



วารสารเภสัชวิทยา

THAI JOURNAL OF PHARMACOLOGY

ISSN 0125-3832

ม.ค. - มี.ค. 2527

ปีที่ 6 เล่มที่ 1

JAN.-MAR. 1984

VOL.6 NO.1

วารสารเภสัชวิทยา

THAI JOURNAL OF PHARMACOLOGY

วารสารทางวิชาการของ
สมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย

Official Publication of the
Pharmacological and Therapeutic
Society of Thailand

บรรณาธิการ EDITOR

บพิตร กลางกัลยา

Borpit Klangkalya

รองบรรณาธิการ ASSOCIATE EDITOR

ชัยชาญ แสงดี

Chaichan Sangdee

คณะกรรมการ EDITORIAL BOARD

กรทอง ทองขลิ

Krongtong Chawalit

กาญจนา เกษสะอาด

Kanchana Ketsa-ard

กำพล ศรีวัฒนกุล

Kampon Sriwatanakul

จงกล หนูขวัญ

Chongkol Nookkwun

จุฑามาศ สัตยวิวัฒน์

Jutamaad Satayavivad

ดาณิศ ทวีตยานนท์

Danis Davitiyananta

ทัศนัย สุริยจันทร์

Dhasanai Suriyachan

นพมาศ ว่องวิทย์เดชา

Noppamars Wongwitdecha

ประกร จุฑะพงษ์

Prakorn Chudapongse

ปราโมทย์ ชีรพงษ์

Pramote Teerapong

ปิติ ทฤษฎีกุล

Piti Trisdikoon

พรเพ็ญ เปรมโยธิน

Pornpen Pramyothin

พิสมัย เหล่าพิภรเกษม

Pisamai Laupattarakasem

ภักดี โพธิศิริ

Pakdee Pothisiri

เมธี สุวรรณนิช

Methi Sunbhanich

ยุพิน สังวรินทะ

Yupin Sanvarinda

ลัดดาวัลย์ สันญะปรีดากุล

Laddawan Sunyapridakul

วรา พานิชเกรียงไกร

Vara Panichkriangkrai

ศรีจันทร์ พรจิราศิลป์

Srichan Phornchirasilp

สมิง เก้าเจริญ

Sming Kaojarern

สมเกียรติ ทาจำปา

Somkiat Tachampa

อัมพวัน อภิสรียะกุล

Amphawan Apisariyakul

อานวย ธิฐาพันธ์

Amnuay Thithapandha

ผู้จัดการ MANAGER

สุมิตรา ไชยเสนะ

Sumitra Chaiyasena

สุเพ็ญ ปัทมกิจวานิช

Supen Patarakitvanich

สุภัททา เต็มบุญเกียรติ

Supatta Temboonkiat

อุบลวรรณ พงษ์ประยูร

Ubonwan Pongprayoon

ผู้ช่วยผู้จัดการ ASSISTANT MANAGER

สุเพ็ญ ปัทมกิจวานิช

Supen Patarakitvanich

สำนักงาน PUBLISHED BY

ภาควิชาเภสัชวิทยา

Department of Pharmacology

วิทยาลัยแพทยศาสตร์พระมงกุฎเกล้า

Pramongkutklao College of Medicine

ถนนราชวิถี กทม. 10400 โทร. 2458272

Rajavithi Road Bangkok 10400 Tel. 2458272

พิมพ์ที่ PRINTED BY

ไดมอนด์เพรส

Diamond Press

308/169 ถนนจรัญสนิทวงศ์ กรุงเทพฯ

308/169 Jaransanitwong Road Bangkok



สมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย
THE PHARMACOLOGICAL AND THERAPEUTIC SOCIETY OF THAILAND

คณะกรรมการบริหาร

EXECUTIVE COMMITTEE

นายก	President
พ.ท. ดร.พัฒน์ สุริยจันทร์	Dhasanai Suriyachan
อุปนายก	Vice-President
รศ. นสพ.ดาณิศ ทวีติยานนท์	Danis Davitiyananta
ผู้รั้งตำแหน่งนายก	President Elect
รศ. ดร.จุฑามาศ สัตยวิวัฒน์	Jutamaad Satayavivad
เลขาธิการ	Secretary-General
ภญ. ดร.ชวณี ทองโรจน์	Chavaneer Tongroach
เหรัญญิก	Treasurer
พ.ต.หญิง สุเพ็ญ ภัทรกิจวานิช	Supen Patarakitvanit
ปฎิคม	Reception Secretary & Public Relation
รศ. นสพ.สมเกียรติ ทาจำปา	Somkiat Tachampa
นายทะเบียน	Registrar
ผศ. ลัดดาวัลย์ การะโชติ	Laddawan Karachot
กรรมการวิชาการ	Chairman of Scientific Section
รศ. ดร. นพ.กำพล ศรีวัฒนกุล	Kampon Sriwatanakul
บรรณาธิการวารสาร	Editor
พ.ต. ดร.บพิตร กลางกัลยา	Borpit Klangkalya
กรรมการ	Member
รศ. นพ.ไพโรจน์ ศิริวงษ์	Pairojana Sirivongs
ผศ. ภญ.อุษณา หงส์วาริวัฒน์	Usana Hongvareewat
รศ. ดร.อรพรรณ มาตังคสมบัติ	Oraphan Matangkasombat
ภก. ดร.ภักดี โพธิศิริ	Pakdee Pothisiri
ผศ. พญ.นงลักษณ์ ชินสมบุญ	Nonglux Chinsomboon
ดร.อุดม จันทราภักษ์ศรี	Udom Chantharaksri

THAI JOURNAL OF PHARMACOLOGY

ISSN 0125-3832

Official Publication of the
Pharmacological and Therapeutic Society of Thailand

Published Quarterly

Aims and Scope

Thai Journal of Pharmacology publishes (within 4 months of acceptance) the article in all branches of pharmacology. Papers of the related biomedical sciences will also be considered for publication. Authors need not be members of the Pharmacological and Therapeutic Society of Thailand.

Call for Papers

The Editors will be pleased to receive contributions from authors for editorial consideration and rapid publication. Manuscript will be reviewed by the editorial board or the invited referee; the author will be notified of any change or suggestion for modification before the final typing and publication.

Manuscripts

Manuscripts will be classified as original article, case report, review article, general article, point of view, letter to editor, book review, and editorial; the language can be Thai or English. The original article, case report, and review article must contain a SUMMARY in English. References should be given as numbers in order of citation in the text, not in alphabetical order. Tables and figures, including footnotes, should be in the size not larger than 15 x 20 cm. Two copies of the manuscript should be sent to Borpit Klangkalya, Department of Pharmacology, Pramongkutklao College of Medicine, Rajavithi Road, Bangkok 10400, Thailand.

Subscription

Subscribers in Thailand	60 Baht/Year
Subscribers outside Thailand	U.S. \$20.00 /Year
	U.S. \$35.00 /2 Years

Prices include surface mail postage.

Please send subscription request and make cheque or money order payable to: Chainarong Cherdchu, Manager, Thai Journal of Pharmacology, Department of Pharmacology, Pramongkutklao College of Medicine, Rajavithi Road, Bangkok 10400, Thailand.

PROSPECTIVE STUDY OF ADVERSE REACTIONS OF ANTIEPILEPTIC DRUGS IN THAI OUTPATIENTS

Pakdee Pothisiri, Kittima Makarananda**, Kampon Sriwatanakul**,
Puntarika Charoonroj**, Ubonwan Pongprayoon**, and Siriphan Eamrungrongj**

** Food and Drug Administration, Ministry of Public Health and **Department
of Pharmacology, Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok, Thailand.*

SUMMARY

Adverse reactions of antiepileptic drugs were being monitored prospectively in 560 outpatients (52.9% male) suffering from convulsive disorders in two major Bangkok Metropolitan hospitals. The patients were interviewed by trained observers using an open-ended question and a check list of known adverse reactions at least twice after receiving the drugs. Patients' medical records were also reviewed. Six different anti-epileptic drugs were being prescribed in the descending order : phenobarbital (42.5%), phenytoin (38.8%), carbamazepine (8.6%), clonazepam (6.4%), primidone (3.0%), and sodium valproate (0.7%). Nineteen percents of the patients reported some adverse effects of which 25% were sedation. Other adverse reactions were also related to central nervous system e.g. dizziness, drowsiness, headache. No serious adverse effects were noted.

Epilepsy is a collective designation for a group of chronic central nervous system disorders having in common the occurrence of sudden and transitory episodes of abnormal phenomena of motor, sensory, autonomic or psychic origin (1). The ideal antiepileptic drug would obviously suppress all seizure without causing any unwanted effects. Unfortunately, the drugs used currently not only fail to control seizure activity in some patients, but they frequently cause a considerable array of adverse effects that range in severity from minimal impairment of the central nervous system to death from aplastic anemia (1).

As far as we know, comprehensive prospective surveillance programs to determine the incidence and severity of adverse reactions of anti-epileptic drugs in outpatient populations have not yet been conducted in Thailand. The outpatients setting would be a better representative of the

general population. Patients frequently do not follow direction carefully, so that overdose toxicity may result from the intake of much larger amounts of drugs than have been prescribed. The prospective nature of the study should provide more accurate data on adverse drug reactions than the retrospective studies.

MATERIALS AND METHODS

All patients in this study were outpatients visiting a medical clinic at the Outpatient Departments of Ramathibodi and Prasart Neurological Hospitals during July 1-November 30, 1983. The drugs used were prescribed by specialists at standard doses. The patients were interviewed by the trained observers at least twice after receiving the drugs. The questions being asked were both open-ended questions and a check list of possible adverse effects. All patients were free of cancer diseases and psychiatric problems. The patients who were seriously ill and unable to communicate were excluded.

Adverse drug reactions noted in this study were classified according to the criteria suggested by Irey (2).

Definite - a reaction which follows a reasonable temporal sequence from administration of the drug : which follows a known response pattern to the suspected drug. This reaction can be confirmed by improvement on stopping the drug (de-challenge); and reappearance of the reaction on repeated exposure (re-challenge).

Probable - a reaction which follows a reasonable temporal sequence from administration of the drug : which follows a known response pattern to the suspected drug. This reaction could be confirmed by de-challenge and could not be reasonably explained by the known characteristics of the patient's clinical state.

Possible - a reaction which follows a reasonable temporal sequence from administration of the drug : which follows a known response pattern to the suspected drug. This reaction could have been produced by the patient's clinical state or other modes of therapy administered to the patient.

Conditional - a reaction which follows a reasonable temporal sequence from administration of the drug : which dose not follow a known response pattern to the suspected drug. This reaction could not be reasonably explained by the known characteristics of the patient's clinical state. The function of this category is to retain temporarily those cases which may be manifesting a yet undescribed adverse drug reaction and allow later reclassification of the case when more information becomes available. This category prevents the loss of previously unsuspected drug reactions and help identify new adverse drug reactions.

Doubtful - any reaction which dose not meet the criteria above.

The severity of adverse drug reactions was classified according to Schimmel (3).

Minor adverse drug reaction - if the clinical manifestation was short and no specific treatment is needed.

Moderate adverse drug reaction - if the specific treatment were given or caused prolongation of hospitalization.

Table 1 Age and sex distribution.

Age(years)	Male		Female		Total	
	Number	%	Number	%	Number	%
15-20	76	25.7	68	25.7	144	25.7
21-30	120	40.5	85	32.2	205	36.6
31-40	56	18.9	73	27.6	129	23.0
41-50	23	7.8	16	6.1	39	7.0
51-60	11	3.7	15	5.7	26	4.6
61-70	8	2.7	2	0.8	10	1.8
71-80	2	0.7	5	1.9	7	1.3
Total	296	52.9	264	47.1	560	100

Severe adverse drug reaction - if it was life threatening or cause organ damage and lost of functions. Sometimes adverse drug reaction may result in death.

Other pertinent information such as age and sex were also analyzed to determine whether they would influence the development of adverse drug reactions. Descriptive statistics, paired t-test and contingency table analysis were used whenever appropriate.

RESULTS

Age, sex, disease and drugs

A total of 560 patients who suffered from convulsive disorders were monitored. Of which 47.1% were female as shown in Table 1. The patients' age ranged mostly between 15-40 years old (85.3%).

Six antiepileptic drugs used in this study were shown in Table 2. Phenobarbital and phenytoin were commonly prescribed (81.3%). Table 3 showed that 65.2% of the patients received more than one drug at a time (55.1 and 10.1% received two and more than two drugs respectively).

Adverse drug reactions

By using paired t-test to compare the results of an open-ended

Table 2 Antiepileptic drugs being prescribed.

Drugs	No. of patients	Percent
Phenobarbital	238	42.5
Phenytoin	217	38.8
Carbamazepine	48	8.6
Clonazepam	36	6.4
Primidone	17	3.0
Sodium Valproate	4	0.7

question and a check list of known side effects, we found that in order to assess the adverse reactions, the check list method significantly revealed more numbers of side effects as reported by the same patients than the open-ended question ($P < 0.05$).

As shown in Table 4, 18.9% of the patients developed adverse reactions. The reactions seemed to occur most often in the age range between 51-80 years old (34.8% of the patients in this age groups). The numbers of adverse drug reactions were significantly different among each age group (Contingency table analysis $P < .05$)

Table 3 The number of drugs received according to sex.

Number of drugs received	Male		Female		Total	
	Number	%	Number	%	Number	%
1	52	31.7	58	38.2	110	34.8
2	94	57.3	80	52.6	174	55.1
More than 2	18	11.0	14	9.2	32	10.1

Table 4 Incidence of adverse drug reactions (ADR) of antiepileptic drugs in patients with different age groups.

Age(years)	Male		Female		Total	
	ADR/Total	%	ADR/Total	%	ADR/Total	%
15-20	14/76	18.4	12/68	17.6	26/144	18.1
21-30	18/120	15.0	14/85	16.5	32/205	15.6
31-40	12/56	21.4	14/73	19.2	26/129	20.2
41-50	6/23	26.1	0/16	0	6/39	15.4
51-60	4/11	36.4	6/15	40.0	10/26	38.5
61-70	2/8	25.0	0/2	0	2/10	20.0
71-80	2/2	100.0	2/5	40.0	4/7	57.1
Total	58/296	19.6	48/264	18.2	106/560	18.9

Table 5 Incidence of adverse drug reactions according to number of drugs received.

Number of drugs received	Male		Female		Total	
	ADR/Total	%	ADR/Total	%	ADR/Total	%
1	16/52	30.8	14/58	24.1	30/110	27.3
2	12/94	12.8	9/80	11.3	21/174	12.1
More than 2	6/18	33.3	5/14	35.7	11/32	34.4

Table 6 Clinical manifestation of adverse drug reactions and the responsible drug.

Clinical manifestation	Pheno- barbital	Pheny- toin	Carbama- zepine	Clona- zepam	Primi- done	Total	Percent [*]
Neurological ^{**}	37	35	10	5	-	87	82.1
Lethargy	6	11	1	1	-	19	17.9
Gastro- intestinal	6	9	1	1	1	18	17.0
Cardio- vascular	3	10	1	1	-	15	14.2
Allergy	2	5	2	-	-	9	8.5
Respiration	2	3	2	1	-	8	7.5
Tremor	1	3	1	-	-	5	4.7
Urinary change	2	2	-	-	-	4	3.8
Eedema	-	2	1	-	-	3	2.8
Ear symptoms	-	3	-	-	-	3	2.8
Dryness of mouth	1	1	-	-	-	2	1.9
Total	60	84	19	9	1	173	
Percent ^o	34.7	48.5	11.0	5.2	0.6	100	

^{*}Percent of total patients reported adverse drug reactions (106 patients)

^o Percent of total symptoms reported by the patients (173 symptoms)

^{**} 25% were sedation, others included dizziness, headache, restlessness, depression and confusion.

Table 5 showed that patients received two drugs concurrently had less adverse reaction (12.1%) while patients with more than two drugs had 34.4% of this reaction. The relationship of adverse reaction and number of drugs prescribed were significantly different. ($P<0.001$)

Most of the side effects reported in this study (99.6%) were considered to be minor, no severe adverse reactions were noted. The clinical manifestations of adverse drug reactions were summarized in Table 6 along with the responsible drugs. Neurological symptoms (e.g. dizziness, drowsiness, headache) were the most common adverse effects (82.1%). There was no significant difference between each drug in producing the incidence of adverse effects as reported by the patients taking different antiepileptic drugs as shown in Table 7.

DISCUSSION

In our study we found that age might be one of the important factor in developing adverse drug reactions to antiepileptic drugs. All adverse reactions were considered to be mild and the patients can tolerate quite well to medication. The reactions occurred may be classified into

Table 7 The number of adverse drug reactions of each drug

Drug	Patients with ADR	Total patients	Percent
Phenobarbital	42	238	17.6
Phenytoin	43	217	19.8
Carbamazepine	12	48	25.0
Clonazepam	8	36	22.2
Primidone	1	17	5.9
Sodium Valproate	-	4	-

Contingency table analysis of reaction rate indicated no statistically significant difference among each drug.

possible and probable categories (2). These reactions also confirm the known pharmacological action of the drugs. No serious side effect was found.

The major factor in determining the choice of an appropriate anti-convulsant is the patient's type of epilepsy. Correct diagnosis of type of epilepsy serves narrow the choice of available anticonvulsants to a small group of appropriate drugs (4). Since most of the diagnoses noted in our study were labelled as "convulsive disorders", we did not know that the prescriptions followed the recommended guideline or not. Phenobarbital and phenytoin were the drugs most commonly prescribed in our study. These two drugs are widely used for the treatment of generalised epilepsy. So it is likely the most of our epileptic patients were of generalised type since this type of epilepsy comprises more than 85% of all incidence of epileptic seizure (4).

