



Thai Journal of Pharmacology

www.phartherst.or.th

วารสารเภสัชวิทยา

Official Publication of
Pharmacological and Therapeutic Society of Thailand

Contents

Editorial

Letter to editors

Research articles

Subchronic Effects of Barakol on Blood Clinical Biochemistry Parameters in Rats Fed with Normal and High Cholesterol Diets

Modified Method for Serum Paraxanthine/Caffeine Ratio: an Index of CYP1A2 Activity

Thiopurine Methyltransferase in Thai Population

Reviews

Pharmacotherapy of Type 2 Diabetes Mellitus

New drugs

Hyagan[®] in the Treatment of Osteoarthritis of the Knee

Uprima[®] for Treatment of Erectile Dysfunction

Case report

Diclofenac Related Skin Rash

May-Dec 2002, Vol.24, No.2-3

ISSN 0125-3832

Thai Journal of Pharmacology

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

Board of Editors

Editor

Supatra Srichairat

Associate Editors

Pravit Akarasereenont

Laddawal Phivthong-ngam

Suwat Wimolwattanapan

Somjai Nakornchai

Editorial Board

Adisak Wongkajornsilp

Amnuay Thithapandha

Borpit Klangkalya

Bunkerd Kongyingyoes

Chaichan Sangdee

Chandhanee Itthipanichpong

Dhasanai Suriyachan

Karnjana Ketsa-ard

Krongtong Yoovathaworn

Monthira Tankeyoon

Nongluk Sookvanichsilp

Nisamanee Satayapan

Pornpen Pramyothin

Prasan Dhumma-Upakorn

Prasert Songkittiguna

Sopit Thamaree

Sumana Chompootawee

Supeechea Wittayalertpanya

Srichan Phornchirasilp

Wacharee Limpanasitthikul

Wittaya Tonsuwonnont

Yupin Sanvarinda

Manager

Supeechea Wittayalertpanya

Office

Department of Pharmacology

Faculty of Medicine, Chulalongkorn University,

Chulalongkorn Hospital, Rama 4 Road, Bangkok 10330,

Thailand. Tel/Fax 2511965

Notice

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

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

วารสารเภสัชวิทยา (Thai Journal of Pharmacology) เป็นลิขสิทธิ์ของสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย ไม่อนุญาตให้นำส่วนใดส่วนหนึ่งของเอกสารฉบับนี้ไปถ่ายเอกสาร ผลิตหรือพิมพ์ซ้ำ หรือนำไปใช้เพื่อประโยชน์ทางการค้าโดยปราศจากการยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรจากบรรณาธิการ

Thai Journal of Pharmacology

Vol. 24, No. 2-3, May-Dec 2002

Contents

95 EDITORIAL

97 LETTER TO EDITORS

RESEARCH ARTICLES

- 101 **Subchronic Effects of Barakol on Blood Clinical Biochemistry Parameters in Rats Fed with Normal and High Cholesterol Diets**
Rawiwan Maniratanachote, Pornpimol Kijsanayotin, Laddawal Phivthong-ngam, Watchareewan Thongsard, Nuansri Niwattisaiwong, Somsong Lawanprasert

- 113 **Modified Method for Serum Paraxanthine/Caffeine Ratio: An Index of CYP1A2 Activity**
Yaowarat Hinsui, Supeechea Wittayalertpanya

- 121 **Thiopurine Methyltransferase in Thai Population**
Pornpen Pramyothin, Parinda Peradhamanon

REVIEWS

- 127 **Pharmacotherapy of Type 2 Diabetes Mellitus**
Sirichai Adisakwattana, Sirintorn Yibchok-anan, Sumana Chompootaweeep

NEW DRUGS

- 143 **Hyalgan® in the Treatment of Osteoarthritis of the Knee**
Supanimit Teekachunhatean, Chaichan Sangdee
- 157 **Uprima® for Treatment of Erectile Dysfunction**
Chaichan Sangdee

CASE REPORT

- 169 **Diclofenac Related Skin Rash, a Case Report**
Viroj Wiwanitkit

บทบรรณาธิการ

เรียนท่านผู้อ่านและสมาชิกสมาคม

ในวาระดิถีขึ้นปีใหม่ 2546 นี้ ขออัญเชิญอำนาจคุณพระศรีรัตนตรัยและสิ่งศักดิ์สิทธิ์ทั้งหลายในสากลโลก ได้โปรดดลบันดาลให้ท่านและครอบครัวประสบแต่ความสุขความเจริญตลอดปีเทอญ

วารสารของสมาคมฉบับนี้เป็นฉบับสุดท้ายของปี 2545 ที่ขอรวบรวมเอาฉบับที่ 2 และ 3 ของปีที่ 24 ไว้ด้วยกัน เพราะว่าผู้ร่วมงานทุกท่านคงก็มีภารกิจที่ค่อนข้างมากตามอายุราชการ อีกทั้งสมาชิกยังคงส่งผลงานมาลงตีพิมพ์ค่อนข้างน้อย ไม่เพียงพอต่อการตีพิมพ์ 3 ฉบับต่อปี ดังนั้น ในปีหน้า วารสารจะออกทั้งสิ้น 3 ฉบับ โดยฉบับที่ 1 จะกำหนดให้เป็นเนื้อหาของการประชุมวิชาการประจำปี ที่จะแจกแก่ผู้เข้าร่วมประชุมและสมาชิกทุกท่าน ฉบับที่ 2 และ 3 ที่จะออกมาในรูปแบบปกตินั้นก็จะทยอยกันออกมานั้นจะออกมาราวกลางปีและปลายปีตามลำดับ

ในปี 2546 นี้ วารสารอาจมีการปรับเปลี่ยนรูปแบบบ้างตามความเหมาะสม เป็นความโชคดีอย่างยิ่งที่เราได้ รศ.สมใจ นครชัย เข้ามาช่วยงานด้านการจัดทำและตรวจทานต้นฉบับ งานที่มีคุณภาพฉบับนี้จึงยังออกมาได้ ถึงจะช้าไปบ้าง แต่ก็ออกมาจนได้

ขอเชิญชวนอีกครั้งให้ท่านสมาชิกส่งผลงานวิจัยในรูปแบบนิพนธ์ต้นฉบับ ทบทวนวรรณกรรม รายงานผู้ป่วยและอื่นๆ มาลงตีพิมพ์ได้อีกเช่นเคย วารสารเภสัชวิทยากำลังย่างเข้าสู่ปีที่ 25 ในปี 2546 นี้แล้ว กำลังเข้าสู่วัยเบญจเพศ จะสมบูรณ์แข็งแรงให้สมกับดำเนินการมานานขนาดนี้หรือไม่ ก็ขึ้นอยู่กับหมู่สมาชิกทุกท่านที่จะมีส่วนร่วมสนับสนุนและผลักดันให้สู่จุดหมายที่ต้องการ นับแต่ฉบับนี้เป็นต้นไป ทางวารสารเภสัชวิทยายินดีเป็นศูนย์กลางการแลกเปลี่ยนข่าวสารในหมู่สมาชิก หน่วยงานใดที่มีกิจกรรมทางวิชาการด้านเภสัชวิทยาและมีความประสงค์จะอาศัยวารสารเภสัชวิทยานี้ให้ช่วยประชาสัมพันธ์ บอกกล่าวแก่หมู่สมาชิก ทางกองบรรณาธิการก็ยินดีทำให้โดยไม่คิดมูลค่า โดยขอให้ท่านส่งข้อความที่ประชาสัมพันธ์มาได้ที่บรรณาธิการตามที่อยู่ที่ให้ไว้ หรือส่งเมลล์มาที่ supatrasri@hotmail.com

น่าเสียดายที่เว็บไซต์ของทางสมาคมที่เคยมีอยู่ระยะหนึ่งนั้น ยังไม่สามารถดำเนินการได้อย่างต่อเนื่องอีกในปัจจุบัน โครงการวารสารทางอิเล็กทรอนิกส์จึงยังไม่สามารถมีขึ้นได้ดังที่เคยมี ต้องขออภัยมานะที่นี้ หวังว่าสักวันหนึ่ง เว็บไซต์ของสมาคมเภสัชวิทยาอาจได้กลับมาอีกครั้ง

รศ.ดร.สุพัตรา ศรีไชยรัตน์
บรรณาธิการ

ขอเรียนเชิญท่านสมาชิกสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย
และทุกท่านที่สนใจ
ลงทะเบียนเข้าร่วมประชุมใน

**ประชุมวิชาการฉลองครบรอบ 25 ปี
สมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย**

วันที่ 20-21 มีนาคม 2546

ณ. โรงแรมเอเชีย ถนนพญาไท เขตราชเทวี กรุงเทพฯ

ติดต่อสอบถามรายละเอียดได้ที่

รศ.ดร.ศรีจันทร์ พรจิราศิลป์

นายกสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย

ภาควิชาเภสัชวิทยา

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ถนนศรีอยุธยา กทม.10400

โทรศัพท์/โทรสาร 02-6448700 e-mail: pyspc@mahidol.ac.th

หมายเหตุ

- การประชุมนี้สามารถสะสมหน่วยกิตการศึกษาต่อเนื่องได้
- มีของชำร่วยแจกสมาชิกของสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทยทุกท่านที่ลงทะเบียนล่วงหน้า

LETTER TO EDITORS

เรื่อง: การศึกษาชีวสมมูลของยา

(Bioequivalence study)

เรียน บรรณาธิการ

คำจำกัดความของคำที่เกี่ยวข้อง

Bioavailability หมายถึง อัตราและปริมาณยาที่เข้าสู่ร่างกาย หากคำนี้โดยใช้คำสัดส่วนของยาที่เข้าสู่ร่างกายเมื่อให้ยาโดยวิธีอื่น เช่น วิธีรับประทาน ฉีดเข้ากล้ามเนื้อ เปรียบเทียบกับเมื่อให้ยาโดยวิธีฉีดเข้าเส้นเลือดดำ

Bioequivalence (ชีวสมมูลของยา) หมายถึง ความเท่าเทียมกันของค่า bioavailability ของยาสามัญ (generic product) เปรียบเทียบกับยาต้นแบบ (innovator product)

Therapeutic equivalence หมายถึง ความเท่าเทียมกันทางประสิทธิผลการรักษาและความปลอดภัย

Pharmaceutical equivalence หมายถึงความเท่าเทียมกันทางเภสัชกรรม ในส่วนของความแรงของตัวยาสำคัญ รูปแบบของยาและการให้ยา

Dissolution หมายถึงการละลายและการปล่อยตัวยาสำคัญออกจากเม็ดยาหรือแคปซูลหรือยาเตรียมรูปแบบอื่น ๆ ที่ต้องการการละลายของตัวยา

Innovator product (original drug) คือยาต้นแบบที่ผลิตแรกเริ่มในโลก ซึ่งมักจะมีการจดสิทธิบัตรยา

Generic product คือยาสามัญเป็นชนิดและรูปแบบเดียวกับยาต้นแบบ แต่แหล่งผลิตหรือกระบวนการผลิตต่างจากยาต้นแบบ

ยาสามัญใหม่

การผลิตยาสามัญใหม่จะทำได้ต่อเมื่อยาต้นแบบหมดสิทธิบัตรคุ้มครองแล้ว โดยสอบถามจากเจ้าหน้าที่ อย. และกรมทรัพย์สินทางปัญญา จากนั้นจึงขออนุญาตผลิตตัวอย่างยา เพื่อพัฒนาสูตรตำรับยาและการวิเคราะห์ยา โดยนำ raw material (วัตถุดิบตัวยาสสำคัญ) มาทำเป็นรูปแบบยา (dosage form) เมื่อพัฒนาสูตรตำรับยาได้สำเร็จแล้ว จะต้องทำการศึกษาเภสัชกรรมสมมูล (pharmaceutical equivalence) ได้แก่ การหาเปอร์เซ็นต์ตัวยาตามที่ระบุ (% label amount), content uniformity, weight variation และการทดสอบการละลาย (dissolution test) ซึ่งมักจะดำเนินการตามมาตรฐานที่ระบุไว้ในเภสัชตำรับสากลโลก ได้แก่ USP23 ทั้งหมดนี้เป็นการประเมินคุณภาพของผลิตภัณฑ์ว่าทำการผลิตได้ผลออกมามีมาตรฐานเพียงใด แต่ครั้งที่ผลิตได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความสม่ำเสมอในความแรงของตัวยาสำคัญ น้ำหนักของผลิตภัณฑ์มีความสม่ำเสมอหรือไม่ เข้าเกณฑ์ที่ตั้งไว้หรือไม่ การตรวจสอบว่าบริษัทผู้ผลิตได้รับการรับรองมาตรฐานตาม GMP (good manufacturing practice) หรือไม่ อาจจะช่วยประกันคุณภาพได้ระดับหนึ่ง นอกจากตรวจสอบรายละเอียดจากผลการศึกษาเภสัชกรรมสมมูลในแต่ละครั้งที่ผลิต

การศึกษาเภสัชกรรมสมมูลเป็น *in vitro* study เท่านั้น ไม่สามารถบ่งชี้ชัดเจน

ได้ว่าเมื่อให้ยาเข้าร่างกายแล้ว ยาจะให้ผลการรักษาเท่าเทียมกับยาต้นแบบ (therapeutic equivalence) หรือไม่ เพราะยังมีแพคเตอร์อีกหลายแพคเตอร์ที่มีผลต่อการดูดซึมของยา และการกระจายตัวยาคู่เข้าสู่ร่างกาย ข้อมูลจากการศึกษาชีวสมมูลของยาในมนุษย์ (bioequivalence study) หรือการเปรียบเทียบผลการรักษาทางคลินิก (comparative clinical study) จึงจะเป็นตัวชี้ได้ว่ายาสามัญใหม่ที่เกิดขึ้นมาได้ผลการรักษาและมีความปลอดภัยเท่าเทียมกับยาต้นแบบ ซึ่งคณะกรรมการอาหารและยาประเทศไทย ได้ออกกฎข้อบังคับให้บริษัทผู้ผลิตยาสามัญใหม่จะต้องทำการพิสูจน์ชีวสมมูลของยา หรือศึกษา comparative clinical study ว่ายาที่ตนผลิตเทียบเท่ากับยาต้นแบบ จึงจะผ่านการขึ้นทะเบียนยา

โดยทั่วไปวิธีการที่ใช้พิสูจน์ว่ายาที่มีตัวยาคู่สำคัญ ขนาด และรูปแบบเหมือนกัน แต่ผลิตด้วยกรรมวิธีและผู้ผลิตต่างกัน ให้ผลการรักษาเท่าเทียมกัน (therapeutic equivalence) จึงจะสามารถใช้แทนกันได้นั้น มี 4 วิธี ดังนี้

1. วิธีเปรียบเทียบการศึกษาชีวสมมูลในมนุษย์ (*in vivo* bioequivalence)
2. วิธีเปรียบเทียบการศึกษาทางเภสัชพลศาสตร์ในมนุษย์ (pharmacodynamic studies)
3. วิธีเปรียบเทียบผลการรักษาทางคลินิก (comparative clinical studies)
4. วิธีเปรียบเทียบผลการศึกษาการละลาย/ปลดปล่อยตัวยาคู่ในหลอดทดลอง (*in vitro* dissolution/release profiles)

วิธีเปรียบเทียบข้อมูลทางชีวสมมูลในมนุษย์ (bioequivalence study) เป็นวิธีที่นิยมใช้กันมากเนื่องจากสามารถวัดการปลดปล่อยตัวยาคู่จากยาสำเร็จรูปจนกระทั่งถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดได้โดยตรง ส่วนวิธีเปรียบเทียบผลการทดสอบในหลอดทดลอง (dissolution test) สามารถใช้แทนการศึกษาชีวสมมูลในมนุษย์ได้ในบางกรณีเท่านั้น ซึ่งสะดวกรวดเร็วและประหยัดค่าใช้จ่าย

กรณีที่ต้องศึกษาชีวสมมูลในมนุษย์

1. ยาซึ่งมีหลักฐานหรือรายงานวิจัยที่เชื่อถือได้ ที่ระบุว่าให้ผลการรักษาไม่เท่าเทียมกับยาต้นแบบ
2. ยาที่มีดัชนีการรักษาแคบ (narrow therapeutic index)
3. ยาที่ออกแบบให้มีการปลดปล่อยตัวยาคู่ในลักษณะพิเศษแตกต่างไปจากรูปแบบปกติ เช่น sustained, controlled หรือ extended, prolonged และ delayed release
4. ยาซึ่งมีคุณสมบัติทางเคมี-ฟิสิกส์ ที่อาจทำให้ชีวประสิทธิผล (bioavailability) เปลี่ยนแปลง เช่น ตัวยาคู่สำคัญละลายได้น้อย การศึกษาการละลาย/ปลดปล่อยตัวยาคู่ในหลอดทดลองของยาสามัญต่างจากยาต้นแบบ สูตรตำรับยามีส่วนผสมบางชนิดที่อาจรบกวนการปลดปล่อยและดูดซึม
5. ยาซึ่งมีข้อมูลทางเภสัชจลนศาสตร์ (pharmacokinetics) แสดงว่าตัวยาคู่ถูกดูดซึมจากทางเดินอาหารบริเวณเฉพาะเจาะจง ตัวยาคู่ถูกดูดซึมได้น้อย และการดูดซึมมีความแปรปรวนสูง ยาถูกทำลาย

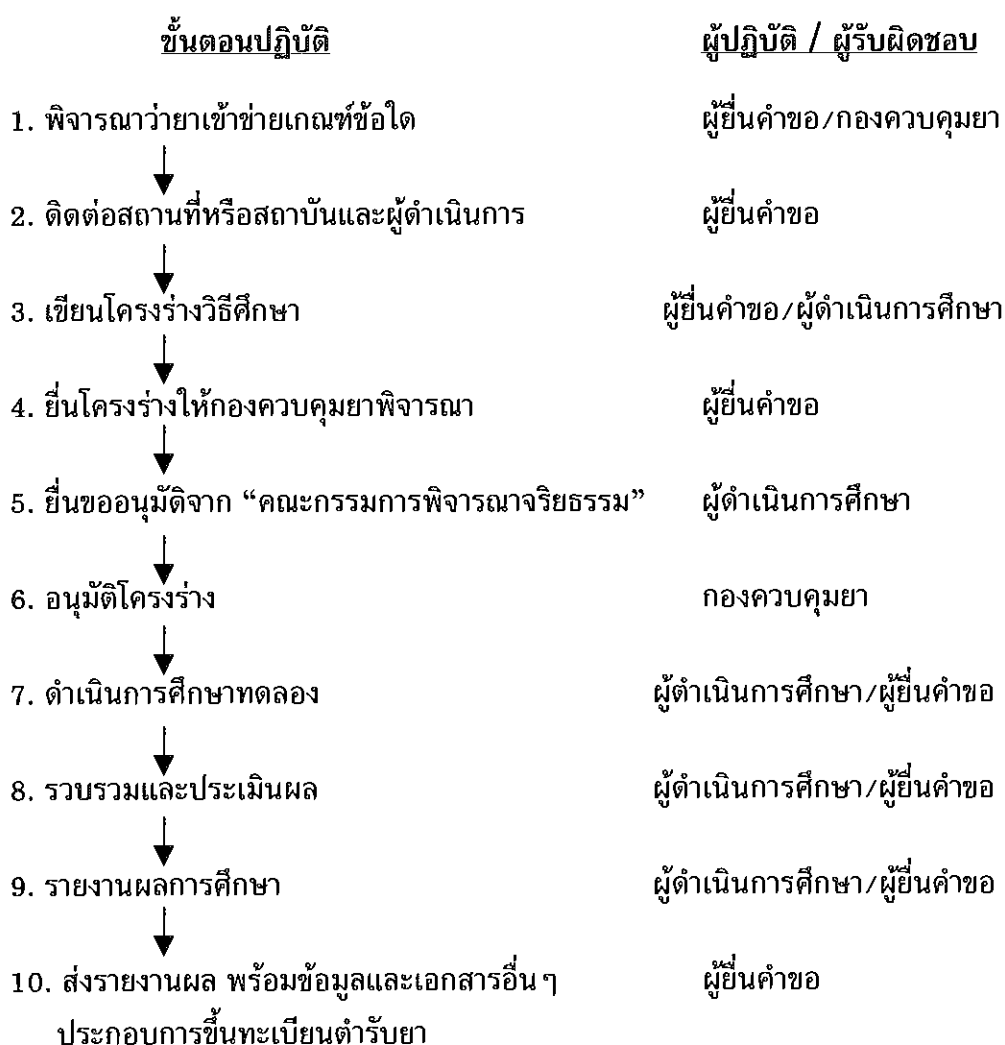
เป็นปริมาณมากในระบบทางเดินอาหาร หรือต่อก่อนเข้าสู่ระบบไหลเวียนโลหิต (extensively presystemic metabolism) เกสัชจลนศาสตร์ของยานั้นไม่สัมพันธ์เชิงเส้นตรงกับขนาดยาที่ใช้ (nonlinear pharmacokinetics)

6. ยาอื่น ๆ ซึ่งสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาพิจารณาเห็นสมควรให้ ศึกษาชีวสมมูลเพื่อยืนยันประสิทธิผล การรักษา

กรณีได้รับยกเว้น ไม่ต้องยื่นผลการ ศึกษาชีวสมมูลในมนุษย์ หรือ ผลการศึกษา การละลาย/ปลดปล่อยตัวยาในหลอดทดลอง

1. ยาในรูปสารละลายปราศจากเชื้อสำหรับ ใช้ทางหลอดเลือด
2. ยาสำหรับใช้ภายนอก
3. ยาที่ให้โดยไม่หวังผลการดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย เช่น ยาลดกรด (antacid) ยาถ่ายพยาธิ (anthelmintic) ยาหยอดตา

ขั้นตอนการปฏิบัติเพื่อการศึกษาชีวสมมูลของยา



- (ophthalmic preparation) ยาหยอดหู (otic preparation) สารทึบรังสี (radio-paque medium)
- ยาที่ให้โดยวิธีสูดดม ในลักษณะที่เป็น ก๊าซหรือไอระเหย (vapour) ที่มีความเท่าเทียมกันทางเภสัชกรรมกับยาต้นแบบ
 - ยาน้ำรับประทานในรูปสารละลายใส (oral solution) เช่น elixir, syrup, tincture ที่มีความเท่าเทียมทางเภสัชกรรมกับยาต้นแบบ
 - ยารูปแบบผง (powder) ซึ่งต้องทำเป็นสารละลายใสก่อนใช้
 - ยาอื่นๆ ซึ่งสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาพิจารณาแล้ว เห็นสมควรได้รับยกเว้นการศึกษาชีวสมมูลในมนุษย์

การศึกษาชีวสมมูลของยา (Bioequivalence study)

ใช้อาสาสมัครชายไทย สุขภาพดี อายุระหว่าง 18-45 ปี จำนวนอาสาสมัครต้องไม่ต่ำกว่า 12 คน การออกแบบวิธีทดลองควรใช้วิธี randomized crossover โดยแบ่งกลุ่มอาสาสมัครออกเป็น 2 กลุ่มแบบสุ่ม ให้ได้รับยาต้นแบบและยาสามัญในการบริหารยาค้าวแรก จากนั้นเว้นระยะอย่างน้อย 5 เท่าของค่าครึ่งชีวิตของยานั้น (washout period) การบริหารยาครั้งที่ 2 อาสาสมัครจะได้รับยาอีกชนิดหนึ่งสลับกับค้าวแรก ทุกครั้งหลังการบริหารยาอาสาสมัครจะถูกเจาะเลือดตามเวลาดังแต่เริ่มให้ยาจนยาหมดจากร่างกาย มักจะเจาะเป็นเวลานานอย่างน้อย 3 เท่าของค่าครึ่งชีวิตของยานั้น นำตัวอย่างเลือด (มักจะใช้พลาสมาหรือซีรัม

ไม่ใช่ whole blood) ที่เก็บในแต่ละจุดเวลาไปวิเคราะห์หาระดับยา แล้วทำการวิเคราะห์ผลเปรียบเทียบค่าทางเภสัชจลนศาสตร์ระหว่างยาสามัญกับยาต้นแบบ โดยใช้ค่าระดับยาสูงสุดในพลาสมาหรือซีรัม (C_{max}) เวลาที่ระดับยาสูงสุด (T_{max}) และพื้นที่ใต้เส้นโค้งความสัมพันธ์ระหว่างระดับยาในเลือดกับเวลา ($AUC_{0-\infty}$) ซึ่งเป็นพารามิเตอร์สำคัญทางเภสัชจลนศาสตร์เป็นตัวเปรียบเทียบชีวสมมูลของยา และใช้หลักสถิติ ANOVA และ 90% confidence interval เป็นเครื่องตัดสินความแตกต่างของ C_{max} และ $AUC_{0-\infty}$ ของยาสามัญกับยาต้นแบบ

รศ. สุพีชา วิทย์เลิศปัญญา
ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์
จุฬาฯ

เอกสารอ้างอิง

- Shargel L, Yu A B. C. Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics 4th ed. Appleton & Lange, 1999: 247-279.
- หลักเกณฑ์และแนวปฏิบัติในการศึกษาชีวสมมูลของยาสามัญ (Criteria and Guideline for the Bioequivalence Study of Generic Drugs) กองควบคุมยา สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข พ.ศ. 2543
- คู่มือการปฏิบัติงานเกี่ยวกับการขึ้นทะเบียนตำรายาสามัญใหม่ (New Generic Drugs) งานยาใหม่ กองควบคุมยา สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข เมษายน 2544

RESEARCH ARTICLES

Subchronic Effects of Barakol on Blood Clinical Biochemistry Parameters in Rats Fed with Normal and High Cholesterol Diets

Rawiwan Maniratanachote¹, Pornpimol Kijsanayotin¹, Laddawal Phivthong-ngam², Watchareewan Thongsaard², Nuansri Niwattisaiwong¹ and Somsong Lawanprasert¹

¹Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

²Faculty of Medicine, Srinakharinwirot University, Bangkok, Thailand

Abstract

Subchronic effects of barakol, a major constituent in flowers and young leaves of *Cassia siamea* Lam., on blood clinical biochemistry parameters were investigated in this study. Thirty-two male Wistar rats were randomly assigned into 4 groups. The first two groups were fed with normal or high cholesterol diets serving as control groups. The other two groups were fed with normal or high cholesterol diet along with 30 mg/kg/day barakol given orally. After 90 days of treatment period, serum sample and whole blood of each rat were assessed for blood clinical biochemistry parameters and hematology. Normal or high cholesterol diet-fed rats treated with barakol demonstrated a significant decrease in TG but increases in total and direct bilirubins. A significant decrease in ALP was found in high cholesterol diet-barakol treated group, but there was no change in normal diet-barakol treated group. There were no significant effects of barakol on the following parameters: SGOT, SGPT, BUN, SCr, total cholesterol, LDL-C, HDL-C, LDL-C/HDL-C ratio, serum glucose, Hb, Hct, platelet count, WBC count and % differential WBCs in both dietary conditions. In addition, rats fed with high cholesterol diet showed significant increases in SGOT, SGPT, ALP, total cholesterol, LDL-C, and LDL-C/HDL-C ratio as compared to the normal diet group. The alterations of these parameters might indicate the different types of liver injury caused by barakol treatment and hypercholesterolemia condition. Further studies on the effects of various doses of barakol on blood clinical biochemistry parameters as well as the mechanisms of which barakol-induced liver injury are in progress.

Key words: barakol, *Cassia siamea* Lam., high cholesterol diet, blood clinical biochemistry parameters

ผลระยะกึ่งเรื้อรังของบาราคอลต่อค่าชีวเคมีคลินิกในเลือดของหนูขาวที่ได้รับอาหารปกติและอาหารคอเลสเทอรอลสูง

รวิวรรณ มณีรัตนโชติ¹, พรพิมล กิจสนาโยธิน¹, ลัดดาวัลย์ ผิวทองงาม², วัชรวิวรรณ ทองสะอาด², นวลศรี นิวัติชัยวงศ์¹, และสมทรง ลาวัณย์ประเสริฐ^{1,3}

¹ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ, ประเทศไทย

² คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ, กรุงเทพฯ, ประเทศไทย

³ ผู้วิจัยที่สามารถติดต่อได้ E-mail address: lsomsong@chula.ac.th

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาถึงผลระยะกึ่งเรื้อรังของบาราคอล ซึ่งเป็นสารสำคัญในดอกและใบอ่อนของชี่เหล็ก (*Cassia siamea* Lam.) ต่อค่าชีวเคมีคลินิกในเลือด หนูขาวเพศผู้พันธุ์วีสตาร์ จำนวน 32 ตัวถูกแบ่งโดยการสุ่มออกเป็น 4 กลุ่ม สองกลุ่มแรกเป็นกลุ่มควบคุมที่ได้รับอาหารปกติ และอาหารคอเลสเทอรอลสูง ส่วนอีกสองกลุ่มที่เหลือได้รับอาหารปกติ และอาหารคอเลสเทอรอลสูงร่วมกับบาราคอลโดยการป้อนทางปากในขนาด 30 มก/กก/วัน หลังจากครบระยะเวลา 90 วัน นำตัวอย่างซีรัมและเลือดของหนูขาวแต่ละตัวมาวัดค่าชีวเคมีคลินิก และค่าโลหิตวิทยา ตามลำดับ ผลการทดลองพบว่าหนูขาวที่ได้รับอาหารปกติ และอาหารคอเลสเทอรอลสูงร่วมกับบาราคอลมีค่า TG ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ แต่พบว่าค่า total และ direct bilirubin เพิ่มขึ้น พบการลดลงอย่างมีนัยสำคัญของค่า ALP ในกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเทอรอลสูงร่วมกับบาราคอล ไม่พบผลของบาราคอลต่อค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ดังต่อไปนี้: SGOT, SGPT, BUN, SCr, total cholesterol, LDL-C, HDL-C, อัตราส่วนของ LDL-C ต่อ HDL-C, serum glucose, Hb, Hct, platelet count, WBC count และ % differential WBCs ในหนูขาวกลุ่มที่ได้รับอาหารทั้งสองชนิด นอกจากนี้พบว่าหนูขาวที่ได้รับอาหารคอเลสเทอรอลสูงมีค่า SGOT, SGPT, ALP, total cholesterol, LDL-C, อัตราส่วนของ LDL-C ต่อ HDL-C สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับหนูขาวกลุ่มที่ได้รับอาหารปกติ การเปลี่ยนแปลงของค่าพารามิเตอร์เหล่านี้อาจชี้ให้เห็นถึงลักษณะที่แตกต่างกันของการบาดเจ็บของตับอันเนื่องมาจากการได้รับบาราคอล และภาวะคอเลสเทอรอลสูง ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงผลในขนาดต่างๆ ของบาราคอลต่อค่าชีวเคมีคลินิกในเลือด รวมถึงกลไกการเกิดพิษต่อตับที่เหนี่ยวนำโดยบาราคอลต่อไป

กุญแจคำ: บาราคอล, ชี่เหล็ก, อาหารคอเลสเทอรอลสูง, ค่าชีวเคมีคลินิกในเลือด

Introduction

Cassia siamea Lam. is a plant in family Leguminosae¹ that is generally grown in tropical countries. In Thailand, flowers and young leaves of this plant have been used as a sleeping aid, increase appetite as well as an ingredient in Thai food recipe. In 1949, Arunlaksana found that crude ethanol extract of *C. siamea* leaves decreased movement and activity in animals but not sleep despite being given at high doses². The major constituent in flowers and young leaves of *C. siamea*, barakol, was first extracted by Hassanali *et al* in 1969³. Barakol (C₁₃H₁₂O₄) has a chemical name of 3 α ,4-dihydro-3 α ,8-dihydroxy-2,5-dimethyl-1,4-dioxaphenalene or 2,5-dimethyl-3 α H-pyrano-[2,3,4-de]-1-benzopyran-3 α ,8-diol (Figure 1)⁴. The physical characteristics of this compound are pale yellow needle crystals with boiling point of 165°C³. A proposed synthesis of barakol was described by Bycroft *et al.* in 1970⁵. Subsequently, pharmacological and physiological properties as well as toxicity of barakol were studied continuously, including the effects on central nervous system, cardiovascular system and antimicrobial effect, as summarized by Thongsaard⁶.

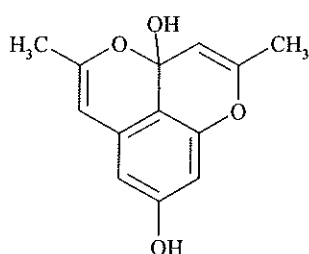


Figure 1 Chemical structure of barakol (3 α ,4-dihydro-3 α ,8-dihydroxy-2,5-dimethyl-1,4-dioxaphenalene)

Following intraperitoneal administration of barakol to mice in an acute toxicological study, it was found that barakol possessed a median convulsant dose, CD₅₀, of 296.71 mg/kg and a median lethal dose, LD₅₀, of 324.09 mg/kg⁷. Acute hepatitis was reported in patients at

Phramongkutklao and Chulalongkorn Memorial Hospitals in 1999 when 20-40 mg/day of *C. siamea* capsules were taken for 7-60 days⁸.

Recent pharmacological study has focused on the anticarcinogenic and anti-mutagenic effects of *C. siamea* leaves. Interestingly, it was found that hexane, chloroform and methanol extracts of flowers and young leaves of *C. siamea* protected rats against aflatoxin B₁-induced mutagenesis⁹. Moreover, the chloroform and methanol extracts prevented mutagenesis induced by benzo(a)pyrene⁹. This group of researchers also studied the effects of *C. siamea* leaves on hepatic drug-metabolizing enzymes in rats. Feeding rats with 5% dietary *C. siamea* leaves for 14 days resulted in a significant increase in phase II detoxifying enzyme activities including GST and uridine 5'-diphosphoglucuronosyltransferase (UDPGT), along with a decrease of some bioactivating enzyme activities in the CYP systems such as aniline 4-hydroxylase and aminopyrine N-demethylase¹⁰.

Since subchronic toxicity of barakol has not yet been reported, blood clinical biochemistry parameters in rats were investigated in this study. In addition, barakol was shown to possess an advantage on the cardiovascular system such as hypotensive effect in both systolic and diastolic blood pressure in rats and cats, reduction in the contraction of isolated rat thoracic aorta induced by phenylephrine¹¹, and reduction of heart rate in anesthetized rats¹². Hypercholesterolemia is a risk factor of atherosclerosis, which is generally associated with almost cases of cardiovascular disease¹³. Therefore, this experiment was performed in rats fed with normal or high cholesterol diet to study the lipid-lowering effects of this compound as well.

Materials and Methods

Barakol solution

Barakol was extracted by Assist. Prof. Dr. Watchareewan Thongsaard, Department of Physiology, Faculty of Medicine, Srinakharinwirot University,

Thailand. Briefly, fresh young leaves of *C. siamea* were cut into small pieces and boiled with 0.5% sulfuric acid. The water extract was alkalized with concentrated sodium hydrogen carbonate solution, further extracted with chloroform, shaken with 5% aqueous acetic acid until colorless, neutralized with concentrated ammonia solution, and cooled. Crude crystallized barakol (greenish yellow) was added with concentrated hydrochloric acid and dried immediately with filtrated vacuum. The obtained crystallized-yellow needles was anhydrobarakol hydrochloride (MW 251.4)⁴. The administrated solution was freshly prepared by dissolving anhydrobarakol hydrochloride in distilled water to make a concentration of 30 mg/ml. The solution appeared greenish yellow in color and was reported to be stable for about 1 hour after preparation⁴.

Animals

Thirty-two male Wistar rats weighing between 200-250 g were obtained from the National Laboratory Animal Center, Mahidol University, Salaya, Nakornprathom, Thailand. Animals were kept in animal care facility at Srinakharinwirot University, Bangkok, Thailand and acclimatized for at least 1 week before the experiment. All animals were allowed free access to food (S.W.T. Ltd., Thailand) and drinking water. Light/dark period and temperature were controlled at 12/12 hour cycle and 25°C, respectively. During the time of experimentation, body weight of each rat was recorded every 2 weeks.

Animal treatment

Rats were randomly assigned into 4 treatment groups fed orally with 1) normal diet, 2) high cholesterol diet, 3) normal diet with 30 mg/kg/day barakol, and 4) high cholesterol diet with 30 mg/kg/day barakol for 90 days. High cholesterol diet composed of 1% cholesterol diet mixed with 2% sodium choleate.

At the end of the treatment period, the animals were fasted for 10 hours before anesthetized intraperitoneally with

0.6 - 1 ml of pentobarbital sodium (Nembutal®). Blood was drawn from the left ventricle for an approximate volume of 5 ml. Five hundred microlitre of whole blood was transferred to a microtube containing a few grains of EDTA sodium and mixed thoroughly. The remaining blood was transferred to another tube, allowed to stand in a slope posture in order to collect the highest amount of serum and kept at - 4°C until the time of analysis. Whole blood and serum were investigated for the hematology and blood clinical biochemistry parameters, respectively. Meanwhile, the liver was also removed and weighed.

