



Thai Journal of Pharmacology

VOLUME 16-17
1994-1995
YEARLY
ISSN 0125-3832

Official Publication of the Pharmacological and Therapeutic Society of Thailand

Editor :

Prasert Songkittiguna

Associate Editor :

Krongtong Yoovathavorn

Editorial Review Board :

A. Apisariyakul
U. Chantaraksri
C. Cherdchu
B. Dhorraintra
P. Dhumma-Upakorn
K. Ketsa-ard
P. Khunawattan
B. Klanakalya
R. Mekmanee
P. Pramyothin
J. Sattayasai
K. Sriwatanakul
M. Sunbhanich
D. Suriyachan
J. Suthiseesung
M. Tankeyoon
A. Thithapandha
C. Tongroach
P. Trisdikoon

Distribution/Finance/

Advertising

Kriwal Wattoom
Siriwan Pojanart

CONTENTS

ORIGINAL ARTICLES

- 1 A comparative study on the bioavailability of acyclovir in Thai volunteers
O. Netetanoumsak, P. Huaprasert and S. Wittayalertpanya
- 9 The time required for absorption and urinary excretion of acetylsalicylic acid
P. Songkittiguna Wanee Thaweessap
- 17 A new screening test for catecholamines presence in urine of patients
P. Songkittiguna
- 23 ความบริสุทธิ์ของน้ำดื่มน้ำใช้
ประเสริฐ หรงกิตติคุณ ศิริวรรณ พจนารก

REVIEWS

- 31 บทบาทของกรรมพันธุ์ต่อการเปลี่ยนแปลงยาและสารเคมี
พ.อ.ทัศนัย สุริยจันทร์
- 43 กลไกวิทยาของ GABA Receptor
นลิน พยัคฆชาติ จุฬามณี สุทธิสีสังข์

หมายเหตุ

"สิ่งตีพิมพ์ในวารสารนี้เป็นข้อคิดเห็นของผู้เขียนเท่านั้น ข้อคิดเห็นเหล่านี้ ไม่มีส่วนเกี่ยวข้องกับนโยบายของคณะผู้จัดทำหรือสมาคมฯ แต่อย่างใด"

Enquiries and correspondence should be directed to:

Prasert Songkittiguna
Pharmacology Dept., Faculty of Dentistry
Henri Dunant Rd., Bangkok 10330 Thailand
Tel : 252-5151-9 Ext. 31 Fax : 251-2962

อภินันทนาการ

บริษัท วี. เอส. ซี. (ประเทศไทย) จำกัด

V.S.C. (THAILAND) CO., LTD.

FINANCE & REAL ESTATE INVESTMENTS CONSULTANTS.

ธุรกิจการเงิน ที่ดิน และกฎหมาย

บริการเงินด่วน

โทร. 583-4589

แฟกซ์ 583-8051

และ

คุณสวัสดิ์ นันทบุตร

ประธานบริษัท Fine Auto Body, Inc. แห่งรัฐเวอร์จิเนีย

(จะเปิดบริการ ณ ประเทศไทย ด้วยเครื่องมือทันสมัย)

โทร. 583-4589 FAX. 583-8051



สมาคมเภสัชวิทยา แห่งประเทศไทย

THE PHARMACOLOGICAL AND
THERAPEUTIC SOCIETY OF THAILAND

วัตถุประสงค์ของสมาคม

- ☉ เพื่อเป็นศูนย์กลางการติดต่อระหว่างสมาชิกของสมาคมและระหว่างชมรมหรือสมาคมทางวิชาการอื่น ๆ ทั้งในและต่างประเทศ
- ☉ เพื่อเผยแพร่ความรู้ ความก้าวหน้าทางวิชาการ และสนับสนุนกิจกรรมต่างๆ อันจะเป็นประโยชน์ต่อสมาชิกและต่อสังคมโดยรวม
- ☉ เพื่อแลกเปลี่ยนความรู้ ความคิดเห็นระหว่างสมาชิก และช่วยเหลือซึ่งกันและกัน

3806-353F/500(4)

รายนามคณะกรรมการบริหารสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย

พ.ศ. 2537 – 2538

กรรมการที่ปรึกษา

ศ.นพ. ประเวศ วะสี

พลโท พิศาล เทพสิทธิ

พลตรี สุนันท์ โรจนวิภาด

รศ.นพ. ไพโรจน์ ศิริวงษ์

ศ.ดร.ภักดี โพธิศิริ

หัวหน้าภาควิชาเภสัชวิทยาทุกสถาบัน

นายกสมาคม

ผศ.ดร.ชัยชาญ แสงดี

อุปนายก

ดร. ชวนี ทองโรจน์

ผู้รั้งตำแหน่งนายกสมาคม

รศ.ดร. พรเพ็ญ เปรมโยธิน

เลขาธิการ

นพ.วิทยา ต้นสุวรรณนท์

ฝ่ายวิชาการและประชาสัมพันธ์

ผศ.ดร. จุฬามณี สุทธิสีสังข์

เหรียญกษาปณ์

พ.อ.หญิง สุเพ็ญ ภัทรกิจวานิช

ปฏิคม

รศ.พญ. สุนา ชมพูทวีป

บรรณาธิการวารสาร

รศ.ทพ.ดร. ประเสริฐ ทรงกิตติคุณ

ทะเบียน

ผศ. สุพีชา วิทยเลิศปัญญา

กรรมการ

ดร. อุดม จันทรรักษ์ศรี

พ.อ.ดร. ทศนัย สุริยจันทร์

ดร.นพ. ปัญญา คุณวัฒน์

ผศ.ดร. กิตติมา ศรีวัฒนกุล

ผศ.ดร. สุพัตรา ศรีไชยรัตน์

ตามวัตถุประสงค์ของสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย ก) เพื่อเป็นศูนย์กลางการติดต่อระหว่างสมาชิกของสมาคมและระหว่างชมรม หรือสมาคมทางวิชาการอื่นๆ ทั้งในและต่างประเทศ ข) เพื่อเผยแพร่ความรู้ ความก้าวหน้าทางวิชาการ และสนับสนุนกิจกรรมต่างๆ อันจะเป็นประโยชน์ต่อสมาชิกและต่อสังคม โดยส่วนรวม และ ค) เพื่อแลกเปลี่ยนความรู้ ความคิดเห็นระหว่างสมาชิก และช่วยเหลือซึ่งกันและกัน ผมได้เข้ามารับหน้าที่บรรณาธิการประมาณกลางปี พ.ศ. 2537 ทราบข่าวว่าท่านสมาชิกทั้งหลายมีผลงานวิจัยมากมาย เพื่อมิให้ขาดการติดต่อและแลกเปลี่ยนความคิดเห็นความรู้ซึ่งกันและกัน จึงได้ส่งจดหมายถึงทุกท่านมาครั้งหนึ่งแล้วเพื่อขอเรื่องหรือบทความมาลงพิมพ์เผยแพร่ ได้รับความกรุณาจากอาจารย์ พ.อ.ทัศนัย สุริยจันทร์ อาจารย์นลิน พัยคมชาติ และอาจารย์จุฑามณี สุทธิสีสังข์ และอาจารย์สุพิชา วิทยเลิศปัญญา ส่งบทความปริทัศน์ (Review article) 2 เรื่อง และรายงานการวิจัย 1 เรื่อง รวมเป็น 20 หน้าพิมพ์ เพื่อให้วารสารมีเรื่องหลากหลายให้ท่านสมาชิกเลือกอ่านได้ และวารสารไม่บางจนเกินไป จึงได้นำเรื่องสำรองของผม 3 เรื่อง ประมาณ 20 หน้าพิมพ์มาสมทบลงพิมพ์ ผมคิดว่าในปีใหม่ (พ.ศ. 2538) นี้ท่านสมาชิกคงเตรียมตัวเพื่อส่งรายงานการวิจัยมาลงพิมพ์ทัน กรุณาส่งเรื่องพิมพ์ ก่อนสิ้นปีงบประมาณแผ่นดิน (30 กันยายน พ.ศ. 2538)

ในระยะแรกนี้จะพยายามออกวารสารให้ได้ปีละ 1 เล่ม ต่อเมื่อท่านสมาชิกทั้งหลายส่งเรื่อง ลงพิมพ์มากขึ้น จะเพิ่มเป็นปีละ 2,3 หรือ 4 ฉบับ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับท่านทั้งหลาย ได้ปรึกษากับกรรมการบริหารสมาคมฯ ว่าในอนาคตคิดจะทำอิเล็กทรอนิกส์เจอร์นัล (Electronic Journal) ใช้แผ่นดิสค์บรรจุบทความแล้วแจกจ่ายไปยังท่านสมาชิกเพื่อประหยัดค่าโรงพิมพ์และกระดาษ สำหรับสมาชิกที่อยู่ตามสถาบันการศึกษา คงไม่มีปัญหา แต่มีสถานพยาบาลและโรงพยาบาลต่างจังหวัดอีกมากที่ยังไม่มีคอมพิวเตอร์ใช้จึงได้ชะลอไว้ก่อน

เป็นการประหยัดหน้ากระดาษดังกล่าวและคาดว่านักวิจัย นักศึกษาลดจนผู้สนใจวิชาเภสัชวิทยาที่เป็นชาวต่างประเทศศึกษาและทำงานในประเทศไทย มีปริมาณเพิ่มมากขึ้นทุกปี ผมจึงออกแบบรูปเล่มเป็นภาษาอังกฤษเพื่อดึงดูดความสนใจ ประกอบกับวารสารจากประเทศญี่ปุ่น ประเทศจีน ฯลฯ ที่แจกจ่ายในประเทศของเรา ล้วนแต่ลงพิมพ์เป็นภาษาอังกฤษทั้งหมด หวังว่าท่านสมาชิกคงไม่ขัดข้อง

สารบัญ

หน้า

ORIGINAL ARTICLES

- 1 **A comparative study on the bioavailability of acyclovir tablets in Thai volunteers**
O. Natetanoumsak, P. Huaprasert and S. Wittayalerpanya
- 9 **The time required for absorption and urinary excretion of acetylsalicylic acid and methyl salicylate**
P. Songkittiguna and W. Thaweesap
- 17 **A new screening test for catecholamines presence in the urine of patients**
P. Songkittiguna
- 23 **ความบริสุทธิ์ของน้ำดื่มน้ำใช้**
ประเสริฐ ทรงกิตติคุณ ศิริวรรณ พจนารถ

REVIEWS

- 31 **บทบาทของกรรมพันธุ์ต่อการเปลี่ยนแปลงยาและสารเคมี**
พ.อ.ทัศน์ัย สุริยจันทร์
- 43 **เภสัชวิทยาของ GABA Receptor**
นลิน พยัคฆชาติ จุฑามณี สุทธิสีสังข์

การศึกษาเปรียบเทียบการเอื้อประโยชน์ของ ยาเม็ดอะไซโคลเวียในอาสาสมัครไทย

อรวรรณ เนตรถนอมศักดิ์* พรทิพย์ หุยประเสริฐ** และ สุพีชา วิทยเลิศปัญญา*

*ภาควิชาเภสัชวิทยา **ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย

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

Orawan Natetanoumsak* Pornthip Huaprasert**
and Supeecha Wittayalertpanya*

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

Abstract

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

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

จากปัญหาที่ได้กล่าวมาแล้ว การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาและเปรียบเทียบการเอื้อประโยชน์ของยาเม็ด acyclovir ที่ผลิตโดยบริษัทต่างๆ เพื่อให้ได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ต่อการพิจารณาเลือกใช้ยาได้อย่างเหมาะสมตามเศรษฐฐานะของผู้ป่วย

วิธีทดลอง

คัดเลือกอาสาสมัครผู้ใหญ่เพศชาย 5 คน หญิง 5 คน ที่เคยมีประวัติติดเชื้อเฮอร์ปีส์ซิมเพลกซ์ไวรัส เข้าร่วมการทดลอง โดยอธิบายวิธีการศึกษาให้เข้าใจโดยละเอียด พร้อมกับชี้แจงให้ทราบถึงอาการไม่พึงประสงค์ที่อาจเกิดขึ้น และลงชื่อในหนังสือ

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

อาสาสมัครที่มีประวัติเป็นโรคตับ โรคไต โรคเบาหวาน มีภาวะพร่องภูมิคุ้มกัน ได้รับยาจำพวกกระตุ้นภาวะภูมิคุ้มกัน และมีประวัติเป็นโรคอื่นๆ หญิงที่อยู่ในระยะตั้งครรภ์ หรือผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการมีค่าผิดปกติ จะไม่ถูกคัดเลือกเข้าสู่การทดลอง

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

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

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

สารเคมีและเครื่องมือที่ใช้

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

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

วิธีการวิเคราะห์

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

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

การคำนวณค่าทางเภสัชจลนศาสตร์

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

สถิติที่ใช้

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

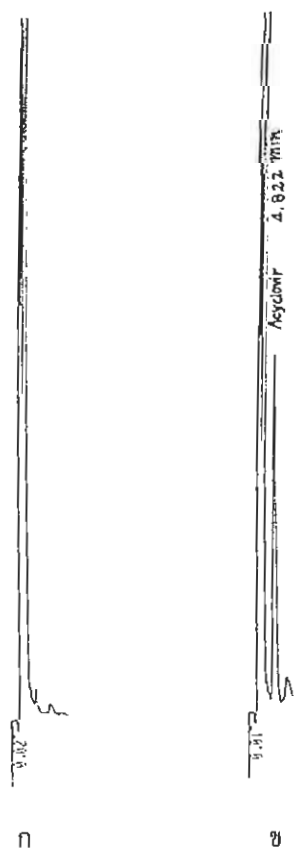
ผลการทดลอง

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

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

ของตับและไต อยู่ในเกณฑ์ปกติ แสดงว่าอาสาสมัครทุกคนมีสุขภาพสมบูรณ์

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



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

วิจารณ์ผลการทดลอง

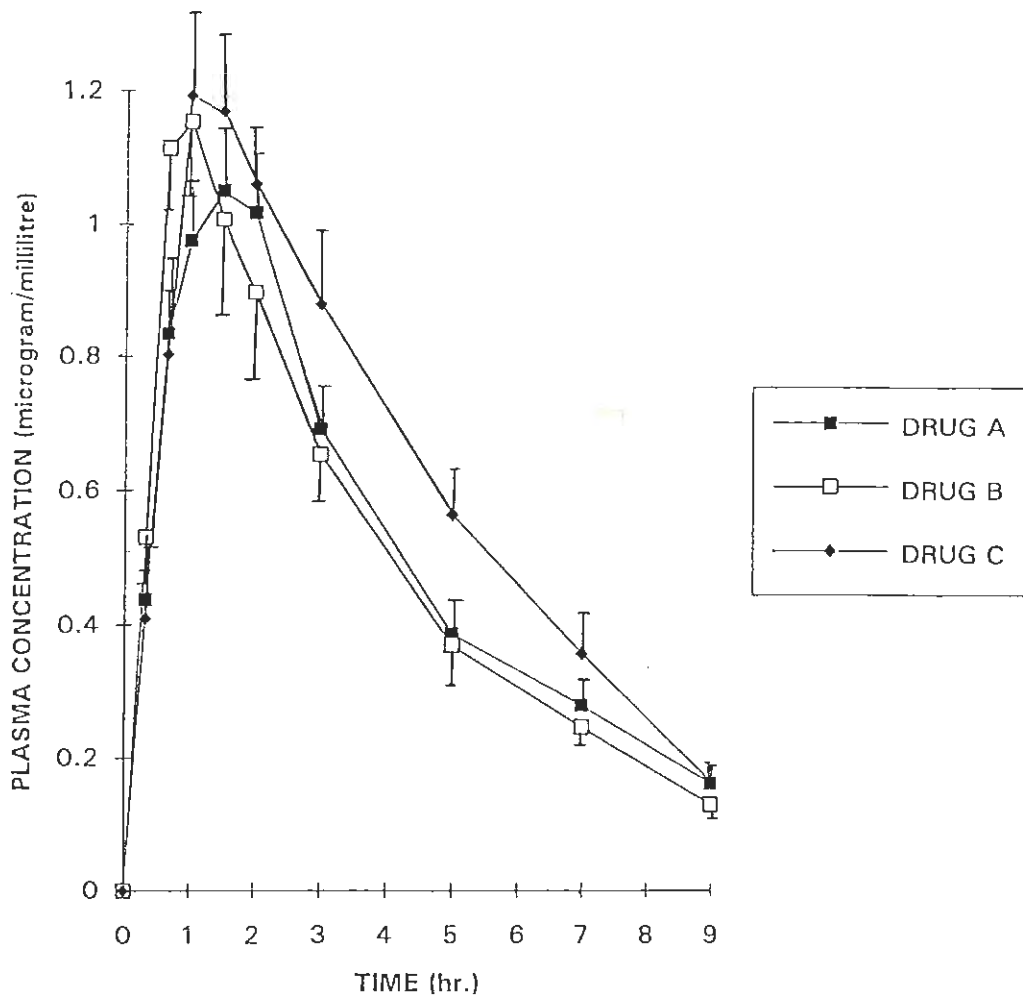
วิธีการวิเคราะห์หาระดับยา Acyclovir วิธีนี้เป็นวิธีที่รวดเร็ว มีค่าความเที่ยงตรงและความถูกต้องอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ และความเข้มข้นต่ำสุดที่วัดได้คือ 0.1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งเป็นค่าต่ำกว่าระดับยาที่จะวัดในพลาสมา ปกติการรายงานข้อมูลการเอื้อประโยชน์ของยาในร่างกายโดยศึกษาเฉพาะเพศใดเพศหนึ่งไม่อาจเป็นตัวแทนที่ดีได้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

สรุป

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

คำขอบคุณ

ผู้วิจัยขอขอบคุณหัวหน้าภาควิชาเภสัชวิทยา ที่อนุญาตให้ใช้เครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัยนี้ และขอบคุณเจ้าหน้าที่ในภาควิชาเภสัชวิทยาทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือและร่วมมือตลอดโครงการวิจัย ขอขอบคุณ รศ.ดร.เพ็ญศรี ทองเทพเนื่อ ที่ให้คำแนะนำเกี่ยวกับงานวิจัยนี้



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

ตารางที่ 1 แสดงลักษณะทั่วไปของอาสาสมัคร

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

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

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

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

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

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

เอกสารอ้างอิง

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



SGS

WORLD LEADER IN INSPECTION
& TESTING SERVICES

**FOR ALL YOUR INSPECTION AND
TESTING REQUIREMENTS :-**

AGRICULTURAL PRODUCTS
CONSUMER PRODUCTS
PETROLEUM AND PETRO CHEMICALS
INDUSTRIAL GOODS
FOOD PRODUCTS
CONSTRUCTION MATERIALS

CONSULTANCY :-

ENVIRONMENT
CONSTRUCTION
QUANTITY SURVEYING
LOSS ADJUSTING
QUALITY ASSURANCE



CONTACT :-

THE **SGS** GROUP IN THAILAND
TELEPHONE : (662) 392-1066 40 LINES
TELEFAX : (662) 381-1994/5

THE TIME REQUIRED FOR ABSORPTION AND URINARY EXCRETION OF ACETYLSALICYLIC ACID AND METHYL SALICYLATE

Prasert Songkittiguna and Wanee Thaweesap

Department of Pharmacology, Faculty of Dentistry Chulalongkorn University,
Bangkok, Thailand

The two salicylates (acetylsalicylic acid and methyl salicylate) are well absorbed. The time required to be eliminated into urine after oral administration and dermal application of these two drugs was compared in female and male. The renal elimination time after skin application of methyl salicylate was shown to be longer than that after oral administration of acetylsalicylic acid ($P < 0.025$) in an empty stomach (without food). When administer with meal, it took longer time to eliminate the oral salicylate into urine than that of the empty stomach ($P < 0.001$). No difference in absorption and excretion time of the two salicylates was observed between female and male ($P > 0.05$).