The traditional approach to antiepileptic drug treatment was to begin with one drug and to gradually increase its dosage until the seizures were controlled or until acute toxic symptoms developed in which case the dose was again slightly reduced. If seizures continued, then the next step was to add another drug and build its dosage up in the same way, and so on. Another approach was to begin the treatment with two drug (e.g. phenobarbital and phenytoin) in the hope that there was synergism and that small doses of two drugs were less toxic than a large dose of a single drug (5, 6). In our study more than 50% of the patients received these two drugs at a time and this group tended to have the least adverse reactions when compared to the patients received only one drug. Phenobarbital seems to be the drug of first choice in this study.

Convulsive disorder is a chronic disease which required long term treatment. The incidence of toxicity may increase and much of these toxic effects are directly related to the number of drug being given and some adverse reactions continue to emerge from time to time (6, 7). One of phenobarbital side effect is drowsiness which occurred in the first few weeks of the treatment. In our study, we found that after a period of time this drowsiness was subsided and if the drug was still used, insomnia may occur.

One of the problems in using drug combination is drug interaction which can precipitate toxicity or lead to loss seizure control (8). Many of drug interactions could and should be avoided by the use of single drug therapy whenever possible. In the case phenobarbital and phenytoin, phenobarbital which is an enzyme inducer can induce phenytoin metabolism and depress serum levels of the latter. Phenytoin itself can also raise serum levels of phenobarbital probably by inhibition of hydroxylation enzymes (9). The clinical significance of this drug interaction has not been well established.

The widespread practice of anticonvulsant polytherapy has many undesirable consequences and there is little evidence of clinical benefit (6). But in our study, using two drugs in combination had least side effects. For all the patients being studied, only nearly 20% had adverse reactions and most of them were considered to be mild and confirmed by the known pharmacological actions. Patients can tolerate quite well with these reactions. However, in general treatment of epilepsy, the disease should be treated in the simplest and most effective way with one or at the most, two drugs.

In recent years, newer anticonvulsant, valproic acid or sodium valproate has been associated with a worrying incidence of serious liver and pancreatic toxicity (7). In our study only 1% of the patients received sodium valproate. The number of the subjects were too small to assess the risks of this agent.

In this study, we did not detect any rare or unusual side effects. However, it can never be assumed that this same picture will be found in general practice or elsewhere. Since in the hands of specialists, proper selection and suitable titration of dosage may play a vital role in the safe uses of the drugs.

ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to thank the World Health Organization in providing the financial support. We are in debt to the Food and Drug Administration of Thailand, especially Dr. Chana Kumboonrat for helping us in applying

for the grant. The study will never be completed, if it has not been assisted by the generousities of the staff in Ramathibodi and Prasart Neurological Hospital. We are grateful to all of these people whose names cannot be fully listed. We do thank to Directors of these hospitals in letting us to conduct the study. Last of all, we wish to thank all the patients who were kind enough to tolerate our lengthy questions.

REFERENCES

1. Rall, T.W. and Schleifer, L.S. Drugs effective in the therapy of the epilepsies. In : The Pharmacological Basis of Therapeutics. Edited by A. Goodman Gilman, L.S. Goodman and A. Gilman, pp.448-474, Macmillan Publishing Co., New York, 1980.
2. Irey, N.S. Diagnostic problems and methods in drug-induced diseases. Part I. American Registry of Pathology, Armed Forces Institute of Pharmacology. Washington, D.C., 1966.
3. Schimmel, E.M. The hazards of hospitalization. Ann. Intern. Med. 60 : 100-110, 1964.
4. Eadie, M.J. Which anticonvulsant drug? Drugs 17 : 213-218, 1979.
5. Kutt, H. and McDowell, F.H. Neurological diseases, In : Drug Treatment: Principles and Practice of Clinical Pharmacology and therapeutics. Edited by G.S. Avery, p. 1090, ADIS Press, Australia, 1980.
6. Reynolds, E.H. and Shorvon. S.D. Single drug or combination therapy for epilipsy ? Drug 21 : 374-382, 1981.
7. Eadie, M.J. Anticonvulsant drug. An update. Drugs 27 : 328-363, 1984.
8. Eadie, M.J. and Tyrer, J.H. Anticonvulsant therapy, Pharmacological Basis and Practice. Churchill Livingstone, Edinburgh, 1980.
9. Lambie, D.G. and Johnson, R.H. The effect of phenytoin on phenobarbitone and primidone metabolism. J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry 44 : 148-151, 1981.

SMOOTH MUSCLE ACTIONS OF SOME THAI HERBAL CARMINATIVES

Ouay Ketusinh, Suwat Wimolwattanapun and Nantaporn Nilvises

Department of Pharmacology, Faculty of Medicine Siriraj Hospital,
Bangkok, Thailand.

SUMMARY

Crude extracts from five Thai medicinal plants traditionally employed as carminatives, viz :- *Zingiber officinale*, *Zingiber cassumunar*, *Murraya paniculata*, *Ocimum sanctum* and *Allium ascalonicum* were studied on guinea pig ileum and rat uterus. Tonicity of guinea pig ileum was lowered by *Z. officinale*, *Z. cassumunar* and *A. ascalonicum*, unaffected by *O. sanctum*; and conversely, contraction was induced by *M. paniculata*. *Z. cassumunar* exhibited the most potent tonicity-reducing action. Effects of acetylcholine and histamine were depressed by all extracts, whose effects were reversible upon washing. *Z. officinale* exhibited the most powerful blocking effect. Rat uterus was not affected by *Z. officinale*, *Z. cassumunar* and *M. paniculata* alone; but contraction was produced by *O. sanctum* and *A. ascalonicum*. All extracts inhibited the contraction response to acetylcholine. The inhibiting effects were reversible with all extracts except *Z. cassumunar*. There may be multiple mechanisms associated to the carminative and emmenagogue actions of the plants studied. Spasmolytic property may be only a part of the actions.

Use of medicinal plants are being encouraged in developing countries as remedies for various diseases. The encouragement is concerned with the need for low cost treatment in conformity with the World Health Organization Primary Health Care Programme. The present study was conducted to determine whether five commonly used Thai medicinal plants, viz:- *Zingiber officinale*, *Zingiber cassumunar*, *Murraya paniculata*, *Ocimum sanctum* and *Allium ascalonicum* had any action on smooth muscle of the gastrointestinal tract and the uterus, which would warrant their use as carminatives and emmenagogues respectively.

Z. officinal Rosc. is generally known as ginger . Its rhizome is hot and diaphoretic and is used as a remedy for fever and diarrhea, as emmenagogue, and more commonly as carminative. Reported

constituents are zingiberol, zingiberene, gingerol and zingerone. The volatile oil consists mostly of terpenes, phellandrene, dextrocamphene, the sesquiterpene zingiberene, zingerone, resins and starch(1).

Z. cassumunar Roxb. is similar to *Z. officinale* in its texture. The rhizome is also used as antipyretic, antidiarrheal, laxative, emmenagogue and carminative.

Murraya paniculata L. leaves are used for tapeworm infestation, dysentery, diarrhea, flatulency, and to stimulate menstrual discharge. Reported constituents are a glycoside murrayin and an essential oil, the chief component of which is cadinene.

Ocimum sanctum L. is generally known as sacred basil. The leaves are used as expectorant in bronchitis, as carminative, for the treatment of peptic ulcer and sometimes for irregular menstruation. Reported constituents of the volatile oil are methyl chavicol, cineole; linalol, methyl homoanistic acid, caryophyllene, eugenol, eugenol methyl ether and carvaerol. The mucilage contains hexuronic acid, pentoses, and ash; on hydrolysis it was found to contain xylose(1).

Allium ascalonicum L. exists in the form of tubers of which the texture is similar to onion, but the size is smaller. The bulb is reported to be useful for colds, as diuretic, purgative, and also carminative.

MATERIALS AND METHODS

Guinea pigs were fasted overnight and the terminal ileum was dissected in length of 1.5-2 cm. Young female rats in the estrous phase, identified by the vaginal smear, were sacrificed, and uterus was taken for the experiment.

Physiological salt solutions to be used were:

Tyrode's solution for guinea pig ileum and Munsik's solution for rat uterus.

The organ bath was adjusted to a constant temperature of 37°C. Other equipments that were used included a mechano-electrical transducer, biogastab V, an amplifier for the transducer, and a multipen recorder.

Preparation of Extracts

Crude extracts of the plants were prepared as follows :-

1. *Z. officinale*. Five hundred grams of chopped rhizome were macerated in sufficient 95% ethyl alcohol for 24 hours. The filtered extract was evaporated to a syrupy consistency. Five hundred milligrams of the extract were dissolved in 10 ml. of distilled water for the experiment.

2. *Z. cassumunar*. The extract was prepared as in 4.1 . Concentration of 20 mg. per ml. was used.

3. *M. paniculata*. Ten grams of the leaves were chopped up, mixed with some water, ground and strained. The volume was made up to 40 ml. with water.

4. *O. sanctum*. Aqueous extract of the leaves was prepared as in 4.3; it was made up to a concentration of 10 g. in 40 ml.

5. *A. ascalonicum*. Extract of the tuber was prepared similarly to 4.3 . The concentration used was 750 mg. per ml.

Control agents

5.1 Acetylcholine in concentrations ranging from 1 : 2,000 to 1 : 400,000 was used selectively according to the response of the smooth muscles to 0.2 ml. of the agent solution, i.e., the concentration which was sufficient to exhibit control submaximal contraction.

5.2 Histamine in the concentrations of 1 : 2,000 to 10,000. was used.

Procedure

The general scheme of study was prepared as describe elsewhere(2). In short, control submaximal contractions of the smooth muscle were first elicited by using 0.2 ml. of appropriate concentration of acetylcho-

line and /or histamine solution. An extract was administered into the tissue bath in serial volumes. One minute later, 0.2 ml. of acetylcholine or histamine was applied, and any change in response was observed. The tissue was then washed with physiological salt solution. Equal intervals of three minute were allowed after each set administration of control drug and/or extract.

RESULTS

Effects on Guinea Pig Ileum

Z. officinale

Tonicity of the ileum was slightly lowered by the extract of *Z. officinale*. The responses were dose-related. When the extract was administered one minute prior to acetylcholine or histamine, the contraction responses of the ileum to these latter agents were lessened. After pretreatment with 0.2 ml. of the extract, the average amplitudes of contraction exhibited by acetylcholine and histamine were approximately 38% and 36% of the control respectively. The depressing effect was reversible upon washing but not completely.

Z. cassumunar

Tonicity of the ileum was apparently diminished by the extract of *Z. cassumunar* (figure 1). Compared to the effect of *Z. officinal*, *Z. cassumunar*, in spite of the lower concentration, exhibited more potent tonicity-lowering effect. Effects of acetylcholine and histamine were also diminished by the extract. After pretreatment with 0.2 ml. of the extract, the average amplitudes of contraction were 75% for acetylcholine and 89% for histamine as compared to control contractions. The blocking effects were completely reversible upon washing.

M. paniculata

The extract of *M. paniculata*, in contrast to others, stimulated contraction of the intestine in a dose-related manner (figure 2). Nevertheless, the contraction responses to acetylcholine and histamine were

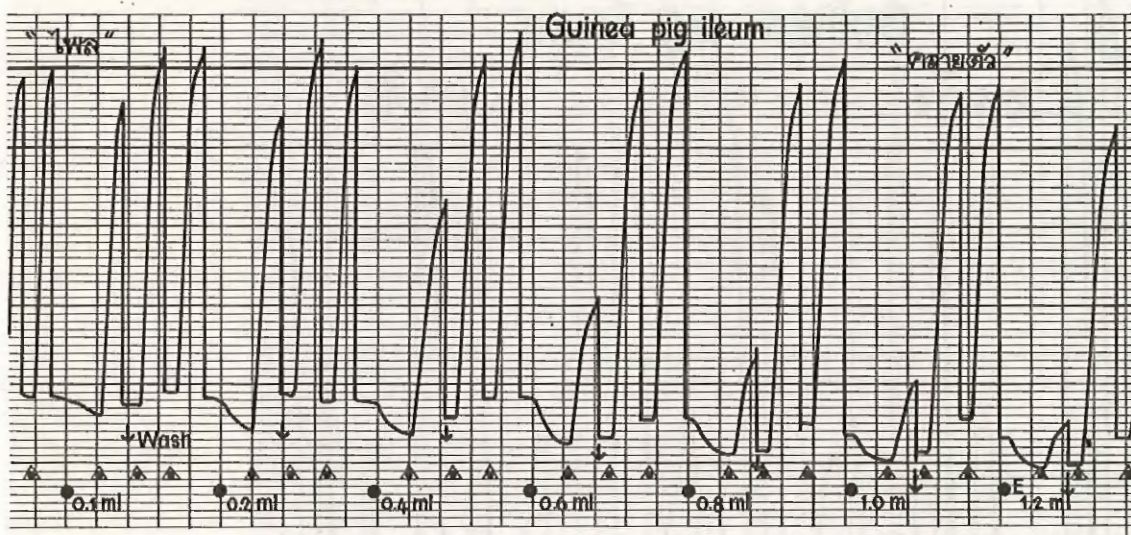


Fig. 1 The effect of Zingiber cassumunar on guinea pig ileum
 Δ = Histamine; ● = Extract of Z. cassumunar

lowered by the extract. The contractions were lessened to about 36% and 84% of the control respectively; the inhibiting actions were reversible.

O, sanctum

The extract possessed no activity on the ileum, but blocked the spasmogenic action of acetylcholine and histamine which were given afterwards. The average amplitudes of contraction elicited by acetylcholine and histamine after pretreatment with O, sanctum extract were 81% and 30% of the control respectively. The blocking actions of the extract were completely reversible.

A, ascalonicum

Usually the crude extract of A, ascalonicum relaxed the guinea pig ileum. Occasionally, high doses of the extract stimulated the tissue. The responses were dose-related. Acetylcholine and histamine activities were inhibited by preceding administration of the extract which reduced the responses to the two agents to approximately 68% and 80% of the control respectively. These actions were reversible.

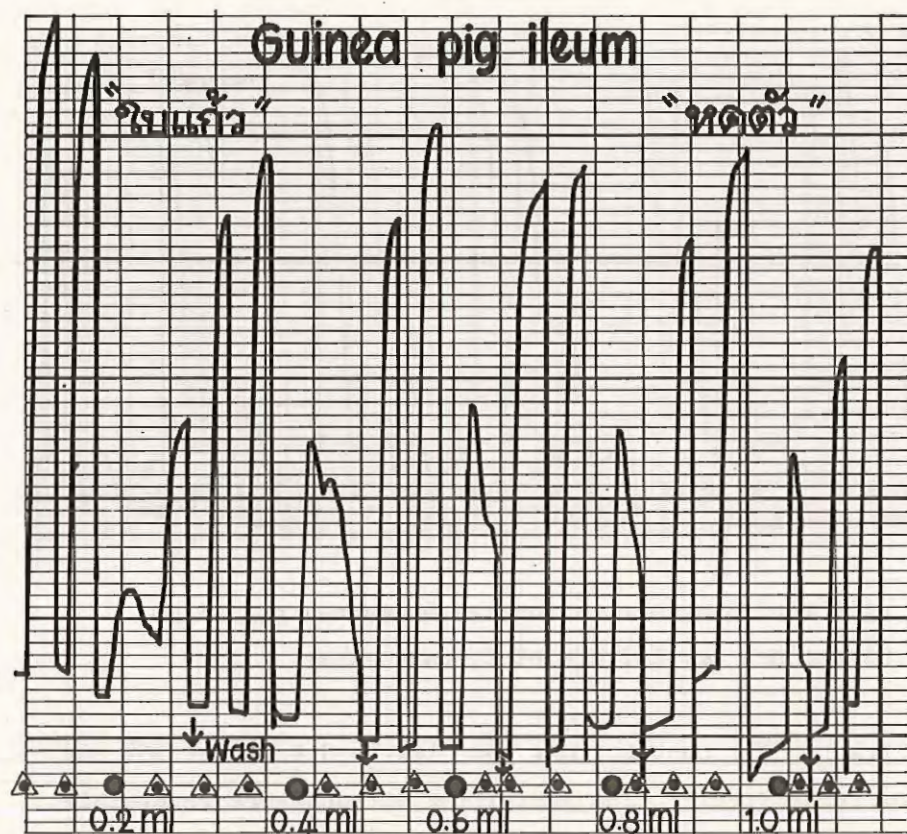


Fig. 2 The effect of *Murraya paniculata* on guinea pig ileum
▲ = Histamine; ● = Extract of *M. paniculata*

Effects on Rat Uterus

Extracts of *Z. officinale*, *Z. cassumunar* and *M. paniculata* when given alone exhibited no effect on rat uterus (figure 3). When 0.2 ml. of acetylcholine was dropped into the tissue bath one minute after dosing of either extract, contractions were induced but with reduced amplitudes as compared to acetylcholine alone. The depressing effects of *Z. officinale* and *Z. cassumunar* were irregularly related to dose. The average amplitudes of contraction produced by 0.2 ml. of the extracts of *Z. officinale*, *Z. cassumunar* and *M. paniculata* were 65%, 76% and 50% of the control respectively. The actions were partially reversible in the case of *Z. officinale* and *M. paniculata*, but irreversible in *Z. cassumunar*.

