงแรมกรุงศรีริเวอร์ พระนครศรีอยุธยา

สนใจสอบถามรายละเอียดได้ที่ ผศ.ดร.ลัดดาวัลย์ ผิวทองงาม
ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
สุขุมวิท 23 กทม 10110 โทรศัพท์ 02-260-2233 ต่อ 4803
email: laddawal@swu.ac.th

PHARMACOLOGICAL DIGEST

Laddawal Phivthong-ngam

Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Srinakharinwirot University, Bangkok, 10140, THAILAND

Pfizer not Moving Ahead with Viagra for Women

Pfizer Inc. reported that it was unable to prove that its impotence drug Viagra was effective in treating women, and it would not seek regulatory approval for it as a treatment for female sexual arousal disorder. Female sexual arousal disorder (FSAD) is an emerging area of research and is far more complex than male erectile dysfunction. It began studying Viagra for use in women in 1996 and has conducted several large-scale studies involving about 3,000 patients. While the drug was found to be safe in all studies, data on its effectiveness in treating sexual arousal problems in women did not support submitting the drug for review by the U.S. Food and Drug Administration. It would end the program soon. Diagnosing FSAD involves assessing physical, emotional and relationship factors, and these complex and interdependent factors make measuring a medicine's effect very difficult. Several drug makers have been trying to develop a so-called female Viagra in hopes of establishing an enormous untapped market. Analysts have said that any drugs for female sexual dysfunction that prove effective in treating problems with arousal, diminished desire or inability to achieve orgasm could garner sales of well over \$1 billion a year.

[<http://www.reuters.com/newsArticle.jhtml?type=healthNews&storyID=4459157§ion=news>]

FDA Approves Bevacizumab for Colorectal Cancer

The U.S. Food and Drug Administration (FDA) approved bevacizumab (Avastin), manufactured by Genentech, Inc., as a first-line treatment for metastatic colorectal cancer. Bevacizumab targets vascular endothelial growth factor (VEGF), which stimulates new blood vessel formation within the tumor. Although angiogenesis inhibitors have been studied for the past three decades, this is the first such product shown to delay tumor growth and prolong survival. When given intravenously in combination with the Saltz regimen (IFL; irinotecan, 5-fluorouracil [5-FU], and leucovorin) used as standard chemotherapy for colon cancer, bevacizumab prolonged survival by about five months. In a randomized, double-blind trial enrolling more than 800 patients with metastatic colorectal cancer, patients receiving bevacizumab in combination with IFL also had a longer time to progression by about four months than patients receiving IFL alone. The overall response rate was 45% with bevacizumab and 35% for IFL alone. For tumors to grow they need a blood supply, and for blood vessels to grow, they need growth factors. VEGF appears to be one of the most important of these growth factors. Bevacizumab appears to work by binding to the VEGF receptor and blocking signals for blood vessel growth. Without these signals, tumor blood vessels are stunted in their growth, causing a similar effect in the tumor itself. VEGF is the first growth factor shown to be effective in this fashion. Bevacizumab

also has nice pharmacokinetic properties, which may allow it to be effective, where other drugs were limited by not being able to achieve adequate drug levels for sufficient periods of time. Compared with most chemotherapy, the safety profile of bevacizumab appears quite favorable. It caused a modest increase in blood pressure, and about 11% needed to use an oral antihypertensive medication but no hypertensive crises. There is a serious but rare event, which is the risk of gastrointestinal perforation. This can occur in 2% to 3% of patients with colorectal cancer who are receiving any chemotherapy. In the study, there were six events in 400 patients in the bevacizumab arm, or a rate of 1.5%; however, no perforation events were seen in the control arm. Of the six patients with perforation, three patients recovered and restarted treatment without any subsequent problems, two patients discontinued treatment permanently, and one patient died. Overall, there was still a major survival benefit, but this risk needs to be respected for patients with issues related to bowel integrity, particularly those [who] would not have fit the eligibility criteria in our phase III trial. The effect is rare and often seen in the context of an overall clinical response, but it can be serious, so it needs to be respected and followed with close clinical management.

[<http://www.medscape.com>]

Oral Contraceptives Lower Risk of Developing Rheumatoid Arthritis

The use of oral contraceptives, but not estrogen replacement therapy, lowers the risk of developing rheumatoid arthritis. Although observational and epidemiologic evidence suggests a role for sex hormones in the development and progression of rheumatoid arthritis (RA), studies investigating the influence of exogenous estrogen on the development of RA have yielded conflicting results. The researcher investigated whether exposure to either oral contraceptives or postmenopausal estrogen replacement therapy (ERT)

influenced the development of rheumatoid arthritis in women using data from The Rochester Epidemiology Project. Ever-use of oral contraceptives was associated with a 43% reduction in the risk of RA, though there was no association between the current use of oral contraceptives and RA (albeit in a small number of women). The protection was more pronounced for RF-positive than for RF-negative rheumatoid arthritis. Based on population attributable-risk estimates, the investigators calculate, the number of women who develop RA could drop by about 38.6% if the entire female population of Rochester were exposed to oral contraceptives. The majority of the decrease in incidence (of RA) from an incidence of 72/100,000 to the estimated 48/100,000 (between 1985 and 1994) is still unaccounted for. Therefore, the protective effect of oral contraceptive exposure on the development of RA can only explain a small portion of the dramatic decrease in RA incidence over the past few decades. Further research, including both clinical studies and laboratory studies in the field of immunoendocrinology, may help to explain the complex relationship between estrogen, progestins, and RA.

