

การศึกษาเปรียบเทียบการเอื้อประโยชน์ของ ยาเม็ดอะไซโคลเวียในอาสาสมัครไทย

อรวรรณ เนตรถนอมศักดิ์* พรทิพย์ หุยประเสริฐ** และ สุพีชา วิทยเลิศปัญญา*

*ภาควิชาเภสัชวิทยา **ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย

A COMPARATIVE STUDY ON THE BIOAVAILABILITY OF ACYCLOVIR TABLETS IN THAI VOLUNTEER

Orawan Natetanoumsak* Pornthip Huaprasert**
and Supeecha Wittayalertpanya*

*Department of Pharmacology **Department of Medicine, Faculty of Medicine,
Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand.

Abstract

The bioavailability of the two local made and one imported products of acyclovir tablet obtained commercially was evaluated in ten Thai subjects (five males and five females) with the past history of infection by herpes simplex virus. A single oral dose of each acyclovir product (200 milligrams x 4 tablets) was taken by all subjects. The study was performed by using a complete cross-over design experiment with one week wash out period. Blood samples were taken at 0, 20, 40 minutes, 1, 1.5, 2, 3, 5, 7 and 9 hours after drug administration. The plasma drug concentrations were determined using high pressure liquid chromatography technique (HPLC). The time of peak plasma concentration (T_{max}), the peak plasma concentration (C_{pmax}) and area under the plasma concentration-time curve ($AUC_{0-\infty}$) were not statistically different from each other and between sex ($P>0.05$). However, only the absorption rate constant (K_a) of one locally made acyclovir tablets was statistically different from the original product ($P<0.05$).

Acyclovir เป็นยาที่ออกฤทธิ์ได้จำเพาะต่อเชื้อ เฮอร์ปีส์ ไวรัส (herpes viruses) ต้องใช้ enzyme จากไวรัสเปลี่ยน Acyclovir ให้เป็น Acyclovir-diphosphate ก่อนแล้ว host enzyme จึงสามารถเปลี่ยน Acyclovir ให้อยู่ในรูปที่ออกฤทธิ์ได้⁽¹⁾ Acyclovir นับว่าเป็นยาที่ออกฤทธิ์จำเพาะต่อไวรัส จากการศึกษาค่าการให้ยาเม็ด Acyclovir ขนาด 800-4,000 มิลลิกรัม/วัน พบว่าผู้ป่วยทนต่อยาได้ดี ไม่พบความผิดปกติของผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการหรือความผิดปกติทางคลินิกที่สัมพันธ์กับยา Acyclovir^(2,3,4) จึงทำให้ยาเม็ด Acyclovir ได้รับความสนใจจากผู้ผลิตหลายบริษัทเกิดมีการแข่งขันทางการค้า โดยเฉพาะทางด้านราคาผลิตภัณฑ์จะมีราคาแตกต่างกันมากเป็นผลให้การเลือกใช้ยาที่ผลิตในประเทศกับยาที่ผลิตจากต่างประเทศเป็นปัญหาที่พบบ่อย เนื่องจากความไม่แน่ใจในคุณภาพของผลิตภัณฑ์ หากใช้ยาที่ไม่ได้มาตรฐาน อาจทำให้การรักษาล้มเหลว ถ้ายาที่ผลิตในประเทศมีประสิทธิภาพเท่าเทียมกับยาที่ผลิตจากต่างประเทศ การเลือกใช้ยาที่ราคาแพงกว่าจะทำให้สิ้นเปลืองโดยไม่จำเป็น จากเหตุผลดังกล่าวจึงควรพิสูจน์ว่ายาชนิดเดียวกัน ผลิตในประเทศและต่างบริษัท จะมีการเอื้อประโยชน์แตกต่างกันหรือไม่ โดยเปรียบเทียบยาต้นแบบซึ่งนำเข้าจากต่างประเทศ

จากปัญหาที่ได้กล่าวมาแล้ว การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาและเปรียบเทียบการเอื้อประโยชน์ของยาเม็ด acyclovir ที่ผลิตโดยบริษัทต่างๆ เพื่อให้ได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ต่อการพิจารณาเลือกใช้ยาได้อย่างเหมาะสมตามเศรษฐฐานะของผู้ป่วย