It is suggested, therefore, that the gastrointestinal absorbable form of salicylates (acetylsalicylic acid) enters and leaves the body faster than topically applied as methyl salicylate. No sex difference was observed on the three phenomena. Presence of food in the stomach delays the body entry and leaving time of oral acetylsalicylic acid in both sexes.

INTRODUCTION

In spite of the introduction of many new analgesic drugs, acetylsalicylic acid (ASA) is still one of the widely prescribed analgesic-antipyretic and anti-inflammatory agents. It is also the standard drug employed for the comparison and evaluation of others.⁽¹⁾ Regarding, the cardiovascular disorders in elderly patients

such as thromboembolic diseases, this drug is used for both preventive and curative purposes. Acetylsalicylic acid and other derivative such as methyl salicylate are known to be extensively metabolized in the liver and excreted by kidneys. Salicylic acid is an active metabolite of both drugs in blood. The detection of salicylic acid in urine is simple. The extent and time-

course of absorption and excretion of per oral ASA or topical application of methyl salicylate in Thais have not yet been reported. Therefore, an experiment on the oral administration of

acetylsalicylic acid and skin application of methylsalicylate was performed with a view to estimate and compare the length of times of the drugs in human body.

Table 1 The time required to detect salicylic acid in the urine after orally-administered acetylsalicylic acid in empty stomach ; stomach with meal and topical application of methyl salicylate.

Salicy- lates	Routes of Administration	Length of time required for the presence of salicylic acid in urine (minute)			
		Female n	Male n	Both sex N	
Acetyl- salicylic Acid	Per oral with empty stomach	33.00 ± 2.99 5	31.36 ± 1.36 11	32.65 ± 1.43 16 (A)	
	Per oral after a standard meal	47.50 ± 2.49 6	45.00 ± 2.24 11	45.88 ± 1.56 17 (B)	
Methyl- salicylate	Per cutaneous	36.25 ± 2.33 12	36.75 ± 2.25 20	38.44 ± 1.64 32 (C)	

The results were expressed as mean ± standard error of the mean

- Note:** 1. n=number of subjects either male or female
 2. N=number of both sexes (male and female)
 3. (A)is significant different from (B)(P<0.001)
 4. (A)is significant different from (C)(P<0.025)
 5. (B)is significant different from (C)(P<0.025)

Table 2 The data of age and body weight of male and female volunteers.

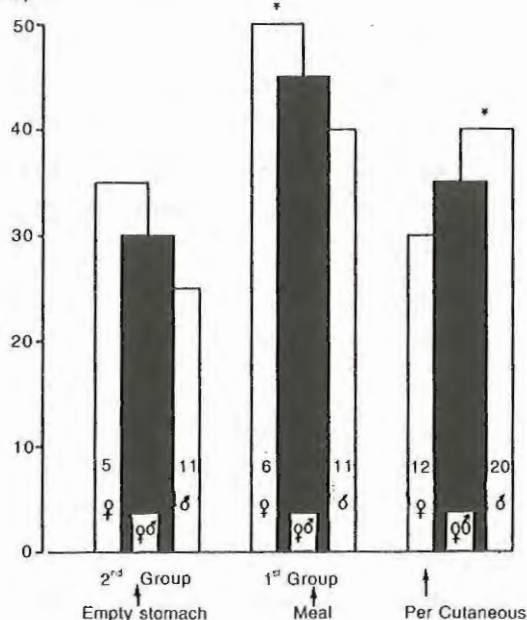
Subject	Male		Female		Female (cont).		
	Age(Yr)	Weight(Kg)	Age(Yr)	Weight(Kg)	Subject	Age(Yr)	Weight(Kg)
1	22	44.0	23	41.5	32	20	55.5
2	22	62.0	19	55.0	33	21	47.0
3	21	65.5	22	40.5	34	22	46.5
4	21	62.0	22	46.5	35	22	41.7
5	21	61.0	22	49.0	36	20	64.5
6	22	52.5	21	46.0	37	21	39.5
7	21	58.0	22	50.0	38	22	53.5
8	22	63.0	22	48.0	39	23	44.0
9	21	47.5	21	44.5	40	21	42.0
10	21	54.5	22	38.5	41	21	43.5
11	22	64.5	22	50.0	42	21	44.0
12	21	51.2	22	46.5	43	20	41.5
13	21	65.5	22	52.0	44	22	46.0
14	21	53.0	22	44.5	45	22	45.0
15	22	71.5	21	41.5	46	21	49.5
16	22	59.0	22	43.0	47	21	51.0
17	22	57.0	22	48.5	48	21	-
18	26	63.0	21	42.5	49	22	49.0
19	21	59.5	21	51.5	50	21	60.0
20	20	56.5	20	55.5	51	21	41.5
21	21	58.5	22	51.5	52	22	46.0
22	20	54.5	21	45.0	53	21	46.0
23	22	61.0	21	44.5	54	22	47.5
24	21	61.0	21	62.0	55	22	41.5
25	21	73.0	22	47.5	56	21	52.0
26	21	68.5	21	44.5	57	21	45.0
27	21	59.0	22	37.5	58	21	43.5
28	22	61.0	23	48.0	59	22	42.5
29	22	64.0	21	56.0	60	20	41.5
30	22	59.0	21	46.5	61	21	43.0
31	19	66.0	22	41.5	62	21	44.0

Table 3 The mean age and body weight of the volunteers with standard error of the mean.

Mean $\pm$ Standard error of the mean		
Sex	Age(year)	Weight (kilogram)
Male	21.42 $\pm$ 0.02 (n=31)	59.90 $\pm$ 1.50 (n=31)
Female	21.39 $\pm$ 0.10 (n=62)	46.85 $\pm$ 0.72 * (n=61)
Both male and female	21.39 $\pm$ 0.094 (n=93)	51.24 $\pm$ 0.89 (n=92)

Note: 1. An asterisk(*) means statistically significant difference from the mean weight of male subject ($P < 0.001$)
 2. n in the brackets represents number of volunteers

Time for the presence of
salicylic acid in urine
(min)



Note: 1. The asterisks(*) show the statistical difference from each other ($P < 0.05$ upto 0.005).
 2. The numbers present in the bar graph represents the number of volunteers.
 3. The solid columns are the averages of males and females.
 4. ♀♂ represents male and female average; ♀=female average; ♂=male average.

Fig. 1 The lengths of time commencing from either the ingestion of acetylsalicylic acid (empty or stomach with meal) and per cutaneous application of methyl salicylate until salicylic acid appearance in urine.

MATERIALS AND METHODS

Human volunteers of either sex, weighing 51.24 ± 0.89 Kg, were fasted 24 hr prior to the commencement of experiment. They never underwent any recent medical treatment within a week. Each volunteer emptied their urinary bladder before drug administration urine samples were tested for the presence of salicylates. If the test was positive, such volunteer will be omitted. The volunteers were randomly divided into groups as follows:

A.Group

After emptying of the bladder with a negative salicylate test, subjects' forearms of either side were rubbed upon with 2 ml of oil of wintergreen B.P. for 3 min until most of the drug was absorbed. Then, timing was started, and the volunteers were allowed to drink water ad libitum. At 15-min intervals, a urine sample was collected and tested for the presence of urinary salicylates by a chemical identification test.⁽²⁾ The time in minutes from the completeness of skin application to last urine sample with the detectable urinary salicylates was recorded.

B.Group

After a test for the absence of urinary salicylates was performed as in A., the second group of the volunteers was randomly divided into two subgroups of 17 and 16; the first group of volunteers ate about 300 gm of fried rice with pork, whereas the second group was starved; but all of them could drink water freely. The first group served as the stomach with meal; the second was the empty stomach group.

Acetylsalicylic acid (300 mg) in gelatin capsule was taken orally with 250 ml of drinking water by all of the volunteers; then the urine sample was collected at 15-min interval and tested for salicylates as in A.

RESULTS

The average age of female and of male were 21.39 ± 0.10 years ($n=62$) and 21.42 ± 0.20 years ($n=31$), respectively. The average age of both sex was 21.39 ± 0.094 years ($n=93$). The body weight of female and of male was 46.85 ± 0.72 kilograms ($n=61$) and 59.90 ± 1.50 kilograms ($n=31$) respectively. The average weight of both sexes was 51.24 ± 0.89 kilograms ($n=92$) (table 2 and table 3).

The length of time required to detect urinary salicylic acid after oral and dermal administration was shown in the table 1. The average time for the presence of urinary salicylic acid after oral administration in fasting subjects female and male were 33.00 ± 2.99 min ($n=5$) and 31.36 ± 1.36 min ($n=11$) respectively. After meal, the time required for excretion of salicylate was 47.50 ± 2.49 min ($n=6$) for female and 45.00 ± 2.24 min ($n=11$) for male. The average time of both sexes was 45.88 ± 1.56 min ($n=17$). The dermal application of methylsalicylate, the excretion time was 36.25 ± 2.33 ($n=12$) for female and 39.75 ± 2.25 min ($n=20$) for male; whereas the average time of both sexes was 38.44 ± 1.64 min ($n=32$).

DISCUSSION

It has been nearly a century since acetylsalicylic acid has been replaced sodium salicylate

for rheumatic disease and used as an antipyretic. The mechanisms of action as well as its use were extensively reported.^(3,4,5.....11) The side effects and toxicities of acetylsalicylic acid were also revealed.^(12,13.....16) The gastro-intestinal absorption and urinary excretion of both acetylsalicylic acid and methyl salicylate^(17,18,19,20) were also studied in man. It is known that food can influence the gastro-intestinal absorption of a number of drugs.⁽²¹⁾ However, there has been no report on the effect of Thai food on the absorption and the acetylsalicylic acid and methyl salicylate.

In the present study, no sex difference in the length of time taken from either ingestion (acetylsalicylic acid) or dermal application (methyl salicylate) until its appearance in urine was found in all of the experimental conditions (empty and food stomach) (Table 1, Fig.1). Food delayed gastrointestinal absorption of acetylsalicylic acid. Thus food either by itself might directly affect the rate and extent of absorption and excretion or alter pH in stomach as well as in urine as seen after administration of antacid.⁽²²⁾ Acidic drugs such as salicylic acid (an active form of the salicylates in blood) are less ionized in acidic urine but more ionized in alkaline urine.⁽²³⁾ At present, the dermal dosage form of drug is of great interest; it is not only convenient for use but also is without first-pass drug metabolism. In the contrary, the environmental toxic chemicals and the counter irritants containing methyl salicylate may be absorbed through skin and cause kidney failure which should be taken into a consideration. The

slowness of skin absorption in comparing with gastrointestinal absorption might be due to the absorbing surface area upon which the drug was applied (the forearm) is very small comparing with that of the whole gastrointestinal absorbing area.

REFERENCES

1. Insel PA. Analgesic-antipyretics and antiinflammatory agents; drugs employed in the treatment of rheumatoid arthritis and gout. In: Goodman and Gilman, The Pharmacological Basis of Therapeutics 8th ed. New York: Macmillan Publishing, 1991: 638-681.
2. Anonymous. General Identification Tests; Appendix 5 Chemical Test. In : Thai Pharmacopoeia. 1st ed. Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, Bangkok, Thailand, 1987. 400-403.
3. Krantz JC, Jr. Felix Hoffman and aspirin. In: Historical Medical Classics Involving New Drugs. Waverly Press, 1974. 37-41.
4. Tainter, HL, Ferris AJ. Aspirin in modern therapy. In: A review by Bayer Co., Division of Sterling Drug Inc., New York 1969.
5. Ferreira SH, Vane, JR. New aspects of the mode of action of nonsteroid antiinflammatory drugs. Annual Review of Pharmacology, 1974 ; 14:57-73.
6. Vane JR. The mode of action of aspirin and similar compounds. Hospital Formulary, 1976;10: 618-629.

7. Skelbred P, Album, B, and Lokken P. Acetylsalicylic acid vs. paracetamol : effects on post-operative course. *European Journal of Clinical Pharmacology*. 1977 ; 12: 257-264.
8. Bloomfield SS, Barden TP, and Mitchell J.: Naproxen, Aspirin, and codeine in postpartum uterine pain. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 1977 ; 21: 414-421.
9. Cooper SA, Needle, SE, and Kruger GO. Comparative analgesic potency of aspirin and ibuprofen. *Journal of Oral Surgery* 1977 ; 35 : 898-903.
10. Cooper SA, Breen JE, and Giuliani RL. Replicate studies comparing the relative efficacies of aspirin and indoprofen in oral surgery outpatients. *Journal of Clinical Pharmacology*. 1979 ; 19 : 151-159.
11. Halpin TJ, Holtzhauer FT, Campbel RJ, Hall LT, Correa-Villana A., Lanese, R., Rice, J., and Hurwitz, E.S.: Reye's syndrome and medication use. *Journal of the American Medical Association*. 1982;248: 687-691.
12. Tenney SM, and Miller RM. The respiratory and circulatory action of salicylates. *American Journal of Medicine*. 1955 ; 19 : 498-508.
13. Winters RW, White JS, Hughes MC, Ordway, NK. Disturbances of acid-base equilibrium in salicylate intoxication. *Pediatrics*, 1959;23: 260-285,
14. Miller FF. Aspirin-induced bronchial asthma. *Journal of the Oklahoma State Medical Association*. 1967 ; 60: 122-124.
15. Szezeklik A, Gryglewski RJ. Prostaglandins and aspirin-sensitive asthma. *American Review of Respiratory Disease*. 1978 ; 118: 799-800.
16. Fowler PD. Aspirin, paracetamol and nonsteroidal antiinflammatory drugs. A comparative review of side effects. *Medical Toxicology Adverse Drug Exp*. 1987 ; 2: 338-366.
17. Levy G, and Leonaros JR. Absorption, metabolism, and excretion of salicylates, In: *The Salicylates*, Edited by M.J.H. Smith and P.K. Smith, Interscience Publisher, 1966.
18. Lange WE, and Bell SA. Fluorometric determination of acetylsalicylic acid in blood. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1966 ; 55 : 386-389.
19. Levy G, and Hollister LE. Dissolution rate limited absorption in man: factors influencing drug absorption from prolonged-release dosage form. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1965 ; 54,: 1121-1125.
20. Leonards JR. The influence of solubility on the rate of gastrointestinal absorption of aspirin. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 1963 ; 4: 476-479.
21. Hussar DA. Drug Interactions : the effect of food. In : *Pharmaceutical Sciences*. Edited by the Philadelphia College of Pharmacy

- and Science. Mack Publishing Company, Pennsylvania, 1990 ; 1842-1858.
22. Hussar DA. Drug Interactions : alteration of urinary pH. In : Pharmaceutical Sciences. Edited by the Philadelphia College of Pharmacy. Mack Publishing Company, Pennsylvania, 1990 ; 1854.
23. Bowman WC. Rand MJ. Absorption, distribution, excretion and metabolism of drugs : Biopharmaceutics and Pharmacokinetics. 2nd ed. Blackwell Scientific Publications, Melbourne. 1980 ; 40. 1-40.45.

A NEW SCREENING TEST FOR CATECHOLAMINES PRESENCE IN THE URINE OF PATIENTS

Prasert Songkittiguna

Department of Pharmacology, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University,
Bangkok, Thailand

The time required for the disappearance of the white spots produced by an injection of catecholamines containing urine sample into Siamese fighting fish was used as a screening test as an early diagnosis of patients having catecholamines secreting tumour. The urinary catecholamines test using the fish has previously been reported by Songkittiguna.⁽¹⁾ The time required for the disappearance of the white spots produced by the injection into the fish with the morning urine samples obtained from the patients under 12 years (n=32) was not statistically different from the patients over 12 years (n=16) ($p>0.05$). In addition, the white spots produced by both the patients over 12 years and the all age (ten days to 70 years) did not differ significantly from each other ($p>0.05$) (n=16 and 48, respectively). Interestingly, the disappearance time of the white spots produced by the injection of the urine samples from a certain group of patients having catecholamine secreting tumour (under 12 years, (n=12)), were markedly longer and highly significant different from the previous group ($p<0.001$).

INTRODUCTION

Neuroblastoma of the medulla is the most common infantile adrenal neoplasm. About thirty and eighty percents of the patients are diagnosed within less than one year and five years, respectively. Less than 5 percents of the patients are diagnosed after over 15 years of age.⁽²⁾ Next to retinoblastoma, neuroblastoma is the most common congenital cancer. Like many other cancers, neuroblastoma can be

successfully treated if the diagnosis is early enough. Although HPLC is an established method for the detection of vanillylmandelic acid (VMA) and homovanillic acid (HVA), the Newcastle team found that it is a time consuming method and is too slow to screen 200 samples per day. Therefore, this screening test was developed in order to overcome the complexity of HPLC method by using a very simple methodology.

MATERIALS AND METHODS

A. An animal preparation

The inbred-male Siamese fighting fish of 6-8 months in age were used. Their displaying of fighting signs indicated a healthy condition and ready for the test which was carried out in an air-conditioning laboratory (24-26°C). One hour before experiment, the fish was transferred from an animal house into the laboratory in a 100 ml glass beaker containing 60 ml of distilled water. When the fish saw each other through the transparent glass beaker; they would show visible signs of fighting such as stretching of fins and tails which were red and blue colours throughout the body.

B. The preparation of urine samples

All of the lying-in patients suspected to have catecholamines secreting tumors were chosen as subjects. Approximately 5 ml of the fresh morning urine sample collected before midday from the in-patients and a group of patients suspected to have the catecholamines secreting tumour was kept in a plastic container in the presence of approximately 25 mg/l ascorbic acid. After collection, the urine container was immersed immediately into the ice and kept there until studied.

