วารสารเภสัชวิทยา
THAI JOURNAL OF PHARMACOLOGY

- การทดสอบยาด้านมาลาเรีย
- การปรับปรุงการสอนเภสัชวิทยา
- 5-HT AND THE HEART
- IMIDAZOLE 2-HYDROXYBENZOATE, A NOVEL NSAID
- EVALUATION OF COMPOUND OF MICROBIAL ORIGIN

ISSN 0125-3832

ปีที่ 8 เล่มที่ 2 พ.ค.- ส.ค. 2529

Vol. 8 No. 2 May - Aug. 1986

วารสารเภสัชวิทยา
THAI JOURNAL OF PHARMACOLOGY

วารสารทางวิชาการของ
สมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย

Official Publication of the
Pharmacological and Therapeutic
Society of Thailand

บรรณาธิการ EDITOR

ทัศนัย สุริยจันทร์ — Dhasanai Suriyachan

รองบรรณาธิการ ASSOCIATE EDITOR

จงกล เที่ยงดาห์ — Chongkol Tiangda

กณะบรรณาธิการ EDITORIAL BOARD

กำพล ศรีวัฒนกุล — Kampon Sriwatanakul
กิตติมา มกรานนท์ — Kittima Makarananda
ขวัญฤดี เดชาติวงศ์ ณ อยุธยา — Quanrudi Dejatiwongse Na Ayudhya
ชวนี ทองโรจน์ — Chavanee Tongroach
ชัยชาญ แสงดี — Chaichan Sangdee
นพมาศ ว่องวิทย์เดชา — Noppamars Wongwitdecha
ประกาวดี พัวไพโรจน์ — Prapawadee Puapairoj
ประสาน ธรรมอุปกรณ์ — Prasan Dhumma-Upakorn
ปราโมทย์ ธีรพงษ์ — Pramote Teerapong
ปิยวรรณ ญาณภิรัต — Piyawan Yanapirut
ปุณฑริกา จรูญโรจน์ — Puntarika Charoonroje
พีรรัชต์ ไทยนะ — Peerarat Thaina
ไพฑูรย์ สังวรินทะ — Paitoon Sanvarinda
มธุรส รุจิรวัฒน์ — Mathuros Ruchirawat
วรา พานิชเกรียงไกร — Wara Panichkriangkrai
สมิง เก่าเจริญ — Sming Kaojarern
โสภิต ธรรมอารี — Sopit Thamaree
อัมพวัน อภิสริยะกุล — Amphawan Apisariyakul
อำนวย ธิฐาพันธ์ — Amnuay Thithapandha
อุบลวรรณ พงศ์ประยูร — Ubonwan Pongprayoon

ผู้จัดการ MANAGER

สุเพ็ญ ภัทรกิจวานิช — Supen Patarakitvanit

ผู้ช่วยผู้จัดการ ASSISTANT MANAGER

นิสามณี สัตยาบัน — Nisamanee Satyapan

สำนักงาน PUBLISHED BY

ภาควิชาเภสัชวิทยา — Department of Pharmacology
วิทยาลัยแพทยศาสตร์พระมงกุฎเกล้า — Pramongkutklao College of Medicine
ถนนราชวิถี กทม. 10400 โทร. 245-8272 — Rajavithi Road, Bangkok 10400, Tel. 245-8272

พิมพ์ที่ PRINTED BY

ไดมอนด์เพรส — Diamond Press
83/7 ถนนพหลโยธิน กทม. 10500 โทร. 579-2444 — 83/7 Paholyothin Road, Bangkok 10500, Tel. 579-2444

สมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย
THE PHARMACOLOGICAL AND THERAPEUTIC SOCIETY OF THAILAND

คณะกรรมการบริหาร วาระ พ.ศ. 2529-2530

นายก	รศ.ดร.จุฑามาศ สัตยวิวัฒน์
อุปนายก	ผศ.ดร.ไพฑูรย์ สังวรินทะ
ผู้รั้งตำแหน่งนายก	รศ.ดร.อรพรรณ มาตังคสมบัติ
เลขาธิการ	รศ.ดร.พรเพ็ญ เปรมโยธิน
เหรัญญิก	พ.ท.หญิงสุเพ็ญ ภัทรกิจวานิช
ปฏิคม	รศ.ดร.ประสาน ธรรมอุปกรณ์
นายทะเบียน	ผศ.ดร.ลัดดาวัลย์ การะโชติ
กรรมการวิชาการ	รศ.ดร.มธุรส รุจิรวัฒน์
บรรณาธิการวารสาร	พ.อ.ดร.ทัศนัย สุริยจันทร์
กรรมการ	รศ.นพ.กรุงไกร เจนพาณิชย์
	ภญ.สมทรง ศักดิ์ศรี
	ภก.กมล สวัสดีมงคล
	ดร.ภักดี โพธิศิริ
	ผศ.ดร.วรา พานิชเกรียงไกร
	ผศ.อโนชา อุทัยพัฒน์

EXECUTIVE COMMITTEE 1986-1987

President	Jutamaad Satayavivad
Vice-President	Paitoon Sanvarinda
President Elect	Oraphan Matangkasombat
Secretary General	Pornpen Pramyothin
Treasurer	Supen Patarakitvanit
Reception Secretary & Public Relation	Prasan Dhumma-Upakorn
Registrar	Laddawan Karachot
Chairman of Scientific Section	Mathuros Ruchirawat
Editor	Dhasanai Suriyachan
Members	Krungkrei Chenpanich
	Somsong Suksri
	Kamol Sawasdimongkol
	Pakdee Pothisiri
	Wara Panichkriangkrai
	Anocha Utaipatana

วารสารเภสัชวิทยา
THAI JOURNAL OF PHARMACOLOGY

ปีที่ 8 เล่มที่ 2 พ.ค.-ส.ค.2529 Vol.8 No.2 May-Aug. 1986

สารบาญ CONTENTS

รายงานวิจัย ORIGINAL ARTICLE

71 Differential actions of 5-hydroxytryptamine on the isolated rat right and left atria

Parimongkol Wongchuengam, Rachanee Naiwatanakul Prakorn Chudapongse and Prasan Dhumma-Upakorn

บทความปริทัศน์ REVIEW ARTICLE

83 การทดสอบศักยภาพของยาฆ่าเชื้อมาลาเรียในสัตว์ทดลอง

จุฑามาศ สัตยวิวัฒน์

เวทีทัศน์ POINT OF VIEW

107 การปรับปรุงการสอนวิชาเภสัชวิทยา

กรุงไกร เจนพาณิชย์

การบรรยายพิเศษ SPECIAL LECTURE

111 Pharmacodynamic and pharmacokinetic profile of imidazole 2-hydroxybenzoate, a novel antiinflammatory agent

H.-P.Kuemmerle and F.De Santis

121 Clinical evaluation of compounds of microbial origin

H.-P.Kuemmerle

การประชุมใหญ่สามัญประจำปี ครั้งที่ 9

สมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย

วันที่ 21-22 พฤษภาคม 2530 ณ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชาการ

1. การบรรยายพิเศษ
   - นโยบายการวิจัยและพัฒนาทางด้านยา โดย ทพญ. รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุข
   - จิตวิทยาในการทำงาน โดย คุณประสาร มฤคพิทักษ์
2. การอภิปรายกลุ่ม
   - อดีต ปัจจุบันและอนาคตของการวิจัยและพัฒนายา โดย รศ.พญ.มณฑิรา ตัณฑ์เกยูร, ภญ.ศศิธร วสุวัต, ดร.ภักดี ไพธิศิริ และ ดร.ชวนี ทองไรจน์ (ผู้ดำเนินการอภิปราย)
   - Current topics on new drugs โดย รศ.นพ.กรุงไกร เจนพาณิชย์ (ผู้ดำเนินการอภิปราย)
     - quinolone antibiotics โดย ศ.นพ.สมศักดิ์ ไล่ห์เลขา
     - non-sedative antihistamines โดย รศ.นพ.กำพล ศรีวัฒนกุล
     - 2nd generation antidepressants โดย ศ.นพ.สมพร บุษราทิจ, ผศ.ดร.ปราโมทย์ ธีรพงษ์
   - Anthelmintics in man and animals โดย ศ.พญ.นิภา จรูญเวสม์, นสพ.ดร.วิจิตร สุขเพสน์, ดร.อุดม จันทรารักษ์ศรี และ รศ.ดร.สมเกียรติ ทาจำปา (ผู้ดำเนินการอภิปราย)
   - ยาตกค้างในผลิตภัณฑ์จากสัตว์ โดย คุณชำรง จำเดิมเผด็จศึก, รศ.นสพ.ดาณิศ ทวีธิยานนท์, พญ.มล.รัตนสุดา ทันธ์อุไร และ ผศ.นสพ.พีระพล อยู่สวัสดิ์ (ผู้ดำเนินการอภิปราย)
3. การเสนอผลงานวิจัยแบบแผ่นภาพ

ภาคธุรการ

การประชุมทางธุรการของสมาคมฯ

(โปรดแสดงความจำนงเข้าร่วมประชุมในแบบฟอร์มลงทะเบียนที่แนบ)

วารสารเภสัชวิทยา
ปีที่ 8 เล่มที่ 2 พ.ค.-ส.ค.2529

DIFFERENTIAL ACTIONS OF 5-HYDROXYTRYPTAMINE ON THE ISOLATED RAT RIGHT AND LEFT ATRIA

Parimongkol Wongchuengam, Rachanee Naiwatanakul
Prakorn Chudapongse and Prasan Dhumma-Upakorn

Department of Pharmacology, Faculty of Pharmaceutical Sciences
Chulalongkorn University, Bangkok 10500

Abstract

The positive chronotropic and inotropic effects of 5-hydroxytryptamine (5-HT) on the isolated rat right and left atria respectively have been investigated in the presence of 5-HT antagonists, i.e., methysergide and cyproheptadine, and beta-adrenergic blocking agent, i.e., propranolol. Methysergide (0.47 µg/ml) or cyproheptadine (0.02 µg/ml) reduced the positive chronotropic effect of 5-HT (2.0 µg/ml) on the right atria to about 50% of controls, but completely abolished the positive inotropic effect of 5-HT on the left atria. Propranolol (0.15 µg/ml) attenuated the positive chronotropic effect of 5-HT similar to those of methysergide and cyproheptadine. However, propranolol did not reduce the positive inotropic effect induced by 5-HT on the left atria. Combinations of 5-HT antagonists with beta blocker totally inhibited the positive chronotropic effect. The positive chronotropic response of the isolated right atria from reserpinized rats was also abolished by either methysergide or cyproheptadine alone.

It is concluded that in the rats the effect of 5-HT on the right atrial rates is mediated by the combination of the direct effect on 5-HT receptor and indirect effect through catecholamine release from the intra-cardiac stores. In contrast, the positive inotropic effect on the left atria is due to a direct action of 5-HT and does not involve endogenous catecholamine release.

5-HT or serotonin has a well-documented effect on the cardiovascular system (1). It has been proposed that 5-HT has different mode of actions on isolated cardiac tissues depending on animal species. In

Thai J. Pharmacol.
Vol.8 No.2 May-Aug. 1986

case of rabbit (2,3) and dog (4) the cardiac stimulating effect of 5-HT appears to be mediated by endogenous catecholamine release from intracardiac store. However, in the cat and guinea-pig, a different mechanism has been suggested. In these species the mechanism is believed to involve direct stimulation of the specific serotonergic receptors on the cardiac cells (2). The present study was undertaken to assess the mechanisms of the chronotropic and inotropic effects of 5-HT on the isolated rat right and left atria, respectively. The use of the right atria for chronotropic stuay and the left atria for inotropic study eliminate any possible interference that changes in rate may have on contractile force. To our knowledge there has been no reported study concerning the effect of 5-HT on the separated right and left atria isolated from the rats. The results presented below show that 5-HT acts differently to increase the rate and isometric force of the isolated rat right and left atria, respectively.

METHODS

PREPARATIONS OF ISOLATED RAT ATRIA

Male Wistar rats weighing 250-300 g were killed by blowing on the heads. The heart was quickly excised and placed in a petri-dish containing oxygenated Locke solution (of the following composition, in mM : NaCl 155.8; $CaCl_2$ 2.15; KCl 5.6; $NaHCO_3$ 1.8 and glucose 5.0). The atria were dissected out and cut into right and left sides. They were then transferred into the organ baths containing 25 ml Locke solution continuously bubbled with 100% oxygen and maintained at 37°C. Each preparation was applied a 1 g preload. The right atria which beated spontaneously were allowed to equilibrate until stable rate was obtained. The left atria were electrically stimulated with square wave pulse (5 V strength and 5 msec duration) to beat at a constant rate of 250/min. The tissues were allowed to equilibrate until the contractile force was stable. The rate and isometric tension were recorded with isometric

force transducer (Grass FT 03 C) connected to a recorder (Beckman Dynograph recorder type R).

RESERPINE PRETREATMENT

Rats were injected intraperitoneally with reserpine at the dose of 5mg/kg/day for two consecutive days. They were sacrificed on the third day and the left and right atria were isolated and prepared for experiments as described above.

EXPERIMENTAL PROCEDURES

After the tissues had been equilibrated until the spontaneous beating rate (right atria) and isometric force (left atria) were stable, 5-HT was administered to the organ bath chamber by a microsyringe and the responses were recorded for 15 min. The same preparation was washed repeatedly with Locke solution and allowed to recover for at least 15 min before the effects of the blockers on the action of 5-HT were tested, and then the preparation was discarded. Control experiments revealed that there was no tachyphylaxis to the second addition of 5-HT.

CHEMICALS

Drugs used were as follow : 5-hydroxytryptamine creatinine sulfate (Sigma), cyproheptadine hydrochloride (Merck, Sharp & Dohm), methysergide hemimaleate (Sandoz), propranolol hydrochloride (Inderal inj., I.C.I.) and reserpine (Serpasil inj., Ciba Geigy). Cyproheptadine hydrochloride was dissolved in methanol; all other drugs were dissolved in double-distilled water.

RESULTS

POSITIVE CHRONOTROPIC EFFECT ON THE RAT ISOLATED RIGHT ATRIA

The effects of 5-HT (2 µg/ml), methysergide (0.47 µg/ml) and 5-HT plus methysergide on the spontaneous rate of isolated rat right

Thai J. Pharmacol.
Vol.8 No.2 May-Aug. 1986

atria are recorded in Figure 1. 5-HT produced a 10-15% increase in rate over controls and the positive chronotropic effect was well sustained during the 15 min experimental period. When methysergide, a 5-HT antagonist, was also present the positive chronotropic response to 5-HT was approximately 50% attenuated. Similar results were also obtained when either another 5-HT antagonist, cyproheptadine (0.02 µg/ml), or a beta-adrenergic blocking agent, propranolol (0.15 µg/ml), was used instead of methysergide. It must be pointed out that in order to avoid any non-specific effect, the dose of individual blocking agent employed in this study exerted only minimum (2-3%) or no inhibition on atrial activity by itself.

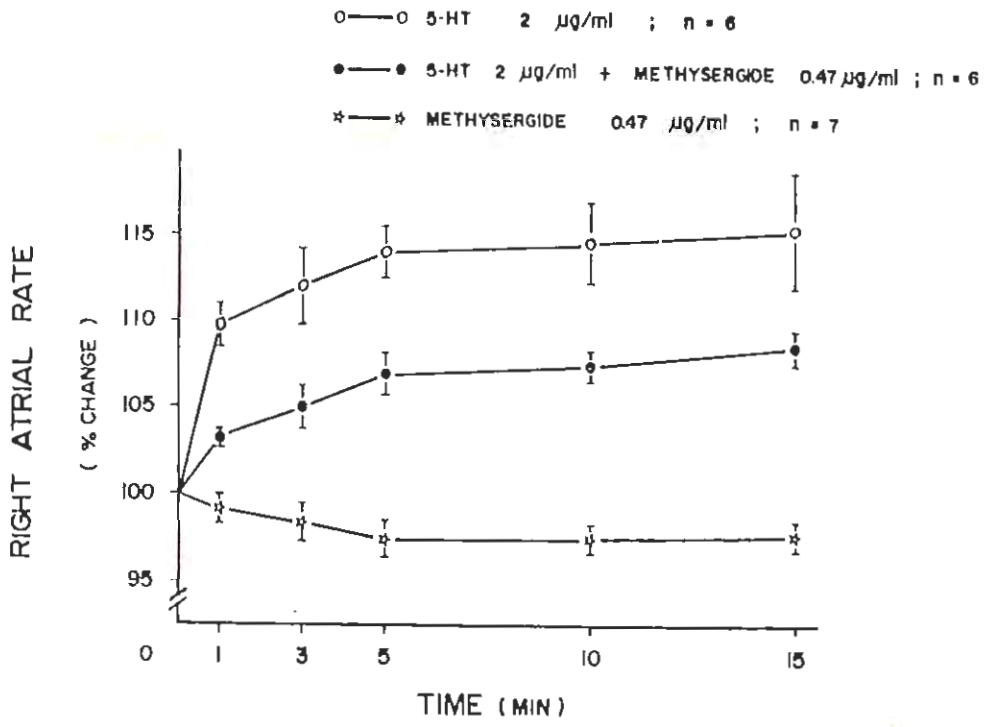


Figure 1. Effect of methysergide on the positive chronotropic action of 5-HT on the isolated rat right atria. Methysergide was added 5 min before 5-HT. Each point represents a mean ± S.E.M.

Figure 2. reports the effect of two antagonists combined, propranolol and methysergide, on the right atrial response to 5-HT. It is seen that in the presence of both 5-HT antagonist and beta blocker, the positive chronotropic effect of 5-HT was completely abolished. Similar but somewhat less striking results were obtained when cyproheptadine (0.02 µg/ml) replaced methysergide (results not shown). Further experiments were then performed with isolated right atria from reserpinized rats. The control right atrial rate collected from 32 reserpine-pretreated rats was 263 ± 18 beats/min which was similar to non-treated rats (266 ± 22, n = 75). However, the body weight of reserpinized rats was decreased by 43.72 ± 1.49 g (n = 32).

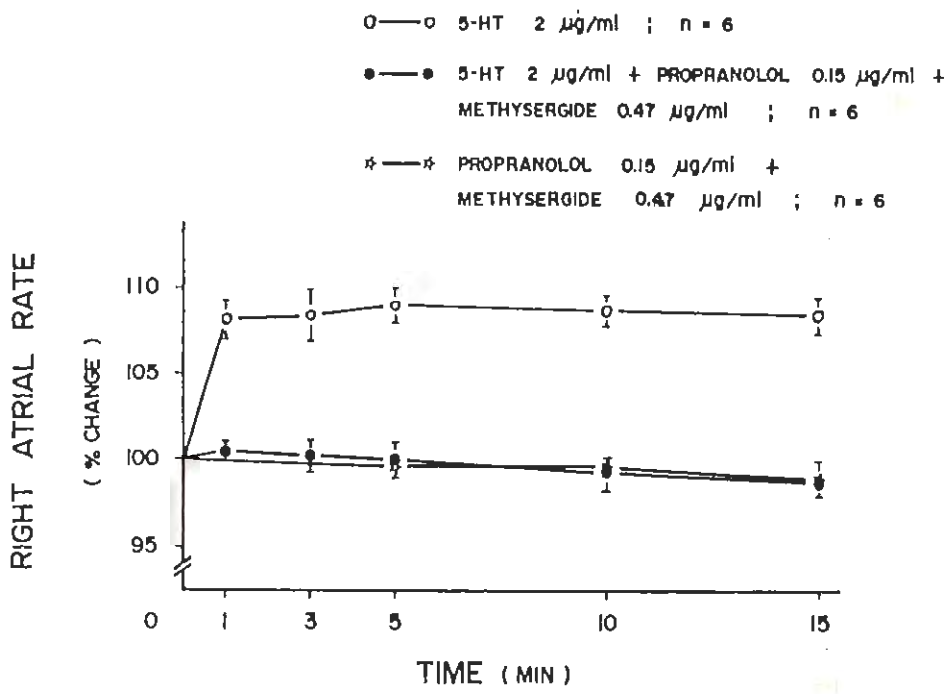


Figure 2. Blockade by propranolol plus methysergide of the positive chronotropic action of 5-HT on the isolated rat right atria. Both antagonists were added 5 min before 5-HT. Each point represents a mean ± S.E.M.

Thai J. Pharmacol.
Vol.8 No.2 May-Aug. 1986

As shown in Figure 3, in the reserpinized right atria, the positive chronotropic effect of 5-HT was almost completely blocked by methysergide alone (compared with Figure 1). Similar results were also found with cyproheptadine (0.02 µg/ml).