Determination of blood clinical biochemistry parameters

Serum samples of individual rat were measured for the following parameters using specific test kits: serum glutamic oxaloacetic transaminase (SGOT), serum glutamic pyruvic transaminase (SGPT) and alkaline phosphatase (ALP) (Enzyline®, bioMérieux sa), total and direct bilirubin (Bili-T/D®, Mérieux Vitek Inc.), blood urea nitrogen (BUN) (Urée cinétique UV®, bioMérieux sa), serum creatinine (SCr) (Créatinine cinétique®, bioMérieux sa), total cholesterol (Cholestérol RTU®, bioMérieux sa), triglyceride (TG) (Triglycérides Enzymatique PAP 150®, bioMérieux sa), glucose (Glucose RTU®, bioMérieux sa), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) (LDL-C Plus®, Roche) and high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) (HDL-C Plus®, Roche). Whole blood samples were measured for hemoglobin (Hb), hematocrit (Hct), platelet count, white blood cell (WBC) count and % differential WBCs.

Statistics

All numeric data were presented as mean ± SE. Statistical analysis was run on SPSS for Window version 7.5. Independent-samples *t* test was used for comparisons between the two groups at a significant level of $p < 0.05$.

Results

Barakol had no effects on body weight gain (Figure 2), terminal body weight, liver weight and relative liver weight in both normal diet and high cholesterol diet rats (Table 1). However,

high cholesterol diet rats comparing with normal diet control rats showed a significant increase of liver weight (16.32 ± 1.02 vs. 10.36 ± 0.23 ; $p < 0.05$) and relative liver weight (3.55 ± 0.24 vs. 2.34 ± 0.08 ; $p < 0.05$).

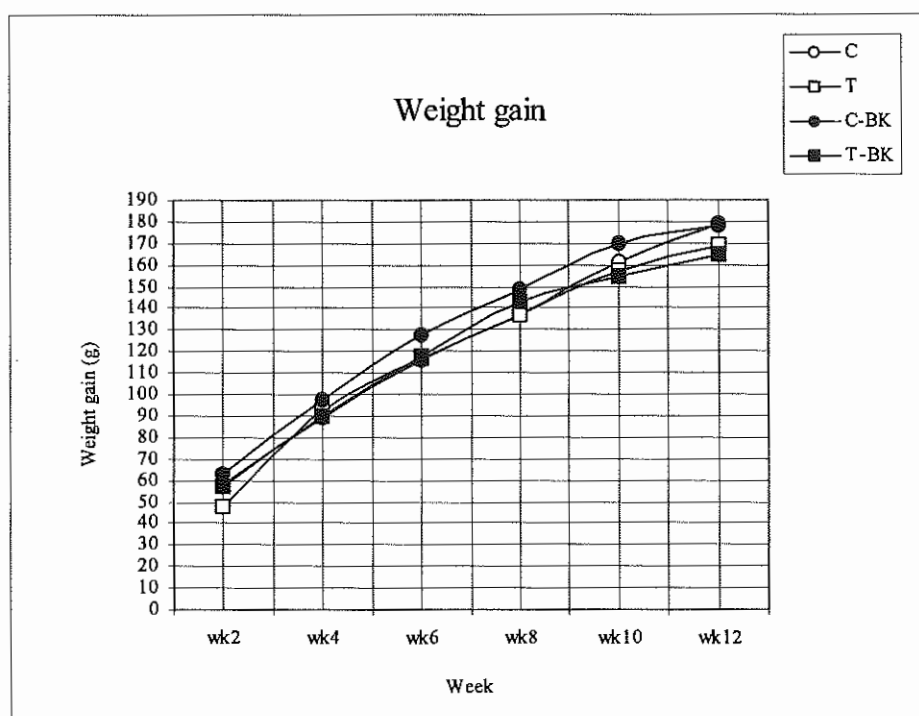


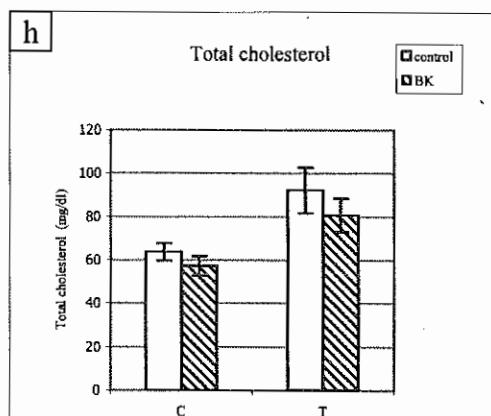
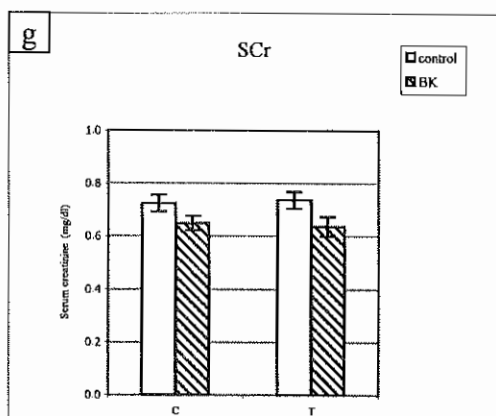
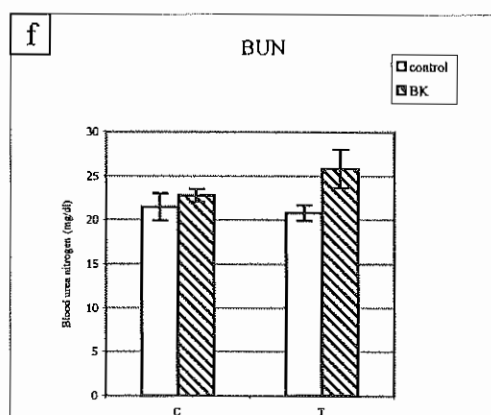
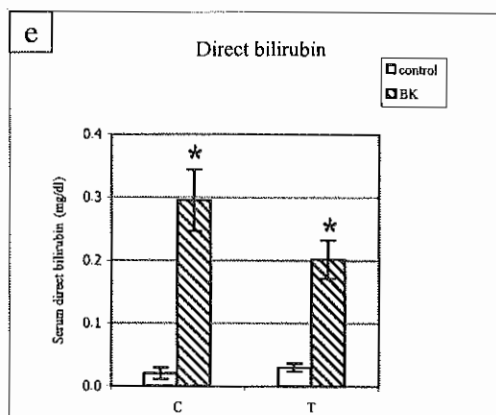
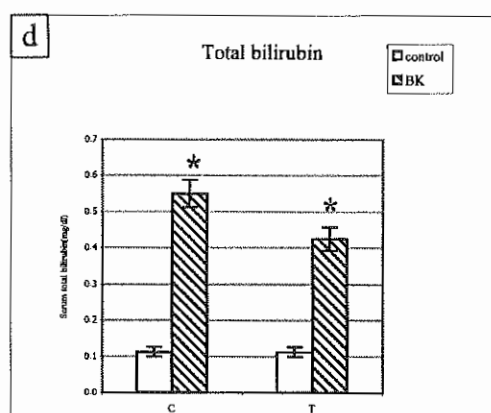
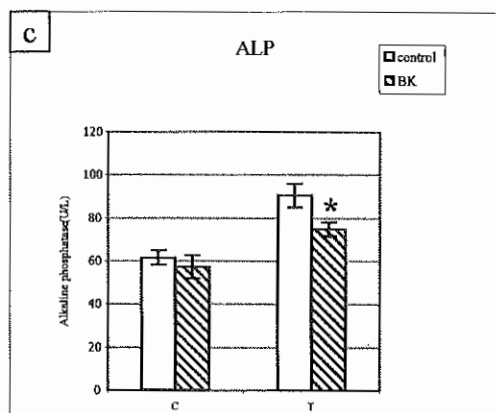
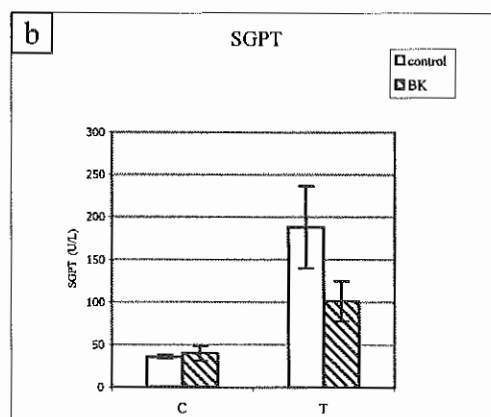
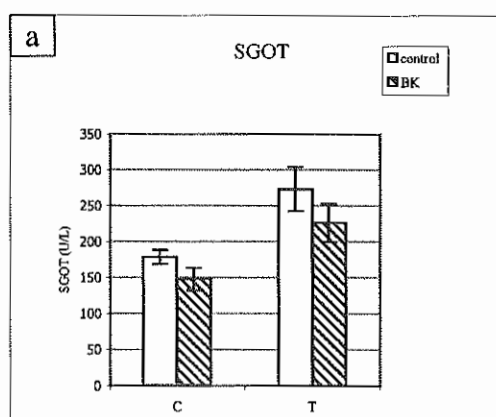
Figure 2 Subchronic effects of barakol on body weight gain

Rats were given normal diet (C), high cholesterol diet (T), normal diet with oral barakol 30 mg/kg/day (C-BK) and high cholesterol diet with oral barakol 30 mg/kg/day (T-BK) for 90 days. Body weight gain of each rat was recorded every two weeks. The statistical analysis was performed using independent-samples *t* test for comparisons between the two groups (C-BK vs. C and T-BK vs. T) at a significant level of $p < 0.05$.

Table 1 Subchronic effects of barakol on terminal body weight, liver weight and relative liver weight

	Group			
	C	C-BK	T	T-BK
Terminal body weight (g)	444 ± 11	426 ± 14	463 ± 16	422 ± 22
Liver weight (g)	10.36 ± 0.23	10.29 ± 0.60	16.32 ± 1.02	16.29 ± 1.25
Relative liver weight (% of body weight)	2.34 ± 0.08	2.41 ± 0.11	3.55 ± 0.24	3.82 ± 0.15

Rats were given normal diet (C), high cholesterol diet (T), normal diet with oral barakol 30 mg/kg/day (C-BK) and high cholesterol diet with oral barakol 30 mg/kg/day (T-BK) for 90 days. The statistical analysis was performed using independent-samples *t* test for comparisons between the two groups (C-BK vs. C and T-BK vs. T) at a significant level of $p < 0.05$.



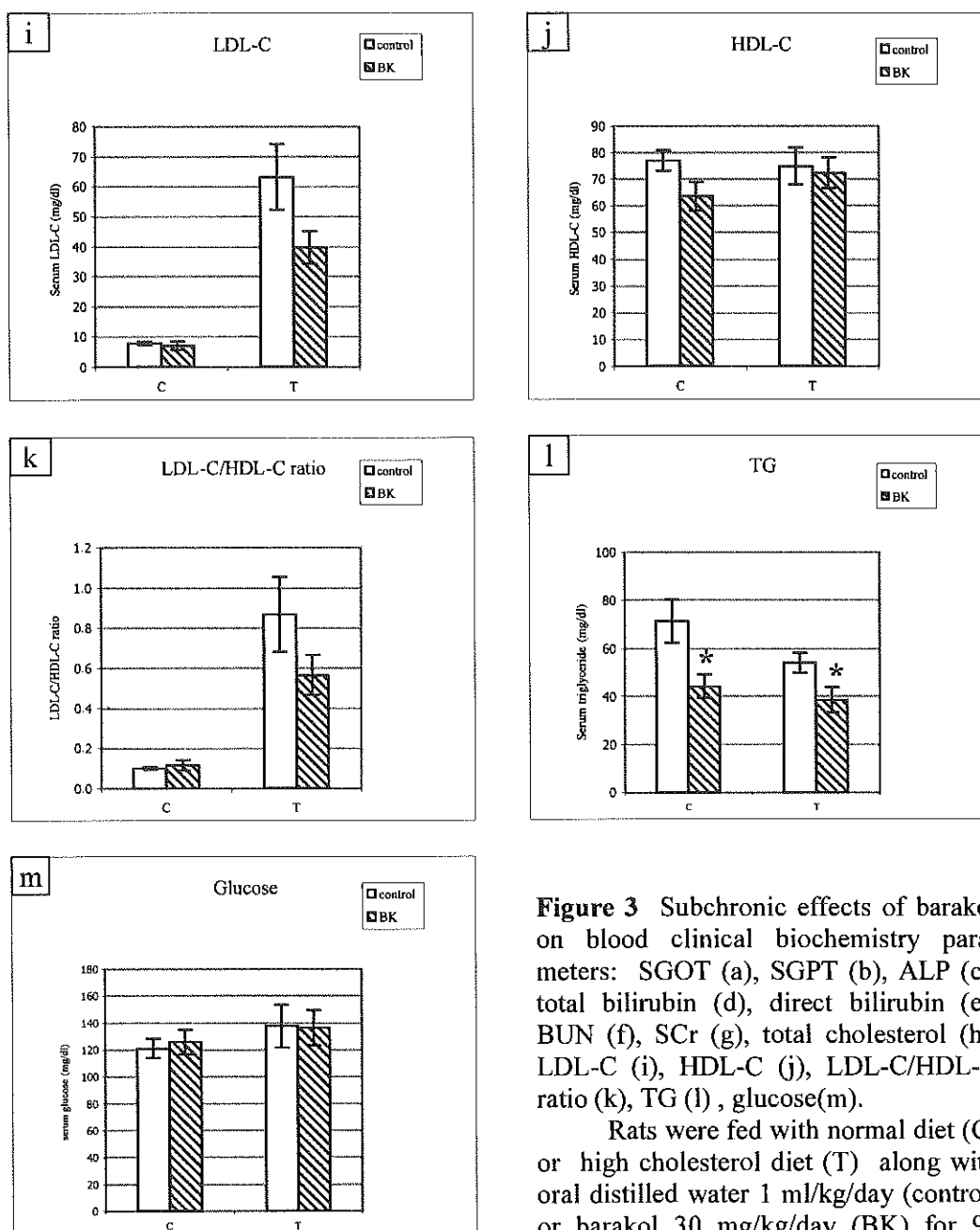


Figure 3 Subchronic effects of barakol on blood clinical biochemistry parameters: SGOT (a), SGPT (b), ALP (c), total bilirubin (d), direct bilirubin (e), BUN (f), SCr (g), total cholesterol (h), LDL-C (i), HDL-C (j), LDL-C/HDL-C ratio (k), TG (l), glucose (m).

Rats were fed with normal diet (C) or high cholesterol diet (T) along with oral distilled water 1 ml/kg/day (control) or barakol 30 mg/kg/day (BK) for 90 days. The statistical analysis was done by using independent-samples t test for comparisons between the two groups at a significant level of $p < 0.05$.

* significantly different from the corresponding diet control groups.

Table 2 Subchronic effects of barakol on hematology

Hematology	Group			
	C	C-BK	T	T-BK
Hb	14.53 ± 0.40	14.86 ± 0.42	13.88 ± 0.25	14.32 ± 0.28
Hct	44 ± 1	44 ± 1	42 ± 1	43 ± 1
Platelet count	329 ± 51	314 ± 26	346 ± 18	331 ± 23
WBC count	1.53 ± 0.27	1.91 ± 0.19	1.94 ± 0.34	1.90 ± 0.44
% differential WBCs				
- Neutrophil	29 ± 2	23 ± 2	24 ± 5	24 ± 4
- Leucocyte	69 ± 2	72 ± 2	72 ± 4	73 ± 3
- Monocyte	2 ± 0	4 ± 2	2 ± 1	2 ± 0
- Eosinophil	1 ± 0	1 ± 0	1 ± 0	1 ± 0

Rats were given normal diet (C), high cholesterol diet (T), normal diet with oral barakol 30 mg/kg/day (C-BK) and high cholesterol diet with oral barakol 30 mg/kg/day (T-BK) for 90 days. Values perform as mean ± SE. The statistical analysis was performed using independent-samples *t* test for comparisons between the two groups (C-BK vs. C and T-BK vs. T) at a significant level of $p < 0.05$.

Serum sample and whole blood of individual rat were measured for blood clinical biochemistry parameters and hematology, respectively. Subchronic exposure (90 days) of oral barakol 30 mg/kg/day in rats fed with normal and high cholesterol diets demonstrated a significant increase of both serum total and direct bilirubins (Figure 3d,3e) but a significant decrease of TG comparing with their corresponding control rats (Figure 3l). Barakol showed an advantageous effect on liver function of high cholesterol diet-fed rats as demonstrated by a decrease of ALP comparing with the corresponding control group (Figure 3c). There were no significant effects of barakol on the following parameters: SGOT, SGPT, BUN, SCr, total cholesterol, LDL-C, HDL-C, LDL-C/HDL-C ratio, glucose, Hb, Hct, platelet count, WBC count and % differential WBCs in both dietary conditions (Figure 3a-3b,3f-3k,3m) (Table 2).

Compared with normal diet rats, high cholesterol diet rats demonstrated significant increases of SGOT (274 ± 30 vs 179 ± 10 ; $p < 0.05$), SGPT (188 ± 48 vs. 36 ± 2 ; $p < 0.05$), ALP (91 ± 5 vs. 62 ± 3 ; $p < 0.05$), total cholesterol (92 ± 10 vs. $64 \pm$

4 ; $p < 0.05$), LDL-C (63 ± 11 vs. 8 ± 0.5 ; $p < 0.05$) and LDL-C/HDL-C ratio (0.868 ± 0.186 vs. 0.101 ± 0.006 ; $p < 0.05$). Markedly increases of SGPT and LDL-C/HDL-C ratio in high cholesterol diet rats accounted for about 5 and 9 fold, respectively, of those in the normal diet rats.

Discussion

Barakol, a major constituent in flowers and young leaves of *C. siamea*, was investigated for subchronic effects (90 days) on blood clinical biochemistry in rats fed with normal and high cholesterol diets. A study by Thongsaard and collaborators in 1996 indicated that barakol given intraperitoneally to rats at a dose of 10 mg/kg demonstrated an anxiolytic profile on the elevated plus-maze similar to that induced by diazepam. An increase in exploratory and locomotor behavior, which was not produced by diazepam, was also found at this dose of barakol¹⁴. This was an interesting advantage of barakol over benzodiazepines regarding its anxiolytic effect without sedation. However, at the higher doses (25 and 50 mg/kg, i.p.), barakol produced less effects on anxiolytic property and the decreased in exploratory and locomotor behavior were observed.

At very high dose (75 mg/kg, i.p.), lost an anxiolytic property but the sedative effect was found¹⁴. Sedation and antianxiety were indications of *C. siamea* capsules in clinical use. It may be traumatic for the animals to receive the drug i.p. for 3 months to investigate subchronic effect, oral route was used to study instead. Because of the effects of absorption and bioavailability of drugs, oral administration given lower plasma concentration than i.p. administration¹⁵. And due to no previous report on pharmacokinetic of barakol, the oral dose used in this study (30 mg/kg/day) was approximately expected to give the same degree of plasma concentration of i.p. dose with effectively anxiolytic effect (10 mg/kg).

Subchronic treatment of oral 30 mg/kg/day barakol demonstrated a marked increase of total and direct bilirubin in both normal diet- and high cholesterol diet-fed rats. These findings were consistent with those studied in rats receiving dry *C. siamea* leaves at dosages of 200 and 2,000 mg/kg/day for 6 months¹⁶ as well as those reported in patients with history of taking 20-40 mg/day *C. siamea* capsules for 7-60 day at Phramongkutklao and Chulalongkorn Memorial Hospitals⁸. The elevation of serum levels of endogenous compounds that are normally concentrated in bile such as bile acid and bilirubin, is a useful biochemical marker indicating liver injury from biliary secretion defect defined as canalicular cholestasis¹⁷. Barakol did not cause an increase of SGOT, SGPT and ALP in both normal and high cholesterol diet-fed rats. This might be an implication that biliary secretion defect should be responsible for the liver injury induced by barakol at the dosages used in this study rather than an effect of barakol on hepatic parenchymal cells.

High cholesterol diet-fed rats demonstrated an increase of total cholesterol, LDL-C, LDL-C/HDL-C ratio along with an increase of SGOT, SGPT, ALP as well as the relative liver weight. There are two broad categories of liver injury commonly found, cholestasis and hepatocellular damage. Cholestasis is charac-

terized by a predominant elevation of ALP and gamma-glutamyltranspeptidase (γ -GT) whereas hepatocellular damage is detected by an elevation of hepatic parenchymal enzymes such as SGOT and SGPT¹⁸. It is likely that high cholesterol diet feeding is responsible for a mixed pattern of these abnormalities. Accompanying the increase of relative liver weight that indicates enlargement of the liver, an accumulation of fat in the liver might be involved in lipid induced liver injury in this group of animals.

Barakol seemed to possess an advantage on liver function as demonstrated by a decrease of ALP in high cholesterol diet group. In general, no single test such as aminotransferases, ALP and so on is satisfactory for the assessment of all forms of liver injury. The 4 major test categories recommended for evaluation of experimental hepatic injury in laboratory animals include serum hepatic enzyme tests, hepatic excretory tests, alterations in the chemical constituents of the liver and histologic analysis of liver injury¹⁹. Therefore, a decrease of serum ALP but not serum aminotransferases and bilirubin caused by barakol treatment in high cholesterol diet rats was not a clear indication regarding significant improvement of hepatic function.

According to the Frederickson/WHO classification of hyperlipoproteinemia, the pattern of elevations of LDL-C and total cholesterol (but not necessarily an increase of TG) is classified as Type IIa hyperlipoproteinemia in human that indicates high atherosclerosis risk²⁰. The high cholesterol diet rats in this study possessed all of those characteristics (elevation of total cholesterol, LDL-C, LDL-C/HDL-C ratio, but not TG) as mentioned in Type IIa hyperlipoproteinemia. Barakol (30 mg/kg/day) administration orally along with normal or high cholesterol diet caused only a significant decrease in TG, but showed no significant effects on total cholesterol, LDL-C, HDL-C and LDL-C/HDL-C ratio. This characteristic effect of barakol at the dose used in this study seemed to offer no advantage for this model of hyper-

cholesterolemia. This result was inconsistent with a previous study in which *C. siamea* leaves were given to rats at the dosage of 2,000 mg/kg/day for 6 months. They found that *C. siamea* leaves caused a significant decrease in serum cholesterol and triglyceride¹⁶. The differences of doses, duration of treatment or other constituents in *C. siamea* leaves may contribute to the lowering effects of the lipid profiles in serum.

In this study, barakol exhibited no significant effects on these following parameters: BUN, SCr, serum glucose, Hb, Hct, platelet count, WBC count and % differential WBCs. These findings provided a preliminary information that barakol given subchronically at the dose used in this study exhibited no toxic effects on renal function, carbohydrate metabolism and hemopoietic system. Further studies on the mechanisms of which barakol induced liver injury as well as effects of various doses of this compound on blood clinical biochemistry parameters should be performed.

Acknowledgements

This study was supported in part by the Ministry of University Affairs, Thailand and the Graduate School, Chulalongkorn University. I wish to thank Associate Professor Dr. Supatra Srichairat, Dr. Chanchai Hosanguan and Mr. Suriyaphongse Kulkeratiyut for their kind assistance. I also would like to thank all staff members of the Department of Pharmacology, Faculty of Pharmaceutical Sciences and the Faculty of Allied Health Sciences, Chulalongkorn University as well as all staff members of the Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Srinakharinwirot University for their help.

References

1. Smitinand T. *Thai plant names*. rev ed. Thailand: The Forest Herbarium, Royal Forest Department, 2001.
2. อุไร อรุณลักษณ์. การศึกษาเภสัชวิทยาของ ใบชี้เหล็ก. *สารศิริราช* 2492;1:434-444.
3. Hassanali A, King TJ, Wallwork SC. Barakol, a novel dioxaphenylene derivative from *Cassia siamea*. *Chem. Comm.* 1969; 678.
4. Thongsard W, Shainakul S, Bennett GW, et al. Determination of barakol extracted from *Cassia siamea* by HPLC with electrochemical detection. *Journal of Pharmaceutics and Biomedical Analysis* 2001; 25: 853-859.
5. Bycroft BW, Hassanali-Walji A, King TJ. The structure and synthesis of barakol: a novel dioxaphenylene derivative from *Cassia siamea*. *J. Chem. Soc. (c)* 1970: 1686-1689.
6. Thongsard W. Physiological and pharmacological properties of *Cassia siamea* and its active constituent, barakol. *Thai J. Physiol. Sci.* 1998; 11(1): 1-26.
7. Jantarayota P. *Effect of barakol extracted from leaves of Cassia siamea Lam. on central nervous system*. Master's Thesis, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, Bangkok, 1987.
8. สมบัติ ตรีประเสริฐสุข, มงคล หงษ์ศิรินิชร, อนุชิต จูทะพุทธิ. ภาวะตับอักเสบจากสมุนไพร "ชี้เหล็ก" บทเรียนเพื่อการพัฒนาสมุนไพรไทย. *คลินิก* 2543;16:385-390.
9. Kusamran WR, Tepsuwan A, Kupradinun P. Antimutagenic and anticarcinogenic potentials of Thai vegetables. *Mutation Research* 1998; 402: 247-258.
10. Tepsuwan A, Kupradinun P, Kusamran WR. Effect of Siamese cassia leaves on the activities of chemical carcinogen metabolizing enzymes and on mammary gland carcinogenesis in the rat. *Mutation Research* 1999; 428: 363-373.
11. Suwan G, Sudsuang R, Dhamma-upakorn P, et al. Hypertensive effects of barakol extracted from leaves of *Cassia siamea* Lam. in rats and cats. *Thai J. Physiol. Sci.* 1992; 5: 53-65.
12. Smith D. Cardiovascular disease: a historic perspective. *Jpn. J. Vet. Res.* 2000; 48 (2-3): 147-166.
13. Elisaf M. The treatment of coronary heart disease: An update. Part 1: An overview of the risk factors for cardiovascular disease. *Curr. Med. Res. Opin.* 2001; 17(1): 18-26.
14. Thongsard W, Deachapunya C, Pongsakorn S, et al. Barakol: a potential anxiolytic extracted from *Cassia siamea*.

- Pharmacol. Biochem. Behav.* 1996; 53 (3): 753-758.
15. Shargel L, Yu Andrew BC, editors. Applied biopharmaceutics and Pharmacokinetics. 4th ed. USA: Appleton&Lange, 1999.
 16. ปราณี ขวลิตรธำรง, ทรงพล ชีวะพัฒน์, เอมมนัส อัดตวิชัย และคณะ. การศึกษาพิษเรื้อรังของใบขี้เหล็กในหนูขาว. การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์การแพทย์แห่งชาติ: พันธมิตรร่วมใจกระบวนการนวัตกรรมใหม่เพื่อการวิจัยและพัฒนา 2544. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์.
 17. Melson MT. Toxic responses of the liver. In: Klaassen CD, editor. *Casarett & Doull's toxicology: The basic science of poisons*. 5th ed. pp.403-416. USA: McGraw-Hill, 1995.
 18. Norris S. Drug- and toxin-induced liver disease. In: O'Grady JG, Lake JR, Howdle PD, editors. *Comparative clinical hepatology*. pp.29.1-29.20. Basildon, UK: Harcourt, 2000.
 19. Plaa GL, Hewitt WR. Detection and evaluation of chemically induced liver injury. In: Hayes AW, editor. *Principles and methods of toxicology*. 2nd ed. pp.559-508. New York: Raven Press, 1989.
 20. Rang HP, Dale MM, Ritter JM, editors. Control of lipoprotein metabolism. In: *Pharmacology*. 3rd ed. pp.323-331. USA: Churchill livingstone, 1995.

การประชุมวิชาการความก้าวหน้าทางเภสัชวิทยา ครั้งที่ 7
เรื่อง "เภสัชวิทยาของยาใหม่"
ณ ห้องประชุม อาคารเทพรัตน์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
วันที่ 13-14 พฤษภาคม 2546
10 หน่วยกิตการศึกษาต่อเนื่อง

วันที่ 13 พฤษภาคม 2546

- Gene manipulations as a tool for therapeutics
- Pharmacogenomics: overview and its impact on drug therapy
- Confronting bioterrorism: major agents and treatment of the victims
- Recent advances in the field of quinolones

วันที่ 14 พฤษภาคม 2546

- Update on drugs used in glaucoma
- Therapeutic significance of SERMS
- New insights into the pharmacology of antioxidants
- Dementia : Update on the pharmacologic rationale for treating dementia, nonpharmacologic treatment of behavioral disturbances, pharmacologic management of behavioral and psychological symptom.

หน่วยงานที่รับผิดชอบ : ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
โทรศัพท์ 02-6448677-91 ต่อ 5630, 5631

การลงทะเบียน

ค่าลงทะเบียน (รวมค่าเอกสาร ค่าอาหารกลางวันและค่าน้ำชา)

(ภายในวันที่ 2 พฤษภาคม 2546) 1,500 บาท

(หลังจากวันที่ 2 พฤษภาคม 2546) 1,800 บาท

- ชำระเป็นเงินสด ที่งานคลังและพัสดุ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล หรือ

- โอนเงินเข้าบัญชีธนาคารไทยพาณิชย์ สาขารามาธิบดี ประเภท ออมทรัพย์

ชื่อบัญชี การประชุมวิชาการ คณะเภสัชศาสตร์ เลขที่บัญชี 026-2-98007-0

กรุณา Fax ใบนำฝากของธนาคาร (pay in) มาที่ โทรสาร 02-2457876, 02-2474696

พร้อมส่งใบสมัคร มาที่งานคลังและพัสดุ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ถนนศรีอยุธยา

กรุงเทพฯ 10400 โทรศัพท์ 02-6448677-9 ต่อ 1106, 1107 โทรสาร 02-2457876,

02-2474696

RESEARCH ARTICLES

Modified Method for Serum Paraxanthine/Caffeine Ratio: An Index of CYP1A2 Activity

Yaowarat Hinsui, Supeecha Wittayalertpanya

Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand.

Abstract

The ratio of paraxanthine/caffeine is generally used to be an index of CYP1A2 activity. The assay of serum paraxanthine/caffeine ratio was modified from the method of Koch J.P. et al. The validation of a reverse phase high performance liquid chromatography (HPLC) method with UV detection for both paraxanthine and caffeine in serum was described. The optimum time of blood sampling after caffeine intake was detected in a pilot study. Each subject took a 180 mg single oral dose of caffeine solution. Blood samples were collected before and 1,2,3,4,5,6 and 8 hours after caffeine intake and analyzed further by HPLC. The assay validation was shown as these parameters. The lower limit of detection of the assay was 0.125 µg/ml and 0.25 µg/ml, for paraxanthine and caffeine, respectively. Accuracy expressed as % recovery, those range were 97.73 – 105.49 % and 95.84 – 100.63 %, for paraxanthine and caffeine, respectively. The precision expressed as relative standard deviation, the results were 2.88% and 5.25% for intraday and interday assay of paraxanthine, and 3.07% and 5.78% for intraday and interday assay of caffeine. Linearity of calibration curve of both were covered 0 – 8 µg/ml ($R^2 = 0.9999$). Serum samples were stable when stored at -70°C for 24 weeks. The best sampling time of serum paraxanthine/caffeine ratio was 5 hours after caffeine intake. This method is simplified and reliable for serum paraxanthine/caffeine ratio determination as an index of CYP1A2 activity.

Keywords : paraxanthine/caffeine ratio, CYP1A2, HPLC

ហើយក្នុងម្ខាងទៀត គេក៏ដឹងថា ‘គង់ក្នុង ក្រុងឧត្តរ’

[illegible][illegible]

Introduction

In vivo study, CYP 1A2 activity can be measured¹. Phenacetin, a substrate of CYP 1A2 was assayed for CYP1A2 activity in previous report, but it has carcinogenic activity². Presently, caffeine (1,3,7-trimethylxanthine:137X) is the most popular probe for CYP 1A2 activity determination because it has low toxicity^{3,4}. Biotransformation of caffeine is virtually confined to the liver and about 16 metabolites are excreted in urine^{1,5}. Caffeine undergoes demethylation to paraxanthine (1,7- dimethylxanthine:17X) as the major metabolite (84%) while others are minor metabolites (Fig.1)⁶.

CYP1A2 is the major enzyme for caffeine metabolism. A number of parameters based on caffeine metabolism have been selected as marker of CYP 1A2 activity, including caffeine breath test, urinary caffeine metabolites ratio and plasma or serum caffeine metabolites ratio^{1,7}. The first is tested by the measurement of ¹³CO₂ or ¹⁴CO₂ following a dose of caffeine labeled in the N3-methyl group⁶. The requirement for iso-

tope labeled and specialized equipment is needed to measure the labeled carbon-dioxide in exhaled air¹. The second is the determination of caffeine and its metabolites in urine after caffeine intake⁸. This method based on either secondary or tertiary metabolites, are not ideal indices of CYP1A2 activity because these metabolites are not exclusively formed by CYP1A2. Furthermore, these methods might vary substantially with factors such as urinary flow, inter-ethnic differences in renal function and sampling time of urine collection^{1,3}. The last one is the determination of caffeine and its metabolites in plasma or serum. Paraxanthine/caffeine ratio has been recognized as a good index for CYP1A2 activity because paraxanthine is a major metabolite and catalyzed by CYP1A2 only^{7,9}. In previous report^(3,4), blood samples were collected at 4 or 6 hours postdosing of caffeine in which a high level of paraxanthine appeared.

The main purpose of this study was to develop a high performance liquid chromatography (HPLC) method for the determination of paraxanthine and caffeine in serum. We detected the best sampling time for paraxanthine/caffeine ratio assay in a pilot study.

Material and method

Samples

Pool human sera were obtained from healthy volunteers who abstained from caffeine containing food and beverage 3 days. In pilot study, serum samples were collected from three female healthy volunteers who abstained from caffeine containing food and beverage 3 days and not exposed to compounds or drugs which interfering caffeine metabolism. Each subject took a 180 mg single oral dose of caffeine solution. Blood samples were subsequently collected at 1,2,3,4,5,6 and 8 hours after caffeine administration. The sera were separated and stored at -70 °C until analysis.

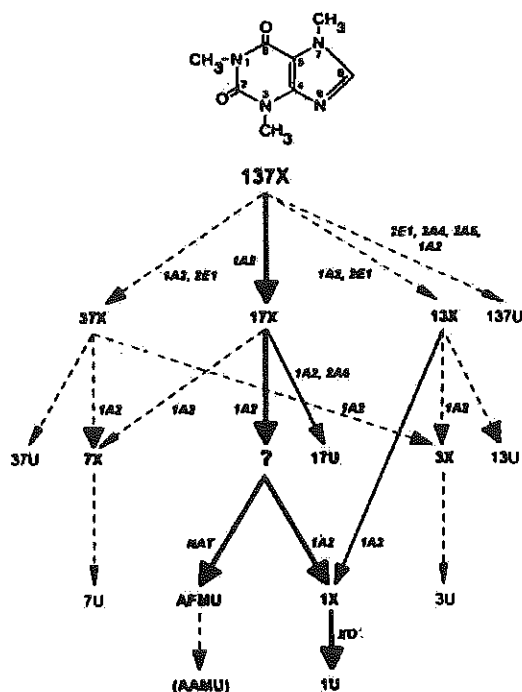


Figure 1 Metabolic pathway of caffeine

Reagents

Caffeine (anhydrous, BP grade, batch no71015), paraxanthine and 8-chlorotheophylline as the internal standard were obtained from Sigma Chemical Co.Ltd. Trichloroacetic acid and acetic acid were purchased from MERK, methyl alcohol HPLC grade from Lab Guard and acetonitrile HPLC grade from Scharlau Chemie S.A. Tetrahydrofuran was obtained from Farmitalia Carloerba. Double distilled water was used throughout this investigation.

Apparatus

HPLC apparatus from Spectra System Thermo Separation Products was consisted of a model P1000 for delivering the mobile phase, a model automatic injector AS 3000 for injection samples and UV detector with a model of UV 1000 used to monitor paraxanthine, caffeine and 8-chlorotheophylline at the wavelength of 273 nm. A μ bondapak C18 stainless steel column (30 cm, 3.9 mm, I.D. Water Associates) was suitable in the condition. A computer system with PC1000 software was used to analyse peak and set the standard system

Method

Serum samples

Stock standard solution of paraxanthine and caffeine were prepared and used to spike into the pool serum. The series of serum paraxanthine and caffeine standard concentration were 0 (blank serum), 0.5, 1, 2, 4 and 8 μ g/ml. Serum samples obtained from volunteers who took 180 mg of caffeine were prepared to assay.

Sample preparation

The sample preparation was modified from Koch J.P. et al¹⁰. Serum protein was precipitated before the samples injected into the chromatographic system. Procedure for preparing the sample was achieved by the following, 500 μ l of serum sample added with 200 μ l of internal standard, 500 μ l of methanol

and 500 μ l of 10% trichloroacetic acid. The sample was mixed on a vortex mixer for 1 minute and centrifuged at 4,000 rpm for 15 minute. 50 μ l of the supernatant was injected into the HPLC system.