[*J Rheumatol* 2004;31:207-213]

ACE Inhibitors No Better Than Other Antihypertensives at Preventing Heart Failure

Although ACE inhibitors can improve survival after a diagnosis of heart failure, findings from a new study suggest that these drugs are no better than other antihypertensive agents at preventing the cardiac condition. However, in certain subgroups, ACE inhibitors may offer an advantage over other antihypertensives. They performed a meta-analysis of six trials that looked at the occurrence of heart failure in hypertensive patients who were treated with an ACE inhibitor or another agent. Together, the studies included 20,430 patients treated with an ACE

inhibitor and 46,904 who received another drug. The follow-up periods ranged from 4.1 to 8.4 years. Overall, 922 new cases of congestive heart failure were diagnosed in the ACE inhibitor group and 2589 were diagnosed in the other drug group. In the context of the total study group, ACE inhibitors are comparable to other BP agents at preventing heart failure. A possible advantage for ACE inhibitors over other drugs emerged as patient age and the degree of blood pressure control increased, but the trend was nonsignificant. The hypothesis that ACE inhibitors are superior to other antihypertensive drugs for prevention of congestive heart failure in hypertension remains unproven.

[*Am J Cardiol* 2004;93:240-243]

Disulfiram and CBT Reduce Cocaine Dependence

Disulfiram and cognitive behavioral therapy (CBT) are effective for reducing cocaine dependence. Given clinical observations of high rates of alcohol dependence among cocaine-dependent outpatients, the initial rationale for disulfiram therapy was as a strategy to reduce alcohol use among cocaine users. In this double-masked (for medication condition), 2 x 2 factorial trial, 121 individuals with current cocaine dependence were enrolled from a community-based outpatient substance abuse treatment program and randomized to treatment with disulfiram, 250 mg/day, plus CBT; disulfiram plus interpersonal psychotherapy (IPT); placebo plus CBT; or placebo plus IPT. A riboflavin marker procedure helped monitor medication compliance. CBT and IPT were guided by a manual and given as individual sessions for 12 weeks. Random regression analyses of self-reported frequency of cocaine use and results of urine toxicology screens revealed that disulfiram was more effective than placebo in reducing cocaine use, and CBT was more effective than IPT ($P < .01$ for both). Disulfiram and CBT were most effective in subjects who were

not dependent on alcohol at baseline and in those who fully abstained from drinking alcohol during treatment. Adverse effects associated with disulfiram were mild and similar to those associated with placebo. Study limitations include drop-out rate of 50%. Because alcohol use during treatment was strongly related to cocaine use, independent of the patient's medication condition, the authors recommend that the use of disulfiram in alcoholic cocaine abusers should be combined with efforts to enhance patient commitment to alcohol abstinence.

[*Arch Gen Psychiatry* 2004;61:264-272]

Fat-Blocker Improves Cholesterol Reduction

Adding a drug that inhibits cholesterol absorption from the gut to treatment with a statin drug, which inhibits cholesterol production in the liver, is more effective than statin treatment alone in lowering LDL cholesterol. Statins such as Zocor or Lipitor have become standard treatments for high cholesterol. The results of a trial called EASE, in which the cholesterol absorption blocker Zetia (generic name, ezetimibe) was added to a statin show that the combination reduced LDL cholesterol 26 percent compared with a 3 percent reduction with single therapy in a 6-week comparison of the two treatments. The EASE trial involved 3030 patients on stable doses of statins who had not achieved LDL target levels. Two-thirds of the participants were randomized to take statins plus Zetia or statins only for 6 weeks. The combination therapy was effective across all ages, genders and races. 71 percent of the total group on combination therapy achieved target LDL cholesterol levels. If a patient is not at goal with a statin, a good strategy is to add ezetimibe.

[<http://www.reuters.com/newsArticle.jhtml?type=healthNews&storyID=4551015§ion=news>]

New Gene Linked with Cancer Found

U.S. scientists had tracked down another gene involved in several different cancers, which seems to become active just before a tumor begins to spread. The gene, called PIK3CA, might be a good "marker" for diagnosing cancer, or a target for new cancer drugs. The researchers found PIK3CA mutations in 74 of 234 colon cancer patients, or 32 percent of them. Mutations in the gene were found in 27 percent of patients with brain tumors known as glioblastomas, 25 percent of stomach cancer patients and 8 percent of breast cancer patients. They found 92 mutations in all. The sheer number of mutations observed in this gene strongly suggests that they are functionally important. The mutations seem to come about late in tumor development, just as a benign tumor becomes invasive cancer. Many different cancer genes have been found, from the p53 gene found in dozens of cancers to the BRCA genes linked with breast and ovarian cancer. Experts note cancer is a complex disease, caused by the interaction of possibly hundreds of genes and the environment.