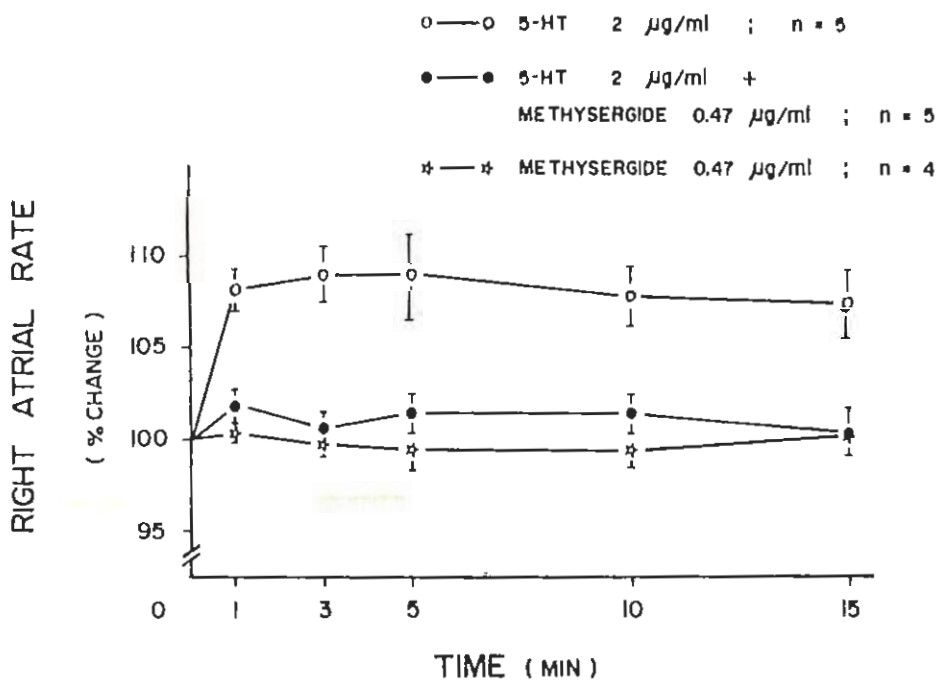


Figure 3. Inhibition by methysergide of the positive chronotropic action of 5-HT on the isolated right atria from reserpinized rats. Methysergide was added 5 min before 5-HT. Each point represents a mean ± S.E.M.

POSITIVE INOTROPIC EFFECT ON THE RAT ISOLATED LEFT ATRIA

Figure 4. records the effects of 5-HT (2 µg/ml), cyproheptadine (0.02 µg/ml) and 5-HT plus cyproheptadine on the isometric force of the electrically driven isolated rat left atria. 5-HT produced a 10-15% increment of contractile force and the effect was well sustained for at least 10 min. Prior addition of cyproheptadine practically caused complete inhibition of the positive inotropic response. Methyser-

gide (0.47 µg/ml) was found to be slightly less effective than cyproheptadine. In contrast to the effect on the rate, propranolol (0.15 µg/ml) was found totally inert against the action of 5-HT on the left atrial isometric force (Figure 5).

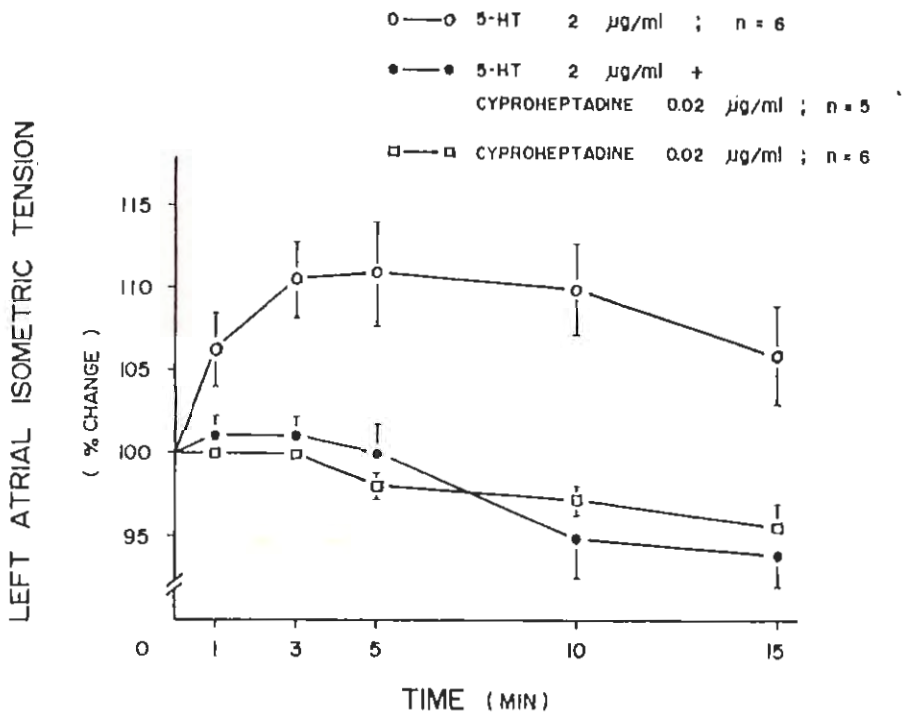


Figure 4. Abolition by cyproheptadine of the positive inotropic effect of 5-HT on the electrically paced isolated rat left atria. Cyproheptadine was added 5 min before 5-HT. Each point represents a mean ± S.E.M.

DISCUSSION

The results presented in this paper have shown the stimulatory effect of 5-HT on the right atrial rate and the left atrial isometric tension of the rats. The positive chronotropic effect is partially antagonized by 5-HT antagonists (methysergide and cyproheptadine) or beta-adrenergic blocking drug (propranolol). However, severe or com-

Thai J. Pharmacol.
Vol.8 No.2 May-Aug. 1986

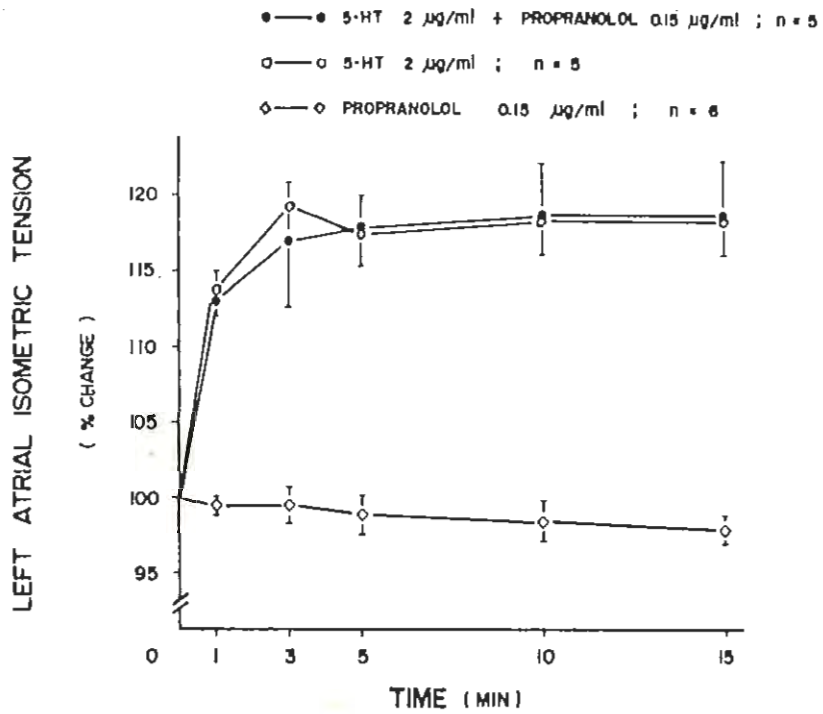


Figure 5. Effect of propranolol on the positive inotropic action of 5-HT on the electrically paced isolated rat left atria. Propranolol was added 5 min before 5-HT. Each point represents a mean ± S.E.M.

plete inhibition can be achieved by combining 5-HT antagonist with beta blocker. In contrast, the positive inotropic effect is completely abolished by 5-HT antagonists, particularly cyproheptadine; and propranolol is totally ineffective at the same dose. These observations indicate that 5-HT stimulates rat right and left atria by different mechanisms. The effect on rate appears to have both direct and indirect components. The indirect part is most certainly resulted from endogenous catecholamine.

This conclusion is also supported by the experiments in which reserpine is used to deplete neuronal storage of catecholamine. Thus, in the reserpinized right atria, 5-HT antagonists alone strongly or completely block the positive chronotropic effect of 5-HT. On the

contrary, the effect on force seems to have only direct component and mediates solely through specific interaction with serotonergic receptors on myocardial cells. It has recently been proposed that there are at least two distinct populations of 5-HT receptors, the 5-HT_1 or S_1 and 5-HT_2 or S_2 receptors. Methysergide and, particularly, cyproheptadine have a higher affinity for the S_2 than for the S_1 receptor (5). Since low doses of methysergide and cyproheptadine were found to reduce the rate and abolish the contractile response, this may suggest the presence of S_2 receptor subtype in the rat atria.

The apparent inability of 5-HT to induce endogenous catecholamine release in the left atria may not be related to the different norepinephrine contents in the right and left sides. Histochemical study has shown that in rabbit and guinea-pig hearts norepinephrine is more concentrated in the right atrium and ventricle than in the left ones (6). However, the mode of actions of 5-HT on cardiac tissues isolated from rabbit and guinea-pig are different. At present, the mechanism of the endogenous catecholamine liberation evoked by 5-HT in the right atria is not known. There are at least two possibilities : (a) stimulation of serotonergic receptor on nerve terminal, which triggers the release of the adrenergic neurotransmitter (7); and (b) a tyramine-like indirect sympathomimetic action (8). Alternatively, 5-HT may inhibit norepinephrine reuptake by sympathetic nerve terminal leading to local accumulation of the amine (9). Further experiments are needed to clarify this point.

Recent experimental results reported by other investigators are in agreement with our data. For example, Sakai and Akima (10) show that in isolated, blood-perfused rat heart, single injections of 5-HT (0.1-3 µg) into the coronary perfusion produced the dose-dependent increases in left vertricular dP/dt max and perfusion pressure. These effects are not significantly affected by treatment with propranolol but are abolished by methysergide. Similarly, Higgins and co-workers (11) have shown that low concentration of 5-HT (10^{-5}M) increases contractile activity of the isolated perfused working rat heart. This

effect is blocked by methysergide but not by atenolol, a cardioselective beta blocker. Thus these studies show that the positive inotropic action of 5-HT on isolated rat heart is a direct effect and does not involve the release of endogenous catecholamine. Our results with isolated rat left atria also point to the same conclusion.

CONCLUSION

The present results indicate differential actions of 5-HT in increasing the rate and contractile force by isolated rat right and left atria, respectively. Our results also question the validity of previous studies on the stimulatory effect of 5-HT and the alteration of this effect by certain blocking agents which had been performed with the isolated whole atria.

ACKNOWLEDGEMENT

This investigation was supported in part by a fund from the Faculty of Graduate Studies, Chulalongkorn University.

REFERENCES

1. Erspamer V. Peripheral physiological and pharmacological actions of indolealkylamine. In : Eichler O, Farah A, eds. Handbook of experimental pharmacology. Vol 19. Berlin : Springer-Verlag, 1966 : 245-359.
2. Trendelenburg U. The action of histamine and 5-hydroxytryptamine on isolated mammalian atria. J Pharmacol Exp Ther 1960; 130 : 450-60.
3. Fozard JR, Mwaluko GMP. Stimulant effects of 5-hydroxytryptamine on cardiac sympathetic nerve. Br J Pharmacol 1975; 53 : 449P-50P.
4. Chiba S. Pharmacologic analysis of chronotropic and inotropic responses to 5-hydroxytryptamine in the dog heart. Jap J Pharmacol 1977 ; 27 : 727-34.
5. Janssen PAJ. 5-HT_2 receptor blockade to study serotonin-induced pathology. Trends Pharmacol Sci 1983; 4 : 198-206.

6. Angelakos ET, Fuxe K, Torchiana, ML. Chemical and histochemica' evaluation of the distribution of catecholamines in the rabbit and guinea pig hearts. Acta Physiol Scand 1963; 59 : 184-92.

7. Fozard JR, Mobarok-Ali ATM. Receptors for 5-hydroxytryptamine on the sympathetic nerves of the rabbit heart. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol 1978; 301 : 223-35.

8. Fillion GMB, Lluch S, Uvnas B. Release of noradrenaline from the dog heart in situ after intravenous and intracoronary administration of 5-hydroxytryptamine. Acta Physiol Scand 1971; 83 : 115-23.

9. Horst WD, Jester T. Influence of serotonin on adrenergic mechanisms. Biochem Pharmacol 1972; 21 : 333-8.

10. Sakai K, Akima M. An analysis of the stimulant effects of 5-hydroxytryptamine on isolated, blood-perfused rat heart. Eur J Pharmacol 1979; 55 : 421-4.

11. Higgins TJG, Allsopp D, Bailey PJ. Mechanisms of stimulation of rat cardiac muscle by 5-hydroxytryptamine. Biochem Pharmacol 1981; 30 : 2703-7.

FIRST ANNOUNCEMENT
AND
CALL FOR PAPERS

5TH SOUTHEAST ASIAN AND WESTERN PACIFIC

REGIONAL MEETING OF PHARMACOLOGISTS
(5TH SEA/WP RMP)

4-8 July 1988 **BEIJING, CHINA**

รายละเอียดติดต่อ :

Prof. Zhang Juntian
5th SEA/WP RMP
Dept. of Pharmacology
Institute of Materia Medica
Chinese Academy of Medical Sciences
1 Xian Nong Tan Street
Beijing, CHINA

วารสารเภสัชวิทยา
ปีที่ 8 เล่มที่ 2 พ.ค.-ส.ค.2529

การทดสอบศักยภาพการฆ่าเชื้อมาลาเรียในสัตว์ทดลอง

จุฑามาศ สัตยวิวัฒน์

ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

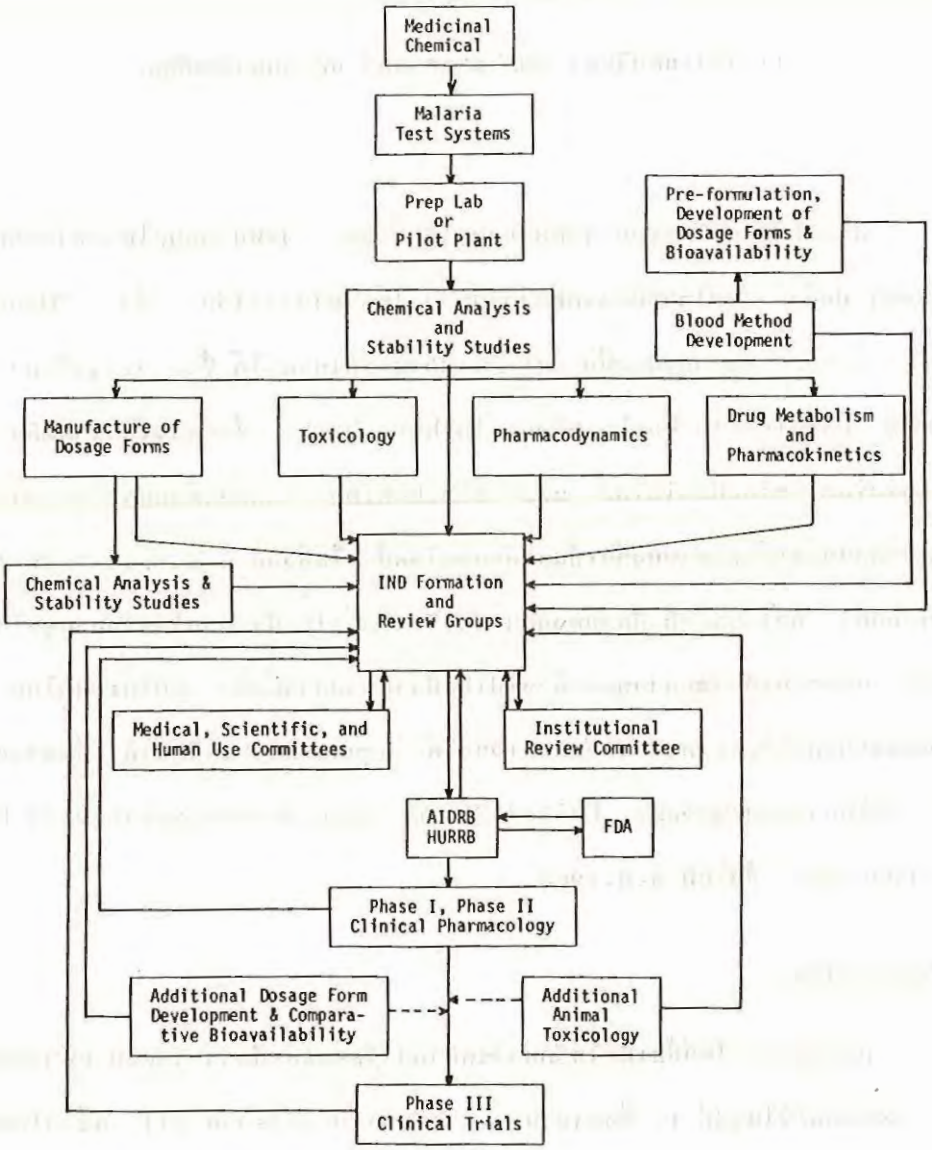
หากย้อนมองอดีตของการรักษามาลาเรียด้วยยา จะพบว่าสมุนไพรเข้ามามีบทบาทสำคัญนับเป็นพันๆ ปีแล้ว สมุนไพรชนิดแรกที่ชาวจีนนำมาใช้รักษามาลาเรีย ชื่อ "Qinghao" *(Artemisia annua)* และอีกชนิดหนึ่งเป็นไม้พื้นเมืองของอเมริกาใต้ ซึ่งชาวเปรูเรียกว่า Jesuit's หรือ Cardinal's bark หรือ Cinchona bark ซึ่งมีสารเคมีสำคัญคือ quinine, quinidine, cinchonidine และ cinchonine จากการค้นพบยารักษามาลาเรียใหม่ๆ และสารฆ่าแมลงเพื่อทำลายยุงซึ่งเป็นพาหะของโรคนี้ ในช่วงปี ค.ศ.1930-1960 (ดูตารางที่ 1 ประกอบ) ทำให้บุคคลที่เกี่ยวข้องกับมาลาเรียเชื่อว่าโรคนี้จะหมดไปหรือควบคุมได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่ความเชื่อดังกล่าวถูกลบล้างไปเมื่อมีรายงานการดื้อยา chloroquine จากประเทศในแถบอเมริกาใต้และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ รัฐบาลสหรัฐอเมริกาเล็งเห็นความสำคัญของปัญหานี้ จึงให้การสนับสนุนจัดตั้ง United States Army Antimalarial Drug Development Programme ขึ้นในปี ค.ศ.1963

กระบวนการพัฒนายาใหม่

การพัฒนายาใหม่ขึ้นเพื่อใช้รักษาโรคมาลาเรียจะต้องมีการวางแผนอย่างรอบคอบเป็นขั้นตอน ดังแสดงไว้ในรูปที่ 1 ซึ่งหาอ่านรายละเอียดเพิ่มเติมได้จาก (1) กล่าวโดยย่อคือเริ่มตั้งแต่การหาสารเคมีมาทดสอบประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อมาลาเรียในหลอดทดลอง และในสัตว์ทดลอง หากพบว่ามีศักยภาพก็จะทำการสังเคราะห์เป็นจำนวนมาก เพื่อศึกษาในด้านเคมี ศึกษาความคงตัวของสารทั้งในสภาพสารบริสุทธิ์และเมื่อเป็นยาในรูปแบบต่างๆ การศึกษาทางเภสัชจลนศาสตร์

Thai J. Pharmacol.
Vol.8 No.2 May-Aug. 1986

วิทยา (pharmacodynamics) เภสัชจลนศาสตร์ (pharmacokinetics) และพิษวิทยา (toxicology) อย่างละเอียด การหาวิธีทำรูปแบบยาให้เหมาะสม ข้อมูลต่างๆที่จำเป็นเหล่านี้เรียกว่า "Notice of Claimed Investigational Exemption for a New Drug" (IND)



รูปที่ 1. Antimalarial drug development process. *AIDRB-HURRB*, Army Investigational Drug Review Board-Human Use Research Review Board; *FDA*, Food and Drug Administration. From (1).

ตารางที่ 1. ประวัติการค้นพบยารักษามาลาเรียและสารฆ่าแมลง

ค.ศ.340	Qinghao was first recorded as an antimalaria in Handbook of Prescriptions for Emergency Treatment by Ge Hong in China.
ค.ศ.1633	The first written record of the use of cinchona in a religious book by Augustinian monk named Calancha, of Lima, Peru.
ค.ศ.1820	Quinine and cinchonine were isolated from cinchona bark.
ค.ศ.1930	Development of mepacrine (Atabrine).
ค.ศ.1934	Development of chloroquine.
ค.ศ.1935-1939	Pyrethrin spraying.
ค.ศ.1936-1939	Discovery of insecticide action of DDT.
ค.ศ.1944	Discovery of proguanil.
ค.ศ.1942-1946	Development of synthetic insecticides (dieldrin) with residual action.
ค.ศ.1952	Development of pyrimethamine, primaquine.
ค.ศ.1961-1965	Reports from South America and Southeast Asia of *P.falciparum* resistant to chloroquine.
ค.ศ.1960-1966	Rediscovery of use of sulphonamides and sulphones as antimalarials.
ค.ศ.1963-	Antimalarial Drug Development Programme of US Army.
ค.ศ.1971	Artemisinine was isolated from *Artemisia annua*.
ค.ศ.1980+	Mefloquine.