Chromatographic condition

The mobile phase for paraxanthine and caffeine assay was the mixture of acetic acid, tetrahydrofuran, acetonitrile and water (1:3:40:456). The mixture was adjusted to pH 5.6 and filtrated over a Millipore filter before used in the assay. The mobile phase was delivered to HPLC system at flow rate 1.2 ml/min and UV wavelength 273 nm. Quantitation was based on peak area integration by software P1000 computer system.

Method validation

Analytical method validation was modified from the method described by Koch J.P et al¹⁰ and Guidance for industry: Bioanalytical method validation (U.S. Department of Health and Human Services FDA, CDER, CVM. May 2001, BP)¹¹.

The analytical method developed was validated to ensure the acceptability of the performance. The parameters determined are lower limit of detection, accuracy, precision, specificity, linearity and stability.

Statistical analysis

The statistical program was employed by computerization of the mean, standard deviation, percentage of relative standard deviation and linear regression analysis.

Result

Specificity

Chromatogram of paraxanthine, 8-chlorotheophylline (internal standard) and caffeine were shown in figure 2. The retention time of paraxanthine, 8-chlorotheophylline and caffeine were 8, 10.2 and 14.1 minute, respectively. All peaks were not disturbed from endogenous and solvent peak.

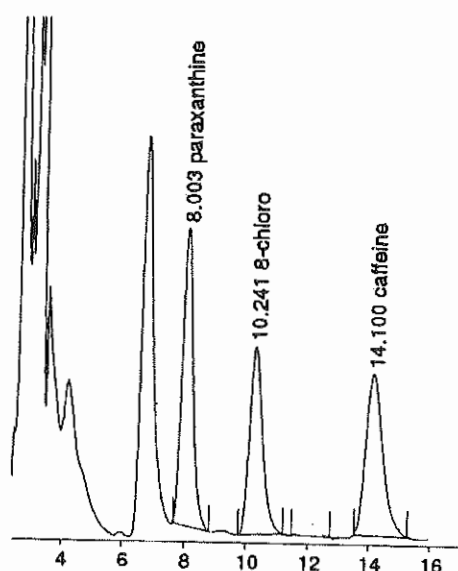


Figure 2 Chromatogram of serum paraxanthine, 8-chlorotheophylline and caffeine spiked in pool serum

Accuracy

The accuracy of the method for analysing paraxanthine and caffeine in serum was determined in terms of the percentage of analytical recovery averaged $100.63 \pm 4.24\%$ and $98.34 \pm 2.4\%$, respectively. The efficiency of

extraction procedure was expressed in term of the percentage of physical recovery. The average of percent physical recovery of paraxanthine and caffeine were $87.61 \pm 1.8\%$ and $91.17 \pm 2.01\%$, respectively. The recovery of both compound as shown in table 1.

Precision

The precision of this assay at different concentrations was represented by percent of relative standard deviation (%RSD). The averages %RSD of intra-day and inter-day of paraxanthine were 2.88% and 5.25%, respectively. The averages %RSD of intra-day and inter-day of caffeine were 3.07% and 5.78%, respectively. The precision of both compounds was shown in table 2.

Linearity

The calibration curve for the spiked paraxanthine and caffeine in pool serum was linear over the concentration range 0-8 $\mu\text{g/ml}$ and correlation coefficient (R^2) was 0.9999 and 0.9996, respectively, as shown in figure 3 and 4.

Table 1 Percent recovery of serum paraxanthine and caffeine assay at low, medium and high concentrations

Standard conc. $\mu\text{g/ml}$	%Physical recovery		%Analytical recovery	
	paraxanthine	caffeine	paraxanthine	caffeine
1	87.12 ± 4.85	89.14 ± 3.89	105.49 ± 5.1	98.56 ± 5.1
2	86.10 ± 9.01	91.2 ± 3.2	98.67 ± 9.19	95.84 ± 2.47
8	89.60 ± 8.46	93.16 ± 6.95	97.73 ± 7.05	100.63 ± 2.4
Average of % recovery	87.61 ± 1.8	91.17 ± 2.01	100.63 ± 4.24	98.34 ± 2.4

Table 2 Intra-day and inter-day precision of serum paraxanthine and caffeine assay at low, medium and high concentrations

Standard conc. $\mu\text{g/ml}$	Intra-day precision (%RSD)		Inter-day precision (%RSD)	
	paraxanthine	caffeine	paraxanthine	caffeine
1	3.85	4.89	6.08	9.24
2	0.74	1.72	7.91	3.06
8	4.06	2.6	1.77	5.32
Average of %RSD	2.88	3.07	5.25	5.78

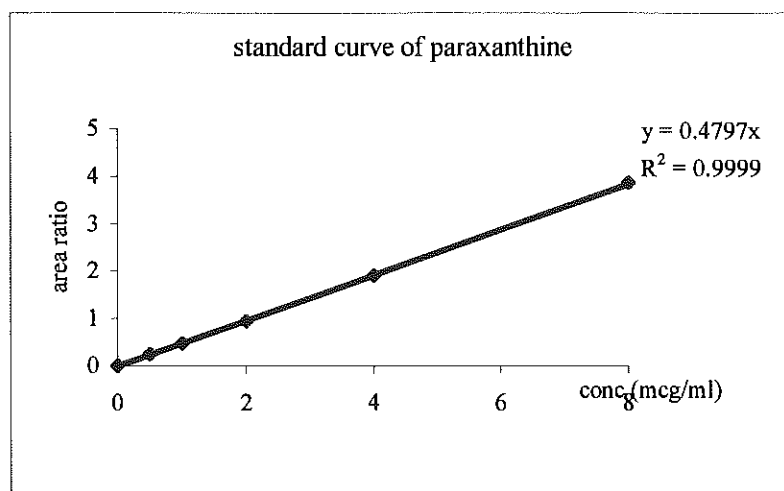


Figure 3 Standard curve of serum paraxanthine

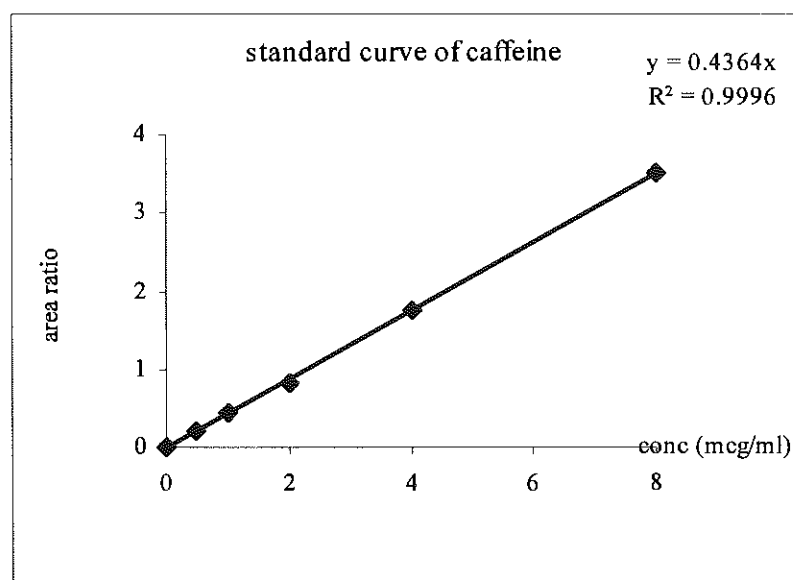


Figure 4 Standard curve of serum caffeine

Lower limit of detection

The lower limit of detection that can be assayed by this method is 0.125 µg/ml for paraxanthine and 0.25 µg/ml for caffeine.

Stability

The stability of paraxanthine and caffeine was determined at the concentration of 2 µg/ml and stored at -70 °C for 24 weeks. The area ratio of both

compounds at any storage time closed to the value at time 0, as shown in figure 5.

The appropriate time to determine paraxanthine/caffeine ratio was identified in normal volunteers. The level of paraxanthine and caffeine at before and after caffeine intake was shown in figure 6. At 5 hours after caffeine administration, paraxanthine level was as high as it could be determined. All subjects who took a 180 mg of caffeine did not manifest any adverse effects.

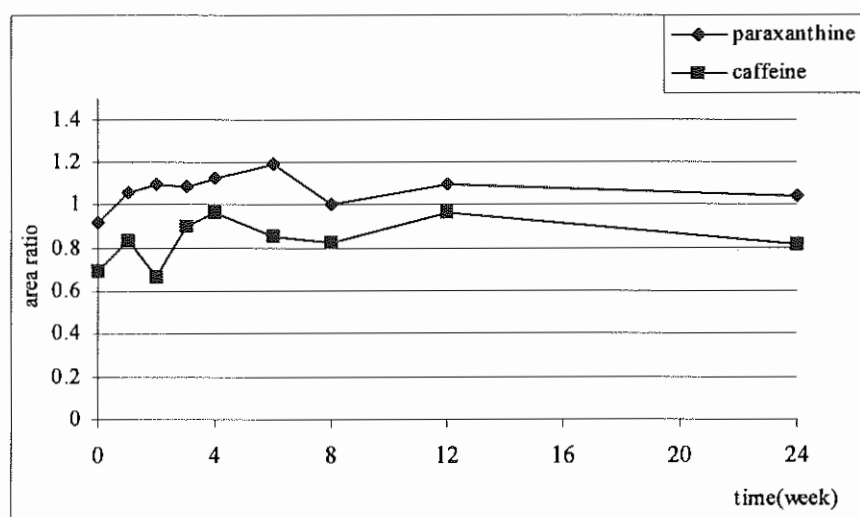


Figure 5 Stability of serum paraxanthine and caffeine at 2 µg/ml

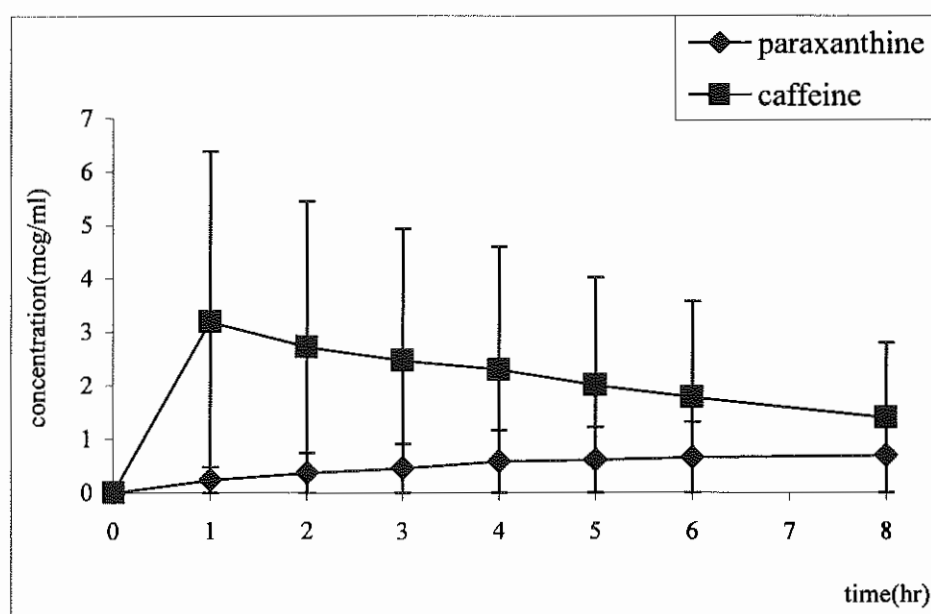


Figure 6 Average serum concentration of paraxanthine and caffeine at each time after caffeine administration in normal volunteers.

Discussion and conclusion

Caffeine is often used as a probe for CYP 1A2 activity.³ Paraxanthine is a major metabolite (84%) and catalyzed by CYP1A2¹. Serum paraxanthine/caffeine ratio was chosen to be an indicator of CYP1A2 activity. The determination of serum paraxanthine and caffeine using

HPLC was developed¹⁰. In this report, the method was modified to be simple and practical for routine assay. This modified method was validated following the bioanalytical standard method of validation¹⁰⁻¹¹.

It has been approved with the acceptance criteria of each standard parameter.

Lower limit of detections of both compounds are acceptable. Percent RSD of the detection was less than 20%¹¹. In general, percent RSD of intra-day and inter-day variation that present the precision of the method should not be exceed 10% and 15% respectively¹⁰⁻¹¹. The result shows good precision of both paraxanthine and caffeine determinations. With the accuracy of the assay, percent recovery should be within the limit of 80-120%¹¹. The result also presents good accuracy of both. Specificity indicated by the characteristic of chromatogram, paraxanthine, 8-chlorotheophylline and caffeine did not disturb by each other and other serum peaks. That shows good performance for determination of each standard in the same sample. The calibration curve of both were linear, R^2 closed to 1.0, and covered the range of paraxanthine and caffeine in serum. The good stability of both compounds was shown when stored at -70 °C. All results indicate that the method is high performance and reliable for a routine assay of CYP1A2 activity.

In a pilot study, serum paraxanthine and caffeine level at each time point was analysed. The profile concentration vs time curve of both was interpreted. The result suggested that the blood samples at 5 hours after caffeine intake should be collected to determine paraxanthine/caffeine ratio. Paraxanthine level was as high as it can be determined. If the time is too prolong, paraxanthine will be metabolized to other compound by CYP1A2¹, as shown by the metabolic pathway of caffeine in figure 1⁶. The study expressed that this simplified method can be used to determine CYP1A2 activity in population who exposed the CYP1A2 interference agents.

Acknowledgement

This investigation was supported by Ministry of University Affairs (MUA) - CU Thesis Grant and the Rachadapiseksoompoj China Medical Board Research Fund.

Reference

1. Kalow W, Tang BK. The use of caffeine for enzyme assays. A critical appraisal. *Clin Pharmacol Ther.* 1993; 503-514.
2. Beng tason U, Johansson S, Angervall L. Malignancies of the urinary tract and their relation to analgesic abuse. *Kidney Int.* 1987; 13: 107-113.
3. Ou-Yang DS, Huang SL, Wang W, Xie HG, Xu ZH, Sho Y, Zhou HH. Phenotypic polymorphism and gender related differences of CYP1A2 activity in a chinese population. *Br J Clin Pharmacol.* 2000; 49: 145-151.
4. Carrillo JA, Christensen M, Ramos SI, Alm C, Dahl ML, Benitez J, Bertilsson L. Evaluation of caffeine as an in vivo probe for CYP1A2 using measurement in plasma, saliva, and urine. *Ther Drug Monitor.* 2000; 22(4): 409-417.
5. Benowitz NL. Clinical pharmacology of caffeine. *Ann Rev Med.* 1990; 41: 277-288.
6. Rost KL, Root I. Accelerated caffeine metabolism after omeprazole treatment is induced by urinary metabolites ratio : coincidence with plasma clearance and breath test. *Clin Pharmacol Ther.* 1994; 55: 402-411.
7. Fuhr U, Rost KL. Simple and reliable CYP1A2 phenotyping by the paraxanthine/caffeine ratio in plasma and saliva. *Pharmacogenetic.* 1994; 4: 109-116.
8. Rasmussen BB, Brosen K. Determination of urinary metabolites of caffeine for the assessment of cytochrome P1A2, xanthine oxidase and N-acetyltransferase activity in human. *Ther Drug Monitor.* 1996; 18(3): 254-262.
9. Fuhr U, Rost KL, Engelhardt R. Evaluation of caffeine as a test drug for CYP1A2, NAT2 and CYP2E1 phenotyping in man by in vivo versus correlations. *Pharmacogenetic.* 1996; 6: 159-176.
10. Koch JP, ten Tusscher GW, Koppe JG, Guchelaar HJ. Validation of a high - performance liquid chromatography assay for quantification of caffeine and paraxanthine in human serum in the context of CYP1A2 phenotyping. *Biomed. Chromatogr.* 1999; 13: 309-314.
11. U.S. Department of Health and Human Services FDA, CDER, CVM. Guidance for industing : *Bioanalytical Method Validation.* May 2001, BP.

RESEARCH ARTICLES

Thiopurine Methyltransferase in Thai Population

Pornpen Pramyothin¹ and Parinda Peradhamanon²

¹ Department of Pharmacology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand

² Pharmacy Department, Prachomklao Hospital, Petchburi 76000, Thailand.

Abstract

The cytosolic enzyme, thiopurine methyltransferase (TPMT) catalyzes the S-methylation of aromatic and heterocyclic sulfhydryl compounds such as 6-mercaptopurine. Genetic regulation of TPMT activity is associated with large interindividual variations in thiopurine toxicity and efficacy. Assessment of TPMP genotype/phenotype will increase rational outcome of individual drug therapy. In the present investigation, TPMT activity was measured by the radiochemical assay from blood samples of 539 randomly selected Thai subjects. The genetic polymorphism of TPMT was trimodal distribution, TPMT activity ranged from 0 - 23.5 Units/ml RBC with the average of 6.91 ± 3.68 Units/ml RBC. Most of the Thai subjects were intermediate metabolizers (95.35 %), followed by high (3.75 %) and low (0.93%) metabolizers. Gender, blood groups and smoking had no effect on TPMT activity.

Key words : thiopurine methyltransferase, genetic polymorphism, 6-mercaptopurine.

สมรรถนะของเอนไซม์ไธโอพิวรีนเมทิลทรานสเฟอเรสในคนไทย

พรเพ็ญ เปรมโยธิน¹ และ ปริญดา พิธีธรรมานนท์²

¹ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330 ประเทศไทย

²แผนกเภสัชกรรม โรงพยาบาลพระจอมเกล้า เพชรบุรี 76000 ประเทศไทย

บทคัดย่อ

เอนไซม์ไธโอพิวรีนเมทิลทรานสเฟอเรส (TPMT) กระตุ้นปฏิกิริยา S-methylation ของสารประกอบ aromatic และ heterocyclic sulfhydryl เช่น 6-mercaptopurine การควบคุมทางพันธุกรรมของเอนไซม์ TPMT เกี่ยวข้องกับความแตกต่างอย่างมากในแต่ละบุคคล ที่มีผลต่อการเกิดพิษและการรักษาของยา thiopurines การประเมินหา genotype/phenotype ของ TPMT จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการรักษาด้วยยาเฉพาะบุคคล การวิจัยครั้งนี้ได้ทำการวัดสมรรถนะของเอนไซม์ TPMT โดยการใช้ radiochemical assay ในเม็ดเลือดแดงของคนไทยจำนวน 539 ตัวอย่างจากการคัดเลือกแบบสุ่ม พบว่า genetic polymorphism ของ TPMT มีการกระจายของประชากรเป็น 3 กลุ่ม สมรรถนะของเอนไซม์อยู่ระหว่าง 0 - 23.5 Units/ml RBC ค่าเฉลี่ย 6.91 ± 3.68 Units/ml RBC คนไทยส่วนใหญ่มีสมรรถนะของเอนไซม์ปานกลาง (95.35%) ตามด้วยสมรรถนะของเอนไซม์สูง (3.75%) และสมรรถนะของเอนไซม์ต่ำ (0.93%) เพศ หมู่เลือด และการสูบบุหรี่ ไม่มีผลต่อสมรรถนะของเอนไซม์ TPMT

คำสำคัญ : thiopurine methyltransferase, genetic polymorphism, 6-mercaptopurine.

Introduction

The cytosolic enzyme, thiopurine methyltransferase (TPMT, EC 2.1.1.67) catalyzes S-methylation of aromatic and heterocyclic sulfhydryl compounds such as anticancer drugs 6-mercaptopurine, 6-thioguanine and immunosuppressant azathioprine^{1,2,3}. TPMT activity exhibits genetic polymorphism, in white subject approximately 90 % are homozygous with high activity, 11 % are heterozygous with intermediate activity and 1 in 300 individuals inherit TPMT deficiency as an autosomal recessive trait^{4,5}. This common genetic polymorphism is responsible for interindividual variations in thiopurine toxicity and therapeutic efficacy⁶. Patients with low TPMT activity develop severe myelosuppression with standard doses of these drugs while patients with high TPMT activity are undertreated⁷.

The active gene of TPMT is located on chromosome 6 with approximately 34 kb in length and consisted of ten exons and nine introns. The wild type allele is TPMT*1. At least 8 mutant alleles have been identified for low enzyme activity. These mutant alleles have interethnic variability with different frequency and pattern. In Chinese, West African, Kenyan and Japanese the mutant allele is TPMT*3C. TPMT*3A is found in Caucasian and South-West Asian and TPMT*6 in Korean^{8,9,10}. All mutant alleles in South East Asian are now identified as TPMT*3C¹¹.

TPMT activity is normally detected in red blood cells, showing high correlation with relative TPMT levels in other tissues or cells including kidney, liver, lymphocytes and leukemic blast cells^{2,4,12,13}. The radiochemical assay by Weinshilboum et al⁴ is a well known method in determining TPMT activity. The product of S-methylation, 6-methylmercaptopurine is measured using 6-mercaptopurine as substrate and S-adenosylmethionine (SAM) as the methyl donor. One unit of enzyme activity represents the formation of 6-methylmercaptopurine in nanomoles per one milliliter of red blood cells^{2,4}.

There is very little information about TPMT activity in Thai population. Therefore the frequency of TPMT phenotype was studied in the present investigation.

Material and method

Subjects

A total of 539 blood samples from healthy blood donors at National Blood Center, Thai Red Cross Society were used for TPMT activity study. The exclusion criteria were hepatic, renal and other chronic diseases. The demographic data was collected from each blood donor including sex, age, blood group, smoker/non-smoker, and current medical problems.

Blood samples: preparation of lysates

Samples were prepared as previously described by Weinshilboum et al⁴. Aliquot of 3 ml whole blood collected in heparinized tube was centrifuged at 800g for 10 min at 4°C to isolate red cells. Plasma, leukocytes and the upper layer of erythrocytes were removed. After washing the pellet twice with 1.8 ml 0.9% normal saline and centrifugation for 10 min at 800g, supernatant was discarded, 4.8 ml iced cold water was added to the pellet to lyse the red cells. Erythrocyte lysate was centrifuged at 13,000g for 10 min at 4°C. The supernatant was kept at -80°C until analysis.

TPMT assay

Potassium phosphate buffer, 25 µl (150 mM, pH 7.5) and either 5 µl of 6-mercaptopurine (18 mg/ml in DMSO) or 5 µl of DMSO were added to 100 µl aliquot of erythrocyte lysate. The reaction was initiated by adding 25 µl of a freshly prepared cocktail containing ¹⁴C-methionine 12.5 x 10⁻⁶ M, non-reactive S-adenosyl-L-methionine HCl 12.5 x 10⁻⁶ M, dithiotreitol 10⁻³ M and allopurinol 5 x 10⁻⁵ M. The reaction mixture was incubated and gently shaken for 1 h at 37°C in a shaker water bath. To terminate the

reaction, 0.5 ml boric acid buffer, pH 10 and 5 ml of 20% isoamyl alcohol in toluene were added. After vigorous agitation for 10 seconds, the mixture was centrifuged at 700g for 10 min at 4°C. A 3.5 ml aliquot of the supernatant (organic phase) was added to the scintillation counting vial, to which containing 1 ml of absolute ethanol and 10 ml of toluene fluor. Radioactivity in the scintillation vials were counted in the scintillation counter for 10 min. The TPMT activity was expressed as nanomoles of 6-methylmercaptapurine formed per hour per ml of packed red cells (hematocrit) or Units/ml RBC.

Statistical analysis

Data was presented as mean $\pm$ SD. Probit analysis was used for frequency distribution. Data comparison was tested by one way ANOVA using Duncan's New Multiple Range test.

Result

The correlation between experiment was carried out using same reference

enzyme together with other test samples. The average TPMT activity between experiment of the reference enzyme was 6.54 ± 0.24 Units/ml RBC with C.V. of 3.7%.

TPMT activity was studied from 539 blood samples of healthy 438 men and 101 women with age range 17-64 years (average 35.5 years). Enzyme activity varied from 0 to 23.5 Units/ml RBC. The mean value was 6.91 ± 3.68 Units/ml RBC. There were no differences of TPMT activity in different gender, blood groups or smoker/non-smoker (Table 1).

The distribution of TPMT activity was trimodal (Fig. 1). With probit analysis (Fig. 2) the high enzyme activity were 16.7–23.5 Units/ml RBC, accounted for 3.72% of population studied, while 95.35% carried intermediate enzyme activity ranging from 1.3 to 16.6 Units/ml RBC and 0.93 % with low enzyme activity of 0-1.2 Units/ml RBC.

Table 1 TPMT activity from 539 healthy blood donors with age range 17-64 years (average 35.5 years)

Demographic data	Numbers	TPMT activity*(Units/ml RBC)		
		Average	Maximum	Minimum
Sex: Men	438	6.93 ± 3.55	23.53	0.00
Women	101	6.91 ± 4.11	22.30	0.15
Blood groups: A	88	6.80 ± 3.76	19.78	0.00
B	177	6.73 ± 3.59	22.32	0.14
O	257	7.10 ± 3.78	23.53	0.12
AB	17	6.24 ± 2.66	13.23	1.00
Smoking: Smoker	42	6.67 ± 4.21	22.27	0.13
Non-smoker	497	6.93 ± 3.62	22.53	0.00
Total subjects	539	6.91 ± 3.68	23.53	0.00

* Mean $\pm$ SD

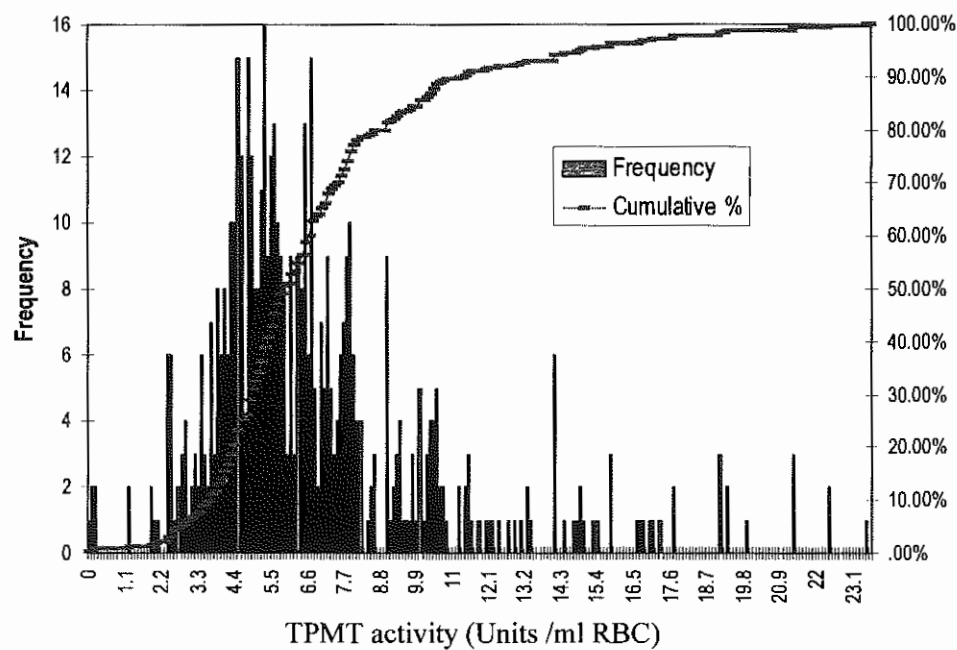


Figure 1 The relationship between frequency and TPMT activity in Thai population

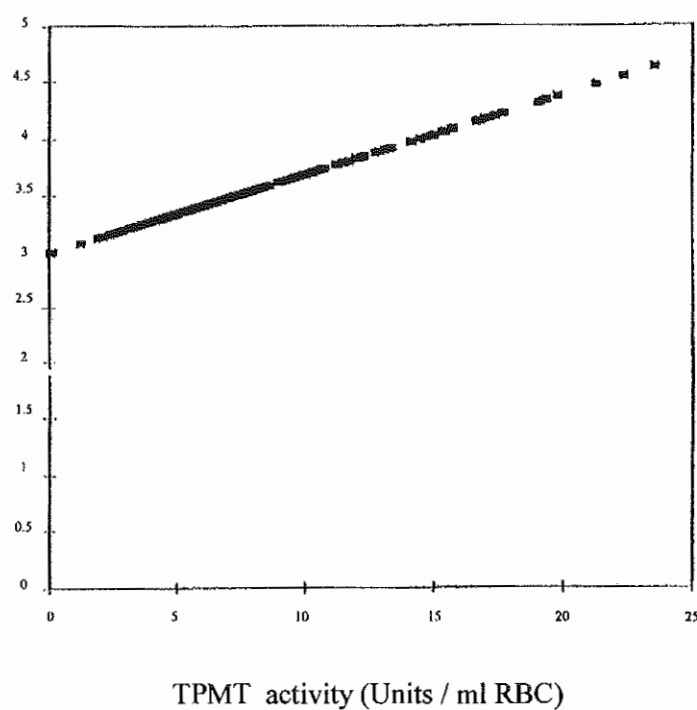


Figure 2 Probit graph of the relationship between frequency and TPMT activity in Thai population..

Discussion and conclusion

From present investigation, most of Thai carried intermediate TPMT activity which means that Thai may be prone to thiopurine toxicity, especially children treating with 6-mercaptopurine in acute lymphoblastic leukemia. Determination of TPMT genotype/phenotype before antileukemic therapy may be practical and may have clinical relevance.

Frequency of TPMT genotype in Thai children with acute leukemia (75 patients)¹⁴ and 200 healthy Northeastern Thai subjects¹⁵ reported to be the same as Caucasian population. The variant allele was TPMT*3C.

Therefore the correlation between genotype and phenotype assessment in Thai population should be performed to verify the use of either TPMT genotype or phenotype in minimizing toxicity and maximizing efficacy of thiopurine drug therapy.

Acknowledgement

The authors wish to thank Professor Chaivej Nuchprayoon for his kindest help in blood samples and Ms. Wanna Tanalapanon for collecting the documents.

Reference

1. Remy CN. Metabolism of thiopyrimidine and thiopurine : S-methylation with S-adenosyl methionine transmethylase and catabolism in mammalian tissue. *J Biol Chem* 1963; 238: 1078-1084.
2. Woodson LC and Weinshilboum RM. Human kidney thiopurine methyltransferase: purification and biochemical properties. *Biochem Pharmacol* 1983; 32: 819-826.
3. Ames MM, Selassie CP and Dulczynska M. Prognosis significance of hepatotoxicity during maintenance chemotherapy for childhood acute lymphoblastic leukemia. *Br J Cancer* 1990; 61: 767-772.
4. Weinshilboum RM and Sladek SL. Mercaptopurine pharmacogenetics: monogenic inheritance of erythrocyte thiopurine methyltransferase activity. *Am J Human Genetic* 1980; 32: 652-662.
5. Woodson LC, Dunnette JH and Weinshilboum RM. Pharmacogenetics of human thiopurine methyltransferase: kidney-erythrocyte correlation and immunotitration studies. *J Pharmacol Exp Ther* 1982; 222: 174-181.
6. Aarbakke J, Janka-Schaub G and Elion GB. Thiopurine biology and pharmacology. *TiPs* 1997; 18: 3-7.
7. Yan L, Zhang S, Eiff B et al. Thiopurine methyltransferase polymorphic tandem repeat: genotype-phenotype correlation analysis. *Clin Pharmacol Ther* 2000; 68: 210-219.
8. Loennechen T, Yates CR and Fessing NY et al. Isolation of a human thiopurine S-methyltransferase (TPMT) complementary DNA with a single nucleotide transition A719G (TPMT*3C) and its association with less of TPMT protein and catalytic activity in humans. *Clin Pharmacol Ther* 1998; 64: 46-51.
9. Ando M, Ando Y, Hasegawa Y et al. Genetic polymorphisms of thiopurine S-methyltransferase and 6-mercaptopurine toxicity in Japanese children with acute lymphoblastic leukemia. *Pharmacogenetics* 2001; 11: 269-273.
10. Kham SKY, Tan PL, Tay AHN et al. Thiopurine methyltransferase polymorphisms in a multiracial Asian population and children with acute lymphoblastic leukemia. *J Pediatric Hematology/Oncology* 2002; 24: 353-359.
11. McLeod HL. The thiopurine methyltransferase gene locus-implications for clinical pharmacogenomics. *Pharmacogenomics* 2002; 3: 89-98.
12. Szumlanski CL, Honchel R and Scott MC et al. Human liver thiopurine methyltransferase pharmacogenetics: biochemical properties, liver-erythrocyte correlation and presence of isozymes. *Pharmacogenetics* 1992; 2: 148-159.
13. Otterness D, Szumlanski C, Lennard L et al. Human thiopurine methyltransferase pharmacogenetics: gene sequence polymorphisms. *Clin Pharmacol Ther* 1997; 62: 60-73.
14. Hongeng S, Sasanakul W, Chuansumrit A et al. Frequency of thiopurine S-methyltransferase genetic variation in Thai children with acute leukemia. *Med Pediatric Oncology* 2000; 35: 410-414.
15. Srimartpirom S, Tassaneeyakul W, Kukongwiriyan V et al. Genetic polymorphism of thiopurine S-methyltransferase in a Northeastern Thai population. *Thai J pharmacol* 2002; 24 suppl 1: S135.

REVIEWS

Pharmacotherapy of Type 2 Diabetes Mellitus

Sirichai Adisakwattana¹, Sirintorn Yibchok-anan², Sumana Chompootaweep³

¹Interdepartment of Pharmacology, Graduate School,

²Department of Pharmacology, Faculty of Veterinary Science,

³Department of Pharmacology, Faculty of Medicine,
Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand.

Abstract

Diabetes mellitus and its complications constitute a major health problem in modern societies. The prevalence of the disease has increased dramatically every year. Successful treatment of diabetes involves changing life style such as exercise and physical activity, reducing body weight with diet and behavioral modifications, and using pharmacological agents. Currently, there are at least six distinct classes of antidiabetic agents available. Each class displays unique pharmacologic properties. Insulin and insulin analogues are used for treatment of both type 1 and type 2 diabetes mellitus. Sulfonylureas stimulate the production and release of insulin. The meglitinide is nonsulfonylurea agent that also works as insulin secretagogue. Unlike sulfonylureas, meglitinide requires the presence of glucose to close ATP-sensitive K⁺ channels and subsequently induces calcium influx. Adverse effects including hypoglycemia and cardiovascular complications are probably less pronounced than that caused by the sulfonylureas. Metformin reduce hepatic glucose and increase peripheral glucose utilization. Alpha glucosidase inhibitor, acarbose, delays carbohydrate absorption and reduces postprandial hyperglycemia by inhibition of brush border enzyme in proximal small intestine. Thiazolidinedione activates peroxisome proliferator-activated receptor gamma, leading to improve insulin sensitivity predominantly at skeletal muscles and adipose tissue, decrease serum LDL cholesterol, and increase serum HDL cholesterol. In recent clinical trials, the new drugs of diabetes therapy such as pramlintide, glucagon like peptide-1 have been shown to slow down gastric emptying time, suppress glucagon secretion and food intake.