[<http://www.reuters.com/newsArticle.jhtml?type=healthNews&storyID=4550419§ion=news>]

Antibacterial Soap Doesn't Prevent Viral Infection

Using antibacterial soaps and cleansers at home may not necessarily reduce risk of getting sick. In a new study, people who used antibacterial soaps and cleansers developed cough, runny nose, sore throat, fever, vomiting, diarrhea and other symptoms just as often as people who used products that did not contain antibacterial ingredients. Since most common infections, including colds and flu, are caused by viruses, the lack of an effect on symptoms is not surprising. According to one study, approximately 75 percent of liquid soaps and 29 percent of bar soaps in the U.S. contain antibacterial

ingredients. But the benefits of antibacterial products in preventing infectious diseases in households are still unproven. They studied 238 Manhattan families who were given almost a year's supply of free soap and household cleaners. Half of the families were given antibacterial products, while the other half received products that did not contain antibacterial ingredients. For nearly a year, the families were closely followed to see how often they experienced a wide variety of symptoms. Runny nose, cough and sore throat were the most common symptoms, followed by fever, vomiting, diarrhea and skin symptoms. These symptoms occurred just as frequently in people who used antibacterial products at home as they did in people who did not. Throughout the study, use of antibacterial products did not have a significant effect on any of the symptoms. During the study, participants had fewer infections and lower bacterial counts on their hands than at the start of the study. In a previous analysis of the results found that families experienced a drop in bacterial counts whether they used antibacterial or normal soaps and cleansers. Despite the lack of an effect on symptoms antibacterial products may be appropriate for preventing bacterial symptoms, or in other specific situations, such as when a family member has a weakened immune system or has skin or gastrointestinal infections. The authors note that any potential benefits of antibacterial products need to be weighed against the possibility that bacteria may develop resistance to antibacterial products. Although there is no evidence that this has happened, laboratory tests suggest that it may be possible.

[*Annals of Internal Medicine*, March 2, 2004]

Sex Differences in Analgesic Response to Opioids

For acute pain management, women respond better to a kappa agonist than to a mu agonist. Two commonly used opioid analgesics for uncomplicated patients are morphine sulfate and butorphanol.

Preliminary studies suggest that there may be a sex difference in response to the site of action of these two medications. The objective of this trial was to evaluate whether there is a sex difference in the analgesic response to the prototypical mu-receptor agonist, morphine sulfate, compared with the prototypical kappa agonist, butorphanol, in the emergency department. Of 94 patients with acute moderate to severe traumatic pain of injury who were enrolled in this study, 49 (52%) were men and 45 (48%) were women. Subjects were randomized to receive morphine or butorphanol. Both groups were similar in demographics. At 60 minutes, women had significantly lower visual analog scale (VAS) scores with butorphanol than with morphine ($P = .046$). There was a nonsignificant trend suggesting that men responded better to morphine than women did ($P = .06$). At 30 minutes, diastolic blood pressures were lower in women than in men. Study limitations include use of patient self-report of pain. Females had better pain scores with butorphanol than morphine at 60 minutes. Kappa receptor agonists should be chosen preferentially for female patients with acute traumatic injury pain.

[*South Med J.* 2004;97:35-41]

IV Lidocaine Helpful for Mechanical Allodynia

Intravenous (IV) lidocaine is helpful for mechanical allodynia. It was previously shown, using quantitative sensory tests, that IV lidocaine induced selective and differential analgesic effects in patients with central neuropathic pain. Thus the treatment alleviated spontaneous pain and mechanical allodynia/hyperalgesia, but had no effect on thermal allodynia/hyperalgesia. This argued against a generalized effect on pain perception, but rather emphasized that lidocaine presented with specific antiallodynic and anti-hyperalgesic effects in such patients. In this double-blind, crossover design study, 22 patients with pain caused by postherpetic neuralgia or nerve trauma

received lidocaine, 5 mg/kg IV, or placebo infusion over 30 minutes and were evaluated using quantitative sensory testing. On an open-label basis, 16 patients subsequently received mexiletine titrated from 400 to 1,000 mg per day (mean, 737 mg/day). Lidocaine significantly decreased ongoing pain for up to six hours, with a peak effect 60 to 120 minutes after injection. It also decreased mechanical dynamic allodynia and static or punctate mechanical allodynia/hyperalgesia, but not thermal allodynia and hyperalgesia, suggesting that the analgesic effects of the drug were modality-specific. Compared with patients without allodynia, those with concomitant mechanical allodynia had significantly greater effects from lidocaine and mexiletine on spontaneous pain intensity. The authors suggest that patients with mechanical allodynia may be good candidates for treatment with local anesthetic, like drugs and possibly with other sodium-channel blockers. The usual definition of a responder to a certain drug in the context of neuropathic pain, although it has the advantage of simplicity and permits a clinical comparison between different drugs, is probably too broad and may lack sensitivity. The response to a drug rather depends on a combination of symptoms that may relate to specific common mechanisms and favors the importance of a mechanism-based classification of neuropathic pains.