Thai J. Pharmacol.
Vol.8 No.2 May-Aug. 1986

ข้อมูล IND ใช้เพื่อพิจารณาว่าสารเคมีที่ทดสอบเหมาะสมที่จะนำไปศึกษาทดลองในมนุษย์ต่อไปหรือไม่ ในโครงการนี้จะมีคณะกรรมการพิจารณา เรียกว่า Army Investigational Drug Review Board-Human Use Research Review Board (AIDRB-HURRB) ซึ่งจะมีการพิจารณาร่วมกับ Food and Drug Administration (FDA) การทดลองในมนุษย์แบ่งเป็นระยะต่างๆ และจะมีการประเมินผลเป็นระยะๆ ว่าสมควรให้ทำการวิจัยต่อไปหรือไม่

แนวทางในการพัฒนายาเพื่อใช้รักษาโรคมาลาเรีย

เมื่อมีการตั้งเป้าหมายว่าจะทำการพัฒนายาขึ้นมาเพื่อรักษาโรคมาลาเรีย ปัญหาพื้นฐานคือจะนำสารเคมีใดมาทดสอบ และมีหลักการทั่วๆ ไปอย่างไร จากรายงานต่างๆ พอสรุปได้เป็น 2 แนวทาง คือ การดัดแปลงสูตรทางเคมีของสารกลุ่มต่างๆ หลายๆ กลุ่ม ที่น่าจะมีประสิทธิภาพต่อเชื้อมาลาเรียแล้วนำไปทดสอบ หรือนำสมุนไพรมากมายหลายชนิดมาศึกษา ส่วนอีกรูปแบบหนึ่งเป็นการศึกษาอย่างเฉพาะเจาะจง คือ เลือกเฉพาะสารเคมีบางอย่าง โดยอาศัยหลักที่ว่าสารเคมีที่ใช้จะฆ่าหรือยับยั้งการเจริญของเชื้อปรสิต โดยไปขัดขวางขบวนการต่างๆทางชีวเคมีของมัน หรือเลือกทดสอบเฉพาะสมุนไพรบางชนิดที่แพทย์แผนโบราณพบว่า มีสรรพคุณในการรักษามาลาเรีย

- การสังเคราะห์สารเคมีชนิดใหม่ๆ : เช่นโครงการของ US Army Antimalarial Drug Development Programme ได้สังเคราะห์อนุพันธ์ของสารเคมีกลุ่มต่าง ๆ ตัวอย่างเช่น 8-aminoquinolines, quinolinecarbinols,phenanthrenecarbinols, pyridinecarbinols เป็นต้น จากการทดสอบสารเคมีระหว่างปี ค.ศ.1964-1980 จำนวน 275,000 ชนิด พบว่ามีประสิทธิภาพเบื้องต้นในการฆ่าปรสิต 9,000 ชนิด แต่มีเพียง 30 ชนิดเท่านั้นที่ได้รับการคัดเลือกว่าสมควรนำมาศึกษาต่อไปในมนุษย์ (1)

- การทดสอบสารเคมีโดยอาศัยหลักเบื้องต้นทางวิทยาศาสตร์พื้นฐาน : ตัวอย่างเช่น การศึกษาทางชีวเคมีทำให้ทราบว่าในการเจริญเติบโตของเชื้อ Plasmodium ต้องอาศัย phospholipid Vial และคณะจึงใช้สารชื่อ D-2-amino-1-butanol เพื่อรบกวนการสังเคราะห์ phospholipid พบว่ามีประสิทธิภาพในการขัดขวางการเจริญเติบโตของเชื้อมาลา

เรียซึ่งเพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง (2)

- การทดสอบยาที่มีจำหน่ายในท้องตลาดที่ใช้รักษาโรคอื่นๆ : เมื่อความรู้ทางชีวเคมีของปรสิตเพิ่มขึ้น ทำให้นักวิจัยเริ่มของเห็นแนวทางว่าน่าจะนำยาที่มีอยู่แล้วบางชนิดมาทดสอบฤทธิ์ต้านมาลาเรีย เช่น Pfaller และคณะพบว่ายาฆ่าเชื้อรา ketoconazole และ miconazole มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อปรสิตในหลอดทดลองได้ (3) หรือ Divo และคณะได้ศึกษายาปฏิชีวนะหลายตัว เช่น clindamycin, pirlimycin, tetracyclines, chloramphenicol, thiamphenicol และ erythromycin เป็นต้น พบว่ามีฤทธิ์ฆ่าเชื้อ *P.falciparum* ในหลอดทดลอง (4) Satayavivad และคณะพบว่า calcium blockers ซึ่งใช้รักษาภาวะเกี่ยวกับความผิดปกติของหลอดเลือดและหัวใจ มีฤทธิ์ต้านมาลาเรียในหลอดทดลอง (5) เป็นต้น

- สมุนไพร : การศึกษาเกี่ยวกับสมุนไพรที่ใช้รักษามาลาเรียในประเทศไทย มีมาแต่สมัยสงครามโลกครั้งที่ 2 โดย อวย เกตุสิงห์ ได้ทำการทดสอบสมุนไพรจำนวน 30 ชนิด ที่มีการอ้างสรรพคุณว่าสามารถรักษามาลาเรียในคนได้ (6) ซึ่งผลการรักษาสรุปไว้ในตารางที่ 2 สำหรับในต่างประเทศ การทดสอบประสิทธิภาพของสมุนไพรที่ใช้รักษามาลาเรียโดย Spencer และคณะนับว่าเป็นโครงการใหญ่อันหนึ่ง โดยนำสมุนไพร 600 ชนิด จาก 126 วงศ์ มาทดสอบประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ *P.gallinaceum* ในไก่, *P.cathemerium* และ *P.lophurae* ในเป็ด พบว่า สมุนไพรที่มีประสิทธิภาพส่วนใหญ่จะอยู่ในวงศ์ Amaryllidaceae และ Simaroubaceae (7)

Pavanand และคณะได้รายงานผลการทดลองสารสกัดจาก *Brucea javanica* (L.) Merr. (Simaroubaceae) พบว่า bruceine A,B,C เป็นสารสำคัญที่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อ *P.falciparum* สารที่ได้มีความแรงพอๆ กับ mefloquine (8) O'Neill และคณะได้รายงานผลการทดสอบสารสกัดอย่างหยาบๆ ของ *Artemisia annua, A.vulgaris* ซึ่งอยู่ในวงศ์ Compositae และ *Brucea javanica, Ailanthus altissima* และ *Simaba cedron* ซึ่งอยู่ในวงศ์ Simaroubaceae ผลการทดสอบพิจารณาจากการขัดขวางการนำ (G-^{3}H)-

Thai J. Pharmacol.
Vol.8 No.2 May-Aug. 1986

ตารางที่ 2. ผลการรักษามาลาเรียด้วยสมุนไพร. จาก (6)

ก.	ข.	ค.	ง.	จ.	ฉ.	ช.	ซ.
1. ป.กะทงราย	6-30	20	8(40.0%)	9	3(33.3%)	11	5(45.5%)
2. หัวเค่าเกียด	3-40	53	29(54.7%)	21	8(38.1%)	32	21(75.7%)
3. ป.สะเคาป่า	6-18	14	8(57.0%)	1	0(00.0%)	13	8(61.5%)
4. ป.กะท้อน	6-18	11	5(45.5%)	2	1(50.0%)	9	4(44.4%)
5. ป.กรรณิการ์	6-40	16	10(62.4%)	6	2(33.0%)	10	8(80.0%)
6. หัวคล้า	6-18	26	12(46.2%)	11	5(45.5%)	15	7(46.6%)
7. ต้นแฝกหอม	6-15	13	6(46.1%)	6	2(33.3%)	7	4(57.1%)
8. ป.หญ้ายา	3-30	13	7(53.7%)	6	3(50.0%)	6	4(66.6%)
9. ป.หญ้าปือเหล็ก	6-30	24	8(33.3%)	11	1(09.0%)	13	7(53.8%)
10. รากกระออม	6-18	12	3(25.0%)	5	1(20.0%)	7	2(20.6%)
11. เถาปิงข้าชาลี	9-18	9	3(33.3%)	4	0(00.0%)	5	3(60.0%)
12. ล.เร่วน้อย	6-30	21	13(61.9%)	13	8(61.5%)	8	5(62.0%)
13. ป.คันเบ็ดต้น	6-18	9	3(33.3%)	6	2(33.3%)	3	1(33.3%)
14. ป.ปี่เหล็ก	6-30	11	4(36.3%)	5	2(40.0%)	6	3(50.0%)
15. เถาขรเห็ด	3-30	23	10(43.5%)	15	7(46.6%)	8	3(37.5%)
16. ป.ไมกหลวง	18-30	13	4(30.8%)	5	2(40.0%)	8	2(25.0%)
17. กรุงเขมา(เถา)	6-40	17	5(29.4%)	7	3(42.8%)	10	2(20.0%)
18. หัวแห้วหมู	6-30	12	5(41.6%)	6	3(50.0%)	6	2(33.3%)
19. หญ้าใต้ใบ	30-40	18	6(33.3%)	8	0(00.0%)	10	6(60.0%)
20. ใบชุบเหัดไทย	18-40	12	4(33.3%)	6	2(33.3%)	6	2(33.3%)
21. ล.พิลังกาสา	30-40	14	8(57.1%)	6	4(66.6%)	8	4(50.0%)
22. เถาแคงหมู	15	11	3(27.3%)	8	3(27.3%)	3	0(00.0%)
23. เปลือกเทกา	15-30	38	25(65.7%)	18	13(72.1%)	20	12(60.0%)
24. หัวขมิ้นเครือ	15-18	18	5(41.6%)	6	3(50.0%)	6	2(33.3%)
25. รากเจตมูลเพลิงแดง	15	13	4(23.0%)	8	2(25.0%)	5	1(20.0%)
26. หัวกระถือ	15	10	4(40.0%)	8	4(50.0%)	2	0(00.0%)
27. ป.ทะลุด	15	10	6(60.0%)	8	5(62.5%)	2	1(50.0%)
28. ป.กอมขบ	3-24	61	21(34.4%)	26	5(19.2%)	35	16(45.4%)
29. ม.กาสามปีก	6-30	18	5(14.3%)	7	1(14.3%)	11	4(36.7%)
30. ม.สะเคาป่า	3-10	9	2(22.2%)	7	2(28.6%)	2	0(00.0%)

ก = ชื่อยา ข = ขนาดที่ใช้ต่อวัน (กรัม) ค = จำนวนผู้ป่วยที่ใช้ทดลองทั้งหมด
ง = จำนวนผู้ป่วยที่หายทั้งหมด จ = จำนวนผู้ป่วยที่มีเชื้อพลาสโมเดียมฟัลซิปารุม
ฉ = จำนวนผู้ป่วยพวกนี้ที่หาย ช = จำนวนผู้ป่วยที่มีเชื้อไวแว็กซ์
ซ = จำนวนผู้ป่วยพวกนี้ที่หาย ป = เปลือก ล = ลูก ม = ใบ

hypoxanthine เข้าไปในตัวเชื้อ *P.falciparum* ซึ่งเลี้ยงในหลอดทดลอง พบว่ามีฤทธิ์ต้านการเจริญเติบโตของเชื้อมาลาเรีย (9)

Chan และคณะ (10) รายงานผลการต้านมาลาเรียของสารสกัดอย่างหยาบ ๆ และสารเคมีบริสุทธิ์ต่างๆ ที่ได้จากรากปลาไหลเผือก *Eurycoma longifolia* Jack Simaroubaceae ซึ่งสมุนไพรชนิดนี้ก็ได้มีการศึกษามาแล้วในประเทศไทยโดย Pavanand และคณะ ตั้งแต่ปี 1983

รายงานดังกล่าวมาข้างต้นเป็นการทดสอบฤทธิ์ต้านมาลาเรียในหลอดทดลอง ยังไม่ได้ทำการทดสอบในสัตว์ทดลอง Fandeur และคณะ (11) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านมาลาเรีย ของ sergeolide ซึ่งเป็นสารพวก quassinoid ได้จาก *Picrolemma pseudocoffea* , Simaroubaceae พบว่าสารนี้มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ *P. falciparum* ในหลอดทดลอง และ *P.berghei* ในหนูถีบจักรในขนาดยาที่ค่อนข้างต่ำ แต่มีความเป็นพิษมาก ทำให้ผู้วิจัยสรุปว่า sergolide ไม่เหมาะที่จะนำไปใช้ในการรักษามาลาเรียในคน

นอกจากพืชในวงศ์ Simaroubaceae แล้ว Abatan และ Makinde (12) ได้รายงานผลการวิจัยเบื้องต้นของสารสกัดอย่างหยาบๆ จาก *Azadirachta indica* (Meliaceae) และ *Pisum sativum* (Leguminosae) ในสัตว์ทดลอง ยงยุทธ ยุทธวงศ์ และคณะได้ศึกษาสารสกัดบริสุทธิ์ nimbolide และสารสกัดอย่างหยาบๆ จากสะเดาไทย พบว่ามีฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรียในหลอดทดลอง (13)

Qinghao (*Artemisia annua* L.) Compositae

หากไม่นับ quinine ซึ่งได้จากเปลือกต้นชิงโคน่าแล้ว qinghaosu ซึ่งสกัดจาก *Artemisia annua* นับว่ามีบทบาทสำคัญมากในปัจจุบัน เพราะเริ่มมีการใช้ในคนแล้วในประเทศจีน ถ้าหากติดตามการพัฒนายาชนิดนี้จากสมุนไพรจะได้แง่คิดหลายประการด้วยกัน ที่สำคัญคือ การวางรูปแบบการพัฒนาที่ชัดเจน โดยตั้งเป็นคณะทำงานซึ่งมีชื่อว่า "China Cooperative Research Group on Qinghaosu and its derivatives as antimalarials " ซึ่งจะต้องกล่าวหลายครั้ง จึงขอใช้เรียกย่อๆ ว่า CCRGQA เริ่มต้นในปี ค.ศ.1971 คณะวิจัย

Thai J. Pharmacol.
Vol.8 No.2 May-Aug. 1986

ซึ่งประกอบด้วยนักวิชาการจาก Institute of Chinese Materia Medica, Academy of Traditional Chinese Medicine, Institute of Organic Chemistry, Institute of Biophysics, Chinese Academy of Science รายงานว่าสารสำคัญซึ่งมีฤทธิ์ต้านมาลาเรียใน Qinghao คือ qinghaosu (QHS) หรือ artemisinine (14) ในการศึกษาทางเคมีและการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ qinghaosu ได้ดำเนินการโดยหน่วยงานอีก 4 แห่งคือ Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Science ; Institute of Chinese Materia Medica, Academy of Traditional Chinese Medicine ; Guilin Pharmaceutical Works ; Institute of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica, Shandong Province (15)

การทดสอบประสิทธิภาพและกลไกการออกฤทธิ์ของ QHS และอนุพันธ์ในสัตว์ทดลองได้ดำเนินการโดยหน่วยวิจัย 8 แห่งด้วยกัน (16) การศึกษาการเปลี่ยนแปลงสภาพยาและเภสัชจลนศาสตร์ของ QHS และอนุพันธ์ การวิจัยถึงความเป็นพิษ และการศึกษาทางคลินิก มีหน่วยงานที่ทำการค้นคว้าวิจัยร่วมกันในแต่ละเรื่องจำนวน 7,9 และ 12 แห่งตามลำดับ (17-19) การศึกษาฤทธิ์และความเป็นพิษของ artesunate ในสัตว์ทดลองทำโดย Yang และคณะ (20) นอกจากงานวิจัยดังกล่าวแล้ว Li และคณะได้รายงานผลการวิจัยที่น่าพอใจของ QHS ในการรักษา cerebral malaria (21) Qian และคณะ (22) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อไวรัสและผลต่อภูมิคุ้มกันของ QHS Ye และคณะ (23) ศึกษาผลของ QHS และ chloroquine ต่อโครงสร้างของเม็ดเลือดแดงที่มีเชื้อ *P.falciparum* เจริญเติบโตอยู่ Jiang และคณะ (24) ได้รายงานผลการทดลองยาต้านมาลาเรียโดยเปรียบเทียบ QHS และ mefloquine หลังจากที่ผลงานวิจัยเกี่ยวกับ qinghaosu ซึ่งเริ่มอย่างจริงจังเป็นระบบในปี ค.ศ.1971 เป็นต้นมา ได้เริ่มมีการเผยแพร่ผลงานในปี 1979 นักวิจัยในประเทศต่างๆ ก็ให้ความสนใจกับสมุนไพรชนิดนี้ของจีนเป็นอย่างมาก เช่นมีการศึกษาวิธีสังเคราะห์ QHS โดย Schmid และ Hofheinz (25) Li และคณะ (26) ได้ศึกษาฤทธิ์ของ QHS และอนุพันธ์บางชนิดในหลอดทดลอง มีนักวิจัยหลายคณะศึกษาเกี่ยวกับกลไกการออกฤทธิ์ของ QHS และอนุพันธ์ (27-29) นอกจากนั้นได้มีการทดลองปลูก *Artemisia annua* ในสหรัฐอเมริกาและเยอรมันเพื่อหาปริมาณของ ar-

temisinin (30,31) บทความที่เกี่ยวกับ qinghaosu (artemisinin) หรือเดิมเรียกว่า artemisinine ที่ครอบคลุมเนื้อหาไว้อย่างละเอียดมีอยู่ใน (32)

กล่าวโดยสรุป QHS และอนุพันธ์จัดเป็นยาที่ได้จากสมุนไพรที่มีประสิทธิภาพสูง ออกฤทธิ์ได้เร็วแต่ฤทธิ์คงอยู่ได้ไม่นาน เชื่อกันว่ามีอาการข้างเคียงน้อย ข้อเสีย คือ เชื้อกลับกำเริบใหม่ได้ (recrudescence) แต่ก็มีประโยชน์มากใน cerebral malaria เพราะลดปริมาณ *P.falciparum* ได้เร็ว ปัจจุบันการสังเคราะห์ทำได้ยาก มีผู้พยายามหาวิธีที่จะเพาะปลูกเพื่อให้ได้ QHS ปริมาณสูงๆ เพื่อนำไปศึกษาวิจัยหาสรรพคุณในแง่ต่างๆ ต่อไป

<u>วิธีทดสอบประสิทธิภาพยารักษามาลาเรียในสัตว์</u>

ในระยะแรกๆ ก่อนที่จะมีการค้นพบวิธีการเลี้ยงเชื้อมาลาเรีย *P.falciparum* ในน้ำยาเลี้ยงเชื้อที่มีเม็ดเลือดแดงอยู่ด้วย โดยวิธีของ Trager และ Jensen (33) การทดสอบประสิทธิภาพยาต้านมาลาเรียมักทำในสัตว์ทดลอง ซึ่งอาจใช้ ไก่ เป็ด นก สัตว์ฟันแทะ และลิง ต่อมาภายหลังมักนิยมทดสอบในน้ำยาเลี้ยงเชื้อ (in vitro testing models) ก่อนแล้วจึงนำมาทดสอบในสัตว์ทดลองเพราะประหยัดค่าใช้จ่าย สะดวก รวดเร็ว ใช้ตัวอย่างสารเคมีน้อย แต่ก็มีจุดอ่อนในแง่ที่ว่าสารเคมีที่ให้ผลดีในการทดลองวิธีนี้ไม่จำเป็นต้องมีผลเช่นเดียวกันในสัตว์ทดลองเสมอไป

สัตว์ทดลองที่ใช้ในห้องปฏิบัติการส่วนใหญ่เป็นสัตว์ฟันแทะ เพราะการดูแลสะดวกและประหยัดค่าใช้จ่ายมากกว่า สำหรับวิธีการทดสอบมีแบบต่างๆ กันแล้วแต่จุดประสงค์ของนักวิจัย (ดูตารางที่ 3 ประกอบ) ในการทดสอบหาฤทธิ์เป็น blood schizonticides วิธีการทดสอบที่นิยมใช้กันคือ Rane's test และ four-day test

- Rane's test : วิธีนี้จะฉีดเชื้อ *P.berghei* เข้าทางช่องท้องของหนูถีบจักร หลังจากนั้น 72 ชม.ฉีดยาที่ต้องการทดลองโดยให้เข้าใต้ผิวหนัง การประเมินประสิทธิภาพของยาทำโดยเปรียบเทียบระยะเวลาที่หนูถีบจักรที่ได้รับเชื้อมาลาเรียมีชีวิตรอด (survival time) ระหว่างกลุ่มที่ได้รับยาที่ทดลองและกลุ่มที่ไม่ได้รับยา (34) วิธีนี้เป็นที่นิยมใช้กันมาก แต่นักวิจัยบางคณะได้ดัดแปลงต่างไปจากเดิมบ้างเล็กน้อย

Thai J. Pharmacol.
Vol.8 No.2 May-Aug. 1986

ตารางที่ 3. รูปแบบต่างๆ ของการทดสอบยาต้านมาลาเรียในสัตว์ฟันแทะ

1. Blood schizonticides

   1.1 Single-dose regimens
   - Rane's test (34)
   - Fink and Kretschmar's test (35)

   1.2 Multiple-dose regimens
   - Early test procedures (36-39)
   - Four-day test (40)
   - Drug-diet methods (41)
   - Six-day test (41,42)