วิธีทดลอง

คัดเลือกอาสาสมัครผู้ใหญ่เพศชาย 5 คน หญิง 5 คน ที่เคยมีประวัติติดเชื้อเฮอร์ปีส์ซิมเพลกซ์ไวรัส เข้าร่วมการทดลอง โดยอธิบายวิธีการศึกษาให้เข้าใจโดยละเอียด พร้อมกับชี้แจงให้ทราบถึงอาการไม่พึงประสงค์ที่อาจเกิดขึ้น และลงชื่อในหนังสือ

ยินยอมก่อนเข้าร่วมโครงการ อาสาสมัครได้รับการซักประวัติ ตรวจร่างกาย และการวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ ซึ่งประกอบด้วย Complete blood count (CBC), Fasting plasma glucose (FPG), Blood urea nitrogen (BUN), Creatinine (Cr), Serum aspartate aminotransferase (AST), Serum alanine aminotransferase (ALT), Total bilirubin (TB) เพื่อทดสอบว่าอาสาสมัครมีสภาวะร่างกายปกติหรือไม่ อาสาสมัครทุกคนไม่ได้รับยาใดๆ ก่อนการทดลอง 1 สัปดาห์ หรือในระหว่างการทดลอง ไม่ดื่มชา กาแฟ และเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ อย่างน้อย 24 ชั่วโมง ก่อนเริ่มทำการทดลอง และระหว่างการทดลอง

อาสาสมัครที่มีประวัติเป็นโรคตับ โรคไต โรคเบาหวาน มีภาวะพร่องภูมิคุ้มกัน ได้รับยาจำพวกกระตุ้นภาวะภูมิคุ้มกัน และมีประวัติเป็นโรคอื่นๆ หญิงที่อยู่ในระยะตั้งครรภ์ หรือผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการมีค่าผิดปกติ จะไม่ถูกคัดเลือกเข้าสู่การทดลอง

แบบแผนการทดลองการให้ยารับประทาน ใช้แบบการทดลองข้ามแบบสุ่มโดยปกปิดทั้งสองด้าน (randomized cross-over design with double blind) โดยให้ยาเม็ด acyclovir ขนาด 200 มิลลิกรัม 4 เม็ด ของบริษัท A,B,C ในอาสาสมัครทั้ง 10 คน มี 1 บริษัท ที่เป็นยาต้นแบบผลิตจากต่างประเทศ เป็นยาที่นำมาเปรียบเทียบกับยาที่ผลิตในประเทศไทย ระยะห่างการให้ยาแต่ละบริษัทนานอย่างน้อย 1 สัปดาห์ เพื่อให้แน่ใจว่ายาที่ได้รับไปครั้งก่อน ถูกขับออกจากร่างกายหมดก่อนเริ่มการทดลองให้ยาใหม่ครั้งต่อไป

เมื่อเข้าสู่การทดลองอาสาสมัครต้องอดอาหาร 1 คืน (อย่างน้อย 8 ชั่วโมง) ก่อนรับประทานยา วันที่ทำการทดลองอาสาสมัครจะได้รับยาเม็ด acyclovir 200 มิลลิกรัม 4 เม็ด ร่วมกับน้ำ 200 มิลลิลิตร และให้อดอาหารต่ออีก 2 ชั่วโมง จึงให้รับประทานอาหาร อาสาสมัครจะได้รับการเจาะเลือด หลังรับประทานยาที่เวลา 20, 40 นาที 1, 1.5, 2, 3,

5, 7 และ 9 ชั่วโมง จากนั้นแยกเอาพลาสมา เพื่อนำมาตรวจวัดหาระดับยา acyclovir โดยใช้วิธี High Pressure Liquid Chromatography (HPLC)⁽⁵⁾

สารเคมีและเครื่องมือที่ใช้

acyclovir จากบริษัท Sigma Chemical Ltd Co, methanol HPLC grade และ 70% perchloric acid จากบริษัท J.T.Baker

เครื่อง HPLC, pump model 510 จากบริษัท Waters Associate, Fixed loop injector (Rheodyne), UV detector model 481 จากบริษัท Waters Associate, Integrating recorder model 740 data module จากบริษัท Waters Associate และ Novapak C₁₈ Stainless steel column จากบริษัท Waters Associate, USA

วิธีการวิเคราะห์

นำพลาสมา 1 มิลลิลิตร ผสม 5% perchloric acid 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex นำไปปั่นแยกด้วยเครื่อง Centrifuge ที่ 3,500 รอบ/นาที่ นาน 10 นาที นำสารละลายส่วนใสมากรองด้วยเมมเบรน 0.45 ไมครอน นำส่วนที่กรองได้ฉีดเข้าเครื่อง HPLC ด้วยปริมาตร 50 ไมโครลิตร