Key words : diabetes mellitus, insulin, metformin, metiglinide, alpha glucosidase inhibitor, thiazolidinedione, pramlintide, glucagon like peptide-1

การบำบัดผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ด้วยยา

สิริชัย อติศักดิ์วัฒนา¹, ผศ.สพ.ญ.ดร. ศิรินทร หยิบโชคนันต์², รศ.พญ. สุนา ชมพูทวีป³

¹สหสาขาวิชาเภสัชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย, ²ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์,

³ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

โรคเบาหวานเป็นโรคที่เกี่ยวข้องกับความผิดปกติทางระบบเมตาบอลิซึมของร่างกายที่รักษาไม่หายขาด ส่งผลเสียต่อคุณภาพชีวิตและสังคมเป็นอันมาก ปัจจุบันผู้ป่วยเบาหวานมีจำนวนเพิ่มสูงขึ้นทุกปี ในการรักษาโรคเบาหวานอย่างมีประสิทธิภาพ ผู้ป่วยจำเป็นต้องปรับเปลี่ยนวิถีชีวิตบางประการ เช่น การควบคุมอาหาร ออกกำลังกายเป็นประจำ รวมทั้งการใช้ยาควบคู่กันไป ปัจจุบันยารักษาโรคเบาหวานแบ่งออกได้อย่างน้อย 6 กลุ่ม แต่ละกลุ่มออกฤทธิ์แตกต่างกัน คือ อินซูลินและ insulin analogue ใช้สำหรับรักษาผู้ป่วยเบาหวานทั้งชนิดที่ 1 และ ชนิดที่ 2 ยาในกลุ่ม sulfonylureas ออกฤทธิ์กระตุ้นการสร้างและหลั่งฮอร์โมนอินซูลินเข้าสู่กระแสเลือด meglitinide เป็นยาในกลุ่ม nonsulfonylurea ออกฤทธิ์กระตุ้นการหลั่งฮอร์โมนอินซูลินโดยกลไกการออกฤทธิ์คล้ายคลึงกับยาในกลุ่ม sulfonylureas แต่พบอาการไม่พึงประสงค์ เช่น การลดน้ำตาลในกระแสเลือด และผลเสียต่อระบบหัวใจต่ำกว่ายาในกลุ่ม sulfonylureas metformin ออกฤทธิ์ลดการสร้างกลูโคสจากตับ และเพิ่มประสิทธิภาพให้เซลล์สามารถนำกลูโคสไปใช้ได้ดีขึ้น alpha glucosidase inhibitor เช่น acarbose ออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ glucosidase ที่บริเวณ brush border ในลำไส้เล็ก ทำให้การดูดซึมคาร์โบไฮเดรตช้าลง และลดภาวะน้ำตาลสูงในกระแสเลือดภายหลังรับประทานอาหาร thiazolidinedione เป็นยาที่ออกฤทธิ์กระตุ้น PPAR γ ส่งผลให้เซลล์กล้ามเนื้อและเซลล์ไขมันเพิ่มความไวต่อฮอร์โมนอินซูลินในการนำกลูโคสเข้าสู่เซลล์มากยิ่งขึ้น รวมทั้งลดระดับ LDL และเพิ่ม HDL cholesterol ความก้าวหน้าในการรักษาโรคเบาหวานแนวใหม่ซึ่งกำลังอยู่ระหว่างการทดลองทางคลินิก คือ การใช้ pramlintide และ glucagon like peptide-1 (GLP-1) ในการรักษาโรคเบาหวาน ยาดังกล่าวออกฤทธิ์ยับยั้งการหลั่งกลูคากอนจากตับอ่อน เพิ่ม gastric emptying time ส่งผลให้ความต้องการรับประทานอาหารของผู้ป่วยลดต่ำลง

คำสำคัญ : เบาหวาน, อินซูลิน, metformin, metiglinide, alpha glucosidase inhibitor, thiazolidinedione, pramlintide, glucagon like peptide-1

บทนำ

โรคเบาหวานเป็นภาวะที่เมตาบอลิซึมของร่างกายผิดปกติไปโดยตับอ่อนไม่สามารถสร้างอินซูลินให้เพียงพอต่อการเปลี่ยนแปลงระดับน้ำตาลจากกระแสเลือด ในปัจจุบันโรคเบาหวานเป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญ เนื่องจากโรคนี้ไม่สามารถรักษาให้หายขาดได้ ส่งผลให้เกิดโรคแทรกซ้อนอื่นได้อีก ร้อยละ 4 ของประชากรโลกทั้งหมดเป็นโรคเบาหวานและมีแนวโน้มสูงขึ้นทุกปี¹ ในปี ค.ศ. 1995 ภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้พบว่าจำนวนผู้ป่วยโรคเบาหวานมีร้อยละ 20 และคาดการณ์ในปี ค.ศ. 2025 ภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้จะมีผู้ป่วยสูงถึงร้อยละ 27 และจะเป็นภูมิภาคที่มีผู้ป่วยโรคเบาหวานมากที่สุด²

สำหรับประเทศไทยมีรายงานการศึกษาถึงจำนวนผู้ป่วยโรคเบาหวานจากกระทรวงสาธารณสุข พบจำนวน 33.3 คนในจำนวน 100,000 คน ในปี ค.ศ. 1985 และสูงถึง 147.2 คนในจำนวน 100,000 คนในปี ค.ศ. 1997³

โรคเบาหวานแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ type 1 หรือ insulin dependent diabetes mellitus (IDDM) และ type 2 หรือ non-insulin dependent diabetes mellitus (NIDDM) ลักษณะสำคัญของโรคเบาหวาน type 1 คือ ภาวะภูมิคุ้มกันของร่างกายจะทำลาย β -cell ในตับอ่อนทำให้ไม่สามารถสร้างอินซูลินหรือสามารถสร้างขึ้นเพียงเล็กน้อย มักพบผู้ป่วยเป็นเด็ก มักพบโรคบกพร่องทางภูมิคุ้มกันอื่นๆ ร่วมด้วย เช่น Graves' disease ในประเทศไทยมีราย

งานศึกษาจำนวนผู้ป่วยโรคเบาหวานชนิดนี้ในเด็กอายุต่ำกว่า 15 ปี ภาคเหนือศึกษาในปี ค.ศ. 1991-1997 พบจำนวน 0.37 คนในจำนวน 100,000 คน⁴ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือศึกษาในปี ค.ศ. 1991-1995 พบจำนวน 0.30 คนใน 100,000 คน⁵ และภาคใต้ศึกษาในปี ค.ศ. 1992-1996 พบจำนวน 0.52 คนใน 100,000 คน⁶ สำหรับโรคเบาหวาน type 2 เกิดเนื่องจากการดื้อต่ออินซูลิน ตับอ่อนสามารถผลิตอินซูลินได้ แต่ไม่สามารถทำงานได้ตามปกติ ซึ่งโรคเบาหวานชนิดนี้มีจำนวนผู้ป่วยมากที่สุด นอกเหนือจากที่กล่าวมาแล้วนั้น โรคตับอ่อนอักเสบเรื้อรัง โรค Cushing syndrome หรือ การใช้ยาบางชนิด เช่น thiazide diuretic สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเบาหวานได้เช่นกัน

อาการของโรคเบาหวานสามารถสังเกตได้ เช่น กระหายน้ำและปัสสาวะบ่อย อ่อนเพลีย เมื่อเป็นแผลหรือฝีแล้วหายยาก มีอาการตาพร่ามัว มองเห็นผิดปกติ (retinopathy) ชาตามปลายมือปลายเท้า (neuropathy) ทานอาหารมากแต่น้ำหนักลดลง และตรวจพบน้ำตาลในปัสสาวะ

โรคอ้วนเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งเสริมให้เกิดโรคเบาหวานขึ้น นอกจากนี้ยังก่อให้เกิดโรคแทรกซ้อนอื่นๆ เช่น โรคหัวใจ (coronary heart disease, CHD) และโรคความดันโลหิตสูงตามมาได้

สำหรับเกณฑ์การวินิจฉัยโรคเบาหวานทำได้โดยตรวจวัดระดับน้ำตาลในกระแสเลือด ดังตารางที่ 1 หากผู้ป่วยผู้ใดมีค่า fasting blood glucose (FBG) มากกว่า 126 mg/dl ค่า 2-h postload glucose

(2-h PG) ซึ่งตรวจหลังจากรับประทานอาหาร 2 ชม. เกินกว่า 200 mg/dl และค่า hemoglobin A1c (HbA_{1c}) มากกว่า 7 % จัดว่าเป็นโรคเบาหวาน แต่หาก FBG มีค่ามากกว่า 110 mg/dL แต่น้อยกว่า 126 mg/dL จัดเป็น impaired fasting glucose (IFG) และค่า 2-h PG อยู่ระหว่าง 140-200 mg/dl จัดเป็น impaired glucose tolerance (IGT)⁷ เป้าหมายหลักในการรักษาโรคเบาหวานก็คือ ควบคุมอาหาร จำพวกคาร์โบไฮเดรตและไขมัน และยังต้องควบคุมน้ำหนักตัวของผู้ป่วยให้อยู่ในเกณฑ์ที่ควรเป็น อาหารสำหรับผู้ป่วยโรคเบาหวานควรเป็นอาหารจำพวกผักและผล

ไม้ แต่หลีกเลี่ยงผลไม้ชนิดที่มีรสหวานจัด เช่นขนุน ลำไย เงาะ เครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ การออกกำลังกายสามารถช่วยปรับปรุงและเพิ่มฤทธิ์ของอินซูลินและช่วยลดน้ำหนักได้ ผู้ป่วยควรออกกำลังกายอย่างน้อย 3-4 ครั้งต่อสัปดาห์ แต่ครั้งให้อัตราการเต้นของหัวใจอยู่ที่ 60-80% ของอัตราการเต้นหัวใจสูงสุดซึ่งอยู่ที่ 220 ครั้งต่อนาที และเป็นเวลาประมาณ 30-60 นาที⁹ การควบคุมระดับน้ำตาลในกระแสเลือดเป็นเป้าหมายที่สำคัญ ทาง American Diabetes Association กำหนดเกณฑ์ในการควบคุมไว้ดังตารางที่ 2¹⁰

ตารางที่ 1 เกณฑ์การวินิจฉัยโรคเบาหวาน

จาก Diabetes Care 2001;24(Suppl 1):S5-S20.

	คนปกติ mg/dl, (mmol)	Impaired glucose tolerance mg/dl, (mmol)	โรคเบาหวาน mg/dl (mmol)
FBG	< 110 (6.1)	110 - 126 (6.1-7.0)	> 126 (7.0)
2-h postload glucose	< 140 (7.8)	140 - 200 (7.8-11.1)	> 200 (11.1)
HbA _{1c} (%)	< 6	6-7	> 7

ตารางที่ 2 เป้าหมายในการควบคุมระดับน้ำตาลในกระแสเลือดในผู้ป่วยโรคเบาหวาน

จาก Diabetes Care 2001;24(Suppl 1):S33-S43.

	Normal	Goal	Suggested
Whole blood values			
Average preprandial glucose (mg/dl)	< 100	80 - 120	80 - 140
Average bed time glucose (mg/dl)	< 110	100 - 140	100 - 160
Plasma values			
Average preprandial glucose (mg/dl)	< 110	90 - 130	90 - 150
Average bed time glucose (mg/dl)	< 120	110 - 150	110 - 180
HbA _{1c} (%)	< 6	< 7	< 8

การควบคุมอาหารและการออกกำลังกายจะต้องทำควบคู่กับการใช้ยารักษา ซึ่งในปัจจุบันยารักษาโรคเบาหวาน type 2 มีดังนี้

1. Insulin and insulin analogues
2. Sulfonylureas
3. Biguanides
4. Metiglinide
(non-sulfonylurea secretagogues)
5. Alpha-glucosidase inhibitor
(AGI)
6. Thiazolidinediones

Insulin and Insulin analogues

อินซูลินที่มีใช้ในปัจจุบันนั้น ผลิตจากเทคโนโลยีทางชีวภาพ โดยผลิตอินซูลินที่มีกรดอะมิโนเรียงตัวคล้ายคลึงกับอินซูลินมนุษย์ แบ่งออกได้เป็น 5 กลุ่มได้แก่ ultra short-acting insulin ได้แก่ insulin lispro, insulin aspart ความแตกต่างระหว่าง insulin lispro กับ insulin ของมนุษย์ คือ การสลับที่ของกรดอะมิโน proline-lysine ที่ปลาย B-chain กลายเป็น lysine-proline สำหรับ insulin aspart จะเปลี่ยนกรดอะมิโนที่ตำแหน่ง 28 ของ B-chain จาก proline เป็น aspartic acid อินซูลินทั้งสองชนิดนี้ ออกฤทธิ์ได้รวดเร็ว ภายใน 10 ถึง 20 นาที และมีระยะเวลาในการออกฤทธิ์ประมาณ 3 ถึง 4 ชั่วโมง พบภาวะ hypoglycemia น้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับ regular insulin ซึ่งเป็น short-acting insulin ออกฤทธิ์ได้รวดเร็วแต่ช่วงเวลาในการออกฤทธิ์สั้น มีประโยชน์มากเมื่อใช้ในกรณีฉุกเฉิน เช่น ภาวะ ketoacidosis สำหรับความสามารถใน

การลดระดับ HbA_{1c} ระหว่าง insulin lispro กับ regular insulin พบว่ามีค่าไม่แตกต่างกัน²⁴ แต่ insulin lispro ลดระดับน้ำตาลในเลือดหลังรับประทานอาหารสูงนานผิดปกติได้ หรือ post prandial hyperglycemia (PPHG)¹¹

Intermediate-acting insulin เช่น NPH หรือ isophane ผลิตอยู่ในรูปสารประกอบเชิงซ้อนของ protamine กับโลหะสังกะสีในสารละลาย phosphate buffer อินซูลินชนิดนี้ดูดซึมช้า แต่ออกฤทธิ์ได้ยาวนาน 10 ถึง 16 ชั่วโมง

Long-acting insulin เช่น insulin glargine เปลี่ยนกรดอะมิโนตำแหน่งที่ 21 ของ A-chain คือ asparagine เป็น glycine และเติม arginine 2 ตัว ต่อท้าย B-chain เป็นตำแหน่งที่ 31-32 ทำให้ดูดซึมช้า แต่มีฤทธิ์ได้ยาวนานถึง 23 ชั่วโมง¹²

อินซูลินชนิดสุดท้าย premixed insulin ได้จากการผสม NPH กับ regular insulin ในอัตราส่วนที่แตกต่างกันออกไป เช่น NPH 70 % กับ regular insulin 30 % ออกฤทธิ์ได้ภายใน 30 นาที มีฤทธิ์ได้นาน 16-24 ชม. ในขณะนี้มีอนุพันธ์ protamine ของ insulin lispro เรียกว่า neutral protamine lispro (NPL) ผสมกับ insulin lispro ในอัตราส่วน NPL 75% ต่อ insulin lispro 25 % (lispro mixed 25 insulin) เมื่อเปรียบเทียบกับอินซูลินชนิดผสม คือ NPH 70% : regular insulin 30% พบว่า lispro mixed 25 insulin ลดระดับน้ำตาลในกระแสเลือดได้ดีกว่า¹³

ข้อควรระวังที่สำคัญเมื่อใช้อินซูลิน หากผู้ป่วยได้รับอินซูลินเกินขนาดจะเกิด

ภาวะน้ำตาลในเลือดต่ำได้ (hypoglycemia) และคำนึงถึงการเกิดปฏิกิริยาระหว่างยาเมื่อให้อินซูลินร่วมกับยาอื่น ๆ ตัวอย่างเช่น corticosteroids จะลดฤทธิ์ของอินซูลิน หรือ ACE inhibitors ที่เพิ่มฤทธิ์ของอินซูลิน เป็นต้น ความก้าวหน้าใหม่ของอินซูลิน กำลังอยู่ระหว่างการพัฒนาผลิตอินซูลินในรูป insulin inhaler สามารถใช้รักษาผู้ป่วยโรคเบาหวานทั้ง type 1 และ type 2 อินซูลินถูกดูดซึมที่ปอดจะออกฤทธิ์ได้เร็วกว่าอินซูลินประเภทฉีด หากต้องการรับประทานอาหารเวลาใดก็สามารถให้อินซูลินชนิดนี้ก่อนอาหารได้ทันที^{14,15,16}

Sulfonylureas

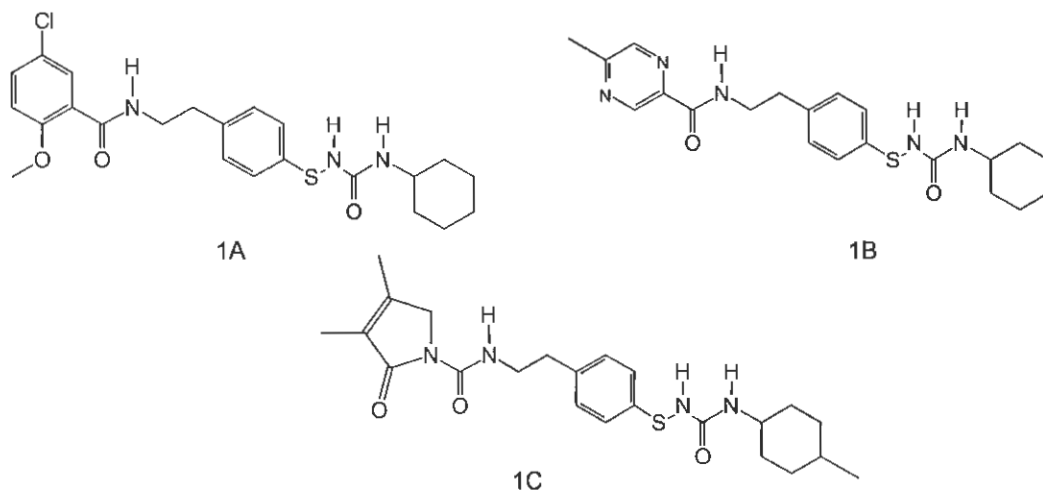
เป็นยาลดระดับน้ำตาลที่เริ่มใช้ตั้งแต่ ค.ศ. 1950 ยารุ่นแรกในกลุ่ม sulfonylureas ได้แก่ tolbutamide, chlorpropamide เป็นต้น ยาในรุ่นที่สอง ได้แก่ glipizide, glibenclamide (glyburide), glimepiride ใช้กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน กลไกการออกฤทธิ์ของ sulfonylurea จะกระตุ้น β -cells ในตับอ่อนให้หลั่งอินซูลิน โดยยาจะจับที่ sulfonylurea receptor (SUR) ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของ ATP-sensitive K^+ channel ส่งผลให้ ATP-sensitive K^+ channel ปิด เซลล์เมมเบรนเกิด depolarization ทำให้ calcium channel เปิด Ca^{2+} ที่อยู่นอกเซลล์จะเข้าสู่ภายในเซลล์ส่งผลให้เกิดการกระตุ้นให้หลั่งอินซูลินออกจากแกรนูลเข้าสู่กระแสเลือด

SUR แบ่งออกเป็น 3 subtypes ชนิดแรก คือ SUR1/Kir6.2 พบที่ β -cell ในตับอ่อน ชนิดที่สองคือ SUR2A/Kir6.2

พบที่กล้ามเนื้อหัวใจและกล้ามเนื้อลาย และชนิดสุดท้ายคือ SUR2B/Kir6.2 พบที่กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด¹⁷ ยาในกลุ่ม sulfonylurea ออกฤทธิ์ที่ SUR1/Kir6.2 เป็นหลัก แต่สามารถออกฤทธิ์ที่ receptor อีก 2 ชนิดได้เช่นกัน เมื่อใช้ยาในระยะนานอาจพบปัญหาเกี่ยวกับหลอดเลือดและโรคหัวใจในผู้ป่วยได้ เมื่อเปรียบเทียบกับยารุ่นแรกกับรุ่นที่สอง ยารุ่นที่สองออกฤทธิ์ได้เร็วและยาวนานกว่า ทั้ง glibenclamide (รูป 1A) และ glipizide (รูป 1B) เป็นยารุ่นที่สองซึ่งใช้ในปัจจุบัน ประสิทธิภาพการหลั่งอินซูลินของ glibenclamide มากกว่า glipizide แต่ในทางกลับกัน glibenclamide พบภาวะ hypoglycemia ได้บ่อยกว่า glipizide

ปัญหาอีกประการของ glibenclamide คือ ถูกดูดซึมได้น้อยมากในระบบทางเดินอาหาร จึงถูกเตรียมให้อยู่ในรูป micronized form เพื่อเพิ่ม bioavailability

ในปี ค.ศ. 1995 glimepiride (รูป 1C) เป็นยาตัวถัดมาที่ออกวางขายในตลาด มีความแตกต่างจาก glibenclamide หลายด้าน เช่น มีฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลมากกว่า แต่พบภาวะ hypoglycemia น้อยกว่า จากการศึกษาของ Deerochanawang และคณะพบว่า glimepiride ขนาด 1-2 มก./วัน มีประสิทธิภาพและปลอดภัยเพียงพอสำหรับผู้ป่วย type 2 ในประเทศไทย¹⁸ สามารถลดระดับ HbA_{1c} ของยาในกลุ่มนี้อยู่ระหว่าง 0.8-2.0% และ ความสามารถลดระดับ fasting plasma glucose (FPG) อยู่ระหว่าง 60-70 mg/dL (3.3-3.9 mmol)¹⁹ หากใช้ยาในกลุ่ม sulfonylurea เช่น glipi-



รูปที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของยาในกลุ่ม sulfonylureas

A. Glibenclamide (Glyburide) B. Glipizide C. Glimepiride

zide ร่วมกันในผู้ป่วยที่ใช้อินซูลินเพียงชนิดเดียว สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการลดระดับ FPG และ HbA_{1c} ได้ดียิ่งขึ้น²⁰ นอกเหนือจากภาวะ hypoglycemia ที่พบแล้ว ผู้ป่วยจะมีน้ำหนักตัวเพิ่มและอาจพบอาการคลื่นไส้ ท้องอืด อูจจาระร่วง

Gliclazide เป็น sulfonylurea ตัวใหม่ ที่ออกสู่ตลาด ออกฤทธิ์ผ่าน SUR1/Kir6.2 ที่ β -cell ในตับอ่อนมากกว่า SUR ที่หัวใจ และกล้ามเนื้อเรียบ นอกเหนือจากกระตุ้นให้หลั่งอินซูลินแล้ว ยังช่วยลด free radical ซึ่งจะส่งผลดีต่อหลอดเลือด²¹⁻²³

Biguanides

Metformin เป็นยาในกลุ่ม biguanides ที่มีใช้ในปัจจุบัน ค้นพบในปี ค.ศ. 1957 แต่ประเทศสหรัฐอเมริกาเพิ่งอนุญาตให้ใช้ในปี ค.ศ. 1995 biguanides ตัวอื่น

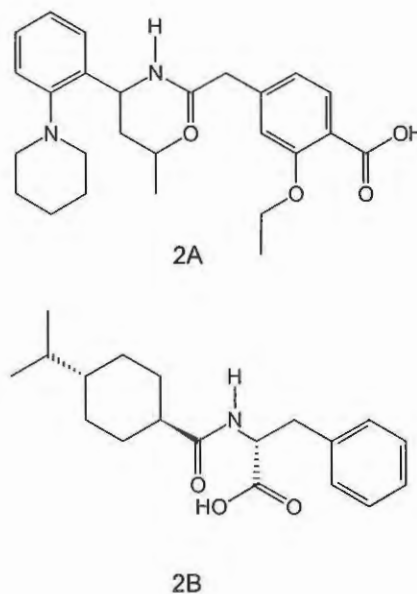
เช่น phenformin ถูกเลิกใช้ไป เนื่องจากพบผู้ป่วยเกิดภาวะ lactic acidosis และทำให้เสียชีวิต²⁴ กลไกการออกฤทธิ์ของ metformin คือลดน้ำตาลในเลือดโดยลดการสร้างกลูโคสจากตับ ลดการดูดซึมกลูโคสจากลำไส้เล็ก metformin สามารถลด triglyceride, LDL cholesterol ในผู้ป่วยที่มีภาวะ hyperlipidaemia บางรายงานศึกษามีผลลด total cholesterol และเพิ่ม HDL cholesterol²⁵ ในผู้ป่วยที่น้ำหนักตัวมาก metformin ไม่ทำให้น้ำหนักตัวของผู้ป่วยเพิ่ม รวมทั้งไม่ทำให้เกิดภาวะ hypoglycemia ความสามารถลดระดับ HbA_{1c} ของ metformin อยู่ระหว่าง 1.5-2.0% และ fasting plasma glucose (FPG) ระหว่าง 50-70 mg/dL (2.8-4.2 mmol)¹⁹ ใน ค.ศ. 1995 DeFronzo และ Goodman ศึกษาประสิทธิภาพของ glibenclamide เมื่อให้ร่วมกับ metformin เป็น

ระยะเวลา 29 สัปดาห์ พบว่าระดับ HbA_{1c} ของผู้ป่วยลดลงมากกว่าได้รับ glibenclamide เพียงอย่างเดียวถึง 1.6%²⁶ การศึกษานี้เหมาะสมในกรณีที่ผู้ป่วยเกิดการดื้อต่อยาเนื่องจากใช้ยาดื้อต่อกันนาน โดยจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการลดระดับน้ำตาลของยากลุ่ม sulfonylurea ปัจจุบันถือได้ว่า metformin และ sulfonylurea เป็นยารักษาโรคเบาหวาน type 2 ที่แพทย์จะจ่ายยาแก่ผู้ป่วยเป็นลำดับแรก

อาการไม่พึงประสงค์ที่มักเกิด คือ คลื่นไส้ ปวดท้อง และท้องเสีย พบได้ประมาณ 50 % ของผู้ป่วยที่ใช้ metformin²⁷ อาการนี้ลดลงได้หากรับประทานยาร่วมกับอาหาร ความเสี่ยงของการเกิดภาวะ lactic acidosis นั้นน้อยกว่า phenformin ซึ่ง Stang และคณะ ศึกษาภาวะ lactic acidosis ของ metformin โดยศึกษาย้อนหลังในปี ค.ศ. 1980-1995 พบผู้ป่วยเกิดภาวะ lactic acidosis 9 คนใน 100,000 คน ซึ่งพบน้อยกว่า phenformin (40-64 คนใน 100,000 คน)²⁸ ให้หลีกเลี่ยงการใช้ metformin กับผู้ป่วยที่เป็นโรคไตเพราะจะเพิ่มความเสี่ยงมากขึ้น และงดเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์เนื่องจากจะเสริมฤทธิ์ของ metformin ในการสร้าง lactate

Metiglinide (non-sulfonylurea secretagogues)^{29,30}

Repaglinide (รูป 2A) เป็นยาในกลุ่ม non-sulfonylurea ตัวแรกที่มีวางจำหน่ายในท้องตลาด โครงสร้างทางเคมีของ repaglinide เป็นอนุพันธ์ของ benzoic acid มีกลไกการออกฤทธิ์เหมือนกับยาในกลุ่ม sulfo-



รูปที่ 2 โครงสร้างทางเคมีของยาในกลุ่ม metiglinide analogue

A. Repaglinide B. Nateglinide

nylurea โดยกระตุ้นให้มีการหลั่งอินซูลินมากขึ้น ผ่านทาง SUR แต่มีความจำเพาะต่อ SUR1 มากกว่า SUR ชนิดอื่น จึงส่งผลเสียต่อการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือดน้อยกว่ายาในกลุ่ม sulfonylurea. Repaglinide ออกฤทธิ์ได้อย่างรวดเร็ว สามารถกระตุ้นการหลั่งอินซูลินใกล้เคียงกับสภาวะปกติหลังรับประทานอาหาร จึงสามารถรับประทานยาก่อนอาหารได้ทันที และยังมีระยะเวลาออกฤทธิ์สั้น เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการลดระดับน้ำตาลในกระแสเลือดของ repaglinide ทั้ง FPG และ HbA_{1c} ไม่มีความแตกต่างกันกับ sulfonylurea^{31,32,33} แต่ข้อดีกว่า sulfonylurea คือ พบภาวะ hypoglycemia น้อยกว่าและใช้ลดภาวะ PPHG ได้ เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง repaglinide กับ metformin พบว่ามีประสิทธิภาพไม่แตกต่าง

ต่างกัน แต่เมื่อใช้ repaglinide ร่วมกับ metformin สามารถลดระดับ HbA_{1c} ได้มากกว่าผู้ป่วยที่ได้รับ metformin เพียงอย่างเดียว ถึง 1.1%³⁴

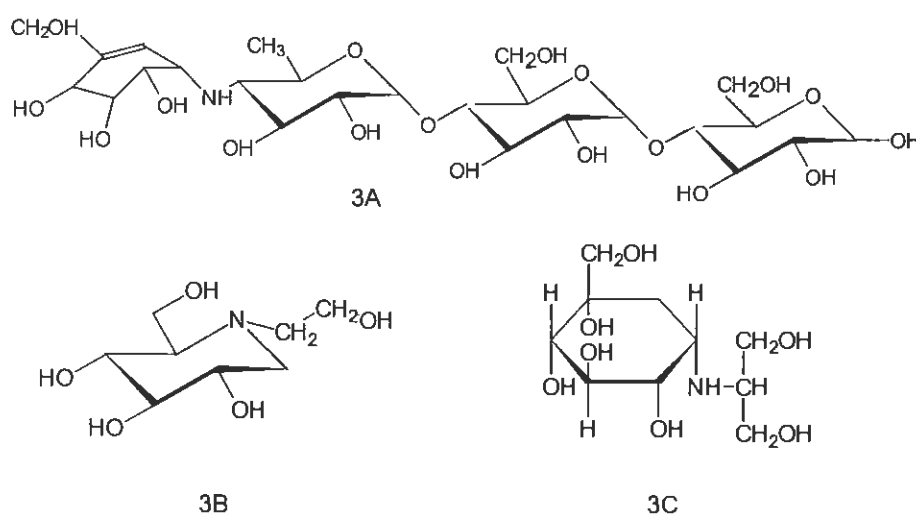
Nateglinide เป็น non-sulfonylurea ตัวใหม่ (รูป 2B) เป็นอนุพันธ์ของ D-phenylalanine ออกฤทธิ์เร็วแต่มีฤทธิ์สั้นกว่า repaglinide³⁵ และจากปริมาณยาที่กระตุ้นการหลั่งอินซูลินได้เท่ากัน nateglinide จะออกฤทธิ์ผ่าน SUR2B/Kir6.2 ที่หัวใจน้อยกว่า repaglinide ดังนั้น nateglinide จะส่งผลเสียต่อระบบหัวใจและหลอดเลือดน้อยกว่า repaglinide³⁶ ในกรณีที่ให้ร่วมกับ metformin ประสิทธิภาพในการลดระดับ FPG และ HbA_{1c} เพิ่มขึ้น³⁷

Alpha-glucosidase Inhibitor (AGI)³⁸

ณ ปัจจุบัน glucosidase inhibitor ที่ใช้สำหรับรักษาผู้ป่วยโรคเบาหวาน type 2 ประกอบด้วย acarbose (รูป 3A), miglitol

(รูป 3B) และ voglibose (รูป 3C) ยังอยู่ระหว่างการศึกษาในประเทศสหรัฐอเมริกา alpha glucosidase inhibitors เป็นยาออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ alpha glucosidase enzyme บริเวณ brush border ในลำไส้เล็ก ขณะนี้ acarbose เป็นยาที่มีผู้ศึกษาวิจัยมากที่สุด สามารถยับยั้ง glucoamylase 90%, sucrase 65%, maltase 60%, isomaltase 25% และ lactase 10% เป็นต้น และยังยับยั้งเอนไซม์ amylase จากตับอ่อนด้วย ผลที่เกิดขึ้นจากการยับยั้งเอนไซม์เหล่านี้ทำให้ carbohydrate ถูกย่อยยากขึ้น ชลอการดูดซึมแป้งและน้ำตาลซึ่งสามารถลด PPHG

Acarbose ยังมีผลต่อการหลั่งฮอร์โมนจากระบบทางเดินอาหาร ได้แก่ glucagon like peptide-1 (GLP-1) ซึ่งฮอร์โมนนี้มีบทบาทต่อการกระตุ้นการหลั่งอินซูลิน และยับยั้งการสร้างกลูคากอนจากตับอ่อน นอกจากนี้ acarbose ยังส่งผลต่อ gastric emptying time ยาวนานขึ้น^{39,40}



รูปที่ 3 โครงสร้างทางเคมีของยาในกลุ่ม alpha glucosidase inhibitor

A. Acarbose B. Miglitol C. Voglibose

Voglibose ให้ผลเช่นเดียวกับ acarbose ในการกระตุ้นการหลั่ง GLP-1 แต่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ maltase และ sucrase มากกว่า acarbose 20-30 เท่า⁴¹ ในทางคลินิกประสิทธิภาพของ alpha glucosidase inhibitor ลดระดับ HbA_{1c} ระหว่าง 0.7 ถึง 1.0 และค่า FBG อยู่ระหว่าง 35-40 mg/dL (1.4-2.2 mmol/L)¹⁹ ประสิทธิภาพในการลดระดับ HbA_{1c} ของ alpha glucosidase inhibitor จะใกล้เคียงกับ glibenclamide (เมื่อให้ขนาดของ acarbose 100 มก. 3 ครั้งต่อวัน เทียบกับ glibenclamide ขนาดเฉลี่ย 4.3 มก. ต่อวัน)⁴² และเมื่อเทียบประสิทธิภาพของ acarbose ในการลดระดับ HbA_{1c} กับ metformin ขนาด 850 มก. 2 ครั้งต่อวัน ให้ผลในการลดระดับ HbA_{1c} ใกล้เคียงกัน แต่ acarbose ช่วยลดอัตราส่วนของ LDL ต่อ HDL มากกว่า metformin⁴³ ใน ค.ศ. 1997 Costa และ Pinol⁴⁴ ศึกษาผลของการลดระดับ HbA_{1c} ของ acarbose ร่วมกับ glibenclamide และในปีถัดมา Rosenstock และคณะ⁴⁵ ศึกษาในลักษณะเดียวกันแต่เปลี่ยนเป็นการให้ร่วมกับ metformin จากการศึกษาทั้งสองพบว่าเมื่อให้ acarbose ร่วมกับ glibenclamide และ acarbose ร่วมกับ metformin ระดับของ HbA_{1c} ลดลงมากกว่าการได้รับ glibenclamide (แตกต่างกัน 0.8) หรือ metformin (แตกต่างกัน 0.7) เพียงอย่างเดียว acarbose จึงเป็นยาที่เหมาะสมสำหรับการให้ร่วมกับยาในกลุ่ม sulfonylurea หรือ metformin เพื่อลดระดับ HbA_{1c}

Alpha glucosidase inhibitor มีข้อดีคือ ช่วยลดภาวะ PPHG และไม่ทำให้เกิด

ภาวะ hypoglycemia แต่ข้อเสียคือผู้ป่วยต้องรับประทานยา 3 ครั้งต่อวัน และอาจเกิดอาการไม่พึงประสงค์ เช่น ท้องอืด ผายลม และ ท้องเสีย

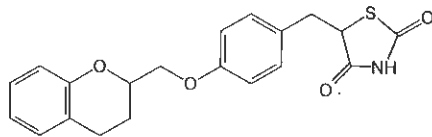
Thiazolidinediones

Thiazolidinediones ได้แก่ troglitazone (รูป 4A) (วางจำหน่ายในปี ค.ศ. 1997 ในประเทศสหรัฐอเมริกา), pioglitazone (รูป 4B) และ rosiglitazone (รูป 4C) กลไกการออกฤทธิ์ไม่ได้กระตุ้นการหลั่งอินซูลินเหมือนกับยาในกลุ่ม sulfonylurea แต่เพิ่มความไวของกล้ามเนื้อและ adipose tissue ต่ออินซูลิน โดย thiazolidinediones จะจับกับ peroxisome proliferator activated receptor (PPAR- γ) พบ receptor ชนิดนี้มากใน adipose tissue การทำงานนี้ต้องร่วมกับ retinoid X receptor (RXR) ซึ่งเป็น nuclear receptor เช่นเดียวกัน ลักษณะการจับระหว่าง PPAR- γ กับ RXR เป็นแบบ heterodimer เกิดกระบวนการ transcription มากขึ้น ส่งผลให้สังเคราะห์ glucose transporter (GLUT) โดยเฉพาะเพิ่มการสร้าง GLUT-1 และ GLUT-4 โดย GLUT-4 จะเคลื่อนที่มาบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ กลูโคสจะถูกนำเข้ามาใช้ภายในเซลล์เพิ่มขึ้นและเพิ่มจำนวน adipose cell differentiation ลดการสะสมไขมันที่ตับ เพิ่มระดับ HDL ส่งผลให้ระดับ LDL และ triglyceride ในเลือดลดลง^{46,47,48,49}

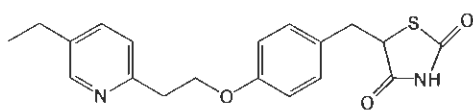
PPAR γ ควบคุมการสร้างฮอริโมน leptin ซึ่งออกฤทธิ์ควบคุมการรับประทานอาหาร เมื่อฮอริโมน leptin สูงทำให้การรับประทานอาหารลดลง จากการศึกษาพบว่า

บทบาทที่สำคัญของ PPAR γ ต่อ leptin คือ ลดการสร้าง leptin เมื่อใดชาด PPAR γ ส่งผลให้เพิ่มระดับของ leptin ความอยากรับประทานอาหารจึงน้อยลงและน้ำหนักตัวจะลดลง^{50,51,52} นอกเหนือจากที่กล่าวมาภายในกลุ่ม thiazolidinedione ช่วยลดความดันโลหิตได้เล็กน้อย⁵³ ลด fibrinolytic activity⁵³ และยังลดการสร้าง TNF α และ IL-6 จากตับ^{54,55}

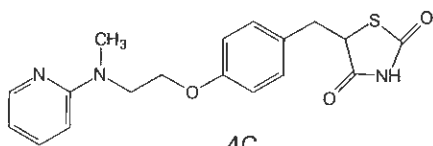
Troglitazone เป็นยาตัวแรกที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย แต่เมื่อใช้ไปไม่นาน พบว่า troglitazone เพิ่ม alanine aminotransferase (ALT) สูงขึ้นซึ่งเป็นพิษต่อตับ^{56,57} ปัจจุบันยาตัวนี้จึงถูกถอนออกจากตลาดแล้ว เหลือเพียง pioglitazone และ rosiglitazone เท่านั้นซึ่งมีความปลอดภัยมากกว่า troglitazone