2. Tissue schizonticides

   2.1 Most's test (43,44)
   2.2 Berberian's test (45)
   2.3 Vincke's test (46)
   2.4 Gregory and Peters' test (47,48)
   2.5 Hill's test (49)
   2.6 Fink's test (50,51)
   2.7 King's test (52)
   2.8 Rane and Kinnamon's test (53,54)

3. Residual blood schizonticides

   3.1 Schneider's test (55,56)
   3.2 Thompson's test (57,59)
   3.3 Sustained release implant test (57,60)

4. Residual tissue schizonticides (61)

Rane's test มีขั้นตอนโดยย่อดังนี้ (62)

1. หนูถีบจักรเพศผู้หรือเมียที่ใช้ขนาด 18-20 กรัม
2. หนูแต่ละตัวจะได้รับเชื้อ *P.berghei* ประมาณ 6×10^5 parasitized erythrocytes ซึ่งได้จากหนูซึ่งติดเชื้อนี้มาแล้ว 4 วัน
3. หลังจากหนูได้รับเชื้อ *P.berghei* 3 วัน จะมี parasitemia 5-15 % หนูจะได้รับยา 1 ครั้ง โดยการฉีดเข้าใต้ผิวหนัง
4. ยาที่จะทดสอบละลายในน้ำมันถั่วลิสง
5. สัตว์ทดลองถูกเลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิ $24^{\circ}C$ อุณหภูมิที่ทำการทดลอง $29^{\circ}C$
6. หนูที่ได้รับเชื้อแต่ไม่ได้รับยาซึ่งตายก่อนวันที่ 6 เรียกว่า "toxic death"
7. ส่วนใหญ่การทดสอบมักไม่ทราบขนาดยามาก่อน มักจะเริ่มโดยใช้ขนาดสูงๆ เช่น 640 หรือ 320 หรือ 160 มก./กก. แล้วแต่ประมาณสารที่มี หากการทดสอบครั้งแรกใช้ 640, 160, 40 มก./กก. แล้วการทดสอบได้ผล ก็ทำซ้ำอีกโดยใช้ขนาดยา 1280, 640, 320, 160, 80, 40 มก./กก. แต่ละขนาดยาใช้สัตว์ 5 ตัว ยามาตรฐานที่ใช้ในการทดลอง คือ pyrimethamine
8. ในกรณีให้ยาโดยวิธีกรอกปาก ใช้ 0.5% hydroxyethylcellulose และ 0.1% Tween 80 เป็นตัวแขวนตะกอน
9. MED = minimum effective dose เป็นขนาดยาที่ทำให้ระยะเวลาที่หนูมีชีวิตรอด (survival time) ของหนูกลุ่มที่ติดเชื้อและได้รับยาเพิ่มเป็น 2 เท่าของกลุ่มที่ติดเชื้อแต่ไม่ได้รับยา หนูที่ติดเชื้อและได้รับยาซึ่งอยู่รอดเกิน 60 วัน ถือว่ายานั้นรักษาโรคได้หายขาด ในทางปฏิบัตินักวิจัยมักจะให้ความสนใจกับยา ที่เพิ่มระยะเวลาที่หนูอยู่รอดได้ถึง 14 วันหรือนานกว่า ถ้าหากค่า LD_{50} ของยามากกว่า MED 3 เท่า ยาชนิดนั้นก็จะได้รับการศึกษาวิจัยต่อไปอย่างละเอียด

Abatan และ Makinde (12) ได้ศึกษาฤทธิ์การต้านมาลาเรีย ของสารสกัดจากใบสะเดาอินเดีย *(Azadirachta indica)* และ *Pisum sativum* โดยใช้สารสกัด

Thai J. Pharmacol.
Vol.8 No.2 May-Aug. 1986

อย่างหยาบๆ ซึ่งใช้เมธานอลเป็นตัวทำละลาย วิธีทดสอบใช้ขนาดสารสกัด 125, 250,500 มก./กก. กรอกปากหนูถีบจักรที่ได้รับเชื้อ (1×10^7 *P.berghei*-infected erythrocytes) มาแล้ว 72 ชม. กลุ่มเปรียบเทียบได้รับน้ำกลั่นไม่เกินตัวละ 0.5 มล. และมีกลุ่มที่ได้รับยามาตราฐานคือ chloroquine ผลการทดลองพบว่า สารสกัดจากสมุนไพรทั้งสองชนิด ไม่สามารถเพิ่มระยะเวลาที่หนูมีชีวิตรอดได้อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งต่างจากยามาตรฐานคือ chloroquine ซึ่งมีฤทธิ์ที่เห็นได้อย่างเด่นชัด กล่าวคือระยะเวลาที่อยู่รอดของหนูติดเชื้อที่ไม่ได้รับยา มีค่าประมาณ 3.8 วันโดยเฉลี่ย แต่เมื่อได้รับ chloroquine 10 มก./กก. จะยืดเวลาไปได้นานกว่า 30 วัน

- Four-day test (40) : วิธีนี้นิยมใช้กันมากกว่า six-day test เพราะทำเสร็จได้ภายใน 1 สัปดาห์ คือเริ่มจากวันจันทร์ถึงวันศุกร์ โดยวันที่ฉีดเชื้อมาลาเรีย ถือเป็น D_0 เริ่มให้ยา แล้วให้ต่อไปอีกในวันต่อๆ ไป (D_1,D_2,D_3) พอถึง D_4 ก็เจาะเลือดมาตรวจหาปริมาณปรสิต (% parasitemia) ปริมาณปรสิตที่ใช้ 10^7 infected erythrocytes/0.2 ml. การให้เชื้อทางหลอดเลือดดำจะได้ผลสม่ำเสมอกว่าให้ทางช่องท้อง

ขนาดยาที่ให้ คือ 3, 10, 30 มก./กก. ละลายในน้ำกลั่นถ้าละลายได้ ถ้าไม่ละลายใช้แทวนตะกอนด้วย 0.5% carboxymethylcellulose และ 0.2% Tween 80 การให้ยาอาจให้ทางใต้ผิวหนังก่อนถ้าหากมีสารน้อย ถ้าได้ผลดีอาจลองให้ทางปาก การให้ยาให้วันละครั้ง การหา ED_{50} หาได้จากกราฟระหว่าง erythrocyte infection rate (EIR) กับขนาดยาที่ใช้ probit-log scale การหาค่า ED_{50}, ED_{90} หาจากกราฟส่วนที่เป็นเส้นตรง ED_{50} เป็นขนาดยาคิดเป็น มก./กก./วัน

Abatan และ Makinde (12) ได้ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดอย่างหยาบๆ จาก *Azadirachta indica* และ *Pisum sativum* เมื่อใช้ Rane's test พบว่าไม่ได้ผล แต่เมื่อใช้ four-day test พบว่า *P.sativum* ไม่ลด % parasitemia อย่างมีนัยสำคัญ แต่ *A.indica* ที่ขนาดยา 500 และ 125 มก./กก. ให้โดยการกรอกปากจะลด % parasitemia ได้อย่างมีนัยสำคัญ แม้ว่าจะไม่มากนัก

ในการทดสอบหาฤทธิ์ฆ่าเชื้อมาลาเรียโดย Rane's test มักนิยมใช้เป็นวิธีทดสอบเบื้องต้น เพราะสะดวก ประหยัด ไม่ต้องใช้เวลามากในการทดสอบ เพราะพิจารณาเฉพาะระยะเวลาที่หนูมีชีวิตรอด เมื่อได้ผลดีจึงนำมาทดสอบด้วย four-day test เพื่อหาปริมาณเชื้อในเลือดอีกครั้งหนึ่ง ข้อจำกัดของวิธีทดสอบนี้คือ สารเคมีบางชนิดที่มีประสิทธิภาพอาจไม่ได้ผล เช่น proguanil นอกจากนั้นสารที่มีสูตรโครงสร้างทางเคมีคล้าย proguanil ซึ่งมีฤทธิ์แรงกว่า quinine 4 เท่าในการฆ่า *P.gallinaceum* จะไม่พบว่ามีประสิทธิภาพ ใน Rane's test อย่างไรก็ตาม Rane's test ก็ยังนับว่ามีประโยชน์มาก และเป็นที่นิยมใช้กันอยู่

การทดสอบประสิทธิภาพของยาในการฆ่าเชื้อมาลาเรียในสัตว์ฟันแทะ โดยเฉพาะในหนูถีบจักร เป็นวิธีที่นิยมใช้กันมาก ข้อควรระวังในการใช้ *P.berghei* test system มีดังนี้

1. สายพันธุ์ (strain) หนูถีบจักรจะไวต่อเชื้อ *P.berghei* ไม่เท่ากัน NMRI mice จะติดเชื้อช้ากว่า Swiss mice มาก การจะเลือกใช้หนูถีบจักรสายพันธุ์ใด ขึ้นอยู่กับปริมาณของสัตว์ที่มีอยู่ว่าเป็นชนิดใดมากและหาได้ง่าย ควรเลือกใช้ตามความเหมาะสม แต่พึงระลึกว่าการติดเชื้อของหนูแต่ละสายพันธุ์จะมีความไวต่างกัน

2. อายุและเพศ หนูถีบจักรเพศผู้ ขนาด 18-20 กรัม มักเป็นที่นิยมใช้มากกว่าเพศเมีย เพราะเกรงว่าอาจจะมีอิทธิพลของการเปลี่ยนแปลงฮอร์โมนของสัตว์ในระหว่างการตกไข่เข้ามาเกี่ยวข้อง หนูถีบจักรที่มีอายุมากๆ มักจะติดเชื้อ *P.berghei* ได้ง่าย

3. ภาวะการติดเชื้ออื่นๆ จะต้องพยายามให้สัตว์ที่ใช้ในการทดลอง มีสุขภาพดี ไม่ติดเชื้อแบคทีเรีย ไวรัส หรือ พยาธิ

4. อาหารสัตว์ ในกรณีที่สัตว์กลุ่มเปรียบเทียบไม่ได้รับยามีจำนวนปรสิตน้อย ให้คำนึงถึงความเป็นไปได้ของการมี PABA หรือ folic acid จำนวนน้อยกว่าปกติ ซึ่งอาจจำเป็นต้องให้เพิ่ม เช่นให้ 0.01% PABA หรือ 0.1% folic acid ในน้ำดื่ม แล้วทำการทดลองดูว่าระหว่างสัตว์ที่ได้รับ PABA หรือ folic acid เพิ่มเติมมีอัตราการติดเชื้อ ต่าง

Thai J. Pharmacol.
Vol.8 No.2 May-Aug. 1986

จากกลุ่มที่ไม่ได้รับอย่างไร หากต่างกันอย่างมีนัยสำคัญอาจจำเป็นต้องเปลี่ยนชนิด ของอาหารสัตว์

5. สภาพแวดล้อม อุณหภูมิที่ทำการทดลอง ความเครียดของสัตว์ อาจมีผลต่อการทดลอง ดังนั้นควรให้สัตว์ที่ใช้อยู่ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมโดยสม่ำเสมอ

6. สายพันธุ์ของปรสิต สายพันธุ์ที่มีการถ่ายทอดในสัตว์ทดลอง มาเป็นเวลานาน จะให้ผลที่ค่อนข้างสม่ำเสมอต่อยาฆ่าเชื้อมาลาเรีย ในกรณีที่เป็นสายพันธุ์ที่ดื้อต่อยา ผลของยาฆ่าเชื้อมาลาเรียจะมีความแตกต่างกันได้ง่าย การเก็บเชื้อไว้ในไนโตรเจนเหลว จะทำให้เชื้ออยู่ได้นาน โดยที่ความไวต่อยาจะไม่เปลี่ยนแปลง ทำให้สะดวกในการเก็บเชื้อไว้ทดสอบในโอกาสต่อไป

7. เทคนิคที่ใช้ในการทดลอง ห้องปฏิบัติการแต่ละแห่ง มักจะกำหนดมาตรฐานเกี่ยวกับปริมาณของเชื้อที่จะให้ เวลาที่จะนำเชื้อมาใช้ ระยะเวลาในการเตรียมเชื้อ วิธีการให้ยา ระยะเวลาที่ให้ยาครั้งแรก ความถี่ของการให้ยา ระยะเวลาที่จะหยุดการทดสอบ วิธีการตรวจจำนวนปรสิต ซึ่งเทคนิคเหล่านี้อาจแตกต่างกันไปในแต่ละห้องปฏิบัติการ

<u>การศึกษาทางพิษวิทยา</u>

- การทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลัน (acute toxicity) : การศึกษาทางพิษวิทยาในขั้นแรก ทำได้โดยทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันโดยหาค่า LD_{50} หรือ median lethal dose คือ ขนาดยาที่ทำให้สัตว์ทดลองตายไปครึ่งหนึ่ง หรือ 50 % การบอกค่า LD_{50} จะต้องบ่งระยะเวลาที่ทำการทดลอง วิธีให้ยา เช่น ให้ทางปาก ทางหลอดเลือด หรือทางช่องท้อง และชนิดของสัตว์ทดลอง โดยมากมักจะทำในสัตว์ทดลองหลายชนิด แต่ในทางปฏิบัติมักใช้หนูถีบจักรและหนูขาวก่อน การหาค่า LD_{50} อาจใช้ probit analysis หรือ linear regression analysis ก็ได้ หลังจากนั้นอาจทำการทดลองในสุนัขหากตัวยานั้นน่าสนใจ เช่น ศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันในขนาดยาสูงมากๆ เพื่อหาขนาดยาสูงสุดที่สุนัขจะทนได้ ในการศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันอาจจำเป็นต้องสังเกตหนูถึง 14 วัน

- การศึกษาความเป็นพิษเกือบเฉียบพลัน (subacute toxicity): การศึกษาในระยะนี้มีความจำเป็นเพื่อเป็นข้อมูลในการพยากรณ์อาการพิษหรืออาการข้างเคียงในคน จุดประสงค์หลักของการทดลองคือ เพื่อดูว่าสารที่ทดลองทำให้เกิดการเปลี่ยนพฤติกรรมหรือการทำงาน หรือการเปลี่ยนแปลงรูปร่างลักษณะของอวัยวะหรือเนื้อเยื่อ ในการทดลองระยะนี้สัตว์จะได้รับยา

ระยะเวลาหนึ่ง เช่น 28 วันติดต่อกัน โดยให้ยาขนาดปานกลางอย่างเดียว หรือถ้าต้องการศึกษาโดยละเอียดก็ให้ยา 3 ขนาดคือ ขนาดต่ำ ขนาดปานกลางและขนาดสูง ทั้งนี้เพื่อศึกษาถึงความเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นว่ามีความสัมพันธ์กับขนาดและระยะเวลาที่ให้ยาอย่างไร

ตารางที่ 4. แสดงถึงการศึกษาทางพิษวิทยาของ US Army Antimalarial Drug Development Programme ค่า LD_{50} ที่แสดง เป็นของสารที่มีพิษมากที่สุดในแต่ละกลุ่มของสารที่ใช้ทดลอง ในการศึกษาระยะนี้จะดูผลต่อการเปลี่ยนแปลงของ lymphoid tissues, bone marrow, thymus, ระบบเลือด การเปลี่ยนแปลงทาง histopathology ของตับ ไต กล้ามเนื้อลาย ระบบทางเดินอาหาร เมื่อใช้สารในขนาดสูงๆ ซึ่งมักจะพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นต่อระบบต่างๆ เหล่านี้

- การศึกษาความเป็นพิษเรื้อรัง (chronic toxicity) : การศึกษาขั้นนี้จะทำต่อเมื่อสารเคมีที่ศึกษามีศักยภาพค่อนข้างสูงมาก น่าจะนำไปใช้ได้ในทางคลินิก เมื่อถึงระยะนี้มักจะทราบข้อมูลต่างๆ เกี่ยวกับเภสัชจลนศาสตร์ในสัตว์ทดลองแล้ว ในการศึกษาระยะนี้จะมีการทดสอบ carcinogenic effect และ reproductive/teratogenic effects ระยะเวลาการศึกษาความเป็นพิษเรื้อรังขึ้นอยู่กับการนำยาไปใช้ เช่น ถ้าใช้เป็น single dose therapy ระยะเวลาศึกษาอาจเป็น 3-6 เดือน ถ้าเป็น prophylactic agent อาจต้องใช้เวลาถึง 2 ปี หรือนานกว่า รายละเอียดของการศึกษาในระยะนี้จะคล้าย subacute toxicity แต่ขนาดยาต้องปรับให้เหมาะสม โดยอาศัยข้อมูลต่างๆ ที่ได้จากการทดสอบ subacute toxicity ข้อมูลทางเภสัชจลนศาสตร์และขนาดยาที่คาดว่าจะใช้

การทดสอบความเป็นพิษในสัตว์ที่กล่าวมาเป็นหลักเกณฑ์ทั่วๆ ไป เพื่อพอให้ทราบแนวทางว่าสารที่ทดสอบมีความเป็นพิษมากน้อยเพียงใด แต่มิได้หมายความว่าจะตรวจสอบความเป็นพิษได้ทุกอย่าง เป็นที่ทราบกันดีว่ายาฆ่าเชื้อมาลาเรียมักจะมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาค่อนข้างกว้างขวาง ดังนั้นสารเคมีหรือยาที่น่าจะมีประโยชน์ควรมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อมาลาเรียได้ดี โดยที่ขนาดยาที่ใช้มีฤทธิ์อื่นๆ น้อยมาก ในแง่ของความเป็นพิษของยาฆ่าเชื้อมาลาเรียที่มักจะทดสอบคือ photosensitisation และ mutagenic activity สำหรับความเป็นพิษอย่างแรก ใช้วิธีฉายผิวหนังของหนูถีบจักรด้วยรังสีอุลตร้าไวโอเลตเป็นเวลา 72 ชม. แล้วดูว่ามีผื่นแดงหรือไม่ เมื่อได้รับยา

Thai J. Pharmacol.
Vol.8 No.2 May-Aug. 1986

ตารางที่ 4. Predominant toxicological observations for the major classes of antimalarial compounds evaluated in the US Army Drug Development Programme. From (1).

Class	Compounds tested	Oral LD_{50} male rats[a] (mg/kg)	Clinical pathology/target organs from subacute toxicity studies[b]	
			Rat	Dog
Folate metabolism inhibitors	4	926	↓ Weight gain ↓ WBC Lymphoid tissue GI tract	↓ Weight gain ↓ WBC, ↓ reticulocytes ↑ BUN Lymphoid tissue Bone marrow GI tract, kidney
Pyridine-carbinols	2	518	↓ Weight gain ↑ WBC, ↑ SGOT, ↑ SGPT ↑ alk. phos., ↑ BUN Lymphoid tissue GI tract Skel. muscle	↓ Weight gain Emesis, ↑ SGPT Lymphoid tissue Bone marrow
Quinoline-carbinols	3	745	↓ Weight gain ↓ WBC, ↑ SGOT ↑ SGPT, ↑ BUN GI tract, kidney Liver	↓ Weight gain Emesis, ↑ SGOT ↑ SGPT, ↑ alk. phos. ↓ Reticulocytes Lymphoid tissue Bone marrow GI tract, liver Kidney
Phenanthrene-carbinols	3	⩾ 1000	Alopecia, ↑ WBC ↓ Weight gain ↓ Reticulocytes ↑ SGOT, ↑ SGPT Lymphoid tissue Bone marrow Skel. muscle	Emesis, ↑ WBC ↓ Weight gain ↓ Reticulocytes ↑ SGPT, ↑ BUN Lymphoid tissue Bone marrow GI tract, kidney
8-Amino-quinolines	3	177	Rough hair coat ↓ Weight gain ↑ Reticulocytes ↑ WBC, ↑ Hct ↓ Platelets ↑ SGOT, ↑ SGPT Heart, Skel. muscle Liver, kidney	Cyanosis, ↑ SGOT ↓ Weight gain ↑ MetHb ↑ Reticulocytes ↓ Platelets ↑ Haptoglobins Heart, liver Lymphoid tissue

[a] LD_{50} value given is for the most toxic compound in each class

[b] Observations are those that were present in a majority of compounds in each class

↓, decrease; ↑, increase; *WBC*, total leucocyte count; *BUN*, blood urea nitrogen; *GI tract*, Gastrointestinal tract; *SGOT*, serum glutamic oxaloacetic transaminase; *SGPT*, serum glutamic pyruvic transaminase; *alk. phos.*, alkaline phosphatase; *Hct*, haematocrit; *metHb*, methamoglobin

ส่วน mutagenic activity ใช้ Ames' test นอกจากการทดสอบดังกล่าวมาแล้ว อาจมีวิธีอื่นๆ ที่เฉพาะเจาะจงซึ่งอาจต้องนำมาใช้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาและสูตรโครงสร้างทางเคมีของสารที่ทดสอบนั้นๆ