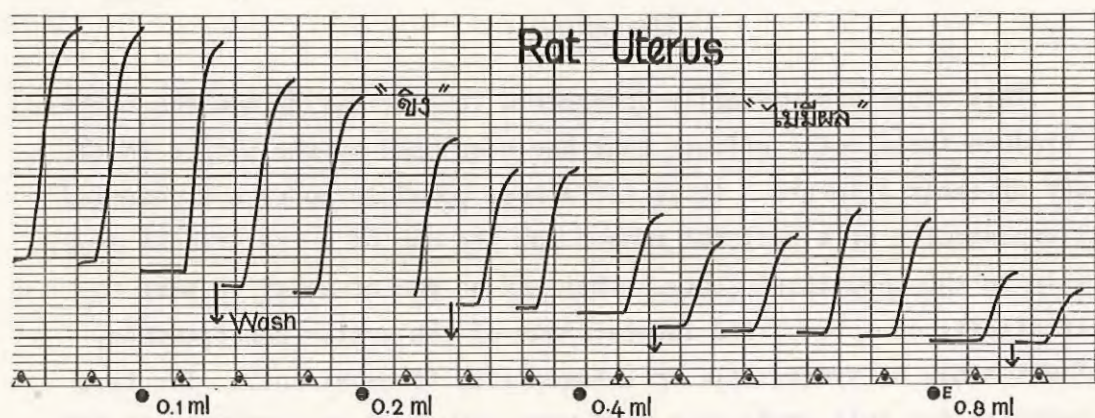


Fig. 3 The effect of *Zingiber officinale* on rat uterus

▲ = Acetylcholine; ● = Extract of *Z. officinale*

Conversely, extracts of *O. sanctum* and *A. ascalonicum* stimulated contractions of rat uterus (figure 4). The effects were regularly related to dose. Moreover, the effects of acetylcholine on the uterus were also blocked by both extracts given previously.

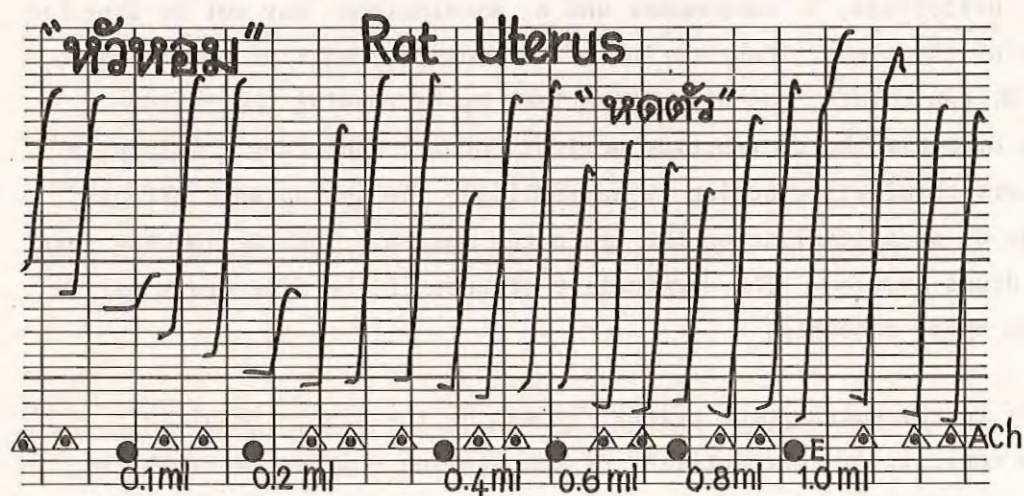


Fig. 4 The effect of *Allium cepa* on rat uterus

▲ = Acetylcholine; ● = Extract of *A. cepa*

DISCUSSION

This study was primarily interested in elucidating how the herbs act to produce therapeutic effects that has been used by the people in the treatment of their ailments. It is not always possible to give a pharmacological explanation or a rational reason for the use of a traditional drug, especially in the unpurified state. This may be due at least in part to the multiplicity of actions and interactions of the active constituents, some of which may be synergistic or antagonistic to each other. The five drugs selected for this study have been popularly used as carminatives and emmenagogues for hundreds of years, and all still enjoy a very good reputation.

This study showed that *Z. officinale*, *Z. cassumunar* and *A. ascalonicum* relaxed the guinea pig ileum, while *M. paniculata* contracted. *O. sanctum* was inactive. There were discrepancies in these effects, and yet all are efficacious carminatives. This finding indicated a multiplicity of the mechanisms of action of carminative drugs. The textbook explanation that relief of tympanites results from the carminative relaxing the cardiac sphincter, and so allowing the accumulated gases to escape, as seen in the cases of *Z. officinale*, *Z. cassumunar* and *A. ascalonicum*, may not be true for all members of the class. Contraction of the muscular wall of the stomach, such as by *M. paniculata*, may also be effective, by increasing the inside pressure to overcome the obstructing activity of the sphincter. Lastly, a drug may exert carminative action by neutralising the spasmogenic effects of histamine or acetylcholine on the sphincter muscle. This action was seen in all the drugs studied. The carminative effects of the five drugs may be explained on these concepts.

As to the emmenagogue effect, it may be the simple result of increase in tonicity or contractility of the uterine muscle, as exhibited by *O. sanctum* and *A. ascalonicum*. Antihistamine and anti-acetylcholine actions may be helpful in spasmodic dysmenorrhea. This line of activity has been found in all five drugs.

ACKNOWLEDGEMENT

We wish to acknowledge the very valuable technical assistance of Mrs. Walla Wammanutchinda and Mr. Boonsom Wannaverakul.

REFERENCES

1. Perry, L.M. and Metzger, J. Medicinal plants of East and Southeast Asia: Attributed Properties and Uses. The MIT Press, Cambridge, 1980.
2. The Staff of the Department of Pharmacology, University of Edinburgh Pharmacological Experiments on Isolated Preparations. E & S Livingstone Ltd. Edinburgh, 1968.
3. Thai Materia Medica (various, in Thai). Bangkok.

ขอเชิญเข้าร่วมประชุมวิชาการ และเสนอผลงานวิจัย
ใน
การประชุมสามัญและวิชาการประจำปี
ของ
สมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย

ณ
ห้องประชุมวิทยาลัยแพทยศาสตร์พระมงกุฎเกล้า

วันที่ 1 - 3 พฤษภาคม 2528

มีเรื่องที่น่าสนใจมากมาย อาทิ เช่น

- การอภิปรายกลุ่ม - Management of Peptic Ulcer
- Anti-atherosclerotic Agents
- Pharmacological Basis of
Neuropsychiatric Disorders

การบรรยายพิเศษ - ปัญหาหลักแห่งชาติ

- New Thought on the Uses of Calcium Blockers
- Drug-Receptor Update
- Antifungal Agents
- Antiviral Agents
- Chemical Warfare

นอกจากนี้ ยังมีการเสนอผลงานวิจัยที่น่าสนใจจากสถาบันต่างๆ อีกเป็นจำนวนมาก

อย่าพลาด !! เป็นโอกาสดีที่ท่านจะได้พบปะสังสรรค์กับสมาชิก เพื่อนฝูง
และนักวิชาการชั้นนำ ในบรรยากาศที่เป็นกันเอง

บทความวิจัย

ปริมาณโซเดียมในยาลดกรด

ประเสริฐศักดิ์ ตูจิ้นดา* ประสาท วานเครือ** และ กรุงไกร เจนพาณิชย์*

* ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล และ ** ภาควิชาเคมีคลินิก

คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล

Sodium Content in Antacids

Prasertsak Tuchinda, Prasart Vankrua and Krungkrai Chenpanich

Faculty of Medicine Siriraj Hospital and Faculty of Medical Technology,
Mahidol University, Bangkok, Thailand,

SUMMARY

Antacids are widely used in the treatment of gastric and duodenal ulcers. Both patients and physicians may not be aware of possible harm due to the presence of high levels of sodium salts in these drugs; the cases of weight gain and edema have been reported in Western literatures. This study aimed to estimate sodium levels in various antacid preparations obtained from the market and from hospitals in Bangkok. Number of these preparations contained very high level of sodium. These preliminary data indicate that number of antacid preparations in the market may have too high sodium level and may not be safe to the patients, especially to patients who require salt restriction.

การใช้ยาลดกรดเพื่อรักษาและระงับอาการที่เกิดขึ้นในผู้ป่วยที่มีแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้น ซึ่งมีอาการปวดท้อง ท้องอืดเฟ้อ และอาการอื่น ๆ ของระบบทางเดินอาหาร เป็นที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย แพทย์จำนวนมากรวมทั้งผู้ป่วยที่ใช้ยาเหล่านี้รักษาตนเอง มิได้คำนึงถึงผลเสียที่อาจจะเกิดขึ้นเนื่องจากปริมาณของเกลือโซเดียมที่มีปะปนอยู่ในยาลดกรดเหล่านั้น ทั้ง ๆ ที่ส่วนประกอบของยาไม่บ่งว่ามีเกลือโซเดียมผสมอยู่ด้วยเลย สิ่งที่เราควรระมัดระวังที่อาจเป็นอันตรายอย่างยิ่ง คือผู้ป่วยที่ไตพิการอย่างรุนแรง โรคตับแข็ง โรคหัวใจ ความดันโลหิตสูง หรือโรคใดก็ตามที่ต้องจำกัดเกลือ การใช้ยาลดกรดก็อาจจะเป็นอันตรายต่อผู้ป่วยเหล่านั้นเป็นอย่างมาก หรือทำให้อาการที่เป็นอยู่กลับเป็นรุนแรงขึ้นได้

ในประเทศไทยมีการใช้ยาลดกรดมากมาย ทั้งที่ผู้ป่วยซื้อรับประทานเองและโดยแพทย์สั่ง ในปีหนึ่ง ๆ โรงพยาบาลต่าง ๆ ใช้ยาลดกรดเป็นจำนวนมาก ดังนั้นการหาปริมาณของโซเดียมในยาลดกรดชนิดต่าง ๆ ที่อยู่ในรูปยาน้ำ จึงน่าจะเป็นประโยชน์อย่างมากในการป้องกันผลเสียที่อาจเกิดขึ้นและช่วยกระตุ้นเตือนแพทย์ผู้ที่สั่งยาให้แก่ผู้ป่วยที่ต้องจำกัดเกลือและใช้ยาเป็นระยะเวลานาน ให้ระมัดระวังเกี่ยวกับเรื่องนี้ไว้บ้าง รายงานนี้เป็นผลการตรวจหาปริมาณโซเดียมในยาลดกรดซึ่งใช้กันอยู่อย่างแพร่หลายในประเทศไทย

วิธีการศึกษา

ได้ตรวจหาปริมาณโซเดียมจากยาลดกรดชนิดน้ำ ซึ่งจัดซื้อจากร้านค้าและโรงพยาบาลต่าง ๆ ในเขตกรุงเทพมหานครในช่วงปี พ.ศ.2522 - 2523 รวม 32 ชนิด โดยใช้วิธีมาตรฐาน (1-5) ซึ่งเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย ดังนี้

Flame Photometry Analysis

ใช้ยาลดกรด 25 มล.ผสมกับน้ำกลั่นที่ขจัดแร่ธาตุแล้ว 25 มล.ใน volumetric flask เขย่าอย่างแรงจนรวมเป็นเนื้อเดียวกัน แบ่งใส่ใน centrifuge tube นำไปปั่นด้วยเครื่องปั่น ความเร็ว 5000 รอบต่อนาที ประมาณ 20 นาที แยกเอาส่วนใสข้างบนมาเจือจางด้วยน้ำยา 0.02% Sterox ในอัตราส่วน 1:100 แล้วนำไปทดสอบหาปริมาณโซเดียมด้วยเครื่องทดสอบ Flame photometer โดยเปรียบเทียบกับน้ำยาโซเดียมมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 140 มิลลิโมล/ลิตร ก็จะสามารถทราบปริมาณของโซเดียมในยาลดกรดได้ แม้ว่าจะมีปริมาณของโซเดียมอยู่จำนวนเล็กน้อย

วิธีการทดสอบนี้ เป็นการทดสอบหาปริมาณโซเดียมได้อย่างแม่นยำ แต่การเตรียมสารตัวอย่างตามข้างต้นยังไม่สามารถชี้ชัดว่าได้แยกส่วนของโซเดียมออกมาสมบูรณ์หรือไม่ แต่ก็เห็นแนวทางชี้แนะให้ทราบว่าในยาลดกรดแต่ละชนิดมีโซเดียมปะปนอยู่หรือไม่

Adapted Gravimetric Analysis

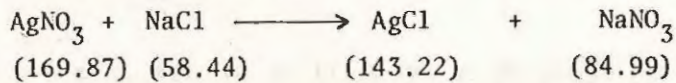
ทดสอบหาน้ำหนักของสารในตัวอย่างโดยเทียบจากจำนวนน้ำหนักของสารอื่นซึ่งทำปฏิกิริยากันตามจำนวนสมมูลย์ทางเคมี ใช้สารตัวอย่าง 100 มล. ใช้ น้ำยาทดสอบคือ 5% AgNO_3 solution และ Conc. HNO_3

1) นำยาลดกรดชนิดน้ำ 100 มล. (เขย่าแรง) เทใส่ใน gooch crucible นำไปกรองลงใน suction flask แยกน้ำกรองใส่ในบีกเกอร์

2) เติม 5% AgNO_3 ลงไปช้า ๆ พร้อมกับคนไปด้วยจน AgCl ตกตะกอนสมบูรณ์หมดแล้ว จึงเติม conc. HNO_3 3 มล. เขย่าให้เข้ากัน นำไปต้ม 2-3 นาที นำออกมา ตั้งทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

3) กรองเช่นเดียวกันกับในข้อ 1) แล้วเอาสิ่งเหลือค้าง (Residue) ไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 105° ซ. นาน 1 ชั่วโมง นำสิ่งเหลือค้างไปชั่งน้ำหนัก เพื่อคำนวณหาปริมาณโซเดียม

จากปฏิกิริยาในข้อ 2 จะได้สมการ ดังนี้



1 molecule NaCl (58.44 g.) = 1 molecule AgCl (143.22 g.)

คือ AgCl 1 g. = NaCl = 58.44/143.22 = 0.4078 g.

ถ้า AgCl r g. = NaCl = 0.4078 x r g.

แสดงว่า สารตัวอย่าง 100 มล. ซึ่งทดสอบได้สิ่งเหลือค้าง r กรัม จะมี NaCl-0.4078 x r g.

คิดเป็นปริมาณโซเดียม

$$= \frac{\text{Na}}{\text{NaCl}} \times 0.4078 \times r$$

$$= \frac{22.99}{58.44} \times 0.4078 \times r$$

$$= 0.16042 \times r \text{ g.}$$

$$\text{หรือ} = 160.42 \times r \text{ mg \%}$$

หมายเหตุ

1) วิธีนี้เป็นการทดสอบหา NaCl ละน้โซเดียมที่รวมอยู่กับสารประกอบอื่น จึงไม่สามารถจะทดสอบหาได้ เช่น sodium bromide เป็นต้น

2) เติม conc. HNO₃ ลงไป เพื่อให้เป็นกรด (ใช้กระดาษลิตมัส ทดสอบ) และในสภาวะที่เป็นกรดนี้ จะป้องกันมิให้สารอื่น ๆ ตกตะกอน ทั้งนี้เพราะสารบางอย่างละลายได้ในกรด HNO₃ แต่ไม่ละลายในน้ำ เช่น carbonates, oxides, phosphates เป็นต้น

3) คั้นในน้ำเดือด 2-3 นาที เพื่อละลายตะกอนที่มีลักษณะ coagulate ทำให้ไม่มีตะกอน มีผลให้ได้ supernatantใส

4) สิ่งเหลือค้างที่ได้ ต้องไม่ให้ถูกกับแสงสว่างหรือแสงอาทิตย์อย่างแรง เพราะ AgCl จะสลายแล้วทำให้เสีย chloride ไป

ผลการทดลอง

จากการหาปริมาณของโซเดียมในยาลดกรด ทั้งที่เป็นยาต่างประเทศและยาที่ผลิตภายในประเทศ พบปริมาณโซเดียม ทั้งในระดับต่ำและระดับสูง ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ระดับของโซเดียมที่วัดได้จากยาลดกรดชนิดต่างๆ

ชื่อยา	ระดับของโซเดียม		ชื่อยา	ระดับของโซเดียม	
	mg%	mmol/l		mg%	mmol/l
Akadon	138.0	60.0	Amagin	115.0	50.0
Almag	92.0	40.0	Amphogel (รพ. เลิดสิน)	60.0	26.0
Almagel	124.2	54.0	Antasil gel	184.0	80.0
Alugas	184.0	80.0	Asilone	68.8	30.0
Alum milk	156.5	72.0	Beri-Gel	153.6	68.0
Alum milk (รพ.พระมงกุฎเกล้า)	46.2	20.0	Chulamin (รพ.จุฬาลงกรณ์)	64.6	28.0
Alum milk (รพ.เลิดสิน)	4.6	2.0	Gelusil	105.8	46.0
Alum milk (รพ.ศิริราช)	116.2	52.0	Maalox	32.2	14.0
Alumin	101.2	44.0	Machto Gel	177.4	78.0
Aluminium hydroxide gel (คาเธย์ เคมีคอล)	161.0	70.0	Milk of magnesia ((รพ.จุฬาลงกรณ์)	18.5	8.0
Aluminium hydroxide gel (องค์การเภสัชกรรม)	128.8	56.0	Mist. alkaline (รพ.วชิรพยาบาล)	2779.8	1208.0
Aluminium hydroxide gel (รพ.จุฬาลงกรณ์)	69.6	30.0	Mixture antacid	239.0	104.0
Aluminium hydroxide gel (รพ.พระมงกุฎเกล้า)	197.8	86.0	Phillips milk of magnesia	-*	-*
Aluminium Olan	46.0	20.0	Riopan	9.2	4.0
Alusil	184.0	80.0	Rioplus	13.7	6.0
			Wyeth Aludrox	23.0	10.0
			Wyeth Simeco	18.6	8.0