4A



4B



4C

รูปที่ 4 โครงสร้างทางเคมีของยาในกลุ่ม thiazolidinedione A. Troglitazone B. Pioglitazone C. Rosiglitazone

ความสามารถลดระดับ HbA_{1c} ของยาในกลุ่มนี้อยู่ระหว่าง 0.5 ถึง 1.5% และค่า FPG อยู่ระหว่าง 25-50 mg/dL (1.4-2.8 mmol/L)¹⁹ ในปี ค.ศ. 2000 มีผู้ศึกษาถึงประสิทธิภาพของยาในกลุ่ม thiazolidinediones ที่มีอยู่ในท้องตลาด เมื่อให้ร่วมกับ metformin จากการศึกษาพบว่าเมื่อผู้ป่วยได้รับ pioglitazone ร่วมกับ metformin และ rosiglitazone ร่วมกับ metformin ระดับ HbA_{1c} ลดลงมากกว่าได้รับ metformin เพียงอย่างเดียวถึง 0.8 และ 1.2% ตามลำดับ^{58,59} ส่วนการศึกษากับยาในกลุ่ม sulfonylurea ของ Woffenbuttel และคณะ พบว่าเมื่อผู้ป่วยได้รับ rosiglitazone ร่วมกับ sulfonylurea สามารถลดระดับ HbA_{1c} ได้มากกว่าผู้ป่วยที่ได้รับ sulfonylurea เพียงอย่างเดียว⁶⁰ ในทางคลินิกจะให้ยาในกลุ่ม thiazolidinediones ร่วมกับยาในกลุ่ม sulfonylurea หรือให้ร่วมกับ metformin แต่ไม่นิยมใช้เป็นยาหลักในการควบคุมระดับน้ำตาลในกระแสเลือดในผู้ป่วยโรคเบาหวาน type 2 อาการไม่พึงประสงค์ที่เกิดขึ้นได้ เช่น น้ำหนักตัวเพิ่ม บวม น้ำ ในอนาคตอันใกล้ยาในกลุ่ม thiazolidinedione จะถูกนำมาใช้มากยิ่งขึ้น

ยาใหม่ในการรักษาโรคเบาหวาน

นักวิจัยได้ศึกษาและวิจัยเพื่อนำไปสู่การพัฒนาตัวใหม่สำหรับรักษาโรคเบาหวานทั้ง type 1 และ type 2 เช่น

Amylin analogues^{38,61}

Amylin เป็นเปปไทด์ฮอร์โมนประกอบด้วยกรดอะมิโนทั้งสิ้น 37 ตัว และ

หลังจากตับอ่อนเช่นเดียวกับอินซูลิน ถูกค้นพบครั้งแรกเมื่อปี ค.ศ. 1987 amylin ทำงานร่วมกับอินซูลินและกลูคากอน เพื่อรักษา glucose homeostasis ให้คงที่ตลอดเวลาฤทธิ์ของ amylin จะเพิ่ม gastric emptying time และยับยั้งการหลั่งกลูคากอนหลังรับประทานอาหารซึ่งในผู้ป่วยโรคเบาหวานจะมีกลูคากอนสูงกว่าคนปกติ แต่ amylin จะไม่ยับยั้งการหลั่งกลูคากอนในกรณีที่อินซูลินก่อให้เกิดภาวะ hypoglycemia amylin ยังไปออกฤทธิ์ที่บริเวณสมองส่งผลให้ความอยากรับประทานอาหารน้อยลง

ผู้ป่วยเบาหวานทั้ง type 1 และ type 2 การหลั่งของ amylin จะน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับคนปกติ amylin analogues ที่ถูกพัฒนาขึ้นเรียกว่า pramlintide ในตำแหน่งที่ 25 คือ alanine และตำแหน่งที่ 28, 29 คือ serine ของ human amylin ถูกเปลี่ยนเป็น proline นำมาใช้รักษาในผู้ป่วยเบาหวานทั้ง type 1 และ type 2 ในภาวะที่อินซูลินทำให้เกิด hypoglycemia, pramlintide จะกระตุ้นให้มีปริมาณของ cortisol และ growth factor สูงขึ้นในกระแสเลือด รวมทั้งกระตุ้นให้ปล่อย gluconeogenic substrate lactate จากกล้ามเนื้อ⁶² ใน clinical trial phase III ศึกษาประสิทธิภาพ pramlintide กับผู้ป่วยเบาหวาน type 1 จำนวน 477 คน ระยะเวลา 12 เดือน โดยให้ pramlintide 30 ไมโครกรัม หรือ 60 ไมโครกรัม 4 ครั้งต่อวัน พบว่าระดับ HbA_{1c} ลดลง 0.30 % โดยปราศจากภาวะ hypoglycemia และน้ำหนักตัวไม่เพิ่ม สำหรับในผู้ป่วยเบาหวาน type 2 ศึกษาในผู้ป่วยจำนวน 203 คน พบระดับ

HbA_{1c} ลดลงมากกว่ากลุ่มควบคุม 0.31% และระดับ cholesterol ลดลงมากกว่า 7.2 mg/dL เมื่อผู้ป่วยได้รับ pramlintide ขนาด 60 ไมโครกรัม 3 ครั้งต่อวัน⁶³ pramlintide เหมาะสำหรับลด PPHG ข้อดีของ pramlintide เมื่อเปรียบเทียบกับ regular insulin และ insulin lispro คือ ไม่ทำให้เกิดภาวะ hyperinsulinemia และภาวะ hypoglycemia นอกจากนี้น้ำหนักตัวของผู้ป่วยไม่เพิ่มขึ้นด้วย แต่ผู้ป่วยมักมีอาการปวดท้องคลื่นไส้ซึ่งเป็นข้อเสียของ pramlintide ในเวลานี้ pramlintide อยู่ระหว่างการพิจารณาขอขึ้นทะเบียนใช้กับ FDA ในประเทศสหรัฐอเมริกา

Glucagon Like Peptide-1 (GLP-1)⁶⁴

Glucagon like peptide-1 เป็นฮอร์โมนที่สังเคราะห์จากระบบทางเดินอาหาร พบได้ 2 ลักษณะ ได้แก่ GLP-1(7-36)amide และ GLP-1(7-37) กลไกการออกฤทธิ์ของ GLP-1 จะยับยั้งการหลั่งกลูคากอนจาก α -cells ของตับอ่อน เพิ่มกระบวนการสังเคราะห์และการหลั่งอินซูลิน ยับยั้งกระบวนการ gluconeogenesis และ glycogenolysis เพิ่ม gastric emptying time ให้ยาวนานขึ้น รวมถึงการยับยั้งเอนไซม์ที่ช่วยย่อยอาหารบริเวณลำไส้เล็ก ส่งผลให้การดูดซึมสารอาหารน้อยลง⁶⁵⁻⁶⁹ GLP-1 ออกฤทธิ์ที่สมองทำให้รับประทานอาหารน้อยลง และยังพบว่า GLP-1 สามารถกระตุ้นอัตราการเต้นของหัวใจและเพิ่มความดันโลหิต^{70,71} ในผู้ป่วยโรคเบาหวานการหลั่ง GLP-1 หลังอาหารจะน้อยกว่าในคนปกติ ในปี ค.ศ. 1998 Nauck

GLP-1 → ↓ food intake

และคณะ ศึกษาประสิทธิภาพของ GLP-1 ในผู้ป่วยเบาหวาน type 2 ที่ดื้อต่อยา sulfonylurea พบว่า GLP-1 ช่วยลด FPG มากกว่ากลุ่มผู้ป่วยที่ไม่ได้รับ GLP-1 และพบว่าความเข้มข้นของกลูคากอนและ free fatty acid ลดลงด้วย⁷² แต่การศึกษาของ Zander และคณะพบว่าเมื่อให้ GLP-1 ร่วมกับ metformin ความเข้มข้นของกลูโคสในกระแสเลือดไม่แตกต่างจากเมื่อให้ metformin เพียงอย่างเดียว⁷³ ข้อดีของ GLP-1 คือ สามารถให้กับผู้ป่วยโรคเบาหวานที่มีน้ำหนักตัวมาก แต่อาจพบอาการไม่พึงประสงค์ เช่น คลื่นไส้ อาเจียนได้ นอกเหนือจากที่กล่าวมา กลุ่มยาใหม่ที่มีแนวโน้มที่จะนำมาเป็นยารักษาโรคเบาหวานได้ในอนาคตและกำลังอยู่ระหว่างการทำ clinical trial เช่น non-thiazolidinedione PPAR γ agonist โดยกลไกการออกฤทธิ์เช่นเดียวกับยาในกลุ่ม thiazolidinedione⁷⁴ และ dipeptidyl peptidase IV inhibitor (DP IV inhibitor) ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ dipeptidyl peptidase IV เอนไซม์ชนิดนี้มีหน้าที่ตัดพันธะเปปไทด์ใน glucose dependent insulinotropic polypeptide (GIP) และ GLP-1 จะทำให้ฮอร์โมน 2 ชนิดนี้หมดฤทธิ์ โดยทั้ง GIP และ GLP-1 มีบทบาทต่อการกระตุ้นการหลั่งอินซูลิน และควบคุมระดับน้ำตาลในกระแสเลือด^{75,76}

ความก้าวหน้าที่ค้นพบใหม่นี้จะนำไปสู่การรักษาโรคเบาหวานที่มีประสิทธิภาพมากขึ้น ซึ่งในระยะ 3-5 ปีที่ผ่านมา ยารักษาโรคเบาหวาน type 2 ชนิดใหม่มุ่งเน้นไปที่การกระตุ้นการหลั่งอินซูลินจาก β -cell ของตับอ่อน หรือเป็นการยับยั้งการดูดซึม

ของสารอาหารจำพวกคาร์โบไฮเดรต รวมทั้งการเพิ่มความไวของอินซูลินต่อเนื้อเยื่อและการยับยั้งการสร้างกลูโคสจากตับ การพัฒนารักษาโรคเบาหวานขึ้นมาใหม่นี้ช่วยให้ผู้ป่วยมีคุณภาพชีวิตที่ดีและมีชีวิตที่ยืนยาวต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. King H, Aubert RE, Herman WH. Global burden of diabetes, 1995–2025: prevalence numerical estimates and projections. *Diabetes Care*. 1998; 21: 1414–1431.
2. Communicable Diseases research and development. <http://w3.who.org/re54/rdreport4.htm>
3. Country report on Health status and health problems in Thailand and application of nuclear medicine techniques in resolving some of national health problems. <http://www.batan.go.id>
4. Unalchak K, Tuchinda C. Incidence of type 1 diabetes in children under 15 years in northern Thailand, from 1991 to 1997. *J Med Assoc Thai*. 2001; 84(7): 923–928.
5. Panamonta O, Laopaiboon M, Tuchinda C. Incidence of childhood Type 1 (Insulin Dependent) diabetes mellitus in North-eastern Thailand. *J Med Assoc Thai*. 2000; 83 (8): 821–824.
6. Patarakujvanich N, Tuchinda C. Incidence of diabetes mellitus type 1 in children of southern Thailand. *J Med Assoc Thai*. 2001; 84(8): 1071–1074.
7. American Diabetes Association : Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2001; 24(Suppl 1):S5–S20.
8. Diabetes Mellitus. <http://www.Thaiclinic.com/dm.html>.
9. American Diabetes Association: Diabetes mellitus and exercise. *Diabetes Care*. 2001; 24(suppl1): S51–S55.
10. American Diabetes Association : Standards of medical care of patients with diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2001 ;24 (Suppl 1): S33–S43.
11. Ross SA, Zinman B, Campos RV, Strack T. A comparative study of insulin lispro and human regular insulin in patients with type 2 diabetes mellitus and

- secondary failure of oral hypoglycemic agents. *Clin Invest Med*. 2001; 24(6): 292-298.
12. Gillies PS, Figgilt DP, Lamb HM. Insulin glargine. *Drugs*. 2000; 59: 253-260.
 13. Koivisto VA, Tuominen JA, Ebeling P. Lispro Mix25 insulin as premeal therapy in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*. 1999; 22(3): 459-462.
 14. Schuster J, Rubsamen R, Lioyd P, Lioyd J. The AREX aerosol delivery system. *Pharm Res*. 1997; 14: 354-357.
 15. Brunner GA, Balent B, Ellmerer M, Schaupp L, Siebenhofer A, Jendle JH, Okikawa J, Pieber TR. Dose-response relation of liquid aerosol inhaled insulin in type 1 diabetic patients. *Diabetologia*. 2001; 44: 305-308.
 16. Farr SJ, Warren SJ, Lioyd P, Okikawa JK, Schuster JA, Rowe AM, Rubsamen RM, Taylor G. Comparison of in vitro and in vivo efficiencies of a novel unit-dose liquid aerosol generator and a pressurized metered dose inhaler. *Int J Pharm*. 2000; 198: 63-70.
 17. Miki T, Nagashima K, Seino S. The structure and function of the ATP-sensitive K^+ channel in insulin-secreting pancreatic B-Cells. *J mol Endocrinol*. 1999; 22: 113-123.
 18. Deerochanawang C, Chandraprasert S, Suthijumroon A, Himathongkam T, Nitiyanant W, Benjasuratawong Y, Suwanwalaikorn S, Sarin-napakorn V, Vongterapak S. Glimepiride in type 2 diabetes mellitus Thai patients. *J Med Assoc Thai*. 2001; 84(9):1221-1228.
 19. Luna B, Mark NF. Oral agents in the management of type 2 diabetes mellitus. *Am Fam Physician*. 2001;63(9):1747-1756.
 20. Feinglos MN, Thacker CR, Lobaugh B, DeAtkine DD, McNeill DB, English JS, Bursey DL. Combination insulin and sulfonylurea therapy in insulin-requiring type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract* 1998; 39(3): 193-199.
 21. Lawrence CL, Proks P, Rodrigo GC, Jones P, Hayabuchi Y, Standen NB, Ashcroft FM. Gliclazide produces high-affinity block of KATP channel in mouse isolated pancreatic beta cells but not rat heart or arterial smooth muscle cells. *Diabetologia*. 2001;44: 1019-1025.
 22. Nomura H, Naito M, Kodama M, Kato Y, Iguchi A. Effects of gliclazide on low-density lipoprotein oxidizability and atherosclerosis in cholesterol fed rabbits. *J Atheroscler Thromb*. 2000; 7: 104-109.
 23. Mamputu JC, Renier G. Gliclazide decreases vascular smooth muscle cell dysfunction induced by cell-mediated oxidized low-density lipoprotein. *Metabolism*. 2001; 50: 688-695.
 24. Kwong SC, Brubacher J. Phenformin and Lactic acidosis: a case report and review. *J Emerg med* 1998; 16(6): 881-886.
 25. Campbell IW. Antidiabetic drugs present and future: will improve insulin resistance benefit cardiovascular risk in type 2 diabetes mellitus? *Drugs*. 2000; 60(5); 1017-1028.
 26. DeFronzo RA, Goodman AM. Efficacy of metformin in patients with non-insulin-dependent-diabetes mellitus: the Multicenter Metformin Study Group. *N Eng J Med*. 1995; 333:541-549.
 27. Bailey CJ, Tuner RC. Metformin. *N Eng J Med*. 1995; 333: 574-579.
 28. Stang M, Wysowski DK, Bulter-Jones D. Incidence of lactic acidosis in metformin users. *Diabetes Care*. 1999; 22(6): 925-927.
 29. Christine RC, Jarvis B. Repaglinide a review of its therapeutic Use in Type2 diabetes mellitus. *Drugs*. 2000; 61(11): 1625-1660.
 30. Dunn CJ, Faulds D. Nateglinide. *Drugs*. 2000; 60(3): 607-615.
 31. Marbury T, Huang WC, Strange P, Lebovitz H. Repaglinide versus glyburide: a one-year comparison trial. *Diabetes Res Clin Pract*. 1999;43(3):155-66.
 32. Landgraf R, Bilo HJ, Muller PG. A comparison of repaglinide and glibenclamide in the treatment of type 2 diabetic patients previously treated with sulphonylureas. *Eur J Clin Pharmacol*. 1999; 55(3):165-71.
 33. Madsbad S, Kilhovd B, Lager I, Mustajoki P, Dejgaard A. Comparison between repaglinide and glipizide in type 2 diabetes mellitus: a 1-year multicentre study. *Diabet Med*. 2001;18(5):395-401.
 34. Moses R, Slobodniuk R, Boyages, Colagiuri S, Kidson W, Carter J, Donnelly T, Moffitt P, Hopkins H. Effect of repaglinide addition to metformin monotherapy on glycemic control in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 1999; 22(1):119-124.
 35. evien TL, Baker DE, Campbell RK, White JR Jr. Nateglinide therapy for type

- 2 diabetes mellitus. *Ann Pharmacother*. 2001; 35(11): 1426-1434.
36. Hu S, Wang S, Dunning BE. Tissue selectivity of antidiabetic agent nateglinide: study on cardio-vascular and beta-cell K(ATP) channels. *J Pharmacol Exp Ther*. 1999; 29(1): 1372-1379.
37. Horton ES, Clinkingbeard C, Gatlin M, Foley J, Mallows S, Shen S. Nateglinide alone and in combination with metformin improves glycemic control by reducing mealtime glucose levels in type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2000; 23(11):1660-1665.
38. Arshag DM, Jerome ET. Drug therapy of postprandial hyperglycaemia. *Drugs*. 1999; 57(1):19-29.
39. Enc FY, Umery, AkinL, Troglu T, Dede F, Hak-klar G, Tekesin N, Bekiroglu N, Yegen BC, Rehfeld JF, Holst JJ, Ulusoy NB. Inhibition of gastric emptying by acarbose is correlated with GLP-1 response and accompanied by CCK releases. *Am J Physiol Gastrointest Physiol*. 2001; 281(3): G752-763.
40. Ranganath L, Norris F, Morgan L, Wright J, Marks V. Delayed gastric emptying occurs following acarbose administration and is a further mechanism for its anti-hyperglycaemic effect. *Diabet Med*. 1998; 15(2): 120-124.
41. Improving agent for postprandial hyperglycemia in diabetes mellitus. Voglibose tablets. <http://www.takeda.com>.
42. Hoffmann J, Spengler M. Efficacy of 24-week monotherapy with acarbose, glibenclamide, or placebo in NIDDM patients. The Essen Study. *Diabetes Care*. 1994; 17(6): 561-566.
43. Hoffmann J, Spengler M. Efficacy of 24-week monotherapy with acarbose, metformin, or placebo in dietary-treated NIDDM patients: the Essen-II study. *Am J Med*. 1997; 103(6): 483-490.
44. Costa B, Pinol C. Acarbose in ambulatory treatment of non-insulin-dependent diabetes mellitus associated to imminent sulfonylurea failure: a randomized-multicentric trial in primary health-care: Diabetes and Acarbose Research Group. *Diabetes Res Clin Pract*. 1997;38:33-40.
45. Rosenstock J, Brown A, Fischer J, et al. Efficacy and safety of acarbose in metformin-treated patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 1998; 21(12); 2050-2055.
46. Berger J, Moller DE. The mechanisms of action of PPARs. *Annu Rev Med*. 2002; 53: 409-435.
47. Gervois P, Torra IP, Fruchart JC, Staels B. Regulation of lipid and lipoprotein metabolism by PPAR activators. *Clin Chem Lab Med*. 2000; 38(1): 3-11.
48. Staels B, Schoonjans K, Fruchart JC, Auwerx J. The effects of fibrates and thiazolidinediones on plasma triglyceride metabolism are mediated by distinct proximal proliferator activated receptors (PPARs). *Biochimie*. 1997; 79(2-3); 95-99.
49. Guerre-Millo M, Gervois P, Raspe E et al. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha activators improve insulin sensitivity and reduce adiposity. *J Biol Chem*. 2000; 275(22):16638-16642.
50. Wang MY, Lee Y, Unger RH. Novel form of lipolysis induced by leptin. *J Biol Chem*. 1999; 274(25): 17541-17544.
51. Krempler F, Breban D, Oberkofler H et al. Leptin, peroxisome proliferator-activated receptor-gamma, and CCAAT/enhancer binding protein-alpha mRNA expression in adipose tissue of humans and their relation to cardiovascular risk factors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000; 20: 443-449.
52. Mason MM, He Y, Chen H, Quon MJ, Reitman M. Regulation of leptin promoter function by Sp1, C/EBP, and a novel factor. *Endocrinology*. 1998; 139(3): 1013-1022.
53. Sung BH, Izzo JL, Dandona P, Wilson MF. Vasodilatory effects of troglitazone improve blood pressure at rest and during mental stress in type 2 diabetes mellitus. *Hypertension*. 1999; 34(1): 83-88.
54. Kruszynska YT, Yu JG, Olefsky JM, Sobel BE. Effects of troglitazone on blood concentrations of plasminogen activator inhibitor 1 in patients with type 2 diabetes and in lean and obese normal subjects. *Diabetes*. 2000; 49(4): 633-639.
55. Sigrist S, Bedoucha M, Boelsterli UA. Down-regulation by troglitazone of hepatic tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6 mRNA expression in a murine model of non-insulin-dependent diabetes. *Biochem Pharmacol*. 2000; 60(1): 67-75.
56. Yamamoto Y, Nakajima M, Yamazaki H, Yokoi T. Cytotoxicity and apoptosis produced by troglitazone in human

- hepatoma cells. *Life Sci.* 2001; 70(4): 471-482.
57. Scheen AJ. Thiazolidinediones and liver toxicity. *Diabetes Metab.* 2001; 27(3): 305-313.
 58. Einhorn D, Rendell M, Rosenzweig J, Egan JW, Mathisen AL, Schneider RL. Pioglitazone hydrochloride in combination with metformin in the treatment of type 2 diabetes mellitus : a randomized , placebo controlled study: the Pioglitazone 027 Study Group. *Clin Ther.* 2000; 22: 1395-1409.
 59. Fonseca V, Rosenstock J, Patwardhan R, Salzman A. Effect of metformin and rosiglitazone combination therapy in patients with type 2 diabetes mellitus: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2000; 283: 1695-1702.
 60. Wolffenbuttel BH, Gomis R, Squatrito S, Jones NP, Patwardhan RN. Addition of low-dose rosiglitazone to sulphonylurea therapy improves glycaemic control in type 2 diabetic patients. *Diabet Med.* 2000; 134:737-745.
 61. Amylin: A brief review of physiological functions. <http://www.amylin.com>.
 62. Schmitz O, Nyholm B, Orskov L, Gravholt C, Moller N. Effects of amylin and the amylin agonist pramlintide on glucose metabolism. *Diabet Med.* 1997; 14(Suppl 2): S19-23.
 63. Thompson RG, Pearson L, Schoenfeld SL, Koletarman OG. Pramlintide, a synthetic analog of human, improves the metabolic profile of patients with type2 diabetes using insulin. *Diabetes Care.* 1998; 21(6): 987-993.
 64. GLP-1. <http://www.glucagon.com>
 65. Delgado-Aros S, Kim DY, Burton DD et al. Effect of GLP-1 on gastric volume ,emptying, maximum volume ingested, and postprandial symptoms in humans. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2002; 282(3): G424-431.
 66. Willms B, Werner J, Holst JJ, Orskov C, Creutzfeldt W, nauck MA. Gastric emptying, glucose responses, and insulin secretion after a liquid test meal:effects of exogenous glucagon-like peptide-1 (GLP-1)-(7-36)amide in type 2 (noninsulin-dependent) diabetic patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996; 81(1): 327-332.
 67. Gutzwiller JP, Drewe J, Goke B, Schmidt H, Rohrer B, Lareida J, Beglinger C. Glucagon-like peptide-1 promotes satiety and reduces food intake in patients with diabetes mellitus type2. *Am J Physiol.* 1999; 276(5Pt2): R1541-1544.
 68. Drucker JD. Biological actions and therapeutic potential of the glucagon-like peptides. *Gastroenterology.* 2002;122:531- 544.
 69. Pefetti R, Merkel P. Glucagon-like peptide-1: a major regulator of pancreatic β -cell function. *Eur J Endocrinol.* 2000;143:717-725.
 70. Barragan LM, Rodriguez RE, Blazquez E. Changes in arterial blood pressure and heart rate induced by glucagon-like peptide-1(7-36)amide in rats. *Am J Physiol.* 1994; 266(3Pt1): E459-466.
 71. Barragan LM, Eng J, Rodriguez R, Blazquez E. Neutral contribution to effect of glucagon like peptide-1(7-36)amide on arterial blood pressure in rats. *Am J Physiol.* 1999; 277(5Pt1): E784-791.
 72. Nauck MA, Sauerwald A, Ritzel R, Holst JJ, Schmiegell W. Influence of glucagon-like peptide-1 on fasting glycemia in type2 diabetic patients treated with insulin after sulfonylurea secondary failure. *Diabetes Care.* 1998; 21(11): 1925-1931.
 73. Zander M, Taskiran M, Toft-Nielsen MB, Madsbad S, Holst JJ. Additive glucose-lowering effects of glucagon-like peptide-1 and metformin in type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2001;24 (4):720-725.
 74. Non-thiazolidinedione PPAR γ agonists (GI262570). Glaxo Wellcome,Inc. <http://www.galxowellcome.com>
 75. Pospisilik JA, stafford SG, Demuth H-U, Brownsey R, Parkhouse W, Finegood DT, McIntosh CHS, Pederson RA. Long-term Treatment with the Dipeptidyl Peptidase IV Inhibitor P32/98 Causes sustained improvements in glucose toletance, insulin sensitivity, hyper-insulinemia, and β -cell glucose responsiveness in VDF(fa/fa) Zucker rats. *Diabetes.* 2002;51:943-950.
 76. Ahren B, simonsson E, Lasson H, et al. Inhibition of dipeptidyl peptidase IV improves metabolic control over a 4-week study period in type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2002; 25(5): 869-875.

NEW DRUGS

Hyalgan[®] in the Treatment of Osteoarthritis of the Knee

Supanimit Teekachunhatean, Chaichan Sangdee

Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

ABSTRACT

HA is a natural biopolymer made up of repeating sequences of disaccharides (glucuronic acid and N-acetylglucosamine). In patients with osteoarthritis (OA) synovial fluid HA becomes depolymerized, resulting in a decrease in molecular weight and elastoviscosity and increasing susceptibility of cartilage to injury. Intra-articular (IA) injections of HA lead to restoration of elastoviscosity of the synovial fluid. Moreover, these HA preparations are also believed to exert their therapeutic effects in OA via anti-inflammatory and anti-nociceptive effects, normalization of HA synthesis, and chondroprotection. Hyalgan[®] (Fidia S.p.A., Italy) is a viscous solution of highly purified HA of well-defined molecular weight (500-730 kD) extracted from rooster combs. In several clinical studies, 3 to 5 weekly IA injections of Hyalgan[®] in patients with OA of the knee are superior to placebo and generally well tolerated with sustained improvement of pain and functional status. It has also demonstrated that 5 weekly IA injections of Hyalgan[®] are at least as effective as continuous treatment with naproxen for 26 weeks. IA injections of either Hyalgan[®] or methylprednisolone acetate modify a number of structural variables of synovial membrane and cartilage of the osteoarthritic human knee towards the appearance of those obtained from normal subjects. These provide evidence that Hyalgan[®] might possess potential structure-modifying activity. Local reactions such as pain, swelling, effusion, warmth or redness at the injection site have been reported. Usually such symptoms are minor, transient and disappear spontaneously within a few days. Hyalgan[®] should therefore be considered in patients with OA of the knee who present a history of NSAIDs intolerance or lack of efficacy, or in patients with a relative contraindication to use of the NSAIDs, such as the elderly, or patients with a history of or currently active peptic ulcer disease.

Key words : hyaluronan, Hyalgan[®], osteoarthritis of the knee

บทนำ

ก่อนหน้านี้การใช้ยารักษาโรคข้อเข่าเสื่อม (osteoarthritis of knee) มีจุดประสงค์เพื่อบรรเทาอาการปวด และลดความทุพพลภาพโดยใช้ยาบรรเทาอาการ (symptom modifying drugs) ที่ออกฤทธิ์เร็ว ซึ่งได้แก่ ยาแก้ปวด (analgesics) ยาต้านอักเสบที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ (nonsteroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs) และยาสเตียรอยด์ชนิดฉีดเข้าข้อ อย่างไรก็ตาม ปัจจุบันได้มีการพัฒนายารักษาโรคข้อเสื่อมอีกอย่างน้อย 2 กลุ่ม ซึ่งได้แก่

1. ยาบรรเทาอาการข้อเสื่อมที่ออกฤทธิ์ช้า (symptomatic slow acting drugs in osteoarthritis, SYSADOA¹) เป็นยาที่ออกฤทธิ์ช้าแต่มีประสิทธิผลดีในระยะยาว และสามารถลดความต้องการหรือหลีกเลี่ยงการรักษาโดยวิธีอื่น เช่น NSAIDs หรือยาสเตียรอยด์ชนิดฉีดเข้าข้อ เป็นต้น

2. ยาที่มีผลเปลี่ยนแปลงการดำเนินโรคของข้อเสื่อม (disease modifying osteoarthritis drugs, DMOAD¹) หรืออาจเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า ยาที่มีผลปกป้องกระดูกอ่อน (chondroprotective drugs) เป็นยาที่มีผลเพิ่มการซ่อมแซม และ/หรือ ชะลอการทำลายกระดูกอ่อนภายในข้อที่เสื่อม

การศึกษาทั้งในสัตว์ทดลองและในทางคลินิกล้วนสนับสนุนว่า hyaluronan หรือ hyaluronic acid (HA) น่าจะจัดเป็นยาประเภท SYSADOA^{1,2} ซึ่ง HA ที่ใช้รักษาโรคข้อเสื่อมในปัจจุบันมีหลายชนิด³ เช่น Hyalgan[®] (น้ำหนักรโมเลกุล 5-7.3 แสนดาลตัน), Artz[®] (น้ำหนักรโมเลกุล 6 แสน-

1.2 ล้านดาลตัน), Synvisc[®] (น้ำหนักรโมเลกุล 7 ล้านดาลตันและมีส่วนประกอบที่เป็นเจล) เป็นต้น อย่างไรก็ตาม บทความนี้มีจุดประสงค์ที่จะรวมรวมการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับกลไกการออกฤทธิ์ของ HA และการศึกษาทางคลินิกที่น่าสนใจเกี่ยวกับการใช้ Hyalgan[®] รักษาโรคข้อเข่าเสื่อมเท่านั้น

กลไกการออกฤทธิ์ของ hyaluronan ในการรักษาโรคข้อเสื่อม

HA เป็นสารมโเลกุลที่เกิดจากน้ำตาลโมเลกุลคู่ (N-acetyl glucosamine และ glucuronic acid) ประมาณ 12,500 คู่ เรียงตัวซ้ำๆ และต่อกันเป็นสาย polysaccharide มีน้ำหนักรโมเลกุลประมาณ 4-5 ล้านดาลตัน HA ในน้ำไขข้อมีความเข้มข้นสูงถึง 2.5-4.0 mg/ml^{3,4} ซึ่งสังเคราะห์จาก synovocytes ของ synovial tissue ในขณะที่ข้อเคลื่อนไหวย่างช้าๆและไม่รุนแรง HA จะทำให้น้ำไขข้อมีคุณสมบัติหนืด (viscous) เพื่อหล่อลื่นข้อ แต่เมื่อข้อเคลื่อนไหวเร็วและรุนแรง HA จะทำให้น้ำไขข้อมีคุณสมบัติยืดหยุ่น (elastic) เพื่อดูดซับแรงที่กระทำต่อข้อ ดังนั้น HA ในน้ำไขข้อจึงเป็นองค์ประกอบสำคัญที่ทำให้น้ำไขข้อมีทั้งคุณสมบัติยืดหยุ่นและหนืด (elastoviscosity)⁴

จากการศึกษาพบว่า น้ำไขข้อจากข้อที่เสื่อม (osteoarthritic joints)⁴⁻⁶ มีความเข้มข้นของ HA ลดลงเหลือ 1-3 mg/ml และน้ำหนักรโมเลกุลลดลงเหลือ 1-4 ล้านดาลตัน ทำให้น้ำไขข้อมี elastoviscosity ลดลงจึงเกื้อหนุนให้เกิดความเสียหายต่อผิวกระดูกอ่อนและ synovial tissue มากขึ้น ดังนั้นการฉีด HA เข้าข้อที่เสื่อมเพื่อปรับ

elastoviscosity ของน้ำไขข้อ จึงทำให้น้ำไขข้อสามารถหล่อลื่นและดูดซับแรงที่กระทำต่อข้อเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ลดอาการปวดข้อและทำให้ข้อเคลื่อนไหวได้ดีขึ้น⁷ อย่างไรก็ตาม ปัจจุบันเชื่อว่า HA สามารถบรรเทาอาการของโรคข้อเสื่อมโดยอาศัยกลไกต่างๆ ที่นอกเหนือจากการปรับ elastoviscosity ซึ่งพอสรุปได้ดังนี้

1. จากการศึกษาในเซลล์เพาะเลี้ยงพบว่า HA มีฤทธิ์ด้านการอักเสบโดยมีผลยับยั้ง phagocytosis⁸⁻¹⁰, cell migration^{8,10,12}, การกระตุ้น lymphocyte^{12,13} และการหลั่ง prostaglandin¹⁴ กลไกเหล่านี้เป็นกลไกทางกายภาพและเคมี (physicochemical mechanism) ที่ไม่จำเพาะและไม่เกี่ยวข้องกับกลไกทางเภสัชวิทยา^{8,15,16}

2. HA มีฤทธิ์ระงับปวดซึ่งเป็นผลทางอ้อมจากฤทธิ์ด้านอักเสบ นอกจากนี้ ยังสามารถลดความเข้มข้นของ pain mediators (เช่น bradykinin และ prostaglandin E₂) ในน้ำไขข้อของข้อที่ถูกเหนี่ยวนำให้อักเสบ¹⁷ และสามารถกักเก็บ (entrap) สารเคมีที่เกี่ยวข้องกับความปวด (pain substances) ไว้ในโมเลกุลของ HA เอง¹⁸ รวมถึงสามารถเคลือบพื้นที่ผิวภายในข้อ ทำให้ตัวรับรู้สีกเจ็บ (pain receptors) ถูกกระตุ้นได้ยากขึ้น¹⁹⁻²⁰

3. จากการศึกษาในหลอดทดลอง (in vitro) พบว่า HA สามารถกระตุ้น synoviocytes ของข้อที่เสื่อมให้สังเคราะห์ HA เพิ่มขึ้น²¹

4. จากการศึกษาในหลอดทดลองพบว่า HA มีฤทธิ์ป้องกันการทำลายกระดูกอ่อน (chondroprotective effects) โดย

กระตุ้นการสร้าง tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMP-1)²² และยับยั้งการทำลายกระดูกอ่อนของเม็ดเลือดขาวนิวโตรฟิล (neutrophil-mediated cartilage degradation)²³ นอกจากนี้ยังสามารถลดการทำลายกระดูกอ่อนที่เกิดจาก interleukin-1, degradative enzyme และ oxygen-derived free radicals²⁴ จากการศึกษาในสัตว์ทดลองที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดโรคข้อเสื่อม^{25,26} พบว่า HA ยังมีผลชะลอการเกิดโรค ลดจนลดการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพที่เกิดกับกระดูกอ่อนและชั้นกระดูกใต้กระดูกอ่อน (subchondral bone)

เภสัชจลนศาสตร์ (pharmacokinetics)

ของ hyaluronan

จากการศึกษาในสัตว์ทดลองโดยฉีด HA เข้าข้อครั้งเดียวหรือฉีดซ้ำหลายครั้ง พบว่า HA สามารถกระจายตัวเข้าสู่เนื้อเยื่อของข้อได้อย่างรวดเร็ว โดยพบความเข้มข้นสูงสุดในน้ำไขข้อ ตามด้วยแคปซูลหุ้มข้อ (joint capsule) เส้นเอ็น (ligaments) และกล้ามเนื้อที่อยู่รอบข้อตามลำดับ HA ถูกกำจัดออกจากน้ำไขข้อได้ภายใน 2-3 วัน (มีครึ่งชีวิตประมาณ 10.2-13.2 ชั่วโมง แล้วแต่น้ำหนักโมเลกุล)²⁷ แต่ HA ที่อยู่ในเยื่อหุ้มข้อนั้นสามารถคงอยู่ได้นาน 7 วัน HA ที่อยู่ในข้อจะกระจายตัวเข้าสู่ระบบน้ำเหลืองและถูกทำลายที่ต่อมน้ำเหลือง ส่วนที่เหลือจะกระจายตัวเข้าสู่กระแสเลือดและถูกขจัดออกจากร่างกายได้อย่างรวดเร็วโดยอาศัยกลไกการจับเก็บ (uptake) จากรีเซพเตอร์ของเอนโดทีเรียลเซลล์ (endothelial cell) ที่อยู่ในตับ²⁸ นอกจากนี้ยังพบการจับเก็บส่วน