การศึกษาทางเภสัชวิทยา

การศึกษาทางเภสัชวิทยาของสารเคมีหรือยารักษามาลาเรียจะทำเป็น 2 ลักษณะ คือ การศึกษาทางเภสัชจลนศาสตร์ และทางเภสัชฤทธิ์วิทยา การศึกษาอย่างแรกเกี่ยวข้องกับการหาปริมาณของสารที่ถูกดูดซึมเมื่อให้โดยการกรอกปาก การวัดระดับสารในเลือดเมื่อให้ยาโดยวิธีต่างๆ เช่น ทางปาก ทางหลอดเลือด หรือทางช่องท้อง เพื่อเป็นข้อมูลในการคำนวณหาขนาดและช่วงระยะเวลาการให้ยาที่เหมาะสม นอกจากนี้ยังมีการศึกษาเกี่ยวกับ การกระจายของยาในร่างกาย การที่ยาจับกับโปรตีนในเลือด การเปลี่ยนแปลงและการขับถ่ายยา การสะสมของยาในร่างกาย เป็นต้น

ส่วนการศึกษาทางเภสัชฤทธิ์วิทยานั้น ในกรณีที่เป็นสารเคมีชนิดใหม่ สิ่งที่จะช่วยได้มากคือ Hippocratic observation ซึ่งสามารถทำไปพร้อมๆ กับการศึกษา ความเป็นพิษเฉียบพลัน คือนอกจากจะหาจำนวนของสัตว์ที่ตายแล้ว ยังศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงของระบบต่างๆ ด้วย เช่น ระบบประสาทส่วนกลาง ระบบประสาทอัตโนมัติ การทำงานของกล้ามเนื้อ ฯลฯ ข้อมูลเหล่านี้เป็นแนวทางในการเลือกวิธีการทดสอบที่เฉพาะเจาะจงมากขึ้น เช่น ถ้าสัตว์ท้องเดินก็ควรติดตามว่ามีการเปลี่ยนแปลงของระบบประสาทอัตโนมัติหรือไม่ หรือถ้าสัตว์หลับหรือซึม ควรคำนึงถึงฤทธิ์ต่อระบบประสาทส่วนกลาง เป็นต้น สำหรับนักวิจัยที่มีประสบการณ์สูง ข้อมูลจาก Hippocratic observation จะช่วยให้สามารถวางแผนงานวิจัยเพื่อศึกษาฤทธิ์อื่นๆ ต่อไปได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของยาฆ่าเชื้อมาลาเรียที่นักวิจัยให้ความสนใจ คือ ฤทธิ์ต่อระบบไหลเวียนเลือดและระบบหายใจ การวิจัยยาฆ่าเชื้อมาลาเรียที่สังเคราะห์ขึ้นใหม่ๆ จะต้องศึกษาว่ายามีผลต่อระบบดังกล่าวต่างกันอย่างไร เมื่อให้โดยวิธีฉีดครั้งละมากๆ ในระยะเวลาสั้นๆ เปรียบเทียบกับการให้อย่างช้าๆ ข้อมูลต่างๆ เหล่านี้จะมีประโยชน์มากในทางคลินิก

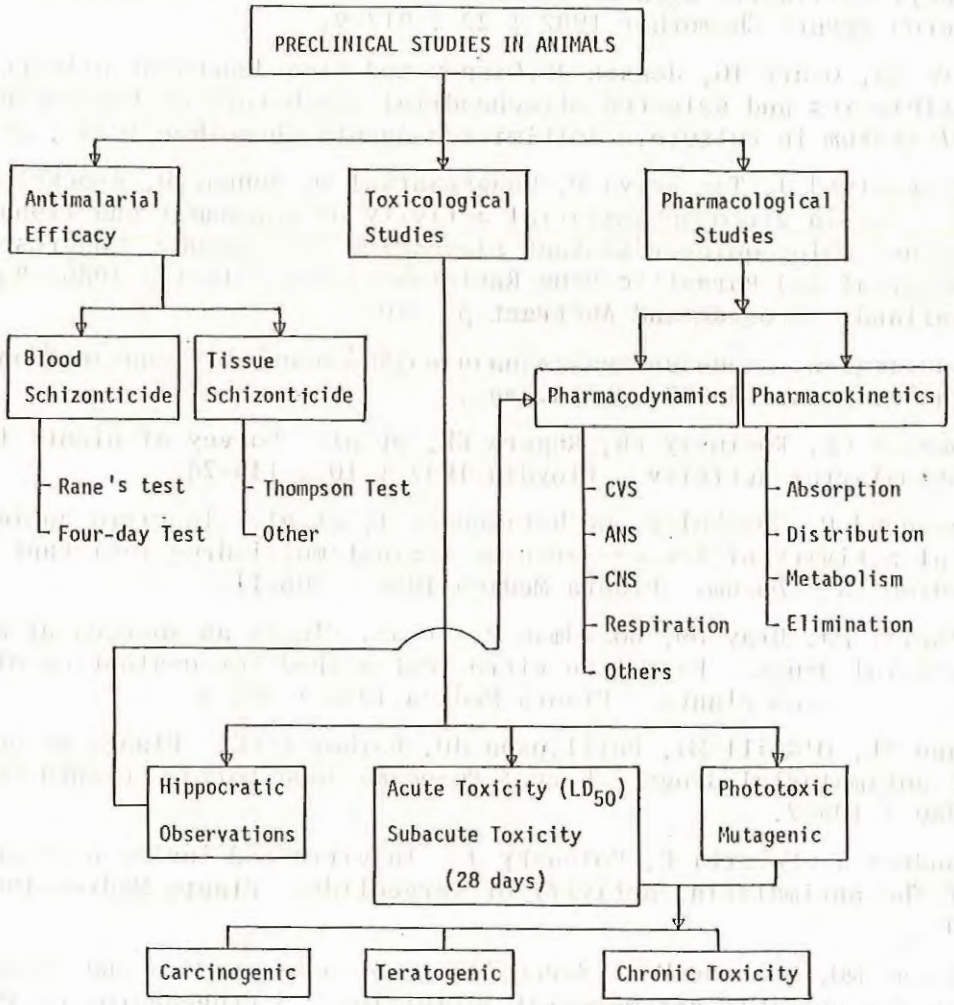
Thai J. Pharmacol.
Vol.8 No.2 May-Aug. 1986

การประเมินผลการทดลอง

ในการค้นคว้าหายาฆ่าเชื้อมาลาเรียชนิดใหม่ๆ นั้น มีสิ่งที่จะต้องศึกษาวิจัยเป็นเบื้องแรกคือ ประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อมาลาเรียทั้งในน้ำยาเลี้ยงเชื้อ (in vitro) และในสัตว์ทดลอง (in vivo) จากนั้นก็ทำการศึกษาทางพิษวิทยาและเภสัชวิทยาในแง่มุมต่างๆ การพัฒนายาที่ใช้รักษาโรคอื่นๆ ที่มีจำหน่ายในท้องตลาดเพื่อนำมาใช้ในโรคมาลาเรียมีข้อได้เปรียบคือมีข้อมูลเกี่ยวกับความเป็นพิษและเภสัชวิทยาอยู่พร้อมแล้ว แต่การพัฒนายาวิธีนี้จะ ไม่สามารถทำได้หากขาดความรู้พื้นฐานทางวิทยาศาสตร์ชีวภาพในหลายๆ สาขาซึ่งเกี่ยวกับกลไกการออกฤทธิ์ของยา ความรู้ทางชีวเคมีของปรสิต เม็ดเลือดและอื่นๆ อย่างไรก็ตาม เมื่อพบว่ายาดังกล่าวมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อมาลาเรียในน้ำยาเลี้ยงเชื้อ ก็ไม่ได้หมายความว่ายาจะใช้ได้ผลดีในการฆ่าเชื้อในสัตว์เพราะขนาดยาที่ได้ผลอาจสูงเกินไป ทำให้เกิดอาการข้างเคียงมาก ไม่ปลอดภัยในการใช้ Wongsawatkul (63) พบว่ามียาในท้องตลาดหลายชนิดที่มีผลต่อระบบหัวใจและหลอดเลือด เช่น verapamil, flunarizine, lidocaine, chlorpromazine และ mexiletine เป็นต้น มีฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรียในหลอดทดลอง แต่บางตัวไม่เหมาะที่จะศึกษาต่อไปอย่างละเอียด เพราะเป็นยาที่มีความปลอดภัยในการใช้ต่ำ เช่น lidocaine และ mexiletine โดยเฉพาะเมื่อให้โดยวิธีฉีด ยาที่ควรได้รับความสนใจเนื่องจากมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่ดี ได้แก่ verapamil, flunarizine และ chlorpromazine จึงนำไปศึกษาในสัตว์ทดลอง ปรากฏว่ามีผลในการฆ่าเชื้อมาลาเรียซึ่งเป็นเพียงการทดสอบเบื้องต้น การศึกษาขั้นต่อไปเป็นการหาขนาดยา ที่ทำให้ % parasitemia ลดลงอย่างมีประสิทธิภาพ พร้อมกับการวัดระดับยาในเลือด เพื่อนำไปเปรียบเทียบกับข้อมูลที่มีอยู่แล้วว่าระดับดังกล่าวอยู่ในขั้นปลอดภัยหรือไม่ จากการศึกษาเบื้องต้นพบว่ายาบางชนิดเมื่อให้ด้วยขนาดหนึ่งสัตว์กลับตายเร็วขึ้น และในขนาดยาสูงๆ สัตว์ตายเร็วกว่าเมื่อ ให้ขนาดต่ำ เนื่องจากขนาดของยาอาจสูงเกินไปจนเกิดอันตรายต่อสัตว์ทดลอง ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาในรายละเอียดต่อไป

สำหรับการพัฒนายาจากสมุนไพรเพื่อนำมาใช้เป็นยาต้านมาลาเรียมีข้อดีคือ อาจได้ยากลุ่มใหม่ๆ ซึ่งกลไกการออกฤทธิ์ต่างจากยาที่มีอยู่แล้ว ซึ่งจะก่อให้เกิดความรู้ ความเข้าใจในพยาธิสรีรวิทยาของโรคได้ดีขึ้น ในกรณีที่การเลือกสมุนไพรที่นำมาศึกษามีข้อมูลการใช้จากแพทย์

แผนโบราณมาช้านานแล้วว่าได้ผลดี ก็จะทำให้อัตราเสี่ยงต่อความล้มเหลวของงานวิจัยมีไม่สูงเกินไป ถึงกระนั้นก็ยังมีความยากลำบากและจะต้องมีการศึกษาวิจัยอย่างละเอียด (ดูรูปที่ 2) การหาศักยภาพของสมุนไพรที่จะนำมาใช้รักษามาลาเรีย จะต้องทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้ง การเพิ่มปริมาณของปรสิตทั้งในน้ำยาเลี้ยงเชื้อและในสัตว์ แล้วนำมาพิจารณาร่วมกับการศึกษาความเป็นพิษในระยะต่างๆ ขั้นแรกคือ ถ้าค่า LD_{50} ใกล้เคียงกับ EC_{50} ในสัตว์ทดลอง ก็ไม่ควรศึกษาต่อไป เพราะสมุนไพรชนิดนั้นมีความเป็นพิษเกินกว่าที่จะนำมาใช้ในคนได้ กล่าวโดยสรุป การประเมินศักยภาพของสมุนไพรต้องประกอบด้วยข้อมูลอย่างน้อย 3 เรื่องคือ เกี่ยวกับประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อมาลาเรีย ความเป็นพิษ และเภสัชวิทยาในแง่ต่างๆ ข้อมูลเหล่านี้จะต้องนำมา



รูปที่ 2. แผนภูมิการศึกษาวิจัยในสัตว์

วิเคราะห์ว่าสมควรจะทำการศึกษาวิจัยต่อไปหรือไม่ หลักเบื้องต้นคือ มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อได้ และมีความเป็นพิษน้อยมากในขนาดที่ใช้

เอกสารอ้างอิง

1. Heiffer MH, Davidson DE, Jr, Korte DW, Jr.Preclinical testing. In: Peters W, Richards WHG, eds. Handbook of experimental pharmacology. vol 68/I. Berlin : Springer-Verlag, 1984 : 352-73.

2. Vial HJ, Thuet M, Ancelin ML,Philippot JR, Chavis C. Phospholipid metabolism as a new target for malaria chemotherapy mechanism of action of D-2-amino-1-butanol. Biochem Pharmacol 1984 ; 33 : 2761-70.

3. Pfaller MA, Segal JJ,Krogstad DJ.Activity of ketoconazole and its deacyl derivative aganist *P.falciparum* and *Candida* isolates. Antimicrob Agents Chemother 1982 ; 22 : 917-9.

4. Divo AA, Geary TG, Jensen JB.Oxygen-and time-dependent effects of antibiotics and selected mitochondrial inhibitors on *Plasmodium falciparum* in culture. Anitimicrob Agents Chemother 1985 ; 27:21-7.

5. Satayavivad J, Tan-ariya P, Wongsawatkul O, Bunnag D, Brockelman CR. The in vitro antimalarial activity of verapamil and flunarizine against chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum*. Congress on Bacterial and Parasitic Drug Resistance. Dec. 10-13, 1986, Bangkok, Thailand. Program and Abstract p. 170.

6. อวย เกตุสิงห์. รายงานการทดลองรักษามาลาเรียด้วยสมุนไพร. สมุดรวมเรื่องวิชาการแสดงในงานฉลองหกสิบปีศิริราช พ.ศ.2493.

7. Spencer CF, Koniuszy FR, Rogers EF, et al. Survey of plants for antimalarial activity. Lloydia 1947 ; 10 : 145-74.

8. Pavanand D, Nutakul W, Dechatiwongse T, et al. In vitro antimalarial activity of *Brucea javanica* against multi-drug resistant *Plasmodium falciparum*. Planta Medica 1986 : 108-11.

9. O'Neill MJ, Bray DM, Boardman P, et al. Plants as sources of antimalarial drugs. Part 1 in vitro test method for evaluation of crude extracts from plants. Planta Medica 1985 : 394-8.

10. Chan KL, O'Neill MJ, Phillipson JD, Warhurst DC. Plants as sources of antimalarial drugs. Part 3 *Eurycoma longifolia*. Planta Medica 1986 : 105-7.

11. Fandeur T, Moretti C, Polonsky J. In vitro and invivo assessement of the antimalarial activity of sergeolide. Planta Medica 1985 : 20-3.

12. Abatan MO, Makinde MJ. Screening *Azadirachta indica* and *Pisum sativum* for possible antimalarial activities. J Ethnopharmacol 1986 ; 17 : 85-93.

13. Rochanakij S. Mechanism of action of qinghaosu (artemisinine) and related compounds. Bangkok : Mahidol University, 1984. MSc. Thesis.

14. China cooperative research group on qinghaosu and its derivatives as antimalarials. Chemical studies on qinghaosu (artemisinine). J Trad Chin Med 1982 ; 2 : 3-8.

15. China cooperative research group on qinghaosu and its derivatives as antimalarials. The chemistry and synthesis of qinghaosu derivatives. J Trad Chin Med 1982 ; 2 : 9-16.

16. China cooperative research group on qinghaosu and its derivatives as antimalarials. Antimalarial effecacy and mode of action of qinghaosu and its derivatives in experimental models. J Trad Chin Med 1982 ; 2 : 17-24.

17. China cooperative research group on qinghaosu and its derivatives as antimalarials. Metabolism and pharmacokinetics of qinghaosu and its derivatives. J Trad Chin Med 1982 ; 2 : 25-30.

18. China cooperative research group on qinghaosu and its derivatives as antimalarials. Studies on the toxicity of qinghaosu and its derivatives. J Trad Chin Med 1982 ; 2 : 31-8.

19. China cooperative research group on qinghaosu and its derivatives as antimalarials. Clinical studies on the treatment of malaria with qinghaosu and its derivatives. J Trad Chin Med 1982 ; 2 : 45-50.

20. Yany Q, Shi W, Li R, Gan J. The antimalarial and toxic effect of artesunate on animal models. J Trad Chin Med 1982 ; 2 : 99-103.

21. Li G, Guo X, Jin R, et al. Clinical studies on treatment of cerebral malaria with qinghaosu and its derivatives. J Trad Chin Med 1982 ; 2 : 125-30.

22. Qian R, Li Z, Yu J, Ma D. The immunologic and antiviral effect of qinghaosu. J Trad Chin Med 1982 ; 2 : 271-6.

23. Ye Z, Li Z, Li G, et al. Effects of qinghaosu and chloroquine on the ultrastructure of the erythrocytic stage of *P.falciparum* in continuous cultivation in vitro. J Trad Chin Med 1983 ; 3:95-102.

24. Jiang JB, Li GO, Guo XB, Kong YC, Arnold K. Antimalarial activity of mefloquine and qinghaosu. Lancet 1982 ; 2 : 285-7.

25. Schmid G, Hofheinz W. Total synthesis of qinghaosu. J Am Chem Soc 1983 ; 105 : 624-5.

26. Li ZL, Gu HM, Warhurst DC, Peters W. Effect of qinghaosu and related compounds on incorporation of (G^3H) hypoxanthine by *Plasmodium falciparum* in vitro. Trans R Soc Trop Med Hyg 1983 ; 77 : 522-3.

27. Gu HM, Warhurst DC, Peters W. Rapid action of qinghaosu and rela-

ted drugs on incorporation of (^{3}H) isoleucine by *Plasmodium falciparum* in vitro. Biochem Pharmacol 1983 ; 32 : 2463-6.

28. Gu HM, Warhurst DC, Peters W. Uptake of ^{3}H-dihydroartemisinine by erythrocytes infected with *Plasmodium falciparum* in vitro. Trans R Trop Med Hyg 1984 ; 78 : 265-70.

29. Rochanakij S, Thebtaranonth Y, Yenjai C, Yuthavong T. Nimbolide, a constituent of *Azadirachta indica*, inhibits *Plasmodium falciparum* in culture. Mahidol U. Annual Research Abstract 1984 ; 11 : 340.

30. Klayman DL, Lin AJ, Acton N, et al. Isolation of artemisinin (qinghaosu) from *Artemisia annua* growing in the United States. J Nat Product 1984 ; 47 : 715-7.

31. Liersch R, Soicke H, Stehr C, Tullner H-U. Formation of artemisinin in *Artemisia annua* during one vegetation period. Planta Medica 1986 : 387-90.

32. Klayman DL. Qinghaosu (Artemisinin) : an antimalarial drug from China. Science 1985 ; 228 : 1049-55.

33. Trager W, Jensen JB. Human malaria parasites in continuous culture. Science 1976 ; 193 : 673-5.

34. Osdene TS, Russell PB, Rane L. 2,4,7-triamino-6-ortho-substituted arylpteridines. A new series of potent antimalarial agents. J Med Chem 1967 ; 10 : 431-4.

35. Fink E, Kretschmer W. Chemotherapeutische Wirkung von Standard-Malariamitteln in einem vere infechten Prüfverfahren in der *Plasmodium vinckei* - Inffektion der NMRI-Maus. Z Tropenmed Parasitol 1970 ; 21 : 167-81.

36. Goodwin L. Response of *Plasmodium berghei* to antimalarial drugs. Nature 1949 ; 164 : 1133.

37. Schneider J, Decourt PH, Montezin G. Sur l'utilisation d'un nouveau plasmodium *(Pl.berghei)* pour l'e tude et la recherche de me' dicaments antipaludiques. Bull Soc Pathol Exot 1949 ; 42 ; 449-52.

38. Peters W. Competitive relationship between *Eperythrozoon coccoides* and *Plasmodium berghei* in the mouse. Exp Parasitol 1965 ; 16: 158-66.

39. Warhurst D, Folwell R. Measurement of the growth rate of the erythrocytic stages of *Plasmodium berghei* and comparisons of the potency of inocula after various treatments. Ann Trop Med Parasitol 1968 ; 62 : 349-60.

40. Peters W. Chemotherapy and drug resistance in malaria. New York : Academic Press, 1970 : 64-136.

41. Thompson PE, Bayles A, Olszewski B. PAM 1392 [2,4-diamino-6 (3, 4-dichlorobenzylamino)-quinazoline] as a chemotherapeutic agent:

Plasmodium berghei, P.cynomolgi, P.knowlesi, and *Trypanosoma cruzi.* Exp Parasitol 1969 ; 25 : 32-49.

42. Peters W. Drug resistance in *Plasmodium berghei* I.chloroquine resistance. Exp Parasitol 1965 ; 17 : 80-9.

43. Most H, Herman R, Schoenfeld C. Chemotherapy of sporozoite and blood induced *Plasmodium berghei* infections with selected antimalarial agents. Am J Trop Med Hyg 1967 ; 16 : 572-5.

44. Most H, Montuori W. Rodent systems *(Plasmodium berghei-Anopheles stephensi)* for screening compounds for potential causal prophylaxis. Am J Trop Med Hyg 1975 ; 24 : 179-82.

45. Berberian DA, Slighter RG, Freele HW. Causal prophylactic effect of menoctone (a new hydroxynaphthoquinone) against sporozoite-induced *Plasmodium berghei* infection in mice. J Parasitol 1968 ; 54 : 1181-9.

46. Vincke H. The effects of pyrimethamine and sulphormethoxine on the preerythrocytic and sporogonous cycle of *Plasmodium berghei.* Ann Soc Belge Med Trop 1970 ; 50 : 339-58.

47. Gregory KG, Peters W. The chemotherapy of rodent malaria, IX.causal prophylaxis, part I : a method for demonstrating drug action on exoerythrocytic stages. Ann Trop Med Parasitol 1970 ; 64 ; 15-24.