C. Testing procedure

Anaesthetization and intramuscular injection of the urine sample to the fish

The fish were anaesthetized by hypothermia. Using a plastic-hub luer type hypodermic syringe and needle (gauge 26, 1/2") with

microverneer, 50 ul of the urine was injected into a muscle under the dorsal fin of the fish.⁽³⁾ After stoppage of bleeding at the injected site for a few seconds, the fish were then returned to their original containers. Timing was commenced immediately after the injection. The time required for the disappearance of the white spot at the injection site was then recorded; the timing ended when the white spot had returned to original colours of the fish.

RESULTS

The results of the time required for the disappearance of the white spot are shown in Table 1. and Fig. 1. In 32 young patients without catecholamine secreting tumor (age of 10 days to 12 years) the disappearance time of the white spot was 41.56 ± 5.14 min. The urine samples from the other group of patients (age of 13 to 70 years) showed very similar result, 39.58 ± 5.39 min. While the average time from all ages of 48 patients was 38.57 ± 5.11 min. Those results were counted as normal values. In 12 patients suspected to have catecholamine secreting tumor (under 13 years of age) the time was 178.95 ± 8.19 min; the other patient (age > 15 years), it was 232.5 min. The average time of this two groups of patient altogether was 187.15 ± 9.11 min. This markedly prolonged time for the disappearance of white spot was counted as abnormal urine. The white spots produced by the injection of the urine sample obtained from the patients with catecholamine-secreting tumours, neuroblastoma and pheochromocytoma, were shown in Fig. 3 and 4 respectively. Fig. 2 shows the white spot produced by injection of the urine

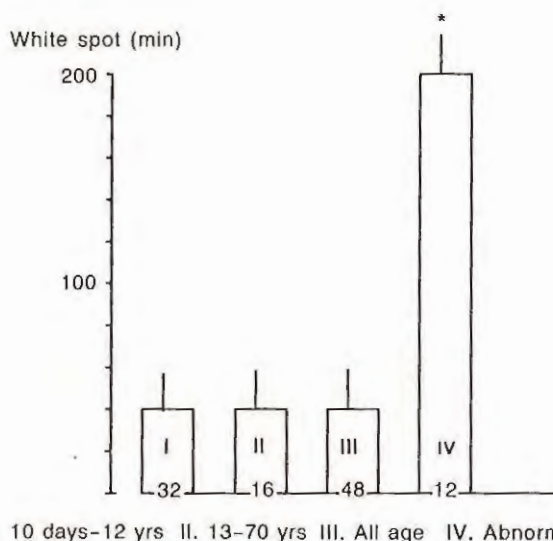
Table 1 The time required for the disappearance of the white spot caused by the interaction of the patients' urine with the fish.

A FISH TEST

URINE	DISAPPEARANCE OF WHITE SPOT * $\bar{X} \pm S.D.$ (min)	n
Urine samples from patients without catecholamine secreting tumours Normal urine (50 ul)		
Age, 10 days - 12 years	41.56 $\pm$ 5.14	32
Age, 13 - 70 years	39.58 $\pm$ 5.39	16
Total	38.57 $\pm$ 5.11	48
Urine samples from patients suspected to have catecholamines. Abnormal Urine (50 ul)		
Neuroblastomas	178.95 $\pm$ 8.19 *	12
Pheochromocytomas	232.50	1
Total	187.15 $\pm$ 9.11	13

* The results were expressed as mean $\pm$ standard deviation.

n is the number of patients.

**Fig. 1** The time of disappearance of the white spots produced by intramuscular injection of 50 ul of urine. The numbers at the base of histograms are the number of the patients. Asterisk (*) is significant difference from I, II and III ($p < 0.001$) unpaired Student's t-test.

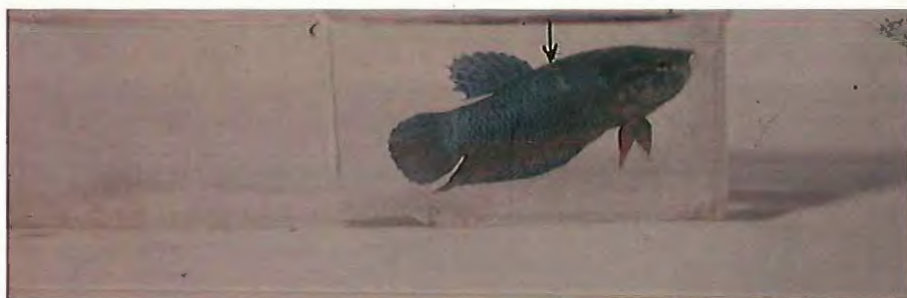


Fig. 2 A small white spot produced by an injection of 50 ul urine sample intramuscularly.
(A patient with Wilm's tumour)



Fig. 3 A large white spot produced by an injection of 50 ul urine sample intermuscularly.
(A patient with neuroblastoma)



Fig. 4 A large white spot with generalized pallor produced by an injection of 50 ul urine sample intramuscularly.
(A patient with bilateral adrenal pheochromocytoma)

from a patient with non-catecholamine secreting tumour (Wilm's tumour).

DISCUSSION

Since neuroblastomas are one of the deadly-disease in childhood; the early the diagnosis, the good prognosis will be made and the life-saving could be accomplished. The catecholamine-secreting tumours have been reported since early nineteen centuries.⁽⁴⁾ The adrenal gland is a major source of plasma and urine catecholamines; the amount of individual catecholamine and their distribution may be useful in the interpretation of the different kinds of tumours.⁽⁵⁾ In comparison to body weight, the adrenal glands are large at birth, weighing 2 to 4 grams each, or 8.2 ± 3.4 grams together. At 10 to 15 years of age, the normal aggregate weight 8.5 grams in boy and 7.5 grams in girls. Whereas, normal adult adrenal glands removed surgically weigh 4.8 ± 0.89 grams in man and 4.1 ± 0.8 grams in woman. After sudden death, the aggregate adrenal weight is 9.2 ± 1.8 grams in the United States. In autopsies in other situations the normal range is 12 to 16 grams, or 0.21 to 0.26 gram/kg body weight.⁽²⁾ It could be seen that the adrenal glands at any ages in both sexes are about the same size.

As it was previously reported that the white spot produced by injection of the urine samples was due to the presence of catecholamines. Time required to finish the reaction of urinary catecholamines in the fish model (the disappearance of the white spot) does not, therefore, differ significantly between the patients under 12 years of age and the

patient under 70 years of age. The results also reflect the function of the adrenal glands which are well-known as a major source of urinary catecholamines. In 12 patients under 12 years of age and 1 patient of 16 years who were suspected to carry catecholamine secreting tumour, the disappearance time of the white spot was markedly delayed. The final diagnosis of these 12 patients was neuroblastoma and that of the 16-year-old patient was bilateral adrenal phaeochromocytoma. The 2 patients out of 12, showed a false negative result which was probably due to the low level of free catecholamines in the large mass of the tumours. The catecholamines appeared to be metabolized inside the tumour masses before entering the circulation and before excreting into the urine.⁽⁶⁾ Furthermore, in patients having brief and infrequent paroxysms with symptom free intervals, confirmation of the diagnosis by a single collection of the urine sample may be insufficient.⁽⁷⁾ These might cause the fish method to yield a false negative result; to overcome this obstacle, the collection of urine sample should be repeated during the symptom period. Therefore, the fish method could help diagnosis of the catecholamine-secreting tumours: neuroblastoma and phaeochromocytoma. In addition, Broadhurst and Briley⁽⁸⁾ have made a conclusion that the assay of catecholamines provides rapid indication of the effect of drugs on neuronal activity and the measurement of in vitro and in vivo neurotransmitter releases could greatly enhance our understanding of neuronal systems and their modulation in vivo. Moreover, Rand⁽⁹⁾ mentioned that bioassay is useful

for measuring the amounts of catecholamines in the pharmacological preparations or in tissue extracts and usually has a higher sensitivity than the conventional chemical or physical methods. The results of the present study are also in accord with the previous report by the author.⁽¹⁾ Therefore, the detection of naturally occurring neurotransmitters, the catecholamines, is worth studying using Siamese fighting fish with a view to screen the normal patient from the patient with high content of catecholamines in urine.

ACKNOWLEDGEMENT

We are grateful to Dr.Chana Sathornkich, Department of Surgery, Siriraj Hospital and Associate Professor Dr.Puangpech Dejapratoomwan, Department of Pharmacology, Faculty of Dentistry Chulalongkorn University for their kind assistance during the period of investigation. We also would like to thank the staff of nurses in the Pediatric Surgery Unit; without their kind cooperation this investigation would not be possible.

REFERENCES

1. Songkittiguna P. A sensitive test for urinary catecholamines: a new model and method. *Journal of the Asean Federation of Endocrine Societies*. 1983; 3:41-46.
2. Sommers SC. Adrenal glands. In Anderson's *Pathology*. Kissane JM ed. St Louis, the C.V. Mosby company. 1985: 1429-1450.
3. Ketusch O, Chenpanich K. Hypothermie beim siamesischen Kampffisch (*Betta Splendens* Regan). *Naunyn-Schmiedeberg's Archives Exp. Pathol. Pharmacol.* Bd. 1963; 246:29-30.
4. Strangl E. Zur Pathologie der Nebenorgane des Sympathicus, *Verh. dtsch. path. ges.* 1902; 5:250-255.
5. Racz K, Kuchel O, Bun, NT. Species differences in the distribution of adrenal free and sulfoconjugated catecholamines. *Journal of Comp. Physiol. B*, 1985; 155: 367-371.
6. Crout JR. Pheochromocytoma. *Pharmacological Reviews*. 1966; 18: 651-657.
7. Goldfien A. Pheochromocytoma, *Clinic in Endocrinology and Metabolism*. 1981; 10: 607-629.
8. Broadhurst, AM. and Mike Briley. Catecholamine and 5-HT synthesis *ex-vivo* as an index of *in-vivo* neuronal activity and regulation. *Trends in Pharmacological Sciences including Toxicological Sciences*. 1988; 9: 349-351.
9. Bowman WC, and Rand MJ. Quantitative evaluation and statistical analysis of drug action. In *Textbook of Pharmacology*. Bowman, W.C. and Rand, M.J. 2nd Ed. Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1980: 41.1-41.48.

ความบริสุทธิ์ของน้ำดื่มน้ำใช้ (ตอนที่ 2 : ทดสอบความบริสุทธิ์ของน้ำฝน)

ประเสริฐ ทรงกิตติคุณ และ ศิริวรรณ พจนารณ

ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย

A STUDY ON WATER PURITY USING ELECTRICAL CONDUCTIVITY

Prasert Songkitiguna and Siriwan Pojanart

Department of Pharmacology, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University,
Bangkok, Thailand

Rain water quality was assessed by the use of an electrical conductivity and its reciprocal resistivity properties of water. Water itself is not a good conductor of electricity ; it is the dissolved impurities which will conduct a current. The theoretical ultra-pure water has a conductivity of 0.05 microsecond/centimetre. The micro-organisms, pH and an electrical conductivity of the rain water from inner area of Bangkok city(Chulalongkorn University campus) were determined during the rainy season in the year 1992 ,1993 and 1994 A.D. The rain water sample in 1993 showed a higer electrical conductivity among the rain water samples of the other years ($P<0.001$). The colonies of micro-organisms were seen in the culture plates of all rain water samples. Each of the rain water samples were slightly acid ; the highest acidity was observed from the rain water sample of the year 1992 ($P<0.001$). The rain water collected from the heavy traffic area is not only contaminated with micro-organisms but also shown to be an acid rain. It is suggested, therefore, that this kind of rain water should not use for drinking.

บทนำ

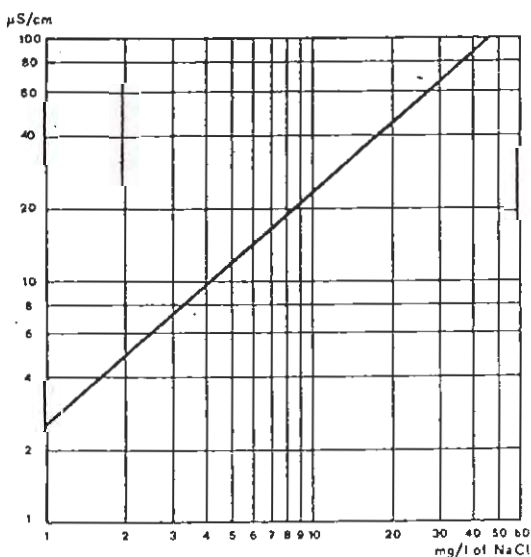
ประเทศไทย มีปริมาณฝนและแหล่งน้ำธรรมชาติ เพียงพอกับการบริโภค เกษตรกรรมผลิตไฟฟ้าตลอดมา เริ่มมีการขาดแคลนน้ำดิบสำหรับผลิตไฟฟ้าและน้ำประปาในฤดูร้อน ปี ค.ศ.1994 การขาดแคลนน้ำประปาทำให้ประชาชนส่วนใหญ่ของกทม. ต้องใช้น้ำฝนบริโภคโดยขาดข้อมูลที่น้ำฝนในกทม. มีคุณภาพดีเพียงพอที่จะใช้บริโภค องค์การอนามัยโลกกล่าวว่า 'CLEAN WATER MEANS BETTER HEALTH' ⁽¹⁾ น้ำดื่มที่ใช้ที่ไม่สะอาดนำเชื้อโรคมามากมายมาสู่มนุษย์ อาทิเช่น ไทฟอยด์ อหิวาตกโรค บิด ตับอักเสบจากไวรัส น้ำใช้สำหรับสระว่ายน้ำมีเชื้อไวรัสทำให้เกิดตาอักเสบได้ (adenovirus conjunctivitis) น้ำจากลำคลองหนองบึงจากภูเขา น้ำตกมีเชื้อ จุลินทรีย์ เชื้อราและเชื้อหมัก (yeasts) พวกสัตว์เซลล์เดียว (อะมีบา) ⁽²⁾ นอกจากนี้ น้ำละลายสารเคมีก่อมะเร็งที่ยากแก่การกำจัดออกจากน้ำ คือพวกไนเตรท (nitrates) ⁽³⁾ ยาฆ่าแมลงเป็นสารอินทรีย์ ที่มีพิษสะสมในร่างกายมนุษย์และสัตว์ นอกจากนี้ยังสารอินทรีย์อื่นๆ อีกมากมาย เช่น ออกไซด์ของกำมะถัน (SO_2) เป็นสารสำคัญก่อให้เกิดฝนกรด (acid rain) โดยทั่วไปคาดกันว่าน้ำฝนเป็นน้ำบริสุทธิ์เหมาะสมสำหรับใช้บริโภค โดยปราศจากหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ องค์การอนามัยโลก (WHO) รายงานในการประชุม The Mardel Plaza Water Conference ปี ค.ศ. 1977 รายงานว่าประชากรโลกมากกว่า 1000 ล้านคนบริโภคน้ำดื่มที่ไม่ปลอดภัยและได้ประกาศศวรรษแห่งน้ำดื่มที่ถูกสุขลักษณะ (An International Drinking-Water Supply and Sanitation Decade) ค.ศ. 1981-1990 ⁽⁴⁾ ฉะนั้นจึงควรศึกษาคุณภาพของน้ำฝน โดยการวัดค่าสื่อไฟฟ้า (electrical conductivity) ความเป็นกรดเป็นด่าง การเพาะเชื้อเพื่อนำไปสู่ข้อควรระวังในการบริโภค น้ำฝนเป็นจุดมุ่งหมายการรายงานผลการวิจัยนี้

วัสดุและวิธีการ

การเก็บตัวอย่างน้ำฝนด้วยกล่องพลาสติก (PCC 14 DR U.S.A.) ขนาด 50 ซีซี พร้อมฝาปิดสนิททำความสะอาดด้วยน้ำยาล้างจาน และล้างด้วยน้ำประปา แล้วแช่น้ำยาคลอรีน 5% 20 นาที นำออกมาล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง ทิ้งแห้ง ปิดฝาสนิทพร้อมนำไปบรรจุตัวอย่างน้ำฝน

น้ำฝน หลังจากฝนตกประมาณ 1 ซม. นำกล่องพลาสติกที่เตรียมไว้รองรับน้ำฝนในที่กลางแจ้งเรียกว่า น้ำฝนกลางหาว เก็บตัวอย่างน้ำฝนที่บริเวณจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปทุมวัน กทม.

1. การวัดความบริสุทธิ์ของน้ำ ใช้เครื่องมือ Pure Water Test (Hanna Instruments) ซึ่งใช้หลักน้ำบริสุทธิ์เป็นสื่อไฟฟ้าที่เร็ว เรียกว่า Poor electrical conductivity กรณีนำน้ำไฟฟ้าได้แสดงว่ามีสารปนเปื้อนคือ เกลือ กรด และโลหะต่างๆ เช่น ตะกั่ว โปรท ถ่าน (carbon) และอื่นๆ



รูปที่ 1 แสดงกราฟการเปลี่ยน electrical conductivity เป็น NaCl equivalent

วิธีใช้เครื่องมือ จุ่มเครื่องมือลงในตัวอย่างที่ต้องการวัดตัวเลขเริ่มขึ้นจาก 0.01 ถึง 99.9 uS/cm หน่วยนี้สามารถเปลี่ยนเป็น mg/L ของ NaCL ได้โดยกราฟ (ดูรูปที่ 1) กรณีเครื่องมือดกสเกลเกิน 99.9 uS/cm) เนื่องจากน้ำมีสารเจือปนสูง ทำการเจือจางน้ำตัวอย่างด้วยกล่องพลาสติกเติมน้ำกลั่นลงในแต่ละกล่องให้เป็นจำนวนรวมทั้งหมด 20 ซีซี

2. วัดความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ด้วยเครื่อง Precision pH/Ion Meter (ecm 201)

วัดความเป็นกรด เป็นด่าง ที่อุณหภูมิห้อง 20°C หลังจากตั้งเครื่อง และทดสอบด้วยน้ำยามาตรฐาน (buffer solution) ที่ pH4 pH7 และ pH10 (อยู่ในช่วงห่างกัน 3) นำตัวอย่างน้ำที่ต้องการวัดเก็บไว้ในห้อง 20°C ไม่ต่ำกว่า 1 ชม. เพื่อความเที่ยงตรง และใช้เวลาวัดไม่เกิน 3 นาที ต่อ 1 ตัวอย่างน้ำ

3. เพาะเชื้อจากตัวอย่างน้ำ

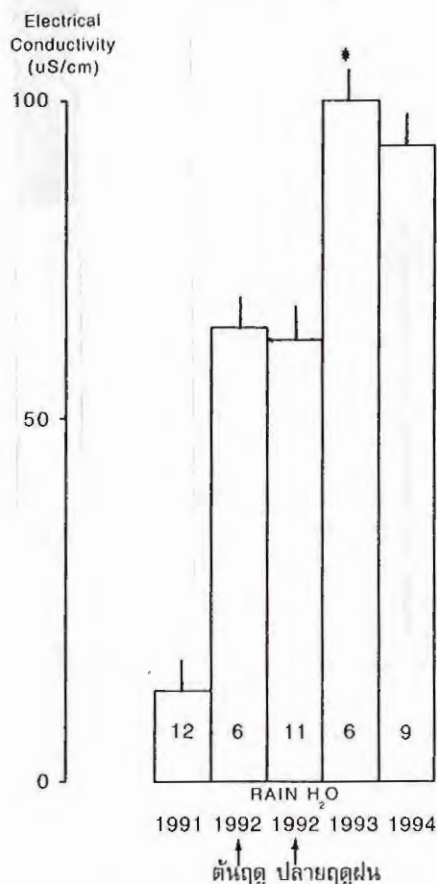
เพาะเชื้อด้วยวิธี streaking ใช้ฟลาตินัมลูป (platinum loop) นำตัวอย่างน้ำลงไปเลี้ยงเชื้อใน ก) ด้วยอะการ์ (agar plate) และ ข) อะการ์ผสมเลือด (blood agar plate) อบที่ 37°C ดูผลทุก 24 ชม. เป็นเวลา 72 ชม.