[*Neurology* 2004;62:218-225]

Ezetimibe: A Selective Cholesterol Absorption Inhibitor

Ezetimibe is the first agent of a novel class of selective cholesterol absorption inhibitors recently approved by the Food and Drug Administration for treatment in the United States. Ezetimibe inhibits the absorption of biliary and dietary cholesterol from the small intestine without affecting the absorption of fat-soluble vitamins, triglycerides, or bile acids. Ezetimibe localizes at the brush

border of the small intestine and decreases cholesterol uptake into the enterocytes. Preclinical studies demonstrated lipid-lowering properties of ezetimibe as monotherapy and showed a synergistic effect in combination with 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors (statins). The efficacy and safety of ezetimibe 10 mg/day have been established in phase III clinical trials. In these trials, ezetimibe was investigated as monotherapy, as an add-on to ongoing statin therapy, and as combination therapy with statins in patients with primary hypercholesterolemia. In addition, ezetimibe has been evaluated in patients with homozygous and heterozygous familial hypercholesterolemia and in those with sitosterolemia. When given as monotherapy or in combination with statins or fenofibrate, ezetimibe reduces low-density lipoprotein cholesterol (LDL) by 15-20% while increasing high-density lipoprotein cholesterol by 2.5-5%. Unlike other intestinally acting lipid-lowering agents, ezetimibe does not adversely affect triglyceride levels and, due to its minimal systemic absorption, drug interactions are few. Ezetimibe's side-effect profile resembles that of placebo when given as monotherapy or in combination with statins. In clinical practice, ezetimibe has a role as monotherapy for patients who require modest LDL reductions or cannot tolerate other lipid-lowering agents. In combination therapy with a statin, ezetimibe is used in patients who cannot tolerate high statin doses or in those who need additional LDL reductions despite maximum statin doses.

[*Pharmacotherapy* 2003; 23:1463-1474]

High-Dose Melphalan With Stem-Cell Transplant Improves Outcomes in AL Amyloidosis

High-dose melphalan with autologous stem-cell transplant improves five-year survival, induces remission, or reverses disease in a substantial proportion of patients with AL amyloidosis. AL

amyloidosis is a fatal disease resulting from tissue deposition of amyloid fibrils derived from monoclonal immunoglobulin light chains. Treatment with oral chemotherapy is minimally effective. This longitudinal analysis of clinical effectiveness followed 701 consecutive new patients with AL amyloidosis treated at a university-affiliated specialty referral clinic. Of 394 patients (56%) who were eligible for high-dose intravenous melphalan (100-200 mg/m²) and autologous blood stem-cell transplantation, 82 did not proceed with treatment because of patient choice or disease progression. Median survival of the 312 patients who began treatment with high-dose melphalan and stem-cell transplantation was 4.6 years. Complete hematologic response, defined as no evidence of an underlying plasma cell dyscrasia one year after treatment, occurred in 40% of patients, and it was associated with longer survival and greater improvements in end-organ disease. Mortality rate within 100 days of treatment was 13% overall, but it was highest in patients with cardiomyopathy. Treatment of selected patients with AL amyloidosis by using high-dose melphalan and stem-cell transplantation resulted in hematologic remission, improved five-year survival, and reversal of amyloid-related disease in a substantial proportion. These data suggest that treatment with high-dose melphalan and stem-cell transplantation should be considered early in the course of the disease for eligible patients with AL amyloidosis. This treatment is a clinically significant improvement in treating AL amyloidosis and shows promise in reversing amyloid cardiomyopathy.

[*Ann Intern Med* 2004;140:85-93]

Melatonin May Lower Nocturnal Blood Pressure

Three weeks of melatonin therapy significantly reduces nocturnal blood pressure and improves sleep. A single dose had no effect on blood pressure or

heart rate. Patients with essential hypertension have disturbed autonomic cardiovascular regulation and circadian pacemaker function. Nighttime melatonin amplifies circadian rhythms directly via the central pacemaker as in dementia, shift work, and blindness. In this double-blind, crossover design trial, the investigators studied the effect of a single and repeated doses of oral melatonin, 2.5 mg, given one hour before sleep, on 24-hour ambulatory blood pressure and actigraphic estimates of sleep quality in 16 men with untreated essential hypertension. Although a single dose of melatonin had no effect on blood pressure, melatonin given nightly for three weeks reduced systolic blood pressure during sleep by 6 mm Hg and diastolic blood pressure by 4 mm Hg. Heart rate was not affected. With three weeks of melatonin treatment, the day-night amplitudes of systolic and diastolic blood pressure rhythms increased by 15% and 25%, respectively. Sleep quality was also better, but improvements in blood pressure and sleep were statistically unrelated. Study limitations include the small number of patients studied. This is the first double-blind crossover study to investigate the effect of repeated melatonin intake on 24-hour blood pressure rhythm in untreated hypertensive patients, while recommending future studies in larger patient groups to define subgroups of patients who would benefit most from melatonin intake. The present study suggests that support of circadian pacemaker function may provide a new strategy in the treatment of essential hypertension.