48. Peters W, Davies EE, Robin BL. The chemotherapy of rodent malaria, XXIII.causal prophylaxis, part II : practical experience with *Plasmodium yoelii nigeriensi* in drug screening. Ann Trop Med Parasitol 1975 ; 69 : 311-28.

49. Hill J. The activity of antibiotics and logn-acting compounds against the tissue stages of *Plasmodium berghei.* Ann Trop Med Parasitol 1975 ; 69 : 421-7.

50. Fink E. Kausal prophylaktische Wirkung von Standard-Malariamitteln bei der Nagetiermalaria *(Plasmodium berghei yoelii).* Z Tropenmed Parasitol 1972 ; 23 : 35-47.

51. Fink E. Assessment of causal prophylactic activity in *Plasmodium berghei yoelii* and its value for the development of new antimalarial drugs. Bull WHO 1974 ; 50 : 213-22.

52. King ME, Shefner AM, Schneider MD. Utilization of a sporozoite induced rodent malaria system for assessment of drug activity. Proc Helminthol Soc Wash 1972 ; 39 : 288-91.

53. Rane DS, Kinnamon KE. The development of a "high volume tissue schizonticidal drug screen" based upon mortality of mice innoculated with sporozoites of *Plasmodium berghei.* Am J Trop Med Hyg 1979 ; 28 : 137-47.

54. Davidson D, Ager A, Brown J, Chapple F, Whitmire R, Rossan R. Recent development of tissue schizonticidal antimalarial drugs.

Bull WHO 1981 ; 59 : 463-79.

55. Schneider J,Bouvry M, Quellec J. *Plasmodium berghei* et chimiotherapie. Ann Soc Belge Med Trop 1965 ; 45 : 435-49.

56. Benazet F. Activite' d'un nouvel antimalarique, le 16.126 R.P. sur le paludisme expe' rimental des animaux de laboratoire. Bull Soc Pathol Exot 1967 ; 60 : 221-8.

57. Thompson PE, Olszewski BJ, Elslager EF, Worth DF. Laboratory studies on 4,6-diamino-1-(p-chlorophenyl)-1,2-dihydro-2,2-dimethyl-s-triazine pamoate CI-501 as a repository antimalarial drugs. Am J Trop Med Hyg 1963 ; 12 : 481-93.

58. Thompson PE, Olszewski BJ, Waitz J. Laboratory studies on the repository antimalarial activity of 4,4'-diacetylaminodiphenylsulfone,alone and mixed with cycloguanil pamoate (CI-501). Am J Trop Med Hyg 1965 ; 14 : 343-53.

59. Thompson PE, Bayles A, Olszewski BJ. Antimalarial activity of 2,4-diamino-6 〔(3,4-dichlorobenzyl) nitros-amino〕 quinazoline (CI-679 base) and CI-679 acetate. Am J Trop Med Hyg 1970 ; 19 : 12-26.

60. Judge B, Howells R, Graham N, McNeill M. Sustained-release implants in the chemotherapy of experimental rodent malaria, II.the effects of sulphadiazine, pyrimethamine, and cycloguanil in biodegradable polymer matrices. Ann Trop Med Parasitol 1981 ; 75 : 511-9.

61. Schofield P, Howells RE, Peters W. A technique for the selection of long-acting antimalarial compounds using a rodent malaria model. Ann Trop Med Parasitol 1981 ; 75 : 521-31.

62. Ager AL, Jr.Rodent malaria models. In : Peters W, Richards WHG, eds. Handbook of experimental pharmacology. vol 68/I. Berlin : Springer-Verlag, 1984 : 225-80.

63. Wongsawatkul O. The detection of antimalarial activity of drugs presently used for cardiovascular disorders. Bangkok : Mahidol University, 1986. MSc. Thesis.

วารสารเภสัชวิทยา
ปีที่ 8 เล่มที่ 2 พ.ค.-ส.ค.2529

การปรับปรุงการสอนวิชาเภสัชวิทยา

กรุงไกร เจนพาณิชย์

ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

เมื่อเร็วๆ นี้ผู้เขียนได้ทราบว่าจะมีการปรับปรุงการสอนวิชาเภสัชวิทยาให้ดีขึ้นกว่าที่เป็นอยู่ในปัจจุบัน ทั้งนี้เพราะมีผู้ตั้งข้อสังเกตว่าแพทย์ที่จบใหม่ใช้ยาไม่ถูกต้องตามหลักวิชาในหลายด้านด้วยกัน ทางราชการจึงได้จัดตั้งคณะกรรมการขึ้นชุดหนึ่ง เพื่อพิจารณาถึงจุดอ่อนของการเรียนการสอนเฉพาะวิชาเภสัชวิทยา โดยที่มิได้คำนึงถึงสาเหตุอื่นๆ ที่อาจเกี่ยวข้องด้วยเลย นับเป็นข้อที่น่าสนใจและชวนสงสัยอย่างยิ่งว่าเหตุใดจึงมีการตีความง่ายๆ เช่นนั้น

ประการต่อมา คณะกรรมการชุดดังกล่าวมิได้มีผู้แทนของภาควิชาเภสัชวิทยาครบทุกสถาบันในระยะแรก ซึ่งต่อมาเมื่อได้รับการทักท้วงจึงได้มีการรื้อฟื้นตั้งกรรมการซ่อมขึ้นอีก

ประการที่สาม ในการพิจารณาหลักสูตรการสอนวิชาเภสัชวิทยาที่คิดว่าดีนั้น มีกรรมการหลายท่านเห็นว่าควรตัดการสอนภาคปฏิบัติเสียเลย เพราะไม่มีความจำเป็นแต่อย่างใด แต่มีกรรมการบางท่าน (ส่วนน้อย) ยังคงเห็นว่าการเรียนภาคปฏิบัตินั้นจำเป็นต่อการเป็นแพทย์และนักวิจัยในอนาคต

ประการที่สี่ เวลาในการพิจารณาหลักสูตรเก่า และการจัดทำหลักสูตรใหม่ให้สอดคล้องกับความต้องการของทางราชการนั้นสั้นมาก ดูเป็นการเร่งรีบและเร่งรัดจนเกินไป

ประการที่ห้า ความพร้อมเพรียงของคณะกรรมการในการประชุมก็ไม่สอดคล้องกับเวลาที่ตั้งใจจะให้งานชิ้นนี้สำเร็จไปโดยพลัน ฯลฯ

ข้อมูลส่วนน้อยเหล่านี้ ผู้เขียนได้ทราบมาโดยบังเอิญเพราะไม่ได้เป็นกรรมการในคณะกรรมการชุดนี้ อย่างไรก็ตามในฐานะที่เป็นครูสอนวิชาเภสัชวิทยามากว่า 25 ปี ก็อดรู้สึก

Thai J. Pharmacol.
Vol.8 No.2 May-Aug. 1986

ข้องใจไม่ได้ และเกรงว่าน่าจะเกิดความเข้าใจผิดกันบางประการ ผู้เขียนจึงขอแสดงทัศนะส่วนตัวเกี่ยวกับเรื่องนี้โดยย่อ คือ

1. การลงความเห็นว่าการสั่งใช้ยาของแพทย์จบใหม่ที่ไม่ถูกต้องเหมาะสม (คงไม่ใช่ทุกราย อาจเป็นส่วนน้อย) นั้น เป็นผลมาจากการสอนวิชาเภสัชวิทยาไม่ดี น่าจะไม่ถูกต้อง เพราะหลังจากนักศึกษาผ่านวิชาเภสัชวิทยาไปแล้ว ก็ได้ไปศึกษาต่อทางภาควิชาคลินิกอีกหลายวิชา เขาเหล่านั้นได้รับการสั่งสอน ชี้แนะ จากคณาจารย์อีกเป็นจำนวนมาก อาจทำให้ทัศนคติต่างไปจากตอนเรียนอยู่ทางปรีคลินิกก็ได้ เรื่องนี้น่าจะประเมินผลการเรียนการสอน เรื่องการใช้ยาจากทางภาควิชาคลินิกมากกว่า แต่ถ้ายังคิดว่าการสอนเภสัชวิทยา ยังไม่มีประสิทธิภาพประสิทธิผลดีพอก็อาจศึกษาได้จากการทดสอบความรู้ทางเภสัชวิทยาเมื่อสิ้นสุดการสอนทันที ซึ่งคงจะได้ข้อมูลที่น่าเชื่อถือมากกว่า

2. การจัดตั้งคณะกรรมการเพื่อปรับปรุงการสอนเภสัชวิทยา ควรรวบรวมผู้ที่เกี่ยวข้องกับการสอนวิชานี้โดยตรงเป็นอันดับแรก อันดับรองคือผู้สอนทางคลินิกที่เกี่ยวข้องกับ การใช้ยา ฉะนั้นจึงควรอย่างยิ่งที่จะระดมความคิดจากผู้แทนของภาควิชาเภสัชวิทยาทั้งหมด ไม่ใช่เลือกแบบตกๆ หล่นๆ เพราะถ้าขนาดจัดตั้งคณะกรรมการยังทำไม่ได้เรียบร้อยแล้ว จะหวังอย่างไรได้ว่างานที่กำลังจัดทำอยู่นั้นจะเรียบร้อยไปได้ เรื่องนี้ขอให้คิดดูว่าจะต้องรวบรวมผู้ที่อยู่ใกล้ชิดกับปัญหามากที่สุด และต้องรวบรวมพลังสมองจากท่านเหล่านั้นให้ครบถ้วน อย่าลืมว่า "หลายหัวย่อมดีกว่าหัวเดียว"

3. การที่ไม่เห็นความสำคัญของการสอนภาคปฏิบัติ จนถึงกับจะให้ตัดทิ้งนั้น น่าที่จะต้องทบทวนใหม่อย่างละเอียดถี่ถ้วน ตามหลักของการศึกษาสมัย 40 ปีก่อนนั้นมีอยู่ว่า จะต้องจัดการเรียนการสอนให้นักเรียนมีความรู้ความสามารถเอาตัวรอดได้ ดำรงตนให้เป็นประโยชน์แก่ชาติบ้านเมืองให้มากที่สุด ทั้งนี้จะเห็นได้จากการจัดการเรียนการสอนออกเป็น 4 ส่วน ซึ่งแต่ละส่วนย่อมมีความสำคัญเท่าๆ กัน คือ

พุทธิศึกษา สอนให้มีความรู้ทางวิชาการ หรือทางด้านทฤษฎีในขั้นใช้การได้

พลศึกษา สอนให้มีความรู้ที่ทำให้ร่างกายแข็งแรง มีสุขภาพดี ไม่เจ็บป่วย

จริยศึกษา สอนให้มีความรู้ที่ทำให้คนเป็นคนโดยสมบูรณ์ มีจริยธรรม คุณธรรม ประจำใจ

หัตถศึกษา สอนให้มีความรู้ในแง่ของการปฏิบัติจนสามารถทำงานได้ด้วยมือของตนเอง

ความรู้ 4 ประการนี้ เปรียบเสมือนเก้าอี้ 4 ขา ที่จะขาดขาใดขาหนึ่งเสียมิได้

ในปัจจุบันทางราชการต้องการให้นักศึกษามีความรู้ความสามารถในการวิจัย เพื่อค้นคว้าหาความรู้ใหม่ๆ เพื่อทำประโยชน์ให้แก่ชาติบ้านเมืองได้อย่างเต็มที่ แล้วเหตุไฉนจึงมีกรรมการหลายท่านกลับไม่เห็นความสำคัญของภาคปฏิบัติ "การทำด้วยมือ" ซึ่งทำให้รู้จักคิด รู้จักแก้ปัญหา และไม่ย่อท้อหรือยอมแพ้แก่อุปสรรค ท่านอาจลืมสุภาษิตที่ว่า "สิบปากว่าไม่เท่าตาเห็น สิบตาเห็นไม่เท่ามือคลำ สิบมือคลำไม่เท่าชำนาญ" และความชำนาญจะเกิดขึ้นได้ ก็เนื่องจากมีประสบการณ์จากการปฏิบัติอย่างต่อเนื่องนั่นเอง

4. การกำหนดเวลาในการปรับปรุงการสอนเภสัชวิทยาสั้นเกินไป จนดูเป็นการรีบเร่ง รีบร้อน อาจเป็นผลเสียต่อผลงานได้ ประกอบกับการพร้อมเพรียงในการประชุม ของกรรมการยังมีน้อยด้วย ก็ยิ่งจะทำให้เกิดช่องโหว่หรือข้อผิดพลาดในการพิจารณาเรื่องต่างๆได้มาก เรื่องนี้เป็นงานระดับชาติ ไม่ใช่งานส่วนตัว เป็นผลงานที่จะส่งผลระยะยาว ถ้าทำพลั้งพลาดไปก็น่าเสียใจที่ว่าแทนที่จะฝากคีไม้ลายมือและทำประโยชน์ให้แก่ชาติบ้านเมือง ผลก็จะกลับตรงกันข้ามไป พระพุทธพจน์ที่ว่า "ความพร้อมเพรียงของหมู่คณะย่อมนำสุขมาให้" และ "ความพร้อมเพรียงของหมู่คณะย่อมยังประโยชน์ (การงาน) ให้สำเร็จ" ควรจะได้รับการพิจารณา ณ โอกาสนี้ด้วย

การปรับปรุงการสอนเภสัชวิทยามีความสำคัญ และจำเป็นเพื่อให้เหมาะสมกับกาลสมัย เพราะทุกสิ่งทุกอย่างแปรเปลี่ยนไปไม่อยู่คงที่ แต่การปรับปรุงนั้นต้องกระทำด้วยความรอบคอบพินิจพิจารณาด้วยความเป็นธรรม (ใจเป็นกลาง) ดังพุทธภาษิตที่ว่า "ใคร่ครวญให้ดีก่อนจึงทำ" นึกถึงประโยชน์ของส่วนรวมเป็นที่ตั้ง ฉะนั้นจึงต้องอาศัยเวลาและข้อมูลมากพอ มีความสมัครสมานสามัคคี เสียสละเพื่อชาติบ้านเมือง และอนุชนที่จะมารับช่วงกิจการในด้านนี้ต่อไปด้วย

Thai J. Pharmacol.
Vol.8 No.2 May-Aug. 1986

บทความนี้ไม่ใช่บทความทางวิชาการแต่อย่างใด เพราะผู้เขียนก็มิได้หวังที่จะให้เป็นเช่นนั้นด้วย จุดประสงค์ของผู้เขียนก็คือ อยากเห็นความถูกต้อง และความเจริญของวิชาเภสัชวิทยา เพื่อประโยชน์ทางวิชาการและประชาชนชาวไทยตลอดไป

(บทความนี้เป็นความคิดเห็นส่วนตัวของผู้เขียนไม่เกี่ยวข้องกับภาควิชาหรือวารสารแต่อย่างใด)

วารสารเภสัชวิทยา
ปีที่ 8 เล่มที่ 2 พ.ค.-ส.ค.2529

PHARMACODYNAMIC AND PHARMACOKINETIC PROFILE OF IMIDAZOLE 2-HYDROXYBENZOATE, A NOVEL ANTIINFLAMMATORY AGENT

H.- P.Kuemmerle and F.De Santis

Tokyo Medical College, Japan ; P.O.Box 89, D-8173 Bad Heilbrunn, F.R.G. and Italfarmaco S.p.A. Viale Fulvio Testi, 330 I-20126 Milano, Italy

The anti-inflammatory process is a complicated plot of events, in which different cellular and chemical mechanisms, as well as different mediators, are involved. Each mediator has its own range of activity and can interact with the others in a complex way. The overall effect of two different mediators on a specific component of the inflammatory process can be more powerful than the sum of the individual effects (synergism).

Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) are pharmacotherapeutic acting substances whose antiphlogistic, analgesic and antipyretic effects are considered to be due to the specific inhibition of the synthesis of some of the above-mentioned mediators through the block of the arachidonic acid cascade. Recently, the substances of this group were carefully supervised in some countries because of their frequent and severe side-effects : some of these have been banned from the market or partially limited as for time of administration and indications.

Imidazole 2-hydroxybenzoate is a novel compound provided with anti-inflammatory activity, proposed as an antiphlogistic, analgesic and anti-pyretic drug in human therapy. The chemical structure is shown in Fig. 1. It is composed of 33.026% imidazole and 66.974% salicylic acid. The imidazole nucleus is often found in biological substrates, mainly in peptide-, protein-, enzyme-, nucleic acid-structures and others; this nucleus has been defined as "servo-pharmacologic agent". It is also interesting to observe that if imidazole and salicylic acid

Thai J. Pharmacol.
Vol.8 No.2 May-Aug. 1986

are given separately as individual substances they act differently from an equivalent dose of imidazole 2-hydroxybenzoate.

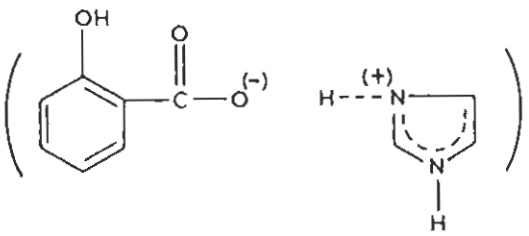


Figure 1. Chemical structure of imidazole 2-hydroxybenzoate

In spite of the availability of numerous really powerful anti-inflammatory agents, new compounds are still needed, especially to meet the various clinical necessities of a long-term treatment in patients suffering from chronic phlogistic diseases. In fact, it must be kept in mind that, particularly in long-term treatments, the choice of the drug does not depend only upon the ability to obtaining therapeutically useful effects but also upon the lack of significant untoward side-effects, which generally go together with a strong inhibition of the prostaglandin pathway. Regarding this aspect, some interesting data from the pharmacology of imidazole 2-hydroxybenzoate deserve particular attention. It must be recalled that modern anti-inflammatory drugs seem to have as their main target the key enzymes of the arachidonic acid cascade : i.e., phospholipase A_2 inhibition, and as a consequence the endoperoxide, hydroperoxide and leukotriene production is obviously limited. On the other hand, for NSAIDs such an activity on phospholipase has not been stated, nor do they seem to be effective on the lipoxygenase pathway : their mechanism of action can be taken back to an inhibitory effect on cyclooxygenase, which is the enzyme converting arachidonic acid to prostaglandins.

It is well to remember that, from the same metabolic pathway substances with pro- and anti-inflammatory activities arise and that the activity of these compounds is characterised by a large-spectrum, conditioning the homoeostatic regulation of various organs and systems.

It is then easily comprehensible how cyclooxygenase inhibition, exerted by the better known NSAIDs and indiscriminately blocking or reducing all kinds of prostaglandins, could be responsible for numerous untoward side-effects (gastric, renal and cutaneous). The need has thus arisen for drugs able to interfere selectively with the arachidonic acid metabolism or, better still, only with the synthesis of those substances deeply involved in the genesis and self-maintenance of a phlogistic status. In fact, this would assure, besides therapeutic efficacy, a better systemic tolerance and possibly, the lack of serious toxic effects in the long-term treatment.

Experimentally, imidazole 2-hydroxybenzoate seems to have these characteristics : a series of pharmacological studies shows that this compound selectively inhibits thromboxane A_2- synthetase so blocking the production of this crucial pro-inflammatory agent. This selective inhibition makes a greater number of endoperoxides available for synthesis of the antiphlogistic PGI_2 and PGE_2. Other experiments indicate that imidazole 2-hydroxybenzoate can form copper-complexes which can exert a scavenging effect on free oxy-radicals. It is also able to affect neutrophil activity : in fact, the drug dose-dependently inhibits, "in vitro", chemotaxis, lysosomal enzyme release and superoxide anions O_2 production by neutrophils isolated from healthy volunteers challenged with a chemotactic peptide.

An overall evaluation of the above data allows to support the conclusion that imidazole 2-hydroxybenzoate exerts its pharmacological effects by different mechanisms which may well cooperate in determining its therapeutic activity. Imidazole 2-hydroybenzoate, for this reason, may play an important role in clinics, since in its indication area (i.e., inflammatory diseases of different genesis) the duration of administration may not be limited so that clinical-biological tolerance has to be considered of great importance.

As expected, due to the ionic bond between the components of this organic salt, it was not possible to find imidazole 2-hydroxybenzo-

Thai J. Pharmacol.
Vol.8 No.2 May-Aug. 1986

ate, as such, in plasma and urine. For this reason, a pilot study with the aim to set up new methods to detect imidazole, salicylic acid and their metabolites was carried out. Subsequently, a further more extensive trial was performed : 36 healthy male volunteers received imidazole 2-hydroxybenzoate, tablets and drops, according to a cross-over design, in order to assess the pharmacokinetic profile of the drug both after single and multiple dosing. For single dosing study, the volunteers received either one 750 mg tablet or 40 drops (equivalent to 800 mg of active substance). For the multiple dosing study they received the same dose on day 1, and then, after a wash-out period of 48 hrs, dosing was repeated thrice daily (every 8 hrs) for three days ; on the 4th day, only one dose, the 1st one, was administered.

The imidazole metabolites (hydantoin and hydantoin acid) as well as gentisinic acid (salicylic acid metabolite) were present in plasma and urine according to chromatographic assays but all under the limit of detection (0.5 µg/ml) anyway they did not interfere with the other assays.

In Tables 1-3 the main plasma pharmacokinetic parameters of imidazole, salicylic acid and salicyluric acid (the most important metabolite of salicylic acid) are summarized for both pharmaceutical forms and for single and multiple dosing.