ผลการทดลอง

1. ค่าการนำไฟฟ้า (Electrical conductivity)

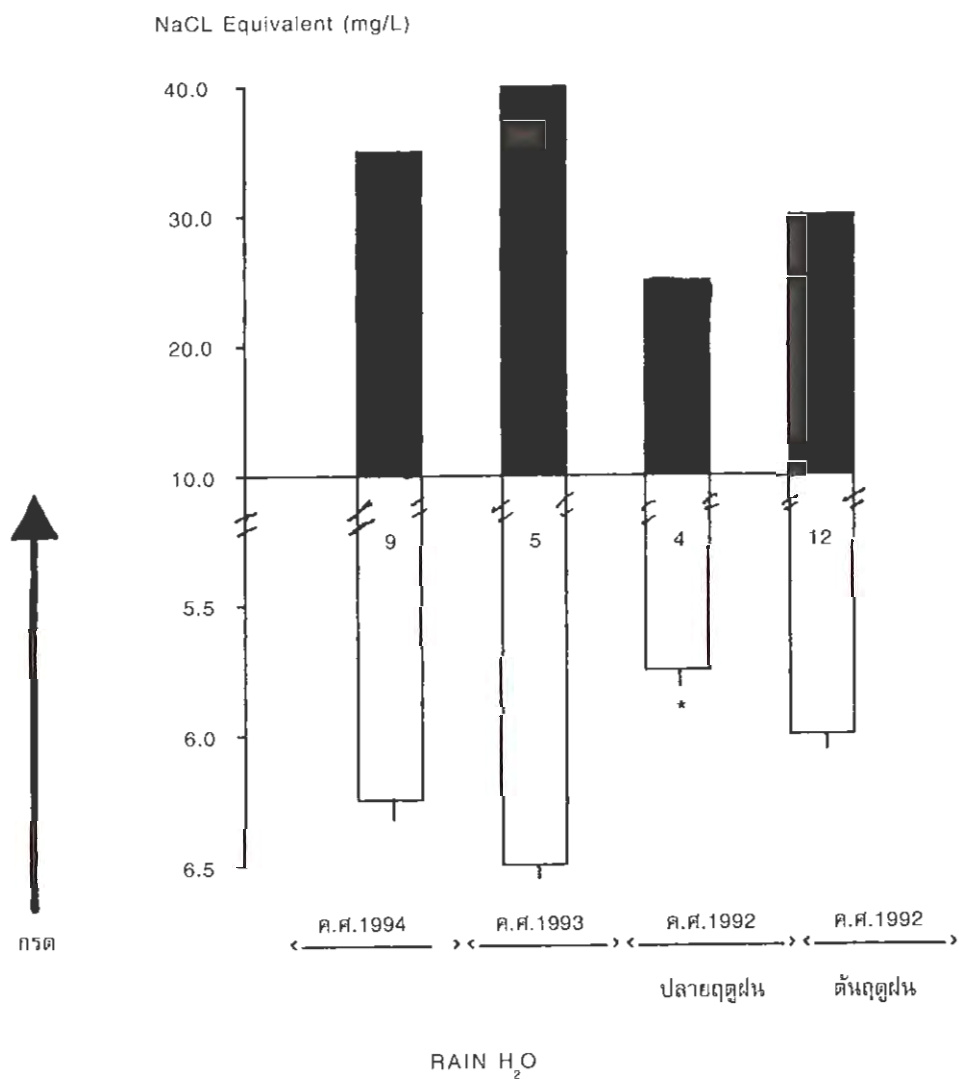
ค่าการนำไฟฟ้าของน้ำฝน เก็บตัวอย่าง ปี ค.ศ.1991 และเก็บตัวอย่างต้นฤดูฝน ค.ศ.1992 มีค่า 8.39 ± 0.60 และ 67.90 ± 0.75 uS/cm ตามลำดับ เปรียบเทียบได้กับค่าการนำไฟฟ้าของ NaCL 5.0 mg/L และ 30.0 mg/L ตามลำดับ เป็นข้อมูลที่ได้จากการรายงานครั้งแรกของผู้วิจัยในวารสารทันตแพทยศาสตร์ ปีที่ 15 ฉบับที่ 2 หน้า 69-77 (ค.ศ.1992) สำหรับตัวอย่างน้ำฝนเก็บตัวอย่างปลายปี ค.ศ.1992 มีค่าการนำไฟฟ้า 64.12

± 5.89 uS/cm (เปรียบเทียบเป็น NaCL 28.0 mg/L) ปี ค.ศ. 1993 วัดได้ค่าการนำไฟฟ้า 94.93 ± 0.92 uS/cm (เปรียบเทียบเป็น NaCL 40.0 mg/L) ปี ค.ศ.1994 ตัวอย่างน้ำฝนมีค่าการนำไฟฟ้า 82.61 ± 2.39 uS/cm (เปรียบเทียบเป็น NaCL 35.0 mg/L) (ตารางที่ 1 รูปที่ 2 และ รูปที่ 3)



- Note 1. Stars represent significant level from the rain water of the year 1994, 1992, 1991 and 1991 (late) ($P < 0.001$) (unpaired Student t-test)
2. The numbers at the base of histograms refer to the number of experiments performed.
3. The vertical bars represent standard error of means (S.E.M.)

รูปที่ 2 เปรียบเทียบค่าการนำไฟฟ้า (Electrical Conductivity) ของน้ำฝน ทดสอบระหว่างปี ค.ศ. 1991-ค.ศ. 1994



Note 1. Stars represent significant level Form the Others (* P<0.025, ** P<0.001) unpaired student t-test.

2. The numbers at the base of hisograms refer to the number of experiments performed.

3. The open columns = pH

4. The solid columns = NaCL Equivalent (mg/L)

5. The vertical bars represent standard error of means (S.E.M.)

รูปที่ 3 เปรียบเทียบความเป็นกรด-ด่าง (pH) และ NaCL Equivalent

ตารางที่ 1 แสดงผลการวัด electrical conductivity pH และ NaCl equivalent ของน้ำฝน

Rain H ₂ O	Water Purity Test		
	Electrical Conductivity (uS/cm)	pH	NaCL Equivalent (mg/L)
ค.ศ. 1991 *	8.39 ± 0.60 (n=12)	-	5.0
ค.ศ. 1992 * (ต้นฤดูฝน)	67.90 ± 0.75 (n=6)	5.99 ± 0.036 (n=12)	30.0
ค.ศ. 1992 (ปลายฤดูฝน)	64.12 ± 5.89 (n=11)	5.63 ± 0.140 ** (n=4)	28.0
ค.ศ. 1993	94.93 ± 0.92 * (n=6)	6.40 ± 0.130 (n=5)	40.0
ค.ศ. 1994	82.61 ± 2.39 (n=9)	6.53 ± 0.060 (n=9)	35.0

Note *ข้อมูลจาก C.U. Dent J. 15(2) 1992,69-77.

**Stars represent significant level from the other rain water samples

(P<0.05-0.001, unpaired Student t-test)

uS/cm = microsecond per centimetre

mg/l = milligramme per litre

2. ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)

ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำฝนต้นฤดูฝน ปี ค.ศ.1992 และปลายฤดูฝน ปี ค.ศ.1992 มีค่าความเป็นกรดใกล้เคียงกัน ของปี ค.ศ.1992 มีค่าเท่ากับ 5.99 ± 0.036 ส่วนของปลายปี ค.ศ.1992 มีค่าเท่ากับ 5.63 ± 0.14 ค่าความเป็นกรดของน้ำ

ฝนทั้งของปี ค.ศ.1993 และของปี ค.ศ.1994 มีค่าความเป็นกรดลดลงทั้งสองปีและมีค่าใกล้เคียงกัน ค่าความเป็นกรดของน้ำฝนปี ค.ศ.1993 มีค่าเท่ากับ 6.40 ± 0.13 ของปี ค.ศ. 1994 มีค่าเท่ากับ 6.53 ± 0.06 (ตารางที่ 1 และรูปที่ 3)

3. การเพาะเชื้อ

ผลการเพาะเชื้อตัวอย่างน้ำฝนต้นฤดูฝนปี ค.ศ. 1992 ด้วยอะการ์ (agar plate) ไม่พบเชื้อขึ้นเมื่อ บ่มเชื้อในตู้อบนาน 24 และ 48 ชม. แต่พบเชื้อขึ้น น้อยกว่า 10 โคโลนี เมื่อบ่มเชื้อนานเป็นเวลา 72 ชม. ส่วนการเพาะเชื้อด้วยอะการ์ผสมเลือด (blood agar plate) ไม่มีเชื้อขึ้น ทั้งระยะเวลาบ่มเชื้อ 24 48 และ 72 ชม.

น้ำฝน ปี ค.ศ.1993 เพาะเชื้อด้วยอะการ์หรือ อะการ์ผสมเลือดหลังจากบ่มเชื้อ 24 ชม. ไม่พบมี เชื้อขึ้น แต่เชื้อเริ่มขึ้นเป็นจำนวนน้อยกว่า 30 โคโลนี เมื่อบ่มเชื้อครบ 48 ชม. และเมื่อครบระยะบ่มเชื้อ 72

ชม. จำนวนโคโลนีของเชื้อเพิ่มมากขึ้นอีก แต่ไม่เกิน 40 โคโลนี ทั้งอะการ์ธรรมดาและอะการ์ผสมเลือด

น้ำฝน ปี ค.ศ.1994 หลังจากบ่มเชื้อด้วยตัว อย่างน้ำฝนเป็นเวลา 24 ชม. ไม่พบโคโลนีของเชื้อทั้ง ในอะการ์ และอะการ์ผสมเลือด แต่หลังจากบ่มเชื้อ ต่อไปอีกเป็นเวลาทั้งหมด 48 ชม. พบจำนวนโคโลนี เพิ่มขึ้นแต่จำนวนโคโลนีนับได้ไม่เกิน 40 โคโลนี ทั้ง ในอะการ์ และอะการ์ผสมเลือด หลังจากบ่มเชื้อครบ 72 ชม. จำนวนโคโลนีของเชื้อเพิ่มมากขึ้นกว่า 40 โคโลนี ทั้งในอะการ์ธรรมดา และอะการ์ผสมเลือด (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ผลการเพาะเชื้อด้วยวิธี Streaking plate 24,48 และ 72 ชั่วโมง

	ผลการเพาะเชื้อ					
	Agar plate			Blood agar plate		
	24 ชม.	48 ชม.	72 ชม.	24 ชม.	48 ชม.	72 ชม.
น้ำฝน ค.ศ. 1992 (ต้นฤดูฝน)	-	-	+	-	-	-
น้ำฝน ค.ศ. 1993	-	++	+++	-	++	+++
น้ำฝน ค.ศ. 1994	-	+++	++++	-	+++	++++

- = ไม่มีโคโลนี

+ = มีเชื้อขึ้น 1-10 โคโลนี

++ = มีเชื้อขึ้น 11-30 โคโลนี

+++ = มีเชื้อขึ้น 31-40 โคโลนี

++++ = มีเชื้อขึ้นมากกว่า 40 โคโลนี

สรุปและวิจารณ์ผล

สมัยเดิมคนไทยยอมรับว่าน้ำฝนสะอาดเหมาะสมสำหรับใช้ดื่ม ต่อมาจามีรายงานจากการศึกษาตัวอย่างน้ำฝนในบริเวณ กทม. และจากย่านอุตสาหกรรม (บริเวณสำโรง) พบว่าน้ำฝนมีแนวโน้มที่จะเป็นกรดเล็กน้อย และการศึกษาทัศนคติของประชาชนพบว่าปริมาณการใช้น้ำฝนในการบริโภคมีแนวโน้มลดลง⁽⁵⁾ มีรายงานว่าพบเชื้อแบคทีเรียในน้ำฝนที่เก็บในที่แจ้งบริเวณ อำเภอปากเกร็ด จังหวัดนนทบุรี นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำฝนนี้มีความเป็นกรดและความเป็นกรดอยู่ในระดับความเข้มข้นที่สามารถละลายเคลือบฟันได้⁽⁶⁾ ปัจจุบันวงการวิทยาศาสตร์ระดับโลกให้ความสำคัญและสนับสนุนการวิจัยเกี่ยวกับสิ่งแวดล้อมเป็นอย่างมาก ได้จัดให้มี Environmental Protection Agency (EPA) และมีการสนับสนุนการวิจัยทั้งด้านการเงินและนักวิทยาศาสตร์⁽⁷⁾ สภาวะของสิ่งแวดล้อม ซึ่งผลไปถึงคุณภาพของอากาศ น้ำ โดยเฉพาะในเมืองใหญ่ที่มีประชากรหนาแน่น และมีโรงงานอุตสาหกรรม รวมทั้งภัยธรรมชาติ เช่น การระเบิดของภูเขาไฟไฟใหม่ป่า⁽⁸⁾ และการเผาไหม้ในสงครามอ่าวเปอร์เซีย⁽⁹⁾ ผลการทดลองหาค่าความเป็นกรด-ด่าง พบว่าน้ำฝนเก็บตัวอย่างปลายปี ค.ศ.1992 มีความเป็นกรดสูงสุดเทียบกับตัวอย่างน้ำฝนต้นปี ค.ศ.1992 ปี ค.ศ.1993 และ ค.ศ.1994 การเป็นกรดของน้ำฝนเพิ่มขึ้นเป็นระยะเวลาใกล้เคียงกับการระเบิดของภูเขาไฟปินาตูโบ (Mount Pinatubo) ประเทศฟิลิปปินส์ ปล่องสารเคมี ก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (SO_2) อยู่ทั่วไปในไอน้ำของชั้นบรรยากาศ (atmosphere) และคงอยู่เป็นเวลานาน 1-2 ปี⁽¹⁰⁾ ก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์รวมกับน้ำจะกลายเป็นกรดกำมะถัน (H_2SO_4) กรดกำมะถันเป็นกรดแก่และมีความคงตัว ประกอบกับประเทศไทยตั้งอยู่ไม่ไกลประเทศฟิลิปปินส์ ส่งผลให้น้ำฝนในประเทศไทยมีความเป็นกรด ประกอบกับมีรายงานพบเชื้อจากการระเบิดของภูเขาไฟดังกล่าวในประเทศลิงคโปร และภาคใต้ของประเทศไทยอีกด้วย นอกจากนี้

นี้ยังมีสารเคมีอื่นๆ เช่นคลอรีนก๊าซ เมื่อรวมกับไอน้ำในอากาศจะกลายเป็นกรดได้เช่นกัน แต่ปริมาณของคลอรีนออกมาจากภูเขาไฟปินาตูโบมีปริมาณไม่มากนัก⁽¹⁰⁾ อีกประการหนึ่งคลอรีนก๊าซละลายน้ำแล้วกลายเป็นกรด HClO ซึ่งสลายตัวได้ง่าย ฉะนั้นภาวะความเป็นกรดของน้ำฝนจึงน่าจะเกิดจากกรดกำมะถันและ CO_2 และ SO_2 จากน้ำมันรถยนต์และเหมืองถ่านหิน ถ้าใช้น้ำฝนที่มีฤทธิ์เป็นกรดดื่มเป็นประจำอาจมีผลต่อเคลือบฟัน ส่งผลให้ฟันผุได้ง่าย ดังกล่าวข้างต้น

ทั้งการเพาะเชื้อจุลินทรีย์หรือการจำแนกเชื้อจุลินทรีย์จากตัวอย่างน้ำฝน ยังไม่มีรายงานจากต่างประเทศ รายงานนี้เป็นรายงานภายในประเทศไทย ครั้งที่สองจากผู้วิจัยกลุ่มเดียวกัน ผลการวิจัยพบจำนวนโคโลนีเพิ่มมากขึ้นทุกปี เริ่มตั้งแต่ ปี ค.ศ.1992 ถึงปี ค.ศ.1994 ยอมรับกันว่ามีเชื้อจุลินทรีย์ในอากาศ (airborne particulate contamination)⁽¹¹⁾ เชื้อจุลินทรีย์จะเกาะติดกับอนุภาคของฝุ่นละอองในอากาศ ขณะเก็บตัวอย่างน้ำฝนกลางแจ้ง (ไม่ผ่านสิ่งรองรับเช่นหลังคาบ้าน) มีบางส่วนของฝุ่นละอองที่ปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์เข้ามาปะปนอยู่ในตัวอย่างน้ำฝน ค่าสื่อการนำไฟฟ้า (electrical conductivity) ของตัวอย่างน้ำฝน ปี ค.ศ.1993 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) จากตัวอย่างน้ำฝนปี ค.ศ.1994 ซึ่งมีค่าประมาณ 10 เท่า ของค่าสื่อการนำไฟฟ้าของตัวอย่างน้ำฝนปี ค.ศ.1991 เหตุที่ค่าการนำไฟฟ้าเพิ่มขึ้นเนื่องจากมีสิ่งปนเปื้อนละลายอยู่ในน้ำคือ เชื้อจุลินทรีย์ (contaminated microorganisms)⁽¹²⁾ นอกจากนี้รายงานถึงสารพวกไนเตรทปะปนในอนุภาคของไอน้ำในก้อนเมฆในชั้นบรรยากาศของโลก⁽¹³⁾ จากผลการทดลองเป็นที่แน่ชัดว่า ตัวอย่างน้ำฝนบริเวณจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย นับว่าเป็นบริเวณที่มีความหนาแน่นทั้งรถยนต์และผู้คนอาจจะเป็นตัวอย่างของพื้นที่ที่มีสิ่งปนเปื้อนสูง ดังนั้นน้ำฝนบริเวณดังกล่าวไม่เหมาะสมที่จะใช้บริโภคนอกจากจะมีความเป็นกรดแล้ว ยังมีเชื้อจุลินทรีย์ สิ่งที่ควรทำการวิจัย