[Hypertension 2004;43:1-6]

Vitamins E, C may Reduce Risk of Alzheimer's Disease

Use of high-dose supplements of vitamins E and C is associated with a reduction in the prevalence and incidence of Alzheimer's disease (AD) in a select elderly population. Antioxidants may protect the aging brain against oxidative damage associated with pathological

changes of AD. From 1995 to 1997, the investigators assessed the prevalence of dementia and AD and collected information about supplement use in 4,740 residents of Cache County, Utah, aged 65 years or older. There were 200 prevalent cases of AD between 1995 and 1997, and 104 incident cases of AD during follow-up from 1998 to 2000. Vitamin E users were defined as those who reported taking an individual supplement of vitamin E or a multivitamin containing more than 400 IU of vitamin E; vitamin C users were defined as those who took at least 500 mg of ascorbic acid. Multivitamin users were defined as those who reported taking multivitamins containing lower doses of vitamin E or C. The greatest reduction in both prevalence and incidence of AD was in subjects who used individual vitamin E and C supplements in combination, with or without an additional multivitamin. Use of vitamin E and C supplements in combination reduced AD prevalence by about 78% (adjusted odds ratio, 0.22; 95% confidence interval [CI], 0.05 - 0.60) and incidence by about 64% (adjusted hazard ratio, 0.36; 95% CI, 0.09 - 0.99). There was a trend toward lower AD risk in users of vitamin E and multivitamins containing vitamin C. However, there was no apparent protective effect with the use of vitamin C alone, vitamin E alone, with multivitamins alone, or with vitamin B-complex supplements. Study limitations include cross-sectional prevalence data; limited (three-year) follow-up for incidence data; and the pitfalls inherent in observational studies, such as possible confounding factors associated with vitamin use. The authors note that the current recommended daily allowance (RDA) for vitamin E is 22 IU (15 mg), and for vitamin C (ascorbic acid), 75 to 90 mg. Multivitamin preparations typically contain the RDA, while individual supplements typically contain doses up to 1,000 IU of vitamin E and 500 to 1,000 mg or more of vitamin C ascorbic acid). These findings suggest that vitamins E and C may offer protection against AD when taken together in the higher doses available from individual supplements.

Formal proof of such an effect can come only from randomized prevention trials. If proven efficacious in such trials, antioxidant vitamins (believed to offer other health benefits) would offer an attractive prevention strategy for AD.

[*Arch Neurol* 2004;61:82-88]

Prolonged Regular Aspirin Use may Increase Pancreatic Cancer Risk

Regular use of aspirin for 20 years or more is associated with an increased risk of pancreatic cancer. Because this differs from findings in other studies, the editorialist suggests that there are no easy answers, but that the conflict should be an impetus to additional research. Earlier studies have shown that use of aspirin and other nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) may reduce risk of some cancers and precancerous lesions, and in vitro and animal models have suggested that aspirin and NSAIDs may inhibit the development of pancreatic cancer. However, studies analyzing the association between analgesic use and pancreatic cancer in humans have been infrequent and have yielded inconsistent results. These findings do not support a protective effect of analgesic use on the risk of pancreatic cancer. Rather, aspirin appears to increase the risk of pancreatic cancer after extended periods of use. As part of the Nurses' Health Study, beginning in 1980, 88,378 women completed biennial questionnaires, including items about aspirin use. Of these women, 34% were current regular aspirin users, defined as consumption of two or more 325 mg aspirin tablets weekly, and 66% consumed fewer than two tablets weekly. During 18 years of follow-up, 161 new cases of pancreatic cancer occurred, with no statistically significant difference in risk of pancreatic cancer between regular aspirin users and nonusers. However, compared with women who regularly consumed fewer than two aspirin tablets per week, women with more than 20 years of regular aspirin use had a 58% increased risk of pancreatic

cancer (relative risk [RR], 1.58; 95% confidence interval [CI], 1.03 - 2.43; $P = .01$ for trend). Compared with women who were nonusers during the same time period, the risk of pancreatic cancer in regular aspirin users increased with increasing aspirin dose ($P = .02$ for trend). Compared with nonusers, women who consumed 14 or more aspirin tablets weekly had an 86% increased risk of pancreatic cancer (RR = 1.86; 95% CI, 1.03 - 3.35; $P = .02$ for trend). Higher pancreatic cancer risk linked to aspirin use seemed to be confined to women with a higher body mass index, suggesting that obesity may have served as a marker for inflammation. Risks and benefits associated with the use of aspirin have to be weighed carefully in any recommendations made by health care providers. In an accompanying editorial notes that these findings raise questions about the actions of aspirin and other NSAIDs and the mechanisms underlying pancreatic cancer. There are no easy answers to the question of what aspirin and other NSAIDs do to pancreatic carcinogenesis. Fortunately, conflicting data from diverse threads of research are often a very effective push toward scientific progress.