น้อย (minor uptake) ที่ม้ามและไขกระดูก อย่างไรก็ตาม ยังมี HA ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำอีกส่วนหนึ่งที่ถูกขับออกจากร่างกายทางไตโดยผ่านกระบวนการกรอง (glomerular filtration)²⁹

ประสิทธิผลทางคลินิกของ Hyalgan® ในการรักษาโรคข้อเข่าเสื่อม

Hyalgan® (Fidia S.p.A., ประเทศอิตาลี) อ่านออกเสียงว่า “ยัลแกน” เป็นสารละลายชนิดของ HA ที่บริสุทธิ์อย่างยิ่งยวด (highly purified HA) สกัดจากหงอนไก่ตัวผู้ (rooster comb) มีน้ำหนักโมเลกุล 5-7.3 แสนดาลตัน และมีความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร²

ก. การศึกษาเปรียบเทียบระหว่าง Hyalgan® กับการรักษาหลอก

จากการศึกษาแบบ double blind randomized placebo and arthrocentesis controlled study³⁰ ซึ่งแบ่งผู้ป่วยข้อเข่าเสื่อมที่มีน้ำในข้อเข่าอย่างน้อย 3 มิลลิลิตร จำนวน 100 ราย ออกเป็น 5 กลุ่มเท่าๆกัน โดยแต่ละกลุ่มได้รับการรักษาดังแสดงไว้ในตารางที่ 1 และได้รับการประเมินตัวแปรต่างๆ เมื่อเริ่มต้นรักษา และวันที่ 14, 28, 35, และ 60 ตามลำดับ พบว่า 60 วันหลังจากฉีดยาครั้งแรก อาการปวดขณะเคลื่อนไหว และ Lequesne's functional index ของทุกกลุ่มลดลงจากค่าเริ่มต้น แต่กลุ่มที่ได้รับ

ตารางที่ 1 วิธีการรักษาของแต่ละกลุ่ม (ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิงหมายเลข 30)

วิธีการรักษา ของแต่ละกลุ่ม	วันที่				
	เริ่มต้น	7	14	21	28
การรักษาหลอก	A+ P	P	P	P	P
การเจาะข้อเข่า	A	A ¹	A ¹	A ¹	A ¹
HA-1	A + HA	A ¹	A ¹	A ¹	A ¹
HA-3	A + HA	HA	HA	A ¹	A ¹
HA-5	A + HA	HA	HA	HA	HA

HA = Hyalgan® ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 2 มิลลิลิตร

HA-1 = การฉีด Hyalgan® เข้าข้อเข่า เพียงครั้งเดียว

HA-3, HA-5 = การฉีด Hyalgan® เข้าข้อเข่า สัปดาห์ละครั้ง จำนวน 3 และ 5 ครั้ง ตามลำดับ

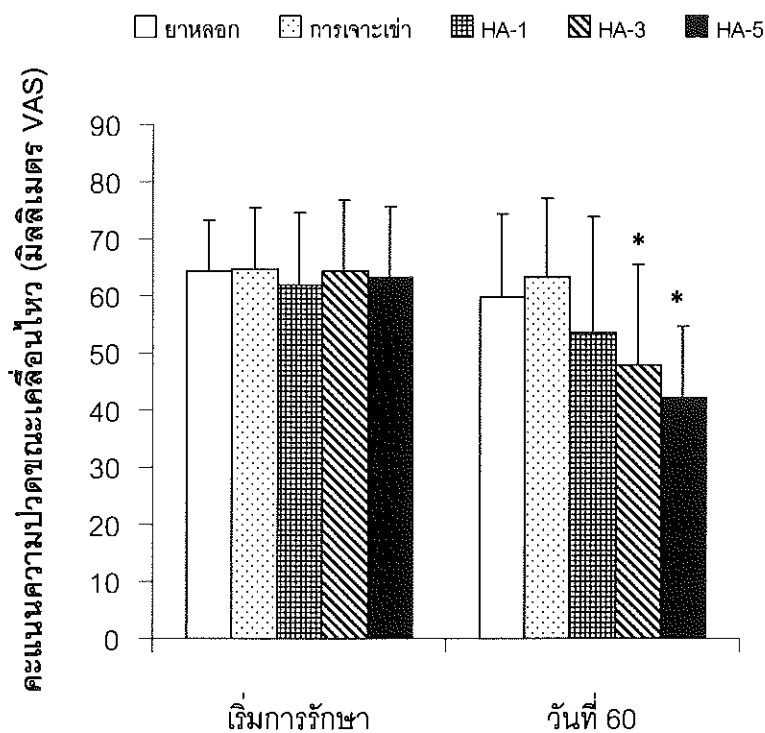
A = การเจาะข้อเข่า (arthrocentesis) แล้วดูดน้ำไขข้อออกให้ได้มากที่สุด

A¹ = การเจาะข้อเข่าแต่ไม่มีการดูดน้ำไขข้อออก

P = ยาหลอก (placebo) ซึ่งได้แก่ สารละลาย buffered saline 2 มิลลิลิตร

Hyalgan[®] 3 ครั้งและ 5 ครั้ง (HA-3 และ HA-5) มีค่าลดลงมากกว่าและมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มอื่น (รูปที่ 1) แม้จะไม่พบความแตกต่างทางสถิติระหว่างกลุ่ม HA-3 กับ HA-5 แต่กลุ่ม HA-5 มีแนวโน้มของการตอบสนองโดยรวมที่ดีกว่ากลุ่ม HA-3 สรุปว่าการฉีดยา Hyalgan[®] เข้าข้อเข่าสัปดาห์ละครั้งต่อเนื่องกัน 3 หรือ 5 ครั้ง มีประสิทธิภาพในการรักษาโรคข้อเข่าเสื่อมและคงประสิทธิภาพได้นานอย่างน้อย 2 เดือน

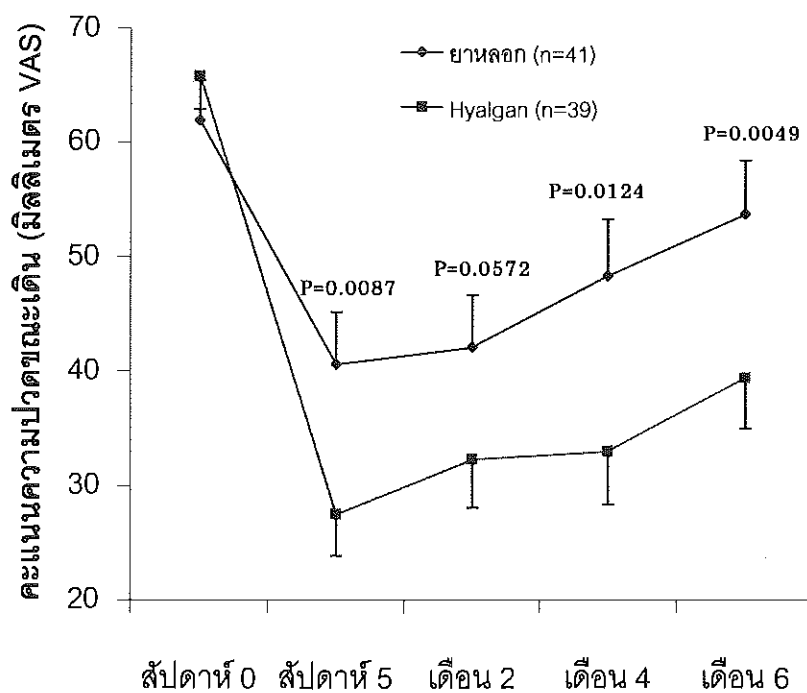
นอกจากนี้ ยังมีการศึกษาแบบ randomized, placebo controlled, blind observer study³¹ ในผู้ป่วยโรคข้อเข่าเสื่อมที่มี Kellgren and Lawrence grade II หรือ III (ดูภาคผนวก) โดยเปรียบเทียบระหว่างการฉีดยา Hyalgan[®] 2 มิลลิลิตรเข้าข้อเข่าสัปดาห์ละครั้งรวม 5 ครั้ง กับการฉีดยาน้ำเกลือเข้าข้อ (ยาหลอก) และติดตามผลหลังฉีดยาครั้งแรกนาน 6 เดือน พบว่ากลุ่มที่ได้รับ Hyalgan[®] มีคะแนนความปวดขณะเดินต่ำกว่ากลุ่มยาหลอกอย่างมีนัยสำคัญทาง



รูปที่ 1 ค่าเฉลี่ย (mean $\pm$ SD) ของ visual analogue scale (VAS) ที่ใช้ประเมินความปวดขณะเคลื่อนไหวเมื่อเริ่มรักษาและหลังรักษา 60 วัน ของกลุ่มตัวอย่างทั้งห้ากลุ่ม (n= 20 คน/กลุ่ม) *p<0.005 เมื่อเปรียบเทียบกับยาหลอก การเจาะเข้า และ HA (HA-1 หมายถึงกลุ่มที่ได้รับการฉีดยา Hyalgan[®] เข้าข้อเข่าเพียงครั้งเดียว ส่วน HA-3, HA-5 หมายถึงกลุ่มที่ได้รับการฉีดยา Hyalgan[®] เข้าข้อเข่า สัปดาห์ละครั้งจำนวน 3 และ 5 ครั้ง ตามลำดับ) (ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิงหมายเลข 30)

สถิติ เมื่อประเมิน ณ สัปดาห์ที่ 5 (ฉีดยาเข้าข้อครบทุกเข็ม) เดือนที่ 4 และเดือนที่ 6 (รูปที่ 2) นอกจากนี้ยังพบว่า กลุ่มที่ได้รับ Hyalgan[®] มี Lequesne's functional index (ดูภาคผนวก) ต่ำกว่ากลุ่มยาหลอกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อประเมิน ณ สัปดาห์ที่ 5 ($p=0.03$) และเดือนที่ 2 ($p=0.04$) แต่เดือนที่ 4 นั้นพบเพียงความแตกต่างแบบก้ำกึ่ง ($p=0.053$) สรุปว่าการฉีด Hyalgan[®] เข้าข้อเข้าที่เสื่อมสัปดาห์ละครั้งต่อเนื่องกัน 5 ครั้ง มีประสิทธิภาพเหนือกว่ายาหลอก และสามารถคงประสิทธิภาพการบรรเทาปวดได้นานอย่างน้อย 6 เดือน

จากการศึกษาแบบ prospective, randomized, single blind, placebo controlled trial³² ในผู้ป่วยโรคข้อเสื่อมที่มีน้ำในข้อ 110 ราย โดยใช้ Hyalgan[®] เปรียบเทียบกับ vehicle ของ Hyalgan[®] ฉีดเข้าข้อเข้าสัปดาห์ละครั้งต่อเนื่องกัน 4 สัปดาห์ และประเมินผล ณ สัปดาห์ที่ 7 และ 52 (นับจากเริ่มรักษา) การศึกษานี้มีผู้ป่วย 95 รายได้รับการรักษาจนครบกำหนดพบว่า ณ สัปดาห์ที่ 7 (4 สัปดาห์หลังจากฉีดครั้งสุดท้าย) ผู้ป่วยในกลุ่ม Hyalgan[®] มีอาการดีขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม กล่าวคือ visual analogue score (VAS)



รูปที่ 2 ค่าเฉลี่ย (mean ± SEM) ของ visual analogue scale (VAS) ที่ใช้ประเมินความปวดขณะเดินของกลุ่มที่ได้รับ Hyalgan[®] และยาหลอก (ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิงหมายเลข 31)

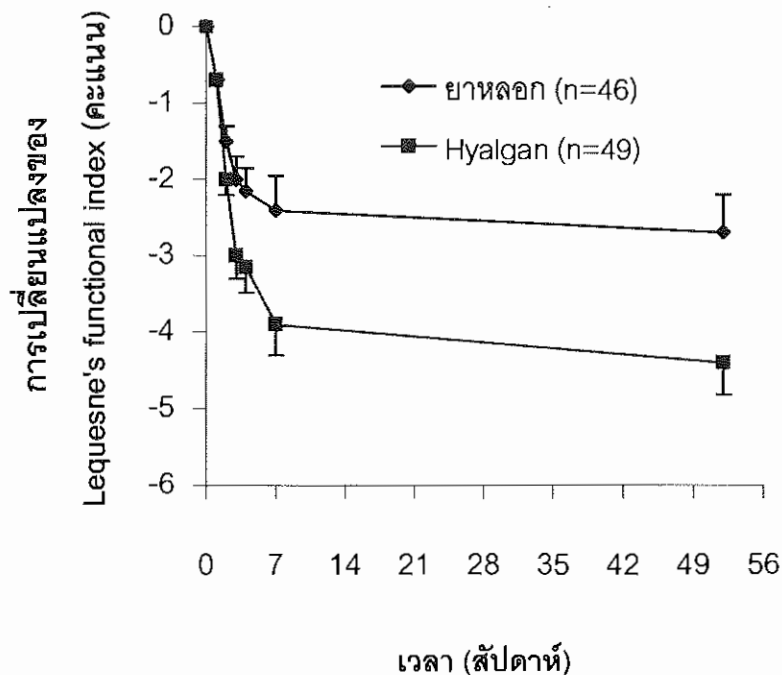
ของอาการปวดลดลง -35.5 ± 26.4 เทียบกับ -25.8 ± 21.4 มิลลิเมตร ($p=0.03$) และ Lequesne's functional index ลดลง -3.8 ± 4.3 เทียบกับ -2.3 ± 3.3 คะแนน ($p=0.03$) และเมื่อประเมินผล ณ สัปดาห์ที่ 52 (1 ปีหลังจากฉีดยาครั้งแรก) พบว่าผู้ป่วยในกลุ่ม Hyalgan[®] ยังมี Lequesne's functional index ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (-4.4 ± 5.1 เทียบกับ -2.7 ± 4.1 คะแนน, รูปที่ 3)

จากทั้งสามการศึกษาที่กล่าวมาข้างต้น พอสรุปได้ว่า การฉีด Hyalgan[®] เข้าข้อเข่าที่เสื่อมสัปดาห์ละครั้งต่อเนื่องกัน 3-5 ครั้ง มีประสิทธิภาพเหนือกว่ายาหลอก และ

สามารถคงประสิทธิภาพได้นาน (อย่างน้อย 2 เดือนถึง 1 ปี แล้วแต่การศึกษา) ด้วยเหตุนี้ HA จึงจัดเป็นยารักษาโรคข้อเสื่อมประเภท SYSADOA¹ อย่างไรก็ดีตามเพื่อคงประสิทธิภาพการรักษาให้ยาวนานยิ่งขึ้น มีการศึกษาที่แสดงว่าการฉีด Hyalgan[®] 1 ชุด (5 เข็ม) ทุกๆ 6 เดือนมีผลบรรเทาอาการปวดได้ตลอดระยะเวลา 2 ปีที่ติดตามผล³³

ข. ประสิทธิภาพของ Hyalgan[®] เทียบกับ NSAIDs

Altman และ Moskowitz ทำการศึกษาแบบ double blind, double dummy, placebo and naproxen controlled,



รูปที่ 3 ค่าเฉลี่ย (mean $\pm$ SD) ของการเปลี่ยนแปลงของ Lequesne's functional index ณ เวลาต่างๆ เมื่อเทียบกับค่าเริ่มต้นของกลุ่มที่ได้รับ Hyalgan[®] และยาหลอก (ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิงหมายเลข 32)

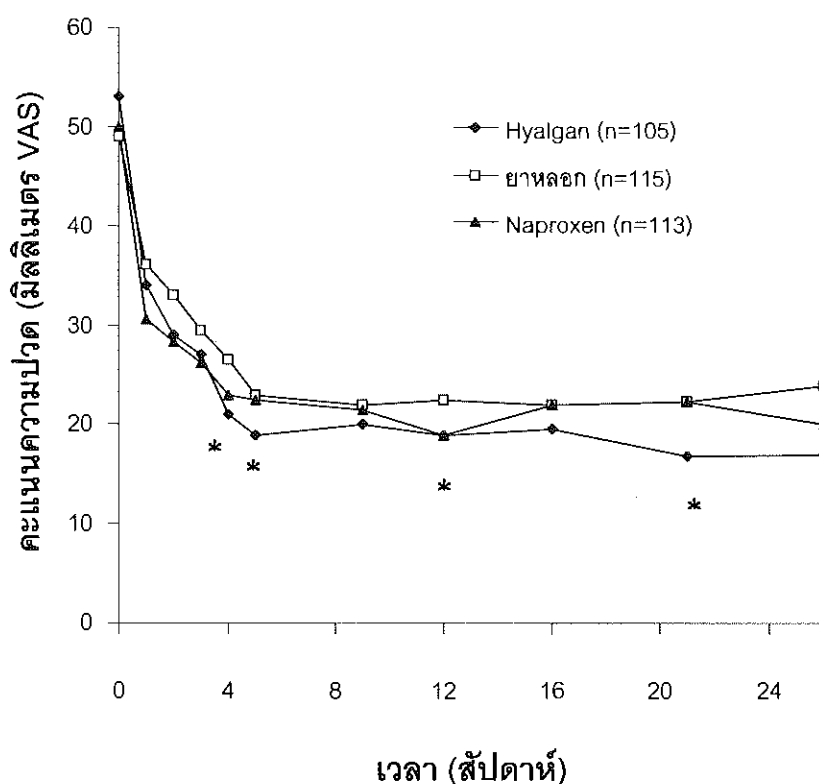
stratified, randomized, multicenter trial³⁴ เป็นระยะเวลา 26 สัปดาห์ ในผู้ป่วยโรคข้อเข่าเสื่อมแบบไม่ทราบสาเหตุ (idiopathic OA) 495 รายที่มี Kellgren and Lawrence grade II หรือ III โดยแบ่งผู้ป่วยออกเป็น 3 กลุ่มคือ

1) กลุ่ม Hyalgan[®] ได้รับยาตั้งกล่าวฉีดเข้าข้อเข่าสัปดาห์ละครั้งต่อเนื่องกัน 5 สัปดาห์ ร่วมกับการรับประทานยาหลอก

2) กลุ่มยาหลอก ได้รับการฉีดน้ำเกลือเข้าข้อในลักษณะเดียวกับการฉีด Hyalgan[®] ร่วมกับการรับประทานยาหลอก

3) กลุ่ม naproxen ได้รับการฉีดยาชาเข้าชั้นไขมันใต้ผิวหนัง สัปดาห์ละครั้งต่อเนื่องกัน 5 สัปดาห์ ร่วมกับการรับประทาน naproxen

นอกจากนี้ยังอนุญาตให้ทุกกลุ่มใช้ยาพาราเซตามอลได้เมื่อมีอาการปวด ผลการศึกษาแสดงว่าผู้ป่วยทุกกลุ่มมีคะแนนความปวดลดลงขณะเดินระยะทาง 50 ฟุต (รูปที่ 4) แต่กลุ่ม Hyalgan[®] มีคะแนนต่ำกว่ากลุ่มยาหลอกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$ ณ สัปดาห์ที่ 4, 5, 12, 21 และ 26; ANCOVA, $p = 0.010$, repeated measure



รูปที่ 4 ค่าเฉลี่ย (mean) ของ visual analogue scale (VAS) ที่ใช้ประเมินความปวดขณะเดินระยะทาง 50 ฟุต ของกลุ่มตัวอย่างทั้งสามกลุ่ม * $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกลุ่ม Hyalgan[®] กับกลุ่มยาหลอก (ตัดแปลงจากเอกสารอ้างอิงหมายเลข 34)

analysis) และเมื่อพิจารณา ณ สัปดาห์ที่ 26 พบว่าสัดส่วนของผู้ป่วยในกลุ่ม Hyalgan[®] (47.6%) ที่ไม่มีอาการปวดหรือปวดน้อยมาก มีมากกว่ากลุ่มยาหลอก (33.1%, $p=0.04$) และกลุ่ม naproxen (36.9%, $p=0.22$) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ผู้ป่วยกลุ่ม Hyalgan[®] ยังมี Western Ontario and McMaster Universities (WOMAC) Osteoarthritis Index (ดูภาคผนวก) ที่ใช้ประเมินความปวด (pain subscale) และการทำงานเชิงกายภาพ (physical function subscale) ดีกว่ากลุ่มยาหลอกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนผลข้างเคียงนั้น อาการปวด ณ ตำแหน่งที่ฉีดยาพบได้บ่อยในกลุ่ม Hyalgan[®] (38/164 ราย = 23%) เมื่อเทียบกับการฉีดยาหลอก (22/168 ราย = 13%, $p<0.001$) ในขณะที่กลุ่ม naproxen พบผลข้างเคียงต่อระบบทางเดินอาหาร (68/163 ราย = 41%) มากกว่ากลุ่ม Hyalgan[®] (29%) หรือกลุ่มยาหลอก (36%) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สรุปว่าการฉีด Hyalgan[®] 5 เข็มมีผลบรรเทาอาการปวดและทำให้การทำงานของข้อเข่าดีขึ้นในระยะยาว นอกจากนี้ยังมีประสิทธิภาพไม่น้อยไปกว่าการใช้ naproxen ต่อเนื่องกัน 26 สัปดาห์

ผลของ Hyalgan[®] ต่อการเปลี่ยนแปลงเชิงโครงสร้างของข้อเข่าที่เสื่อม

จากการศึกษาแบบ prospective, randomized, controlled study³⁵ เป็นระยะเวลา 1 ปี โดยแบ่งผู้ป่วยโรคข้อเข่าเสื่อมออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มแรก (กลุ่มควบคุม)

ได้รับการรักษาแบบมาตรฐาน และกลุ่มที่สองได้รับ Hyalgan[®] ฉีดเข้าข้อสัปดาห์ละครั้งต่อเนื่องกัน 3 ครั้ง (ถือเป็น 1 ชุดการรักษา) และให้ซ้ำทุก 3 เดือน รวมทั้งสิ้น 3 ชุดการรักษา แล้วประเมินการเปลี่ยนแปลงเชิงโครงสร้างโดยการส่องกล้องเข้าไปตรวจสภาพข้อ (arthroscopy) และนำผลในช่วงก่อนมาเปรียบเทียบกับช่วงหลังการรักษา การศึกษานี้มีผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาจนครบกำหนด 36 ราย เป็นผู้ป่วยกลุ่ม Hyalgan[®] 19 ราย และกลุ่มควบคุมอีก 17 ราย เมื่อประเมินกลุ่มที่ได้รับ Hyalgan[®] เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม พบว่ามี Society of French Arthroscopy (SFA) scoring system เท่ากับ $+3.7 \pm 7.3$ เปรียบเทียบกับ $+9.0 \pm 11.5$ ($p=0.05$) และการประเมินสภาพกระดูกอ่อนโดยรวม (overall assessment of chondropathy) มีค่าเท่ากับ $+5.1 \pm 12.7$ เปรียบเทียบกับ 16.7 ± 18.3 ($p=0.016$) [หมายเหตุ: ค่าของตัวแปรข้างต้นแปรผันโดยตรงกับความเสื่อมของข้อเข่า] แสดงว่ากลุ่มที่ได้รับ Hyalgan[®] มีการเสื่อมเชิงโครงสร้างน้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สรุปว่าการให้ Hyalgan[®] แบบให้ซ้ำ 3 ชุดใน 1 ปีอาจจะมีผลชะลอการเปลี่ยนแปลงเชิงโครงสร้างของข้อเข่าที่เสื่อมได้ การทดลองให้ยาแบบเดียวกันในประเทศอังกฤษที่ทำขึ้นจาก 17 ศูนย์ ในผู้ป่วยที่สมัครเข้ารับการรักษาก่อน 408 รายโดย Jubb และคณะ³⁶ ให้ผลที่สนับสนุนการทดลองข้างต้น การฉีด Hyalgan[®] แบบให้ซ้ำ 3 ชุดภายใน 1 ปี

ช่วยชะลอการแคบเข้าของช่องว่างภายในเข่า อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

Pasquali Ronchetti และคณะ³⁷ ทำการศึกษาในผู้ป่วยโรคข้อเข่าเสื่อมโดยส่องกล้องเข้าไปในข้อ และตรวจเยื่อหุ้มข้อ (synovial membranes) ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดาและแบบอิเล็กตรอน ในช่วงก่อนการรักษา แล้วนำมาเปรียบเทียบกับช่วง 6 เดือนหลังการฉีด Hyalgan® เข้าข้อสัปดาห์ละครั้งต่อเนื่องกัน 5 สัปดาห์ หรือฉีดยาสเตียรอยด์ (methylprednisolone acetate) เข้าข้อสัปดาห์ละครั้งต่อเนื่องกัน 3 สัปดาห์ พบว่าทั้งสองกลุ่มมีคะแนนการอักเสบที่ประเมินจากการส่องกล้อง (พิจารณาจากลักษณะของเนื้อเยื่อ จำนวนเซลล์ และหลอดเลือด) ลดลงจากช่วงก่อนรักษาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อจำแนกลักษณะทางจุลกายวิภาคของเยื่อหุ้มเซลล์ออกเป็น 3 ชั้น คือ

- 1) ชั้น synovial lining ซึ่งเป็นชั้นบนสุดที่อยู่ติดกับช่องว่างภายในข้อ
- 2) ชั้น sublining ซึ่งเป็นชั้นกลาง
- 3) ชั้น subsynovium ซึ่งเป็นชั้นใต้สุด

พบว่ากลุ่มที่ได้รับ Hyalgan® มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะของ synoviocytes ในชั้นบนสุด (lining cells) ไปในทิศทางที่ดีขึ้น (คล้ายคลึงกับเยื่อหุ้มข้อของคนปกติ) กล่าวคือมีการเปลี่ยนการเรียงตัวแบบหลายชั้น (multilayer) มาเป็นแบบชั้นเดียวหรือสองชั้น (mono-/bilayer) และมีการจับตัวกัน (aggregate) ของเซลล์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้การซึมผ่านหลอดเลือด

เลือด (vascular permeability) ในชั้น sublining และจำนวนของหลอดเลือดในชั้น subsynovium ยังลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติด้วย ในขณะที่กลุ่ม methylprednisolone acetate มีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญของการตาย (necrosis) ของเซลล์ในชั้น lining และ sublining รวมถึงจำนวน mast cell ในชั้น sublining อย่างไรก็ตาม พบว่ายาทั้งสองชนิดมีแนวโน้มที่ก่อให้เกิดผลดี (แต่ไม่พบนัยสำคัญทางสถิติ) คือ มีผลลดจำนวนเซลล์ที่มีขนาดใหญ่ (hypertrophic cells) และเพิ่มจำนวนเซลล์ทรงกระสวย (spindle-shaped cells) ในชั้น lining นอกจากนี้ยังลดจำนวนของเม็ดเลือดขาว (macrophages, lymphocytes) และเซลล์ไขมัน (adipocytes) ตลอดจนลดการบวมของเซลล์ในเยื่อหุ้มข้อชั้นลึกถัดมาด้วย อย่างไรก็ตาม การเปลี่ยนแปลงที่กล่าวมาสามารถเห็นได้ชัดในข้อเสื่อมชนิดปฐมภูมิ (primary OA) มากกว่าชนิดทุติยภูมิ (secondary OA) ซึ่งมีสาเหตุมาจากการบาดเจ็บ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าการศึกษาแบบติดตามผลในระยะเวลาไม่ยาวนาน (medium term) ยาทั้งสองชนิดมีผลทำให้เยื่อหุ้มข้อที่เสื่อมมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างไปในทิศทางที่เข้าสู่ปกติมากขึ้น

ในทำนองเดียวกัน มีผู้รายงานผลต่อการเปลี่ยนแปลงเชิงโครงสร้างของกระดูกอ่อน³⁸ ในผู้ป่วยข้อเข่าเสื่อมที่ได้รับ Hyalgan® (11 ราย) และ methylprednisolone acetate (13 ราย) โดยมีวิธีการให้ยาและระยะเวลาการศึกษาเหมือนกับการศึกษาข้างต้นทุกประการ พบว่ากลุ่มที่ได้รับ Hyal-

gan[®] มีตัวแปรต่างๆ เช่น ผิวกระดูกอ่อน ความหนาแน่นของเซลล์กระดูกอ่อน (chondrocyte) และสภาพของเมทริกซ์ (matrix) เปลี่ยนแปลงไปในทางที่ดีขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ กลุ่มที่ได้รับ Hyalgan[®] ยังมีผลการประเมินที่ดีกว่ากลุ่ม methylprednisolone acetate อย่างมีนัยสำคัญเมื่อพิจารณาจากตัวแปรเกือบทุกตัว ผู้วิจัยวิจารณ์ว่าผลดีดังกล่าวในกลุ่ม Hyalgan[®] ไม่น่าจะอธิบายได้จากการปรับ elastoviscosity ของน้ำไขข้อเพียงอย่างเดียว แต่ Hyalgan[®] น่าจะมีผลอย่างใดอย่างหนึ่งที่ทำให้กระดูกอ่อนเกิดการเปลี่ยนแปลงเชิงโครงสร้าง (structure-modifying activity) ร่วมด้วย

จำนวนครั้งของการฉีดยา (Dose schedule)

โดยทั่วไปแนะนำให้ฉีด Hyalgan[®] เข้าข้อสัปดาห์ละครั้งต่อเนื่องกัน 5 สัปดาห์ (แม้ว่าจะไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างการฉีดยาแบบ 5 ครั้ง และ 3 ครั้ง แต่การฉีดยาแบบ 5 ครั้งมีแนวโน้มของการตอบสนองโดยรวมที่ดีกว่าแบบ 3 ครั้ง³⁰) และสามารถให้การรักษาชุดใหม่ซ้ำได้ทุก 6-12 เดือน หรือตามอาการที่กำเริบ

ผลข้างเคียงของ Hyalgan[®]

Hyalgan[®] อาจทำให้บริเวณที่ฉีดเกิดอาการปวด บวม แดง อุ่น หรือมีน้ำในข้อ อย่างไรก็ตาม ผลข้างเคียงเหล่านี้มักเกิดขึ้นชั่วคราวและหายได้เองภายในระยะเวลาไม่กี่

วันหลังพักการใช้งานข้อหรือประคบด้วยน้ำแข็ง จากการศึกษาแบบ controlled clinical trial ของ Hyalgan[®] study group³⁴ ซึ่งเป็นการศึกษาที่มีผู้ป่วยที่ได้รับ Hyalgan[®] จำนวน 105 ราย และยาหลอก 115 ราย ตามลำดับ พบอาการปวดบริเวณที่ฉีดยาในกลุ่ม Hyalgan[®] และกลุ่มยาหลอกได้ 23% และ 13% ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม ยังมีการศึกษาอื่นที่รายงานเกี่ยวกับผลข้างเคียงเฉพาะที่ในกลุ่มที่ได้รับ Hyalgan[®] เทียบกับยาหลอกด้วยอุบัติการณ์ที่ต่างๆ กัน เช่น 37% เทียบกับ 39%³² และ 34% เทียบกับ 28%³¹ เป็นต้น

จากประสบการณ์การใช้ยาภายหลังที่จำหน่ายในท้องตลาด (post-marketing experience) ซึ่งประมาณว่าน่าจะมีการฉีดยามากกว่า 1 ล้านชุดการรักษา (ประมาณ 5 ล้านเข็ม) พบผู้ป่วยจำนวน 2 รายที่เกิด anaphylactic-like reaction ซึ่งเป็นผลข้างเคียงที่รุนแรง แต่ผู้ป่วยทั้งสองรายก็ได้เกิดอันตรายจนถึงแก่ชีวิต (จากแฟ้มข้อมูลของ Fidia S.p.A., ประเทศอิตาลี) อย่างไรก็ตาม ไม่มีรายงานผลข้างเคียงที่ร้ายแรงดังกล่าวจากการศึกษาทางคลินิก

ข้อบ่งชี้ของ Hyalgan[®]

Hyalgan[®] เป็น HA preparation ที่น่าจะนำมาพิจารณาใช้ในผู้ป่วยโรคข้อเข่าเสื่อมซึ่งไม่สามารถทนต่อยากลุ่ม NSAIDs (NSAIDs intolerance) หรือกรณีที่ใช้ NSAIDs แล้วแต่ไม่ได้ผล รวมถึงกรณีที่มีข้อห้ามสัมพัทธ์ (relative contraindication) ต่อการใช้ NSAIDs เช่น ผู้ป่วยสูงอายุ ผู้ที่มี

หรือมีประวัติโรคแผลกระเพาะอาหาร
เป็นต้น

ภาคผนวก

1. Kellgren and Lawrence grade³⁹ เป็นการให้ลำดับชั้น (grade) เพื่อประเมินความรุนแรงของข้อเข่าเสื่อมโดยใช้หลักฐานจากภาพถ่ายเอกเรย์

ขั้นที่ 1 (ข้อเข่าที่อาจจะเสื่อม) หมายถึง มีกระดูกงอก (osteophyte) เพียงเล็กน้อย และไม่จำเป็นที่สำคัญ

ขั้นที่ 2 (ข้อเข่าเสื่อมเล็กน้อย) หมายถึง มีกระดูกงอกอย่างชัดเจน แต่ช่องว่างภายในข้อ (joint space) ยังไม่แคบ

ขั้นที่ 3 (ข้อเข่าเสื่อมขั้นปานกลาง) หมายถึง ช่องว่างภายในข้อแคบลงปานกลาง

ขั้นที่ 4 (ข้อเข่าเสื่อมขั้นรุนแรง) หมายถึง ช่องว่างภายในข้อแคบลงอย่างมาก และมีการหนาตัว (sclerosis) ของชั้นกระดูกใต้กระดูกอ่อน (subchondral bone)

2. Lequesne's functional index⁴⁰ เป็นดัชนี (แบบสอบถาม) ที่ใช้ประเมินอาการและการทำงานของข้อเข่า โดยพิจารณาจากตัวแปรต่างๆ เช่น อาการปวดขณะนอนพักตอนกลางคืน อาการขัดหรือปวดเข่าหลังจากตื่นนอน อาการปวดหลังจากยืนนาน 30 นาที อาการปวดขณะเคลื่อนไหว อาการปวดขณะลุกจากที่นั่งโดยไม่ใช้มือช่วยพยุง ระยะทางไกลที่สุดที่สามารถเดินได้ การใช้อุปกรณ์ช่วยเดิน และการทำกิจวัตรประจำวัน (การขึ้น-ลงบันได การนั่งยอง การเดินบนพื้นขรุขระ) เป็นต้น

3. Western Ontario and McMaster Universities (WOMAC) Osteoarthritis Index⁴¹ เป็นดัชนี (แบบสอบถาม) ที่ใช้ประเมินอาการและการทำงานของข้อเข่า โดยแบ่งเป็น

ก. สเกลย่อยที่ใช้ประเมินความปวด (pain subscale) พิจารณาจากอาการปวดขณะเดินบนทางราบ เดินขึ้นหรือลงบันได นั่งบนเก้าอี้หรือนอนราบ ยืน หรือตอนกลางคืนหลังเข้านอนแล้ว

ข. สเกลย่อยที่ใช้ประเมินอาการขัด/ตึง (stiffness subscale) พิจารณาจากอาการขัด/ตึงหลังตื่นนอน หลังจากนั่ง นอน หรือพักการใช้งาน

ค. สเกลย่อยที่ใช้ประเมินการทำงานเชิงกายภาพ (physical function subscale) พิจารณาจากความยากลำบากเมื่อลงบันได ขึ้นบันได ลุกจากที่นั่ง นั่ง ยืน ก้ม เดินทางราบ ขึ้นลงรถ ทำงานบ้าน และอื่นๆ รวม 17 ตัวแปร

ง. คะแนนรวม (total score) หาได้จากนำคะแนนใน 3 ข้อข้างต้นมารวมกัน

เอกสารอ้างอิง

1. Lequesne M. Symptomatic slow acting drugs for osteoarthritis: A novel therapeutic concept? *Rev Rheum* 1994; 61(2): 69-73.
2. Maheu E. Hyaluronan in knee osteoarthritis: A review of the clinical trials with Hyalgan®. *Eur J Rheum Inflamm* 1995; 15(1): 17-24.
3. Balazs EA, Gibbs DA. The rheological properties and biological function of hyaluronic acid. In: Balazs EA, ed. *Chemistry and Molecular Biology of the Intercellular Matrix*. London/New York: Academic Press, 1970: 1241-54.