ต่อไปคือวิเคราะห์แยกเชื้อและทดสอบการก่อโรคของเชื้อที่แยกได้ในสัตว์ทดลอง หลักฐานความเป็นกรดของน้ำฝน เกิดจากการจางจางและสิ่งแวดล้อมมีรายงานในประเทศอังกฤษ ซึ่งเป็นประเทศอุตสาหกรรมเช่นเดียวกัน⁽¹⁴⁾

เอกสารอ้างอิง

1. พัฒน์ สุจำนงค์ : คำขวัญขององค์การอนามัยโลก สารานุกรมสาธารณสุขสำหรับแพทย์และพยาบาล สำนักพิมพ์แพรววิทยา 716-718 วัชรบุรพา กรุงเทพฯ 2531 หน้า 504.
2. Alcama, I.E. : Microbiology of Water. In : Fundamental of Microbiology. Edited by Alcama, I.E., Addison-Wesley Publishing Company, Massachusetts, PP. 752-783, 1984.
3. Murphy, A.P. : Chemical removal of nitrate from water. Nature, 350:223-224, 1991.
4. Chief, Office of Publication : A Challenge to Developing Countries :the International Drinking-Water Supply and Sanitation Decade, 1981-1990. WHO Chronicle. 34 : 327-331, 1980.
5. วรวิทย์ ชีวาภรณ์วัฒน์ สิริโสภาคย์ บุรพา-เดชะ และ ธาธี หิรัญศรี : โครงการศึกษาคุณภาพน้ำฝนในเขตกรุงเทพมหานคร. รวมบทความผลงานวิจัย ตั้งแต่ปี 2518-2525. หน้า 75 จัดทำโดยสถาบันวิจัยสภาวะแวดล้อม จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ธันวาคม 2525.
6. ประเสริฐ ทรงกิตติคุณ และไกรวัล วัดตูม : ความบริสุทธิ์ของน้ำดื่มที่ใช้. วารสารทันต-แพทยศาสตร์ 15 : 69-78, 2535.
7. Marshall, E. : Science and science advice in favor at EPA. Science. 255:1540, 1992.
8. Katsoulis, B.D. and Tsangaris, J.M. : The state of the Greek environment in recent years. AMBIO, A Journal of the human environment. 23:274-279, 1994.
9. Earle, S.A. : Persian gulf pollution, assessing the damage one year later. National Geographic. 181 : 122-134, 1992.
10. Brasseur, G. and Granier, C.: Mount Pinatubo aerosols, chlorofluorocarbons, and ozone depletion. Science. 257:1239-1242, 1992.
11. Thornton, R.M.: Pharmaceutically sterile clean rooms. Pharmaceutical technology. February 1990 : 44-48, 1990.
12. King, S.: Quality issues in the laboratory- buying what you want. Medical Horizons. 4:21-23, 1990.
13. Worsnop, D.R. : Vapor pressures of solid hydrates of nitric acid : Implications for polar stratospheric clouds. Science. 259 : 71-74, 1993.
14. Griffin, T. : Transport and Environment : Acidity deposit in rain 1986. In : Social trends. Edited by her Majesty's Stationery Office. A Publication of the Government Statistical Service, London, 18:PP. 145-155, 1988.

บทบาทของกรรมพันธุ์ต่อการเปลี่ยนแปลงยาและสารเคมี

พ.อ. ทศนัย สุริยจันทร์

ภาควิชาเภสัชวิทยา วิทยาลัยแพทยศาสตร์พระมงกุฎเกล้า
ถนนราชวิถี กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย

บทนำ

กระบวนการที่ร่างกายเปลี่ยนแปลงยาและสารเคมี (xenobiotic metabolism) มีความสำคัญต่อระยะเวลาและความรุนแรงในการออกฤทธิ์หรือความเป็นพิษของยาและสารเคมี มีปัจจัยหลายอย่างที่มีผลต่อกระบวนการดังกล่าว ซึ่งอาจแบ่งเป็น 2 พวกใหญ่ๆ คือ ปัจจัยภายใน ได้แก่ ชนิดของสัตว์ กรรมพันธุ์ อายุ เพศ ฮอร์โมน การตั้งครรภ์และการเป็นโรค ส่วนปัจจัยภายนอก ได้แก่ โภชนาการ และสิ่งแวดล้อม⁽¹⁾

บทความนี้จะกล่าวถึงบทบาทของกรรมพันธุ์ต่อการเปลี่ยนแปลงยาและสารเคมีต่างๆ ซึ่งจะมีผลต่อผลการรักษาหรือความเป็นพิษของยา รวมทั้ง

ความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดโรคหรือภาวะผิดปกติบางอย่างในผู้ที่มีอัตราการเปลี่ยนแปลงยาและสารเคมีแตกต่างกัน

ปฏิกิริยาเคมีที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงยาและสารเคมี

ยาและสารเคมีถูกเปลี่ยนแปลงโดยปฏิกิริยาเคมีต่างๆ ปฏิกิริยาเหล่านี้ถูกควบคุมโดยเอนไซม์ ซึ่งส่วนใหญ่พบในตับ แต่อาจพบในอวัยวะอื่นๆ ด้วยเช่น ปอด ไต ลำไส้ และผิวหนัง เป็นต้น⁽¹⁾ การเปลี่ยนแปลงยาและสารเคมีแบ่งได้เป็น 2 ระยะ คือระยะที่หนึ่ง (phase I) และระยะที่สอง (phase II) ปฏิกิริยาเคมีที่พบในระยะทั้งสองแสดงในตาราง ที่ 1

ตารางที่ 1 ปฏิกิริยาเคมีที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงยาและสารเคมี

ระยะที่ 1	ระยะที่ 2
Oxidation	Glucuronidation/glucosidation
Reduction	Sulfation
Hydrolysis	Methylation
Hydration	Acetylation
Dethioacetylation	Amino acid conjugation
Isomerization	Glutathione conjugation

บทบาทของกรรมพันธุ์ต่อการเปลี่ยนแปลงยาและสารเคมีในระยะที่หนึ่ง

ปฏิกิริยาเคมีที่มีความสำคัญมากต่อการเปลี่ยนแปลงยาและสารเคมีในระยะที่หนึ่ง คือ oxidation ระบบเอนไซม์ที่มีบทบาทในการควบคุมปฏิกิริยานี้ คือ ซัยโตโครม พี450 (cytochrome P450; CYP) ปัจจุบันมีการค้นพบยีนที่ควบคุมการสร้างซัยโตโครม พี450 ถึง 221 ชนิด⁽²⁾ ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ยีนเหล่านี้แบ่งได้เป็น 12 วงศ์

(family) และ 22 วงศ์ย่อย (subfamily) ในคนพบ 17 วงศ์ย่อยของยีนที่ควบคุมการสร้างซัยโตโครม พี450⁽²⁾ นอกจากนี้ในวงศ์ย่อยของซัยโตโครม พี450 หลายชนิด ยังแบ่งเป็นรูปต่างๆ (form) ของซัยโตโครมแต่ละตัว (ตารางที่ 2) ทำให้มีซัยโตโครม พี450 มากมายหลายชนิดที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงยาและสารเคมี โดยเฉพาะสมาชิกของวงศ์ที่ 1-3 สมาชิกในวงศ์อื่นๆ มักทำหน้าที่เกี่ยวกับการสังเคราะห์สารพวกสเตียรอยด์และกรดน้ำดี^(2,3)

ตารางที่ 2 วงศ์ของซัยโตโครม พี450 ในคน

วงศ์	วงศ์ย่อย	รูป	โครโมโซมที่มียีนควบคุมการสร้างซัยโตโครม
CYP1	A	1, 2	15
CYP2	A	6, 7	19
	B	6, 7P	19
	C	8, 9, 17, 18, 19	10
	D	6, 7P, 8P	22
	E	1	10
	F	1	19
CYP3	A	3, 4, 5, 7	7
CYP4	A	9, 11	1
	B	1	1
	F	2, 3	
CYP5			
CYP7			8
CYP11	A	1	15
	B	1, 2	8
CYP17			10
CYP19			15
CYP21	A	1P, 2	6
CYP27			2

การศึกษาเกี่ยวกับบทบาทของกรรมพันธุ์ต่อการเปลี่ยนแปลงยาโดยปฏิกิริยา oxidation มักทำโดยให้ยาพวก debrisoquine, sparteine หรือ metoprolol ในอาสาสมัคร⁽⁴⁻⁶⁾ แล้วหาค่า metabolic ratio (MR) ในปัสสาวะหลังให้ยาครั้งเดียวไปแล้ว 8 ชม. MR คืออัตราส่วนระหว่างความเข้มข้นของยากับความเข้มข้นของสารที่ได้จากการเปลี่ยนแปลงยานั้น (metabolite) สำหรับ debrisoquine และ metoprolol ผู้ที่มีค่า MR สูงกว่า 12.6 แสดงว่าเปลี่ยนแปลงยาทั้งสองได้น้อย จัดเป็นพวก poor metabolizer (PM) ส่วนผู้ที่มีค่า MR ต่ำกว่า

12.6 เป็น extensive metabolizer (EM) สำหรับ sparteine PM มีค่า MR สูงกว่า 20⁽⁶⁻⁸⁾

ระบบเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงยาเหล่านี้คือ CYP2D6 ซึ่งถูกควบคุมโดยยีนที่อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 22⁽⁹⁾ ใน PM พบว่ามีความผิดปกติของยีนดังกล่าว ทำให้ระดับของเอนไซม์ลดลงมาก จึงเปลี่ยนแปลงยาและสารเคมีได้น้อย⁽¹⁰⁾ ความผิดปกตินี้ถ่ายทอดได้ทางกรรมพันธุ์แบบ autosomal recessive พบ PM ประมาณร้อยละ 5-9 ในคนผิวขาว สำหรับชาวตะวันตกพบประมาณร้อยละ 0-2 (ตารางที่ 3)⁽¹¹⁻¹³⁾

ตารางที่ 3 ความผิดปกติในการเปลี่ยนแปลง debrisoquine และ mephenytoin ในคนเชื้อชาติต่างๆ

เชื้อชาติ	ความถี่ของผู้เปลี่ยนแปลงยาได้น้อย (%)	
	Debrisoquine	Mephenytoin
<i>คนตะวันตก</i>		
จีน	1	17
ญี่ปุ่น	0	18-23
ไทย	1.2	-
มาเลเซีย	2.1	-
<i>คนผิวขาว</i>		
แคนาดา	7.5	4
เดนมาร์ก	7	3
ฝรั่งเศส	7.6	6
สวีเดน	5.4	3
สหรัฐอเมริกา	7	3
อังกฤษ	9	4

จาก (11-13)

มียาอื่นๆ อีกประมาณ 30 ชนิด ที่ถูกเปลี่ยนแปลงโดย CYP2D6⁽¹⁴⁾ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นยาระบบหัวใจและหลอดเลือด และยาที่ออกฤทธิ์ต่อจิตประสาท (ตารางที่ 4) ยาดังกล่าวมีความสำคัญทางคลินิก

ผู้ที่ เป็น PM ของ debrisoquine หรือ metoprolol จะเปลี่ยนแปลงยาดังกล่าวได้น้อยด้วย จึงอาจมีผลต่อผลการรักษาและอาการอันไม่พึงประสงค์ของยา ซึ่งจะได้กล่าวต่อไป

ตารางที่ 4 ยาที่ถูกเปลี่ยนแปลงโดย CYP2D6

ยาระบบหัวใจและหลอดเลือด

<u>Antiarrhythmics</u>	<u>Beta blockers</u>	<u>Antihypertensives</u>
Encainide	Bufuralol	Debrisoquine
Flecainide	Metoprolol	Guanoxan
Mexiletine	Propranolol	Indoramin
Propafenone	Timolol	
N-propylajmaline		
Sparteine		

ยาออกฤทธิ์ต่อจิตประสาท

<u>Neuroleptics</u>	<u>Tricyclic anti-depressants & related agents</u>	<u>MAO inhibitors</u>
Fluphenazine	Amitriptyline	Amiflamine
Perphenazine	Clomipramine	Methoxyphenamine
Thioridazine	Desipramine	
Trifluoperidol	Imipramine	
	Nortriptyline	
	Tomoxetine	

ยาอื่นๆ

Codeine
Dextromethorphan
Methoxyamphetamine
Perhexilene
Phenformin

จาก (14)

ยาอีกชนิดหนึ่งที่นิยมใช้ในการศึกษาอิทธิพลของกรรมพันธุ์ต่อการเปลี่ยนแปลงยา คือ mephenytoin ซึ่งเป็นยาระงับชัก มีสูตรโครงสร้างคล้าย phenytoin แต่ยานี้ไม่ค่อยได้รับความนิยม เพราะให้ผลในการรักษาไม่แน่นอนและทำให้เกิดอาการพิษบางอย่าง เช่น ความผิดปกติของระบบเลือดได้บ่อย

กว่า phenytoin^(11,15) mephenytoin ที่ใช้เป็นส่วนผสมของ S- และ R-enantiomer รูปแบบทั้งสองของยาถูกเปลี่ยนแปลงโดยปฏิกิริยา p-hydroxylation และ N-demethylation⁽¹⁶⁾ แต่ S-enantiomer ถูกเปลี่ยนแปลงโดยปฏิกิริยา p-hydroxylation เป็นส่วนใหญ่ โดยมีไซโครโครมในกลุ่ม 2C เป็นตัว

ควบคุม คุณสมบัติของยีนโครโมโซมนี้ยังไม่ทราบแน่ชัด จึงยังไม่ได้กำหนดว่าเป็นรูปใด* สำหรับ R-enantiomer ถูกเปลี่ยนแปลงโดยปฏิกิริยา N-demethylation เป็นสำคัญ การเปลี่ยนแปลง mephenytoin มี stereoselective กล่าวคือ EM จะเปลี่ยนแปลง S-enantiomer ได้ อย่างรวดเร็ว และสมบูรณ์ แต่จะเปลี่ยนแปลง R-enantiomer ได้ช้า ใน PM การเปลี่ยนแปลง S-enantiomer โดยปฏิกิริยา p-hydroxylation เกิดขึ้นน้อยมาก ทั้ง S- และ R-enantiomer ถูกเปลี่ยนแปลงโดยปฏิกิริยา N-demethylation ได้พอๆกัน จึงมีความเข้มข้นในเลือดของยาทั้ง 2 รูปแบบใกล้เคียงกัน⁽¹⁶⁾ จากข้อมูลดังกล่าว จึงได้นำมาใช้ในการกำหนดลักษณะปรากฏ (phenotype) ของการเปลี่ยนแปลง mephenytoin โดยหาอัตราส่วนระหว่างความเข้มข้นของ S- และ R-enantiomer ในปัสสาวะของอาสาสมัครหลังให้ยาทางปากไปแล้ว 8 ชม. ใน PM อัตราส่วนนี้มีค่าประมาณ 1 ใน EM มีค่าน้อยกว่า 1 พบ PM ในชาวตะวันออกประมาณร้อยละ 20 ในคนผิวขาวพบประมาณร้อยละ 4 (ตารางที่ 3)

ความสำคัญทางคลินิกของความแตกต่างกันในการเปลี่ยนแปลง mephenytoin ยังไม่ทราบแน่ชัด แต่เป็นที่น่าสังเกตว่านอกจาก mephenytoin แล้ว ยังมียาอีกหลายชนิดที่ถูกเปลี่ยนแปลงโดยระบบเอนไซม์เดียวกัน ตัวอย่างเช่น hexobarbital, mephobarbital, omeprazole, diazepam, imipramine และ proguanil⁽¹⁷⁾ การใช้ยาดังกล่าวใน PM อาจมีปัญหาเกี่ยวกับการออกฤทธิ์และพิษของยา ความผิดปกติในการเปลี่ยนแปลง

mephenytoin ถ่ายทอดได้ทางกรรมพันธุ์แบบ autosomal recessive เช่นเดียวกับ debrisoquine^(18,19) ยีนที่ควบคุมการสร้างยีนโครโมโซมที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลง mephenytoin อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 10 (ตารางที่ 2)

บทบาทของกรรมพันธุ์ต่อการเปลี่ยนแปลงยาและสารเคมีในระยะที่สอง

การเปลี่ยนแปลงยาและสารเคมีในระยะที่สอง เกี่ยวข้องกับการเติมสารบางอย่างเข้าในโมเลกุลของยาและสารเคมีนั้นๆ หรือ metabolite ที่เกิดจากปฏิกิริยาในระยะที่หนึ่ง สารที่ได้จะมีน้ำหนักโมเลกุลเพิ่มขึ้น มี polarity สูงขึ้น ถูกขับถ่ายออกทางปัสสาวะหรือน้ำดีได้มากขึ้น ปฏิกิริยาที่มีการเติมสารเข้าในโมเลกุลของยาและสารเคมี เรียกรวมๆ กันว่า conjugation ซึ่งมีหลายชนิดเช่น glucuronidation, sulfation, acetylation เป็นต้น⁽¹⁾

กรรมพันธุ์มีบทบาทต่อการเปลี่ยนแปลงยาและสารเคมีในระยะที่สอง ปฏิกิริยาที่ได้รับความสนใจและมีการศึกษาอย่างกว้างขวางคือ acetylation ซึ่งเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงยาและสารเคมีพวก hydrazines และ arylamines รวมทั้งยาที่ถูกเปลี่ยนเป็นสารพวก amines เช่น sulfasalazine, nitrazepam และ caffeine เป็นต้น (ตารางที่ 5)⁽²⁰⁻²²⁾ ปฏิกิริยานี้ถูกควบคุมโดยเอนไซม์ N-acetyltransferase (NAT) ในไซโตซอลของเซลล์ตับ ซึ่งในคนมีสองรูป คือ NAT1 และ NAT2 ความแตกต่างกันในการเปลี่ยนแปลงยาและสารเคมีโดยปฏิกิริยา acetylation พบเฉพาะในเอนไซม์ NAT2^(23,24)

* พบในภายหลังว่าเป็น CYP2C19 (39)

ตารางที่ 5 ยาและสารเคมีที่กรรมพันธุ์มีบทบาทในการเปลี่ยนแปลงโดยปฏิกิริยา acetylation

Arylamines	Hydrazines
Dapsone	Acetylhydrazine
Procainamide	Hydralazine
Sulfamethazine	Isoniazid
Sulfapyridine	Phenelzine
Carcinogenic arylamines	Drugs metabolized to amines
4-Aminobiphenyl	Acebutolol
2-Aminofluorene	Caffeine
Benzidine	Clonazepam
Methylene bis-chloroaniline	Nitrazepam
2-Naphthylamine	Sulfasalazine