ภาวะของเครื่อง HPLC ที่ใช้ในการวิเคราะห์ ใช้ Column Novapak C₁₈ stainless steel column (15cm.x3.9mm.id.) ขนาดอนุภาคเท่ากับ 4 ไมครอน Mobile phase ที่ใช้คือ methanol ผสมกับ double distilled water ในอัตราส่วน 1.5:98.5/V:V ปลอ่ยด้วย Flow rate 1 มิลลิลิตร/นาที่, ความดัน 1,000 kg/cm² ตรวจวัด Acyclovir โดยใช้ UV detector attenuation 0.01 AUFS ความยาวคลื่นแสงที่ 250 นาโนเมตร Chart speed 0.1 เซนติเมตร/นาที่ ทำงานที่อุณหภูมิห้อง

การคำนวณค่าทางเภสัชจลนศาสตร์

ค่าพารามิเตอร์ต่างๆทางเภสัชจลนศาสตร์ที่ได้คือ K_a , T_{max} , C_{pmax} และ $AUC_{0-\infty}$ หาได้จากโปรแกรม MKMODEL⁽⁶⁾ โดยใช้ First order kinetics one compartment open model

สถิติที่ใช้

เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างเพศชายและหญิง และทดสอบความแตกต่างระหว่าง 3 บริษัท ด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบสองทาง (Two-way analysis of variance) และถ้าพบว่ามีความแตกต่างกัน จึงทดสอบดูว่าคู่ใดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยใช้ Duncan's new multiple range test

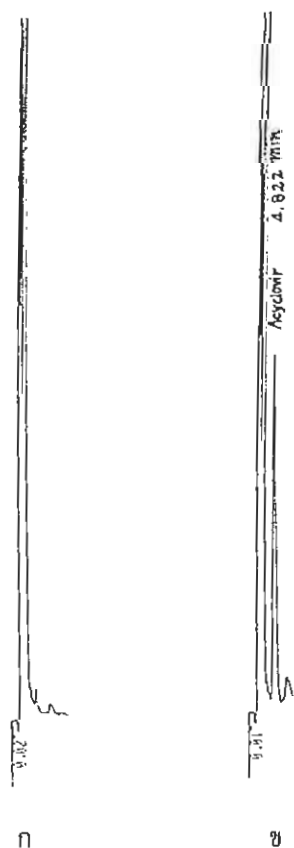
ผลการทดลอง

จากการตรวจวัด Acyclovir ในพลาสมา มีค่า retention time ประมาณ 5 นาทีดังแสดงในโครมาโตแกรม รูปที่ 1 กราฟมาตรฐานของ Acyclovir ในพลาสมา ใช้ความสัมพันธ์ระหว่าง peak area กับความเข้มข้นของ Acyclovir ซึ่งเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 0-3.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ค่า $r=0.9998$ วิธีที่ใช้ตรวจ Acyclovir มีค่าความเที่ยงตรง intra-day และ inter-day คิดเป็น % coefficient of variance(CV) อยู่ในช่วง 1.43-4.83% และ 1.73-8.26% ตามลำดับ ค่าความถูกต้อง คิดเป็น % recovery อยู่ในช่วง 95-100% ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวัดได้ เท่ากับ 0.1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

ตารางที่ 1 แสดงลักษณะทั่วไปของอาสาสมัคร ทั้ง 10 คน มีอายุเฉลี่ย 31.4 ปี (23-45 ปี) ส่วนสูงเฉลี่ยเท่ากับ 163.3 เซนติเมตร (151-179 เซนติเมตร) น้ำหนักเฉลี่ยมีค่าเท่ากับ 57.3 กิโลกรัม (47-75 กิโลกรัม) ซึ่งอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน ผลการวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ CBC, FPG และหน้าที่

ของตับและไต อยู่ในเกณฑ์ปกติ แสดงว่าอาสาสมัครทุกคนมีสุขภาพสมบูรณ์

กราฟความสัมพันธ์ระหว่างระดับเฉลี่ยของยา Acyclovir ในพลาสมากับเวลาหลังจากอาสาสมัครได้รับยาที่ผลิตจากบริษัท A, B และ C แสดงในรูปที่ 2 และค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ที่คำนวณได้จากความสัมพันธ์นี้ แสดงไว้ในตารางที่ 2 และได้แสดงค่าเหล่านี้แยก ระหว่างเพศ พบว่าค่า K_a , T_{max} , C_{pmax} และ $AUC_{0-\infty}$ ไม่มีความแตกต่างระหว่างเพศ แต่พบว่าค่า K_a ของยาที่ผลิตจากบริษัท B มีค่ามากกว่ายาที่ผลิตจากบริษัท A และ C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนค่า T_{max} , C_{pmax} และ $AUC_{0-\infty}$ ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างบริษัท