บทวิจารณ์

ยาลดกรดชนิดน้ำ 32 รายการ ที่ในส่วนประกอบไม่บ่งว่ามีเกลือของโซเดียมผสมอยู่ แต่สามารถตรวจหาโซเดียมอยู่ด้วย ทั้งในระดับต่ำและสูง มีตัวอย่างยาหลายชนิดที่มีปริมาณโซเดียมอยู่สูงกว่า 100 mg% และบางชนิดมีระดับสูงกว่า 1000 mg% มีเพียงตัวอย่างเดียวที่ตรวจไม่พบปริมาณของโซเดียมจากความไวของวิธีที่ใช้ การมีปริมาณโซเดียมอยู่เป็นจำนวนมากในยาเหล่านี้ อาจมาจากเหตุผลหลายประการ เช่น

1) การเติมสารถนอม (preservative) (6) เพื่อให้ยาลดกรดเก็บไว้ได้นาน ไม่เสีย โดยเติมสาร Sodium benzoate 0.5% W/W

2) การทำให้ยาลดกรดมีลักษณะเป็น gel, colloid (7,8) suspension, หรือ magma (9) ซึ่งจะทำให้ยาลดกรดรวมตัวกันได้ดี ไม่ตกตะกอน และกระจายคุมแผลดีขึ้น จะต้องเติม colloidal electrolyte เช่น sodium oleate, sodium dodecyl sulphate สารที่ใช้เป็น suspending agent ก็มีโซเดียมผสมอยู่ เช่น sodium carboxymethylcellulose และการผสมทำให้เป็น magma ก็ต้องผสม sodium silicate ลงไป

3) การแต่งรส เช่น รสหวาน เพื่อให้รับประทานง่ายขึ้น ใช้ saccharin sodium (6,8-10)

4) วิธีการทำยา (processing) ในการเตรียมยาลดกรดบางตัว ต้องใช้สารหลายชนิดมาทำปฏิกิริยาทางเคมี เช่น

Bismuth subcarbonate (9) ต้องใช้ sodium carbonate ในการเตรียม

Magnesium trisilicate (9) ต้องผสมกับ sodium silicate

Aluminium hydroxide gel (6) ต้องผสม aluminium chloride, sodium carbonate และ sodium bicarbonate เข้าด้วยกัน แล้วเติม sodium benzoate และ glycerin

Magnesium hydroxide (11) ต้องผสมเกลือของ magnesium sodium hydroxide

จากสารเคมีดังกล่าวข้างต้น จึงทำให้มีเกลือของโซเดียมเป็นสิ่งแปลกปลอมเข้าไปอยู่ในตัวยาลดกรด แม้จะกรองหรือล้างออก ก็ไม่สามารถจะจัดเกลือของโซเดียมให้หมดได้

มีรายงานผู้ป่วยที่มีอาการแทรกซ้อนเกิดขึ้น เนื่องจากการใช้ยาลดกรดที่มีเกลือโซเดียมปะปนอยู่นี้หลายราย เช่น Rimer และคณะ (12) รายงานผู้ป่วย 2 ราย ราย

แรก เป็นหญิงอายุ 58 ปี ป่วยเป็นโรคตับแข็ง (Laennec's cirrhosis) มาโรงพยาบาลด้วยอาการของ chronic liver insufficiency, ascites และ edema น้ำหนักตัวแรก 57.7 กิโลกรัม ได้รับการรักษาโดยให้ยาลดกรด ชื่อ Trinesia^R (ประกอบด้วย aluminium hydroxide, magnesium trisilicate และ carboxymethyl-cellulose) นาน 6 วัน น้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นจากเดิมเป็น 60.9 กิโลกรัม ascites และ edema มากขึ้น ภายหลังหยุดยา Trinesia^R น้ำหนักตัวเริ่มลดลงและอาการบวมก็ลดลงด้วย แพทย์พบว่า ยาลดกรดชนิดนี้มีโซเดียม 123 มิลลิกรัม ในตัวยา 30 มิลลิกรัม ผู้ป่วยรายนี้รับประทานยาวันละ 4 ครั้ง ซึ่งเท่ากับได้โซเดียมวันละ 492 มิลลิกรัม

ผู้ป่วยรายที่สอง เป็นชาย อายุ 57 ปี ป่วยด้วยโรค coronary artery disease และบางครั้งมี congestive heart failure ด้วย โรคที่เป็นร่วมด้วย คือ duodenal ulcer น้ำหนักตัวแรก 55.5 กิโลกรัม ผู้ป่วยได้รับการควบคุมอาหาร low salt diet อย่างเคร่งครัด เนื่องจากผู้ป่วยมีอาการปวดท้อง แพทย์จึงให้ยาลดกรด Trinesia^R ครั้งละ 30 มิลลิกรัม วันละ 4 ครั้ง ภายหลังที่ให้ยาลดกรด 1 สัปดาห์ ผู้ป่วยเริ่มมีอาการ cardiopulmonary congestion และมี edema 3⁺ ทั้ง ๆ ที่ก่อนหน้านี้ไม่มีการบวมเลย น้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นเป็น 60.9 กิโลกรัม เมื่อแพทย์หยุดให้ยา Trinesia^R อาการดังกล่าวดีขึ้นเรื่อย ๆ จนหายไป แม้ว่าภายหลังที่อาการดีขึ้นแล้ว แต่ผู้ป่วยก็ยังมีอาการหอบเหนื่อยเป็นบางครั้ง ซึ่งก็ไม่มากและรุนแรงเท่ากับระหว่างที่ได้ยาลดกรด แพทย์ผู้รักษาให้ความเห็นว่า โซเดียมที่มีปะปนอยู่ ช่วยเสริมให้อาการรุนแรงขึ้นและบวมมากขึ้น Bockus (13) ได้สนับสนุนรายงานดังกล่าวและแสดงปริมาณของโซเดียมและโปแตสเซียมในยาลดกรดไว้ในหนังสือที่เขาเขียน Whitaker และคณะ (14) ก็บรรยายเกี่ยวกับโซเดียมที่มีปะปนในยาลดกรดไว้ในหนังสือ Current Therapy ด้วยเช่นกัน นอกจากนี้ยังมีหนังสือที่อ้างถึงเรื่องเหล่านี้เหมือนกันนี้อีกหลายเล่ม (15) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง Bleifer และคณะ (1959)(16) ได้ทดลองหาปริมาณโซเดียมที่มีปะปนในยาลดกรด 4 ชนิด

บริษัทต่าง ๆ ที่ทำยาลดกรดชนิดนี้ได้ออกจำหน่ายตามท้องตลาด ที่ตลาดหรือเอกสารที่แนบมาด้วยจะบอกเพียงว่า ตัวยาประกอบด้วยยาที่ออกฤทธิ์ชนิดใดบ้างและมีปริมาณเท่าใด แต่ไม่ได้บอกว่ามีสิ่งแปลกปลอมต่าง ๆ ดังกล่าวติดมากับยานั้นเลย

การใช้ยาลดกรดชนิดเม็ด มีข้อดี คือ ส่วนใหญ่ปริมาณโซเดียมที่มีปะปนอยู่มีปริมาณน้อยกว่าชนิดน้ำมาก แต่เหตุที่ไม่นิยมใช้เพราะฤทธิ์ลดกรดและการควบคุมผลดีไม่เท่ายาลดกรดชนิดน้ำ (12) ผลที่ได้จากการทดลองนี้ เป็นเครื่องเตือนว่า การใช้ยาลดกรดในผู้ป่วยบางกลุ่ม จำเป็นต้องเพิ่มความระมัดระวังให้มากยิ่งขึ้น เช่น การใช้ยาลดกรดในผู้ป่วยที่ต้องจำกัดเกลือ ไม่ควรใช้ยาลดกรดที่มีเกลือโซเดียมผสมอยู่ในปริมาณสูง

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากทุนอุดหนุนการวิจัย ของมหาวิทยาลัยมหิดล ประเภทเงิน
งบประมาณประจำปี 2523 (ประเภท ข) โครงการที่ ก 11-2523

ผู้รายงานขอขอบคุณ รศ.พญ.ประภัสสร จุลกะรัตน์ หัวหน้าภาควิชาเภสัชวิทยา คณะ-
แพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล ศศ.ประยูร ทวีไพโรจน์ อดีตหัวหน้าภาควิชาเคมีคลินิก คณะเทคนิค-
การแพทย์ น.พ.สุวัฒน์ วิมลวัฒนาภักดิ์ และคุณบัณฑิต เพชรเรืองรอง ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะ-
แพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล ที่ได้กรุณาให้การสนับสนุนงานวิจัยนี้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. Mark, D.D. and Zimmer, A. Atlas of Clinical Laboratory Procedures, Vol.1
Clinical Chemistry. pp.152-153, McGraw-Hill, Inc, 1967.
2. Bauer, J.D., Arkermann, P.G. and Toro, G. Clinical Laboratory Methods.
8th ed. pp.361-362, 420-421, Saint Louis : C.V. Mosby Company, 1974.
3. Perkin-Elmer, Clinical Procedures Coleman Model 51 & 51 Ca Flame Photo-
meters, pp.1-12, Oak Brook : Colman Instruments Division, 1973.
4. Henry, R.J. Clinical Chemistry ; Principles and Technics. 2nd ed. pp.
345-346, New York, Hoeber Medical Division, 1964.
5. Knevel, A.M. and Digangi, F.E. Jenkins Quantitative Pharmaceutical
Chemistry. 7th ed. pp.207-210, McGraw-Hill, Inc., 1977.
6. Wade, A. Martindale, The Extra Pharmacopoeia 27th ed. pp.87-88 London,
The Pharmaceutical Press, 1977.
7. Davis, H. Bentley's Textbook of Pharmaceutics 7th ed. pp.107-108 London
: Bailliere, Tindall and Cox, 1978.
8. British Pharmacopoeia 1973 p.12, London Her Majesty's Stationary Office,
Cambridge : University Printing House, 1973.
9. Martin, E.W. and Cook, E.F. Remington's Practice of Pharmacy, 12th ed.
pp.716-725 Pennsylvania : Mack Publishing Company, 1961.
10. The Pharmacopoeia of the United States of America. 17th Revision p.26,
New York : Mack Printing Company, 1965.

11. Osol, A., Pratt, R. and Altschule, M.D. The United States Dispensatory and Physician's Pharmacy. 26th ed. pp.47-49, Philadelphia & Toronto : Lippincott Company, 1967.
12. Rimer, D.G. and Frankland, M. Sodium content of antacids, JAMA 173 : 995-998, 1960.
13. Bockus. Gastroenterology, 3rd ed, pp.688-691. Philadelphia, London, Toronto : W.D.Saunders Company 1974.
14. Whitaker, J.A. and Cooks, A.R. Peptic Ulcer. Current Therapy 13th ed. pp:394-395 Philadelphia, London, Toronto : W.B.Saunders Company, 1978.
15. Herfindal, E.T. and Hirschman, J.L. Clinical Pharmacy and Therapeutics. 2nd ed. pp.217-219, London : Williams & Wilkins, 1971.
16. Bleifer, K.H., Beesky, J.L. and Bleifer, D.J. Sodium content of four antacids. New Eng. J. Med. 261 : 604-605, 1959.

กลไกทางชีวเคมีของการเกิดพิษจากสารไตรโคธีซินส์

วรรณิ โรจนโพธิ์

งานชีวเคมีและวิจัยสารก่อมะเร็ง ฝ่ายวิจัยและค้นคว้า สถาบันมะเร็งแห่งชาติ

Biochemical Characteristics of Trichothecenes

Wannee Rojanapo

National Cancer Institute, Bangkok 10400, Thailand.

SUMMARY

In this report, the author summarized the biochemical characteristics of trichothecenes which are a chemically related group of fungal metabolites produced by various species of *Fusarium*, *Myrothecium*, *Trichoderma*, *Cephalosporium*, *Verticimonosporium* and *Stachybotrys*. They are cytotoxic to several kinds of animals and fungal cells and can induce skin inflammation, nausea, vomiting, diarrhea, leukopenia, destruction of bone marrow and haemorrhage in various organs of both human and animals. Biochemical studies on the mechanism of action revealed that trichothecenes are potent inhibitors of protein and DNA synthesis especially in the eukaryotic cells. Binding to the eukaryotic polysomes and ribosomes and the subsequent inactivation of ribosomal cycle may be responsible for their inhibitory effects to initiation and termination reactions. However, different types of trichothecenes were found to have different degree of toxicity between the in vivo and in vitro systems. Thus, lipophilicity of these toxins may have some influences on their cytotoxic properties, and this membrane involvement may be related to their selectivity toward target organs in the whole animal. In addition, trichothecenes have been reported to react with the reactive SH-group of some enzymes through their epoxide ring at C₁₂-C₁₃, thereby suggesting that this reactivity of the epoxide ring of trichothecenes with SH-group of proteins may also be important in determining their biochemical effects.

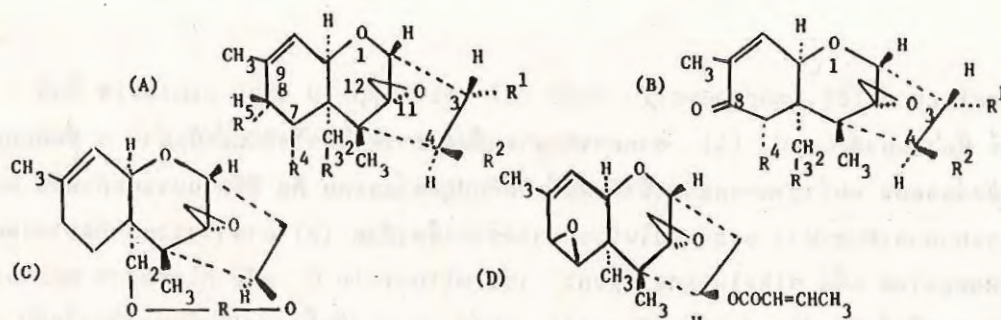
ไตรโคธีซินส์ (trichothecenes) เป็นกลุ่มของสารพิษที่เกิดจากเชื้อราหลาย ๆ ชนิด เช่น *Fusarium*, *Myrothecium*, *Trichoderma*, *Cephalosporium*, *Verticimonosporium* และ *Stachybotrys* สำหรับพิษของเชื้อราเหล่านี้ ได้มีผู้ศึกษาและได้รายงานกันมานานแล้วว่าทำให้เกิดโรคร้ายแรงต่อคนและปศุสัตว์ในหลายพื้นที่ทั่วโลก (1) เช่น ในทวีปยุโรป สหรัฐอเมริกา และญี่ปุ่น อาการพิษเฉียบพลันที่เกิดขึ้น ได้แก่ การระคายเคืองที่ผิวหนัง ทำให้ผิวหนังอักเสบ บวม มีตุ่มพอง มีพิษ

ต่อระบบทางเดินอาหาร ทำให้คลื่นไส้ อาเจียน และท้องร่วง มีการผิดปกติของระบบสร้างเม็ดเลือด เช่น ทำให้จำนวนเม็ดเลือดขาวลดลง เลือดจาง และมีเลือดออกตามอวัยวะต่าง ๆ เช่น กระเพาะอาหาร และลำไส้ นอกจากนี้ก็พบว่ามีความผิดปกติทางระบบประสาท และอาจทำให้แท้งลูกได้ (ตารางที่ 1) และได้พิสูจน์กันต่อมา ปรากฏว่า โรคและอาการเป็นพิษเหล่านี้เกิดจากสารพิษ ไทรโคธีซินส์

สารพิษไทรโคธีซินส์ เป็นสารเคมีประเภท sesquiterpene และมีสูตรโครงสร้างประกอบด้วยรูปร่างแหวนชื่อ trichothecene (2) และมี epoxy ring ที่ตำแหน่งที่ C₁₂-C₁₃ ซึ่งสามารถแบ่งออกได้เป็น 4 พวก ตามลักษณะสูตรโครงสร้าง (รูปที่ 1) คือ T-2 toxin type (A),

ตารางที่ 1 การเป็นพิษและอาการของพิษที่เกิดจากเชื้อราต่าง ๆ ในคนและสัตว์ (1)

การเป็นพิษของเชื้อรา	สถานที่และสัตว์ที่มีอาการ	อาการพิษ	เชื้อราที่เป็นสาเหตุ
"Tausalgetreide" Toxicosis	Siberia man, horse, pig, fowl	headaches, chills, nausea, vomiting	<i>C. saubineti</i>
Alimentary Toxic Aleukia	USSR man, horse, pig	vomiting, diarrhea, skin inflammation, leukopenia, angina	<i>F. sporotrichioides</i>
Stachibotryotoxicosis	Europe horse	shock, somatitis dermal necrosis, leukopenia	<i>Stachybotrys atra</i>
Bean-hull Toxicosis	Japan horse	convulsion, cyclic movement	<i>F. solani</i> , etc.
Dendrochiotoxycosis	Europe horse	skin inflammation	<i>Dendrochium toxicum</i>
Moldy Corn Toxicosis	USA pig, cow	emesis, hemorrhage, refusal of feed.	<i>F. tricinatum</i>
Red-mold Toxicosis	Japan man, horse, pig, cow	vomiting, diarrhea, emesis, abortion	<i>F. graminearum</i>