จาก (11, 20)

ผู้ที่เปลี่ยนแปลงยาและสารเคมีได้ช้าโดยปฏิกิริยา acetylation เรียกว่า slow acetylator (SA) ผู้ที่เปลี่ยนแปลงได้เร็วเรียกว่า fast หรือ rapid acetylator (RA) พบ SA ร้อยละ 49-70 ในคนผิวขาว แต่พบร้อยละ 7-34 ในชาวตะวันออก (ตารางที่ 6) ใน SA พบว่ามีการกลายพันธุ์เกิดขึ้นในยีนที่ควบคุมการสร้าง NAT2 ซึ่งอยู่บนโครโมโซม

คู่ที่ 8 ทำให้ประสิทธิภาพของเอนไซม์นี้ลดลงมาก^(23, 24) ความแตกต่างในการเปลี่ยนแปลงยาและสารเคมีโดยปฏิกิริยา acetylation มีความสำคัญต่อผลการรักษาและอาการอันไม่พึงประสงค์ของยารวมทั้งการเกิดโรคและภาวะผิดปกติบางอย่างจากสารเคมี ดังจะได้อธิบายต่อไป

ตารางที่ 6 ความถี่ของ slow acetylator ในคนเชื้อชาติต่างๆ

คนตะวันออก	%	คนผิวขาว	%
เกาหลี	11	แคนาดา	59-70
จีนแผ่นดินใหญ่	13	เซโกสโลวะเกีย	60
จีนในไต้หวัน	22	ฝรั่งเศส	59
จีนในไทย	34	ฟินแลนด์	61-64
จีนในสิงคโปร์	22	เยอรมนี	57
ญี่ปุ่น	7-12	สวีเดน	51-68
ไทย	18	สหรัฐอเมริกา	52-57
ฟิลิปปินส์	28	อังกฤษ	53-62

จาก (12)

ความสำคัญทางคลินิก

ความผิดปกติในการเปลี่ยนแปลงยาและสารเคมีซึ่งเป็นผลจากการแปรผันทางกรรมพันธุ์มีความสำคัญทางคลินิกเป็น 3 ลักษณะ คือ 1) ผลการรักษาและอาการอันไม่พึงประสงค์ของยา 2) ปฏิกริยาต่อกันระหว่างยา และ 3) ความเป็นพิษจากสารเคมี

ในลักษณะแรก PM หรือ SA จะมีค่าทางเภสัชจลนศาสตร์ เช่น ความเข้มข้นของยาในเลือด ค่าครึ่งชีวิต และพื้นที่ใต้กราฟระหว่างความเข้มข้นของยาในเลือดกับเวลามากกว่า EM หรือ RA เมื่อให้ยาดด้วยขนาดเท่ากัน เป็นผลให้ยาออกฤทธิ์ได้รุนแรงหรือนานกว่า นอกจากนี้ PM หรือ SA มีโอกาสได้รับพิษจากยามากกว่า EM หรือ RA อีกด้วย^(12, 25) ยกเว้นกรณีที่สารออกฤทธิ์เป็น metabolite (s) ของยาที่ตัวมันเองไม่มีฤทธิ์

ยาที่ได้มีการศึกษาอย่างกว้างขวางเป็นยาที่ถูกเปลี่ยนแปลงโดย CYP2D6 (ตารางที่ 4) ตัวอย่างเช่น การให้ metoprolol ซึ่งเป็นยารักษาโรคความดันโลหิตสูง และอาการปวดเค้นอก (angina pectoris) ออกฤทธิ์สัปดาห์อย่างเฉพาะเจาะจงต่อ beta1 receptor ด้วยขนาด 200 มก. PM จะมีค่าเฉลี่ย ของพื้นที่ใต้กราฟระหว่างความเข้มข้นของยาในเลือด กับเวลาและค่าครึ่งชีวิตประมาณ 6 และ 3 เท่าของ EM ตามลำดับ⁽²⁶⁾ การใช้ยานี้วันละครั้งน่าจะเพียงพอในการควบคุมอาการปวดเค้นอกใน PM ใน EM อาจต้องให้วันละ 2-3 ครั้ง⁽²⁶⁾ ทำนองเดียวกันอาจลดขนาดของ metoprolol เหลือเพียงครึ่งหนึ่งของขนาดมาตรฐาน (100 มก./วัน) เมื่อใช้ใน PM ที่เป็นโรคความดันโลหิตสูง⁽²⁷⁾ โดยทั่วไป metoprolol ใช้ได้ในผู้ป่วยโรคหอบหืด เพราะยาไม่ผลค่อนข้างเฉพาะเจาะจงต่อ beta 1 receptor แต่ที่ความเข้มข้นในเลือดสูงๆ ยาจจะมีผลต่อ beta 2 ด้วย ดังนั้นการใช้ยานี้ใน PM ซึ่งเป็นโรคหอบหืด อาจทำให้เกิดอันตรายได้⁽²⁶⁾

ยาที่ออกฤทธิ์สัปดาห์กัน beta receptor อีกตัวหนึ่งที่นิยมใช้กันมากคือ propranolol การเปลี่ยนแปลงยานี้โดยปฏิกิริยา hydroxylation มีความแตกต่างกันใน PM และ EM แต่เนื่องจากปฏิกิริยาดังกล่าวมีส่วนน้อยมากต่อการเปลี่ยนแปลงยานี้ ดังนั้นโดยภาพรวมจึงไม่มีความผิดปกติในการเปลี่ยนแปลง propranolol ใน PM และ EM⁽²⁷⁾

อีกตัวอย่างหนึ่งคือผลเสียจากการใช้ desipramine ซึ่งเป็นยารักษาโรคซึมเศร้าในผู้ป่วย ที่เป็น PM ของ debrisoquine ขนาดที่ใช้ในระยะแรก คือ 50 มก./วัน แล้วค่อยๆเพิ่มเป็น 250 มก./วัน ภายใน 1 เดือน พบอาการปวดหน้าอกขณะพัก หายใจขัดจากการตรวจคลื่นไฟฟ้าหัวใจพบภาวะกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือดเนื่องจากการหดเกร็งของหลอดเลือดที่ไปเลี้ยงหัวใจ หลังได้รับยาไปแล้ว 45 วัน⁽²⁸⁾ จากการวัดระดับของ desipramine ในซีรัม พบว่าผู้ป่วยรายนี้มีระดับยาสูงกว่าค่าเฉลี่ยเมื่อให้ด้วยขนาดใกล้เคียงกันในผู้ป่วยรายอื่นๆ ประมาณ 4 เท่า จึงเกิดอาการอันไม่พึงประสงค์ดังกล่าว เนื่องจาก desipramine เป็น metabolite ของ imipramine⁽²⁷⁾ ดังนั้น PM ที่ได้รับ imipramine ก็อาจเกิดผลเสียได้เช่นเดียวกัน ด้วยเหตุนี้การใช้ยาที่ถูกเปลี่ยนแปลงโดย CYP2D6 และเป็นยาอันตราย เช่น ยาแก้ไอภาวะหัวใจเสียจังหวะพวก encainide, flecainide และ mexiletine จึงต้องระมัดระวัง โดยเฉพาะผู้ป่วยที่มีโรคตับและ/หรือโรคไตร่วมด้วย⁽¹⁴⁾

ความแตกต่างกันในการเปลี่ยนแปลงยาโดยปฏิกิริยา acetylation ส่วนใหญ่มีผลต่อการเกิดอาการอันไม่พึงประสงค์จากยา อาการที่พบมีเช่น peripheral neuropathy จาก isoniazid (INH) และ hydralazine, lupus-like syndrome จาก hydralazine และ procainamide ความผิดปกติเหล่านี้พบใน SA บ่อยกว่าใน RA^(20, 29) ชาวยุโรปและสหรัฐอเมริกา จึงมีโอกาสได้รับอันตรายจากยาเหล่านี้มากกว่าชาวเอเชีย เพราะมีประชากรที่เป็น SA มากกว่า (ตารางที่ 6) มีรายงานว่า INH ทำให้

เกิดด้อยกเสบใน RA ได้บ่อยกว่าใน SA แต่มีหลักฐานหลายอย่างที่ยืนยันกับรายงานดังกล่าว⁽²⁹⁾

ความสำคัญทางคลินิกอีกลักษณะหนึ่งของความแตกต่างกันในการเปลี่ยนแปลงยา คือ ปฏิกริยาต่อกันระหว่างยา มียาหลายชนิดทั้งที่เป็นและมิได้เป็น substrate ของ CYP2D6 สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์นี้ได้ ตัวอย่างเช่น propafenone และ quinidine ยาทั้งสองชนิดขัดขวางการเปลี่ยนแปลงยาอื่นๆ โดย CYP2D6 เมื่อให้ร่วมกันทำให้ระดับของยาดังกล่าวสูงขึ้นจนอาจเป็นอันตรายต่อผู้ป่วยได้^(25, 30) จึงควรระมัดระวังเมื่อใช้ยาเหล่านี้ร่วมกับยาอื่นๆ ที่แสดงในตารางที่ 4

EM จะถูกเปลี่ยนเป็น PM เมื่อได้รับยาที่ยับยั้งการทำงานของ CYP2D6 หรือ เอนไซม์อื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง ปรากฏการณ์นี้เรียกว่า phenocopying⁽²⁷⁾ ซึ่งจะส่งผลต่อการออกฤทธิ์และความเป็นพิษของยาเมื่อให้ร่วมกัน ดังได้กล่าวมาแล้ว เป็นที่น่าสังเกตว่า ยาที่เป็นตัวเหนี่ยวนำเอนไซม์ เช่น phenobarbital หรือ rifampicin ไม่มีผลต่อการทำงานของ CYP2D6⁽³¹⁾

ปฏิกริยาต่อกันระหว่างยาอีกคู่หนึ่งที่น่าสนใจ คือ การขัดขวางการเปลี่ยนแปลง phenytoin โดย INH เป็นผลให้ระดับของ phenytoin ในเลือดสูงขึ้นจนอาจเป็นอันตรายต่อผู้ป่วย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในพวกที่เป็น SA ซึ่งเปลี่ยนแปลง INH ได้ช้า⁽³²⁾ พบปรากฏการณ์ทำนองเดียวกันเมื่อใช้ INH ร่วมกับ carbamazepine⁽³³⁾

โรคหรือภาวะผิดปกติบางอย่างมักพบในผู้ที่เปลี่ยนแปลงยาได้มากหรือน้อยอย่างใดอย่างหนึ่ง ตัวอย่างเช่น มะเร็งปอดในผู้ที่สูบบุหรี่ มักพบใน EM ของ debrisoquine บ่อยกว่าใน PM⁽³⁴⁾ ปรากฏการณ์นี้ยังไม่มีความอธิบายที่แน่ชัด แต่เชื่อว่าอาจเกิดจากการที่ EM เปลี่ยนแปลงสารบางอย่างในบุหรี่ให้กลายเป็นสารก่อมะเร็งได้ดีกว่า PM มาก⁽³⁴⁾

ความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดโรคพาร์กินสันในผู้ที่มียาการเปลี่ยนแปลงยาต่างกันยังเป็นที่ถกเถียงกันมาก มีผู้พบว่า PM ของ debrisoquine มีโอกาสเป็นโรคพาร์กินสันได้มากกว่า EM⁽³⁵⁾ และได้ตั้งสมมุติฐานว่า PM เปลี่ยนแปลงสารบางอย่างที่มีพิษต่อสมอง ซึ่งทำให้เกิดอาการคล้ายกับผู้ที่เป็นโรคพาร์กินสันได้น้อยกว่า EM สารดังกล่าว คือ 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine (MPTP) ซึ่งใช้ในอุตสาหกรรมเคมีบางอย่าง และได้มีการนำมาใช้ในทางที่ผิด เช่น ใช้เป็นสารเสพติด^(36, 37) สารนี้ถูกเปลี่ยนเป็น 1-methyl-4-phenylpyridinium ion (MPP⁺) โดยเอนไซม์ MAO ในสมอง MPP⁺ มีพิษเฉพาะเจาะจงต่อเซลล์สมอง บริเวณ substantia nigra ทำให้เกิดอาการคล้ายโรคพาร์กินสัน⁽³⁵⁻³⁷⁾ ทั้ง MPTP และ MPP⁺ จับกับ CYP2D6 และอาจถูกเปลี่ยนแปลงเป็นสารที่ไม่มีฤทธิ์ต่อไป ดังนั้นใน PM ซึ่งการทำงานของ CYP2D6 ลดลงมากจึงมีโอกาเป็นโรคพาร์กินสันจากการได้รับ MPTP มากกว่า EM อย่างไรก็ตาม สมมุติฐานข้างต้นยังจะต้องมีการพิสูจน์กันต่อไป

สารพวก arylamines เช่น benzydine, 2-naphthylamine, 4-aminobiphenyl และ methylene bis-chloroaniline ซึ่งใช้ในอุตสาหกรรมสีและพลาสติก ทำให้เกิดมะเร็งของกระเพาะปัสสาวะในคนงานที่สัมผัสกับสารเหล่านี้เป็นประจำ (ตารางที่ 5) คนงานที่เป็น SA มีโอกาสเป็นมะเร็งดังกล่าวได้บ่อยกว่า RA^(20, 24) ทั้งนี้เนื่องจากคนงานพวกนี้ขาดเอนไซม์ NAT2 ในกระเพาะปัสสาวะที่จะกำจัดสารก่อมะเร็งดังกล่าว ในทางตรงข้ามพบว่า RA มียาต้านมะเร็งต่อการเป็นมะเร็งของลำไส้ใหญ่และทวารหนักสูงกว่า SA⁽³⁸⁾ ซึ่งยังไม่ทราบเหตุผลที่แน่ชัด

จากที่กล่าวมาแล้วจะเห็นได้ว่าความแตกต่างกันในการเปลี่ยนแปลงยาและสารเคมี ซึ่งเกิดจากความผิดปกติทางกรรมพันธุ์ เป็นปัจจัยสำคัญ

ประการหนึ่งต่อการออกฤทธิ์และความเป็นพิษของยา และสารเคมี ความแตกต่างดังกล่าวยังอาจสัมพันธ์กับการเกิดโรคบางอย่างด้วย แต่ปัจจัยนี้มักถูกมองข้ามไป อาจเนื่องจากการที่มีข้อมูลค่อนข้างจำกัด โดยเฉพาะของชาวเอเชีย การศึกษาวิจัยเกี่ยวกับลักษณะปรากฏและลักษณะยีนที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงยาและสารเคมีในคนเชื้อชาติต่างๆ จะเป็นประโยชน์ต่อการพัฒนา และทำให้การใช้ยามีประสิทธิภาพยิ่งขึ้นทั้งยาที่ใช้มานานแล้วและยาใหม่ รวมทั้งแนวทางในการป้องกันและแก้ไขอันตรายที่อาจเกิดจากสารเคมีต่างๆ อีกด้วย

เอกสารอ้างอิง

1. Gibson GG, Skett P. Introduction to Drug Metabolism. London : Chapman & Hall, 1992.
2. Nelson DR, Kamataki T, Waxman DJ et al. The P450 superfamily : update on new sequences, gene mapping, accession, numbers, early trivial names of enzymes, and nomenclature. DNA Cell Biol 1993;12:1-51.
3. Gonzalez FJ. Human cytochrome P450 : problems and prospects. Trends Pharmacol Sci 1992;13:346-52.
4. Mahgoub A, Idle JR, Dring LG, Lancaster R, Smith RL. Polymorphic hydroxylation of debrisoquine in man. Lancet 1977;1:584-6.
5. Eichelbaum M, Spannbrucker N, Steincke B, Dengler HJ. Defective oxidation of sparteine in man. A new pharmacogenetic defect. Eur J Clin Pharmacol 1979;16: 183-7.
6. McGourty JC, Silas JH, Lennard MS, Tucker GT, Woods HF. Metoprolol metabolism and debrisoquine oxidation polymorphism - population and family studies. Br J Clin Pharmacol 1985;20: 555-66.
7. Evans DAP, Mahgoub A, Sloan TP, Idle JR, Smith RL. A family and population study of genetic polymorphism of debrisoquine oxidation in a white British population. J Med Genet 1980;17:102-5.
8. Eichelbaum M, Bertilsson L, Sawe J, Zekorn C. Polymorphic oxidation of sparteine and debrisoquine : Related pharmacogenetic entities. Clin Pharmacol Ther 1982;31:184-6.
9. Eichelbaum M, Baur MP, Dengler HJ et al. Chromosomal assignment of human cytochrome P-450 (debrisoquine/sparteine type) to chromosome 22. Br J Clin Pharmacol 1987;23:455-8.
10. Gonzalez FJ, Skoda RC, Kimura S et al. Characterization of the common genetic defect in humans deficient in debrisoquine metabolism. Nature 1988;331:442-6.
11. Lou YC. Differences in drug metabolism polymorphism between Orientals and Caucasians. Drug Metab Rev 1990; 22:451-75.
12. Ishizaki T. Genetically determined N-acetylation and oxidation polymorphisms : their clinical implications in Far Eastern Oriental populations. Asia Pacific J Pharmacol 1991;6:187-99.

13. Alvan G, Bechtel P, Iselius L, Gundert-Remy U. Hydroxylation polymorphisms of debrisoquine and mephenytoin in European populations. *Eur J Clin Pharmacol* 1990;39:533-7.
14. Cholerton S, Daly AK, Idle JR. The role of individual human cytochromes P450 in drug metabolism and clinical response. *Trends Pharmacol Sci* 1992;13:434-9.
15. Boyd JR. *Drug Facts and Comparisons*. 1985 ed. Philadelphia : J.B. Lippincott, 1985.
16. Wedlund PJ, Asianian WS, McAllister CB, Wilkinson GR, Branch RA. Mephenytoin hydroxylation deficiency in Caucasians : Frequency of a new oxidative drug metabolism polymorphism. *Clin Pharmacol Ther* 1984;36:773-80.
17. Daly AK, Cholerton S, Gregory W, Idle JR. Metabolic polymorphisms. *Pharmacol Ther* 1993;57:129-60.
18. Inaba T, Jurima M, Kalow W. Family studies of mephenytoin hydroxylation deficiency. *Am J Hum Genet* 1986;38:768-72.
19. Ward SA, Goto F, Nakamura K et al. S-mephenytoin 4-hydroxylase is inherited as an autosomal recessive trait in Japanese families. *Clin Pharmacol Ther* 1987;42:96-9.
20. Weber WW, Hein DW. N-Acetylation pharmacogenetics. *Pharmacol Rev* 1985;37:25-79.
21. Horai Y, Ishizaki T. Pharmacogenetics and its clinical implications : N-Acetylation polymorphism. *Rat Drug Ther* 1987;21:1-7.
22. Evans DAP. N-Acetyltransferase. *Pharmacol Ther* 1989;42:157-234.
23. Blum M, Grant DM, McBride W, Heim M, Meyer UA. Human arylamine N-acetyltransferase genes : isolation, chromosomal localisation and functional expression. *DNA Cell Biol* 1990;9:193-203.
24. Blum M, Demierre A, Grant DM, Heim M, Meyer UA. Molecular mechanism of slow acetylation of drugs and carcinogens in humans. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 1991;88:5237-41.
25. Caporaso NE, Shaw GL. Clinical implications of the competitive inhibition of the debrisoquin-metabolizing isozyme by quinidine. *Arch Intern Med* 1991;151:1985-92.
26. Lennard MS, Silas JH, Freestone S, Ramsay LE, Tucker GT, Woods HF. Oxidation phenotype-- A major determinant of metoprolol metabolism and response. *N Engl J Med* 1982;307:1558-60.
27. Eichelbaum M, Gross AS. The genetic polymorphism of debrisoquine/sparteine metabolism -clinical aspects. *Pharmacol Ther* 1990;46:377-94.
28. Bluhm RE, Wilkinson GR, Shelton R, Branch RA. Genetically determined drug-metabolizing activity and desipramine-associated cardiotoxicity: A case report. *Clin Pharmacol Ther* 1993;53:89-95.