The protein binding of salicylic acid is about 80-85% and that of imidazole 5-15%. The relative bioavailability (tablets vs.drops) was as follows :

	single dosing	multiple dosing (last dose)
Imidazole	138 %	113 %
Salicylic acid	148 %	128 %

From the above results it can be stated that :

1. Imidazole does not interfere with the pharmacokinetics of salicylic acid, whose concentrations appeared to be comparable to those reported in the literature and in

the range of the therapeutic ones.

2. Both components of the molecule did not show any accumulation tendency, even when administered in multiple dosing.

3. Tablets gave higher AUCs, and therefore they seem better absorbed than drops.

CONCLUSION

The pharmaco-toxicological profile of imidazole 2-hydroxybenzoate is clearly defined and, as far as the mechanism of action is concerned, offers a newer and safer pharmacological approach to the treatment of inflammation when compared with traditional NSAIDs. In fact, the selective blockade of TXA_2 production, together with the lack of any effect on cyclooxygenase i.e., on the prostaglandin synthesis, allows to affect the complex play of phlogosis without interfering with the functions of organs, classic victims of irreversible and strong prostaglandin inhibition (kidney and stomach), especially in particular type of patients.

On the basis of this pharmacological premises, a consistent amount of clinical trials have been carried out in different clinical conditions, characterized by the presence of acute or chronic inflammations, in children, in adults as well as in elderly patients. So far 629 patients have been treated in clinical studies, for periods ranging from 1 to 168 days (24 weeks). The trials were conducted according to well designed protocols in open or blind conditions. Adequate parameters were choosen according to the different kinds of the studied inflammatory diseases. Overall, the drug resulted satisfactorily effective, also when compared to well-known and active traditional NSAIDs, as ASA, piroxicam, ibuprofen, sulindac and others.

On the whole population treated with imidazole 2-hydroxybenzoate (629 patients) the percentage of side-effects was 6.84%. This per-

Thai J. Pharmacol.
Vol.8 No.2 May-Aug. 1986

centage incidence is clearly lower than that of the most used ones. It should be especially mentioned that the good tolerability of imidazole 2-hydroxybenzoate has been documented also in patients commonly considered at risk, as diabetics with incipient nephropathy, hypertensives, and elderly. The low incidence of side-effects recorded in the 6 months study is relevant for the perspectives of long-term treatments, where the compliance of the patients may be considered as, if not even more, important as the drug efficacy, in view of a successful control of the disease.

For all these reasons, imidazole 2-hydroxybenzoate is indicated for the treatment of acute, subacute and chronic inflammations, also in patients usually considered at risk (diabetics, hypertensives, children, and elderly patients). The recommended posology is 1-2 x 20 mg/kg/day in children, and 2-3 x 750-800 mg/day in adults.

REFERENCE

1. Kuemmerle H-P, Dominguez-Gil A, Koepcke K, Hitzenberger G. Pharmacokinetic profile of imidazole 2-hydroxybenzoate, a novel non-steroidal antiinflammatory agent. Int J Clin Pharmacol 1986 ; 24: 581-97.

(Lecture given in Pharmacokinetics and Clinical Pharmacology of Cardiovascular and Renal Drugs and Poisons Workshop at ASEAN Training Centre for Primary Health Care Development, Mahidol University, Salaya Campus, Thailand.)

Table 1. Summary of the essential pharmacokinetic parameters (plasma mean values and SD) of imidazole in imidazole 2-hydroxybenzoate tablets and drops.

Imidazole		C_{max}	T_{max}	AUC_0^∞	$t_{½\beta}$
Single dose-tablets		3.59 ± 0.96	0.79 ± 0.54	16.00 ± 7.10	2.98 ± 1.13
Multiple dose-tablets	F	2.87 ± 0.84	1.04 ± 0.50	14.53 ± 4.02	2.85 ± 1.25
	L	3.11 ± 0.78	0.68 ± 0.51	8.93 ± 3.15	1.86 ± 0.78
Single dose-drops		3.30 ± 1.22	0.71 ± 0.59	12.29 ± 9.96	2.48 ± 1.19
Multiple dose-drops	F	2.67 ± 1.22	0.96 ± 0.67	13.29 ± 4.12	3.47 ± 2.64
	L	2.30 ± 0.61	0.51 ± 0.52	7.40 ± 3.47	2.12 ± 2.91

F = first dose ; L = 10th dose (last dose). From (1).

The peak plasma concentrations of imidazole (ranging 3.30-3.59 µg/ml for single dose and 2.30-3.11µg/ml for the last multiple dose) were reached fast (T_{max} ranging 0.71-0.79 hrs for single dose and 0.51-1.04 hrs for the last multiple dose) and levels decreased rapidly ($t_{½\beta}$ ranging 2.48-2.98 hrs for single dose and 1.86-3.47 hrs for the last multiple dose) ; these data were similar for both galenic formulations and give no evidence for any accumulation tendency. The renal elimination of imidazole was about 10-15%.

Table 2. Summary of the essential pharmacokinetic parameters (plasma mean values and SD) of salicylic acid in imidazole 2-hydroxybenzoate tablets and drops.

Salicylic acid		C_{max}	T_{max}	AUC_0^∞	$t_{1/2\beta}$
Single dose-tablets		38.50 ± 16.38	0.90 ± 0.87	262.31 ± 118.25	6.46 ± 3.79
Multiple dose-tablets	F	41.56 ± 12.16	0.93 ± 0.78	302.33 ± 108.34	6.28 ± 2.94
	L	52.23 ± 21.44	1.47 ± 1.41	464.00 ± 286.02	6.40 ± 3.26
Single dose-drops		30.31 ± 8.03	1.16 ± 0.75	188.63 ± 62.58	4.63 ± 2.35
Multiple dose-drops	F	43.86 ± 18.51	0.96 ± 1.03	277.52 ± 166.91	6.76 ± 6.15
	L	58.39 ± 23.17	1.36 ± 0.80	386.61 ± 194.34	5.60 ± 3.66

The peak plasma concentrations of salicyclic acid were (30.31-38.50 µg/ml for single dose and 41.56-58.39 µg/ml for the last multiple dose) in the range of therapeutic effective ones; the peaks were reached (T_{max} 0.90-1.16 hrs for the single dose and 0.93-1.47 hrs for the last multiple dose) almost as fast as for imidazole and they decreased slightly slower ($t_{1/2\beta}$ values ranging 4.63-6.46 hrs for the single dose and 5.60-6.76 hrs for the last multiple dose). These results, almost identical for both galenic formulations, show again no evidence of accumulation tendency and are in good agreement with published data. From (1).

Table 3. Summary of the essential pharmacokinetic parameters (plasma mean values and SD) of salicyluric acid in imidazole 2-hydroxybenzoate tablets and drops.

Salicyluric acid		C_{max}	T_{max}	AUC_0^∞	$t_{1/2\beta}$
Single dose-tablets		2.75 ± 0.81	0.96 ± 0.65	53.18 ± 36.68	12.39 ± 8.56
Multiple dose-tablets	F	1.35 ± 0.33	0.94 ± 0.88	30.47 ± 11.51	12.77 ± 4.55
	L	2.06 ± 0.91	1.37 ± 1.21	40.94 ± 16.78	11.26 ± 5.90
Single dose-drops		2.15 ± 0.60	1.10 ± 0.99	64.61 ± 31.80	20.79 ±12.34
Multiple dose-drops	F	1.69 ± 0.87	1.21 ± 1.36	24.55 ± 17.71	9.28 ± 8.99
	L	2.10 ± 0.89	1.27 ± 1.15	40.71 ± 28.58	13.16 ±11.60

As for salicyluric acid, C_{max} and T_{max} were similar to those of imidazole and salicylic acid, while $t_{1/2\beta}$ was longer, as expected since the biotransformation of salicylic acid in salicyluric acid is relevant and also very rapid. From (1).

อภินันทนาการ

จาก

บริษัท โอสถสภา (เต๊กเฮงหยู) จำกัด

2100 ถนนรามคำแหง กรุงเทพ ฯ

โทร. 377-7121.31.41.51

วารสารเภสัชวิทยา
ปีที่ 8 เล่มที่ 2 พ.ค.-ส.ค.2529

CLINICAL EVALUATION OF COMPOUNDS OF MICROBIAL ORIGIN

H.- P. Kuemmerle

Tokyo Medical College, Japan ;
P.O.Box 89, D-8173 Bad Heilbrunn, F.R.G.

The clinical trial of a new compound of microbial origin is based on the principles of rational methodology. Clinical chemotherapy has developed its own laws and rules that are determined by the particularities of infectious diseases. Three essential factors must be considered in this set of problems : the microorganism, the patient, and the physician (drug?). The development of a new antibiotic follows the general principles of clinical pharmacology which are valid for all groups of substances. Clinical trials consist of three or four phases. Phase I can be subdivided into Ia and Ib, and Phase II into IIa and IIb. In Phase I the pharmacodynamic and pharmacokinetic features of a substance, which have been determined in preclinical research, must be objectified and verified. Generally, about 10-20 subjects suffice for a population of volunteers and patients; however, this varies according to country.

The prerequisites for a decision on the therapeutic efficacy of a substnace are very careful planning and unproblematic performance of the clinical trials in Phase IIa. Only under such conditions can the side-effects be clearly recorded according to frequency and severity. As a rule, at the end of Phase IIa clarity is obtained on the importance of the new substance in comparison with other existing substances for the range of indications. This comparative assessment also determines the further course of the clinical trials. If, for example, the new substance shows significant advantages for therapy, it will be tested on a larger number of patients in Phase IIb. At that

Thai J. Pharmacol.
Vol.8 No.2 May-Aug. 1986

time proof of therapeutic advantages over other substances with similar indications will be sought in double-blind and cross-over studies. The overall general experience with a well-designed, well-conducted clinical trial consisting of a small patient population is frequently superior to that gained with trials involving large numbers of patients, especially multicentre trials. Likewise a well-designed, well-conducted open clinical study can be more valuable than double-blind studies. Such comparative trials should employ the commonly used chemotherapeutic agent for each indication as a standard of comparison for new drugs.

The term "antibiotic" in clinicopharmacological or pharmacological therapy is understood to cover all biosynthetic, semi- and fully synthetic antibiotics and their derivatives. Both experimental and applied clinical pharmacology differentiate between two types of antibiotic activity : bacteriostatic and bactericidal activity. The type of activity is determined by the effect that can be expected in the organism at certain concentrations after a defined duration of action. Other mechanisms of action play an essential role at the various sites of activity (cell wall, cytoplasmic membrane, protein synthesis, synthesis of nucleic acids). The phenomenon of persistence plays a larger role in in vivo studies than in vitro.

The phenomenon of bacterial resistance is a relative concept. Statements about resistance can be made only in connection with an active antibacterial substance and its dosage. The relevant parameters include potency in vitro, minimal inhibitory concentration and concentration of antibiotic at the site of action. If the minimal inhibitory concentration in vitro is higher than the serum or tissue concentrations achievable in vivo, the microorganism can be said to be resistant. Three types of resistance must be differentiated : natural, primary, and secondary. Secondary resistance can be developed in several ways, all of which are dependent on the antibiotic and its mechanism of action, for example, the streptomycin type (one-step mutation) and the penicillin type (multiple-step mutation).

Although the transfer of resistance plays an important role today, it cannot be treated in detail here for reasons of time limitation.

Nowadays it is necessary to differentiate between protein binding and protein inactivation. Protein binding is usually measured as the binding of active substances to serum proteins, primarily serum albumin. Consequently, albumin binding would be a more appropriate term. A high serum binding is generally considered negative. Tissue proteins can differ from albumin by their amino acid sequence, tertiary structure and other types and capacity of binding. For these reasons the therapeutic efficacy of a drug in the tissue cannot be sufficiently assessed on the basis of protein binding and inactivation of serum albumin. For example, high serum binding of a drug, which is usually reversible, could be considered positive because of its transport function in the tissue. However, it is not yet possible to decide whether the protein binding factor of a substance to serum protein is positive or negative, for no correlation has been made with therapeutic relevance. Nevertheless, extremely high values of protein binding, > 95%, must be considered disadvantageous.

The antibacterial spectra of activity of the individual antibiotics cannot be interpreted as a list of indications, much less a timetable. They provide primarily negative, disqualifying information and permit only suggestions about which substances may be inactive in individual cases. Their value is in general limited by the different susceptibilities of various strains of individual species and by the ratios of primary resistance.

Clinical case histories alone are not a criterium for the usefulness or even superiority of a new antibiotic or active combination, since ethical viewpoints are most often opposed to a stringent trial. The clinical efficacy is only the keystone of a detailed experimental or clinicopharmacological investigation. Essential and confir-

Thai J. Pharmacol.
Vol.8 No.2 May-Aug. 1986

med principles for the assessment of new antibiotic substances include microbiological and pharmacokinetic investigations.

The antibacterial activity of new drugs or drug combinations should always be tested in comparison with the most active substances existing. Since the findings of in vitro tests depend primarily on the methods used, statements of a relative nature are thus more suitable.

The various tests used can be subdivided into microbiological and non-microbiological methods. Whereas the microbiological methods test the activity of a chemotherapeutic drug or antibiotic against a growing organism, non-microbiological methods are based on physical or chemical changes. The microbiological methods can be subdivided into diffusion test, dilution test, turbidity test, and urease test.

Although they are not as precise as the non-microbiological methods, their accuracy can be improved by increasing the number of parallel tests performed. The non-microbiological methods are based on chemical, physical or immunological principles. They can be applied without any important disadvantage when concentrations of antimicrobial agents with a known metabolic stability are to be measured. Thus, antimicrobial agents have to first be investigated to a certain extent to exclude these disadvantages as much as possible from the very start. Recently, there has been an increase in the use of non-microbiological methods, which entail use of radioactive isotopes (radioimmunoassays and radioenzyme assays).

Animal trials are still the most reliable basis for evaluating the efficacy of a chemotherapeutic agent. Statements that a drug has better or poorer activity than another drug on the basis of animal studies cannot be extrapolated to human patients, for there are considerable differences between humans and various animal species, e.g. , course of infection, site of infection under experimental conditions, and metabolism. To ensure that the first application of an antimicrobial agent in humans is safe, animal experiments are conducted to de-

termine acute, subacute and chronic toxicity, embryotoxicity and teratogenesis. The investigation of a drug for carcinogenicity and mutagenesis in animal experiments poses special problems when the results are extrapolated to humans. These problems can and should be judged by only a few specialists. Such investigations should only be performed when there is sufficient that such effects could occur. In principle, however, the drug registration and licensing requirements of the individual countries decide here.

Pharmacokinetic investigations of a new antibiotic are nowadays an inseparable part of our clinicopharmacological experience and a new drug's characterization. The goal of such investigations is not only to gain more knowledge about the pharmacokinetic processes in the human organism and to determine the parameters of absorption, distribution, and excretion and their most important constants. First of all, the goal is to ascertain an optimal dosage. Such dosage studies must be performed on both healthy volunteers and patients. Armed with knowledge of pharmacokinetics, the physician can actively manage and control each antibiotic, even in difficult and complex situations in the hospital and the practice when the underlying conditions for the course of certain pharmacokinetic processes and their resulting concentration steps are altered by infections or other pathological developments. Applied clinical pharmacology rests on the following three pillars :

1. The pharmacological efficacy of a drug correlates with its plasma concentration-time data or urine concentration-time; the corresponding blood, plasma, serum or urine specimens have been collected at the precise interval of sampling required.

2. A method for determining the concentration of drug and/or metabolites in biological fluid is available which is sensitive, selective, reproducible, unproblematical, and applicable.

3. Computers and programs are available for deriving the concentration-time curve of the drug in blood or its accumulation in urine, and from these values the pharmacokinetic parameters are calcu-

Thai J. Pharmacol.
Vol.8 No.2 May-Aug. 1986

lated. These parameters are combined with the patient's clinical history to determine drug dose, dose interval, etc. Besides pharmacokinetics, biotransformation and bioavailability are of major importance; they include the different routes of administration.

In general, the pharmacokinetics of antibiotics conforms with the natural laws of other drugs, as regards absorption, distribution and excretion. Complicated pharmacokinetic analyses are not always the prerequisite for determining bioavailability. It is completely sufficient for basic information to calculate the area under the plasma concentration curve,the peak serum concentration and the time in which the blood concentration is reached, and the cumulative elimination of the drug in urine. The absolute bioavailability is obtained by comparing the levels found after administration of the drug by the route to be tested with the levels obtained after intravenous administration of the same drug dosage (the bioavailability of the latter is 100%). The relative bioavailability is obtained by comparing the test substance with the standard drug.

Large interindividual variations can occur during absorption processes. These are especially evident when semi-synthetic penicillins are given. Likewise the same substances produced by different firms can have various bioavailabilities. Considerable differences in concentration have also in part been established for these products. Blood or plasma concentrations and the influence that absorption, diffusion and elimination processes have on them provide important parameters for applying antibiotics. These concentrations can be considered therapeutically effective if they clearly exceed the minimal inhibitory concentrations of the drug for the microorganism causing the infection. However, serum peak concentrations, which are usually reached temporarily, must not be overvalued. The average concentrations that are reached are more important. The blood or plasma levels of a substance can serve as an evaluation standard only when combined with an at least approximate knowledge of the substance's diffusion. The determination of the tissue concentration of a drug is subject to considerable methodologic errors,

since it is generally based on blood or urine concentrations of the test substances.

The so-called volume of distribution is defined as a fictitious volume of the organism, i.e., at the moment of distribution equilibrium (homogeneous distribution of the antibiotic between tissue and blood) the same concentration is reached in the total body as in the blood plasma. The volume of distribution constant is dependent on the physicochemical properties of the antibiotic, especially its degree of serum protein binding. Determination of the absolute volume of distribution not only gives a concrete idea of the antibiotic in the human organism, but it is also an important pharmacokinetic constant with other pharmacokinetic parameters can be calculated. For example, according to the one-compartment model of pharmacokinetics, the substance is distributed in only one volume. We will not go into further detail here.

Other important criteria for evaluating an antibiotic are the type and amount of its elimination from the human organism. Elimination is termed the irreversible excretion of an antibiotic from a specific volume, either from the total organism or from one of its parts, the so-called compartments. This process is reflected first of all in the blood or plasma levels, although the antibotic is eliminated from individual compartments or from the total human organism. Depending on the type of excretion we can differentiate three different types of drug : renal elimination only (e.g.,gentamicin, cephalosporins), extrarenal elimination only, e.g.via metabolism (chloramphenicol, rifampicin), partially renal, partially extrarenal elimination. Renal excretion can take place by means of tubular or glomerular filtration, frequently by both mechanisms. Therefore, substances that are primarily eliminated renally must be applied in reduced doses in order to avoid accumulation in patients with renal function disturbances. Since the kidneys are the main organ of elimination for most antimicrobial substances, renal insufficiency has a significant influence on the kinetics of these substances. It poses both the danger of overdosage (if dosage is not reduced) and un-

Thai J. Pharmacol.
Vol.8 No.2 May-Aug. 1986

derdosage (if dosage is too small).

Hemodialysis and peritoneal dialysis result in a very different loss of activity of the various antimicrobial agents. The effect of dialysis on the drug pharmacokinetics in the organism depends on several factors, the most important of which is the passage of the drug or antibiotic through the dialysis membranes. This itself, however, is highly dependent on the degree of serum protein binding of the individual substance. Moreover, the properties of the dialysis machine also play a very important role. Several different methods of calculating these factors are given in the relevant literature. For example, the half-life of the antibiotic can be derived from a number of serum level assays in the different procedures of dialysis, and then this is used to select the optimal dosage. As a general principle, the patient must be monitored very carefully in the hospital, since the renal function can change very rapidly. This rule also applies to many other life-threatening conditions that cause a temporary renal insufficiency.

Besides the kidneys, elimination also involves the liver, biotransformation and catabolism, and all other processes that can lead to permanent tissue retainment of the drug. Most chemotherapeutic agents are metabolized and degraded in the organism by oxidation, reduction, hydrolysis and conjugation. How much drug is excreted unchanged by kidneys, bile, faeces and, less so, by lungs and skin varies greatly depending on the individual active substances. It can amount to < 1 - >70% of the administered dose. Most of the metabolic and catabolic reactions are inactivating processes; only a very few cases, compounds that are inactive in vitro are initially activated in the organism. Examples of the latter include chloramphenicol esters and several N-acetyl-sulfonamides. The pathways of metabolism determine the duration of drug action, the processes of diffusion and elimination, and also the occurrence of toxic side-effects and allergic reactions. The incidence of the latter is especially high in premature and newborn infants, patients with renal and liver diseases, and elderly patients, as well as those with anomalies of fermentation.

The amount of parenterally administered drug that is excreted in the faeces indicates its concentration in the bile. It also indicates when precautionary measures are required in patients with liver function disturbances. In contrast, the amount of orally administered drug eliminated in the faeces is primarily dependent on the intestinal adsorption quotient of the active substance. The interindividual variation here is often considerable. Important serum or elimination half-life values for determining appropriate dosage can be derived from the excretory conditions of a drug. Besides the pharmacokinetic analysis of the time course of changes in drug blood levels, the changes in urine concentrations are also important. These values provide information on the renal elimination of the antibiotic, as well as on the total character of the excretion process. The most important and best known pharmacokinetic parameter is the so-called biologic half-life, $t_{\frac{1}{2}}$; it is considered the basic constant. The biologic half-life is specific for each substance. It is a variable which under certain circumstances is dependent on the serum protein binding and fluctuates expecially in patients with renal function disturbances.