	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵
(A) Trichothecene	H	H	H	H	H
Trichodermol (roridin C)	H	OH	H	H	H
Trichodermin	H	OAc	H	H	H
Dihydrotrichothecene	H	OH	H	H	OH
Verrucarol	H	OH	OH	H	H
Scirpentriol	OH	OH	OH	H	H
T-2 tetraol	OH	OH	OH	H	OH
Monoacetoxyscirpenol	OH	OH	OAc	H	H
Diacetoxyscirpenol	OH	OAc	OAc	H	H
8 α -Hydroxy-diacetoxyscirpenol (Neosolaniol)	OH	OAc	OAc	H	OH
Monoacetylneosalaniol	OH	OAc	OAc	H	OAc
7 α -Hydroxydiacetoxyscirpenol	OH	OAc	OAc	OH	H
7,8 α -Dihydroxydiacetoxyscirpenol	OH	OAc	OAc	OH	OH
T-2 toxin	OH	OAc	OAc	H	OCOCH ₂ CH(CH ₃) ₂
HT-2 toxin	OH	OH	OAc	H	OC(CH ₃) ₂ CH(CH ₃) ₂
Acetyl T-2 toxin	OAc	OAc	OAc	H	OCOCH ₂ CH(CH ₃) ₂
(B) Nivalenol	OH	OH	OH	OH	
Monoacetylnivalenol (fusarenon-X)	OH	OAc	OH	OH	
Diacetylnivalenol	OH	OAc	OAc	OH	
Deoxynivalenol	OH	H	OH	OH	
Monoacetyldeoxynivalenol	OAc	H	OH	OH	
Trichothecin	H	OCOCH=CHCH ₃	H	H	
R					
(C) Verrucaric A	-C(=O)CH(OH)CH(CH ₃)CH ₂ CH ₂ O-C(=O)CH=CHCH=CH ₂ -				
Roridin A	-C(=O)CH(OH)CH(CH ₃)CH ₂ CH ₂ O-C(=O)CH=CHCH=CH ₂ -				
Satratoxin H	-C(=O)CH(OH)CH(CH ₃)CH ₂ CH ₂ O-C(=O)CH=CHCH=CH ₂ -				
Vertisporin	-C(=O)CH(OH)CH(CH ₃)CH ₂ CH ₂ O-C(=O)CH=CHCH=CH ₂ -				
(D) Crotocin	OCOCH=CHCH ₃				

รูปที่ 1 สูตรโครงสร้างของสารไพโรไลซินส์ที่เกิดในธรรมชาติ (20)

nivalenol type (B), macrocyclic type (C) และ type D เช่น crotoxin ซึ่งมี epoxide ที่ตำแหน่งที่ C₇-C₈ (1) จากการศึกษาฤทธิ์ของสารพิษไตรโคธีซินส์ชนิดต่าง ๆ ที่สกัดออกมาได้คือสัตว์ทดลอง พบว่าอาการคล้ายคลึงกับพิษที่เกิดกับปศุสัตว์และคน คือ มีพิษรุนแรงต่อผิวหนัง ต่อเซลล์ในระบบทางเดินอาหาร และเซลล์ในระบบการสร้างเม็ดเลือด (3) อาการและพยาธิสภาพเหล่านี้คล้ายกับพิษของรังสี หรือ alkylating agent เช่น mitomycin C หรือ nitrogen mustard (4) นอกจากนี้เมื่อศึกษาใน cultured cells พบว่า สามารถยับยั้งการแบ่งตัวของโปรโตซัว และเซลล์มะเร็งได้ (5,6) บทความนี้จะกล่าวถึงการศึกษาทางชีวเคมีของผลกระทบ หรือพิษของไตรโคธีซินส์ ทั้งนี้เพื่อที่จะได้ทราบถึงกลไกการออกฤทธิ์ของสารพิษเหล่านี้ในระดับโมเลกุล

การยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน

หลักฐานจากการศึกษาวิจัยในปัจจุบันแสดงให้เห็นว่า สารพิษ trichothecenes เป็นสารพิษกลุ่มที่มีฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนของ eukaryotic cells ที่รุนแรงที่สุด และโดยเฉพาะอย่างยิ่งจะมีผลต่อเซลล์ที่กำลังแบ่งตัว หรือ metabolically active เช่น เซลล์ในระบบทางเดินอาหาร และเซลล์ในระบบเม็ดเลือดของคนและสัตว์ นอกจากนี้ก็มีฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนในพืช และพวกเชื้อราและยีสต์อีกด้วย

ในปี 1968-1969 Ueno และคณะ ซึ่งเป็นนักวิทยาศาสตร์ชาวญี่ปุ่น ได้ศึกษาและรายงานเป็นครั้งแรกว่า nivalenol และ fusarenon-x ซึ่งเป็นไตรโคธีซินส์ type B สามารถยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนในเซลล์เม็ดเลือดแดงของกระต่าย Ehrlich ascites tumor cells และเซลล์ของหนู mouse (7,8,9) แต่ไม่สามารถยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนของแบคทีเรีย ต่อมาในปี ค.ศ. 1972 Ohtsubo และคณะ (10) ได้พิสูจน์ว่า fusarenon-x ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนในระยะเริ่มต้น (initiation step) หลังจากนั้น Ueno และคณะ (11-12) ได้ทำการศึกษาเพิ่มเติมและพบว่า สารพิษไตรโคธีซินส์ 17 ชนิด มีฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนทั้งในเซลล์และ cell free system (ตารางที่ 2) ซึ่งจากการเปรียบเทียบค่าของความเข้มข้นของสารพิษชนิดต่าง ๆ ที่สามารถยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนได้ 50% ในการทดลองนี้ หอสรุปได้ว่าสารพิษไตรโคธีซินส์ type C มีฤทธิ์มากที่สุดในการยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนเมื่อทำการทดสอบโดยใช้เซลล์ที่ยังมีชีวิตอยู่ (intact หรือ whole cells) รองลงมาได้แก่ type A และ type B ตามลำดับ ซึ่งตรงกับความเป็นพิษของไตรโคธีซินส์ที่มีต่อสัตว์ทดลอง และ cultured cells (ตารางที่ 3) และเมื่อเปรียบเทียบสูตรโครงสร้างและคุณสมบัติทางเคมีกับฤทธิ์ของสารพิษในแต่ละกลุ่มที่แสดงไว้ในตารางที่ 2 และ 3 จะเห็นได้ว่าคุณสมบัติในการละลายได้ในไขมัน (lipophilicity) ของไตรโคธีซินส์สำคัญมากต่อการเป็นพิษและการออกฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนในเซลล์ ซึ่งอาจจะอธิบายได้ว่า ไตรโคธีซินส์ ที่มีคุณสมบัติละลายในไขมันได้ดี อาจจะผ่านเยื่อเซลล์ได้ดีกว่า จึงมีฤทธิ์มากกว่า อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบผลการทดลองที่ได้จากการใช้ whole cell กับ cell free system ในการศึกษาการสังเคราะห์โปรตีน ชี้ให้เห็นว่าไตรโคธีซินส์บางชนิดอาจทำให้เยื่อหุ้มเซลล์เกิดการเปลี่ยนแปลง ซึ่งจะเกิดผลกระทบต่อการดูดซึมและนำเข้าของ precursor เข้าไปในเซลล์

ตารางที่ 2 การเปรียบเทียบฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนของ ไทรโคธีซินส์
ชนิดต่าง ๆ (11-12)

		ID ₅₀ [*] (µg/ml) in protein synthesis			
ชนิดของไตรโคธีซินส์		Rabbit reticulocyte		Tumor cells	Rat liver
		Whole-cell	Cell-free	Whole-cell	Cell-free
A	T-2 toxin	0.03	0.15		5
	HT-2 toxin	0.03			
	Diacetoxyscirpenol (DS)	0.03	5.0	0.035	> 50
	Neosolaniol	0.25			20
	7-Hydroxy-DS	0.3			
	7,8-Dihydroxy-DS	0.6			
B	Nivalenol	3.0	0.5	6.0	8.0
	Fusarenon-X	0.25	0.2	0.35	8.0
	Diacetylnivalenol	0.10			
	Tetraacetylnivalenol	> 10			
	Dehydronivalenol (Rd)	2.0			
	Dehydronivalenol-monoacetate (Rc)	> 10			
	Trichothecin	0.15			
	Trichothecolon	20			
	Dihydronivalenol	3.0			
C	Verrucaric acid	0.015			
	Roridin A	0.006			

* ความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนได้ร้อยละ 50

ตารางที่ 3 การเปรียบเทียบพิษและผลทางชีววิทยาของ ไทรโคธีซินส์ (3,5,6)

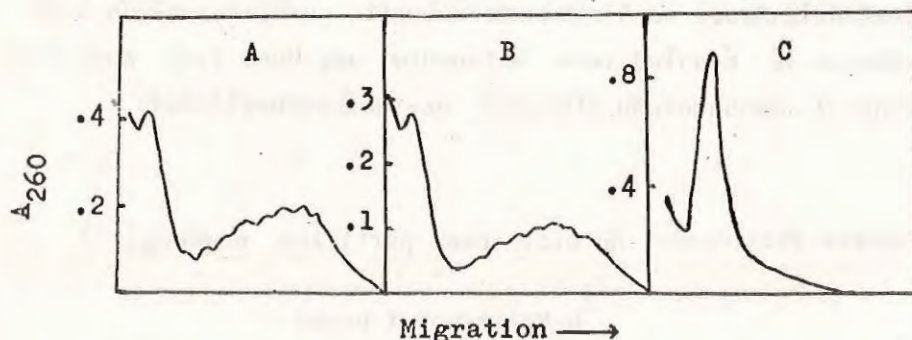
ไทรโคธีซินส์	LD ₅₀		Skin inflammation (μg)	ID ₅₀ (μg/ml) MED (μg/ml)	
	mice mg/kg i.p.	Chick embryo μg/egg		<u>Tetrahymena</u> pyriformia	HeLa cells
(A) T-2 toxin	5.2	0.07	0.2	0.05	0.01
HT-2 toxin	9.0	0.5	0.2	0.5	
Diacetoxyscirpenol	23	0.09	0.2	0.05	
Neosolaniol	14.5	5.0	1	0.5	
(B) Nivalenol	4.1	4.0	10	10	0.2
Fusarenon-X	3.3	2.6	1	5	0.1
Diacetylnivalenol	9.6	1.9	1	1	0.1
Deoxynivalenol	70			5	
(C) Verrucaric acid	1.5 (i.v)		0.05		0.001
Roridin A	1.0 (i.v)		0.05		
Verticillium				0.001	
(D) Crotonoside	700 (i.v)		10		

LD = Lethal dose

ID = Inhibitory dose

MED = Minimum effective dose

สำหรับการศึกษาว่า ไทรโคธีซินส์ ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนที่ระยะ initiation, elongation หรือ termination นั้น ได้มีนักวิทยาศาสตร์ 2 กลุ่ม ศึกษาโดยการวัด polysome profiles ใน HeLa cells (13) และยีสต์ (14-15) โดยอาศัยหลักที่ว่าในขณะที่เซลล์กำลังสังเคราะห์โปรตีนนั้น ribosome จะอยู่ในสภาพของ polyribosome หรือ polysome แต่ initiation inhibitor จะเปลี่ยน polysome ให้เป็น monosome และ ribosomal subunits อย่างรวดเร็ว ในขณะที่ elongation และ/หรือ termination inhibitor จะยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน โดยที่ polyribosome ยังคงสภาพอยู่เหมือนเดิม จากรูปที่ 2 ซึ่งแสดง polysome profiles ของยีสต์ที่การสังเคราะห์โปรตีนถูกยับยั้งด้วย trichodermin และ verrucaric acid ชี้ให้เห็นว่า trichodermin ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนที่ระยะ elongation



รูปที่ 2 แสดง polysome profiles ของยีสต์ที่ได้รับ trichodermin (B) และ verrucaric acid (C) ส่วน รูป 2A เป็น control culture

หรือ termination ส่วน verrucaric acid ยับยั้งที่ระยะ initiation และจากการศึกษาโทรโค-
ซิซินส์ชนิดต่าง ๆ อีก 14 ชนิด โดยวิธีนี้ ทำให้สามารถแบ่งสารเหล่านี้ออกเป็น 2 กลุ่ม ตามระยะ
ของขบวนการสังเคราะห์โปรตีนที่สารแต่ละชนิดไปรบกวน (ตารางที่ 4) อย่างไรก็ตามเมื่อ Staf-
ford และ McLaughlin (14) ได้ศึกษาเพิ่มเติม พบว่า trichodermin ยับยั้งการสังเคราะห์
โปรตีนในระยะ termination ได้ดีกว่าที่ระยะ elongation

ในปี 1974 Ueno และคณะ (16) ได้ศึกษากลไกการยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนพบว่า
trichodermin สามารถจับกับ 80 S ribosome ของเม็ดเลือดแดงของกระต่ายและของ HeLa
cells ได้อย่างดี ทั้งขณะที่ ribosome เกาะกับ mRNA เป็น polyribosome และเป็น free

ตารางที่ 4 ระยะของการสังเคราะห์โปรตีนที่ถูกยับยั้งโดย โทรโคซิซินส์ (13-15)

Initiation	Elongation or Termination
Scirpentriol	Trichodermin
15-acetoxyscirpentdiol	Trichodermol
Diacetoxyscirpenol	Crotocol
Verrucaric acid	Trichothecolone
T-2 toxin	Crotocin
Nivalenol	Trichothecin
Fusarenon-X	Verrucarol
Calonectrin	15-Desacetylcalonectrin

80 S monosome โดยจับกับโปรตีนของ 60 S ribosome subunit แต่ไม่สามารถจับกับ free 60 S ribosomal subunit ได้ ต่อมาในปี 1975 Matsumoto และ Ueno (17) พบว่า T-2 toxin และ fusarenon-X ก็สามารถจับกับ ribosome ของเซลล์ของคืบหนูได้เช่นกัน (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 การจับของ fusarenon-X กับ microsomal particles ของคืบหนู (17)

Particles	³ H-Fusarenon-X bound μg/A ₂₆₀
Microsomes	0.53
Polysomes	0.33
Ribosomes	0.31
60 S subunit	0.02
40 S subunit	0.05

ตารางที่ 6 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการจับกับ ribosome ของ ไทรโคธีซินส์ชนิดต่าง ๆ ซึ่งศึกษาโดยการใส่ trichodermin ที่ติดฉลากด้วยกัมมันตรังสี กับฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์และยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน ซึ่งผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าไทรโคธีซินส์ ส่วนใหญ่ที่ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนได้ก็สามารถจับกับ ribosome และยับยั้ง activity ของ peptidyl transferase ได้

จากผลการศึกษาดังที่กล่าวมาแล้ว ทำให้สรุปกลไกการยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนได้ดังต่อไปนี้ คือ ไทรโคธีซินส์ จะไปจับกับ ribosome และรบกวน active center ของ peptidyl transferase ที่อยู่บน ribosome ทำให้ activity ลดลง และไปยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนในระยะ initiation หรือ termination แต่ในัจจุบันยังไม่มีผู้ใดทราบว่า ไทรโคธีซินส์ แต่ละชนิดเกาะกับ ribosome ต่างกันอย่างไร จึงยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนในระยะที่ต่างกัน Wei และ McLaughlin (18) ได้เสนอคำอธิบายไว้ 2 แบบ คือ

1. ไทรโคธีซินส์ แต่ละชนิดเกาะกับ ribosome เฉพาะบางขณะใน ribosome cycle เท่านั้น เช่น พวก initiation inhibitor จะเกาะกับ ribosome ในขณะที่ ribosome เริ่มเกาะกับ mRNA เป็น initiation complex เท่านั้น ในกรณีนี้เชื่อว่า conformation ของ ribosome ในแต่ละขั้นของการสังเคราะห์โปรตีนแตกต่างกันทำให้ ribosome binding constants สำหรับไทรโคธีซินส์ แต่ละชนิดต่างกัน

ตารางที่ 6 เปรียบเทียบความสามารถในการจับ ribosome กับฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์และยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน (16,18)

		% Inhibition				
	H^3 -Trichodermin binding	Peptidyl transferase	in vivo protein synthesis	in vivo site of action		
		5 μ g/ml	20 μ g/ml	1 μ g/ml	10 μ g/ml	
Control	--	100	100	100	100
Trichodermin	(100)	88	93	50	93	E/T
Trichothecin	100	92	97	94	98	E/T
Scirpentriol	104	91	95	89	98	I
15-Acetoxyscirpendiol	97	81	89	91	99	I
Crotocin	79	66	78	89	98	E/T
Diacetoxyscirpenol	78	74	85	96	100	I
Verrucaric A	66	58	70	77	100	I
Trichodermol	49	27	60	60	87	E/T
Calonectrin	30	7	17	52	79	I
Trichothecolone	28	12	32	26	77	E/T
15-Desacetylcalonectrin	17	1	3	29	71	E/T
9,10-Dihydrotrichodermin	14	2	10	0	35
Verrucarol	11	19	33	32	37	E/T
9,10-Dihydrotrichodermol	6	3	13	0	48
4-Epitrichodermol	3	2	7	0	0
Trichodermone	2	0	1	0	17
Crotocol	-7	2	6	21	51	E/T

I = initiation step, E = elongation step, T = termination step.