รูปที่ 1 แสดงโครมาโตแกรมของยา acyclovir
ก. blank plasma
ข. peak acyclovir ในพลาสมา

วิจารณ์ผลการทดลอง

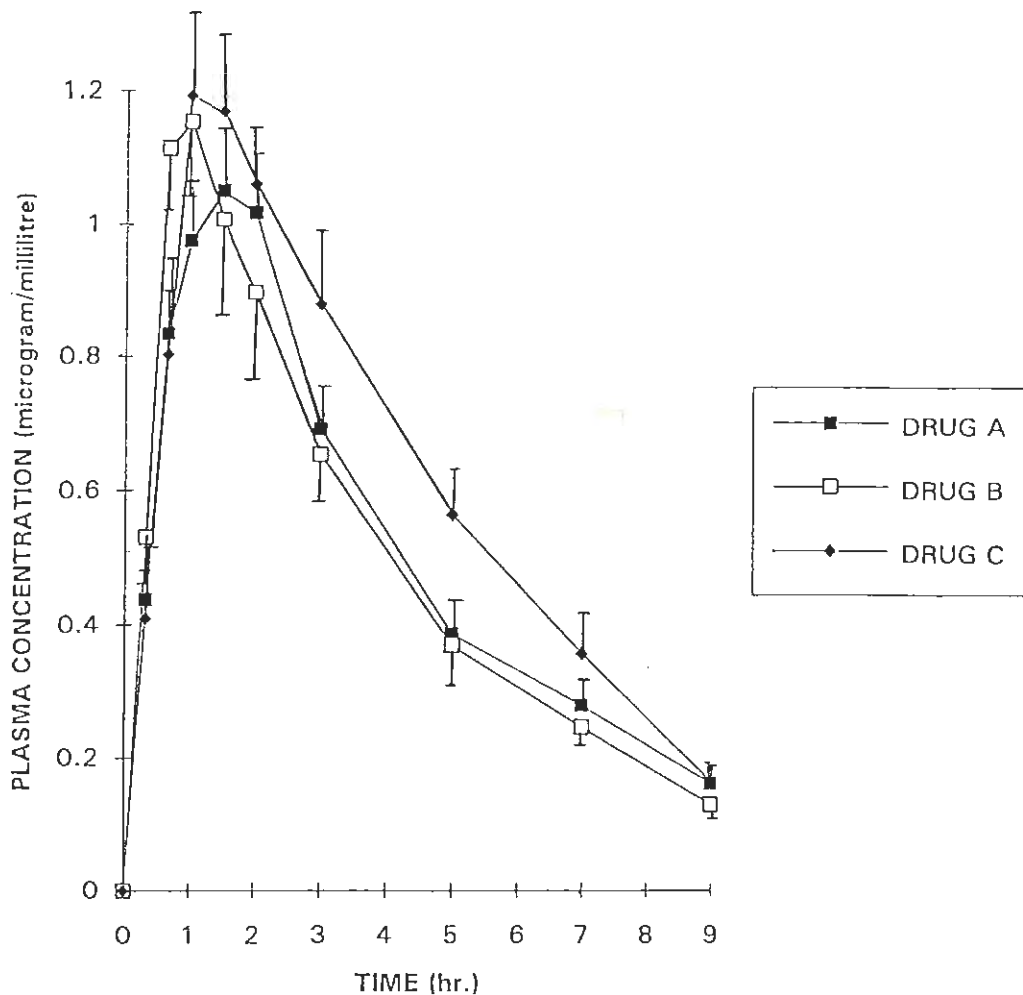
วิธีการวิเคราะห์หาระดับยา Acyclovir วิธีนี้เป็นวิธีที่รวดเร็ว มีค่าความเที่ยงตรงและความถูกต้องอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ และความเข้มข้นต่ำสุดที่วัดได้คือ 0.1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งเป็นค่าต่ำกว่าระดับยาที่จะวัดในพลาสมา ปกติการรายงานข้อมูลการเอื้อประโยชน์ของยาในร่างกายโดยศึกษาเฉพาะเพศใดเพศหนึ่งไม่อาจเป็นตัวแทนที่ดีได้ การศึกษาครั้งนี้คัดเลือกทั้งเพศชายและเพศหญิง และดูความแตกต่างของข้อมูลการเอื้อประโยชน์ของยาในร่างกายระหว่างเพศ พบว่าไม่มีความแตกต่างกัน จึงสามารถนำข้อมูลของทั้ง 2 เพศมาเฉลี่ยด้วยกันได้ ด้านข้อมูลการเอื้อประโยชน์ในร่างกายของยา acyclovir พบว่าค่า K_a ของยา acyclovir ที่ผลิตจากบริษัท B มีค่าสูงกว่าบริษัท A และ C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ความแตกต่างนี้อาจเกิดได้เนื่องจากความแตกต่างทางกระบวนการผลิตยา (Pharmaceutical process) ซึ่งทำให้ค่าการแตกตัว (Disintegration) และการละลายของยา (Dissolution) มีความแตกต่างกัน แต่ผลของค่า K_a ที่แตกต่างกันนี้ไม่ได้มีผลทำให้ค่า T_{max} , C_{pmax} และ $AUC_{0-\infty}$ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แม้ว่าค่า T_{max} ของยา acyclovir จากบริษัท C จะมากกว่า A และมากกว่า B ซึ่งแสดงค่าตัวเลขในตารางที่ 2 ผลนี้อาจเนื่องมาจาก อัตราเร็วในการดูดซึมยาของทั้ง 3 บริษัท มีความแตกต่างกันบ้างในช่วงแรก แต่ไม่มีผลต่อปริมาณยาที่ถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสโลหิตดูจากค่า C_{pmax} ของยา C มีแนวโน้มสูงกว่ายาอีก 2 บริษัท (ตารางที่ 2) ยาที่มีการดูดซึมอย่างช้าๆ แต่มีการดูดซึมอย่างต่อเนื่องทำให้พารามิเตอร์ต่างๆ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งหมดนี้แสดงให้เห็นว่าค่าการเอื้อประโยชน์ของยาทั้ง 3 บริษัท ไม่มีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน 1 ใน 3 บริษัทนี้เป็นยาต้นตำรับ จึงแสดงว่ายาที่ผลิตในประเทศ 2 บริษัท มีค่าการเอื้อประโยชน์ไม่แตกต่างจากยาต้นตำรับ