Clearance methods play a great role in the evaluation of drug elimination. They give information on aspects of quantity and rate of elimination and also on the routes of elimination. Pharmacokinetics is concerned primarily with the so-called total clearance, involving renal and extrarenal clearance. Both are closely related. The extrarenal clearance is the difference between the total and renal clearance. It is the parameter for determining the extrarenal elimination and probably also for the biotransformation of the antibiotic. The so-called clearance ratio is determined from the renal clearance of the investigated antibiotic and the renal clearance of endogenous creatinine. If their ratio is equal to 1, the antibiotic is eliminated only by glomerular filtration. If the quotient is larger than 1, the elimination can be assumed to involve tubular secretion (e.g., in a number of penicillins and cephalosporins). Only the unbound portion of antibiotics with strong protein binding are filtered in the glomeruli. To calculate renal clea-

rance, the bound portion has to be subtracted from the total plasma concentration. The excretion ratio obtained characterizes the actual mechanism of renal elimination.

These values are very important for the practical application of antibiotics, for they have furthered our understanding of the distribution of antibiotics between the adrenal cortex and the renal medulla. In cases where the infection is localized in the kidneys, this could influence the choice of the antibiotic. It is also essential to know that whereas antibiotics with extensive protein binding cannot be excreted by glomerular filtration, they can be eliminated by tubular secretion.

The pharmacokinetic principles of antibiotics are generally calculated on the basis of a single application. However, in actual practice, antibiotics are administered either repeatedly at short intervals or where especially indicated over a longer period. This was the occasion for intensive clarification of pharmacokinetic laws of drugs given on a regular basis. Such knowledge is the basis for selecting optimal antibiotic doses. Repeated administrations can easily lead to accumulation of the antibiotic, during which the blood or plasma levels alternate between minimal and maximal concentrations. After a certain interval, which is equal to about five times the $t_{\frac{1}{2}}$ of the antibiotic, a steady state arises, which is termed a plateau concentration, i.e. , the amount of drug absorbed is equal to the amount eliminated. It is necessary to determine the mean serum concentration for certain bactericidal antibiotics which have a short biologic half-life (most penicillins and some cephalosporins).

Pharmacokinetics also allows the individualization of dosage. This is absolutely necessary in patients with kidney and liver function disturbances, pregnant women, newborns and infants, and geriatric patients, and also during the course of a disease. Administration of a normal dose in such cases can increase the risk of pharmacotherapy or even result in failure of therapy. Optimal dosage regimens must be

established for these patients in order to guarantee a maximal efficacy at a minimal risk. This can be exemplified in cases of renal insufficiency; here the individual half-life of a drug or antibiotic can be estimated from the patient's creatinine clearance.

Pharmacokinetic trials are to be sure the most important but not the sole prerequisite for a rational and economical antibiotic therapy in hospital and practice. Together with the results of in vitro microbiological investigations and the preclinical data and clinical experience obtained from animal models of infections, they provide the criteria to evaluate the therapeutic value of a new antibiotic. In practice, pharmacokinetic results cannot be evaluated unconditionally, for they have to do with biological variables. Often the concrete interpretation is very difficult and occasionally even very questionable. Nevertheless, the dosage regimens that have been derived from pharmacokinetic calculations and confirmed by them have proven successful in both hospital and practice, especially in the case of renal insufficiency.

Pharmacokinetics must also be understood dynamically. Single steps of a dynamic process, e.g., blood or serum levels or serum protein binding, can be deceptive and confusing when presented in isolation, outside the total context. A critical and objective evaluation is only possible when all principles are considered together.

Microbiological studies of the normal or pathologically altered flora should be conducted at the same time as the clinicopharmacological investigations, in order to determine the range of antibacterial activity of a new antibiotic. The clinicopharmacological trials are brought to a close in Phase IIa with the first therapeutic applications in the relevant range of indications. At this point the new drug's profile of activity and potency and the characterization of its activity have been sufficiently clarified.

Side-effects (allergic, toxic, and biological) are investigated and carefully registered according to the following well-known procedures. In most cases it is not possible to differentiate between

Thai J. Pharmacol.
Vol.8 No.2 May-Aug. 1986

purely allergic, toxic or biological reactions. Generally, all of these reactions have a summation effect. The individual drug response and sensibility permit a multitude of disease forms to develop.

When viewed within the whole picture, primarily toxic reactions to antimicrobial agents are quite minimal. For example, polyvalent antibiotics are known to strongly activate the mucous membranes. Under particular conditions (administration on empty stomach, long retainment in intestines, enteral excretory pathway) toxic reactions of the mucous membranes can occur. Depending on the individual drug response of the organism, the underlying disease, etc., these reactions can take on clinical forms ranging from minor to severe. Regular antibiotic administration is by no means the absolute prerequisite for allergic reactions to arise or to be induced. If other drugs administered earlier have a similar chemical structure to that of the new antibiotic, they can serve as the inducing agent. The same role can be played by dietary fiber, excipients, contamination, etc. An allergic predisposition can be created by these factors, but they alone are not the decisive factors inducing allergic reactions. Usually, several factors are involved. The abuse of antibiotics in therapy, their use in agriculture and animal husbandry, in food preservatives, etc., have also played a significant role in the increased rate of sensitization to them.

The problem of nosocomial infections, i.e., infections that patients contact during hospitalization, is as old as the existence of hospitals. Whereas earlier hospital fires, surgical erysipelas, stomatitis, puerperal fever, tetanus, etc., were especially feared, nowadays infections with staphylccocci, gram negative bacteria, and fungus such as Candida cause the majority of hospital infections. The special additional feature of the "modern form" of hospital infection in the age of chemotherapy is the increased number of infections due to agents that are resistant to individual antibiotics. This poses special therapeutic problems, especially since the microorganisms frequently develop multiple resistance to various active substances. The cause of hospital infection is complex. It is difficult to combat, because numerous

factors are involved. An essential, perhaps the most decisive, role is played by all factors that negatively influence the equilibrium between the causative agent and the patient, i.e., that reduce the patient's resistance and immune defenses.

Acute worsening and life-threatening complications can occur in infectious diseases caused by microorganisms that produce endotoxins, especially when massive loading doses of antibiotics are given at the onset of therapy. These reactions are observed with not only bactericidal but also with bacteriostatic antibiotics. Their cause is most often ascribed to the effect of endotoxins released during bacterial disintegration or bacteriolysis. Occasionally, single or additional allergic reactions are assumed to be involved, for example, Herxheimer's reaction and therapeutic shock.

The increasing consumption of drugs has been accompanied by increased disturbances resulting from interactions between drugs administered simultaneously. In many cases the course of reactions has been clarified. However, this does not mean that simple guidelines can now be set up and followed so as to avoid possible life-threatening intoxications due to the prescription of several drugs, which is frequently necessary. Since enzyme mechanisms frequently play a decisive role in such situations, data from animal experiments on this complex topic should be interpreted as suggestions, at the most, and should not be extrapolated to humans. With this in mind, the following explanations are meant to encourage the testing of undesired reactions appearing during the course of chemotherapeutic measures so as to determine whether there is interference between active substances.

Pharmacokinetic data on the individual drugs can be used as starting points for estimating the influence of multiple-drug administration on the organism. The mechanisms involved in drug interactions are given in the following general breakdown :

1. Pharmacokinetic interaction : drugs can influence the absorption, distribution, biotransformation or excretion of other drugs.

Thai J. Pharmacol.
Vol.8 No.2 May-Aug. 1986

2. Pharmacologic or pharmacodynamic interaction : two drugs can exercise an additive or synergistic pharmacologic influence that leads to undesired effects. However, two drugs can also have an antagonistic pharmacologic effect. In both cases the action of the drugs on the same or different receptors can play a role.

3. Various interactions : this group includes drug interactions that cannot be assigned to either of the preceding categories. An example is provided by the sulfonamides. Although otherwise insoluble, they require an acidic urine for elimination but crystalluria can develop if the pH is too low.

Finally, a few brief remarks should address the effects of antibiotics on laboratory values. The different possibilities of interaction can be determined and must be strictly and clearly differentiated from each other : the presence of an antibiotic can falsify the methods of detection, and the antibiotic can change clinicochemical parameters. It is practical from a critical and objective standpoint not to describe the effect of antibiotics on laboratory values as drug interactions. They are not interactions, but first of all the consequence of unspecific chemical methods of detection, and secondly, a part of the activity profile of the antibiotic or drug.

In conclusion, the clinicopharmacological evaluation of a new antibiotic involves a multitude of trial criteria, which permit an interpretation of its clinical relevance and usefulness. In the last analysis, the clinical significance of a new antibiotic depends on the decision to assign the drug to a certain category. This rests on the personal experience of the clinical pharmacologist examining the drug as well as on the indispensible cooperation of the specialist disciplines involved.

(Lecture given in Pharmacokinetics and Clinical Pharmacology of Cardiovascular and Renal Drugs and Poisons Workshop at ASEAN Training Centre for Primary Health Care Development, Mahidol University, Salaya Campus, Thailand.)

คำแนะนำสำหรับผู้เขียนเรื่องลงวารสาร

วัตถุประสงค์

"วารสารเภสัชวิทยา" เป็นวารสารทางวิชาการของสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย มีวัตถุประสงค์เพื่อเผยแพร่ผลงานวิชาการทางเภสัชวิทยาและสาขาวิชาอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง ส่งเสริมความร่วมมือทางวิชาการระหว่างสมาชิกในสถาบันต่าง ๆ และผู้สนใจ

เรื่องที่ตีพิมพ์

1. รายงานวิจัย (Original Article) เป็นรายงานผลงานวิจัยของผู้เขียนเอง ซึ่งยังไม่เคยตีพิมพ์หรือกำลังรอการตีพิมพ์ในวารสารอื่น
2. รายงานผู้ป่วย (Case Report) เป็นรายงานผลการศึกษาในผู้ป่วย ในเรื่องที่เกี่ยวข้องกับวิชาเภสัชวิทยา
3. บทความปริทัศน์ (Review Article) เป็นการรวบรวมข้อมูลและสรุปวิจารณ์ในเรื่องใดเรื่องหนึ่งอย่างละเอียด ลึกซึ้ง และก้าวหน้าในด้านนั้น ๆ
4. บทความทั่วไป (General Article) อาจเป็นการสรุปความรู้ความเข้าใจในเรื่องใดเรื่องหนึ่ง ซึ่งมีประโยชน์ต่อการเรียนการสอน หรือต่อสมาชิกและประชาชนที่สนใจ
5. เวทีทัศน์ (Point of View) เป็นการวิจารณ์หรือเสนอข้อคิดเห็นในสาระสำคัญทางเภสัชวิทยา หรือที่เกี่ยวข้องกับการเรียนการสอนวิชาเภสัชวิทยา หรือการดำเนินงานของสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย
6. จดหมายถึงบรรณาธิการ (Letter to Editor) เป็นการวิจารณ์หรือเสนอข้อคิดเห็นที่เกี่ยวข้องกับการจัดทำวารสารเภสัชวิทยา หรือเรื่องที่ตีพิมพ์ในวารสาร ซึ่งคณะบรรณาธิการอาจพิจารณาให้ผู้ที่เกี่ยวข้องตอบข้อวิจารณ์หรือข้อเสนอแนะนั้น ๆ
7. วิจารณ์หนังสือ (Book Review) เป็นข้อวิจารณ์หรือแนะนำหนังสือที่ตีพิมพ์ทั้งภายในประเทศและในต่างประเทศ ซึ่งคณะบรรณาธิการเห็นว่าให้ประโยชน์ต่อผู้อ่าน
8. บทบรรณาธิการ (Editorial) เป็นบทความหรือข้อคิดเห็นในเรื่องที่เกี่ยวข้องกับวิชาเภสัชวิทยา วารสารเภสัชวิทยา หรือสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย ซึ่งคณะบรรณาธิการจะพิจารณาเป็นเรื่อง ๆ ไป

เงื่อนไข

1. ต้นฉบับที่ส่งให้พิจารณาต้องไม่เคยตีพิมพ์มาก่อน หรือกำลังรอการตีพิมพ์ในวารสารหรือหนังสืออื่น ๆ และจะต้องไม่ส่งไปตีพิมพ์ที่อื่นภายหลังจากที่คณะบรรณาธิการได้ตอบรับเรื่องดังกล่าวแล้ว
2. เรื่องที่ตีพิมพ์แล้วเป็นสมบัติของสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย และเป็นผู้สงวนลิขสิทธิ์ทุกประการ
3. ข้อความและความคิดเห็นในเรื่องที่ตีพิมพ์ในวารสารเป็นของผู้เขียน ซึ่งคณะบรรณาธิการไม่จำเป็นจะต้องเห็นพ้องด้วย
4. วารสารจะส่งสำเนาเรื่องเฉพาะรายงานการวิจัย รายงานผู้ป่วยและบทความปริทัศน์ที่ตีพิมพ์แล้วจำนวน 25 ฉบับให้ผู้เขียนตามที่อยู่ที่ระบุไว้

การเตรียมต้นฉบับ

1. ต้นฉบับอาจเป็นภาษาไทยหรือภาษาอังกฤษก็ได้ ถ้าเป็นภาษาไทยจะต้องมีบทคัดย่อหรือเรื่องย่อภาษาอังกฤษอยู่ด้วย และมีชื่อเรื่อง ชื่อ ชื่อสกุล และสถาบันที่ทำงานของผู้เขียนอยู่ด้วยทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ยกเว้นเรื่องที่เป็น เวทีทัศน์ จดหมายถึงบรรณาธิการ วิจารณ์หนังสือ และบทบรรณาธิการ อาจไม่ต้องมีบทคัดย่อหรือเรื่องย่อก็ได้
2. ต้นฉบับควรพิมพ์ดีดบรรทัดเว้นบรรทัด (2-space) บนกระดาษขาวอย่างสั้น และพิมพ์หน้าเดียว ภายในกรอบขนาด 15 x 20 ซม. ตัวเลขควรใช้เลขอาราบิคทั้งหมด
3. รายงานวิจัยหรือรายงานผู้ป่วยควรมีโครงสร้างตามลำดับดังนี้ ชื่อเรื่อง ชื่อและสถาบันที่ทำงานของผู้เขียน บทคัดย่อ (ABSTRACT) บทนำ (INTRODUCTION) วิธีการ (METHODS) ผลการศึกษา (RESULTS) วิจารณ์ (DISCUSSICN) สรุป (CONCLUSION) คำขอบคุณ (ACKNOWLEDGEMENTS) และเอกสารอ้างอิง (REFERENCES)
4. บทความปริทัศน์ควรมีโครงสร้างตามลำดับดังนี้ ชื่อเรื่อง ชื่อและสถาบันที่ทำงานของผู้เขียน เรื่องย่อ (SUMMARY) บทนำและเนื้อเรื่อง (ซึ่งไม่จำกัดลักษณะ) สรุป คำขอบคุณ และเอกสารอ้างอิง
5. บทความทั่วไป เวทีทัศน์ จดหมายถึงบรรณาธิการ และบทบรรณาธิการ ไม่จำกัดหัวข้อการเขียน และอาจใช้การอ้างอิงแบบบรรณานุกรม (BIBLIOGRAPHY หรือ READING LIST) ก็ได้
6. เอกสารอ้างอิง ให้ใช้ระบบตัวเลขภายในวงเล็บ เรียงตามลำดับการอ้างถึงในเนื้อเรื่อง โดยใช้แนวทางของ International Committee of Medical Journal Editors (ดูใน Br Med J 1982 ; 284 : 1766-70.) ดังนี้

   6.1 การอ้างอิงเอกสารจากวารสาร ถ้ามีผู้เขียนไม่เกิน 6 คน ให้เขียนชื่อทุกคน ถ้ามีชื่อผู้เขียนตั้งแต่ 7 คน ให้เขียนชื่อเฉพาะ 3 คนแรก ตามด้วยคำ "และคณะ" (et al.) และให้จัดลำดับดังนี้ ชื่อสกุลผู้แต่ง อักษรย่อชื่อต้น (ชื่อซึ่งเขียนเป็นภาษาไทยใช้เรียงชื่อต้น ชื่อสกุล) ชื่อเรื่อง ชื่อวารสาร (ชื่อย่อของวารสารภาษาอังกฤษใช้ตาม Index Medicus) ปี เล่มที่ หน้าแรก-หน้าสุดท้าย ดังตัวอย่าง

   บพิตร กลางกัลยา. บทบาททางสรีรวิทยาของ Opioid peptides และการตีความจากผลของ Naloxone. วารสารเภสัชวิทยา 2524 ; 3 : 85-93.

   Anden NE, Corrodi H, Fuxe K. Evidence for central noradrenaline receptor stimulation by clonidine. Life Sci 1970 ; 9 : 513-23.

   ในกรณีที่ไม่มีมีชื่อผู้แต่ง ให้อ้างอิงดังนี้

   Anonymous. Coffee drinking and cancer of the pancreas (Editorial). Br Med J 1981 ; 283 : 628.

   6.2 การอ้างอิงหนังสือ

   6.2.1 การอ้างอิงหนังสือที่มีหรือไม่มีบรรณาธิการ

   Dausset J, Colombani J, eds. Histocompatibility testing 1972. Copenhagen : Munksgaard, 1973 : 12-8.

   Eisen HN. Immunology : an introduction to molecular and cellular principles of the immune response. 5 th ed. New York : Harper and Row, 1974 : 406.

   6.2.2 การอ้างอิงบทในหนังสือ

   Jaffe JH, Martin WR. Opioid analgesics and antagonists. In : Gilman AG, Goodman LS, Gilman A, eds. The pharmacological basis of therapeutics. 6 th ed. New York : MacMillan Publishing, 1980 : 494-534.

6.2.3 การอ้างอิง monograph

Hunninghake GW, Gadek JE, Szapiel SV, et al. The human alveolar macrophage. In : Harris CC ed. Cultured human cells and tissues in biomedical research. New York : Academic Press, 1980 ; 54-6. (Stoner GD, ed. Methods and perspective in cell biology ; vol 1).

6.3 การอ้างอิงวิทยานิพนธ์ (Thesis or Dissertation)

Cairns RB. Infrared spectroscopic studies of solid oxygen. Berkeley, California : University of California, 1965. 156 pp. Dissertation.

6.4 การอ้างอิงต้นฉบับที่ได้รับการตอบรับแล้ว แต่ยังมิได้ตีพิมพ์ให้เขียนวลี "in press" หรือ "อยู่ระหว่างการตีพิมพ์" ภายในวงเล็บท้ายชื่อวารสารนั้น ๆ สำหรับการอ้างอิงต้นฉบับที่ยังไม่ได้รับการตอบรับให้เขียนวลี "unpublished observations" หรือ "ข้อมูลที่ยังไม่ได้ตีพิมพ์" ภายในวงเล็บในเนื้อเรื่องตอนที่มีการอ้างถึง

7. ตารางและ/หรือรูปประกอบการตีพิมพ์พร้อมคำอธิบาย ควรพิมพ์อยู่ในเนื้อเรื่องตามตำแหน่งที่ต้องการ รูปเขียนควรเขียนด้วยหมึกอินเดียนบนกระดาษขาวอย่างดี รูปถ่ายควรเป็นรูปขาวดำบนกระดาษอย่างเรียบ ทั้งตาราง รูปและคำอธิบายควรมีขนาดพอเหมาะที่จะตีพิมพ์ลงในกรอบขนาด 1 หน้าของวารสารได้โดยตรง (ไม่เกิน 15 x 20 ซม.) ตาราง และ/หรือรูปซึ่งนำมาจากผลงานที่ตีพิมพ์แล้วจะต้องอ้างถึงแหล่งที่มาด้วย

การส่งต้นฉบับ

ให้ส่งต้นฉบับจำนวน 2 ชุด ต่อกรรมการในคณะบรรณาธิการได้ทุกท่าน หรือจะส่งทางไปรษณีย์ถึงบรรณาธิการ พ.อ.ทัศนัย สุริยจันทร์ ภาควิชาเภสัชวิทยา วิทยาลัยแพทยศาสตร์พระมงกุฎเกล้า ถนนราชวิถี กทม. 10400 บรรณาธิการจะส่งคำตอบรับ และ/หรือข้อเสนอแนะในการแก้ไขต้นฉบับมายังผู้เขียน ซึ่งในกรณีที่มีการแก้ไข ผู้เขียนอาจแก้ไขตามคำแนะนำหรืออธิบายยืนยันหรือเขียนเพิ่มเติมตามที่เห็นสมควร แล้วส่งคืนยังบรรณาธิการโดยด่วน เพื่อพิจารณาตีพิมพ์ในวารสารต่อไป

อภินันทนาการ

จาก

ธนาคารทหารไทย จำกัด
สาขาศรีย่าน

1054/5 ถนนนครไชยศรี แขวงถนนนครไชยศรี

เขตดุสิต กทม.10300

โทร. 243-1446 , 243-1447 , 241-3867