2. ไทรโคธีซินส์ ทุกชนิดเกาะกับ ribosome ได้เท่ากันไม่ว่า ribosome จะอยู่ในระยะใด แต่จะรบกวนการทำงานของเอนไซม์ peptidyl transferase ได้เฉพาะเมื่อ ribosome อยู่ในบางระยะใน ribosome cycle เท่านั้น เช่น termination inhibitor จะเกาะกับ ribosome ได้ทุกระยะ แต่จะรบกวนเอนไซม์ peptidyl transferase เฉพาะเมื่อ ribosome อยู่ในระยะ termination เท่านั้น

การยับยั้งการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก

ได้มีผู้ศึกษาผลของไตรโคซีซินส์ ต่อการยับยั้งการสังเคราะห์ DNA และ RNA ด้วยเช่นกัน แต่มีน้อยกว่าที่ศึกษาการสังเคราะห์โปรตีน Ueno และคณะ (9-11) รายงานว่า nivalenol, fusarenon-X และ diacetoxyscirpenol สามารถยับยั้งการสังเคราะห์ DNA ของเซลล์มะเร็ง Ehrlich ascites และ HeLa ได้ แต่มีฤทธิ์น้อยกว่าการยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน ส่วน Oldham และคณะ (19) พบว่า T-2 toxin และ T-2 tetraol ก็สามารถยับยั้งการสังเคราะห์ DNA ของ human fibroblast ได้ จากการศึกษาผลของสารพิษเหล่านี้คือเอนไซม์ DNA polymerase, thymidine และ thymidylate kinase พบว่าไม่มีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เหล่านี้เลย ซึ่งชี้ให้เห็นว่า ผลกระทบของสารพิษต่อการสังเคราะห์ DNA อาจจะเป็นไปโดยทางอ้อม เช่น อาจเป็นเพราะสารพิษไปยับยั้งการสังเคราะห์เอนไซม์ที่จำเป็นต่อการสังเคราะห์ DNA อย่างไรก็ตาม Ueno (20) พบว่า ระดับของ TDP และ TTP ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของการสังเคราะห์ DNA สูงขึ้นและมีการคั่งของ DNA ท่อนสั้น ๆ ในเซลล์ที่ได้รับ ไตรโคซีซินส์ ซึ่งชี้ให้เห็นว่าสารพิษเหล่านี้อาจไปรบกวนการทำงานของเอนไซม์ ligase ก็เป็นไปได้

นอกจากนี้ได้มีผู้ศึกษาปฏิกิริยาของ ไตรโคซีซินส์ กับ DNA ทั้งทางตรงและทางอ้อม พบว่า สารส่วนใหญ่ไม่ทำให้ DNA แตกหัก (21) ไม่ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ ยกเว้น crotoxin (20) และ fusarenon-X (22) ซึ่งพบว่าทำให้ *Salmonella typhimurium* TA 100 กลายพันธุ์ได้ และมีฤทธิ์ก่อมะเร็งค่อนข้างมาก (23) แต่อย่างไรก็ตาม Oldham และคณะ (19) พบว่า T-2 และ T-2 tetraol ชักนำให้เกิดการสังเคราะห์ DNA ผิดแบบแผนในเนื้อเยื่อของหนู ซึ่งชี้ให้เห็นว่าไตรโคซีซินส์ อาจมีฤทธิ์ทำลาย DNA

สำหรับการสังเคราะห์ RNA นั้น Stafford และ McLaughlin (14) พบว่า trichodermin สามารถยับยั้งการสังเคราะห์ RNA ในยีสต์ได้ แต่ Ueno และคณะ พบว่า nivalenol, fusarenon-X และ diacetoxyscirpenol นั้นไม่สามารถยับยั้งการสังเคราะห์ RNA ใน ascites tumor cells (11), protozoa (5) และ cultured cells (10) จากการศึกษาต่อมาในเซลล์ตับหนู ปรากฏว่าสารเหล่านี้ไม่มีผลต่อการสังเคราะห์ RNA หรือ activity ของ DNA-dependent RNA polymerase (20) เลย ดังนั้นผู้วิจัยจึงสรุปว่าการยับยั้งการสังเคราะห์ RNA ที่พบในยีสต์นั้นน่าจะเป็นผลทางอ้อมของไตรโคซีซินส์ ที่มีต่อการสังเคราะห์โปรตีนมากกว่า (14)

การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์

ในปี ค.ศ. 1975 Ueno และ Matsumoto (24) ได้ศึกษาผลกระทบของสารพิษไตรโคซีซินส์ ต่อการทำงานของเอนไซม์บางชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งพวกที่มี thiol (SH) group อยู่ที่ active center เช่น creatinine phosphokinase, lactate dehydrogenase และ alcohol dehydrogenase และพบว่า T-2 toxin, fusarenon-X และ neosolaniol สามารถ

ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เหล่านี้ได้เมื่อ incubate กับเอนไซม์ก่อนที่จะเติม substrate และจากการศึกษาโดยการผสมเอนไซม์ alcohol dehydrogenase กับ สารพิษ fusarenon-X ที่คิดผลากด้วยกับมันคภาพรังสีแล้วแยกโดยใช้วิธี gel-filtration พบว่า สารพิษสามารถจับกับเอนไซม์ได้ในอัตราส่วน 4:1 (4 โมเลกุลของไตรโคธีซินส์ ต่อ 1 โมเลกุลของเอนไซม์) เอนไซม์ alcohol dehydrogenase มี thiol group อยู่ทั้งหมด 36 กลุ่ม และมีอยู่ 4 กลุ่ม ที่สามารถทำปฏิกิริยากับ SH-reagents ได้ ดังนั้นผู้วิจัยจึงสรุปว่า ไตรโคธีซินส์ สามารถจับกับ thiol (SH) group ที่อยู่ active center ของเอนไซม์ได้โดยอาจจับที่ epoxide residue ที่ตำแหน่ง C₁₂-C₁₃ ของมัน แต่ก็ยังมีผู้อื่นที่ได้ศึกษาใน human fibroblast แล้วพบว่า T-2 toxin และ T-2 tetraol ไม่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อื่น ๆ เช่น acid phosphatase, β -glucuronidase, 5'-mononucleotidase, ATPase, alkaline phosphatase และ γ -glutamyltranspeptidase (19)

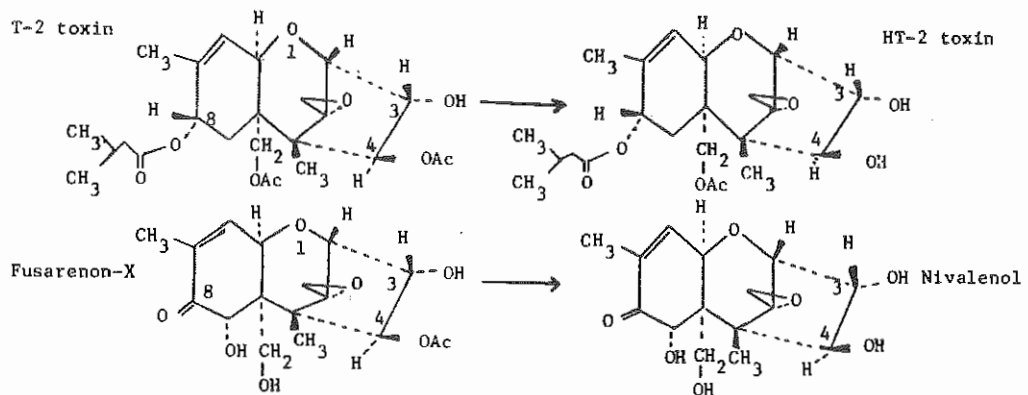
จากการที่พบว่าไตรโคธีซินส์ สามารถเกาะกับ reactive SH group ในเอนไซม์หรือโปรตีนนี้ ทำให้มีผู้สงสัยว่าปฏิกิริยานี้น่าจะมีความสำคัญมากในการที่จะอธิบายถึงกลไกของไตรโคธีซินส์ในการเกาะกับ ribosome และยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน ซึ่งขณะนี้กำลังมีผู้ศึกษากันอยู่

คุณสมบัติอื่น ๆ ของสารพิษไตรโคธีซินส์

ไตรโคธีซินส์ สามารถยับยั้งการสังเคราะห์ polysaccharides ในยีสต์ (15), การสังเคราะห์ไขมันและการดูดซึมหมู่ phosphate ในโปรโตซัว Tetrahymena pyriformis ได้ และตารางที่ 2 แสดงให้เห็นความแตกต่างของไตรโคธีซินส์ แต่ละชนิดในการยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนในเซลล์ และใน cell free system จากผลการศึกษาเหล่านี้ ชี้ให้เห็นว่าไตรโคธีซินส์ อาจจะมีผลทำให้การทำงานของเยื่อเซลล์เกิดการเปลี่ยนแปลง และกลไกเหล่านี้อาจจะเกี่ยวข้องกับการเกิดท้องร่วง เมื่อได้รับสารพิษกลุ่มนี้ก็เป็นได้

ขบวนการเมตาบอลิซึม

Ueno และคณะ (26,27) ได้ศึกษาการกระจายและการขับถ่ายของ T-2 toxin และ fusarenon-X ในหนูถีบจักร พบว่า หลังจากฉีด fusarenon-X เข้าได้ผิวหนังแล้ว สารพิษจะกระจายไปยังตับ ไต ลำไส้ อย่างรวดเร็ว และ 25% จะถูกขับออกไปกับปัสสาวะภายใน 24 ชั่วโมง และปรากฏว่าสารพิษที่ออกมากับปัสสาวะนี้ คือ nivalenol ส่วนถ้าให้ T-2 toxin แก่หนูขาวและหนูถีบจักร โดยทางปาก ปรากฏว่า สารพิษจะกระจายไปยังตับ ม้าม ไต และ ลำไส้ เช่นเดียวกัน แต่จะถูกขับออกไปกับอุจจาระเป็นส่วนใหญ่ซึ่งสารที่ออกมาได้พบว่าเป็น HT-2 toxin และเมื่อได้ศึกษาเพิ่มเติมในตับหนู สรุปได้ว่า fusarenon-X และ T-2 toxin จะถูก deacetylate ที่ตำแหน่งที่ C₄ โดยเอนไซม์ esterase ที่อยู่ใน microsomal fraction และเปลี่ยนไปเป็น nivalenol และ HT-2 toxin ตามลำดับ (28) ซึ่งจะถูกขับออกไปกับปัสสาวะและอุจจาระต่อไป ดังในรูปที่ 3

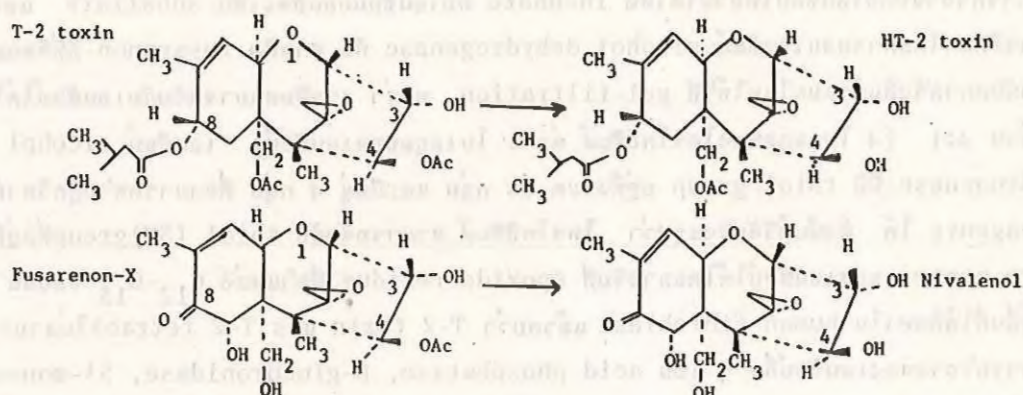


รูปที่ 3 Deacetylation ของโทรโคซินส์ ใน microsomal fraction

นอกจากนี้ก็พบว่าในตับคน วัว และ กระต่าย ก็มีเอนไซม์ esterase นี้ด้วยเหมือนกัน (20,29) และจากการศึกษาเปรียบเทียบการทำงานของเอนไซม์นี้จะ deacetylate T-2 toxin ให้เป็น HT-2 toxin ปรากฏว่า ในตับกระต่ายมีการทำงานของเอนไซม์สูงที่สุด รองลงมา ได้แก่ ตับคน และ ตับหมู (ตารางที่ 7) และเมื่อเปรียบเทียบกันในแต่ละอวัยวะของกระต่าย ปรากฏว่า ในตับมีเอนไซม์มากที่สุด รองลงมา ได้แก่ ไค ม้าม และ สมอง ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างจากหนู ที่พบว่า ในสมองมีเอนไซม์มากกว่าในไตถึง 10 เท่า

ตารางที่ 7 Microsomal deacetylation ของ T-2 toxin ในอวัยวะต่าง ๆ (20)

	HT-2 toxin formed		
	μ mole/mg protein/10 min		
	human	rat	rabbit
Liver	331	31	3401
Kidneys		1	1571
Spleen		1	73
Brain		10	25
Serum		0	



รูปที่ 3 Deacetylation ของไตรโคธีซินส์ ใน microsomal fraction

นอกจากนี้ก็พบว่าในตับคน วัว และ กระต่าย ก็มีเอนไซม์ esterase ที่อยู่คล้ายเหมือนกัน (20,29) และจากการศึกษาเปรียบเทียบการทำงานของเอนไซม์ที่จะ deacetylate T-2 toxin ให้เป็น HT-2 toxin ปรากฏว่า ในตับกระต่ายมีการทำงานของเอนไซม์สูงที่สุด รองลงมา ได้แก่ ตับคน และ ตับหนู (ตารางที่ 7) และเมื่อเปรียบเทียบกันในแต่ละอวัยวะของกระต่าย ปรากฏว่า ในตับมีเอนไซม์มากที่สุด รองลงมา ได้แก่ ไต ม้าม และ สมอง ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างจากหนู ที่พบว่า ในสมองมีเอนไซม์มากกว่าในไตถึง 10 เท่า

ตารางที่ 7 Microsomal deacetylation ของ T-2 toxin ในอวัยวะต่าง ๆ (20)

	HT-2 toxin formed		
	μ mole/mg protein/10 min		
	human	rat	rabbit
Liver	331	31	3401
Kidneys		1	1571
Spleen		1	73
Brain		10	25
Serum		0	

บทสรุป

จากผลการศึกษาทางชีวเคมีดังกล่าวข้างต้น ทำให้ทราบถึงกลไกของการเกิดพิษของสารพิษ ไทรโคธีซินส์ ที่มีต่อเซลล์ที่แบ่งตัวอย่างรวดเร็ว เช่น เซลล์ในระบบทางเดินอาหาร และระบบการสร้าง เม็ดเลือด ว่าเป็นเพราะสารพิษกลุ่มนี้ไปยับยั้งการสังเคราะห์ DNA และโปรตีนในเซลล์ ส่วนกลไกการ ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนนั้น สรุปได้ว่า สารพิษจับกับโปรตีน (ซึ่งอาจจะจับกับหมู่ thiol (SH) ใน โปรตีน) ของ 80 S ribosome และทำให้การทำงานของเอนไซม์ peptidyl transferase ลดลง นอกจากนี้จากการศึกษาที่พบว่า ไทรโคธีซินส์ แต่ละชนิดที่มีคุณสมบัติละลายในไขมันได้ต่างกัน มีผลต่อการยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนในเซลล์ และใน cell free system ต่างกัน ทำให้คิดว่า ไทรโคธีซินส์ อาจทำปฏิกิริยากับเยื่อเซลล์ ซึ่งอาจจะทำให้การดูดซึมและการนำเข้าของ precursor ของ DNA และโปรตีนลดลง ในขณะที่นักวิทยาศาสตร์ก็กำลังศึกษาถึงปฏิกิริยาของไทรโคธีซินส์กับเยื่อเซลล์ และขบวนการเบคาบอดิลสมของสารพิษกลุ่มนี้ในเซลล์ ทั้งนี้เพื่อจะได้ทราบถึงกลไกการออกฤทธิ์และความ สัมพันธ์ของโครงสร้างกับฤทธิ์ของมันอย่างถูกต้องต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Ueno, Y. In : Mycotoxins in human and animal health. Rodricks, J.V., et al, eds. Pathotox Publishers. Inc. Illinois pp. 189-207, 1977.
2. Godtfredsen, W.O., Grove, J.F. and Tamm, Ch. Helv. Chim. Acta, 50; 1666-1668, 1967.
3. Sato, N. and Ueno, Y. In : Mycotoxins in human and animal health. Rodricks, J.V. et al, eds. Pathotox Publishers, Illinois; 295-307, 1977.
4. Saito, M., Enomoto, M. and Tatsuno, T. Cann, 60; 599-603, 1969.
5. Ueno, Y. and Yamakawa, H. Japan J. Exp. Med., 40; 385-390, 1970.
6. Ohtsubo, K and Saito, M. Japan, J. Med. Sci. Biol., 23; 217-225, 1970.
7. Ueno, Y., Hosoya, M, Morita, V., Ueno, I. and Tatsuno, T.J. Biochem (Tokyo) 64; 479-485, 1968.
8. Ueno, Y., Hosoya, M., and Ishikawa, Y. J. Biochem. (Tokyo) 66; 419-422, 1969.
9. Ueno, Y. and Fukushima, K. Experientia, 24; 1032-1033, 1968.
10. Ohtsubo, K., Kaden, P. and Mittermayer, C. Biochim. Biophys. Acta. 287; 520-525, 1972.
11. Ueno, Y. Nakajima, K., Sakai, K., Ishii, K., Sato, N., and Shimada, N. J. Biochem. (Tokyo) 74; 285-296, 1973.