[*J Natl Cancer Inst* 2004;96:4-5, 22-28]

Double Stem Cell Transplant Better Than Single Transplant in Myeloma Patients

Double transplantation of autologous stem cells improves overall survival among patients with myeloma, as compared to single transplant. Stem cell transplantation is currently recommended for young patients with multiple myeloma as part of initial therapy or upon progression of the disease. However, the median duration of response after this procedure did not exceed three years, and almost all patients ultimately relapse. In order to evaluate the effect of double-transplant therapy on prolonging duration of response, investigators enrolled 399 patients under 60 years of age with previously untreated

myeloma. All patients received 3 or 4 cycles of vincristin 0.4 mg/m², doxorubicin 9 mg/m², and dexamethasone 40 mg (VAD), after which 199 patients were randomized to receive a single transplant following a preparative regimen of 140 mg/m² mephalan and total body irradiation (8 Gy delivered in 4 fractions over 4 days). The other group of 200 patients received the same dose of mephalan without irradiation prior to the first transplant, followed by the combination in preparation for the second. After hematologic reconstitution, both groups received alfa interferon 3 million units thrice weekly for maintenance. While similar rates of complete or very good partial responses were seen both double and single transplant groups (50% vs. 42%, $P = .10$), the seven-year event-free survival rate was significantly higher in the double-transplant group (20% vs. 10%, $P = .03$). Likewise, overall survival at seven years was significantly higher in the double-transplant group (42% vs. 21%, $P = .01$). In multivariate analysis, survival was found to be significantly related to four factors: base-line serum levels of beta₂-microglobulin ($P < .01$) and lactate dehydrogenase ($P < .01$), age ($P < .05$), and treatment group ($P < .01$). Among patients who did not show very good response rates after the first transplant, seven-year survival rate was dramatically higher for the double transplant group (42% vs. 11%, $P < .001$). The results indicated that double transplantation could benefit patients who do not have a very good partial response with in three months after undergoing a single transplantation. Hematopoietic reconstitution was similar between the two groups, as were rates of treatment-related death (6% vs. 4%, $P = .4$). However, nonfatal adverse events are not well described in this report, longer hospitalization and an increased risk of toxic effects such as mucositis would be expected in the double-transplant group. This report establishes double transplantation as one of the options for treating patients who have myeloma, particularly those younger than 60 years of age who have a suboptimal response to a

single transplant. Though commending the investigators, progressive myeloma will develop in over 80% of patients within seven years after they have undergone double transplantation. In light of these results symptomatic patients younger than 70 years of age should be treated initially with dexamethasone alone or in combination with chemotherapy or thalidomide, in the expectation that autologous stem cell transplantation will be included in the treatment.

[*New Engl J Med* 2003;349:2495-2502, 2551-2553]

COX Inhibition Blunts Antihypertensive Effects of ACE Inhibitor Therapy

Both selective COX-2 inhibition and nonselective COX inhibition dampen the blood pressure lowering effects of angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitors. Nonselective COX inhibition also adversely effects renal function in ACE-treated patients. Using a crossover design, they examined the effects of the selective COX-2 inhibitor celecoxib (200 mg/d) and the nonselective COX inhibitor diclofenac (75 mg twice daily) on BP and renal function in 25 patients with osteoarthritis and hypertension being treated with an ACE inhibitor and a diuretic. All the patients were black or Hispanic, because these classes of drugs are recommended by recent guidelines as initial therapy for treatment of blood pressure in blacks. At 4-weeks, diclofenac worsened overall 24-hour systolic BP control (+4.1 mm Hg) significantly more than celecoxib (+0.6 mm Hg) in the presence of an ACE inhibitor and diuretic, the team reports. However, at peak drug levels, diclofenac and celecoxib had similar effects on systolic BP (+3.6 and +4.2 mm Hg, respectively). Thus, if celecoxib is needed twice daily, as is frequently the case, then a rise in BP of similar magnitude to diclofenac would be anticipated. Glomerular filtration rate (GFR) was also differentially affected by selective and nonselective COX inhibition.

In the presence of ACE inhibitors, kidney function was worsened more with nonselective than selective COX-2 inhibitors. Diclofenac significantly reduced GFR and this was associated with marked urinary sodium retention, which led to ankle edema, despite diuretic therapy. Celecoxib, on the other hand, preserved GFR and was not associated with urinary sodium retention or ankle swelling. Hypertension and arthritis commonly co-exist in the elderly, leading to frequent co-administration of COX inhibitors and ACE inhibitors. They believe their study provides new information regarding the BP and kidney effects of COX inhibition in ACE-inhibitor treated patients.