4. Balazs EA. Viscoelastic properties of hyaluronic acid and biological lubrication. *Univ Mich Med Cent J* 1968; S 255-9.
5. Balazs E, Briller S and Denlinger J. N-hyaluronate molecular size variations in equine arthritis and human arthritic synovial fluids and the effect on phagocytic cells. In: Talbott J, ed. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*. New York: Grune & Stratton, 1981: 141-3.
6. Balazs E. The physical properties of synovial fluid and the special role of hyaluronic acid. In: Helfet A, ed. *Disorders of the Knee*, 2nd ed. Philadelphia: JB Lippincott, 1982: 61-74.
7. Balazs EA, Denlinger JL. Viscosupplementation: a new concept in the treatment of osteoarthritis. *J Rheumatol* 1993; 20: 3-9.
8. Balazs EA, Darzynkiewicz Z. The effect of hyaluronic acid on fibroblasts, mononuclear phagocytes and lymphocytes. In: Kulonen E, Pikkarainen J, eds. *Biology of the Fibroblast*. London: Academic Press, 1973: 237-52.
9. Forrester JV, Balazs EA. Inhibition of phagocytosis by high molecular weight hyaluronate. *Immunology* 1980; 40(3): 435-46.
10. Pisko EJ, Turner RA, Soderstrom LP, Panetti M, Foster SL, Treadway WJ. Inhibition of neutrophil phagocytosis and enzyme release by hyaluronic acid. *Clin Exp Rheumatol* 1983; 1(1): 41-4.
11. Partsch G, Schwarzer C, Neumuller J, Dunky A, Petera P, Broll H, Ittner G, Jantsch S. Modulation of the migration and chemotaxis of PMN cells by hyaluronic acid. *Z Rheumatol* 1989; 48 (3): 123-8.
12. Peluso G, Perbellini A, Tajana G. The effect of high and low molecular weight hyaluronic acid on mitogen-induced lymphocyte proliferation. *Curr Ther Res* 1990; 47: 437-43.
13. Darzynkiewicz Z, Balazs EA. Effect of connective tissue intercellular matrix on lymphocyte stimulation. 1. Suppression of lymphocyte stimulation by hyaluronic acid. *Exp Cell Res* 1971; 66: 113-23.
14. Yasui T, Akatsuka M, Tobetto K, Hayaishi M, Ando T. The effect of hyaluronan on interleukin-1 alpha-induced prostaglandin E2 production in human osteoarthritic synovial cells. *Agents Actions* 1992; 37(1-2): 155-6.
15. Ghosh P. The role of hyaluronic acid (hyaluronan) in health and disease: interactions with cells, cartilage and components of synovial fluid. *Clin Exp Rheumatol* 1994; 12(1): 75-82.
16. Goa KL, Benfield P. Hyaluronic acid. A review of its pharmacology and use as a surgical aid in ophthalmology, and its therapeutic potential in joint disease and wound healing. *Drugs* 1994; 47(3): 536-66.
17. Aihara S, Murakami N, Ishii R, Kariya K, Azuma Y, Hamada K, Umemoto J, Maeda S. Effects of sodium hyaluronate on the nociceptive response of rats with experimentally induced arthritis. *Nippon Yakurigaku Zasshi* 1992; 100(4): 359-65.
18. Gotoh S, Miyazaki K, Onaya J, Sakamoto T, Tokuyasu K, Namiki O. Experimental knee pain model in rats and analgesic effect of sodium hyaluronate. *Nippon Yakurigaku Zasshi* 1988; 92(1): 17-27.
19. Pozo MA, Balazs EA, Belmonte C. Reduction of sensory responses to passive movements of inflamed knee joints by hylan, a hyaluronan derivative. *Exp Brain Res* 1997; 116(1): 3-9.
20. Schaible HG, Schmidt RF. Effects of an experimental arthritis on the sensory properties of fine articular afferent units. *J Neurophysiol* 1985; 54(5): 1109-22.
21. Vuorio E, Einola S, Hakkarainen S, Penttinen R. Synthesis of under-polymerized hyaluronic acid by fibroblasts cultured from rheumatoid and non-rheumatoid synovitis. *Rheumatol Int* 1982; 2(3): 97-102.
22. Yasui T, Akatsuka M, Tobetto K. Effects of hyaluronan on the production of stromelysin and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) in bovine articular chondrocytes. *Biomed Res* 1992; 13: 343-8.
23. Tobetto K, Nakai K, Akatsuka M, Yasui T, Ando T, Hirano S. Inhibitory effects of hyaluronan on neutrophil-mediated cartilage degradation. *Connect Tissue Res* 1993; 29(3): 181-90.
24. Larsen NE, Lombard KM, Parent EG, Balazs EA. Effect of hyalagan on cartilage and chondrocyte cultures. *J Orthop Res* 1992; 10(1): 23-32.
25. Armstrong S, Read R, Ghosh P. The effects of intraarticular hyaluronan on cartilage and subchondral bone changes in an ovine model of early osteoarthritis. *J Rheumatol* 1994; 21(4): 680-8.

26. Abatangelo G, Botti P, Del Bue M, Gei G, Samson JC, Cortivo R, De Galateo A, Martelli M. Intraarticular sodium hyaluronate injections in the Pond-Nuki experimental model of osteoarthritis in dogs. I. Biochemical results. *Clin Orthop* 1989; (241): 278-85.
27. Brown TJ, Laurent UB, Fraser JR. Turnover of hyaluronan in synovial joints: elimination of labelled hyaluronan from the knee joint of the rabbit. *Exp Physiol* 1991; 76(1): 125-34.
28. Fraser JR, Appelgren LE, Laurent TC. Tissue uptake of circulating hyaluronic acid. A whole body autoradiographic study. *Cell Tissue Res* 1983; 233: 285-93.
29. Laurent TC, Lilja K, Brunnberg L, Engstrom-Laurent A, Laurent UB, Lindqvist U, Murata K, Ytterberg D. Urinary excretion of hyaluronan in man. *Scand J Clin Lab Invest* 1987; 47(8): 793-9.
30. Carrabba M, Paresce E, Angelini M, RE KA, Torchiana EEM, Perbellini A. The safety and efficacy of different dose schedules of hyaluronic acid in the treatment of painful osteoarthritis of the knee with joint effusion. *Eur J Rheum Inflamm* 1995; 15(1): 25-31.
31. Huskisson EC, Donnelly S. Hyaluronic acid in the treatment of osteoarthritis of the knee. *Rheumatol* 1999; 38(7): 602-7.
32. Dougados M, Nguyen M, Listrat V, Amor B. High molecular weight sodium hyaluronate (hyalectin) in osteoarthritis of the knee: A 1 year placebo-controlled trial. *Osteoarthr Cartil* 1993; 1(2): 97-103.
33. Scali JJ. Intra-articular hyaluronic acid in the treatment of osteoarthritis of the knee: A long term study. *Eur J Rheum Inflamm* 1995; 15(1): 57-62.
34. Altman RD, Moskowitz R. Intraarticular sodium hyaluronate (Hyalgan) in the treatment of patients with osteoarthritis of the knee: a randomized clinical trial. *J Rheumatol* 1998; 25(11): 2203-12.
35. Listrat V, Ayral X, Patarnello F, Bonvarlet JP, Simonnet J, Amor B, Dougados M. Arthroscopic evaluation of potential structure modifying activity of hyaluronan (Hyalgan) in osteoarthritis of the knee. *Osteoarthr Cartil* 1997; 5(3): 153-60.
36. Jubb RW, Piva S, Beinat L, Dacre J, Gishen P. Structure modifying study of hyaluronan (500-730 KDa, Hyalgan) on osteoarthritis of the knee. *Osteoarthr Cartil* 2001; 9 (S): S16.
37. Pasquali Ronchetti I, Guerra D, Taparelli F, Boraldi F, Bergamini G, Mori G, Zizzi F, Frizziero L. Morphological analysis of knee synovial membrane biopsies from a randomized controlled clinical study comparing the effects of sodium hyaluronate (Hyalgan) and methylprednisolone acetate (Depomedrol) in osteoarthritis. *Rheumatol* 2001; 40 (2):158-69.
38. Guidolin DD, Ronchetti IP, Lini E, Guerra D, Frizziero L. Morphological analysis of articular cartilage biopsies from a randomized, clinical study comparing the effects of 500-730 kDa sodium hyaluronate (Hyalgan) and methylprednisolone acetate on primary osteoarthritis of the knee. *Osteoarthr Cartil* 2001; 9(4): 371-81.
39. Kellgren JH, Lawrence JS. Radiological assessment of osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 1957; 16: 494-502.
40. Lequesne MG, Mery C, Samson M, Gerard P. Indexes of severity for osteoarthritis of the hip and knee validation-value in comparison with other assessment tests. *Scand J Rheumatology* 1987; 65(S): 85-9.
41. Bellamy N, Buchanan WW, Goldsmith CH, Campbell J, Stitt LW: Validation study of WOMAC: a health status instrument for measuring clinically important patient relevant outcomes to antirheumatic drug therapy in patients with osteoarthritis of the hip or knee. *J Rheumatol* 1988; 15: 1833-40.

NEW DRUGS

Uprima[®] ในการรักษาภาวะ Erectile Dysfunction

รศ. ดร. ชัยชาญ แสงดี

ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Abstract

Erectile dysfunction (ED) is defined as the persistent or repeated inability to attain or to maintain an erection firm or long enough for satisfactory intercourse. There are many causes that can lead to ED including organic, psychogenic or both. Recently, ED receives an intense interest since we learn more on the physiology of erection together with the availability of new and successful treatment regimens. The first drug with proven efficacy is sildenafil, however, this drug carries several disadvantages and serious interaction with nitrates. Apomorphine HCl sublingual (Uprima[®]) is recently introduced to treat ED with impressive results. It is the only drug that works on the central mechanism to activate the dopamine system and thus to producing erection closely resemble to naturally induced erection. Uprima[®] has several advantages including fast acting, its erectogenic effect lasts for 2 hours, multiple daily dosing possible, consistent effect with no tolerance on long term use, effective in organic, psychogenic ED or both. The drug is well tolerated with good acceptability profile. There are few side effects associated with Uprima[®], they are usually mild in nature and usually disappear after chronic use.

Keywords : erectile dysfunction, apomorphine, Uprima[®]

บทคัดย่อ

Erectile dysfunction (ED) เป็นภาวะที่องคชาติไม่สามารถแข็งตัวได้เพียงพอหรือไม่สามารถคงภาวะการแข็งตัวนานพอสำหรับการร่วมเพศ ED อาจเกิดได้จากสาเหตุทางกาย ทางใจ หรือทั้งสองอย่างร่วมกัน ปัจจุบัน ED ได้รับความสนใจอย่างกว้างขวางเนื่องจากทราบสรีรวิทยาของการแข็งตัวขององคชาติเพิ่มขึ้นมาก และมียาที่พิสูจน์ว่าได้ผลในการรักษา ED ยาชนิดแรกที่มีประสิทธิภาพในการรักษา ED คือ sildenafil แต่ยานี้มีข้อเสียหลายประการและมีปฏิกิริยาที่อันตรายกับยากลุ่มไนเตรท (nitrates) apomorphine HCl อมใต้ลิ้น (Uprima[®]) เป็นยาใหม่ที่ใช้รักษา ED ได้ผลดี และเป็นยาชนิดเดียวที่ออกฤทธิ์ผ่านทางระบบประสาทส่วนกลาง ทำให้องคชาติแข็งที่เลียนแบบธรรมชาติมากที่สุด Uprima[®] มีข้อดีหลายประการ เช่น ออกฤทธิ์เร็ว มีฤทธิ์นาน 2 ชั่วโมง ประสิทธิภาพของการทำให้องคชาติแข็งตัวเกิดขึ้นอย่างสม่ำเสมอโดยประสิทธิภาพไม่ลดลงเมื่อใช้ยาติดต่อกันนาน ๆ ใช้ได้ผลกับภาวะ ED ที่มีสาเหตุทางกาย ทางใจ หรือทั้งสองอย่างร่วมกัน เป็นต้น ผู้ป่วยทนต่อยานี้ค่อนข้างดีและได้รับการยอมรับจากผู้ป่วย และมีข้อเสียหรือทำให้เกิดผลข้างเคียงน้อย ผลข้างเคียงเหล่านี้มักไม่รุนแรงและมักลดความรุนแรงลงเมื่อใช้ยานานขึ้น

Erectile dysfunction (ED) เป็นภาวะที่องคชาติไม่สามารถแข็งตัวได้เพียงพอหรือไม่สามารถคงภาวะการแข็งตัวนานพอสำหรับการร่วมเพศ¹ นอกจาก ED จะทำให้เกิดปัญหาโดยตรงต่อสมรรถภาพทางเพศแล้ว ภาวะนี้ยังทำให้ผู้ป่วยรู้สึกหมดคุณค่า สมรรถนะในการทำงานลดลง เกิดอาการซึมเศร้าและเครียด และเกิดปัญหาในครอบครัวอีกด้วย จำนวนผู้ป่วย ED เพิ่มขึ้นตลอดเวลาเนื่องจากอายุที่ยืนยาวขึ้น ภาวะเครียดในชีวิตประจำวันมากขึ้น ED อาจเกิดได้จากสาเหตุทางกาย ทางใจ หรือทั้งสองอย่างร่วมกัน ในอดีต ED มักเรียกกันว่า การหย่อนสมรรถภาพทางเพศ (impotence) ED เป็นภาวะที่พบได้ค่อนข้างบ่อย และอุบัติการณ์ของ ED อาจสูงกว่าที่รายงานหรือประเมินได้เนื่องจากผู้ที่มีภาวะนี้มักหลีกเลี่ยงที่จะพูดถึงปัญหานี้ ปัจจัยเสี่ยงต่างๆที่มีส่วนร่วมในการทำให้เกิดภาวะนี้ เช่น อายุที่มากขึ้น น้ำหนักตัวมาก การสูบบุหรี่จัด การดื่มแอลกอฮอล์มากเกินไป ปัญหาทางจิตใจ (ความเครียด ประสพการณ์ความล้มเหลวทางเพศในอดีต โรคต่างๆ (โรคซึมเศร้า เบาหวาน ความดันโลหิตสูง)² และผลข้างเคียงที่เกิดจากยาต่างๆ (ยารักษาความดันโลหิตสูง ยาเสพติดต่างๆ)^{1,3-5}

ในอดีต การรักษา ED มักไม่ได้ผลเนื่องจากยังไม่ทราบสรีรวิทยาที่แท้จริงของการทำให้องคชาติแข็งตัว ประกอบกับยังไม่มีวิธีการหรือยาที่ให้ประสิทธิผลในการรักษาที่ได้รับการรับรองทางวิทยาศาสตร์การแพทย์ ผู้ที่มีภาวะ ED ต้องหลีกเลี่ยงสาเหตุที่ทำให้เกิด ปรับเปลี่ยนวิถีการดำรงชีวิต รับ

การปรึกษาเพื่อปรับภาวะทางจิตใจ ออกกำลังกายพอสมควร วิธีการรักษา ED อาจแบ่งออกได้ดังนี้⁶⁻¹⁰

1. ยาที่ให้ทางปาก
2. อุปกรณ์ปั๊มสุญญากาศ
3. ยาที่สอดใส่เข้าทางท่อปัสสาวะ
4. ยาที่ฉีดเข้าชั้น cavernosum ขององคชาติ
5. การฝังองคชาติเทียม
6. การผ่าตัดต่อหลอดเลือดแดงใหม่

สรีรวิทยาของการแข็งตัวและอ่อนตัวขององคชาติ

การแข็งตัวขององคชาติเป็นปรากฏการณ์ร่วมของระบบประสาทและหลอดเลือด ระบบประสาททั้งในสมองและภายนอกสมองมีส่วนควบคุมการแข็งตัวขององคชาติ สิ่งเร้าที่ให้องคชาติแข็งตัวได้แก่ การเห็นภาพ การได้ยินเสียง การได้กลิ่น การสัมผัส และการรับรู้ความรู้สึกอื่นๆ ซึ่งสัญญาณเหล่านี้จะถูกประมวลในสมองส่วน paraventricular nucleus ของ hypothalamus สารสื่อประสาทที่มีบทบาทสำคัญในการให้องคชาติแข็งตัวคือ dopamine ซึ่งกระตุ้น D₂ receptor ของระบบประสาท parasympathetic ในระดับไขสันหลัง sacral 2,3 และ 4 ที่ไปเลี้ยงหลอดเลือดแดง helicine ที่องคชาติ ทำให้หลอดเลือดขยายตัว ซึ่งจะกดให้หลอดเลือดดำตีบตัว และมีเลือดคั่งในเนื้อเยื่อบริเวณนี้เป็นเวลานาน องคชาติจึงขยายตัวและแข็งตัว กลไกอื่นที่ทำให้หลอดเลือดที่องคชาติขยายตัวได้จะทำให้องคชาติแข็งตัวได้เช่นเดียวกัน การกระตุ้นที่องคชาติ

โดยตรงจากการสัมผัสจะทำให้เกิดการตอบสนองของรีเฟล็กซ์ในไขสันหลังระดับ sacral 2, 3 และ 4 ซึ่งทำให้องคชาติแข็งตัวได้และคงสภาพการแข็งตัวในระหว่างที่มีเพศสัมพันธ์ ส่วนการทำให้องคชาติหดตัวเกิดจากระบบประสาท sympathetic ที่ควบคุมการหดตัวของหลอดเลือดแดง helicine เมื่อหลอดเลือดนี้หดตัว การกดให้หลอดเลือดดำตีบตัวจะลดลงและทำให้เลือดต่ำไหลออกจากเนื้อเยื่อองคชาติและองคชาติจะอ่อนตัว

นอกจากสารสื่อประสาท dopamine แล้ว สารสื่อประสาทหรือสารอื่นที่มีบทบาทในการควบคุมการแข็งตัวและอ่อนตัวขององคชาติได้แก่^{5,11,12}

1. Serotonin (5-hydroxytryptamine หรือ 5-HT) สารสื่อประสาทนี้ถ้าจับกับ 5-HT_{1A} receptor ในสมองจะยับยั้งไม่ให้องคชาติแข็งตัว แต่ถ้ากระตุ้น 5-HT_{1C} receptor ในไขสันหลังจะทำให้องคชาติแข็งตัวได้

2. Nitric oxide (NO) กระตุ้นเอนไซม์ guanylyl cyclase ให้มีการสังเคราะห์ cyclic guanine monophosphate (cGMP) จาก guanine triphosphate ซึ่งจะให้เกิดกระบวนการต่อเนื่องที่ทำให้หลอดเลือดขององคชาติขยายตัวโดยยับยั้งการผ่านแคลเซียมเข้าเซลล์ของหลอดเลือดแดงและองคชาติแข็งตัวตามมา

3. Prostaglandin E1 กระตุ้นเอนไซม์ adenylyl cyclase ซึ่งเปลี่ยน adenosine triphosphate (ATP) ให้เป็น cAMP ซึ่งสารนี้จะเร่งการผ่านออกของโปแตสเซียมออกจากหลอดเลือดแดง ทำให้

หลอดเลือดขององคชาติขยายตัวและองคชาติแข็งตัวเช่นเดียวกับ cGMP

4. Vasoactive intestinal polypeptide (VIP) เป็นสารสื่อประสาทของระบบประสาท cholinergic ที่ไขสันหลังระดับ sacral 2, 3 และ 4 ที่ไปเลี้ยงหลอดเลือดแดงที่องคชาติและมีฤทธิ์ทำให้หลอดเลือดที่หลอดเลือดขององคชาติขยายตัว

5. Norepinephrine เป็นสารสื่อประสาทของระบบ sympathetic ซึ่งมีบทบาทในการทำให้หลอดเลือดหดตัวรวมทั้งหลอดเลือดที่องคชาติ ผลคือทำให้องคชาติอ่อนตัว

ขณะนี้ sildenafil (Viagra®) เป็นยารับประทานที่ได้รับการยืนยันว่ามีประสิทธิภาพในการทำให้องคชาติแข็งตัวได้ดี sildenafil ออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ cGMP-specific phosphodiesterase-5 (PDE5) ซึ่งทำให้มีการคั่งของ cGMP เป็นผลให้ลดการผ่านของ Ca⁺⁺ เข้าเซลล์กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดแดงที่องคชาติ และองคชาติแข็งตัวในที่สุด sildenafil ใช้ได้ผลดี ออกฤทธิ์ภายใน 40-60 นาที

Sildenafil สามารถใช้รักษา ED ที่มีสาเหตุจากทางด้านจิตใจ ทางกาย และทั้งสองสาเหตุนี้ร่วมกัน อย่างไรก็ตาม sildenafil มีผลข้างเคียงหลายประการ ผลข้างเคียงที่สำคัญและอันตรายที่สุดคือ ต้อระบบหัวใจและหลอดเลือดโดยทำให้เกิดอาการกล้ามเนื้อหัวใจตาย (myocardial infarction) หัวใจห้องล่างเต้นไม่เป็นจังหวะ (ventricular arrhythmia) หัวใจขาดเลือดชั่วคราว (transient ischemic attack) เลือดออกในสมอง (cerebrovascular hemor-

rhage) และความดันโลหิตต่ำลง และมีรายงานการเสียชีวิตจากการใช้ sildenafil แม้ว่าจะยังไม่มั่นใจว่า sildenafil เป็นสาเหตุโดยตรงของการเสียชีวิตของผู้ป่วยเหล่านี้ หรือเกิดจากการที่ผู้ป่วยมีโรคประจำตัวที่ไม่เหมาะที่จะมีกิจกรรมทางเพศ ผลข้างเคียงอื่นของ sildenafil เช่น องคชาติแข็งตัวเป็นเวลานานหลายชั่วโมง (นานกว่า 4-6 ชั่วโมง) ปวดศีรษะ หน้าแดง คัดจมูก เป็นต้น ผลข้างเคียงเหล่านี้มีความสัมพันธ์อย่างใกล้ชิดกับผลของ sildenafil ในการขยายหลอดเลือดที่อวัยวะต่างๆทั่วร่างกาย ไม่ควรใช้ยานี้ในผู้ป่วยที่กำลังใช้ nitrates หรือ nitrites ต้องใช้ sildenafil อย่างระมัดระวังในผู้ที่กล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด หัวใจเต้นไม่เป็นจังหวะ ความดันโลหิตต่ำ (ต่ำกว่า 90/50 มม.ปรอท) หัวใจล้มเหลวและโรคหลอดเลือดหัวใจที่เป็นสาเหตุของ unstable angina

Apomorphine HCl Sublingual (Uprima®)¹³

Apomorphine เป็นยาเก่าที่สังเคราะห์จากมอร์ฟีน แต่ไม่มีฤทธิ์เหมือนมอร์ฟีนเลยและไม่ได้ออกฤทธิ์ที่ opioid receptors ดังนั้น ยานี้ไม่มีฤทธิ์ระงับปวดหรือทำให้เสพติด ในอดีต apomorphine ใช้ฉีดสำหรับกระตุ้นให้เกิดการอาเจียนในผู้ที่รับประทานสารพิษหรือได้รับยาเกินขนาดเพื่อลดการดูดซึมของยาและสารพิษดังกล่าว apomorphine เคยใช้ในการรักษาโรค Parkinson ด้วย ขณะนี้มีการพัฒนา apomorphine HCl ในรูปแบบยาเตรียมอมใต้ลิ้นเพื่อใช้รักษา ED

กลไกการออกฤทธิ์

Apomorphine ออกฤทธิ์โดยกระตุ้น dopamine D₂ receptors ในสมองอย่างจำเพาะเจาะจง apomorphine จึงเป็นยารักษา ED เพียงชนิดเดียวที่ออกฤทธิ์ผ่านสมอง ผลจากการกระตุ้น D₂ receptors โดยเฉพาะที่ paraventricular nucleus (PVA) ของ hypothalamus ซึ่งถือเป็นส่วนหนึ่งของ autonomic center ภายในสมอง สัญญาณที่เกิดขึ้นจะส่งต่อไปที่ไขสันหลังที่ S2, S3 และ S4 ของ sacral segments ของระบบประสาท parasympathetic ซึ่งจะทำให้เพิ่มการหลั่งสารสื่อประสาท แต่สารสื่อประสาทที่หลั่งออกจากปลายประสาท parasympathetic ที่ไปยังหลอดเลือดขององคชาติกลับไม่ใช่ acetylcholine (ACh) แต่จะเป็น vasoactive intestinal peptides (VIP)¹⁴ จึงทำให้บางครั้งเรียกเซลล์ประสาท autonomic เหล่านี้ว่า non-adrenergic and noncholinergic neurons VIP ที่หลั่งออกมานี้จะทำให้ endothelium ของ helicine artery ขององคชาติหลั่ง nitric oxide (NO) ซึ่งจะกระตุ้นเอนไซม์ guanylate cyclase ให้เปลี่ยน GTP ไปเป็น cGMP และ cGMP นี้จะยับยั้งไม่ให้มีการหลั่ง Ca⁺⁺ ออกจาก sarcoplasmic reticulum ของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด จึงทำให้ helicine artery ของหลอดเลือดขยายตัวและเลือดจะเข้ามาคั่งอยู่ในชั้น cavernosum ขององคชาติ ผลที่เกิดขึ้นทำให้องคชาติขยายตัวและแข็งตัวมากขึ้น การคั่งของเลือดในชั้น cavernosum จะกดหลอดเลือดดำในองคชาติทำให้เลือดไหลออกจากองคชาติลดลง

ซึ่งทำให้องค์ชาติต้องการแข็งตัวได้นานเพียงพอสำหรับการร่วมเพศ เมื่อถึงจุดสุดยอดการทำงานของระบบประสาท sympathetic จะถูกกระตุ้นอย่างมาก และหลัง ATP ร่วมกับ NE ออกมา ATP จะทำให้กล้ามเนื้อเรียบของ ductus deferens และของต่อมลูกหมากหดตัวอย่างรวดเร็วและรุนแรงซึ่งนำไปสู่การฉีดหลั่งน้ำอสุจิออกมา (ejaculation) ส่วน NE ทำให้ ductus deferens หดตัวต่อเนื่องไปอีกระยะหนึ่ง NE ที่หลั่งออกมานี้ยังทำให้หลอดเลือดแดงขององคชาติหดตัวและส่งผลให้เลือดดำไหลออกไปเร็วขึ้นองคชาติจึงค่อยๆหดตัวและอ่อนตัวลงในที่สุด

Uprima[®] ไม่มีฤทธิ์กระตุ้นความรู้สึกทางเพศ ซึ่งประเด็นนี้จะเหมือนกับ sildenafil ดังนั้น ประสิทธิภาพของยานี้และ sildenafil จะเกิดขึ้นต่อเมื่อมีการกระตุ้นความรู้สึกทางเพศเท่านั้น

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

เนื่องจาก Apomorphine ออกฤทธิ์หลักโดยกระตุ้น D₂ receptors ในประสาทส่วนกลาง การออกฤทธิ์ของ Uprima[®] ที่ทำให้องคชาติแข็งตัวผ่านทางระบบประสาททำให้หลอดเลือดขยายตัวเฉพาะที่ที่องคชาติ ซึ่งเลียนแบบกระบวนการที่เกิดขึ้นโดยธรรมชาติ จึงทำให้องคชาติแข็งตัวคล้ายคลึงกับธรรมชาติมากที่สุด ประกอบกับมี D₂ receptors ภายนอกสมองน้อยมากและหลอดเลือดต่างๆของร่างกายมีเส้นประสาท parasympathetic ไปเลี้ยงน้อยมาก ยกเว้นที่หลอดเลือดขององคชาติที่มีเส้นประสาท parasympathetic ไปเลี้ยง และการกระตุ้น

ระบบประสาท parasympathetic ผ่านทาง dopamine D₂ จะทำให้หลอดเลือดที่องคชาติขยายตัวดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น ดังนั้นผลของ apomorphine จึงค่อนข้างจำเพาะที่องคชาติและมีผลต่อภายนอกค่อนข้างน้อย ซึ่งแตกต่างจาก sildenafil ที่ทำให้หลอดเลือดทั่วร่างกายขยายตัว และทำให้เกิดผลข้างเคียงและเกิดปฏิกิริยากับยาต่างๆมากมายดังที่จะกล่าวต่อไป

เภสัชจลนศาสตร์

Apomorphine ถูกดูดซึมเร็วมากเมื่ออมใต้ลิ้น โดยให้ระดับยาสูงสุดในเลือดภายใน 40-60 นาที แต่ฤทธิ์ที่ทำให้องคชาติแข็งตัวเริ่มเกิดตั้งแต่ 10 นาทีแรก โดยเฉลี่ยแล้ว ผลที่ทำให้องคชาติแข็งตัวจะเกิดเต็มที่ระหว่าง 18-19 นาที ซึ่งนับว่าค่อนข้างเร็ว apomorphine มีเวลาครึ่งชีวิต (half-life) ประมาณ 2 ชั่วโมง (ขนาด 2 มิลลิกรัม) ถึง 2.8 ชั่วโมง (ขนาด 4 มิลลิกรัม) apomorphine ถูกกำจัดที่ตับเร็วมากโดยวิธีเติม sulphate และ glucuronic acid มีส่วนน้อยที่ถูกกำจัดโดย N-demethylation ด้วย cytochrome P₄₅₀ CYP1A2, CYP3A และ CYP2C19 ให้เป็น norapomorphine เมแทบอลิท์ของ apomorphine ส่วนใหญ่จะเป็น apomorphine sulphate มากกว่า apomorphine glucuronide ส่วนน้อยจะเป็น norapomorphine glucuronide เมแทบอลิท์เหล่านี้ไม่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและถูกขับออกจากร่างกายทางปัสสาวะ

ผลข้างเคียง

ผลข้างเคียงของ apomorphine ได้แก่ คลื่นไส้อาเจียน (เกิดประมาณ 6.8%) ปวดศีรษะ (6.7%) เวียนศีรษะ (4.4%) น้ำมูกไหล (2.8%) ผลข้างเคียงเหล่านี้เกิดขึ้นช่วงสั้นและมีอาการที่ไม่รุนแรงถึงมีความรุนแรงปานกลาง และขึ้นอยู่กับขนาดยาที่ใช้ ผลข้างเคียงที่รุนแรงที่สุดของ apomorphine คือ อาการเป็นลมอย่างกะทันหัน (syncope) แต่อุบัติการณ์นี้เกิดน้อยมากเพียงประมาณ 0.1-0.2% (ขนาด 2 และ 3 มิลลิกรัม ตามลำดับ) แต่ถ้ามีการปรับขนาดยาอย่างช้าๆ ผู้ที่เคยเกิดอาการนี้จะไม่เกิดอาการนี้อีกเลย ผลข้างเคียงที่กล่าวมาข้างต้นจะลดความถี่และความรุนแรงลงเมื่อใช้ยาดูแลต่อเนื่องหรือผ่านการปรับขนาดยาให้เหมาะสม อย่างไรก็ตาม ไม่มีรายงานการเสียชีวิตจากการใช้ apomorphine ทั้งระหว่างการวิจัยทางคลินิกหรือหลังการจำหน่ายในท้องตลาด

ปฏิกิริยากับยาอื่น (Drug interactions)

เนื่องจาก apomorphine ส่วนน้อยถูกกำจัดโดย cytochrome P₄₅₀ ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นกับยาอื่นที่ถูกกำจัดโดยเอนไซม์เหล่านี้ค่อนข้างน้อย แอลกอฮอล์ไม่เปลี่ยนแปลงเภสัชจลนศาสตร์ของ apomorphine และยานี้ก็ไม่เปลี่ยนแปลงเภสัชจลนศาสตร์ของแอลกอฮอล์ ดังนั้น ปฏิกิริยาที่จะเกิดกับแอลกอฮอล์จะไม่สำคัญนัก อย่างไรก็ตาม แอลกอฮอล์จะเสริมให้ผลข้างเคียงของ apomorphine ในด้านคลื่นไส้อาเจียนและเวียนศีรษะเกิดได้บ่อยขึ้น ซึ่งไม่น่าแปลกใจเนื่องจากการดื่มแอลกอฮอล์ก็ทำให้เกิด

อาการเหล่านี้อยู่แล้ว apomorphine ไม่เกิดปฏิกิริยาที่สำคัญกับยารักษาโรคความดันโลหิตสูง (beta-blockers, diuretics, calcium channel blockers, angiotensin converting enzyme inhibitors หรือ α_1 -blockers) apomorphine ไม่มีปฏิกิริยาที่สำคัญกับ nitrates ที่ออกฤทธิ์สั้น แต่ทำให้ผู้ใช้ nitrates ที่ออกฤทธิ์นานมีความดันโลหิตต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ความดันโลหิตต่ำลงนี้ลดลงเพียง 10 มมปรอท และมีอาการแสดงที่ไม่รุนแรง

ข้อห้ามใช้

ห้ามใช้ยานี้กับผู้ที่แพ้ apomorphine หรือสารประกอบอื่นที่มีในเม็ดยา นอกจากนี้ห้ามใช้ apomorphine กับผู้ที่มี unstable angina กล้ามเนื้อหัวใจตาย (myocardial infarction) หัวใจล้มเหลวรุนแรง หรือความดันโลหิตต่ำอย่างมาก และผู้ที่แพทย์มีความเห็นว่าการมีเพศสัมพันธ์อาจเป็นอันตรายต่อผู้นั้น ซึ่งเป็นไปในทำนองเดียวกับ sildenafil

ข้อควรระวัง

ควรระมัดระวังการใช้ apomorphine กับผู้มีความดันโลหิตสูงที่ควบคุมยังไม่ได้ ความดันโลหิตต่ำ หรือผู้มีประวัติของความดันโลหิตลดลงเมื่อเปลี่ยนอิริยาบถอย่างรวดเร็ว (postural hypotension) แม้ apomorphine จะไม่มีปฏิกิริยาที่สำคัญกับยารักษาโรคความดันโลหิตสูงและ nitrates ก็ตาม แต่แนะนำให้ใช้อย่างระมัดระวังกับผู้ที่กำลังใช้ยาเหล่านี้เพื่อหลีกเลี่ยงปัญหาที่

จะตามมาและผู้ป่วยควรปรึกษาแพทย์อย่างใกล้ชิด

แม้ว่า apomorphine ส่วนใหญ่จะถูกกำจัดโดยวิธีการเติม sulphate และ glucuronic acid ซึ่งปกติกระบวนการทั้งสองนี้ยังมีประสิทธิภาพดีอยู่แม้กับผู้ที่ป็นโรคตับก็ตาม แต่แนะนำว่าควรระวังการใช้ยานี้กับผู้ป่วยที่ตับทำงานลดลง และควรแนะนำให้ผู้ที่ใช้ apomorphine หลีกเลี่ยงการดื่มแอลกอฮอล์ หรือถ้าจะดื่มควรดื่มเพียงเล็กน้อย

ผู้ที่ประสงค์จะใช้ Uprima® (เช่นเดียวกับเมื่อประสงค์จะใช้ยาอื่นเพื่อรักษา ED) ควรปรึกษาแพทย์และตรวจร่างกายเพื่อหาสาเหตุของ ED และเพื่อวินิจฉัยว่าจะมีข้อห้ามหรือข้อใดที่ควรระวังในการใช้ Uprima® รวมทั้งการใช้ยาอมใต้ลิ้นได้อย่างถูกต้อง เพื่อให้ได้ประสิทธิภาพสูงสุดของยาขนาดยาที่ใช้

Uprima® ที่มีจำหน่ายในประเทศไทยคือขนาด 2 และ 3 มิลลิกรัม

ข้อบ่งใช้และวิธีการใช้ยา

Uprima® อมใต้ลิ้นนี้ใช้เพื่อรักษา ED ที่มีสาเหตุทางจิตใจ ทางกาย หรือทั้งสองอย่างร่วมกัน ยานี้ยังใช้ได้ผลกับ ED ที่มีสาเหตุจากโรคความดันโลหิตสูงและเบาหวาน ยาเตรียม Uprima® แบบอมใต้ลิ้นนี้ผู้ใช้จะต้องวางยาไว้ใต้ลิ้นด้านใดด้านหนึ่งก็ได้ แต่วางให้ลึกที่สุด แล้วอมยาไว้ในปากเป็นเวลา 10 นาที ซึ่งเป็นเวลาที่ยาจะละลาย

ได้หมด ถ้าผ่าน 10 นาทีแล้วยายังละลายไม่หมด ให้กลืนยาที่เหลือได้ แต่ห้ามกลืนยาตั้งแต่แรกเนื่องจาก apomorphine เมื่อให้โดยการรับประทานจะไม่ได้ผล เนื่องจากยานี้มีการกำจัดยาเมื่อผ่านตับรอบแรกสูงมาก (first-pass metabolism) และขนาดยา apomorphine ใน Uprima® ก่อนข้างต่ำ (เพียง 3 มิลลิกรัม) ออกแบบมาให้อมใต้ลิ้นเพื่อหลบเลี่ยง first-pass metabolism และการใช้ยาขนาดต่ำเพื่อลดผลข้างเคียงของยาที่เกิดจากการใช้ยาได้อีกด้วย

การใช้ Uprima® อมใต้ลิ้นให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุดนั้น ควรจะให้ยาขนาด 3 มิลลิกรัม ติดต่อกัน 5-6 ครั้ง วิธีการนี้จะทำให้ผู้ป่วยมีการตอบสนองดีขึ้นอย่างมาก และผู้ป่วยจะทนต่อผลข้างเคียงของยาได้มากขึ้นอีกด้วย