สรุป

จากการศึกษาเปรียบเทียบการเอื้อประโยชน์ของ Acyclovir โดยดูความสัมพันธ์ของระดับยา acyclovir ในพลาสมา กับเวลา และเปรียบเทียบระหว่างยาที่ผลิตจากต่างประเทศกับยาที่ผลิตในประเทศ สรุปได้ดังนี้คือ ค่าการเอื้อประโยชน์ของยา acyclovir ของบริษัท A, B และ C ไม่มีความแตกต่างกัน

คำขอบคุณ

ผู้วิจัยขอขอบคุณหัวหน้าภาควิชาเภสัชวิทยา ที่อนุญาตให้ใช้เครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัยนี้ และขอบคุณเจ้าหน้าที่ในภาควิชาเภสัชวิทยาทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือและร่วมมือตลอดโครงการวิจัย ขอขอบคุณ รศ.ดร.เพ็ญศรี ทองเทพเนื่อ ที่ให้คำแนะนำเกี่ยวกับงานวิจัยนี้



รูปที่ 2 เปรียบเทียบลักษณะกราฟของค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของ acyclovir ในพลาสมาของยาจาก 3 บริษัท (A,B,C) หลังจากให้ยาเม็ด acyclovir 200 มิลลิกรัม 4 เม็ด แก่อาสาสมัคร 10 คน

ตารางที่ 1 แสดงลักษณะทั่วไปของอาสาสมัคร

	อายุ (ปี)	ส่วนสูง (cm)	น้ำหนัก (kg)	FPG (mg/ml)	BUN (mg/ml)	Cr (mg/ml)	AST (U/L)	ALT (U/L)	TB (mg/ml)	CBC Hb WBC (mg%)($\times 10^3/\text{mm}^3$)
range	23-45	151-179	47-75	76-98	9-17	0.7-1.1	13-27	12-40	0.43-0.9	12.2-15 3.86-7.98
mean $\pm$ SE	31.40 $\pm$ 2.34	163.30 $\pm$ 3.38	57.25 $\pm$ 2.74	88.2 $\pm$ 6.14	111.8 $\pm$ 2.28	0.88 $\pm$ 0.14	19 $\pm$ 4.50	16.5 $\pm$ 8.80	0.71 $\pm$ 0.19	13.58 $\pm$ 0.99 5.19 $\pm$ 1.28