12. Ueno, Y. and Shimada, N. Chem. Pharm. Bull. 22; 2744-2746, 1974.
13. Cundliffe, E., Cannon, M., and Davies, J. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 71; 30-34, 1974.
14. Stafford, M.E. and McLaughlin, C.S. J. Cell. Physiol., 82;121-128, 1973.
15. McLaughlin, C.S., Vaughan, M.H., Campbell, I.M., Wei, C.M., Stafford, M.E. and Hansen, B.S. In : Mycotoxins in human and animal health. Rodricks, J.V., et al. eds. Pathotox Publishers Inc. Illinois. 9; 263-273, 1977.
16. Wei, C.M., Campbell, I.M., McLaughlin, C.S., and Vaughan, M.H. Mol. Cell. Biochem. 3; 215-219, 1974.
17. Matsumoto, H and Ueno, Y. Proc. 95 th Ann. Meet. Japan. Pharmaceut Soc. III - 102, 1975.
18. Wei, C.M. and McLaughlin, C.S. Biochem. Biophys. Res. Commun., 57; 838-844, 1974.
19. Oldham, J. W., Allred, L.E., Milo, G.E., Kindig, O., and Capen, C.C. Toxicol. Appl. Pharmacol. 52; 159-168, 1980.
20. Ueno, Y. Mode of action of trichothecenes Pure Appl. Chem. 49; 1737-1745, 1977.
21. Umeda, M., Yamamoto, T. and Saito, M. Japan, J. Exp. Med., 42; 527-535, 1972.
22. Nagao, M., Honda, M., Kinono, Y. et al. Proc. 4 Meet. Jap. Assoc. Mycotoxicology, (9), 1976.
23. Ohtsubo, K. and Saito, M. In : Mycotoxins in human and animal health, Rodricks, J.V., et al, eds. Pathotox Publishers Inc. Illinois; 244-262, 1977.
24. Ueno, Y. and Matsumoto, H. Chem. Pharm. Bull. 23; 2439-2443, 1975.
25. Chiba, J., Nakano, N., Morooka, N., Nakazawa, S. and Watanabe, Y. Japan. J. Med. Sci. Biol., 25; 291-296, 1972.
26. Ueno, Y. Ueno. I., Iitol, Y., Tsunoda, H., Enomoto, M., and Ohtsubo, K. Japan. J. Exp. Med. 41; 521-539, 1971.
27. Ueno, Y., Matsumoto, Y., Ito, I., and Ohta, M. Proc. 96th. ann. Meet. J Japan. Pharmaceut. Soc., III - 240, 1976.
28. Otha, M., and Ueno, Y. Proc. Jap. Assoc. Mycotoxicol. 2; 34-35, 1976.
29. Ellison, R.A. and Kotsonis, F.N. Appl. Microbiol. 27; 423-424, 1974.

REVIEW ARTICLE

PRAZIQUANTEL

Auratai Aramphongphan

Department of Pharmacology, Faculty of Science, Mahidol University,
Bangkok, Thailand.

SUMMARY

Since the introduction of the first antischistosome, tartar emetic, many compounds have been tested with the aim to develop the ideal antischistosome drug with the following qualities :

1) Absence of side effects and toxicity in man, 2) High activity against the three major species of schistosomes parasitic in man, 3) Effective after a single or a one day-treatment preferably after oral administration, 4) Active against all stages of schistosomes in man. These lead to a new heterocyclic pyrazino isoquinoline with high anti-parasitic efficacy, praziquantel.

Praziquantel is a newly developed anthelmintic drug with excellent activity against all schistosome species parasitic in man. A further progress is the fact that the efficacy of this drug is not significantly influenced by inter-strain variation of schistosomes in contrast e.g. to hycanthone and oxamniquine, and it is effective against all stages of the immature infection. It has also been effective against *Clonorchis sinensis* (Chinese liver fluke), *Metagonimus yokogawai* (intestinal fluke), and adult larval stages of important human tapeworms, including *Hymenolepis nana* and cysticercosis.

Praziquantel acts by increasing the permeability of the worm's cell membrane to calcium ions, causing massive contraction and paralysis of its musculature, followed by disintegration of its tegumental layer. A rapid absorption, distribution and elimination after oral application in man were observed. No major toxic reactions have yet been found with praziquantel. Transient abdominal pain can occur, especially when the drug is given as a single oral dose. Praziquantel has not been found to be mutagenic in a variety of assays. Chronic toxicity tests in small animals so far offered no indication of carcinogenic potential.

Schistosomiasis - Schistosomes are by far the best known of all blood flukes because of the serious and major disease that they cause in man. *Schistosoma japonicum* is found in Southeast Asia, Japan, China and the Phillipines, *S. mansoni* occurs in Africa, the Middle East and South America; *S. haematobium* is found in Africa and the Middle East. Heavy chronic infection can cause inflammation, obstruction and fibrosis, particularly of

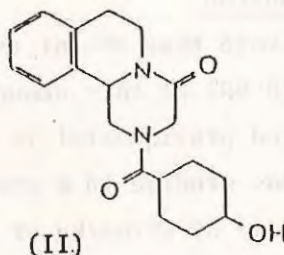
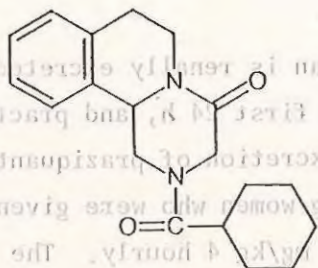
the liver and lower urinary tract. *S.japonicum* and *S.mansoni*, which migrate to the mesenteric vein before laying their eggs, can cause portal hypertension and esophageal varices. *S.haematobium* migrates mainly to the pelvic veins and excretes its eggs into the bladder, where it can cause hematuria, dysuria, and obstructive uropathy. Patients heavily infested with *S.haematobium* have an increased incidence of bladder cancer. Chronic, severe schistosomiasis can also cause bloody diarrhea, cor pulmonale, glomerulonephritis, and various signs and symptoms due to involvement of the central nervous system (1).

Until very recently, the available alternatives for chemotherapy were the antimonials (severely limited by their toxicity and inconvenient mode of administration), niridazole (limited by CNS toxicity and lack of efficacy against *S.mansoni* in children and *S.japonicum*), and hycanthone (which has shown mutagenic liability, limited oral efficacy and lack of activity against *S.japonicum*). Other two are oxamniquine (the best available agent against *S.mansoni*, although apparently not equally effective against all geographical strains), and metrifonate which is effective only for *S.haematobium* infection).

Praziquantel has a very broad spectrum of activity against parasitic trematodes and cestodes. Owing to its high efficacy, its excellent tolerability and its simple scheme of administration, it is equally well suited for individual and for large scale treatment (2). Pharmacological data on this drug will be summarized and its therapeutic advance will be illustrated by detailing the scope of its therapeutic activity.

Chemistry

Praziquantel is 2-cyclohexyl-carbonyl-1, 2, 3, 6, 7, 11 b-hexahydro-4H-pyrazino-(2,1-a) isoquinoline-4-one, a derivative of a novel heterocyclic system. It is a colourless crystalline powder of bitter taste. The compound is stable under normal conditions and melts at 136-140°C with decomposition. The active substance is hygroscopic. Praziquantel is easily soluble in chloroform and dimethylsulfoxide, soluble in ethanol and very slightly soluble in water. The empirical formula is $C_{19}H_{24}N_2O_2$, molecular weight of 312.4 and the structural formula is shown below (I).



Pharmacokinetics

The pharmacokinetics of praziquantel have been extensively studied in rodents, dogs, sheep, and man (2-9) using several techniques for the quantitative determination of praziquantel in biological material. The sum of unchanged ^{14}C -labelled praziquantel and labeled metabolites can be determined by radiometric techniques. Further, praziquantel and its metabolites can be separated using thin-layer chromatography(5). A biological assay determining all biologically active compounds and parent drug by gas liquid chromatography(10) and by fluorometry(11) have also been used. The assays by gas liquid chromatography and by fluorometry are both specific for the parent drug and yield comparable results(7).

A. Absorption

In man praziquantel is rapidly absorbed after oral intake. Maximum serum concentrations are reached 1-4 h after application. The active substance is rapidly and completely metabolized. The serum elimination half-life of unchanged praziquantel is about 1-1.5 h. (7,8).

B. Metabolism

Praziquantel reaching the liver via the portal vein is then extensively metabolized at high rate to final products (glucuronides and/or sulfate conjugate). The major metabolites of intermediary polarity in man are hydroxylation products of praziquantel(12). The major metabolite in serum of man and all animal studied so far was identified as 2-(4-hydroxycyclohexylcarbonyl)-1,2,3,6,11 b-hexahydro-4H-pyrazino (2,1-a)isoquinolin-4-one (structure II) which is an active metabolite.

C. Elimination

More than 80% of the dose given in man is renally excreted within 4 days with 90% of this amount appears in the first 24 h, and practically no unchanged praziquantel is excreted (7-8). Excretion of praziquantel into the milk was studied in a group of 10 lactating women who were given either a single dose of 50 mg/kg or three doses of 20 mg/kg 4 hourly. The concentrations of unmetabolized praziquantel in the milk parallel those in the plasma. On average, concentrations in milk were only 22% of those in the plasma, and only 0.0008% of the dose was excreted in the milk. This indicates that the drug is not secreted into the milk, but passively equilibrates between serum and milk(9).

D. Distribution

Rapid distribution of ^{14}C -praziquantel throughout the body was shown in rats, mice, beagle dogs, rhesus monkeys and sheep (3-5). The time-dependent concentrations in various organs as well as the quantitative data suggest that none of the 27 organs or tissues examined showed a specific accumulation(4).

Toxicology

Since praziquantel represents a novel chemical class of anthelmintics it has been very thoroughly studied not only in acute and subacute toxicity tests, but also in embryotoxicity, teratogenicity, mutagenicity, and carcinogenicity. The results of these studies have been summarized by the manufacturers of praziquantel(13).

The degree of acute toxicity of praziquantel tested in rat, mice, rabbits and dogs was very low. Rats and dogs tolerated repeated oral administration of up to 1000 mg/kg for 4 weeks, and up to 180 mg/kg for 13 weeks, respectively without any organ damage. Praziquantel did not disturb the reproductive process (up to F_2 -generation) in rats, and no teratogenic effect was observed in mice, rats or rabbits(13). In extensive mutagenicity trials, various effects, including induction of point mutations, gene conversion, damage to DNA-repair mechanisms, sister chromatid exchanges, and x-linked recessive lethals were never detected(14-16). In addition, Salmonella

tests with urines of praziquantel-treated mice, rats, healthy and schistosome-infected persons gave no indication of a mutagenic effect(15). One study indicates that the drug can act as a weak comutagen by increasing the mutagenicity of some chemicals in animal cells(17). The results of carcinogenicity studies with oral doses of 100-250 mg-praziquantel/kg given once weekly to syrian hamster for 80 weeks and to rats for 104 weeks, respectively, show that there is no indication of carcinogenic potential of praziquantel in small rodents. Also in mice infested with *Schistosoma mansoni* the acute toxicity of praziquantel was within the same range as in healthy animals(18).

Tolerability

Clinical studies have shown that a one-day treatment with oral doses between 1 x 20 and 3 x 25 mg praziquantel/kg was well tolerated(8). Clinicians who investigated the tolerability and efficacy of different dosage schedules in double-blind studies in schistosomiasis patients(19-22) and in liver fluke patients(23-27) have concluded that praziquantel is well tolerated. No major side effects have been observed, transient abdominal pain with or without nausea, dizziness and fever can occur, especially when the drug is given as a single oral dose(26). Patients with sickle cell triat and glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6PD) deficiency tolerated praziquantel without difficulty.

Mode of action

Two phenomena were observed in both trematodes and cestodes exposed to praziquantel; an almost instantaneous tetanic contraction of the parasite's musculature(28) and a rapid vacuolization of the syncytial tegument(29-33). The secondary effects are depolization of the schistosome tegument, inhibition of glucose uptake and decrease of glycogen content of *Hymenolepis diminuta*, *S.mansoni* and *S.japonicum*. The rapid contraction induced by praziquantel has been explained on the basis of a change in divalent cation fluxes, especially calcium. It has been shown that uptake by male schistosomes of calcium was increased by praziquantel. And this stimulating effect is eliminated in the presence of verapamil. These suggest that praziquantel increases

the permeability of the liver fluke tegument to Ca^{+2} , probably by interfering with the mechanism that regulates Ca^{+2} binding or transport across the tegumental membrane(33). The vacuolization appears to be a calcium-dependent process, it is a rapid phenomenon (30 seconds). Death of the parasites occurred as soon as vacuolization and tegumental damage became severe enough, so that neutrophilic granulocytes attached to the parasite and entered the schistosome tissues through the tegumental lesions. The morbid worms became fixed to the walls of blood vessels by fibroblasts and had completely disintegrated 14 to 18 days later(34).

Therapeutic efficacy

Schistosomes

Praziquantel was subsequently shown to be equally effective against *S.mansoni*, *S.haematobium*, *S.japonicum*, *S.intercalatum*, and *S.mattheii* in comparative study in hamsters(35). The investigation of the efficacy of praziquantel in human schistosomiasis was begun as a multicenter study in Japan and the Phillippines for *S.japonicum*, in Brazil for *S.mansoni*, and in Zambia for *S.haematobium*(19-23). In all, more than 25,000 schistosomiasis patients have now been treated and from these very intensive clinical studies it has been concluded that, with respect to population based chemotherapy, the following dosages are recommended(36) for the treatment of individual patients infested by schistosomes (Table 1).

Table 1 Recommended dosages for the treatment of schistosomiasis

Species of parasite	Daily dose (mg/kg)	Day of treatment
<i>S.haematobium</i>	1 x 40	1
<i>S.mansoni</i>	1 x 40 or 2 x 20	1
<i>S.intercalatum</i>	1 x 40 or 2 x 20	1
<i>S.japonicum</i>	2 x 30	1

Based on the results of parasitological follow-up examinations for 6 and 12 months after therapy, cure rates of infections with *S. haematobium*, *S. mansoni*, and *S. japonicum* were 97%, 89% and 66%, respectively (Table 2).

Table 2 Assessment of efficacy of praziquantel

Species of parasite	Number of patients treated	Follow-up results * at	
		6 months	12 months
<i>S. haematobium</i>	80	72/73 93.6%	64/66 97%
<i>S. mansoni</i>	89	63/69 91.3%	64/72 88.9%
<i>S. japonicum</i>	86	61/79 77.2%	39/59 66.1%

* Cured/examined patients in effective numbers and in %

A distinct advantage of praziquantel as compared to metrifonate or oxamniquine is its ability to kill both *S. mansoni* and *S. haematobium*. Praziquantel is highly effective against all schistosome species parasitic in man(36,37). A further progress is the finding that the efficacy of this drug is not significantly influenced by inter-strain variation of schistosomes in contrast e.g. to hycanthone and oxamiquine. And the efficacy is not affected by sex, age, and strain of the host(36,37). A very interesting property of praziquantel is its efficacy against all stages of the immature infection(35,37). As the drug is equally effective against *S. intercalatum* infestations and the naturally occurring hybrids between *S. intercalatum* and *S. haematobium*(38) it is now possible to treat all African forms of schistosomiasis with the same dosing schedule of 1x40 mg/kg. Since it is effective against all schistosome species and is well tolerated, patient acceptability is good and it is easily administered as a single oral dose or as a 1-day course of treatment. Therefore the drug is ideally suitable for large scale treatment directed at controlling schistosomiasis.

Other trematodes

The data of the therapeutic use of praziquantel against nonschistosome trematodes are shown in Table 3. The therapeutic means that were available before the introduction of praziquantel have been very limited and the drugs that had to be used, hexachloro-para-xylene, dehydroemetine, bithionol, and niclofolan all have short-comings in terms of tolerability, efficacy, and also availability(39,40). Praziquantel is now offering for the first time the possibility of a reliable and well tolerated therapy of human lung and liver flukes infestations, which are especially found in Southeast Asia. Liver flukes have been considered as an etiologocal agent in the development of bile-duct carcinoma in man(41). Similar association between cancer and parasitic infections has also been described for *S.japonicum* and colorectal carcinoma, and for *S.haematobium* and bladder cancer(42,43).

Liver flukes

The efficacy of praziquantel in man has been investigated for *Clonorchis sinensis*(23-25) and *Opisthorchis viverrini*(23, 26, 27). A clinical trial of praziquantel was carried out in Thailand in fifty-eight patients infected with *Opisthorchis viverrini*. Based on faecal egg counts, cure rates of 90.9-100% were obtained (followed up for 180 days)(26,27). For both *Clonorchis sinensis* and *Opisthorchis viverrini* infections, a 1-day course of treatment with 3x25 mg/kg or a single dose of 40 mg/kg was found to give excellent parasitological cure rates with low incidence of untoward side effect(25-27). It appears that praziquantel is the first drug found to be effective in the treatment of human opisthorchiasis(26,27).