Uprima® ไม่มีข้อบ่งใช้ในสตรีหรือเด็ก

การทดสอบยาทางคลินิก/ประสบการณ์การใช้ยาทางคลินิก¹¹

การทดสอบทางคลินิกของ Uprima® อมใต้ลิ้นทำใน phase II และ III กับผู้ป่วย 4,167 ราย และใน phase I กับอาสาสมัคร 859 ราย รวมทั้งสิ้น 5,026 ราย มีผู้ป่วยจำนวน 2,908 รายที่ได้รับยาขนาด 2 มิลลิกรัม และจำนวน 1,331 รายที่ได้รับยาขนาด 3 มิลลิกรัม ผู้ป่วยเหล่านี้มีอายุเฉลี่ย 56 ปี (พิสัย 21-78 ปี)

การศึกษาประสิทธิผลของ Uprima® อมใต้ลิ้น

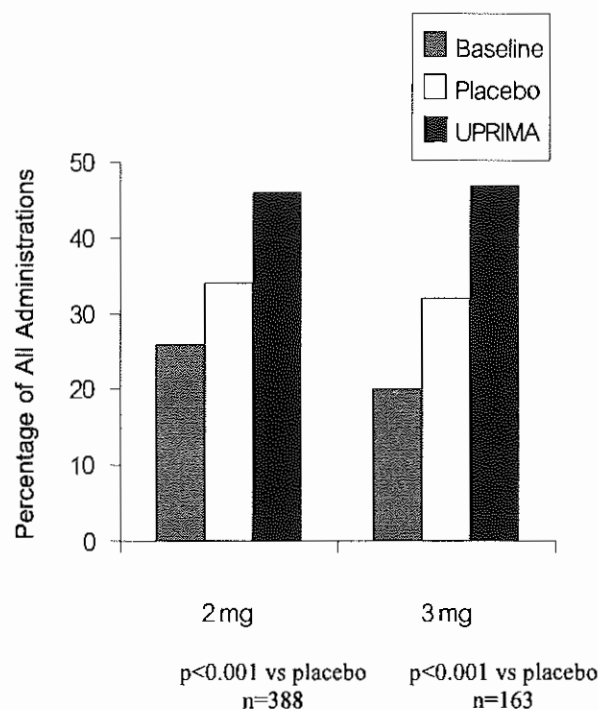
ในการศึกษาประสิทธิผลของ Uprima® อมใต้ลิ้นทำโดยอาศัยตัววัดต่างๆ แต่ตัววัดที่สำคัญที่สุดคือ “องคชาติแข็งตัวพอที่จะมีเพศสัมพันธ์ได้” ซึ่งเป็นตัววัดที่ค่อนข้างเข้มงวดเมื่อเทียบกับ “องคชาติมีการแข็งตัวดีขึ้น” ที่เป็นตัววัดในการศึกษายารักษา ED ในอดีตเนื่องจากตัววัด “องคชาติที่มีการแข็งตัวดีขึ้น” นี้เป็นเพียงการวัดความรู้สึกซึ่งอาจไม่เพียงพอที่จะมีเพศสัมพันธ์ได้ผลทางปฏิบัติ

ทุกการศึกษาแบบควบคุมด้วยยาหลอก Uprima® ทุกขนาดทำให้ “องคชาติแข็งตัวพอที่จะมีเพศสัมพันธ์ได้” อย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 1) ในผู้ป่วย ED ที่ความรุนแรง

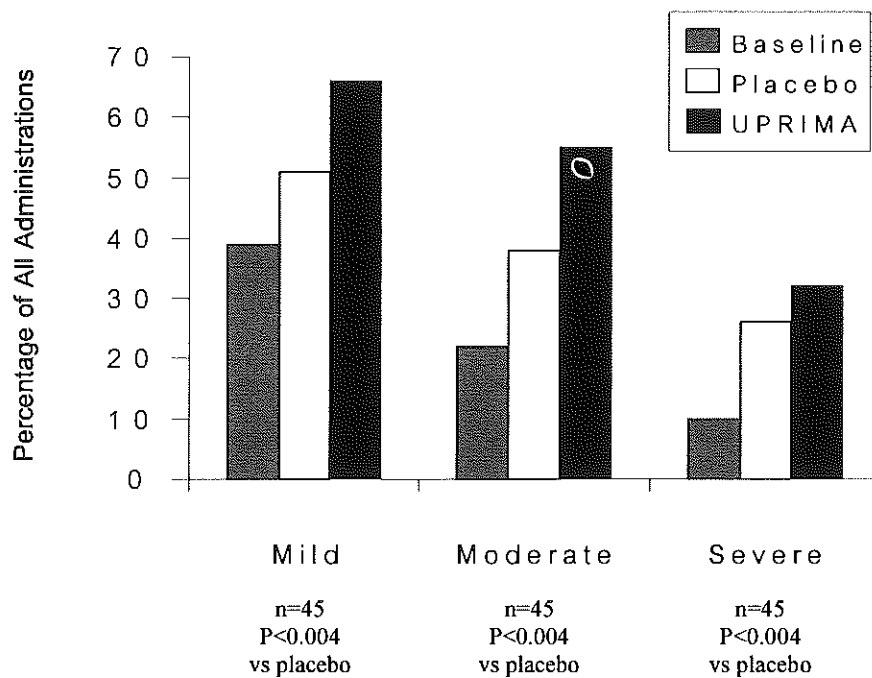
ต่าง ๆ กัน (รูปที่ 2) และมีปัจจัยเสี่ยงร่วมอื่นๆ เช่น ความดันเลือดสูง โรคหลอดเลือดแดงหัวใจ (coronary artery disease) และเบาหวาน (รูปที่ 3)

นอกจากนั้น ผลการประเมินจากคู่ของผู้ป่วยพบว่าผู้ป่วยสามารถมีเพศสัมพันธ์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับยาหลอก ($P < 0.001$) และผลที่ประเมินจากคู่ของผู้ป่วยสอดคล้องกับที่ประเมินจากผู้ป่วยโดยตรงถึง 98%

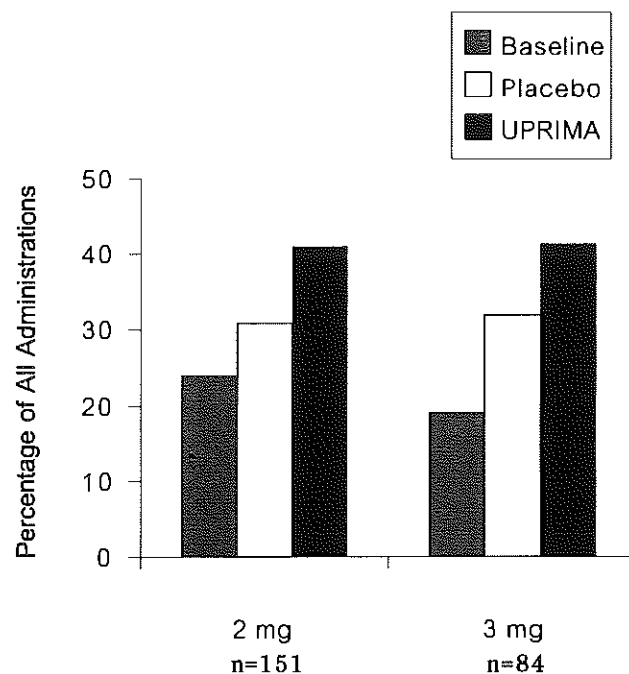
การประเมินจากแบบสอบถามของ International Index of Erectile Function (IIEF) หลังได้รับ Uprima® พบว่าผู้ป่วยมีการตอบสนองที่ดีขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในด้านความแข็งตัวขององคชาติ การถึงจุดสุดยอด ความพึงพอใจต่อเพศสัมพันธ์ และความพึงพอใจโดยรวมดังแสดงในรูปที่ 4



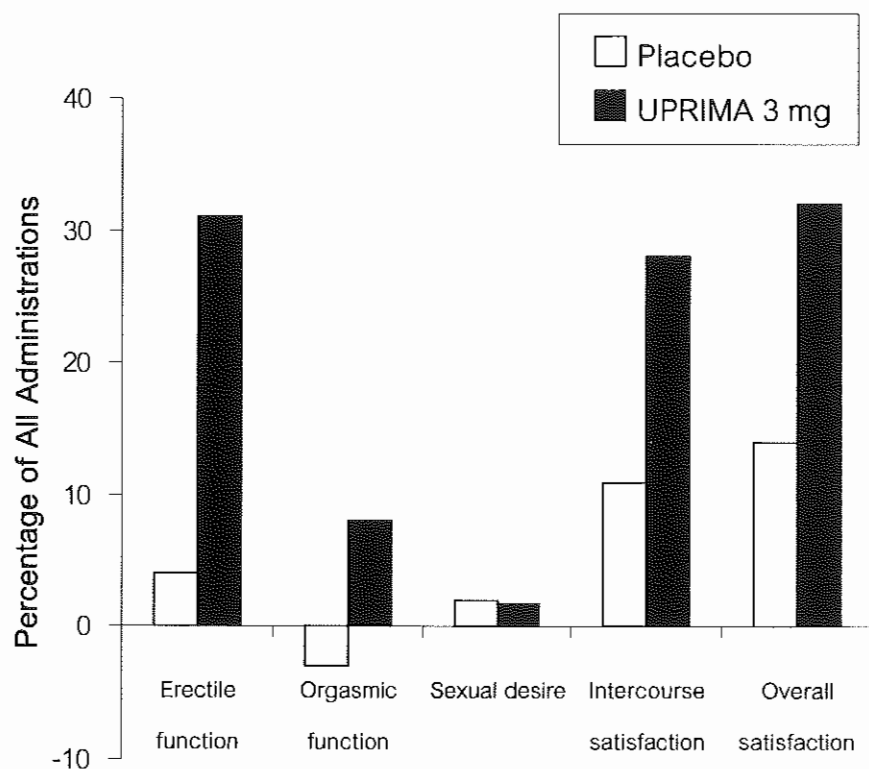
รูปที่ 1 เปอร์เซนต์ขององคชาติที่แข็งตัวพอที่จะมีเพศสัมพันธ์
เมื่อได้รับ Uprima® ขนาด 2 และ 3 มิลลิกรัม



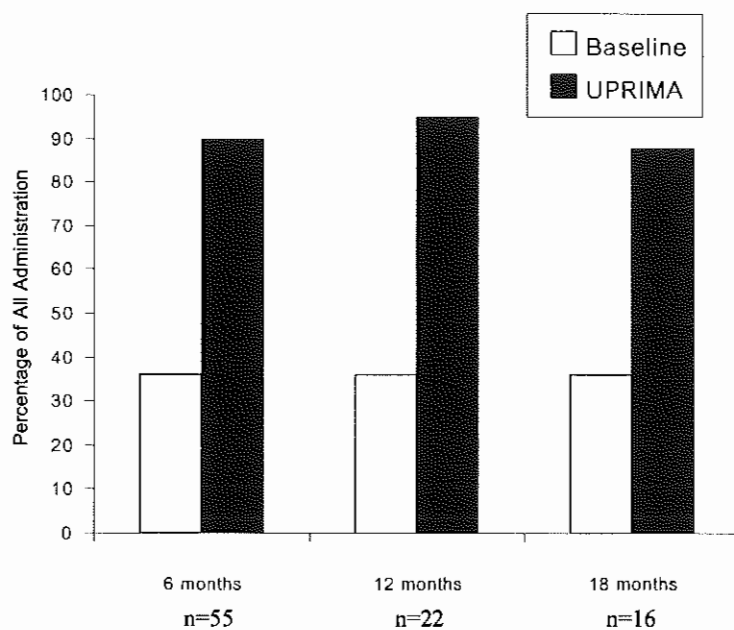
รูปที่ 2 เปอร์เซนต์ขององคชาติที่แข็งตัวพอที่จะมีเพศสัมพันธ์จำแนกตาม
ความรุนแรงของ ED เมื่อได้รับ Uprima® ขนาด 3 มิลลิกรัม



รูปที่ 3 เปอร์เซนต์ขององคชาติที่แข็งตัวพอที่จะมีเพศสัมพันธ์ในผู้ป่วยที่มีโรคอื่น
ร่วมอยู่ด้วย (ความดันโลหิตสูง หลอดเลือดแดงของหัวใจ หรือเบาหวาน)



รูปที่ 4 เปอร์เซนต์ของการตอบสนองที่ดีขึ้นในด้านต่างๆหลังได้รับ Uprima® ขนาด 3 มิลลิกรัม เมื่อประเมินจากแบบสอบถาม IIEF (n=163)



รูปที่ 5 การศึกษาระยะยาวในด้านเปอร์เซนต์ขององคชาติของผู้ป่วยที่แข็งตัวพอที่จะมีเพศสัมพันธ์

การศึกษาประสิทธิผลของ Uprima® ระยะยาว

การประเมินประสิทธิผลของ Uprima® ระยะยาวชี้ว่า ผู้ที่เคยได้ผลดีจากการใช้ยานี้มาก่อนหน้านี้ ประสิทธิผลของยา ยังคงอยู่แม้จะใช้ยาต่อเนื่องกันเป็นเวลานาน 18 เดือน (รูปที่ 5) แต่ผลข้างเคียงที่เคยเกิดขึ้นกลับลดความรุนแรงลง ซึ่งเป็นข้อดีที่สำคัญของยานี้และเป็นเหตุผลสำคัญที่แนะนำให้มีการปรับขนาดของยาให้เหมาะสมในระยะแรกๆที่ใช้ Uprima® เพื่อให้ได้ประสิทธิผลของยาเต็มที่และลดผลข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้นอีกด้วย

ข้อดีของ Uprima®

Uprima® มีข้อดีหลายประการ เช่น เป็นยาที่ใช้สะดวกโดยการอมใต้ลิ้นและเป็นยาที่เลือกใช้รักษา ED เป็นลำดับแรก ขนาดของยาที่ใช้คือ 3 มิลลิกรัม การปรับขนาดให้เหมาะสมทำได้ง่ายและไม่ยุ่งยาก สามารถให้ซ้ำได้ทุก 8 ชั่วโมง ออกฤทธิ์เร็วภายใน 10-20 นาที และออกฤทธิ์นานประมาณ 2 ชั่วโมง ทำให้สามารถปรับเวลาที่จะมีเพศสัมพันธ์ได้ค่อนข้างแม่นยำโดยไม่ต้องรอนานกว่าที่ยาจะออกฤทธิ์ การแข็งตัวขององคชาติที่เกิดจาก Uprima® จะเลียนแบบที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติมากกว่ายาหรือวิธีการอื่นในผู้ที่เคยใช้ Uprima® ได้ผลมาก่อน ผลที่ทำให้องคชาติแข็งตัวจากการได้รับ Uprima® จะเชื่อถือได้ในครั้งต่อไป ไม่มีหลักฐานว่ามีการทนต่อฤทธิ์นี้เมื่อใช้ยาดูติดต่อกันนานๆ ผลข้างเคียงที่เกิดจากการใช้ Uprima® ค่อนข้างน้อยและไม่รุนแรง ไม่มี

รายงานว่ายานี้ทำให้ผู้ใช้เสียชีวิตหรือเกิดภาวะกล้ามเนื้อหัวใจตาย โรคหลอดเลือดในสมอง องคชาติแข็งตัวนานผิดปกติ (priapism) ไม่มีข้อห้ามใช้ในผู้ป่วยกำลังใช้ยาในกลุ่มไนเตรท (nitrates) และไม่มีปฏิกิริยาที่สำคัญกับอาหาร นอกจากนี้ ยานี้ยังใช้ได้ปลอดภัยในผู้ที่ตับหรือไตทำงานบกพร่องไม่มากนักและไม่ต้องปรับขนาดของยาในผู้ป่วยสูงอายุ

ยารักษา ED ที่ไม่ได้รับรองจากองค์การอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกาเช่น yohimbine (ออกฤทธิ์สั้กักกัน α_2 -receptors), phentolamine (ออกฤทธิ์สั้กักกัน α_1 - และ α_2 -receptors อย่างไม่จำเพาะ), Topiglan® (topical prostaglandin E₁ SEPA gel), โสมาลา

เอกสารอ้างอิง

1. NIH Consensus Development Panel on Impotence. Consensus Conference: Impotence. JAMA 1993; 270: 83-90.
2. Kirby R, Carson C, Goldstein I. Erectile Dysfunction: A Clinical Guide. Oxford, UK; Isis Medical Media Ltd; 1999.
3. Blaker MH, Bosch JLHR, Groeneveld FPMJ, Bohnen AM, Prins A, Hop WCJ. Erectile and ejaculatory dysfunction in a community-based sample of men aged 50-78 years: Prevalence, concern and relation to sexual activity. Urology 2001; 57: 763-8.
4. Melman A, Gingell JC. The epidemiology and pathophysiology of erectile dysfunction. J Urol 1999; 161: 5-11.
5. Krane RJ, Goldstein I, De Tejada IS. Medical progress: impotence. N Engl J Med 1989; 321: 1648-89.
6. Lewis R, Hatzichristou D, Laumann E, et al. Epidemiology and natural history of erectile dysfunction; risk factors including iatrogenic and aging. In: Jardin A, Wagner G, Khoury S, et al., *Erectile Dysfunction*. Health Publication Ltd; 2000: 19-52.
7. Kim YC, Buvat J, Carson CC, et al. Endocrine and metabolic aspect including

- treatment. In: Jardin A, Wagner G, Khoury S, et al., *Erectile Dysfunction*. Health Publication Ltd; 2000: 205-40.
8. Krane R, Brock G, Earley I, et al. Oral non-endocrine treatment. In: Jardin A, Wagner G, Khoury S, et al., *Erectile Dysfunction*. Health Publication Ltd; 2000: 241-304.
 9. Virag R, Becher E, Carrier F, et al. Local pharmacological treatment modalities. In: Jardin A, Wagner G, Khoury S, et al., *Erectile Dysfunction*. Health Publication Ltd; 2000:305-54.
 10. Jonas U, Evans C, Krisnamurti S, et al. Surgical treatment and mechanical devices. In: Jardin A, Wagner G, Khoury S, et al., *Erectile Dysfunction*. Health Publication Ltd; 2000: 355-404.
 11. Lue TF. Physiology of penile erection and pathophysiology of erectile dysfunction and priapism. In: Walsh PC, Retik AB, Vaughan ED Jr, Wein AJ, eds. *Campbell's Urology*. 7th ed. 1998: 1157-79.
 12. Burnett AL. Nitric oxide in the penis: physiology and pathology. *J Urol* 1997; 157: 320-4.
 13. Uprima® (Apomorphine HCl sublingual). Product Monograph. Abbott International, 2001.
 14. Per Brodal. Peripheral autonomic nervous system. In, *The Central Nervous System: Structure and function*. 2nd ed. Oxford University Press. Oxford, 1998; pp. 493-527.

CASE REPORT

Diclofenac related skin rash, a case report

Viroj Wiwanitkit*

**Department of Laboratory Medicine, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok 10330 Thailand*

Abstract

Diclofenac, is a widely used nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAID). Here, we reported a rare adverse effect of diclofenac as diclofenac related skin rash. The case was diagnosed on the present illness and follow up. This is a rare adverse effect of diclofenac with the incidence less than 0.1 %. The awareness of the physician to this widely used drug on its rare adverse effect is necessary.

Key word: diclofenac, skin rash

ผื่นผิวหนังจากยา diclofenac รายงานผู้ป่วย 1 ราย

บทคัดย่อ

Diclofenac เป็นยาต้านการอักเสบที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ที่ใช้กันอย่างกว้างขวาง ในบทความนี้ได้รายงานผู้ป่วย 1 รายที่มีอาการผื่นผิวหนังจากยา diclofenac โดยอาศัยการวินิจฉัยจากประวัติเจ็บป่วยและการตรวจติดตาม ผลข้างเคียงจากยานี้พบได้น้อยมากโดยมีอุบัติการณ์ต่ำกว่าร้อยละ 0.1 แพทย์ควรให้ความตระหนักถึงผลข้างเคียงจากการใช้ยานี้

คำสำคัญ: diclofenac, ผื่นผิวหนัง

Introduction

Diclofenac, is a nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAID). Diclofenac, as the sodium or potassium salt, is a benzeneacetic acid derivative, designated chemically as 2-[(2,6-dichlorophenyl)amino]benzeneacetic acid, monosodium or monopotassium salt¹⁻². In pharmacologic studies, diclofenac has shown anti-inflammatory, analgesic, and antipyretic activity. As with other NSAIDs, its mode of action is inhibition of enzyme cyclooxygenase, involved in its anti-inflammatory activity, as well as contribute to its efficacy in relieving pain related to inflammation and primary dysmenorrhea¹⁻².

The most common adverse effects of this drug are gastritis, peptic ulceration, and depression of renal function, all of which result primarily from prostaglandin inhibition¹. The types of side effects observed with diclofenac are similar to those of other nonsteroidal anti-inflammatory drugs and are unavoidable given that the drugs are prostaglandin inhibitors. However, the incidences of such side effects may be lower with diclofenac than with some of the other nonsteroidal anti-inflammatory drugs². Here, we reported a rare adverse effect of diclofenac as diclofenac related skin rash.

Case report

Patient history

A 52 years old female patient visited the physician with the problem of skin rash in her both forearm. She revealed the persistence of this skin lesion for 10 days. She notified no past history of drug or food allergy. Concerning the present illness, she revealed the concomitant use of the self - prescribed diclofenac tablet and gel for her arm pain symptom. She notified the skin lesion three days after start of this medication and therefore she tried to stop the tablet on the seventh days. However, her skin rash was still persisted, therefore, she decided to visit the physician.

Physical examination and laboratory investigation

At first, this case was suspected for diclofenac related skin rash. The skin lesion can be described as erythema multiforme, itching iris (central lesion surrounded by concentric rings of pallor and redness) macule lesion on both arms. She was advised to stop any drug including the diclofenac gel application.

Result of therapy/follow up

On follow up visit, her skin rash disappeared completely within seven days. This case was diagnosed as diclofenac related skin rash.

Discussion

Adverse effect due to usage of nonsteroidal anti-inflammatory drugs is an important awareness for the physician in using these widely prescribed drug. Apart from the common adverse effects such as GI disorder, the rare disorder has also been reported¹. These include blood dyscrasias, erythema multiforme, hepatitis, and others, such as aseptic meningitis, anaphylaxis, and urticaria. Moreover, some nonsteroidal anti-inflammatory drugs appear to have unique side-effect profiles. Examples include a higher incidence of ulceration and erythema multiforme with piroxicam, and acute pancreatitis, in rare instances, with sulindac. From a careful survey, diclofenac appear to have less unusual adverse reactions than the other drugs³. Therefore, it is considered as a safe drug and widely prescribed.

Here, we reported a case of diclofenac related skin rash, which is a rare adverse effect of diclofenac with the incidence less than 0.1 %. Presently, the real pathogenesis of this disorder has not been clarified. This adverse effect is reported only in literature, not seen in clinical trials, and is considered rare. Indeed, the dermatologic reaction of diclofenac as pruritus is described in upto 1 % of the patient. However, the skin eruption as skin eruption, urticaria, erythema is infrequent (less than 0.1). In

very serious case, the Steven Johnson syndrome can be detected³. We diagnosed this case by the present illness and follow up. However, we did not performed any skin test⁴ or specific Ig for diclofenac determination to confirm the diagnosis.

The diclofenac is a widely used drug at present in Thailand. In addition, there are a number of reported adverse effects relating to diclofenac usage, 668 cases were reported during 1983 - 1998 according to the report of the Center for Surveillance of Adverse Drug Reaction, Thai Ministry of Public Health. Therefore, the awareness of the physician to this widely used drug on its rare adverse effect is necessary. Some adverse effects such as rhabdomyolysis⁵ and pneumonitis⁶ are very rare but serious. The review of the

published literature concerning the adverse effect of diclofenac was presented in Table 1.

Reference

1. Therapeutic List Monograph. Diclofenac. Available on <http://www.rxlist.com/cgi/generic/diclofen.htm>.
2. Small RE. Diclofenac sodium. Clin Pharm. 1989 Aug;8(8):545-58.
3. O'brien WM. Adverse reactions to nonsteroidal anti-inflammatory drugs. Diclofenac compared with other non-steroidal anti-inflammatory drugs. Am J Med 1986 Apr 28;80(4B):70-80.
4. Alonso R, Enrique E, Cistero A. Positive patch test to diclofenac in Stevens-Johnson syndrome. Contact Dermatitis. 2000 Jun;42(6):367.

Table 1 Some interesting literatures on the adverse effects of diclofenac.

Authors	Descriptions
Hadar <i>et al</i> , 2000 ⁷	A case report of anaphylactic shock 10 minutes after the diclofenac, to which she had been exposed in the past without any side effects
Alkhawajah <i>et al</i> , 1993 ⁸	A case of apparent anaphylactic reaction to diclofenac sodium (Voltaren) 15 min after intramuscular injection of diclofenac for treatment of low back pain. The first case report of diclofenac anaphylactic shock
Mahboob and Haroon, 1998 ⁹	Retrospective study on the fix drug eruption cases. Diclofenac is a drug which can present this adverse effect
Bhogaraju <i>et al</i> , 1999 ¹⁰	A case report of diclofenac-induced hepatitis concomitant with GI bleeding
Aithal <i>et al</i> , 2000 ¹¹	Perform a pharmacogenetics study and found that there is no evidence that polymorphism in CYP2C9 is a determinant of diclofenac-induced hepatotoxicity.
Shrivastava <i>et al</i> , 1997 ¹²	The effect of ciprofloxacin was studied in electroconvulsive seizures in mice using the tonic extensor phase as end point and seizure threshold as observational parameter. It was found that ciprofloxacin produced a significant epileptogenic effect, potentiated by diclofenac

5. Delrio FG, Park Y, Herzlich B, Grob D. Case report: diclofenac-induced rhabdomyolysis. *Am J Med Sci* 1996 Aug;312(2):95-7.
6. Khalil H, Molinary E, Stoller JK. Diclofenac (Voltaren)-induced eosinophilic pneumonitis. Case report and review of the literature. *Arch Intern Med*. 1993 Jul 26;153(14):1649-52.
7. Hadar A, Holcberg G, Mazor M. Anaphylactic shock after diclofenac sodium (Voltaren). *Harefuah*. 2000 Feb 1;138(3):211-2, 270.
8. Alkhawajah AM, Eifawal M, Mahmoud SF. Fatal anaphylactic reaction to diclofenac. *Forensic Sci Int* 1993 Jun;60(1-2):107-10.
9. Mahboob A, Haroon TS. Drugs causing fixed eruptions: a study of 450 cases. *Int J Dermatol* 1998 Nov;37(11):833-8.
10. Bhogaraju A, Nazeer S, Al-Baghdadi Y, Rahman M, Wrestler F, Patel N. Diclofenac-associated hepatitis. *South Med J* 1999 Jul;92(7):711-3.
11. Aithal GP, Day CP, Leathart JB, Daly AK. Relationship of polymorphism in CYP2C9 to genetic susceptibility to diclofenac induced hepatitis. *Pharmacogenetics* 2000 Aug;10(6):511-8.
12. Shrivastava MP, Makde SD, Paranjpe BD. Interaction of ciprofloxacin with diclofenac and paracetamol in relation to its epileptogenic effect. *Indian J Physiol Pharmacol* 1997 Apr;41(2):164-6.

Thai Journal of Pharmacology

Instruction for Authors

The Thai Journal of Pharmacology serves as the official journal of the Pharmacological and Therapeutic Society of Thailand. The journal is designed to contribute to the publication of researches and information exchanges in the field of pharmacology and related fields. The manuscripts should not have been published before. Original full length scientific research papers, short communication, case report, letter to editor, minireviews, pharmacological digest and new drugs profile will be included in this journal.

Manuscripts

Three copies of manuscripts, diskette(s) and illustration(s) are required. Manuscript of research articles should be written in English, the others can be either English or Thai. The preparation of the manuscript should be in the form of Microsoft Word (font: Times New Roman size 10). Pages should be numbered consecutively, including the title page.

Table and illustration should be numbered with Arabic figures consecutively in the order of first citation in the text and supply a brief title for each. Explain in footnotes all non-standard abbreviation that are used. Illustrations should be professionally drawn and photographed or produced on a laser printer.

Nomenclature should follow the recommendations of the International Union for Pure and Applied Chemistry (IUPAC), and the International Union for Biochemistry (IUB). All measurements must be in System International (SI) units.

Research articles

The research papers should contain a) title, b) abstract, c) keywords, d) introduction, e) material and methods, f) result, g) discussion, h) references.

The title page: Should contain the title of the article, author(s) name and affiliation (s) laboratory or institute of origin and address. Name and complete address of author responsible for correspondence about the manuscript should be also placed at the foot of the title page. **An abstract** limited to approximately 250 words should be carried in this page. It should be informative and state concisely what was done, results obtained and conclusion. Three to ten **keywords** or short phrases appropriate for subject indexing should be typed at the bottom of abstract.

Introduction: State clearly the purpose of article, the rationale for the study or observation. Relevant previous study should be cited and do not review the subject extensively.

Materials and Methods: Describe the sufficient detail of the method, experimental subjects (patients or experimental animals, including controls) clearly. Identify the method, apparatus (manufacturer's name and address in parenthesis). Give references to established method, study design and statistical method.

Results: Present your results in logical sequence in the text, tables, and illustrations. Only important observations should be summarized and emphasized. Do not repeat in the text all the data in the table or illustrations.

Discussion: Comment on the results and integrate them with the existing knowledge and point out the field. Recommendation may also be included.

Acknowledgment: Persons, financial or technical helps which have contributed to the paper should be acknowledged in a paragraph.

References: Place the number references consecutively in the order in which they are first mention in the text. Use the style of the examples below:

Examples

Articles in journals

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

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

- (2) Organisation as author

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

- (3) No author given

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

- (4) Volume with supplement

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

- (5) Books and other monographs

5.1 Personal author(s)

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

5.2 Editor(s), compiler as author

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

5.3 Chapter in a book

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

5.4 Conference proceedings

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

(6) Dissertation

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

(7) In press

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

Reviews

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

Short communication

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

Manuscript submission

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

Copyright

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

สมาคมเกษตรวิทยาแห่งประเทศไทย

ใบขอรับวารสาร

เขียนที่

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

เรียน ผู้จัดการวารสารเกษตรวิทยา

นาย

ข้าพเจ้า นาง ชื่อสกุล.....

นางสาว

ที่อยู่

โทรศัพท์ ที่อยู่อีเมล์

มีความประสงค์จะรับวารสารเกษตรวิทยาปีที่ ฉบับที่เป็นต้นไป เป็นเวลาปี

พร้อมกันนี้ได้แนบเช็คไปรษณีย์หรือธนาคัตินาม “ผู้จัดการวารสารเกษตรวิทยา” สั่งจ่าย ป.ณ.

ปทุมวัน เป็นจำนวนเงินบาท มาเป็นค่าสนับสนุนการจัดทำวารสารด้วยแล้ว

ลงชื่อ

()

หมายเหตุ อัตราขอรับวารสาร เกษตรวิทยา

1. สมาชิกสมาคมเกษตรวิทยา ไม่ต้องชำระค่าวารสาร
2. สมาชิกวารสารเกษตรวิทยา อัตราขอรับปีละ 200 บาท (3 ฉบับ)
3. นิสิต/นักศึกษา (แสดงสำเนาบัตรประจำตัวนักศึกษา) อัตราขอรับปีละ 100 บาท (3 ฉบับ)

เรียน

รศ.สมใจ นครชัย

ภาควิชาเกษตรวิทยา คณะเกษตรศาสตร์

มหาวิทยาลัยมหิดล

ถนนศรีอยุธยา

กทม. 10400

สมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย

ใบสมัครเข้าเป็นสมาชิก

เขียนที่

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

นาย

ข้าพเจ้า นาง ชื่อสกุล.....

นางสาว

อาชีพ ขอสมัครเข้าเป็นสมาชิกสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย
ไทย และขอรับรองว่า จะปฏิบัติตามระเบียบข้อบังคับของสมาคมทุกประการ

ข้าพเจ้ายินดีจะชำระค่าบำรุงสมาคมโดย

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

ลงชื่อ

()

เรียน

รศ.สมใจ นครชัย

ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะเภสัชศาสตร์

มหาวิทยาลัยมหิดล

ถนนศรีอยุธยา

กทม. 10400

ทะเบียนประวัติ

นาย

1. ชื่อ นาง ชื่อสกุล.....

นางสาว

ชื่อภาษาอังกฤษ (ตัวพิมพ์ใหญ่)

2. เกิดวันที่เดือน.....พศ.....

3. ตำแหน่งหน้าที่หรือตำแหน่งทางวิชาการในปัจจุบัน

4. สถานที่ทำงาน

.....

.....

..... โทรศัพท์/ แฟกซ์

e-mail address

5. ที่อยู่ปัจจุบัน

.....

.....

6. ประวัติการศึกษาชั้นอุดมศึกษา (เรียงลำดับจากวุฒิสูงสุด)

ปี พ.ศ.

ชื่อสถานศึกษา

วุฒิที่ได้รับ

.....

.....

.....

7. สาขาหรือแขนงวิชาที่สนใจหรือเชี่ยวชาญเป็นพิเศษ

.....

.....

.....

.....

กำหนดการจัดประชุมวิชาการประจำปี ครั้งที่ 25
ของสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย

20 มีนาคม 2546

08.30 – 09.00 น.	ลงทะเบียน
09.00 – 09.30 น.	พิธีเปิด
09.30 – 10.00 น.	พัก น้ำชา-กาแฟ
10.00 – 11.30 น.	Chiravat Memorial lecture : The role of nuclear receptors in drug toxicology and cancer research Dr. Frank J. Gonzales
11.30 – 12.00 น.	ประชุมธุรการสมาคมฯ
12.00 – 13.00 น.	อาหารกลางวัน
13.00 – 14.30 น.	Plenary lecture : Serotonin and depression – Recent advances in understanding Dr. Charles A. Marsden
14.30 – 14.45 น.	พัก น้ำชา-กาแฟ
14.45 – 16.30 น.	Panel discussion I : Current concept of depression and management

21 มีนาคม 2546

08.30 – 09.30 น.	Plenary lecture : Overview of Signal transduction ดร.สุวรา วัฒนพิทยกุล
09.30 – 09.45 น.	พัก น้ำชา-กาแฟ
09.45 – 11.00 น.	Panel discussion II : Signal transduction in health and diseases
11.00 – 12.00 น.	Plenary lecture : Porcine Brain : Fact or Fiction รศ.ดร.ชัยชาญ แสงดี
12.00 – 13.00 น.	อาหารกลางวัน
13.00 – 14.30 น.	Plenary lecture : Bioinformatic รศ.ดร. วรชาติ สิริวรรณ
14.30 – 14.45 น.	พัก น้ำชา-กาแฟ
14.45 – 16.00 น.	Panel discussion III : Sex Enhancing Drugs รศ.พญ.สุนนา ชมพูทวีป, รศ.ดร.ชัยชาญ แสงดี, รศ.นพ.อภิชาติ กงกะนันท์

รายนามคณะกรรมการที่ปรึกษาและบริหารสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย

วาระประจำปี พ.ศ. 2545-2547

คณะกรรมการที่ปรึกษา

ภก.พลตรี สุนันท์ โรจนวิภาต
ศ.ดร.อำนวย ธิฐาพันธ์
รศ.พ.อ.ดร.บพิตร กลางกลยา
รศ. พลตรี ดร.ทัศนัย สุริยจันทร์
รศ.พญ.สุนา ชมพูทวีป
ดร.อุดม จันทารักษ์ศรี
ผศ.ดร.เมธี สรรพานิช
รศ.น.สพ.พระพล อยู่สวัสดิ์

คณะกรรมการบริหาร

นายกสมาคม

ภญ.รศ.ดร.ศรีจันทร์ พรจิราศิลป์

อุปนายก

ภญ.รศ.ดร.ยุพิน สังวรินทะ

ผู้รั้งตำแหน่งนายกสมาคม

ภก.รศ.ดร.ชัยชาญ แสงดี

เลขาธิการ

ภญ.รศ.สุพัสชา วิทยเลิศปัญญา

ฝ่ายวิชาการ

ภญ.รศ.ดร.สุพัตรา ศรีไชยรัตน์

เหรียญก

ภญ.รศ.ดร.จงกล เทียงดาห์

ปฏิคม

ผศ.ดร.พยงค์ วัฒนเกียรติ

นายทะเบียน

ภญ.รศ.สมใจ นครชัย

บรรณาธิการวารสาร

ภญ.รศ.ดร.สุพัตรา ศรีไชยรัตน์

กรรมการกลาง

ภญ.รศ.ดร.ไชแสง โรจนสถาพร

ผศ.ดร.ลัดดาวัลย์ ผิวทองงาม

รศ.ดร.นพ.ประวิทย์ อัครเสรินนท์

ภญ.ผศ.ประภาวดี พัวไพโรจน์

ภญ.รศ.ดร.มยุรี ดันติสริยะ

ผศ.ทพญ.วรางคณา ชิดช่วงชัย

FOR **ED** (**E**rectile **D**ysfunction)

Uprima[®]
apomorphine HCl

3mg

Sublingual