อธิบายคำย่อ FPG = fasting plasma glucose
 BUN = blood urea nitrogen
 Cr = creatinine
 AST = aspartate aminotransferase
 ALT = alanine aminotransferase
 TB = total bilirubin
 CBC = complete blood count
 Hb = hemoglobin
 WBC = white blood cell count

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของยา acyclovir ทั้ง 3 บริษัท หลังจากได้ยา acyclovir 200 มิลลิกรัม 4 เม็ด ระหว่างเพศชาย 5 คน และเพศหญิง 5 คน อาสาสมัครรวม 10 คน แสดงค่าเป็น $\bar{X} \pm \text{SE}$

บริษัท	A		B		C		$\bar{X} \pm \text{SE}$
พารามิเตอร์	ชาย	หญิง	ชาย	หญิง	ชาย	หญิง	
	รวม		รวม		รวม		
Ka (hr^{-1}) *	1.40 $\pm$ 0.27	1.74 $\pm$ 0.36	2.21 $\pm$ 0.38	2.28 $\pm$ 0.33	1.33 $\pm$ 0.30	1.54 $\pm$ 0.20	1.75 $\pm$ 0.14
	1.57 $\pm$ 0.22		2.25 $\pm$ 0.24		1.43 $\pm$ 0.17		
Tmax (hr)	1.70 $\pm$ 0.31	1.33 $\pm$ 0.23	1.06 $\pm$ 0.25	0.96 $\pm$ 0.15	1.90 $\pm$ 1.46	1.50 $\pm$ 0.18	1.39 $\pm$ 0.13
	1.52 $\pm$ 0.08		1.01 $\pm$ 0.14		1.65 $\pm$ 0.25		
Cpmax ($\mu\text{g/ml}$)	0.99 $\pm$ 0.83	1.36 $\pm$ 0.09	1.13 $\pm$ 0.05	0.45 $\pm$ 0.20	1.23 $\pm$ 0.11	1.44 $\pm$ 0.45	1.26 $\pm$ 0.05
	1.18 $\pm$ 0.08		1.26 $\pm$ 0.11		1.33 $\pm$ 0.08		
AUC _{0-∞} ($\mu\text{g}\cdot\text{hr/ml}$)	6.15 $\pm$ 0.84	4.41 $\pm$ 1.09	4.48 $\pm$ 0.51	5.54 $\pm$ 0.75	5.24 $\pm$ 0.82	7.40 $\pm$ 0.45	5.73 $\pm$ 0.30
	5.72 $\pm$ 0.50		5.16 $\pm$ 0.48		6.32 $\pm$ 0.57		

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ($B > A, C$)

อธิบายคำย่อ Ka = ค่าคงที่อัตราเร็วการดูดซึมยา
 Tmax = เวลาที่ตามเข้มข้นในพลาสมาสูงสุด
 Cpmax = ความเข้มข้นสูงสุดของ acyclovir ในพลาสมา
 AUC_{0- ∞} = พื้นที่ใต้โค้งความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ acyclovir ในพลาสมา

เอกสารอ้างอิง

1. Dorsky D, Crumpacker CS. Drug five years later. *Annals of Internal Medicine* 1987; 107: 859-74.
2. Fletcher CV. Pharmacologic basis for high dose oral acyclovir prophylaxis of cytomegalovirus disease in renal allograft recipients. *Antimicrobial Agents Chemotherapy* 1991; 35: 938-43.
3. Mckendrick MW, Care C, Burke C, Hickmott E, and Mckendrick GDW. Oral acyclovir in herpes zoster. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 1984; 14: 661-5.
4. Mostow SR, et al. Suppression of recurrent genital herpes by single daily dosage of acyclovir. *The American Journal of Medicine* 1988; 85: 30-3.
5. Molokhia AM, Niazy EM, EL-Hoofy SA, EL-Dardari ME. Improved liquid chromatographic method for acyclovir determination in plasma. *Journal of Liquid Chromatography* 1990; 13: 981-989.
6. Halford N. MKMODEL. Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, University of Auckland, School of Medicine, Private bag, Auckland, New Zealand, 1988.