Lung flukes

Paragonimus westermani has been rather refractory to praziquantel *in vitro* as it responded less markedly with tegumental alterations than schistosomes or liver flukes. This may be due to the dense texture of the thick tegument(44). The recommended dosing schedule is a 2-day of treatment with 3x25mg/kg/day(45). Administration of praziquantel is more convenient than bithionol since the latter drug must be given in a repeated dose on alternate days(30-50 mg/kg) with frequent photosensitivity skin reactions.

Intestinal flukes

The human intestinal flukes *Metagonimus yokogawai* and *Heterophyes* sp. have been successfully eliminated with praziquantel, and similar result can be expected for *Fasciolopsis buski* and other intestinal flukes(46). The recommended dosing is a 2-day treatment of 2x20 mg/kg/day(40,47). The advantage of praziquantel over tetrachloroethylene is that food and alcoholic beverage is not contraindicated before or 12 h after therapy.

Adult Cestode

In clinical trials, single oral doses of 15 to 25 mg/kg resulted in parasitological cures of more than 90% of patients infected with *Hymenolepis nana*(48). Patients harboring very young infections with *H.nana*, in which the cysticercoids are not fully developed are not always cured by a single treatment with 25 mg/kg. In such instances, a second treatment given 4 days later can completely eradicate the infection(49). The infections with *Taenia saginata* and *Taenia solium* were also treated successfully with a single oral dose of 5 to 10 mg/kg while a dose of 25 mg/kg was required for the removal of *Diphyllobothrium latum*, 15 mg/kg for *hymenolepis nana*, and 10 mg/kg for *D.pacificum*(50-54).

Table 3 Recommended dosages for the treatment of trematodes other than schistosomes infection.

Parasite	Daily dose(mg/kg)	Day of Treatment
<i>C.sinensis</i>	3x25	1
<i>O.viverrini</i>	3x25	1
<i>P.westermani</i>	3x25	2
<i>P.heterotremus</i>	3x25	2
<i>M.yokogawai</i>	2x20	1
<i>F.hepatica</i>	1x20	3

Cysticercosis

In the treatment of human infections with *cysticercus cellulosae*, a difference in susceptibility between muscle and cerebral cysticerci is likely to be due to the pharmacokinetic behavior of praziquantel. In the case of the cerebrally located metacestode, the drug has to pass two diffusional barriers before it reaches the parasite, the blood-brain barrier and the cyst wall, while there is only the cyst wall in the case of the muscle larva. A short treatment with high doses should be more effective than a lengthy treatment with low daily doses. In patients with symptom of cerebral involvement, disappearance of cutaneous cyst was observed at 1 month after a 3-to 4-day course of treatment (3x25 mg/kg/day) and to continue for another 5 months(55,56). For neurocysticercosis, clinical trials have been done in Mexico, Columbia, Chili, Brazil and Korea, and dosing schedules of 50 mg/kg divided into 3 doses daily for 10-14 days is recommended. And it is still strongly recommended to give additional corticosteroid treatment in order to prevent the development of endocranial hypertension resulted from the disintegration of cerebral cyst(57). Praziquantel is as effective as niclosamide against adult cestode. The advantage of praziquantel is that it is the first drug which appears to be useful in the treatment of cysticercosis.

Table 4 Recommended dosages for the treatment of cestode infection.

Parasite	Daily dose (mg/kg)	Day of treatment
<u>Adult cestode</u>		
<i>T. saginata</i>	5-10	1
<i>T. solium</i>	5-10	1
<i>H. nana</i>	1x15	1
<i>D. latum</i>	1x25	1
<u>Cysticercoses</u>		
cutaneous cyst	3x25	3-4
neurocysticercosis	1x50	10-14

In conclusion, praziquantel is a new and apparently safe anthelmintic drug, effective against all types of schistosomiasis in a single oral dose or in several doses taken on the same day. The drug is also active against infections caused by other flukes and some tapeworms, including cysticercosis. As a general rule, praziquantel should not be taken during the first three months of pregnancy, although animal experiments do not suggest any harmful effects on either pregnant woman or the fetus. Finally, to reach the goal of anthelmintic therapy, sanitary improvement and health education are also important.

ACKNOWLEDGEMENTS

The author is grateful to Ms. Supa Sangoubol and Mrs. Tasnee Jareanwatana for their help in the preparation of this manuscript.

REFERENCES

1. Goldsmith, R.S. Infectious Disease: Helminthic. In Current Medical Diagnosis & Treatment . ed. by M.A.Krupp and M.J. Chatton pp.916-942. Maruzen Asia Edition, 1984.
2. Werbel, L.M., Elslager, E.F. and Worth, D.F. Recent advances in the experimental chemotherapy of Schistosomiasis. In: Advances in Pharmacology and Therapeutics, vol 10. Chemotherapy, ed by M. Adolphe. pp 3-8, Pergamon Press, 1978.
3. Steiner, K., Garbe A., Diekmann, H.W. and Nowak, H. The fate of praziquantel in the organism. I. Pharmacokinetics in animals. Eur. J. Drug Metab Pharmacokinet. 1:85-95, 1976.
4. Steiner, K. and Gasbe A. The fate of praziquantel in the organism II. Distributions in rats. Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet. 1:97-106, 1976.
5. Diekmann, H.W. and Bühring, K.U. The fate of praziquantel in the organism III. Metabolism in rat, beagle dog and Rhesus monkey. Eur J. Drug Metab. Pharmacokinet.1:107-112, 1976.
6. Andrew, P. Pharmacokinetic studies with praziquantel in animals using a biological assays. Vet. Med. Nachr., 154-165, 1976. (English ed.)

7. Patzschke, K., Putter, J., Wegner, L.A., Horster, F.A., and Diekmann, H.W. Serum concentrations and renal excretion in humans after oral administration methods. *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.* 3:149-156, 1979.
8. Leopold, G., Ungethum, W., Groll, E., et al. Clinical Pharmacology in normal volunteers of praziquantel, a new drug against schistosomes and cestodes. *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.* 14:281-291, 1978.
9. Putter J. and Held, F. Quantitative studies on the occurrence of praziquantel in milk and plasma of lactating women. *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.* 4:193-198, 1979.
10. Diekmann, H.W. Quantitative determination of praziquantel in body fluids by gas liquid chromatography. *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.* 4:139-141, 1979.
11. Putter, J. Fluorometric method for the determination of praziquantel in blood-plasma and urine. *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.* 4:143-148, 1979.
12. Buhning, K.U., Diekmann, H.W., Muller, H., et al. Metabolism of praziquantel in man. *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.* 3:179-190 1978.
13. Froberg, H., and Schulze-Schencking, M. Toxicological profile of praziquantel, a new drug against cestode and schistosome infections as compared to some other schistosomicides. *Arzneim. Forsch. (Drug Res)* 31: 555-565, 1981.
14. Bartsch, H., Kuroki, T., Malaveille C., et al. Absence of mutagenicity of praziquantel, a new, effective, anti-schistosomal drug in bacteria yeast, insects and mammalian cells. *Mutation Res.* 58:133-142, 1978.
15. Obermeier, J. and Froberg H. Mutagenicity studies with praziquantel, a new anthelmintic drug: tissue-host-and urine-mediated mutagenicity assays. *Arch. Toxicol.* 38:149-161, 1977.
16. Machemer, L., and Lorke, D. Mutagenicity studies with praziquantel, a new anthelmintic drug in mammalian systems. *Arch. Toxicol.* 39:187-197, 1978.
17. Billings, P.C., and Heidelberger, C. Effects of praziquantel, a new antischistosomal drug on the mutation and transformation of mammalian cells. *Cancer Res.* 42:2692-2696, 1982.

18. Andrew, P., Dyeka, J., and Frank, G., Effect of praziquantel on clinical chemical parameters in healthy and schistosome-infected mice. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 74:167-177, 1980.
19. Ishizaki, T., Kamo, E. and Boehme, K. Double-blind studies of tolerance to praziquantel in Japanese patients with *Schistosoma japonicum*. *Bull. W.H.O.* 57:787-791, 1979.
20. Davis, A., Biles, J.E. and Ulrich, A.M. Initial experiences with praziquantel in the treatment of human infections due to *Schistosoma haematobium*. *Bull. W.H.O.* 57:773-779, 1979.
21. Katz, N., Rocha, R.S. and Chaves, A. Preliminary trial praziquantel in human infection due to *Schistosoma mansoni*. *Bull. W.H.O.* 57:781-785, 1979.
22. Santos, A.T., Blas, B.L., Nosenas, J.S. et al. Preliminary clinical trials with praziquantel in *Schistosoma japonicum* infection in the Phillipines. *Bull. W.H.O.* 57:793-799, 1979.
23. Ambroise-Thomas, P., Goullier, A. and Wegner, D.G.H. Praziquantel in the treatment of Far-eastern liver-fluke infection due to *Clonorchis sinensis* or *Opisthorchis viverrini*. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 74:426-433, 1981.
24. Rim, H.J. and Kwang, S.Y., Chemotherapeutic effect of praziquantel (EMBAY 8440) in the treatment of *Clonorchis sinensis*. *Univ. Med. J. (Korea)*. 16:459-470, 1979.
25. Rim, H.J., Lyu, K.S., Lee, J.S. and Joo, K.H. Clinical evaluation of the therapeutic efficacy of praziquantel (EMBAY 8440) against *Clonorchis sinensis* infection in man. *Ann. Trop. Med. Parasitolol.* 75:27-33, 1981.
26. Bunnag, D. and Harinasuta T. Studies on the chemotherapy of human *Opisthorchiasis* in Thailand: I. Clinical trial of praziquantel. *Southeast Asia J. Trop. Med. Pub. Hlth.* 11: 528-531, 1980.
27. Bunnag, D. and Harinasuta T. Studies on the chemotherapy of human *Opisthorchiasis* III. Minimum effective dose of praziquantel. *Southeast Asia J. Trop. Med. Pub. Hlth.* 12: 413-417, 1981.
28. Xiao, S.H., Shao, B.R. and Xu, Y.Q. The in vitro effect of "Pyquiton" on *Schistosoma japonicum*. *Acta Pharm. Sin.* 15:105-108, 1980.
29. Becker, B., Mehlhorn, H., Andrew, P., et al. Light and electron microscopic studies on the effect of praziquantel on *Schistosoma mansoni*,

- Dicrocoelium dendriticum* and *Fasciola hepatica* (Trematode) in vitro. Z. Parasitenkd. 63: 113-128, 1980.
30. Becker, B., Mehlhorn, H., Andrew, P., and Thomas, H. Scanning and transmission electron microscope studies on the efficacy of praziquantel on *Hymenolepis nana*. (Cestoda) in vitro. Z. Parasitenkd. 61:121-133, 1980.
 31. Becker, B., Mehlhorn, H., Andrew, P., and Thomas, H. Ultrastructural investigations on the effect of praziquantel on the tegument of five species of cestode. Z. Parasitenkd. 64:257-269, 1980.
 32. Conder, G.A., Marchiondo, A.A. and Anderson, F.L. Effect of praziquantel on adult *Echinococcus granulosus* in vitro: scanning electron microscopy. Z. Parasitenkd. 66:191-199, 1980.
 33. Ruenqongsa, P., Hatadilok, N. and Yuthavong, Y. Stimulation of Ca^{+2} uptake in the human liver fluke *Opisthorchis viverrini* by praziquantel. Life Sci. 32:2529-2534, 1983.
 34. Mehlhorn, H., Becker, B., Thomas, H., and Andrew, P. The mode of action of biltricide in schistosomiasis as demonstrated by electron microscopy. Arzneimittel. Forsch. (Drug Res.) 31:544-554, 1981.
 35. Webbe, G., and James, C. A comparison of the susceptibility to praziquantel of *Schistosoma haematobium*, *S. japonicum*, *S. mansoni*, *S. intercalatum* and *S. mattheei* in hamster. Z. Parasitenkd. 52:169-177, 1977.
 36. Biltricide^R, prospectus, Bayer AG (1980)
 37. Gonnert, R. and Andrew, P. Praziquantel a new broad-spectrum antischistosomal agent. Z. Parasitenkd, 52:129-150, 1977.
 38. Omer, A.H.S., Praziquantel in the treatment of mixed *S. haematobium* and *S. mansoni* infection in Sudan. Arzneimittel. Forsch. (Drug Res) 31:605-608, 1981
 39. Chung, H.L., Hsu, G.P., Tsao, W.C., et al. Hexachloro-paraxylol in treatment of Clonorchiasis sinensis in animal and man. Chinese Med. J. 83:232-247, 1975.
 40. Rim, H.J., Chu, D.S., Lee., et al. Anthelmintic effects of various drugs against metagonimiasis. Korean J. Parasitolol. 16:117-122. 1978.
 41. Flavell, D.J. Liver fluke infection as an aetiological factor in bile

- duct carcinoma of man. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 75:814-824, 1981.
42. El-Bolkaing, M.N., Chu, E.W., Chonein, M.A. and Ibrahim, A.S. Cytologic detection of bladder cancer in a rural Egyptian population infection with Schistosomiasis. Acta. Cytol. 26:303-310, 1982.
43. Attah, E.b. and Nkposong, E.Q. Schistosomiasis and carcinoma of the bladder: a critical appraisal of causal relationship. Trop. Geogr. Med. 28:268-272, 1976.
44. Mehlhorn, H., Kojima, S., Rim, H.J., et al. Ultrastructural investigations on the effects of praziquantel on human trematodes from Asia: *C. sinensis*, *M. yokogawai*, *O. viverrini*, *P. westermani* and *S. japonicum*. *Arzneim. Forsch.* 33:91-98, 1983.
45. Rim, H.J., Chang, Y.S., Lee, J.S., et al. Clinical evaluation of praziquantel (EMBAY 8440 Biltricide) in the treatment of *Paragonimus westermani*. Korean J. Parasitol. 19:27-37, 1981.
46. Bunnag, D. and Harinasuta, T. Chemotherapy of intestinal parasites in Southeast Asia. Southeast Asia J. Trop. Med. Pub. Hlth. 12:422-430, 1981.
47. The Medical Letter: Drugs for parasitic infections. 24:5-12, 1982.
48. Rim, H.J., Park, C.Y., Lee, J.S., Joo, K.H. and Lyu, K.S. Therapeutic effects of praziquantel (EMBAY 8440) against *Hymenolepis nana* infection. Korean J. Parasitol. 16:82-87, 1978.
49. Thomas, H. and Gonnert, R. The efficacy of praziquantel against experimental cysticercosis and hydatidosis. Z. Parasitenkd. 55:165-179, 1978.
50. Schenone, H. Caldames, M. and Schenone, D., Treatment of *Taenia saginata* infection in adults with a single dose of praziquantel. Bol. Chif. Parasitol. 33:41-44, 1978.
51. Rim, H.J., Park, S.B., Lee, J.S. and Joo, K.H., Therapeutic effects of praziquantel (EMBAY 8440) against *Taenia solium* infection. Korean J. Parasitol. 17:67-72, 1979.
52. Paz, G. Treatment of taeniasis saginata with praziquantel (EMBAY 8440). Bol. Chil. Parasitol. 32:14-16, 1977.
53. Groll, E., Praziquantel for cestode infections in man. Act Trop. 37:293-296, 1980.

54. Banranski, M.C. Treatment of human taeniasis and hymenolepis nana with praziquantel (EMBAY 8440) Bol. Chil. Parasitol. 32:37-39, 1977.
55. Rim, H.J., Won, C.R. and Chu, J.W. Studies on human cysticercosis and its therapeutic trial with praziquantel (EMBAY 8440). Korean Univ. Med. J. 17:459-473, 1980.
56. Rim, H.J. Won, C.Y. and Chu, J.W. Therapeutic effect of praziquantel (EMBAY 8440) on human cysticercosis, Korean. J. Parasitol. 18:115, 1980.
57. Groll, E. Human cysticercosis and praziquantel: a survey of first clinical experiences. Bol. Chil. Parasitol. 36:29-37, 1980.

วารสารเภสัชวิทยา

วารสารทางวิชาการของสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย

ตีพิมพ์ทุก 3 เดือน

ท่านสมาชิกทุกท่านเป็นเจ้าของวารสาร โปรดช่วยกันเสริมสร้างวารสารของเราให้ได้มาตรฐาน เพื่อเป็นผลงานและชื่อเสียงของสมาคมโดยส่วนรวม วารสารจะมีประโยชน์ต่อสมาชิกเพียงใด ขึ้นอยู่กับความร่วมมือจากท่าน วิชาเภสัชวิทยาและนักเภสัชวิทยาจะมีประโยชน์ต่อสังคมเพียงใด ขึ้นอยู่กับการกระทำของเราทุกคน

โปรดส่งบทความทางวิชาการ ข้อเสนอแนะ หรือข้อคิดเห็น อันจะเป็นประโยชน์ต่อการจัดทำวารสาร มายังคณะบรรณาธิการได้ตลอดเวลา สำหรับท่านที่ต้องการส่งต้นฉบับเพื่อตีพิมพ์ในวารสาร โปรดอ่าน "คำแนะนำสำหรับผู้เขียนเรื่องลงวารสาร" เพื่อที่เรื่องของท่านจะได้รับการตีพิมพ์โดยเร็ว เรื่องที่ได้รับจะผ่านการพิจารณาของคณะบรรณาธิการอย่างน้อยสองท่าน และจะแจ้งให้ผู้เขียนทราบภายใน 1 เดือน ถึงการรับตีพิมพ์ และ/หรือ ข้อควรแก้ไข