[*Hypertension* 2004;43:573-577]

Azithromycin Failures Reinforce Penicillin as Preferred Drug for Syphilis

A recent report of syphilis patients in San Francisco who did not respond to azithromycin reinforces current recommendations that penicillin is the preferred agent for this disease. Syphilis rates have been increasing throughout the US in recent years. A particular problem area has been San Francisco, which had one of the highest rates of primary and secondary syphilis in the country in 2002. In an effort to treat syphilis cases early, certain disease-control programs have begun administering azithromycin as a single oral regimen, a more convenient alternative to IM penicillin. Support for this approach is based on several small studies that have shown efficacy in patients without HIV infection. However, in April 2003, the San Francisco Department of Public Health became aware of a syphilis patient who failed treatment with azithromycin. Further investigation uncovered seven other apparent treatment failures that occurred between September 2002 and July 2003. All of the patients were male and self-reported as homosexual. Five patients

were infected with HIV. Treatment with penicillin or doxycycline successfully cleared the syphilis infection in all cases. Although penicillin remains the treatment of choice for syphilis, a 2-gram dose of azithromycin may be considered for penicillin-allergic patients, but only with close follow-up because treatment efficacy is not well documented and has not been studied in persons with HIV infection.

[*Mor Mortal Wkly Rep CDC Surveill Summ* 2004;53:197-198]

Antiviral Combination Therapy Shows Promise Against SARS

Combination therapy with lopinavir/ritonavir and ribavirin may reduce the risk of ARDS and death in patients with severe acute respiratory syndrome (SARS). The findings are based on a study of 41 SARS patients who were treated with the three agents and followed for 3 weeks. The clinical outcomes of these patients were compared with those of 111 historical controls who were treated with ribavirin alone. At follow-up on day 21, the cumulative rate of ARDS or death in the lopinavir/ritonavir group was 2.4%, much lower than the 28.8% rate seen in the control group ($p < 0.001$). This difference held true for patients diagnosed early in the epidemic and for those diagnosed later. Initial treatment with lopinavir/ritonavir was associated with a reduction in steroid usage and nosocomial infections compared with ribavirin monotherapy or rescue treatment with lopinavir/ritonavir. Moreover, receiving combination therapy from the start was tied to a progressive drop in viral loads and an increase in peripheral lymphocyte counts. On multivariate analysis, advanced age, hepatitis B carrier status, and not receiving combination therapy were identified as predictors of death or ARDS, the authors note.

In light of these encouraging findings, a controlled trial of lopinavir/ritonavir therapy for SARS is warranted. We propose that the combination of lopinavir/ritonavir and

ribavirin should be tested against lopinavir/ritonavir alone and placebo.

[*Thorax* 2004;59:252-256]

Hepatic Injury With the Beta-Interferons for MS More Common Than Thought

A greater proportion of patients receiving a beta-interferon for multiple sclerosis develop elevated aminotransferase levels than were reported in clinical trials leading up to approval of these agents. That's according to a postmarketing study in which researchers took a look back at biochemical liver tests of 844 MS patients prescribed one of the three commercially available beta-interferons in British Columbia, Canada, between 1995 and 2001. Overall, 36.9% of patients developed new elevations of alanine aminotransferase (ALT). All of the beta-interferons subcutaneous IFN-beta-1a and IFN-beta-1b (IM), and intramuscular IFN-beta-1a caused elevated aminotransferase levels compared with pretreatment levels ($p < 0.005$) and the incidence aminotransferase elevation was substantially higher than reported in

clinical trials. For example, 11% of patients had mild or moderate ALT elevations in a pivotal trial of IFN-beta-1b compared with 38.9% in the current study and 37.5% in another postmarketing study published recently. Likewise, in a pre-approval IFN-beta-1a (SC) trial, 19.6% and 27% of patients treated with low and high doses, respectively, experienced ALT increases, compared with 33.6% and 38.0% in the current study. No evidence of liver enzyme elevations was reported in a pivotal trial of IFN-beta-1a (IM), whereas in the current study 23.0% developed de novo ALT elevations. The postmarketing experience prompted a Food and Drug Administration MedWatch warning in March 2003 of hepatic injury including elevated serum hepatic enzyme levels, some of which have been severe. The researchers was unable to identify predictors of IFN-beta-induced liver injury. They suggest regular monitoring of the liver tests, particularly during the first year of treatment, emphasizing, however, that a balance should be found because frequent testing can cause anxiety, pain, inconvenience, and is not without cost.

[*Neurology* 2004;62:628-631]

Thai Journal of Pharmacology

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

Articles in journals

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

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

- (2) Organisation as author

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

- (3) No author given

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

- (4) Volume with supplement

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

- (5) Books and other monographs

5.1 Personal author(s)

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

5.2 Editor(s), compiler as author

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

5.3 Chapter in a book

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

5.4 Conference proceedings

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

(6) Dissertation

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

(7) In press

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

Reviews

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

Short communication

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

Manuscript submission

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

Copyright

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



สมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย

ใบสมัครเข้าเป็นสมาชิก

เขียนที่

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

นาย

ข้าพเจ้า นาง ชื่อสกุล.....