29. Clark DWJ. Genetically determined variability in acetylation and oxidation. *Drugs* 1985;29:342-75.
30. Steiner E, Dumant E, Spina E, Dahlqvist R. Inhibition of desipramine 2-hydroxylation by quinidine and quinine. *Clin Pharmacol Ther* 1987;43:577-81.
31. Eichelbaum M, Mineshita S, Ohnhaus EE, Zekorn C. The influence of enzyme induction on polymorphic sparteine oxidation. *Br J Clin Pharmacol* 1986;22:49-53.
32. Kutt H, Brennan R, Dehejia H, Verebely K. Diphenylhydantoin intoxication. A complication of isoniazid therapy. *Am Rev Respir Dis* 1970;101:377-84.
33. Valsalan VC, Cooper GL. Carbamazepine intoxication caused by interaction with isoniazid. *Br Med J* 1982;285:261-2.
34. Agundez JAG, Martinez C, Ladero JM et al. Debrisoquine oxidation genotype and susceptibility to lung cancer. *Clin Pharmacol Ther* 1994;55:10-4.
35. Smith CAD, Gough AC, Leigh PN et al. Debrisoquine hydroxylase gene polymorphism and susceptibility to Parkinson's disease. *Lancet* 1992;339:1375-7.
36. Barbeau A, Roy M, Langston JW. Neurological consequence of industrial exposure to 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. *Lancet* 1985;1:747.
37. Ballard P, Langston JW, Tetud J, Burns RS. Chemically induced chronic Parkinsonism in young adults: clinical and neuropharmacologic aspects. *Neurology* 1983;33 (suppl 2):90.
38. Wohlleb JC, Hunter CF, Blass B, Kadlubar FF, Chu DZJ, Lang NP. Aromatic amine acetyltransferase as a marker for colorectal cancer: environmental and demographic association. *Int J Cancer* 1990;46:22-30.
39. Goldstein JA, Faletto MB, Romkes-Spark M et al. Evidence that CYP2C19 is the major S-mephenytoin 4-hydroxylase in humans. *Biochemistry* (in press).

บรรณาธิการ ขอขอบคุณผู้ให้การสนับสนุน
การพิมพ์วารสารเภสัชวิทยา ดังต่อไปนี้

1. บริษัท Thai Fumigation Co. Ltd.
2. บริษัท Suriya Produce Co. Ltd.
3. บริษัท ทมลกิจ จำกัด
4. บริษัท เอส จี เอส ฟาร์อีสต์ จำกัด

เภสัชวิทยาของ GABA RECEPTOR

นลิน พยัคฆชาติ* และ จุฑามณี สุทธิสีสังข์**

*ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

**ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

บทนำ

GABA หรือ Gamma-aminobutyric acid เป็นสารสื่อประสาทที่มีฤทธิ์ยับยั้ง [inhibitory neurotransmitter] ตัวสำคัญตัวหนึ่งในสมองของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมและยังมีบทบาทเกี่ยวข้องกับพยาธิสภาพของระบบประสาทหลายอย่างเช่น โรคลมชัก [epilepsy] ภาวะการติดแอลกอฮอล์ [alcoholism] ภาวะนอนไม่หลับ [sleep disorder] และ Huntington's disease เป็นต้น

GABA พบกระจายอยู่ทั่วไปในสมอง สร้างจาก L-glutamic acid โดยใช้เอนไซม์ glutamic acid decarboxylase ซึ่งเอนไซม์นี้พบอยู่ใน presynaptic terminal หลังจากนั้น GABA จะถูกนำไปเก็บไว้ใน synaptic vesicle ของปลายประสาท การหลั่งของ GABA จะเกิดขึ้นต่อเมื่อเกิด depolarization ของปลายประสาทโดย action potential เมื่อมีการกระตุ้นปลายประสาท synaptic vesicle ซึ่งมี GABA บรรจุอยู่จะมาเชื่อมรวมกับ presynaptic membrane และมีการหลั่ง GABA ออกมา [exocytosis] สู่ synaptic cleft ทำให้ GABA สามารถ

ไปจับกับ receptor ของมันได้ ซึ่ง receptor ของ GABA จะพบอยู่ทั้งที่ pre- และ postsynaptic membrane

เมื่อ GABA ถูกหลั่งออกมาแล้ว จะมีกระบวนการกำจัด⁽¹⁾ GABA ให้หมดไปจาก synaptic cleft อยู่ 2 กระบวนการ กระบวนการแรกคือการทำลาย GABA โดยใช้เอนไซม์ GABA transaminase ซึ่งพบอยู่ในบริเวณ synaptic cleft โดยจะเปลี่ยน GABA ไปเป็น succinic semialdehyde และกระบวนการที่สองคือ การเก็บ GABA กลับ (reuptake) ไปยัง presynaptic terminal จากการศึกษ⁽²⁾ พบว่า GABA จะมีตัวพา [GABA carrier] เพื่อกลับสู่ presynaptic nerve โดยที่ทราบถึงองค์ประกอบแล้วอย่างน้อย 1 ตัว

ในปัจจุบัน receptor ของ GABA มี 2 ชนิด คือ GABA_A receptor และ GABA_B receptor โดยแบ่งออกตาม (1) rank order of potency (2) ชนิดของ effector system หรือ signal transduction และ (3) tissue specificity (ตารางที่ 1)

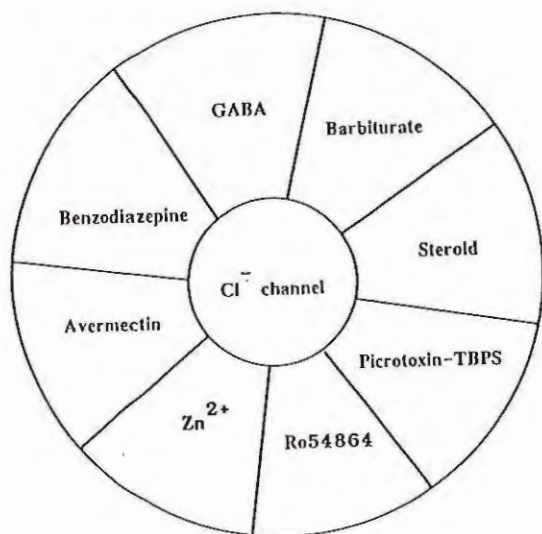
ตารางที่ 1 การแบ่งชนิดของ GABA receptors

GABA RECEPTORS		
	GABA _A	GABA _B
- Rank order of potency	Muscimol>GABA> Bicuculline>Baclofen	Baclofen>GABA> Bicuculline>Muscimol
- Receptor structure	7 transmembrane domains	4 transmembrane domains
- Predominant effectors	Chloride ions	cAMP ↓ K ⁺ conductance ↑ Ca ²⁺ conductance ↓
- Tissue specificity ⁽³⁾	- lamina molecularis of olfactory bulb - granule cell layer of the cerebellum - uniformly distributed throughout the dorsal and ventral horns	- interpeduncular nucleus - molecular cell layer of the cerebellum - distributed with high densities in laminae I-IV in spinal cord

เภสัชวิทยาของ GABA_A receptor

GABA_A receptor เป็น receptor subtype ที่มีความสำคัญทางเภสัชวิทยา ในปัจจุบันมีหลายตัวที่ออกฤทธิ์ผ่าน GABA_A receptor โดย GABA_A receptor จะเป็น GABA receptor ที่พบใน Benzodiazepine-GABA-Chloride ionophore complex ทั้งนี้เนื่องจาก benzodiazepine มี allosteric binding site อยู่บนโมเลกุลของ GABA_A receptor นั้นหมายถึง benzodiazepine receptor เป็นส่วนหนึ่งในโครงสร้างของ GABA_A

receptor เช่นเดียวกับ neurosteroids และ barbiturates ซึ่งมี allosteric binding site อยู่บนโมเลกุลของ GABA_A receptor เช่นกัน นอกจากนี้ยังมีสารอื่นๆ ที่มี allosteric binding site อยู่บน GABA_A receptor เช่น picrotoxin-TBPS, avermectin เป็นต้น และ GABA_A receptor subunit จะเรียงตัวกันในลักษณะที่เป็น channel ให้ Chloride ions ผ่านเข้าออกเซลล์อีกด้วย ดังแสดงในรูปที่ 1⁽⁴⁾



รูปที่ 1 Allosteric binding sites ของ GABA_A receptors ซึ่งอาจมี binding sites ของ propofol, clomethiazole และ methanol และ methanol บนโมเลกุลของ GABA_A receptors อีกด้วย⁽⁴⁾ [TBPS : t-butylbicyclophosphorothionate]

GABA_A receptor เป็น receptor ที่จัดอยู่ใน superfamily ของ ligand-gated ion channels อยู่บนเยื่อหุ้มเซลล์ receptor จะประกอบไปด้วย 5 subunit⁽⁵⁾ ซึ่งเรียงตัวกันทำให้มีช่องตรงกลางไว้เป็นทางผ่านของ Chloride ions ในแต่ละ subunit จะประกอบด้วย α -helical membrane-spanning domains 4 อัน (รูปที่ 2) จากการศึกษโดยใช้เทคนิคทาง molecular cloning⁽⁶⁾ ทำให้แบ่งชนิดของ subunit ออกเป็นอย่างน้อย 5 ชนิด ได้แก่ α -, β -, γ -, δ - และ ρ - subunit และในแต่ละชนิดยังสามารถแบ่งออกได้เป็นอีกหลาย subtypes ดังต่อไปนี้คือ α มี 6 subtypes, β มี 4 subtypes, γ มี 3 subtypes, ρ มี 2 subtypes ส่วน δ มีเพียง 1 subtype ส่วน δ มีเพียง 1 subtype ซึ่งลักษณะโครงสร้างพื้นฐานของ subunit (รูปที่ 3)⁽⁴⁾ พบว่าสิ่งที่เหมือนกัน คือ ด้านของ N- และ C-terminal

จะอยู่ใน extracellular space ส่วนใน intracellular space จะมี cytosolic loop ขนาดใหญ่อยู่ ซึ่งเป็นตำแหน่งที่เกิด phosphorylation ของ receptor⁽⁷⁾

ความแตกต่างของ subunit แต่ละชนิดคือ ลำดับของ amino acid นั้นเอง และแต่ละ subtype จะมี homology ระหว่าง peptide sequences ดังรูปที่ 4

ดังที่กล่าวมาแล้วว่า GABA_A receptor จะต้องประกอบไปด้วย 5 subunits ซึ่งอาจจะเป็นการรวมกันของ subunits ได้กี่ก็ได้ ตัวอย่างเช่น $\alpha_1 \alpha_2 \gamma_2 \beta_1 \delta$ หรือ $\alpha_3 \alpha_5 \beta_2 \beta_3 \gamma_1$ เป็นต้น ซึ่งอาจมีมากกว่า 1000 combinations ความหลากหลายในการประกอบเป็น GABA_A receptor นี้เรียกว่า heterogeneity ซึ่งทำให้แต่ละ combination ของ GABA_A receptor มีความแตกต่างกันในฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาด้วย แต่ในขณะนี้ยังไม่ทราบองค์ประกอบของ GABA_A receptor ที่มีทั้งหมดพบว่า⁽⁸⁾ แต่ละ subunit จะมีหน้าที่แตกต่างกันไป เช่น α -subunit ดูเหมือนว่าจะเป็นส่วนประกอบในทุก combination ที่พบ และยังเป็นตำแหน่งที่มี recognition ของ benzodiazepine ligands อีกด้วย ส่วน β -subunit เป็น recognition site ของ GABA และ γ -subunit นั้นเป็นส่วนสำคัญในการจับของ benzodiazepine ต่อ benzodiazepine binding site

ยาในกลุ่ม benzodiazepines ส่วนใหญ่จะมี high affinity ต่อทุก combinations ของ GABA_A receptor (ตารางที่ 2)⁽⁹⁾ ทำให้เกิดผลข้างเคียง [side effect] หลายอย่างเช่น ฤทธิ์คล้ายกล้ามเนื้อ, sedative effect ยา zolpidem ซึ่งเป็นยาในกลุ่ม imidazopyridine derivative แต่จับกับ benzodiazepine binding site เช่นกัน จะมีความเจาะจงในการจับกับ combinations ที่ไม่มี α_5 -subunit เป็นส่วนประกอบ⁽¹⁰⁻¹⁴⁾ และผลทางคลินิกของการใช้ยา zolpidem พบว่ายานี้ไม่มีฤทธิ์คล้ายกล้ามเนื้อ จากข้อมูลนี้เป็นเหตุผลช่วยสนับสนุน

ตารางที่ 3 ค่า EC_{50} และ IC_{50} ของ agonists และ antagonists ของ $GABA_B$ receptors ที่เกี่ยวข้องกับการหลั่งของ GABA, glutamate และ somatostatin จาก rat cerebral cortex synaptosomes⁽¹⁹⁾

Transmitter	Agonist [EC_{50} (μM)]		Antagonist [IC_{50} (μM)]		
	GABA	L-Baclofen	Phaclofen	CGP35348	CGP52432
GABA	1.28	1.17	79.2	>300	0.087
Glutamate	2.80	1.51	>1000	4.21	9.60
Somatostatin	1.93	1.33	62.6	3.63	3.38

ตารางที่ 4 ค่า EC_{50} และ IC_{50} ของ agonists และ antagonists ของ $GABA_B$ autoreceptors ที่เกี่ยวข้องกับการหลั่งของ GABA ใน rat cerebral cortex และ spinal cord⁽¹⁹⁾

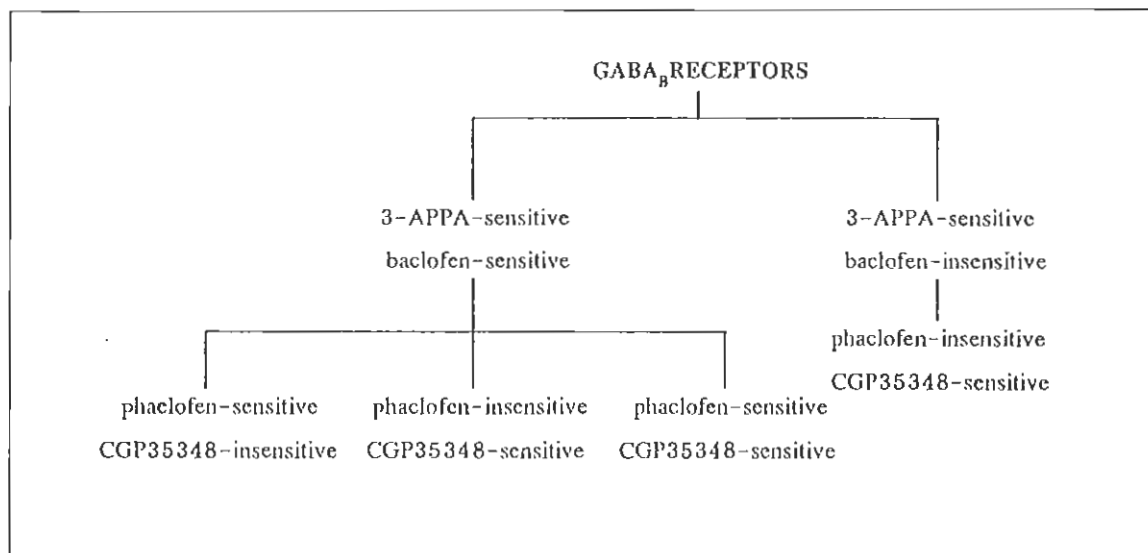
Receptor location	Agonist [EC_{50} (μM)]		Antagonist [IC_{50} (μM)]		
	GABA	L-Baclofen	3-APPA	Phaclofen	CGP35348
Cortex	1.23	1.37	0.095	47.9	>300
Spinal	1.01	425	0.078	>1000	1.07

ได้มีการศึกษาถึงบทบาทของ $GABA_B$ receptor ในการควบคุมการหลั่งของสารสื่อประสาท 3 ชนิดคือ GABA, glutamate และ somatostatin ในสมองส่วนต่างๆ (ตารางที่ 3) ผลการทดลอง⁽¹⁹⁾ พบว่า GABA และ L-baclofen สามารถยับยั้งการหลั่งของ GABA, glutamate และ somatostatin ได้ในความแรงที่ใกล้เคียงกัน ในทางตรงข้าม ผลของการใช้ $GABA_B$ receptor antagonists ได้แก่ phaclofen, CGP35348 และ CGP52432 กลับมีความแตกต่างในการต้านฤทธิ์ของ L-baclofen ในการยับยั้งการหลั่งของสารทั้ง 3 ชนิด เมื่อพิจารณาถึงผลที่ cortical autoreceptor ซึ่งควบคุมการหลั่ง GABA พบว่า phaclofen มีความแรงน้อยกว่า

CGP52432 ประมาณ 1000 เท่า ส่วน CGP35348 มีความแรงน้อยกว่า CGP52432 ถึง 3500 เท่า ผลที่มีต่อการหลั่ง glutamate พบว่า $GABA_B$ heteroreceptor ไม่ไวต่อ phaclofen แต่ไวต่อ CGP 35348 นอกจากนี้ผลที่มีต่อการหลั่ง somatostatin พบว่า $GABA_B$ receptor antagonists ทั้งสามสามารถยับยั้งผลของ L-baclofen ได้ แต่ phaclofen มีความแรงน้อยกว่า CGP35348 และ CGP52432 ประมาณ 20 เท่า จากผลการศึกษาพอสรุปได้ว่า $GABA_B$ receptor อาจแบ่งออกเป็นอีก 3 subtypes โดยแบ่งตามการออกฤทธิ์ของยาที่ anatomical location ต่างๆ