นางสาว

อาชีพ ขอสมัครเข้าเป็นสมาชิกสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย
และขอรับรองว่า จะปฏิบัติตามระเบียบข้อบังคับของสมาคมทุกประการ

ข้าพเจ้ายินดีจะชำระค่าบำรุงสมาคมโดย

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

ลงชื่อ

()

เรียน

รศ.สมใจ นครชัย

ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะเภสัชศาสตร์

มหาวิทยาลัยมหิดล

ถนนศรีอยุธยา

กทม. 10400

ทะเบียนประวัติ

นาย

1. ชื่อ นามสกุล.....

นางสาว

ชื่อภาษาอังกฤษ (ตัวพิมพ์ใหญ่)

2. เกิดวันที่ เดือน..... พศ.....

3. ตำแหน่งหน้าที่หรือตำแหน่งทางวิชาการในปัจจุบัน

4. สถานที่ทำงาน

.....

.....

..... โทรศัพท์/ แฟกซ์

e-mail address

5. ที่อยู่ปัจจุบัน

.....

.....

6. ประวัติการศึกษาชั้นอุดมศึกษา (เรียงลำดับจากวุฒิสูงสุด)

ปี พ.ศ.

ชื่อสถานศึกษา

วุฒิที่ได้รับ

.....

.....

.....

7. สาขาหรือแขนงวิชาที่สนใจหรือเชี่ยวชาญเป็นพิเศษ

.....

.....

.....

.....

รายนามคณะกรรมการที่ปรึกษาและบริหารสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย
วาระประจำปี พ.ศ. 2547-2549

คณะกรรมการที่ปรึกษา

ภก.พลตรี สุนันท์ โรจนินิภาต
ศ.ดร.อำนาจ ธิฐาพันธ์
รศ. พลตรี ดร.ทัศนัย สุริยจันทร์
รศ.พญ.สุมนา ชมพูทวีป
รศ.น.สพ.พีระพล อยู่สวัสดิ์
ผศ. นพ.ดร.วิทยา ตันสุวรรณนนท์

คณะกรรมการบริหาร

นายกสมาคม

ภก.รศ.ดร.ชัยชาญ แสงดี

อุปนายก

ภญ.รศ.ดร.ไชแสง โรจนสถาพร

ผู้รั้งตำแหน่งนายกสมาคม

ดร.อุดม จันทรรักษ์ศรี

เลขาธิการ

ภญ.รศ.สุพีชา วิทย์เลิศปัญญา

ฝ่ายวิชาการ

ภญ.รศ.ดร.ศรีจันทร์ พรจิราศิลป์

เหรียญก

ภญ.รศ.ดร.จงกล เทียงดาห์

ปฎิคม

รศ.พ.อ.ดร.บพิตร กลางกัลยา

นายทะเบียน

ภญ.รศ.สมใจ นครชัย

บรรณาธิการวารสาร

ภญ.รศ.ดร.สุพัตรา ศรีไชยรัตน์

กรรมการกลาง

รศ.นพ.ประวิทย์ อัครเสรินนท์

ผศ.ดร.ลัดดาวัลย์ ผิวทองงาม

ภญ.ผศ.ดร.ชวนี ทองโรจน์

ภญ.ผศ.ประภาวดี พัวไพโรจน์

ภญ.รศ.ดร.มยุรี ตันติสิระ

ผศ.นพ. วีรวัฒน์ มัทธนะตระกูล

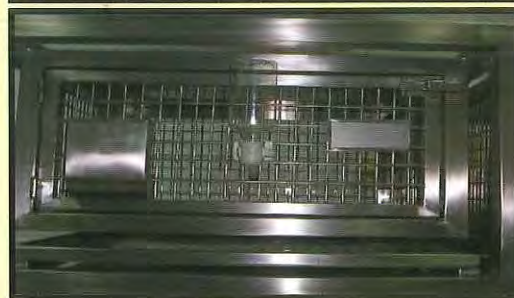
บริษัท วัฒนไทยคุณ อีควิปเม้นท์ จำกัด

WATTANATHAICOON EQUIPMENT CO.,LTD.

91/486 หมู่ 2 ตำบลไทรมา อำเภอมือง จังหวัดนนทบุรี 11000

Tel. 02- 926-1641 , Fax. 02 - 924-5776

กรงสำหรับใส่กระต่ายทดลอง



กล่องสำหรับใส่หนูทดลอง





เปิดรับสมัครเข้าศึกษาต่อ

หลักสูตร วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต และ วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต

สาขาวิชาเภสัชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาคต้น ปีการศึกษา 2548

ตั้งแต่วันที่ 19 ตุลาคม- 3 ธันวาคม 2547

สอบถามและขอใบสมัครได้ที่ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สนใจดูรายละเอียดได้ที่ www.grad.chula.ac.th หรือ ติดต่อที่
งานบริการการศึกษา บัณฑิตวิทยาลัย โทรศัพท์ 02-2183502-5