นอกจากนี้ยังพบความแตกต่างทางเภสัชวิทยาที่ presynaptic GABA autoreceptor ใน cortex และ spinal cord อีกด้วย (ตารางที่ 4) ผลการทดลองพบว่า GABA และ 3-APPA [GABA_B receptor agonist] จะมีผลต่อการยับยั้งการหลั่งของ GABA ของทั้งสองบริเวณในความแรงที่ใกล้เคียงกัน

ส่วน L-baclofen จะเป็น agonist ที่อ่อนมากใน spinal cord แม้ว่าจะสามารถทำหน้าที่เหมือน GABA ใน cortex ก็ตาม ส่วนผลของ antagonists แสดงถึงความแตกต่างของ spinal cord autoreceptor พบว่า spinal cord autoreceptor ไม่ไวต่อ phaclofen แต่ไวมากต่อ CGP35348



รูปที่ 7 Schematic representation of multiple GABA_B receptors⁽¹⁹⁾

จากผลการศึกษาดังได้กล่าวมาแล้วทำให้สามารถแบ่ง GABA_B receptor subtype ออกได้เป็น 2 กลุ่ม จากความแตกต่างของ affinity ต่อ baclofen (รูปที่ 7) ในกลุ่มที่เป็น baclofen-sensitive receptors ยังสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ (1) phaclofen-sensitive, CGP35348-insensitive receptors (เช่นที่ cortical autoreceptor), (2) phaclofen-insensitive, CGP35348-sensitive receptors (เช่นที่ heteroreceptor ที่พบอยู่บน glutamate terminals) และ (3) phaclofen- และ CGP35348-sensitive receptor (เช่น heteroreceptors ที่พบอยู่บน somatostatin terminals) ส่วนตัวอย่างของ L-baclofen-insensitive receptor ได้แก่ autoreceptor ที่ spinal cord

การวิจัยทางเภสัชวิทยาเพื่อค้นคว้าหายาที่ออกฤทธิ์ผ่าน GABA_B receptor จะเน้นในเรื่องของ GABA_B receptor antagonists โดยศึกษาถึงประโยชน์ในโรคลมชัก, cognitive deficit และ depression⁽²⁰⁾ ในแง่ของโรคลมชักพบว่า GABA_B receptor antagonists จะมี positive effect ใน absence epilepsy ส่วนใน cognitive deficit นั้น GABA_B receptor antagonists จะช่วยในการเพิ่มการหลั่งสารสื่อประสาทบางชนิดที่เพิ่ม cognitive และช่วยในการกระตุ้นเซลล์ประสาท ซึ่งผลดังกล่าวจะมีส่วนช่วยในกระบวนการส่งกระแสประสาทในสมอง และสุดท้ายในโรคซึมเศร้า [depression] พบว่า การใช้ยา antidepressant เป็นระยะเวลานานจะสามารถชักนำให้เกิดการเพิ่มของ GABA_B receptor

ในบางส่วนของ cerebral cortex เช่นกัน จึงอาจจะเป็นประโยชน์ในการศึกษา GABA_B receptor antagonist เพื่อใช้เป็น antidepressant ต่อไป

ส่วน GABA receptor ที่ได้รับการค้นพบใหม่ได้แก่ GABA_C receptor⁽²¹⁾ receptor นี้จะไม่ไวต่อ baclofen และ bicuculline จึงคาดว่า เป็นคนละ receptor กับ GABA_A และ GABA_B receptor อีกทั้งยังพบว่า barbiturates และ benzodiazepines ไม่มีผลต่อ receptor นี้ การศึกษาถึงลำดับของโมเลกุลของ receptor พบว่าจะคล้ายกับ GABA_A receptor และพบว่ามี ρ_1 -subunit เป็นส่วนประกอบ ในปัจจุบันพบ GABA_C receptor ใน central visual pathway ในส่วนของ retina

จากที่ได้กล่าวมาแล้วทั้งหมดเป็นข้อมูลและแนวโน้มในการพัฒนายาใหม่ๆ โดยมุ่งเน้นการสังเคราะห์ยาใหม่ที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อ GABA receptor subtype ที่ต้องการให้ยาไปออกฤทธิ์เพื่อให้ได้ยาที่มีประสิทธิภาพในการรักษา รวมทั้งลดผลข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้นเพื่อประโยชน์สูงสุดในการรักษา

เอกสารอ้างอิง

1. Squires RF. GABA and benzodiazepine receptors. Boca Raton, Fla. CRC Press, 1988. Vol. I p 3-4.
2. Bowery NG. GABA transporter protein cloned from rat brain. *Trends Pharmacol Sci.* 1990; 11 : 435-436.
3. Bowery NG, Price GW, Hudson AL, Hill DR, Wilkin GP, Turnbull MJ. GABA receptor multiplicity : Visualization of different receptor types in the mammalian CNS. *Neuropharmacol* 1984; 23(2B) : 219-231.
4. Sieghart W. GABA_A receptors : ligand-gated Cl⁻ ion channels modulated by multiple drug-binding sites. *Trends Pharmacol Sci* 1992; 13 : 446-450.
5. Olsen RW, Tobin AJ. Molecular biology of GABA_A receptors. *FASEB J* 1990; 4: 1469-1480.
6. Dobli A, Martin IL. Multiple benzodiazepine receptor : no reason for anxiety. *Trends Pharmacol Sci* 1992; 13 : 76-81.
7. Leidenheimen NJ, Browning MD, Harris RA. GABA_A receptor phosphorylation : multiple sites, actions and artifacts. *Trends Pharmacol Sci* 1991; 12 : 84-86.
8. Luddens H, Wisden W. Function and pharmacology of multiple GABA_A receptor subunits. *Trends Pharmacol Sci* 1991; 12: 49-51.
9. Hadingham KL, Wingrove PB, Wafford KA et al. Role of the β -subunit in determining the pharmacology of human γ -Aminobutyric acid type A receptors. *Mol Pharmacol* 1993; 44 : 1211-1218.
10. Wafford KA, Whiting PJ, Kemp JA. Differences in affinity and efficacy of benzodiazepine receptor ligands at recombinant γ -aminobutyric acid_A receptor subtypes. *Mol Pharmacol* 1992; 43 : 240-244.
11. Biggio G, Concas A, Corda MG, Serra M. Enhancement of GABAergic transmission by zolpidem, an imidazopyridine

- with preferential affinity for type I benzodiazepine receptors. *Eur J Pharmacol* 1989; 161 : 173-180.
12. Mertens S, Benke D, Mohler H. GABA_A receptor populations with novel subunit combinations and drug binding profiles identified in brain by $\alpha 5$ - and δ -subunit-specific immunopurification. *J Biol Chem* 1993; 268(8) : 5965-5973.
 13. Ducic I, Puia G, Vicini S, Costa E. Triazolam is more efficacious than diazepam in a broad spectrum of recombinant GABA_A receptors. *Eur J Pharmacol* 1993; 244 : 29-35.
 14. Langtry HD, Benfield P. Zolpidem : A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic potential. *Drugs* 1990; 40(2) : 291-313.
 15. Squires RF, GABA and benzodiazepine receptors. Boca Raton, Fla. CRC Press, 1988 Vol.II p 108.
 16. Lullmann H, Mohr K, Ziegler A, Bieger D. Color Atlas of Pharmacology, 1993. p 49.
 17. Bowery NG. GABA_B receptor and their significance in mammalian pharmacology. *Trends Pharmacol Sci* 1989; 10: 401-407.
 18. Bormann J. Electrophysiology of GABA_A and GABA_B receptor subtypes. *Trends Neurosci* 1988; 11(3) : 112-116.
 19. Bonanno G, Raiteri M. Multiple GABA_B receptors. *Trends Pharmacol Sci* 1993; 14: 259-261.
 20. Bittiger H, Froestl W, Mickel SJ, Olpe H. GABA_B receptor antagonists : from synthesis to therapeutic applications. *Trends Pharmacol Sci* 1993; 14 : 391-393.
 21. Shimada S, Cutting G, Uhl GR. γ -aminobutyric acid A or C receptor ? γ -aminobutyric acid $\rho 1$ receptor RNA induces bicuculline-, barbiturate-, and benzodiazepine-insensitive γ -aminobutyric acid responses in *Xenopus Oocytes*. *Mol Pharmacol* 1992; 41 : 683-687.



SCIENTIFIC PROMOTION CO.,LTD.

1759 ซอยวชิรธรรมสาธิต 11 ถ.สุขุมวิท 101/1 แขวงบางจาก

เขตพระโขนง กรุงเทพฯ 10260

Tel. 3327960-4, 3326215-6, 3321873, 3320908

sartorius



เครื่องชั่งวิเคราะห์, เครื่องชั่งหาความชื้น
ผลิตจากโรงงานที่ได้มาตรฐาน ISO9001

sartorius



ชุดกรอง membrane filtration system
microbiology testing system

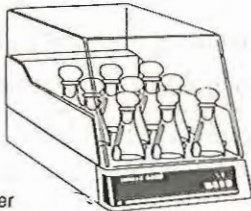
Holten
Lamin Air



Laminar air flow cabinet
ตู้ปลอดเชื้อ class I, II และ III



**NEW BRUNSWICK
SCIENTIFIC CO., INC.**



shaker

Incubator and water bath shaker

HIAC/ROYCO



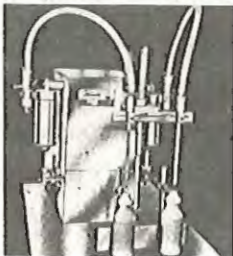
particle counter สำหรับอากาศและของเหลว

**WATSON
MARLOW**



Peristaltic Pump บีมดูดจ่ายของเหลว

FILAMATIC



เครื่องบรรจุของเหลว, ยาเครื่องปิดปากขวด



**SCHOTT
GERÄTE**



pH and Karl Fisher Titrator แบบอัตโนมัติ

HACH



อุปกรณ์วิเคราะห์น้ำ, spectrophotometer
pH meter, D.O. meter, COD Reactor

Heto
Lab Equipment



Cooling

bath, Water bath

Retsch

Vibrotronic



แรงพร้อม
เครื่องเขย่า
พร้อม software
คำนวณ % และทำกราฟเปรียบเทียบ

W.B. binder



ตู้อบ ตู้ทดสอบ
ตู้เพาะเชื้อ ตู้ควบคุมอุณหภูมิ

สมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย
ใบสมัครเข้าเป็นสมาชิก

เขียนที่.....

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

นาย

ข้าพเจ้า นาย ชื่อสกุล

นางสาว

อาชีพ ขอสมัครเข้าเป็นสมาชิกสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย และขอรับรองว่าจะปฏิบัติตามระเบียบข้อบังคับของสมาคมฯ ทุกประการ

ข้าพเจ้ายินดีที่จะชำระค่าบำรุงสมาคมโดย



เป็นรายปี ปีละ 100 บาทถ้วน สำหรับสมาชิกรายปี



ครั้งเดียว 1,000 บาทถ้วน สำหรับสมาชิกตลอดชีพ

(ผ่อนชำระได้ 2 งวด งวดละ 500 บาท)

ลงชื่อผู้สมัคร.....

(เขียนตัวบรรจงหรือพิมพ์).....

ทะเบียนประวัติ

- นาย
1. ชื่อ นาง ชื่อสกุล
- นางสาว
- ชื่อภาษาอังกฤษ (ตัวพิมพ์ใหญ่)
2. เกิดเมื่อวันที่ เดือน พ.ศ.
3. ตำแหน่งหน้าที่หรือตำแหน่งทางวิชาการในปัจจุบัน
-
-
4. สถานที่ทำงาน.....
- โทรศัพท์.....
5. ที่อยู่ปัจจุบัน.....
- โทรศัพท์.....
6. ที่อยู่ถาวร.....
- โทรศัพท์.....
7. ประวัติการศึกษาชั้นอุดมศึกษา (เรียงลำดับจากวุฒิสูงสุด)
- | ปี พ.ศ. | ชื่อสถานศึกษา | วุฒิที่ได้รับ |
|---------|---------------|---------------|
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
8. สาขาหรือแขนงวิชาที่สนใจหรือเชี่ยวชาญเป็นพิเศษ
-
-
-
-



คำแนะนำสำหรับผู้เขียนเรื่องลงวารสาร

วัตถุประสงค์

“วารสารเภสัชวิทยา” เป็นวารสารทางวิชาการของสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทยมีวัตถุประสงค์เพื่อเผยแพร่ผลงานวิชาการทางเภสัชวิทยาและสาขาวิชาอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง ส่งเสริมความร่วมมือทางวิชาการระหว่างสมาชิกในสถาบันต่างๆ และผู้สนใจ

เรื่องที่ตีพิมพ์

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

เงื่อนไข

1. ต้นฉบับที่ส่งให้พิจารณาต้องไม่เคยตีพิมพ์มาก่อน หรือกำลังรอการตีพิมพ์ในวารสารหรือหนังสืออื่นๆ และจะต้องไม่ส่งไปตีพิมพ์ที่อื่นภายหลังจากที่คณะบรรณาธิการได้ตอบรับเรื่องดังกล่าวแล้ว
2. เรื่องที่ตีพิมพ์แล้วเป็นสมบัติของสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย และเป็นผู้สวณสิทธิ์ทุกประการ
3. ข้อความและความคิดเห็นในเรื่องที่ตีพิมพ์ในวารสารเป็นของผู้เขียน ซึ่งคณะบรรณาธิการไม่จำเป็นต้องเห็นพ้องด้วย
4. วารสารจะส่งสำเนาเรื่องเฉพาะรายงานการวิจัย รายงานผู้ป่วยและบทความปริทัศน์ที่ตีพิมพ์แล้วจำนวน 25 ฉบับให้ผู้เขียนตามที่อยู่ที่ระบุไว้

การเตรียมต้นฉบับ

1. ต้นฉบับอาจเป็นภาษาไทยหรือภาษาอังกฤษก็ได้ ถ้าเป็นภาษาไทยจะต้องมีบทคัดย่อหรือเรื่องย่อภาษาอังกฤษอยู่ด้วย และมีชื่อเรื่อง ชื่อ ชื่อสกุล และสถาบันที่ทำงานของผู้เขียนอยู่ด้วยทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ยกเว้นเรื่องที่เป็น เวทีทัศน์ จดหมายถึงบรรณาธิการ วิจารณ์หนังสือ และบทบรรณาธิการ อาจไม่ต้องมีบทคัดย่อหรือเรื่องย่อก็ได้
2. ต้นฉบับควรพิมพ์ติดบรรทัดเว้นบรรทัด (2-space) บนกระดาษขาวอย่างสั้น และพิมพ์หน้าเดียว ภายในกรอบขนาด 15x20 ซม. ตัวเลขควรใช้เลขอาราบิกทั้งหมด
3. รายงานวิจัยหรือรายงานผู้ป่วยควรมีโครงสร้างตามลำดับนี้ ชื่อเรื่อง ชื่อและสถาบันที่ทำงานของผู้เขียน บทคัดย่อ (ABSTRACT) บทนำ (INTRODUCTION) วิธีการ (METHODS) ผลการศึกษา (RESULTS) วิจารณ์ (DISCUSSION) 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.
ในกรณีที่ไม่มีชื่อผู้แต่ง 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*. 5th 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” ภายในวงเล็บท้ายชื่อวารสารนั้นๆ สำหรับการอ้างอิงต้นฉบับที่ยังไม่ได้รับการตอบรับให้เขียนวลี “unpublished observations” หรือ “ข้อมูลที่ยังไม่ได้ตีพิมพ์” ภายในวงเล็บในเนื้อเรื่องตอนที่มีการอ้างอิงถึง

7. ตารางและ/หรือรูปประกอบการตีพิมพ์พร้อมคำอธิบาย ควรพิมพ์อยู่ในเนื้อเรื่องตามตำแหน่งที่ต้องการ รูปเขียนควรเขียนด้วยหมึกอินเดียนบนกระดาษขาวอย่างดี รูปถ่ายควรเป็นรูปขาวดำบนกระดาษอย่างเรียบ ทั้งตาราง รูปและคำอธิบายควรมีขนาดพอเหมาะที่จะตีพิมพ์ลงในกรอบขนาด 1 หน้าของวารสารได้โดยตรง (ไม่เกิน 15x20 ซม.) ตารางและ/หรือรูปซึ่งนำมาจากผลงานที่ตีพิมพ์แล้วจะต้องอ้างอิงถึงแหล่งที่มาด้วย

การส่งต้นฉบับ

ให้ส่งต้นฉบับจำนวน 3 ชุด ~~ต่อกรรมการในคณะบรรณาธิการได้ทุกท่าน~~ หรือจะส่งทางไปรษณีย์ถึงบรรณาธิการ **ประเสริฐ ทรงกิตติคุณ** ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถนนอังรีดูนังต์ ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330 บรรณาธิการจะส่งคำตอบรับ และ/หรือข้อเสนอแนะในการแก้ไขต้นฉบับมายังผู้เขียน ซึ่งในกรณีที่มีการแก้ไข ผู้เขียนอาจแก้ไขตามคำแนะนำ หรืออธิบายยืนยัน หรือเขียนเพิ่มเติมตามที่เห็นสมควร แล้วส่งคืนยังบรรณาธิการโดยด่วน เพื่อพิจารณาตีพิมพ์ในวารสารต่อไป

ອຸທິນທນາກາຣ

ບຣິຢັກ ສີຣິພຣກາຣພິມພ໌ ຈຳກັດ

ຮັບພິມພ໌ອອຟາເຟີກ 4 ສີ

ໂທ. 294-0755, 294-9154

ແຟກຊ໌ 294-1119

ແລະ

ໂຮງແຮມໂກເປ ຈຳກັດ

ໂທ. 226-6480

(ມີແອຣ໌ເຢີນສບາຍ - ຕົ້າອຸດຣດສະດວກ)

Profilate[®] SD

Factor VIII concentrate

In antihemophilic therapy

SAFETY

I S T H E
D E C I D I N G

FACTOR

- Stringent donor screening.
- Advanced manufacturing process.
- Solvent detergent / heat-treated viral inactivation.
- Quality testing by CBER under US-FDA control.

alpha[®]
THERAPEUTIC CORPORATION
5555 Valley Blvd., Los Angeles, CA 90032



For further information,
please contact :

Osothsapha (Teck Heng Yoo) Co., Ltd.

2100 Ramkarnhaeng Rd., Huamark, Bangkok, Bangkok 10240 THAILAND
Tel. 3511312-17